

GIMNAZIJA IN SREDNJA KEMIJSKA ŠOLA RUŠE

LABORATORIJSKE MATURITETNE VAJE ZA
BIOLOGIJO

1. VAJA

PREBAVA OGLJIKOVIH HIDRATOV

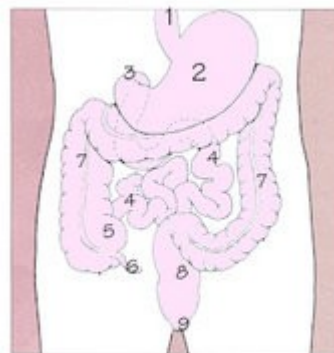
1. UVOD

Prebava pomeni mehanski in kemični proces pretvorbe zaužite hrane v manjše molekule, ki se v prebavilih lahko absorbirajo. S pomočjo prebave se zaužita hrana spremeni v obliko, ki omogoča organizmu pridobitev energije in sestavin za katabolične procese.

Ločimo: znotrajcelično prebavo, ki poteka v prebavni vakuoli celice in zunajcelično prebavo, ki poteka izven celice, zlasti v svetlini prebavil.

V prebavilih poteka prebava na različnih odsekih na različne načine:

- **Ustna votlina z žlezami slinavkami:** V ustih se hrana mehansko obdela s pomočjo zob. Ob pogledu na hrano, vonjanje le-te ali le ob misel nanjo se v ustni votlini pospeši izločanje sline. Slina je pomembna za žvečenje, okušanje in požiranje hrane, hkrati pa vsebuje prebavne encime. Ptialin, amilaza v slini, začne z razgradnjo ogljikovih hidratov v posamezne molekule sladkorjev. Zaradi delovanja amilaze dobi kruh, če ga dlje časa zadržimo v ustih, sladkast okus; amilaze namreč cepijo škrob v kruhu v disaharid maltozo.
- **Požiralnik:** Gladko mišičje v požiralniku potiska hrano v želodec. Zaradi kontrakcije cirkularnega in longitudinalnega sloja gladke mišičnine v steni požiralnika pride do pulzirajočega gibanja, ki ga imenujemo peristaltika.
- **Želodec:** Želodčne lastne žleze proizvajajo klorovodikovo kislino (denaturira beljakovine in uniči številne klice v hrani), sluz (ščiti želodčno steno pred klorovodikovo kislino), pepsinogen (predstopnja pepsina - encima, ki razkrajata beljakovine) in intrinzični faktor (omogoča resorpcijo vitamina B12 v teščem črevesu). Kašasta, homogenizirana vsebina želodca, ki nastane pod vplivom želodčnega soka, se imenuje himus.
- **Tanko črevo:** V tankem črevesu poteka nadaljna prebava himusa in resorpcija hranil, ki preko dverne vene prehajajo v jetra.
 - o **Dvanajsternik:** V dvanajsternik se izlivata žolč in pankreatični sok. Žolč je rumena, židka tekočina, ki vsebuje žolčne kisline oziroma njihove amide z glicinom in tavrinom, bilirubin, vodo in holesterol. Proizvaja se v jetrih, skladišči se v žolčniku, pri zaužitju hrane pa se sprosti v dvanajsternik in služi pri prebavi maščob. Žolčne kisline namreč emulgirajo maščobo v manjše maščobne kapljice, ki so tako bolj dostopne za prebavne encime. Pankreatični sok, ki nastaja v trebušni slinavki, nevtralizira kisel himus.
 - o **Tešče in vito črevo:** Tukaj se resorbira okoli 90 odstotkov žolčnih kislin, ki preko dverne dovodnice znova prehajajo v jetra in od tam v žolč.



Slika 1: Človeška prebavila:
1=Požiralnik, 2=Želodec,
3=Dvanajstnik, 4=Tanko črevo,
5=Slepo črevo, 6=Slepič,
7=Debelo črevo, 8=Danka,
9=Zadnjik

Debelo črevo: V debelem črevesu se absorbira 80-90% vode, ki je prisotna v hrani. Sestavine hrane, ki jih niso mogli razgraditi ne prebavni encimi ne mikroorganizmi, ki se nahajajo v debelem črevesu, se izločijo nespremenjene. Takšne sestavine pravimo, da so neprebavljive. V debelem črevesu se stolica shranjuje, kar omogoča peristaltika, ki poteka v obratno smer. Ko pride stolica v danko, se sproži defekacijski refleks.

Namen vaje:

- Spoznavanje procesa prebave
- Spoznavanje prebave škroba
- Kvalitativne reakcije za dokazovanje ogljikovih hidratov

Cilji:

- Znati kvalitativno dokazati prisotnost škroba in sladkorja
- Razumeti vlogo prebavnih encimov

2. POSTOPEK

Material:

- dializne vrečke
- čaše
- epruvete
- zamaški
- kapalke
- vrvica
- škarje
- kuhalnik
- alkoholni flomaster
- jodovica
- škrobovica
- Benediktova raztopina
- raztopina glukoze
- vodna kopel
- slina + voda

Metode dela:

-Testi za dokaz ogljikovih hidratov:

a) Škrobni test - ŠT (ugotavljanje škroba z jodovico)

b) Sladkorni test - ST (ugotavljanje sladkorja z Benediktovo raztopino)

3. REZULTATI

1. Testi za ogljikove hidrate (polisaharide in monosaharide)

a) Škrobni test – ŠT (z jodovico)



Slika1: Prikaz obarvanja škrobnega testa

b) Sladkorni test – ST (z Benediktovo raztopino)

