

# Název: Projevy živé hmoty – rychlost metabolismu

**Téma: Obecné vlastnosti živé hmoty**

**Úroveň: střední škola**

**Tematický celek: Obecné zákonitosti přírodovědných disciplín a principy poznání ve vědě**

**Předmět (obor): biologie**

**Doporučený věk žáků: 1.–4. ročník SŠ (tj. 15–18 let)**

**Doba trvání: 2–4 hodiny laboratorní práce (+ domácí příprava)**

**Specifický cíl: naučit žáky naplánovat a provést badatelskou činnost (vyhledat relevantní informace, formulovat a ověřit hypotézu) a správně ji vyhodnotit (formulovat závěry), prezentovat výsledky**

## Seznam potřebného materiálu:

### Úloha 1 „Stanovení optimálních podmínek pro metabolickou aktivitu kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*“:

pro každou skupinu: 5× láhev, 5× nafukovací balónek, pekařské kvasnice (pro každou skupinu 4 balíčky), cukr, voda, lžička, nálevka, tyčinka, fix, led, 4× vodní lázeň, 3× trojnožka se sítkem, 3× kahan, teploměr, ocet, 10% roztok amoniaku nebo mýdlová voda, pH papírky, 2 kapátka

### Úloha 2 „Soutěž“:

pro každou skupinu: 1 prázdná láhev, 1 nafukovací balónek, 1 kostka pekařského droždí, 150 g cukru, 300 ml vody, tyčinka, nálevka, vodní lázeň, teploměr, trojnožka se sítkou, kahan, ocet, 10% roztok amoniaku nebo mýdlová voda, pH papírky, kapátka

## Seznam praktických (badatelských) aktivit:

Zkoumání faktorů ovlivňujících metabolismus kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* (vyhledání informací, formulace a ověřování hypotéz, prezentace výsledků)

## Anotace:

V této části je pozornost zaměřena na rychlost a intenzitu metabolismu (tedy propojení biologie s chemií, s reakční kinetikou a ovlivňováním rovnováhy reakce). Žáci zkoumají, jak optimalizovat faktory ovlivňující rychlost a intenzitu metabolismu. Odpovídají na otázku, jak zařídit, aby buňka metabolizovala na maximum, tzn. co nejvíce a co nejrychleji.

Vhodná je domácí teoretická příprava, ve škole pak výběr vhodných faktorů a hypotéz. Část experimentů mohou žáci provádět ve škole (1–2 hodiny laboratorní práce), část doma. Při vhodně zvoleném provedení lze celou úlohu 1 „Stanovení optimálních podmínek pro metabolickou aktivitu kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*“ realizovat i za domácí úkol (nutná průběžná konzultace s vyučujícím).

V rámci domácí přípravy dále žáci vytvářejí prezentaci zjištěných výsledků, kterou (ve skupinách) přednesou na začátku závěrečné dvouhodinové laboratorní práce v rámci simulované „vědecké konference“. Výsledky své práce shrnou skupiny ve formě prezentace či posteru.

Bádání žáků je završeno úlohou 2 „Soutěž“. Žáci ve skupinách soutěží mezi sebou. Jejich úkolem je optimalizovat jednotlivé faktory a navrhnout takové uspořádání experimentu, aby kvasinky metabolizovaly co nejintenzivněji. Vítězí skupina, která nafoukne balónek co nejvíce.

Úlohy jsou určeny pro žáky SŠ, nejlépe se hodí v přírodovědném semináři či hodinách (obecné) biologie nebo (obecné) chemie. Eventuelně je lze realizovat v rámci projektové výuky.

## Harmonogram výuky:

	náplň práce	čas	potřebné vybavení a pomůcky	činnost učitele	činnosti žáků
Úvod do tématu – motivace	Úloha 1	Domácí příprava	Pracovní listy, literatura, internet	Rozdělení žáků do skupin, kontrola domácích úkolů, pomoc s formulací hypotézy, příprava pomůcek a materiálu pro praktickou činnost	Vyhledávání relevantních informací, formulace hypotézy, příprava některých pomůcek a materiálu pro praktickou činnost
Předlaboratorní příprava					
Praktická (badatelská) činnost		45–90 minut	Viz výše	Příprava pomůcek a materiálu pro praktickou činnost, kontrola správnosti postupu	Práce ve skupinách, konzultace postupu práce, zaznamenávání pozorování
Prezentace výsledků	„Vědecká konference“	45 minut	Každá skupina: prezentace nebo poster	Moderování a usměrňování prezentace žáků	Formulace a prezentace výsledků bádání
Vyhodnocení výsledků	Úloha 2 „Soutěž“	45 minut	Viz výše	Moderování a usměrňování prezentace žáků, vyhlášení (příp. odměnění) vítěze	Praktické ověření výsledků bádání a porovnání s výsledky ostatních skupin

**Domácí úkol pro žáky:** V domácím provedení možno řešit celou úlohu 1 nebo pouze její některé části (viz níže). Za domácí úkol si žáci ve skupinách připraví prezentaci (v PowerPointu či formou posteru) výsledků své práce na úloze 1.

