

Chemie – úloha č. 18



Autor: Tomáš Feltl

Fermentace

Cíle

Založení kvasné kultury a sledování změn obsahu látek v průběhu kvasného procesu.

Zadání úlohy

Založte experiment s kvasnou kulturou pekařského droždí a sledujte změny v obsahu látek v průběhu kvašení.

Pomůcky

PASCO senzory: plyný oxid uhličitý (PS-2110), plyný kyslík (PS-2126A), ethanol (PS-2194), teploměr (PS-2135), PASCO SPARK datalogger a počítač se SW PASCO Capstone, popř. datalogger Xplorer GLX, PASCO USB link (PS-2100A), kádinka 1000 ml, magnetická míchačka a velké magnetické míchadlo, stojan a držáky na dvě čidla, latexová rukavice, chemikálie (dest. voda, roztok 0,5 M sacharózy, 1% roztok ethanolu), biologický materiál – pekařské droždí (např. FALA, 1 kostka tj. 42 g), popisovač (lihový fix), pracovní návod, pracovní list

Teoretický úvod

Termínem **fermentace** označujeme jak klasické anaerobní kvašení, tak ostatní aerobní mikrobiální procesy. Jde o běžné procesy, při kterých dochází k přeměně látek, nejčastěji činností mikroorganismů. Typicky se jedná o metabolické (katabolické) reakce, při nichž vznikají ze složitějších látek jednodušší. Studium kvašení stálo u zrodu **biochemie** a následně biochemického oboru – **enzymologie**. Biochemie je tak jako vědní obor nedílně svázána se jménem **Eduarda Buchnera**, který získal za svůj objev „nebuněčného kvašení“ v roce 1907 Nobelovu cenu.

Výroba určitých látek s **využitím fermentace** je historicky velice starou záležitostí. Např. nálezy kvasných nádob na víno pochází již z neolitu (dnešní Irán, Hajji Firuz Tepe, 8500–4000 let př. n. l.). Kvasné procesy jsou velice intenzivně využívány v potravinářství i dnes (při výrobě lihovin, piva, vína, kyselého zelí, octa, kynutého těsta, ...).

Kvasinky jsou eukaryotické organizmy, které se při kultivaci rozmnožují nepohlavním (vegetativním) způsobem. Drožděnské kvasinky mají typicky tvar vejčitý až kulovitý, podobně jako kvasinky pivovarské či lihovarské. Kvasinky se používají v celé řadě dalších odvětví od přípravy krmiv, hnojiv, ke kompostování, výrobě bioplynu až třeba po výrobu léčiv (např. inzulin produkovaný kvasinkami). V našem experimentu si založíme kvasnou kulturu a budeme sledovat změny obsahu látek v průběhu kvasného procesu s využitím běžných pekařských kvasnic, které obsahují kvasinky rodu *Saccharomyces cerevisiae*.