Slika 2: Prikaz obarvanja sladkornega testa

Tabela 1: Prisotnost škroba in sladkorja v snoveh

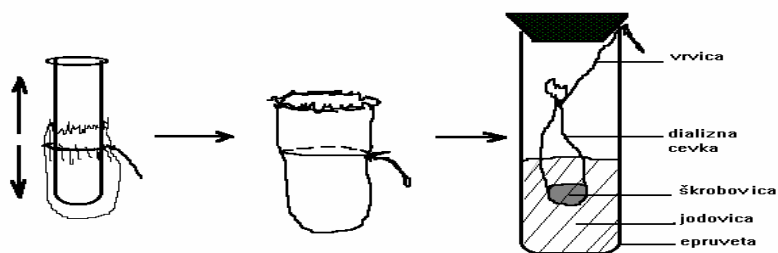
Testna raztopina	ŠT	ST
Slina	-	-
Škrobovica	+	-
Glukoza	-	+
Diastaza	-	-
Voda	-	-

2. Dializni poskusi:

Tabela 2: Prisotnost škroba in sladkorja v snoveh čez dve uri.

					Čez dve uri	
A	Dializna vrečka (1)	Epruveta(2)	ŠT1	ST1	ŠT2	ST1
B	Škrobovica	jodovica	+	-	-	-
C	Jodoviva	Škrobovica	-	-	+	-
Č	Glukoza	Voda	-	+	-	+
D	Škrobovica – diastaza	Voda	+(!)	-(!)	-	-
	Škrobovica - slina	Voda	-	-(!)	-	-

Rezultati Č in D so bili drugačni od naših pričakovanj zaradi prevelike čaše z vodo ki je zelo zmanjšala koncentracijo glukoze.



SLIKA 31: Potek dela za primer A

Slika 3: Skica primera dializnega poskusa

4. DISKUSIJA

1. *Kakšni so rezultati škrobnega in sladkornega testa?*

Imeli smo podane raztopine na katerih smo opravili sladkorni in škrobni test. Pred samimi rezultati smo postavili določene hipoteze in sicer, da bodo raztopine, ki vsebujejo škrob potemnele in da bodo raztopine, ki vsebujejo sladkor po končanem testu spremenile barvo, ki pa je odvisna od koncentracije sladkorja v raztopini.

In tako se je v prvem primeru, ko so raztopine prišle v stik z jodovico, le raztopina škroba obarvala temneje oz. je potemnela, kar pa je popolnoma razumljivo, saj smo opravljali škrobni test na raztopini škroba. Ostale raztopine pa ga očitno ne vsebujejo ali pa vsaj ne v tako veliki meri, da bi se to pokazalo. V drugem primeru je svojo barvo, v skladu s sladkornim testom spremenila glukoza. Obarvala se je najtemneje, iz česar lahko sklepamo, da je v njej koncentracija sladkorja velika. Raztopina škroba se je v primerjavi z glukozo šibkeje obarvali. To pa nam da vedeti, da je koncentracija sladkorja v njej nizka.

2. *Kaj lahko na podlagi poskusa sklepaš o velikosti škroba v primerjavi z delci jodovice?*

Ker je v obeh primerih prešla skozi dializno vrečko le jodovica lahko sklepamo, da so delci jodovice v primerjavi z delci škroba znatno manjši, saj lažje prehajajo

3. *Katera dva prebavna procesa sta prikazana s poskusom Č?*

Potekala je resorpcija hranilnih snovi skozi stene tankega črevesa in encimska razgradnja škroba, saj diastaza deluje na škrob kot encim, da se slednji razgradi in nastane sladkor, kar se je pokazalo s sladkornim testom dializne vrečke po poskusu.

4. *V čem sta si podobna in v čem sta si različna poskusa Č in D?*

Poskusa Č in D sta si podobna med seboj saj se je v obeh primerih škrob raztopil v sladkor, četudi smo uporabljali različne snovi - encime. (V našem primeru nismo zaznali sladkorja v ST2 zaradi premajhne koncentracije v primerjavi z vodo v čaši.)

5. *Kaj ti rezultati povedo o prebavi škroba?*

Encim amilaza v slini razgradi molekule škroba v disaharide maltoze, ki so dovolj »majhni«, da difundirajo skozi dializno cevko v vodo. To smo dokazali z Benediktovo raztopino, ki smo jo dodali vsebini epruvete in nato segrevali; rezultat je bilo delno obarvanje. Iz tega, da barva pri tem poskusu ni bila tako močna, lahko sklepamo, da encimi potrebujejo nekaj časa za razgradnjo ogljikovih hidratov, ki so težje prebavljivi S poskusi smo dokazali da se morajo molekule razgraditi na manjše delce da lahko vstopijo v celice in da pri takšni razgradnji potrebujemo encime.

6. *Zakaj dajejo v bolnišnicam bolnikom, ki jih hranijo umetno skozi žile; glukozo in ne škrob?*

Bolnike, ki jih hranijo umetno skozi žile, morajo dobivati glukozo in ne škrob, zato ker se škrob razgradi samo pod vplivom encima amilaze. Ta encim pa se ne nahaja v krvi, zato organizem ne more prebaviti škroba in lahko prebavi samo glukozo. Škrob se prebavi v ustih pod vplivom amilaze v sladkor (glukozo).