# Přípravy pro učitele

---

## Plán aktivit:

### Úloha 1 „Stanovení optimálních podmínek pro metabolickou aktivitu kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*“

Individuální domácí teoretická příprava (1 DÚ).

Ve škole vytvoření skupin (po 5 žácích), výběr faktorů pro zkoumání a stanovení hypotéz, následně ověření hypotéz, které je nutné realizovat v laboratoři (celkem 1–2 vyuč. hodiny laboratorní práce). Ověření hypotéz, které lze realizovat doma (asi 3 DÚ). Při vhodně zvoleném provedení lze celou úlohu 1 realizovat za domácí úkol (nutná průběžná konzultace postupů s vyučujícím!), příp. je možné úlohu 1 modifikovat a každá skupina může zkoumat vliv pouze jednoho faktoru apod.

Domácí příprava prezentace výsledků práce na úloze 1 ve formě ppt prezentace či posteru (skupinová práce; 1 DÚ).

Prezentace výsledků („vědecká konference“, 1 vyuč. hodina).

### Úloha 2 „Soutěž“

Soutěž skupin v laboratoři (skupiny po 5 žácích, stejné složení jako u úlohy 1 „Stanovení optimálních podmínek pro metabolickou aktivitu kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*“; 1 vyučovací hodina), vyhodnocení.

Tisková verze pro žáky: soubor Projevy zive hmoty II – tisk pro zaky.pdf

Níže následují konkrétní přípravy pro učitele, a poté učební materiály pro žáky (tj. pracovní listy). V přípravách pro učitele jsou **červeně** napsány poznámky pro učitele (jedná se o doporučení, návodné otázky pro žáky, metodické pokyny, návrhy experimentů, přepokládané výsledky atd.).

## **Úloha 1: Stanovení optimálních podmínek pro metabolickou aktivitu kvasinek *Saccharomyces cerevisiae***

Každý z vás si může vyzkoušet jednoduchý pokus: Do láhve dejte kousek kvasnic, cukr a teplou vodu a na láhev nasadte balónek. Tušíte, co se po chvíli začne dít? Ano, kvasnice začnou metabolizovat cukr a kvasit, při čemž se uvolňuje plyn, který nafoukne balónek. Kvašení je enzymaticky katalyzovaný proces, který ovlivňuje celá řada faktorů.

Otázkou proto je, **jak experiment optimalizovat tak, aby buňky kvasinek metabolizovaly na maximum, tzn. co nejvíce a co nejrychleji.**

### **Definice problému:**

Jak zjistíte, že buňka maximálně metabolizuje?

Při maximální rychlosti metabolismu se balónek nafoukne nejrychleji, při max. intenzitě se nafoukne nejvíce.

**Individuální teoretická domácí příprava („Co už víte nebo zjistíte“). Ve škole poté vytvoření skupin (po 5 žácích – počet žáků ve skupině by měl odpovídat počtu vzorků u experimentů), výběr faktorů pro zkoumání a stanovení hypotéz, následně ověření hypotéz, které je nutné realizovat v laboratoři; doma ověření hypotéz, které není nutné realizovat v laboratoři; na závěr prezentace výsledků („vědecká konference“).**

### **Co už víte nebo zjistíte:**

#### **Které faktory ovlivňují rychlost enzymaticky katalyzovaných reakcí?**

Na rychlost reakcí katalyzovaných enzymy má vliv celá řada fyzikálních, chemických, biologických a mechanických faktorů. Mezi nejdůležitější faktory patří:

