

Měření množství oxidu uhličitého při metabolismu kvasinek

Obsah

| | |
|---|---|
| Úvod | 2 |
| Cíle | 2 |
| Teoretický úvod | 2 |
| Motivace studentů | 3 |
| Doporučený postup | 3 |
| Příprava úlohy | 3 |
| Materiály pro studenty | 3 |
| Záznam dat | 4 |
| Analýza dat | 4 |
| Syntéza a závěr | 4 |
| Hodnocení | 4 |
| Pracovní návod | 5 |
| Zadání úlohy | 5 |
| Pomůcky | 5 |
| Teoretický úvod | 6 |
| Příprava úlohy (praktická příprava) | 6 |
| Postup práce | 6 |
| Nastavení HW a SW | 6 |
| Bezpečnost práce | 6 |
| Příprava měření | 7 |
| Vlastní měření (záznam dat) | 8 |
| Analýza naměřených dat | 9 |

| | |
|----------------------------------|----|
| Pracovní list učitele | 11 |
| Slovníček pojmů | 11 |
| Teoretická příprava úlohy | 12 |
| Vizualizace naměřených dat | 12 |
| Vyhodnocení naměřených dat | 12 |
| Závěr | 13 |
| Pracovní list studenta | 15 |
| Slovníček pojmů | 15 |
| Teoretická příprava úlohy | 16 |
| Vizualizace naměřených dat | 16 |
| Vyhodnocení naměřených dat | 17 |
| Závěr | 17 |

 **Zařazení do výuky**

Experiment je vhodné zařadit v rámci učiva biochemie v chemii nebo biologii nebo mykologie v rámci biologie.

 **Tip**

Doprovodnou akcí k této laboratorní práci může být exkurze do pivovaru nebo palírny v okolí školy.

 **Časová náročnost**

Dvě hodiny (2 x 45 min) pro jedno měření při určité teplotě.

Čas včetně přípravy, úvodní diskuze a vyhodnocení výsledků.

Pokud je k dispozici více měřicí techniky PASCO, můžeme zadat v různých skupinách práci při různé teplotě a v závěru srovnat výsledky.

Pokud provádíme experiment na jedné aparatuře, můžeme pokaždé měřit jen určitou dobu (30 minut). Takto je možné v běžném laboratorním cvičení (2 x 45 min) stihnout i dvě měření (za nižší a vyšší teploty) a v závěru srovnat výsledky.

Úvod

V tomto laboratorním cvičení budou studenti zkoumat metabolismus kvasinek v různých podmínkách. Průběh metabolismu kvasinek studenti zjistí pomocí měření změny koncentrace plynného oxidu uhličitého ve vzduchu nad roztokem cukru s kvasinkami.

Cíle

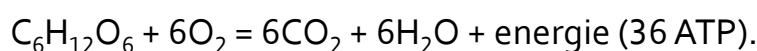
Studenti by měli zvládnout:

- použít techniku PASCO (sondu na měření plynného oxidu uhličitého) ke stanovení obsahu CO₂ ve vzduchu nad roztokem cukru před a po přidání kvasnic
- analyzovat výsledky svých stanovení a vyslovit závěr o metabolismu kvasinek při různé teplotě roztoku cukru.

Teoretický úvod

Kvasinky patří mezi houby, konkrétně do skupiny Hemiaskomycety. Jsou to jednobuněčné eukaryotické organismy, které podle způsobu výživy řadíme mezi chemoheterotrofy. Tzn., že zdrojem energie i uhlíku jsou pro ně organické látky. Tyto organické látky mohou využívat pomocí aerobního i anaerobního metabolismu. První metabolickou dráhou je vždy anaerobní glykolýza, při které vzniká z glukosy kyselina pyrohroznová (pyruvát). Dále záleží na přítomnosti kyslíku v prostředí. Za přítomnosti kyslíku probíhá aerobní metabolismus, kdy je pyruvát dále převeden na acetylkoenzym A, který vstupuje do Krebsova cyklu. Poslední fází aerobního metabolismu je dýchací řetězec, ve kterém vzniká ATP obsahující velké množství energie. V průběhu Krebsova cyklu se uvolňuje oxid uhličitý a v dýchacím řetězci vzniká jako konečný produkt voda.