7. SKLEPI (ZAKLJUČKI)

- Večje molekule se morajo pred vstopom v celico razgraditi na manjše dele
- Jodovica je indikator za škrob
- Benediktova raztopina je indikator za sladkor
- Skozi celično membrano lahko potujejo le molekule primerne velikosti (monomere) in tako npr. škrob razgradi encim amilaza do maltoze in v nadaljnjem procesu do glukozе, zato da lahko difundira v krvni obtok
- Celična membrana je selektivno prepustna

2. VAJA

OPAZOVANJE RAZLIČNIH VRST CELIC Z MIKROSKOPOM

1. UVOD

Celica je strukturna in funkcionalna enota vseh živih organizmov. Celice so najmanjši deli organizmov, ki jih obravnavamo kot žive, zato jim pogosto pravimo tudi gradbeni elementi življenja. Nekateri organizmi, kot so bakterije so enoceličarji; sestavlja jih ena sama celica. Drugi organizmi, kot ljudje, so mnogocelični (človeško telo sestavlja približno 100 bilijonov celic). Celice so v povprečju velike 10-20 μm , s prostim očesom jih ne moremo videti. S svetlobnim mikroskopom (povečava do 2000 \times) vidimo celico kot vrečasto tvorbo, ki je obdana s celično membrano, izpolnjena s citoplazmo in ima celično jedro. Z elektronski mikroskopom (povečava do 1.000.000 \times) lahko opazujemo podrobno zgradbo celičnih organelov (ribosom, lizosom, endoplazemski retikulum, Golgijev aparat, mitohondrij), ki opravljajo različne naloge..

Namen vaje:

- Spoznavanje osnovnih značilnosti celične zgradbe
- Ugotavljanje razlik med celicami

Cilji:

- Znati ločiti rastlinske, živalske in bakterijske celice med seboj
- Poznati razlike v obliki, zgradbi in velikosti celic
- Poznati značilnosti trajnih preparatov

2. POSTOPEK

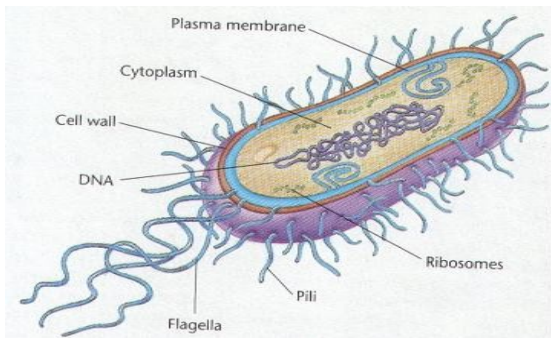
Material:

- mikroskop
- trajni preparat

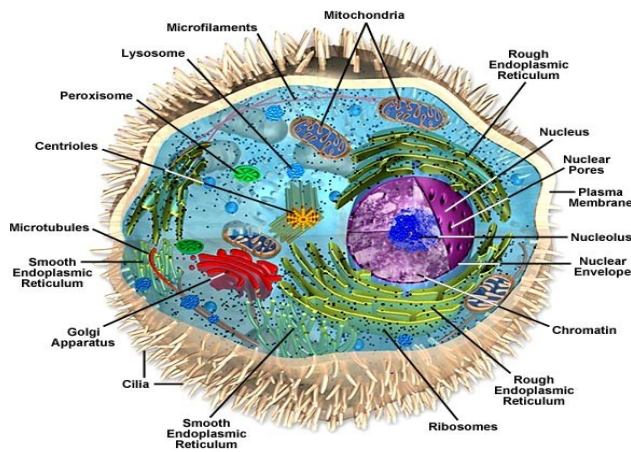
Metode dela:

- Spoznavanje zgradbe različnih celic
- Mikroskopiranje
- Risanje mikroskopskih skic

1. Spoznavanje celične zgradbe prokariotskih in evkariotskih celic



Slika 1: Skica prokariotske celice



Slika 2: Skica evkariotske celice (živalska celica)

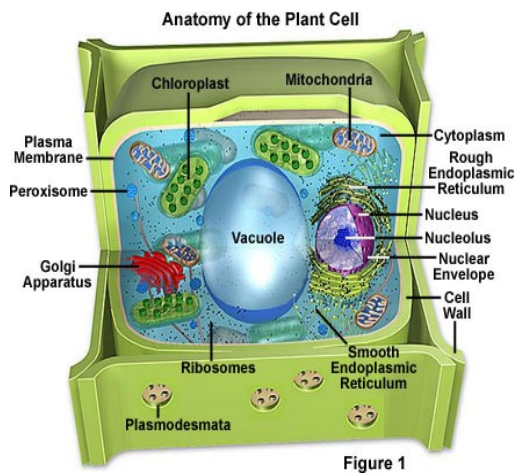


Figure 1

Slika 3: Skica evkariotske celice (rastlinska celica)

3. Opazuj in skiciraj:

a) bakterijske celice (Diplococcus)

Skica 1: Prikaz bakterijskih celic na 100X, 400X in 1000X povečavi

b) rastlinske celice (Luskulist rdeče čebule)

Skica 2: Prikaz rastlinskih celic na 40X, 100X in 400X povečavi

c) živalske celice (Celice ustne sluznice)

Skica 3: Prikaz živalskih celic na 40X, 100X in 400X povečavi;

4. DISKUSIJA

1. *Pod kakšno povečavo si najpogosteje skiciral celice in zakaj?*

Najpogosteje smo skicirali celice pod 400x povečavo saj so celice in njeni deli tam najboljše vidni zaradi največje povečave