**teplota, pH, množství enzymu, kvalita a obsah živin (substrátu) a přítomnost aktivátorů a inhibitorů.**

Pro každý enzym platí, že má určité optimum – teplotní, pH. Pro různé enzymy se toto optimum liší. Pro teplotu obecně platí, že s její vzrůstající hodnotou roste rychlost reakce. Při zvýšení teploty o 10 °C se rychlost zvýší 2–4krát (van't Hoffovo pravidlo). Pro enzymy platí van't Hoffovo pravidlo jen v rozmezí od 10 do 40 °C. Při vyšších nebo nižších teplotách je činnost enzymů silně potlačena. (Čerstvé pekařské droždí musí být skladováno při teplotách od 1 do 10 °C, což je teplota, při které droždí nepracuje, a tím je garantována jeho kvalita po celou dobu trvanlivosti až do okamžiku jeho spotřeby. Naopak při vysokých teplotách (nad 55 °C) se enzymy ničí a kvasinky hynou). Pro každý enzym lze nalézt optimální teplotu, kdy dosahuje nejvyšší účinnosti (obvykle je to kolem 37 °C). Ostatně pokud doma pečete, víte, že se při tvorbě kvásku do těsta přidává vlažná voda nebo mléko s maximální teplotou asi 40 °C. Pro pH platí, že enzymy mají zpravidla určitou optimální oblast pH, v níž je účinnost enzymu nejvyšší. Rychlost enzymové reakce závisí také na množství enzymu (rychlost reakce se zvyšuje přímo úměrně množství enzymu za předpokladu dostatečného množství substrátu) a na množství substrátu (s rostoucí koncentrací substrátu roste rychlost reakce tak dlouho, dokud se neobsadí všechna tzv. aktivní centra enzymu).

## **Jak je možné ovlivnit rovnováhu reakce?**

Obecně lze rovnováhu reakce ovlivnit teplotou (endotermické reakce podpoří zahřátí, exotermické ochlazení; alkoholové kvašení je exotermická reakce; vliv teploty na rovnováhu není příliš významný, na rozdíl od jejího vlivu na rychlost reakce), koncentrací výchozích látek, resp. produktů (např. při přidání cukru, jakožto výchozí látky, se rovnováha posune ve směru produktů, tedy vytvoří se více CO<sub>2</sub>, za předpokladu, že je přítomný dostatek enzymu, tedy kvasnic), tlakem (ale pouze u reakcí v plynné fázi, kde se liší počet molů reaktantů a produktů, což není náš případ).

## **Výběr faktorů pro zkoumání metabolické aktivity kvasinek (aneb co všechno může mít vliv na to, jak moc a jak rychle se nafoukne balónek) a stanovení dílčích hypotéz:**

Vyberte alespoň 3 faktory (ideálně 4 faktory), o nichž si myslíte, že budou mít největší vliv na intenzitu a rychlost metabolismu a množení kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* a stanovte pro každý faktor hypotézu.

### **Faktor 1 – hypotéza:**

**TEPLOTA** – s rostoucí teplotou roste rychlost reakce; enzymy se však inaktivují při určité teplotě (denaturují se proteiny); proto existuje teplotní optimum

### **Faktor 2 – hypotéza:**

**pH** – enzym je účinný pouze v určité oblasti pH (pH-optimum); mimo tuto oblast klesá jeho účinnost

### **Faktor 3 – hypotéza:**

**MNOŽSTVÍ ENZYMU** – se zvyšujícím se množstvím kvasnic (enzymu) roste rychlost reakce (za předpokladu dostatku substrátu)

### **Faktor 4 – hypotéza:**

**KONCENTRACE SUBSTRÁTU** – možno měnit dvojitým způsobem:

- a) **množství cukru** – s rostoucím množstvím (koncentrací) substrátu roste rychlost reakce, až do té doby, než jsou „zaměstnány“ všechny enzymy
- b) **množství vody** – s klesajícím množstvím vody (tj. s rostoucí koncentrací substrátu – cukru) roste rychlost reakce, až do té doby, než jsou „zaměstnány“ všechny enzymy

Dále je možné zkoumat např. vliv různých substrátů na rychlost a intenzitu reakce (porovnat např. glukózu, fruktózu, sacharózu, škrob) apod.

**Hypotéza: Pro každý faktor bude existovat optimum, kdy bude intenzita metabolismu maximální.**

## Návrh experimentů k ověření hypotéz:

Co budete měřit nebo porovnávat? Jakým způsobem? Co k tomu budete potřebovat?

Pro každý faktor navrhnete vlastní experiment. Experimenty následně ověřte. Nezapomeňte vždy uvést pomůcky a materiál, který k provedení pokusu budete potřebovat, a popsat postup práce. Které experimenty je nutné realizovat ve škole? Proč? (Přemýšlejte, zda bude nutné použít nějaké chemikálie či přístroje.) Které experimenty byste mohli provést doma? Kolik navrhnete použít u každého experimentu vzorků?

## Doporučení:

U každého faktoru použít alespoň 3–4 vzorky + vzorek kontrolní. Učitel by se měl ujistit, že žáci chápou pojem „kontrolní vzorek“ a proč se používá.

Pro láhev o max. objemu 500 ml (ideálně 330 ml) doporučuji pro kontrolní vzorek použít cca 60 ml vody, 1–2 lžičky cukru (cca 5–10 g), osminu až čtvrtinu kvasnic (cca 5–10 g). Pro danou velikost láhve nedávat při pokusech více než třetinu kvasnic (pak by to „vypěnilo“ ven).