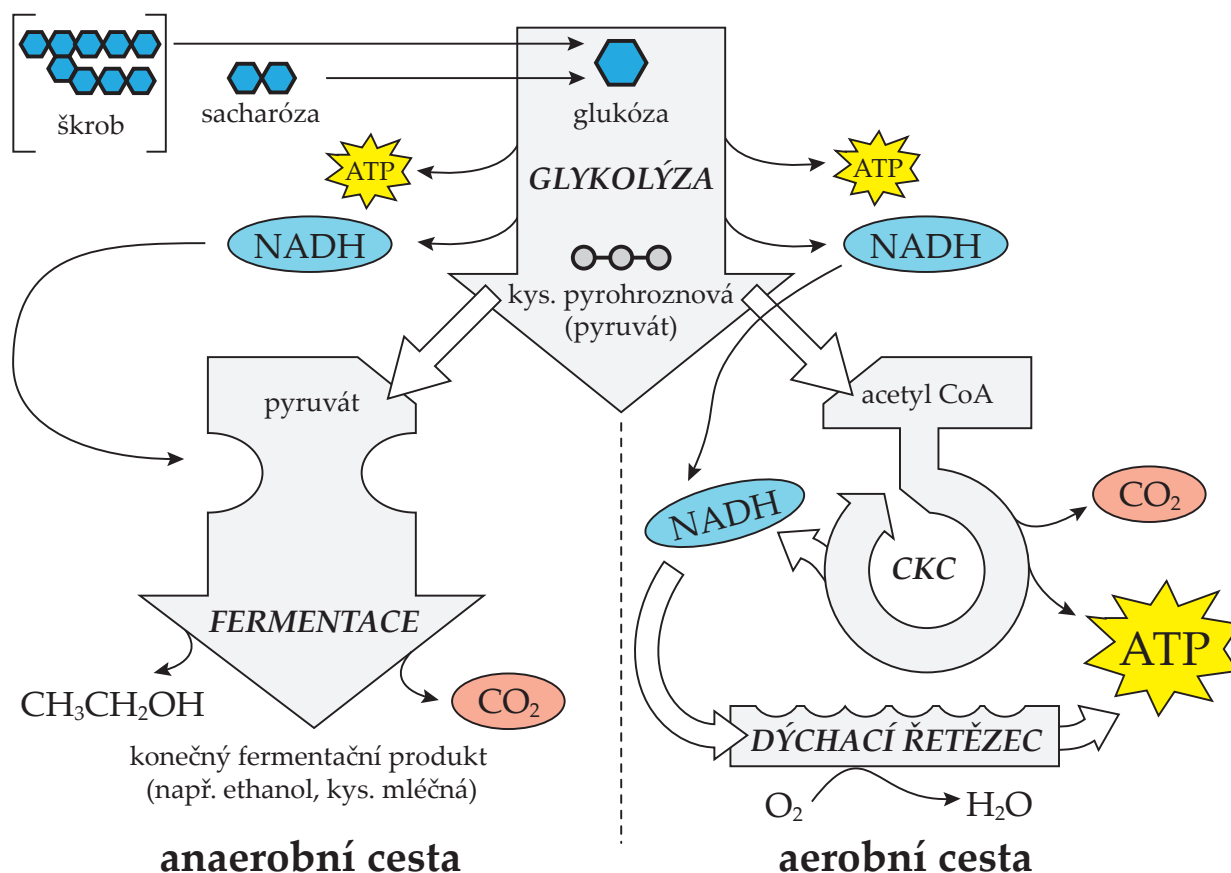
Zdrojem energie pro naši kulturu bude sacharóza. Z této organické, energeticky bohaté, látky získávají naše kvasinky energii. Sacharóza se tím pádem musí přeměnit na nějaké jednodušší látky. Konkrétně se jedná o ethanol a oxid uhličitý. Souhrnně můžeme tedy probíhající reakci zapsat:



Podrobněji se na **metabolické procesy** podíváme na následujícím schématu (viz obr. 1). Prvním krokem



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



Obr. 1: Zjednodušené schéma metabolismu sacharidů, aerobní a anaerobní cesta

je štěpení sacharózy na dva monosacharidy. Glukóza se následně odbourává procesem glykolýzy. V průběhu glykolýzy získáme určité množství energie ve formě ATP a pyruvát (kys. pyrohroznovou). V případě **anaerobní** cesty se v prvním kroku pyruvát dekarboxyluje na acetaldehyd, což obstará enzym pyruvátdekarboxyláza. Druhým krokem je pak redukce acetaldehydu na ethanol, která se neobejde bez enzymu alkoholdehydrogenázy a redoxního koenzymu NADH.

Kvasinky mají ale ještě druhou možnost, protože jsou takzvané „**fakultativně anaerobní**“. To znamená, že v podmínkách s dostatkem kyslíku mohou získávat energii podstatně efektivněji (metabolismus probíhá **aerobně**). V tomto případě se pyruvát mění na **acetyl koenzym A**, který vstupuje do **Krebsova cyklu** (cyklu kyseliny citrónové, CKC). Zde vzniká opět určitý ekvivalent energie ATP a díky dekarboxylačním procesům také odpadní CO_2 . Hlavním produktem, z pohledu získání energie, jsou ale molekuly NADH, které dále vstupují do **dýchacího řetězce**. Právě zde vstupuje do reakce kyslík a vzniká ATP a voda.