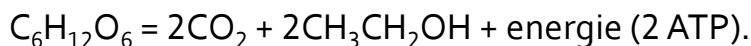
Celkově můžeme psát:



Za nepřítomnosti kyslíku probíhá tzv. alkoholové kvašení. Zde je vstupující látkou pyruvát. Ten je nejprve dekarboxylován za odštěpení oxidu uhličitého na ace-

taldehyd. Tuto reakci katalyzuje enzym pyruvátdekarboxylasa. V navazující reakci dojde k přeměně acetaldehyd na etanol. Tuto reakci katalyzuje enzym alkoholdehydrogenasa.

Celkově můžeme psát:



Anaerobní metabolismus poskytuje ve srovnání s aerobním metabolismem mnohem méně energie v podobě ATP. Proto vyšší organismy většinou využívají aerobní metabolismus.

Motivace studentů

Zeptáme se studentů na význam kvasinek v potravinářském průmyslu.

Zadáme studentům zjistit základní informace o výrobě piva, vína apod.

Doporučený postup

1. Studenti pracují ve dvojicích.
2. Každá dvojice dostane „pracovní návod“ a každý student dostane „pracovní list“.
3. Studenti si nejprve přečtou návod a pak začnou pracovat na experimentu.

Příprava úlohy

Před provedením práce studenti vypracují slovníček pojmů v „pracovním listu“ a zodpoví připravené otázky. Učitel zkontroluje jejich práci.

Materiály pro studenty

Studenti dostanou „pracovní návod“ a „pracovní list“.

„Pracovní návod“ postupně provede studenty přípravou a řešením celé laboratorní úlohy.

Do „pracovního listu“ studenti zaznamenají zjištěná data, provedou jejich analýzu a vypracují odpovědi na otázky.

Záznam dat

Postup řešení najdou studenti v „pracovním návodu“ a místo pro zaznamenávání dat v „pracovním listu“.

Analýza dat

Získané výsledky umožní studentům odpovědět na otázky v „pracovním listu“. V učitelské verzi jsou uvedeny vhodné správné odpovědi na zadané otázky.

Syntéza a závěr

Studenti vyplní „pracovní listy“. Studenti shrnou dosažené výsledky a vysvětlí je. Učitel se studenty provede diskuzi na téma konzumace etanolu v lidské společnosti.

Hodnocení

- Postupovali studenti správně podle „pracovního návodu“?
- Dokázali studenti použít techniku PASCO ke své práci?
- Získali studenti použitelná data pro další analýzu?
- Vysvětlili studenti procesy probíhající při experimentu?
- Vypracovali studenti „pracovní list“ a odpověděli na všechny otázky?



CHEMIE

18

• CHEMIE

laboratorní cvičení č. 18

Měření množství CO₂ při metabolismu kvasinek (návod)

Zadání úlohy

Proveďte analýzu metabolismu kvasinek ve vodném roztoku cukru při různých teplotách.

Pomůcky

- počítač s USB portem
- PASPORT USB Link (Interface) nebo Xplorer
- PASPORT CO₂ Gas Sensor
- PASPORT Fast-Response Temperature Probe (je součástí GLX)
- PASPORT Extension Cable
- software DataStudio
- čerstvé droždí (1 balení o hmotnosti 42 g na jedno měření)
- elektronické váhy
- kuželová baňka (500 ml)
- kádinka (250 ml)
- odměrný válec (250 ml)
- skleněná tyčinka
- lžička
- voda
- cukr řepný (sacharosa)
- drcený led
- rychlovarná konvice

PRACOVNÍ NÁVOD



Bezpečnost práce

Dodržujte pokyny učitele při práci s technikou PASCO.

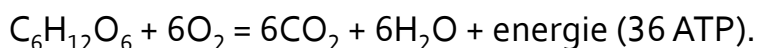
Dodržujte obvyklé pravidla bezpečnosti při práci v laboratoři.

Teoretický úvod

Kvasinky patří mezi jednobuněčné eukaryotické organismy, které podle způsobu výživy řadíme mezi chemoheterotrofy. Tzn., že zdrojem energie i uhlíku jsou pro ně organické látky. Tyto organické látky byly vytvořeny fotoautotrofy při fotosyntéze. Organické látky mohou kvasinky využívat pomocí aerobního i anaerobního metabolismu.

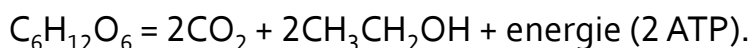
Při aerobním metabolismu kvasinky využívají kyslík k rozkladu cukru za vzniku oxidu uhličitého a vody. Při této reakci se uvolňuje velké množství energie.