**Pro každý experiment jsou třeba následující pomůcky a materiál (další bude příp. uvedeno u konkrétního experimentu): 5× láhev (plastová či skleněná, stejného objemu, doporučuji plastové láhve od Kubíka, mohou donést sami žáci), 5× nafukovací balónek (který lze nasadit na ústí láhve), pekařské kvasnice (celkem pro každou skupinu 4 balíčky), cukr, voda, lžička, nálevka, tyčinka, fix**

**Pokud použijete kontrolní vzorek, navrhnete, co bude obsahovat a v jakém množství:**

Např.: 2 lžičky (či 2 kostky) cukru, 5 g kvasnic, 60 ml teplé vody z kohoutku (37–40 °C)

**Je možné vybrat si k ověřování pouze některé faktory (záleží na času, který pro úlohu bude vymezen). Ve školní laboratoři otestovat vliv pH (pracuje se s amoniakem!), příp. i teploty (při zapůjčení teploměru a vhodném uspořádání pokusu mohou žáci zkoumat vliv teploty i doma; event. lze pokus s pH modifikovat a místo amoniaku použít mýdlovou vodu, pak lze při zapůjčení pH papírků pokus provádět také doma). Vliv zbývajících faktorů lze bez problémů zkoumat doma.**

## Faktor 1: Stanovení teplotního optima pro metabolickou činnost kvasinek

**Hypotéza: S rostoucí teplotou bude růst metabolická aktivita kvasinek, ale pouze do určité hodnoty (teplotního optima), pak bude prudce klesat.**

**Otázky:** Jaké zvolíte pro pokus teploty? Jakým způsobem budete směsi zahřívat, resp. chladit?

## **Pomůcky a materiál:**

5× láhev (plastová či skleněná, stejného objemu), 5× nafukovací balónek (který lze nasadit na ústí láhve), pekařské kvasnice, cukr, voda, lžička, nálevka, tyčinka, fix, led, 4× vodní lázeň, 3× trojnožka se sítkem, 3× kahan, alespoň 1 (ideálně 5×) teploměr

## **Postup provedení:**

Láhve a vodní lázně označíme čísly 1, 2, 3, 4, 5.

Jednotlivé vodní lázně zahříváme, resp. chladíme na zvolené teploty (např. první vodní lázeň se studenou vodou chladíme ledem na 10 °C, druhou vodní lázeň nezahříváme ani nechladíme – je laboratorní teploty, tj. cca 25 °C – změříme teploměrem, třetí lázeň zahříváme na teplotu těla, tj. 37–40 °C, čtvrtou lázeň zahříváme na 50 °C, pátou lázeň zahříváme na 90 °C).

Do každé láhve dáme jednu či dvě lžičky (či kostky) cukru.

Do každé láhve odměříme 60 ml vody (množství upravíme dle velikosti láhve) a láhve dáme do příslušné vodní

lázně vytemperovat na danou teplotu.

Poté do každé kádinky rozdrobíme 5 g kvasnic, lehce zamícháme.

Na hrdlo každé láhve zároveň nasadíme vyfouknutý balónek a pozorujeme.

Zaznamenáme čas, kdy dojde k nafouknutí (vztyčení balónku) nebo zaznamenáme stav po 5, 10, 15, 20, 25 minutách, event. po 25 minutách porovnáme míru nafouknutí balónků.

### **Poznámky:**

Doporučena je skupinová práce žáků (5 žáků ve skupině).

Pozor na láhve s úzkým hrdlem – je důležité, aby žádné kvasnice nezůstaly na hrdle láhve (zejména v případě s horkou vodou, kde by přítomnost živých kvasinek zkrasila výsledky)!

Experiment lze provést v jednodušším uspořádání – s PET láhvemi, bez vodních lázní, kdy do každé láhve nalijeme vodu jiné teploty (je třeba změřit jaké). Pozor ale, horká voda může zdeformovat plastovou láhev!

U experimentu by měl být ještě „slepý vzorek“, který se připraví stejným způsobem jako „normální vzorek“, pouze s tím rozdílem, že nebude obsahovat kvasnice. Slepý vzorek se dává proto, aby se vyloučilo, že plyn vzniká jiným způsobem než metabolickou aktivitou kvasnic. (Někoho by mohlo třeba napadnout, že se v horké vodě vytváří vodní pára, která nafoukne balónek místo CO<sub>2</sub>.)