2. *Kakšne razlike med različnimi vrstami celic si opazil?*

Vrsta celice	velikost	oblika	Zgradba
Bakterijske	Najmanjše (povprečno od 1-4 μm)	Okrogle, spiralne. podolgovate	Prokarioti
Živalske	Srednje velikosti (20- 50 μm)	Okrogle, nepravilne, bičkaste	Evkarioti
rastlinske	Do 200 μm	Okrogle,	Evkarioti

Tabela: Prikaz razlik med bakterijskimi, živalskimi in rastlinskimi celicami

3. *Zakaj so trajni preparati največkrat obarvani?*

Trajni preparati so obarvani iz razloga, da pod mikroskopom lažje opazujemo njihove strukture, da jih lažje najdemo pod mikroskopom in da jih zaščitimo proti propadanju (fiksacija)

4. *Kaj so trajni preparati?*

To so preparati ki so jih izdelali z namenom, da jih lahko čim večkrat uporabimo (uporabljamo jih lahko trajno). So obarvani in dobro zaščiteni pred zunanji vplivi.

5. SKLEPI (ZAKLJUČKI)

Pri tej vaji smo spoznavali razlike med živalskimi in rastlinskimi celicami in med evkariotskimi in prokariotskimi celicami. Ugotovili smo, da so posamezne celice in nekateri njihovi organi najbolj vidni pri 400X povečavi, nekaterih pa zaradi premajhne ločljivosti svetlobnega mikroskopa nismo mogli opazovati.

3. VAJA

DELOVANJE ENOSTAVNIH KATALIZATORJEV

1. UVOD

Aktivacijska energija je potrebna za začetek vsake metabolne reakcije. Katalizatorji imajo sposobnost zniževanja aktivacijske energije substratnih molekul in omogočajo, da med seboj hitreje reagirajo. V reakcijah se ne spreminjajo ali porabljajo. Encimi so biokatalizatorji, torej se nahajajo v živih bitjih. Zgrajeni so iz beljakovinskega in nebeljakovinskega dela, ki ga med drugim lahko sestavljajo tudi vitamini ali minerali. Z aktivnim mestom encim prepozna podlago (substrat), s katero se poveže v kompleks encim-substrat. Reakcija poteče, encim se odcepi in stopi v novo reakcijo. Če mora encim prepoznati podlago, to pomeni, da deluje specifično, nanj pa vpliva tudi temperatura, pH in koncentracija substrata.

Anorganske katalizatorje pa najdemo v naravi. Spoznali smo encim katalazo in manganov dioksid, ki razgrajujeta vodikov peroksid (H_2O_2), ki nastaja pri kemičnih reakcijah v živih celicah kot stranski proizvod, ker pa je strupen, ga mora celica takoj razgraditi.

Namen vaje:

- Opazovanje delovanja encima katalaze
- Primerjava delovanja encimov z nebeljakovinskimi katalizatorji
- Ugotavljanje pogojev za delovanje encima katalaze

2. POSTOPEK

Material:

- erlenmajerica
- merilni valj
- epruvete
- čaše
- pinceta
- kapalka
- steklena palčka
- skalpel
- vžigalice
- indikatorski papir
- kopeli
- MnO₂
- H₂O₂
- destilirana voda
- kvasovke
- krompir
- kremenčev pesek
- NaOH (1M)
- HCL (0.1M)

Metode dela:

- Termični razkroj vodikovega peroksida

- Razvoj s katalizatorjem vodikovega peroksida
- Preizkušanje vpliva različnih dejavnikov na delovanje encima katalaze

3. REZULTATI

1. Termični razkroj vodikovega peroksida (s segrevanjem brez katalizatorja).

V epruveti nastanejo mehurčki. Vodikov peroksid razpade na vodo in kisik ($\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$) Hitrost take reakcije smo označili s 2.

2. Razkroj s pomočjo encima

V epruveto damo encim- kvasovke plus vodikov peroksid. Hitrost reakcije smo označili s 4.

3. Delovanje katalizatorja in delovanje encima

Št. epruvete	Delovni material	Hitrost reakcije	opombe
1	H ₂ O ₂ + pesek	0	kontrola
2	H ₂ O ₂ + MnO ₄	3/4	Delovanje katalizatorja
3	H ₂ O ₂ + kvasovke	4	Učinek encima
4	H ₂ O ₂ + krompir	1	Učinek encima
5	½ tekočine epruvete 3 + sveže kvasovke	0	Ponovna uporaba encima
6	½ tekočine epruvete 3 + sveži H ₂ O ₂	2/3	Ponovna uporaba encima
7	Kvasovke v vreli kopeli + H ₂ O ₂	0	Vpliv temperature na delovanje encima
8	H ₂ O ₂ v topli kopeli + kvasovke	4	Vpliv temperature na delovanje encima
9	H ₂ O ₂ v ledeni kopeli + kvasovke	3	Vpliv temperature na delovanje encima
10	Kvasovke + pesek + destilirana H ₂ O + H ₂ O ₂	4	Vpliv pH na delovanje encima (pH=7)
11	Kvasovke + pesek + NaOH + H ₂ O ₂	¾	Vpliv pH na delovanje encima (pH=2)
12	Kvasovke + pesek + HCl + H ₂ O ₂	3	Vpliv pH na delovanje encima (pH=10)