Celkově můžeme psát:



Při anaerobním metabolismu není kyslík k dispozici. Kvasinky provádějí tzv. alkoholové kvašení, při kterém z cukru vzniká oxid uhličitý a etanol. Při kvašení se uvolňuje mnohem méně energie. Kvašení nazýváme také fermentace.

Celkově můžeme psát:



Příprava úlohy (praktická příprava)

Vypracujte slovníček pojmů v „pracovním listu“ a odpovězte na zadané otázky. Poté pracujte přesně podle pokynů v pracovním návodu.

Postup práce

Nastavení HW a SW

Zapojení:

1. Zapojte CO_2 senzor (nejlépe s využitím prodlužovacího kabelu) do Portu 1 Xploreru GLX.
2. Automaticky se otevře Digits display.
3. Pomocí tlačítka „domeček“ se vraťte na základní obrazovku.
4. Tlačítkem F1 vyberte Graf závislosti koncentrace CO_2 (ppm) na čase (sekundy).

Příprava měření

Kalibrace senzoru: Provedte jednobodovou kalibraci PS-2110 CO₂ Gas Sensoru podle instrukcí od výrobce.

1. Běžte ven z místnosti a volně pohybujte prázdnou kuželovou baňkou (500 ml).
2. Takto získáte vzorek čerstvého vzduchu o obsahu plynného CO₂ (asi 350 ppm).
3. Zasuňte CO₂ sondu do hrdla kuželové baňky tak, aby gumová zátka, v níž je prostrčena sonda, těsně držela v ústí kuželové baňky.
4. V laboratoři připojte CO₂ sondu do Xploreru (nejlépe pomocí prodlužovacího kabelu).
5. Automaticky se otevře Digits display. Probíhá měření koncentrace CO₂ v atmosféře uvnitř kuželové baňky. Počkejte asi 90 sekund, až se měření stabilizuje.
6. Zmáčkněte tlačítko Calibrate na CO₂ senzoru a držte ho asi 3 sekundy. Začátek kalibrace ukazuje svítící zelené světélko na senzoru.
7. Čekejte asi jednu minutu. Jakmile zelené světélko na CO₂ senzoru začne blikat, je kalibrace ukončena.
8. Obsah plynného CO₂ v atmosféře vzorku ovzduší uvnitř kuželové baňky by měl být přibližně 400 ppm (± 50 ppm).

Sestavení aparatury:

1. Do kádinky (400 ml) nalijte 200 ml vody o normální teplotě.
2. Přidejte 20 gramů cukru a rozmíchejte skleněnou tyčinkou až do rozpuštění.
3. Zamíchejte energicky roztok cukru ve vodě, aby došlo k nasycení roztoku kyslíkem.
4. Ponořte do roztoku teplotní sondu a připojte ji do Xploreru na levém boku přístroje. Odečtěte a запиšte aktuální teplotu. Vytáhněte teplotní sondu z roztoku.
5. Nasypťe do kádinky jedno balení čerstvého droždí (o hmotnosti dle balení, např. 42 g). Rozmíchejte a připravte šetrně suspenzi kvasnic.
6. Přelijte suspenzi kvasinek do kuželové baňky (500 ml), v níž budete provádět měření.
7. Vložte CO₂ sondu do kuželové baňky nad hladinu roztoku cukru ve vodě. Dbejte na to, aby nebyl konec sondy ponořen!
8. Zasuňte CO₂ sondu do hrdla kuželové baňky tak, aby gumová zátka, v níž je prostrčena sonda, těsně držela v ústí kuželové baňky.



Vlastní měření (záznam dat)

Měření za normální až mírně zvýšené teploty:

1. Na základní obrazovce zvolte F1 (Graph).
2. Zapněte tlačítko Start/Stop na Xploreru.
3. Provádějte měření a sledujte vzrůst koncentrace CO_2 , až se množství CO_2 již nemění. DŮLEŽITÉ: Protože je průběh pokus zdoluhavý, můžeme provádět měření přesně po určenou dobu, např. po 30 minut. Takto můžeme stihnout za jedno laboratorní cvičení (2 x 45 minut) i dvě měření při různé teplotě a srovnat výsledky.
4. Pomocí tlačítka Start/Stop ukončete měření. Vytáhněte sondu z aparatury. Zbytek roztoku zlikvidujte podle pokynů učitele.