Pokus lze provádět i doma. Místo zahřívání vodní lázně kahanem se pak směs položí např. na teplý radiátor, dá do horké trouby, kvasinky se zalijí vařící vodou z rychlovarné konvice apod. V případě horké trouby pozor – hrozí nebezpečí spálení! Pozor také, aby se balónek nedotýkal trouby – předem z trouby vyndáme rošt a celou dobu pokusu ho pozorně sledujeme. Po delší době působení vysoké teploty, nebo pokud se balónek dotýká horké trouby, může dojít k jeho roztavení. V případě potřeby troubu ihned vypneme. Celou „aparaturu“ vyndáváme ven z trouby, až když je zchladlá!

### **Výsledky:**

V prvním uspořádání pokusu, za chladu, se balónek nenafoukl vůbec, protože klesla intenzita metabolismu (i množení buněk) kvasinek, takže se produkovalo velmi málo CO<sub>2</sub>. V druhém, třetím a čtvrtém uspořádání pokusu došlo k nafouknutí balónků (čtvrtý se nafoukl nejdříve, pak třetí a nakonec druhý – ten se nafoukl až po několika desítkách minut). Za vysoké teploty (pátý vzorek, 90 °C) se balónek nenafoukl vůbec.

Výsledky experimentu žáci přehledně zaznamenají např. do tabulky. Mohou se pokusit nakreslit graf vyjadřující, jakým způsobem závisí metabolická aktivita (míra nafouknutí balónku) na teplotě, vložit fotografie z průběhu či konce pokusu apod.

### **Závěr:**

Dokázali jsme, že s rostoucí teplotou roste rychlost tvorby CO<sub>2</sub>, který nafukuje balónek. Platí to však pouze v určitém teplotním rozmezí, jak bylo vidět v uspořádání pokusu. Při dosažení určité kritické hodnoty teploty kvasinky hynou, tudíž se přestávají množit i metabolizovat, a tím pádem i produkovat oxid uhličitý. Za nízkých teplot se zpomaluje jejich metabolismus a přestávají se množit. Závěrem lze říci, že nejlepší podmínky pro růst, množení a metabolickou aktivitu mají buňky kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* za tepla (nikoliv však za horka).

**Poznámka:** Žáci by měli na základě svého experimentu uvést konkrétní hodnotu optimální teploty.

### **Doplnění:**

**Co se stane s jednotlivými vzorky, pokud je po provedení pokusu necháme hodinu (i déle) stát mimo vodní lázeň při pokojové teplotě? V čem se liší výsledek experimentu u vzorků 1 a 5?**

Kvasinky z uspořádání 1, 2, 3, 4 budou metabolicky aktivní – budou kvasit, tj. produkovat CO<sub>2</sub> a budou se množit (pučet). Kvasinky v uspořádání 5 jsou mrtvé, takže se nemohou množit ani metabolizovat. Pouze klesnou ke dnu.

**Jak rozlišíme živé buňky od mrtvých? Tj. jak zjistíme, zda je rozdíl mezi buňkami u vzorků 1 a 5?**

Pro rozlišení živých a mrtvých buněk je možné použít vitální test s vodným roztokem methylenové modři. Test je založen na poznání, že živé buňky mají polopropustnou (semipermeabilní) membránu, která nepropouští barvivo vůbec nebo jen nepatrně. Naopak odumřelé buňky mají membránu pro barvivo zcela propustnou (permeabilní). Mrtvé buňky se barví intenzivně modře, živé jsou bílé. Vedle toho je u živých buněk také možné pozorovat pučení.

**Pomůcky a materiál:** suspenze kvasinek ze vzorku 1, 3, 5; 0,01% vodný roztok methylenové modři (roztok by měl být starý cca 10 DNÍ), potřeby k mikroskopování (mikroskop, podložní a krycí sklíčka, voda, kapátko)

#### **Postup provedení:**

Přeneseme kapku suspenze ze vzorku 1, 3 a 5 na tři samostatná podložní sklíčka a připravíme tři preparáty, které pozorujeme pod mikroskopem. Pokud chceme rozlišit živé a mrtvé buňky, k suspenzi droždí na podložním skle kápneme methylenovou modř.

#### **Důležité poznámky:**

Pučící buňky jsou lépe pozorovatelné ve starší suspenzi vzorků s kvasinkami (připravené alespoň NĚKOLIK DESÍTEK MINUT předem).

Doporučuji použít co možná největší zvětšení – minimálně 400×, lépe ještě větší (optimálně 1000×). Při zvětšení alespoň 600× lze u kvasinek pozorovat jádro a vakuolu, lépe jsou též pozorovatelné pučící buňky.

#### **Výsledky + nákres:**

U všech tří preparátů jsme pozorovali útvary kulovitěho tvaru, tj. buňky kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. U prvního a druhého preparátu jsme pozorovali pučící kvasinky. Po přikápnutí methylenové modři se modře zbarvilo nejvíce buněk u třetího preparátu (prakticky všechny).