Tabela 1: Delovanje katalizatorja in encima pod različnimi pogoji

Ni reakcije = 0

Počasna reakcija = 1

Zmerna reakcija = 2

Hitra reakcija = 3

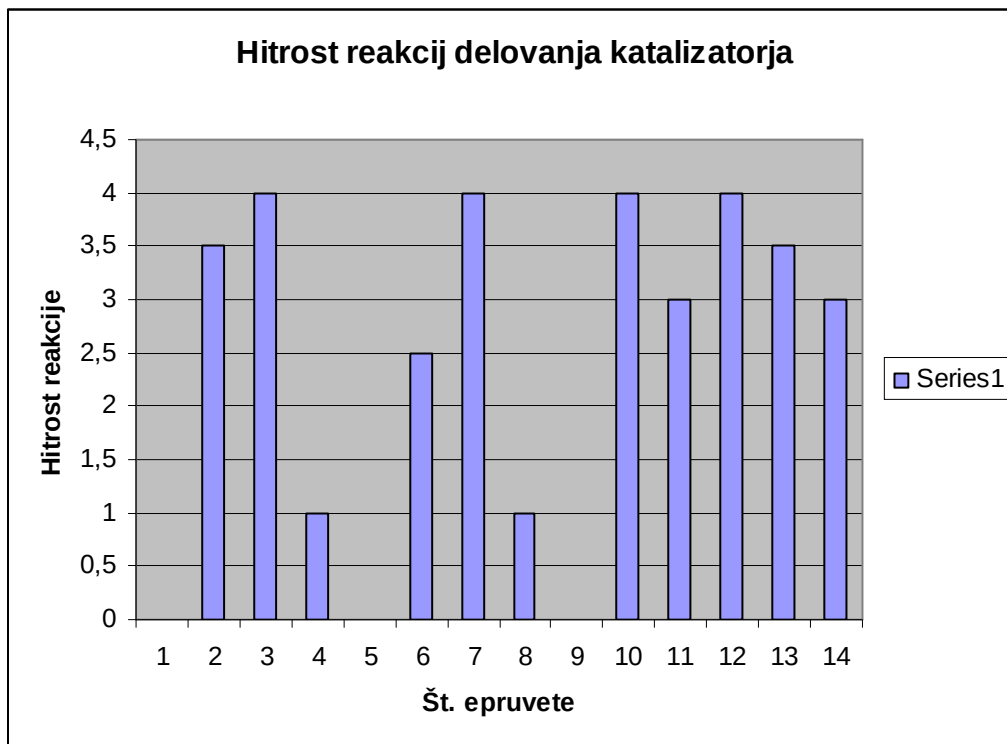
Zelo hitra reakcija = 4

Vodikov peroksid je sestavljen iz dveh atomov vodika in iz dveh atomov kisika (H_2O_2). Pri delovanju encima se sprošča plin kisik, saj vodikov peroksid razpade na vodo in kisik. Sproščanje kisika smo dokazali s tlečo palčko, katero smo ob razpadu vstavili v epruveto in palčka je zagorel, saj je pri gorenju potreben plin kisik, ta pa se je sprostil ob razpadu H_2O_2 . Če bi v erlenmajerici odstranili kvasovke in pesek, bi v erlenmajerici ostala le voda. V živih celicah se pod vplivom katalaze vodikov peroksid spremeni v vodo in kisik.

4. DISKUSIJA

1. *Izdelaj graf hitrosti reakcij, ki ste jih opazovali pri poskusih!*

Graf 1: Prikazuje nam hitrost reakcij v določeni epruveti



2. *S kakšnimi katalizatorji ste se srečali na vajah?*

S encimom katalaza

3. *Ali je mogoče razgraditi vodikov peroksid tudi z nebeljakovinskimi katalizatorji? Razloži!*

Da, ampak je hitrost reakcije nižja, kot pri encimu.

Razgradimo ga lahko z anorganskim katalizatorjem manganovim dioksidom. Reakcija, ki poteče je eksotermna – kar pomeni, da se pri tem sprosti toplota. Iz tega lahko sklepamo, da je za razpad H_2O_2 potrebna dodatna temperatura (segrevanje), saj se molekule pri običajni temperaturi ne gibljejo dovolj hitro, da bi med seboj lahko reagirale

4. *Katera snov se je spremenila pri reakciji med vodikovim peroksidom in kvasovkami? Kvasovke vodikov peroksid ali oboje?*

Ko smo H_2O_2 dodali kvasovke, je potekla reakcija, kjer je vodikov peroksid razpadel na kisik in vodo, encim pa se ni spremenil. Encimi vstopajo v reakcije, jih pospešijo, vendar se pri tem ne spreminjajo in ne porabljajo.

5. Opiši vpliv temperature, pH in velikosti delcev na hitrost delovanja encima!

Encim katalaza deluje hitreje, če celice poškodujemo (zmečkamo), saj je tako večja stična površina med encimom in substratom. Njegovo optimalno temperaturno območje delovanja je okrog 37° C in optimalno pa deluje tudi v nevtralnem pH (pH 7). Encim se pri reakciji ne spreminja, ne porablja in ne uničuje. Reakcijo le pospeši. Če je encimov več, reakcija poteče hitreje. Ravno tako poteče hitreje, če so delci substrata manjši, ker imajo sorazmerno večjo površino

4. SKLEPI (ZAKLJUČKI)

Vodikov peroksid lahko razgrajujemo z organskimi in anorganskimi katalizatorji. Ti lahko delujejo na isti substrat in dajo enake produkte, razlikujejo pa se po hitrosti reakcije in po aktivacijski energiji, ki je pri anorganskih katalizatorjih višja. Na delovanje encimov vpliva tudi temperatura, pH in velikost delcev.