Měření za snížené teploty:

1. Pomocí ledu si připravte studenou vodu pro další měření.
2. Zopakujte přípravu aparatury se studenou vodou (viz krok 1. až 8. v kapitole „Sestavení aparatury“).
3. Na základní obrazovce zvolte F1 (Graph). Zmáčkněte tlačítko F4 (Graphs) a zde zvolte možnost New Graph Page pomocí tlačítka Aktivovat. Takto zaznamenáte nová data, aniž byste přišli o dříve získaná.
4. Zapněte tlačítko Start/Stop na Xploreru.
5. Provádějte měření a sledujte vzrůst koncentrace CO_2 , až se množství CO_2 již nemění. DŮLEŽITÉ: Protože je průběh pokusu zdoluhavý, můžeme provádět měření přesně po určenou dobu, např. po 30 minut.
6. Pomocí tlačítka Start/Stop ukončete měření. Vytáhněte sondu z aparatury. Zbytek roztoku zlikvidujte podle pokynů učitele.

Měření za zvýšené teploty:



1. Pomocí rychlovarné konvice si připravte teplou vodu pro další měření.
2. Zopakujte přípravu aparatury s teplou vodou (viz krok 1. až 8. v kapitole „Sestavení aparatury“).
3. Na základní obrazovce zvolte F1 (Graph). Zmáčkněte tlačítko F4 (Graphs) a zde zvolte možnost New Graph Page pomocí tlačítka Aktivovat. Takto zaznamenáte nová data, aniž byste přišli o dříve získaná.
4. Zapněte tlačítko Start/Stop na Xploreru.
5. Provádějte měření a sledujte vzrůst koncentrace CO_2 , až se množství CO_2 již nemění. DŮLEŽITÉ: Protože je průběh pokus zdoluhavý, můžeme provádět měření přesně po určenou dobu, např. po 30 minut.





6. Pomocí tlačítka Start/Stop ukončete měření. Vytáhněte sondu z aparatury. Zbytek roztoku zlikvidujte podle pokynů učitele.

Analýza naměřených dat



Analýza dat získaných při měření ve vodě o normální teplotě:

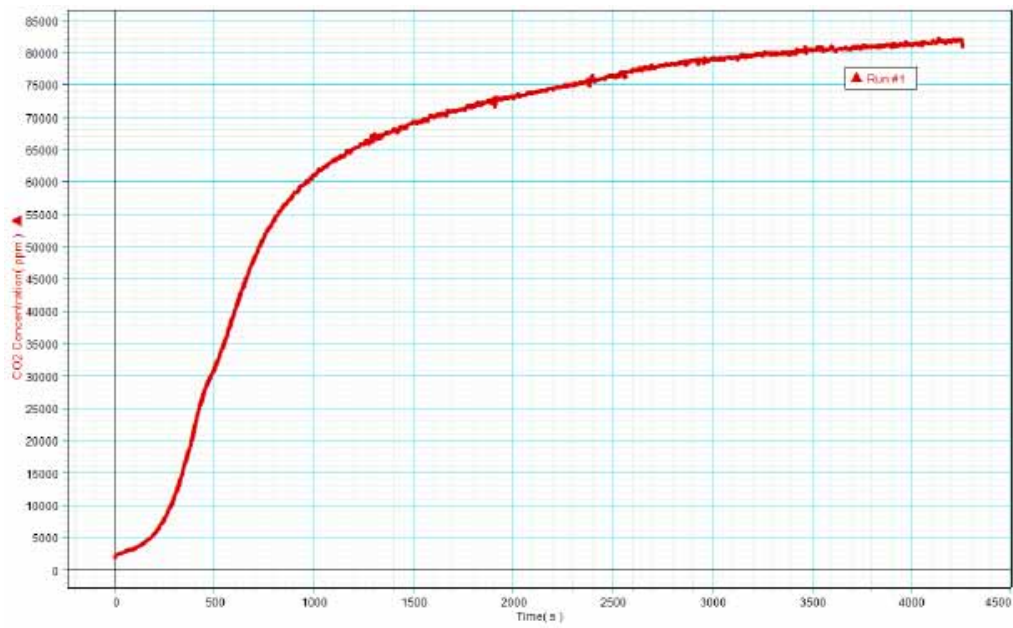
1. Nakreslete graf závislosti koncentrace CO_2 na čase v průběhu měření metabolismu kvasinek do „pracovního listu“.
2. Na obrazovce grafu nastavte kurzor (pohybem šipek) na místo, kdy je koncentrace CO_2 nejnižší. Zmáčkněte tlačítko F3 (Tools). Zvolte možnost Smart Tool (pomocí tlačítka Aktivovat = „“).
3. Znovu zmáčkněte F3 (Tools) a nyní zvolte možnost Delta Tool (pomocí tlačítka Aktivovat = „“). Nastavte kurzor na místo, kde je koncentrace CO_2 nejvyšší. Na grafu odečtěte změnu množství CO_2 během metabolismu kvasinek.
4. Zapište zjištěné data do tabulky v „pracovním listu“.