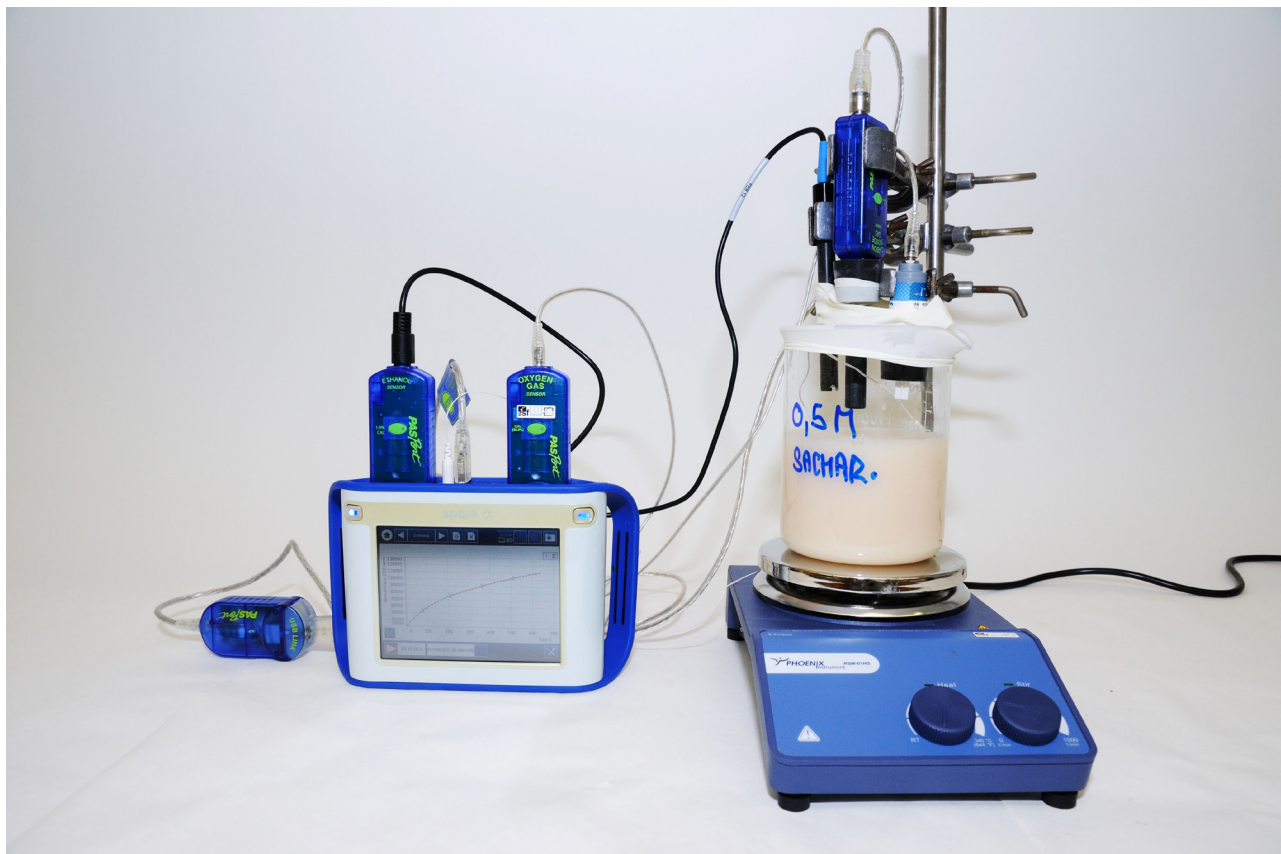
Bezpečnost práce

Pracujte pečlivě a v souladu s pracovním návodem. Dbejte zvýšené opatrnosti a s chemikáliemi zacházejte vždy v souladu s instrukcemi na obalu. Nikdy nepipetujte ústy. V laboratoři používejte ochranné brýle, plášť a případně další pomůcky v souladu se správnou laboratorní praxí.