Encimi v našem telesu imajo nalogo, da aktivacijsko energijo znižajo na raven, ki ni škodljiva za naše telo. Encim katalaza je encim, ki razgrajuje H₂O₂.

4. VAJA

BARVILA V ZELENIH LISTIH

1. UVOD

Kromatografija je metoda, s katero ločujemo sestavine. Zmes snovi nanesemo na nosilec in ga v isti točki namočimo v topilo. Le-to potuje po nosilcu zaradi kapilarnosti in za seboj vleče molekule iz zmesi. Različne snovi v zmesi se zaradi svojih različnih lastnosti različno hitro premikajo s topilom - se ločijo. Tako dobimo kromatogram. Točka, kjer smo začeli nanašati zmes, se imenuje start, črta, do kamor je topilo prišlo, pa fronta. Pot komponente v zmesi izražamo glede na pot topila, tako da izračunamo faktor R_f :

Namen vaje:

- Ugotavljanje barvil v zelenih listih s pomočjo papirne kromatografije
- Določitev retencijskega faktorja R_f za posamezne pigmente

Cilji:

- Spoznati in razumeti metodo papirne kromatografije
- Ugotoviti prisotnost fotosintetskih barvil

2. POSTOPEK

Material:

- stekleni valj
- zamašek
- kromatografski papir
- kapilara
- ravnilo
- ekstrakti listov koprive
- topilo

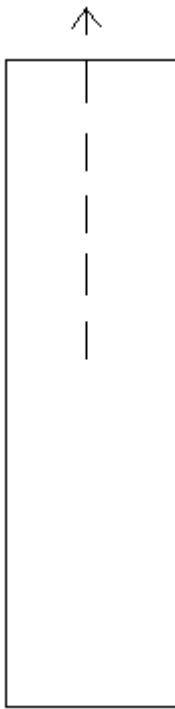
Metode dela:

1. Papirna kromatografija

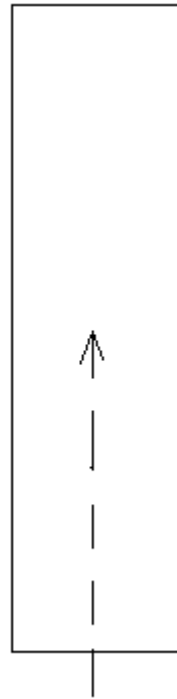


Slika 1: Metode kromatografije

Slika 2: Descendentna tehnika



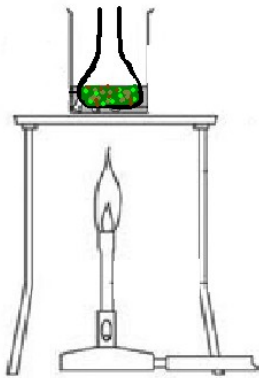
Slika 3: Ascendentna tehnika



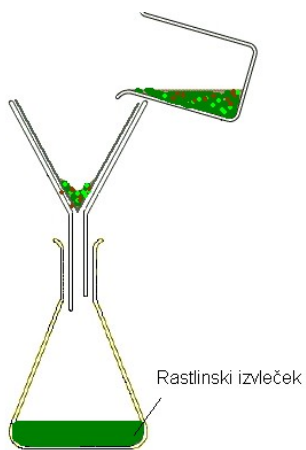
b) Slika 4: Trenje v terilnici (koprive) – drobno sesekljane



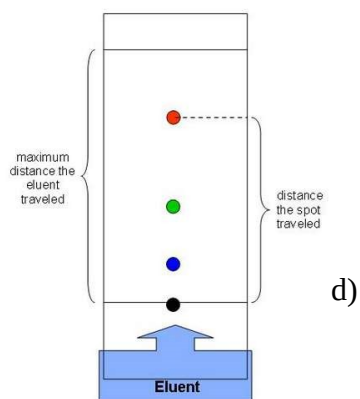
b) Slika 5: Ekstrakcija pigmentov v etanolu



c)



Slika 6: Filtriranje v alkoholu raztopljenih klorofilnih pigmentov od ostale mase.



d)

Slika 7: Nanos pigmenta na kromatografski papir

2. Določanje retencijskega faktorja

$$R_f = \frac{\text{pot komponente}}{\text{pot topila}}$$

Barvne lise	Izračun Rf	Rf
Rumeno-zelena (klorofil B)	1,9/8,75	0,217
Zeleno-modra (klorofil A)	3,25/8,75	0,371
Rumena (ksantofil)	4,4/8,75	0,503
Oranžna (karoten)	8,6/8,75	0,983

Tabela 1: Izračun retenzijskega faktorja Rf.

3. REZULTATI

Po končani kromatografiji skiciraj in opiši svoje ugotovitve

Skica 1: Prikazuje pot barvil;

4. DISKUSIJA

1. Naštej barve po vrsti, kot si sledijo na kromatogramu!

Barvila na kromatogramu si sledijo: rumeno-zelena, zeleno-modra (klorofil A), rumena (ksantofil), oranžna (karoten)

2. Kako bi spoznal imena in kemijsko sestavo posameznih barvil na kromatogramu?

Na kromatogramu so najhitreje potovali karoteni, kar pomeni, da se dobro topijo v topilu in hkrati slabo vežejo na celulozo v papirju. Zato lahko sklepamo, da imajo karoteni med vsemi barvili v ekstraktu najmanj polarnih skupin. Nekoliko bolj polarni so ksantofili, zato potujejo počasneje. Še bolj polarna sta klorofila, ki sta med temi barvili potovala najpočasneje.