Analýza dat získaných při měření ve studené vodě:

1. Nakreslete graf závislosti koncentrace CO_2 na čase v průběhu měření metabolismu kvasinek do „pracovního listu“.
2. Na obrazovce grafu nastavte kurzor (pohybem šipek) na místo, kdy je koncentrace CO_2 nejnižší. Zmáčkněte tlačítko F3 (Tools). Zvolte možnost Smart Tool (pomocí tlačítka Aktivovat = „“).
3. Znovu zmáčkněte F3 (Tools) a nyní zvolte možnost Delta Tool (pomocí tlačítka Aktivovat = „“). Nastavte kurzor na místo, kde je koncentrace CO_2 nejvyšší. Na grafu odečtěte změnu množství CO_2 během metabolismu kvasinek.
4. Zapište zjištěné data do tabulky v „pracovním listu“.

Analýza dat získaných při měření v teplé vodě:

1. Nakreslete graf závislosti koncentrace CO_2 na čase v průběhu měření metabolismu kvasinek do „pracovního listu“.
2. Na obrazovce grafu nastavte kurzor (pohybem šipek) na místo, kdy je koncentrace CO_2 nejnižší. Zmáčkněte tlačítko F3 (Tools). Zvolte možnost Smart Tool (pomocí tlačítka Aktivovat = „“).
3. Znovu zmáčkněte F3 (Tools) a nyní zvolte možnost Delta Tool (pomocí tlačítka Aktivovat = „“). Nastavte kurzor na místo, kde je koncentrace CO_2 nejvyšší. Na grafu odečtěte změnu množství CO_2 během metabolismu kvasinek.
4. Zapište zjištěné data do tabulky v „pracovním listu“.



Ukázka grafu závislosti koncentrace CO₂ na čase v průběhu měření metabolismu kvasinek

CHEMIE

18

• CHEMIE

laboratorní cvičení č. 18

**Měření množství CO₂ při metabolismu kvasinek
pracovní list (učitel)****Slovníček pojmů**

S využitím dostupných zdrojů vysvětlete následující pojmy:

**Fotoautotrofie**

Fotoautotrofie je způsob výživy organismů, které jako zdroj energie využívají světlo a jako zdroj uhlíku oxid uhličitý. Většinou se jedná o zelené rostliny, které provádějí fotosyntézu.

Chemoheterotrofie

Chemoheterotrofie je způsob výživy organismů, které jako zdroj energie i uhlíku využívají organické látky, které vznikly fotosyntézou fotoautotrofních organismů.

Metabolismus

Metabolismus je souhrn všech biochemických reakcí včetně výměn energie, které probíhají v živých organismech.

Aerobní metabolismus

Aerobní metabolismus je způsob výživy organismů v přítomnosti kyslíku.

Anaerobní metabolismus

Anaerobní metabolismus je způsob výživy organismů v nepřítomnosti kyslíku.

Fermentace

Fermentace je jiný název pro kvašení, což je typický proces anaerobního metabolismu.

ATP

ATP je zkratka pro molekulu adenosin trifosfát, která v každé buňce přijímá a vydává energii pro životní děje.

Teoretická příprava úlohy

1. Jaký plyn se bude uvolňovat při metabolismu kvasinek v našem experimentu?
Při metabolismu kvasinek se uvolňuje plynný oxid uhličitý.
2. Jak ovlivní průběh metabolismu kvasinek nízká teplota?
Při nízké teplotě bude celkový průběh metabolismu pomalejší.
3. Jak ovlivní průběh metabolismu kvasinek vysoká teplota?
Při vysoké teplotě bude celkový průběh metabolismu rychlejší. Nesmí však dojít k porušení funkce enzymů příliš vysokou teplotou.