#### **Závěr:**

Nejintenzivněji se buňky kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* rozmnožovaly v teplé (ne však horké) vodě (vzorek 3), pod mikroskopem jsme pozorovali nejvíce pučících buněk. Za chladu (vzorek 1) se množily pomaleji. Za horka (vzorek 5) se kvasinky nemnožily vůbec (nepozorovali jsme žádné pučící buňky), kvasinky byly mrtvé (methylenovou modří se obarvily modře).

**Poznámka:** Žáci mohou udat přibližný poměr živých a mrtvých buněk v jednotlivých vzorcích a porovnat, jak se tento poměr mění v závislosti na změně teploty.

### **Faktor 2: Stanovení pH optima pro metabolickou činnost kvasinek**

**Hypotéza: Kvasinky mají pH optimum, kdy vykazují největší metabolickou aktivitu.**

**Otázky:** Jak připravíte roztoky o různých hodnotách pH? Co použijete k okyselení vody? Jak upravíte pH, aby bylo v zásadité oblasti?

#### **Pomůcky a materiál:**

4x láhev (skleněná či plastová, stejného objemu), 4x nafukovací balónek (který lze nasadit na ústí láhve), pekařské kvasnice, cukr, voda, lžička, nálevka, tyčinka, fix, ocet, 10% roztok amoniaku nebo mýdlová voda, pH papírky, 2 kapátka

#### **Postup provedení:**

Láhve označíme čísly 1, 2, 3, 4.

Do každé láhve dáme jednu či dvě lžičky (nebo kostky) cukru.

Do láhve 1 odměříme 60 ml octa (má pH asi 3), do láhve 2 odměříme 60 ml směsi vody z kohoutku a octa tak, aby výsledné pH bylo 4–5, do láhve 3 dáme 60 ml vody z kohoutku a pouze změříme pH (bude kolem 6), do láhve 4 dáme 60 ml mýdlové vody (pH upravíme tak, aby bylo 8–9) nebo přikapáváme roztok amoniaku (ve škole).

Do každé láhve rozdrobíme 5 g kvasnic.

Obsah každé láhve opatrně zamícháme.

Na hrdlo každé láhve zároveň nasadíme vyfouknutý balónek a pozorujeme.

Příp. pro urychlení můžeme láhve postavit třeba k zapnutému radiátoru.

Zaznamenejme čas, kdy dojde k nafouknutí (vztyčení balónku) nebo

zaznamenejme stav po 5, 10, 15, 20, 25 minutách, event. po 25 minutách

porovnáme míru nafouknutí balónků.

#### **Výsledky:**

Nejrychleji se nafouknul balónek na láhvi 3, tedy ve slabě kyselé oblasti (viz foto). Poté na láhvi 4 (zásadité pH), následně na láhvi 2 (kyselé pH, asi 4–5).





Balónek na láhvi 1 (v silně kyselé oblasti) se za dobu trvání experimentu (45 minut) nenafouknuv vůbec. Žáci mohou zkusit nakreslit graf závislosti intenzity metabolismu na změně pH. (Pro to je vhodné mít ale větší počet vzorků).

#### **Závěr:**

Optimální pH pro kvašení kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* je slabě kyselé.

### **Faktor 3: Stanovení optimálního množství kvasnic**

**Hypotéza: S rostoucím množstvím kvasnic (tj. s rostoucím množstvím enzymu) bude růst rychlost a množství uvolněného CO<sub>2</sub>.**

**Pomůcky a materiál:** 5× láhev (skleněná či plastová, stejného objemu), 5× nafukovací balónek (který lze nasadit na ústí láhve), pekařské kvasnice, cukr, voda, lžička, nálevka, tyčinka, fix

#### **Postup provedení:**

Láhve označíme čísly 1, 2, 3, 4, 5.

Do každé láhve dáme 2 lžičky (či kostky) cukru.

Do každé láhve odměříme 60 ml teplé vody z kohoutku (cca 37 °C; množství upravíme dle velikosti láhve).

Do láhve 1 rozdrobíme 1 g kvasnic, do láhve 2 rozdrobíme 5 g kvasnic, do láhve 3 rozdrobíme 10 g kvasnic, do láhve 4 rozdrobíme 15 g kvasnic, do láhve 5 rozdrobíme 20 gramů kvasnic. (Množství lze zvolit libovolně, ale nutno zaznamenat hodnoty!)

Obsah každé láhve lehce zamícháme (pomalým kroužením, event. tyčinkou).

Na hrdlo každé láhve zároveň nasadíme vyfouknutý balónek a pozorujeme.

Příp. pro urychlení můžeme láhve postavit třeba k zapnutému radiátoru.