Kromatografija, da ob poznavanju njenih značilnosti tudi podatke o lastnosti posameznih sestavin v vzorcu, predvsem pa je viden polarni značaj spojin. Ta metoda je tudi dovolj občutljiva, tako da nam ni treba uporabiti velikih količin zmesi, ki jo želimo ločiti. Prav tako se da barvila dobro ločiti s prostim očesom, česar ne morem trditi za druge snovi, ki so prav

gotovo še na papirju. Štiri barvila, ki smo jih dokazali, so različnih barv in absorbirajo svetlobo v različnih delih vidnega spektra, da lahko optimalno izkoristijo sončno svetlobo

3. Kaj nam pove retencijski faktor?

-Rf (retencijski faktor), to je hitrost, s katero se določena snov giblje po kromatografskem papirju, v primerjavi s hitrostjo, s katero se giblje topilo

4. Razložite, zakaj so listi jeseni rumeni ali oranžni?

Karotenoidi odbijajo rumenkasto - rdečo barvo. Opazni so predvsem jeseni ko razpadejo klorofili in se zato izrazijo karotenini, ki dajejo listom rumeno barvo. Ločimo karotene in ksantofile

5. Zakaj se topilo širi po papirju?

Kromatografski papir je prevzel nalogo »stena sveče«, saj je topilo skupaj z raztopljenimi snovmi zaradi kapilarnosti potovalo po nosilcu (namočenem v topilu) navzgor, proti papirju. Kapilarnost je povzročala površinska napetost tekočin v ozkih cevkah (kromatografski papir je zgrajen iz nešteto tankih cevk iz celuloze).

Različne snovi v zmesi se zaradi svojih različnih lastnosti premikajo različno hitro s topilom, kar lahko nazorno vidimo v kromatogramu. Snovi, ki se v topilu bolje topijo, odnaša topilo hitreje, tiste, ki se slabše topijo, pa počasneje.

6. Na kakšnih osnovah temelji papirna kromatografija?

Kromatografija je metoda ločevanja molekul in temelji na dejstvu, da potujejo različne različne molekule v gibajočem se plinu ali tekočini z različnimi hitrostmi. Če potujejo s tekočino se morejo v njej seveda topiti. Tekočina mora potem potovati po neki stoječi snovi. To pomeni da imamo pri kromatografiji stoječo (stacionarno) in potujočo (mobilno) fazo

7. Zakaj je retencijski faktor iste snovi na različnih kromatogramih različen?

Zaradi tega, ker se topilo različno širi po kromatografskih papirjih in zato prepotuje različno pot. Npr. pri krožni papirni kromatografiji topilo prepotuje manjšo pot kot pri navadni papirni kromatografiji.

8. SKLEPI (ZAKLJUČKI)

S papirno kromatografijo in različno obarvanimi kolobarji smo dokazali, da je v zelenih listih istočasno prisotnih več različnih barvil. Poleg svetlobe, ki jo izkoristita klorofila a in b, ostalo svetlobo rastline izkoristijo s pomočjo pomožnih fotosintetskih barvil, kot so ksantofili in karoteni, ki pa so poleg klorofilov, tudi prisotni v kloroplastih.

5. VAJA

RAZMERJE MED HITROSTJO DIFUZIJE IN VELIKOSTJO CELICE

1. UVOD

Celice lahko zrastejo le do določene velikosti, potem začne rast počasi pojemati, dokler se ne ustavi. Ko se rast ustavi, pomeni, da je celica dosegla mejo svoje velikosti. Razlog za takšno mejo je obseg območja v celici, ki ga jedro še lahko nadzoruje. Če to območje postane preveliko, lahko nastane novo jedro (to začne nadzorovati tisto območje, ki ga prvo jedro ne more več) in celica se razdeli. V manjši celici se nato rast ponovno prične, vse do meje velikosti. Če se celica ne bi razdelila bi prišlo do nagubanja membrane.

Zmožnost celične absorpcije (vpojnost) celice vpliva na delovanje in rast celice.

Za dejavnost in rast celice pomembne snovi vstopajo v celico z difuzijo skozi celično membrano, torej skozi vso površino celice, prav tako skozi izstopajo vse neuporabne snovi. Večja kot je celica, večja je njena prostornina, s tem pa so večje tudi potrebe celice. Odločilen dejavnik pri uravnavanju velikosti in rasti celice je razmerje med površino in prostornino celice. Če je razmerje neugodno, se celica ne more normalno razvijati in živeti. Difuzija je usmerjeno gibanje delcev od tam kjer jih je več, tja kjer jih je malo – to pomeni, v smer koncentracijskega gradienta. Je pasivni transport skozi polprepustno (selektivno permeabilno) membrano.

Namen vaje:

- Ugotavljanje dejavnikov omejene rasti celice
- Spoznavanje vpliva velikosti celične površine pri prehodu snovi skozi membrano

Cilji:

- Spoznati pomen razmerja med površino in prostornino celice za procese v celici
- Razumeti difuzijo kot način izmenjevanja snovi med celico in okoljem

2. POSTOPEK

Material:

- Agar – fenolftalein kocke ($a=0,1$ cm, 1cm, 2 cm, 3 cm)
- ravnilo
- Čaša (250 ml)
- britvica
- papirne brisače
- 4% NaOH

Metode dela:

- priprava kock
- izračunavanje razmerja med površino in volumnom
- ugotavljanje difuzije

3. REZULTATI

1. Izračunavanje:

- površina kocke(P) = dolžina x širina x število ploskev = $6a^2$
- prostornina kocke (V) = dolžina x širina x višina a^3
- razmerje med površino in volumnom = površina (P)/prostornina (V)