Vizualizace naměřených dat

1. Připojte k Xploreru počítač (vybavený DataStudio softwarem) nebo přímo tiskárnu a vytiskněte graf závislosti množství rozpuštěného kyslíku na čase v průběhu měření metabolismu kvasinek.
2. Je také možné uložit soubor s daty na přenosný FlashDisk a pracovat na počítači (vybaveném DataStudio softwarem) později nebo např. v učebně s dataprojekto-rem, kde je možné křivku studentům velmi názorně promítnout..

Vyhodnocení naměřených dat

1. Nakreslete náčrt grafu závislosti koncentrace plynného CO₂ na čase v průběhu měření.
2. Použijte naměřená data pro srovnání metabolismu kvasinek při různých podmínkách. Na obrazovce „Graph Screen“ zmáčkněte tlačítko F3 a otevřete „Tools menu“. Vyberte „Statistics“ a zmáčkněte „Activate“. Statistika ukáže minimální a maximální naměřené hodnoty.
3. Vypočítejte změny koncentrace plynného CO₂ (ppm) v závislosti na čase (sekundy). Určete produkci CO₂ (ppm/min) pro každé měření.
4. Zapište své výsledky do protokolu.

| Měření | Počáteční koncentrace CO_2 (ppm) | Konečná koncentrace CO_2 (ppm) | Celková doba měření (min) | Produkce CO_2 (ppm/min) |
|----------------------------|------------------------------------|----------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Měření za normální teploty | | | | |
| Měření za nižší teploty | | | | |
| Měření za vyšší teploty | | | | |

Závěr

V závěru odpovězte na otázky:

- Jak se mění obsah CO_2 v aparatuře během pokusu?
Koncentrace CO_2 se v průběhu experimentu zvyšuje.
- Vysvětlete změny obsahu CO_2 v aparatuře během pokusu.
Při metabolismu kvasinek v aerobním i anaerobním prostředí se uvolňuje plynný CO_2 .
- Jak se lišil průběh experimentů při různých teplotách?
Při nízké teplotě probíhala změna množství CO_2 pomaleji a při vyšší teplotě rychleji než při pokojové teplotě. Aktivita kvasinek je závislá na vnější teplotě.

Pracovní list studenta

skupina:.....

jméno:..... třída:..... datum:.....

Slovníček pojmů

S využitím dostupných zdrojů vysvětlete následující pojmy:

Fotoautotrofie

Chemoheterotrofie

Metabolismus

Aerobní metabolismus

Anaerobní metabolismus

Fermentace

ATP

Teoretická příprava úlohy

1. Jaký plyn se bude uvolňovat při metabolismu kvasinek v našem experimentu?

2. Jak ovlivní průběh metabolismu kvasinek nízká teplota?

3. Jak ovlivní průběh metabolismu kvasinek vysoká teplota?

Vizualizace naměřených dat

1. Připojte k Xploreru počítač (vybavený DataStudio softwarem) nebo přímo tiskárnu a vytiskněte graf závislosti množství rozpuštěného kyslíku na čase v průběhu měření metabolismu kvasinek.

Vyhodnocení naměřených dat

1. Nakreslete náčrt grafu závislosti koncentrace plynného CO₂ na času v průběhu měření.
2. Použijte naměřená data pro srovnání metabolismu kvasinek při různých podmínkách. Na obrazovce „Graph Screen“ zmáčkněte tlačítko F3 a otevřete „Tools menu“. Vyberte „Statistics“ a zmáčkněte „Activate“. Statistika ukáže minimální a maximální naměřené hodnoty.
3. Vypočítejte změny koncentrace plynného CO₂ (ppm) v závislosti na čase (sekundy). Určete produkci CO₂ (ppm/min) pro každé měření.
4. Zapište své výsledky do protokolu.

| Měření | Počáteční koncentrace CO ₂ (ppm) | Konečná koncentrace CO ₂ (ppm) | Celková doba měření (min) | Produkce CO ₂ (ppm/min) |
|----------------------------|---|---|---------------------------|------------------------------------|
| Měření za normální teploty | | | | |
| Měření za nižší teploty | | | | |
| Měření za vyšší teploty | | | | |

Závěr

V závěru odpovězte na otázky:

1. Jak se mění obsah CO₂ v aparatuře během pokusu?

2. Vysvětlete změny obsahu CO₂ v aparatuře během pokusu.

3. Jak se lišil průběh experimentů při různých teplotách?