Postup práce

Úlohu můžeme rozdělit do dvou hlavních částí:

- 1) Příprava roztoků a fermentační komory (viz „Příprava úlohy“)
- 2) Sledování průběhu fermentace



Obr. 2: Sestavená aparatura (varianta s dataloggerem SPARK)

Nastavení HW a SW

- 1) Ke svému počítači propojte pomocí USB kabelu datalogger PASCO SPARK.
- 2) Datalogger obsahuje ještě druhý USB port. Na ten připojte ještě PASCO USB link. (To není nutné, pokud použijete PASCO Xplorer GLX, který má, na rozdíl od SPARKu, čtyři nezávislé vstupy.)
- 3) Do vstupů připojte ethanolové čidlo, čidlo kyslíku a čidlo oxidu uhličitého.
- 4) Teplotní čidlo připojte přímo do malého vstupu na dataloggeru.
- 5) Tím máme připojená všechna čtyři čidla, která budeme používat.

Příprava měření

- 1) Na počítači spusťte aplikaci PASCO *Capstone*.
- 2) Otevřete soubor **ch18-fermentace_sablona.cap**. (Soubor je dostupný na portálu www.expoz.cz.)
- 3) Ve spodní části okna SW *Capstone* nastavte parametr vzorkovací frekvence *Common Rate* na 5 s.
- 4) Do kádinky nalijte 500 ml roztoku sacharózy, vhodte míchadlo a kádinku postavte na magnetickou míchačku.
- 5) Do kádinky rozdrobte balíček pekařského droždí a spusťte magnetickou míchačku. Zpočátku mohou být otáčky vyšší, jakmile vznikne suspenze kvasinek, otáčky snižte.
- 6) Ke kádince přisuňte stojan s čidly umístěnými v latexové rukavici a posuňte je do správné výšky. **Pozor!** Až na teplotní čidlo musí být všechna čidla alespoň 5 cm nad hladinou. Teplotní čidlo by naopak mělo být ponořeno.
- 7) Zkontrolujte těsné umístění čidel a přetáhněte okraj latexové rukavice přes horní okraj kádinky.

Vlastní měření a záznam dat

- 1) V levém dolním rohu SW Capstone klikněte na tlačítko *Record*.
- 2) Sledujte změny na záznamu v grafech (horní obsah kyslíku a oxidu uhličitého, dolní obsah ethanolu a teplota).
- 3) Pokud nevyhovuje nastavení měřitek os y , můžete použít ikonku automatického nastavení měřítka v levém horním rohu grafu.
 - a) V případě, že výše uvedený postup nevyhovuje, použijte k manuální úpravě os myš. Najedte na osu, chytněte ji a táhnutím posuňte (nahoru nebo dolů) na požadovanou pozici hodnot y . Měřítka upravíte obdobně chycením a táhnutím za číselné hodnoty na ose.
- 4) Po deseti minutách ukončete záznam dat stiskem tlačítka *Stop* v levé dolní části.

Analýza naměřených dat

Analýza dat spočívá v prozkoumání změn a jejich trendů v rámci hodnot zaznamenaných jednotlivými čidly. Do vzájemného vztahu je třeba dát především změny v koncentraci oxidu uhličitého a ethanolu. Zajímavý je také pohled na koncentraci kyslíku anebo průběh změn teploty.

Informační zdroje

- <http://cs.wikipedia.org/wiki/Kva%C5%A1en%C3%AD>
- http://en.wikipedia.org/wiki/Fermentation_%28biochemistry%29
- <http://cs.wikipedia.org/wiki/Kvasinky>
- http://cs.wikipedia.org/wiki/Alkoholov%C3%A9_kva%C5%A1en%C3%AD
- VOET, Donald a Judith G VOET. *Biochemistry*. 4th ed. Hoboken, NJ: John Wiley, c2011, xxv, 1428, 53 p. ISBN 04-709-1745-8.
- KOOLMAN, Jan a Klaus-Heinrich RÖHM. *Color atlas of biochemistry*. 2nd ed., rev. and enl. New York: Thieme, c2005, x, 467 p. Thieme flexibook. ISBN 15-889-0247-1.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