Zaznamenáme čas, kdy dojde k nafouknutí (vztyčení balónku) nebo zaznamenáme stav po 5, 10, 15, 20, 25 minutách, event. po 25 minutách porovnáme míru nafouknutí balóneků.

#### **Výsledky:**

Nejprve se nafouknuv balónek na láhvi 5, pak 4, 3, 2 a nakonec 1.

#### **Závěr:**

S rostoucím množstvím kvasnic (enzymu) rostla rychlost reakce.

**Poznámka:** Případně je možné do jedné láhve dát hodně velké množství kvasnic a ukázat tak, že po dosažení určitého množství enzymu už reakce rychleji nepoběží a optimální množství kvasnic proto není maximální, ale menší. Možné je též nakreslit graf a ukázat, kdy už bylo enzymu (kvasnic) moc a rychlost reakce se už nezvyšovala.

### **Faktor 4a: Stanovení optimálního množství cukru**

**Hypotéza: S rostoucím množstvím cukru (tj. s rostoucím množstvím substrátu enzymu) bude růst metabolická aktivita kvasinek.**

#### **Pomůcky a materiál:**

5× láhev (skleněná či plastová, stejného objemu), 5× nafukovací balónek (který lze nasadit na ústí láhve), pekařské kvasnice, cukr, voda, lžička, nálevka, tyčinka, fix

#### **Postup provedení:**

Láhve označíme čísly 1, 2, 3, 4, 5.

Do láhve 1 dáme jednu lžičku (či kostku) cukru, do láhve 2 dáme dvě lžičky cukru, do láhve 3 dáme čtyři lžičky cukru, do láhve 4 dáme osm lžiček cukru, do láhve 5 dáme dvanáct lžiček cukru. (Množství lze zvolit libovolně, ale nutno zaznamenat hodnoty!)

Do každé láhve odměříme 60 ml teplé vody z kohoutku (cca 37 °C; množství upravíme dle velikosti láhve).

Do každé láhve rozdrobíme 5 či 10 g kvasnic.

Pomalým kroužením lehce zamícháme obsah jednotlivých láhví.

Na hrdlo každé láhve zároveň nasadíme vyfouknutý balónek a pozorujeme.

Příp. pro urychlení můžeme láhve postavit třeba k zapnutému radiátoru.

Zaznamenáme čas, kdy dojde k nafouknutí (vztyčení balónku) nebo zaznamenáme stav po 5, 10, 15, 20, 25 minutách, event. po 25 minutách porovnáme míru nafouknutí balónků.

#### **Výsledky:**

Nejprve se nafouknul balónek na láhvi 2, pak na láhvi 1 a takřka zároveň na láhvi 3. Naposledy se nafouknul balónek na láhvi 4. Balónek na láhvi 5 se nenafouknul vůbec.

#### **Závěr:**

S rostoucí koncentrací cukerného roztoku (substrátu) roste rychlost reakce. Ovšem pouze pokud je dostatek kvasnic (tj. enzymu, kterého je všude stejně). Pokud je cukerný roztok příliš koncentrovaný, balónek se nenafoukne vůbec nebo jen málo. Lze spekulovat, že je to tím, že se buňky kvasinek ocitnou v hypertonickém roztoku, kde nemohou metabolizovat (je z nich „vysávána“ voda, hynou).

#### **Faktor 4b: Stanovení optimálního množství vody**

**Hypotéza: S rostoucí koncentrací cukerného roztoku, tj. s klesajícím množstvím vody, bude růst metabolická aktivita kvasinek.**

#### **Pomůcky a materiál:**

5× láhev (skleněná či plastová, stejného objemu), 5× nafukovací balónek (který lze nasadit na ústí láhve), pekařské kvasnice, cukr, voda, lžička, nálevka, tyčinka, fix

#### **Postup provedení:**

Láhve označíme čísly 1, 2, 3, 4, 5.

Do každé láhve dáme 2 lžičky (nebo kostky) cukru.

Do láhve 1 odměříme 20 ml vody, do láhve 2 dáme 60 ml vody, do láhve 3 odměříme 100 ml vody, do láhve 4 dáme 140 ml vody, do láhve 5 odměříme 180 ml vody. (Množství lze zvolit libovolně, ale nutno zaznamenat hodnoty! Teplota vody by měla být asi 37 °C.)

Do každé láhve rozdrobíme 5 g kvasnic.

Obsah každé láhve lehce promícháme.

Na hrdlo každé láhve zároveň nasadíme vyfouknutý balónek a pozorujeme.

Příp. pro urychlení můžeme láhve postavit třeba k zapnutému radiátoru.

Zaznamenáme čas, kdy dojde k nafouknutí (vztyčení balónku) nebo zaznamenáme stav po 5, 10, 15, 20, 25 minutách, event. po 25 minutách porovnáme míru nafouknutí balónků.

#### **Výsledky:**

Nejprve se nafouknul balónek 1 (10 minut), pak 2 (12 minut), 3 (18 minut), 4 (19 minut) a nakonec 5 (23 minut).

#### **Závěr:**

S rostoucí koncentrací cukerného roztoku (tj. s klesajícím množstvím vody) roste rychlost reakce.

**Poznámka:** Může nastat totéž, co v případě 4a – při příliš velké koncentraci cukerného roztoku nemusí být rychlost reakce nejvyšší.

**Závěr:** Shrňte získané výsledky a zformulujte závěr.

Kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* maximálně metabolizují a množí se v teplé vodě (kolem 37 °C) za slabě kyselého pH. Optimální poměr kvasnic a cukru je v 60 ml vody asi 5–10 g kvasnic a 2 lžičky cukru. Pokud na dané množství cukru přidáme množství kvasnic, rychlost reakce vzroste.

### Prezentace výsledků:

Představte si, že jste účastníky vědecké konference, na které máte prezentovat výsledky své práce (úlohy 1 „Stanovení optimálních podmínek pro metabolickou aktivitu kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*“). Připravte si (ve skupinách, v nichž jste pracovali) pro tento účel pětiminutový výstup. Výsledky můžete prezentovat s použitím PowerPointové prezentace nebo posteru.

**Poznámka:** Po prezentaci skupin může následovat diskuze.

### Úloha 2: Soutěž

Skupinová práce (skupiny po 5 žácích, stejné složení skupin jako při řešení úlohy 1 „Stanovení optimálních podmínek pro metabolickou aktivitu kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*“).

**Zadání:** Na základě provedených pokusů optimalizujte jednotlivé faktory a navrhňte takové uspořádání experimentu, aby kvasinky metabolizovaly co nejintenzivněji – aby se tudíž co nejvíce nafouknul balónek.

**K dispozici máte (každá skupina):** 1 láhev (láhve pro všechny skupiny musí být stejné), 1 balónek, 1 kostku pekařského droždí (42 g), 150 g cukru, 300 ml vody, tyčinku, nálevku, vodní lázeň, teploměr, trojnožku se sítkou, kahan, ocet, 10% roztok amoniaku (nebo mýdlovou vodu), pH papírky, kapátko

Vítězná skupina může dostat odměnu (ideálně kynutou) 😊.

### Zdroje:

Ouřadová, V. a Zikánová, B. Jak funguje droždí? Laboratorní cvičení.

Biologie, chemie, zeměpis, 2011, roč. 20, č. 1, s. 17–21.

Rosypal, S. Nový přehled biologie. Praha: Scientia, 2003, ISBN 80-86960-23-4.

<http://yeast-lab.wikispaces.com/>

<http://www.math.unl.edu/~jump/Center1/Labs/What%20Affects%20Yeast%20Growth.pdf>

## Závěrečné poznámky

### Jiné varianty a další možné úpravy či doporučení:

Úlohy jsou určeny pro žáky SŠ, kteří by měli mít znalosti týkající se metabolismu a enzymů (obecná biologie, biochemie) a reakční kinetiky a rovnováhy reakcí (obecná chemie).

Vzhledem k větší časové náročnosti tohoto celku je možné úlohu 1 „Stanovení optimálních podmínek pro metabolickou aktivitu kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*“ upravit a zaměřit se třeba na zkoumání pouze jednoho faktoru. Pak lze úlohu zadat např. jako „Stanovte teplotní optimum pro metabolickou činnost kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*“. Nebo „Zjistěte, jaký vliv má teplota na metabolickou aktivitu kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*“. V tom případě lze vynechat úlohu 2 „Soutěž“.

V případě úlohy 1 je možné i provedení, kdy každá skupina zkoumá právě jeden konkrétní faktor.

Během pilotáže se ukázalo, že dvouhodinové laboratorní praktikum je v případě úlohy 1 přiměřenou časovou dotací pro zkoumání (minimálně) dvou faktorů; (v závislosti na dostatku pomůcek lze stihnout i faktorů více).

Úlohu 2 „Soutěž“ je možno modifikovat tak, aby zvítězila skupina, jejíž balónek se nafoukne nejrychleji (nikoli nejvíce).

### Reflexe po hodině:

Co se povedlo a co ne?

Je třeba něco zkusit znovu či jinak?

Byl výsledek v něčem překvapující?

K čemu je to dobré v praxi (znalost optimálních podmínek)?

### Navazující a rozšiřující aktivity:

Úlohy tohoto celku „Projevy živé hmoty – rychlost metabolismu“ je možné provádět v návaznosti na celek „Projevy živé hmoty“.