Velikost stranice (a) cm	Površina (P) cm ²	Prostornina (V) cm ³	Razmerje(P/V)
0,1	0,06	0,001	60:1
1	6	1	6:1
2	24	8	3:1
3	54	27	2:1

Tabela 1: Razmerje med volumnom kock in površino kock

Obseg difuzije:

Neobarvan del			Obarvan del
Površina cm ²	Prostornina cm ³	Razmerje (P/V)	cm
1	1		0,3
2	8		0,4
3	27		0,1

Tabela 2: Prikazuje obseg difuzije

Rezultati so samo približni, še posebno pri najmanjši kocki, saj je bila tako majhna, da nismo mogli natančno meriti. Kocka agar-fenolftaleina s stranico 0,1 cm pa je bila premajhna, da bi jo lahko vzeli iz posode in izmerili, zato je v tabelo nismo vpisali.

4. DISKUSIJA

1. Kako si sledijo kocke glede na razmerje med površino in prostornino?

Ob primerjavi razmerij (med površino in volumnom kock) med seboj sem ugotovila, da je največje razmerje pri najmanjši kocki. Velika kocka ima površino večjo kot manjša, toda razmerje je vseeno manjše zaradi velike prostornine. Pri majhni celici pride na enoto prostornine več enot površine kot pri veliki, zato majhne celice hitreje rastejo

2. Katere celice imajo večjo površino v razmerju s svojo prostornino?

. Razmerje med površino in prostornino se z zmanjševanjem celic povečuje

3. Kaj se zgodi z razmerjem ko celica raste?

Ko celica raste se površina povečuje za X2, volumen pa se povečuje za X3. zaradi tega povečevanja se razmerje med velikostjo površine in volumnom manjša

4. Kaj dokazuje, da prihaja NaOH v kocke agarja?

Kocke agar-fenolftaleina so se obarvale vijolično, ko smo jih namočili v raztopini NaOH, torej je agar-fenolftalein indikator za baze (NaOH je baza). NaOH je prodiral v agar, izhajal pa je fenolftalein. Dokaz za to je obarvan rob.

5. Zakaj postane rast celice počasnejša, ko se celica veča?

Celice lahko zrastejo le do določene velikosti, potem začne rast počasi pojemati, dokler se ne ustavi. Ko se rast ustavi, pomeni, da je celica dosegla mejo svoje velikosti. Razlog za takšno mejo je obseg območja v celici, ki ga jedro še lahko nadzoruje. Če to območje postane preveliko, lahko nastane novo jedro (to začne nadzorovati tisto območje, ki ga prvo jedro ne

more več) in celica se razdeli. V manjši celici se nato rast ponovno prične, vse do meje velikosti.

6. Kako vpliva delitev na sposobnost celice, da absorbira snovi za rast?

Zmožnost celične absorpcije (vpojnost) celice vpliva na delovanje in rast celice.

Za dejavnost in rast celice pomembne snovi vstopajo v celico z difuzijo skozi celično membrano, torej skozi vso površino celice, prav tako skozi izstopajo vse neuporabne snovi.

Večja kot je celica, večja je njena prostornina, s tem pa so večje tudi potrebe celice, celice rastejo do svoje mejne velikosti, nato pa se začnejo deliti, da bi bilo razmerje med njihovo površino in prostornino ugodnejše

5. SKLEPI

-Celice rastejo do svoje mejne velikosti, nato pa se začnejo deliti, da bi bilo razmerje med njihovo površino in prostornino ugodnejše.

-Manjša kot je celica, večje je razmerje med njeno površino in prostornino.

-Večje in ugodnejše kot je razmerje med površino in prostornino, lažje in hitreje poteka difuzija.

-Ugodnejše kot je razmerje, lažje bo celica preživela.

6. VAJA

UVOD V MIKROSKOPIRANJE IN MERJENJE Z MIKROSKOPOM

1. UVOD

Svetlobni mikroskop je osnovni pripomoček za delo s številnimi biološkimi objekti. Pripravljeni objekt presvetlimo z lučjo. Objekt mora biti majhen, tanek in kontrasten. Mikroskop nam poveča in obrne sliko opazovanega objekta, zato lahko z njim vidimo structure, ki jih s prostim očesom ne vidimo. Ločljivost svetlobnega mikroskopa je večja kot ločljivost očesa. Pri mikroskopiranju lahko uporabljamo različne povečave. Mikroskop nam omogoči zbiranje kvalitativnih in kvantitativnih podatkov. Preparati, ki jih uporabljamo so različni. Lahko so neobarvani ali obarvani, sveži ali mokri, lahko so trajni itd. Za delo z mikroskopom in za skiciranje opazovanih objektov veljajo posebna pravila.

Namen vaje:

- Spoznavanje zgradbe mikroskopa in osnov mikroskopiranja
- Spoznavanje pravil mikroskopiranja
- Spoznavanje preprostih merilnih tehnik za merjenje s mikroskopom
- Ugotavljanje velikosti vidnega polja pod različnimi povečavami

Cilji:

- Poznati osnovne dele svetlobnega mikroskopa
- Obvladovati osnovna merila in zakonitosti mikroskopiranja
- Znati narisati ali oceniti debelino las in velikost črk s pomočjo mm papirja
- Izračunati razmerje med velikostjo vidnega polja in povečavo mikroskopa

2. POSTOPEK

Material:

- šolski mikroskop
- črke
- lasje
- mm papir
- računalo

Metode dela:

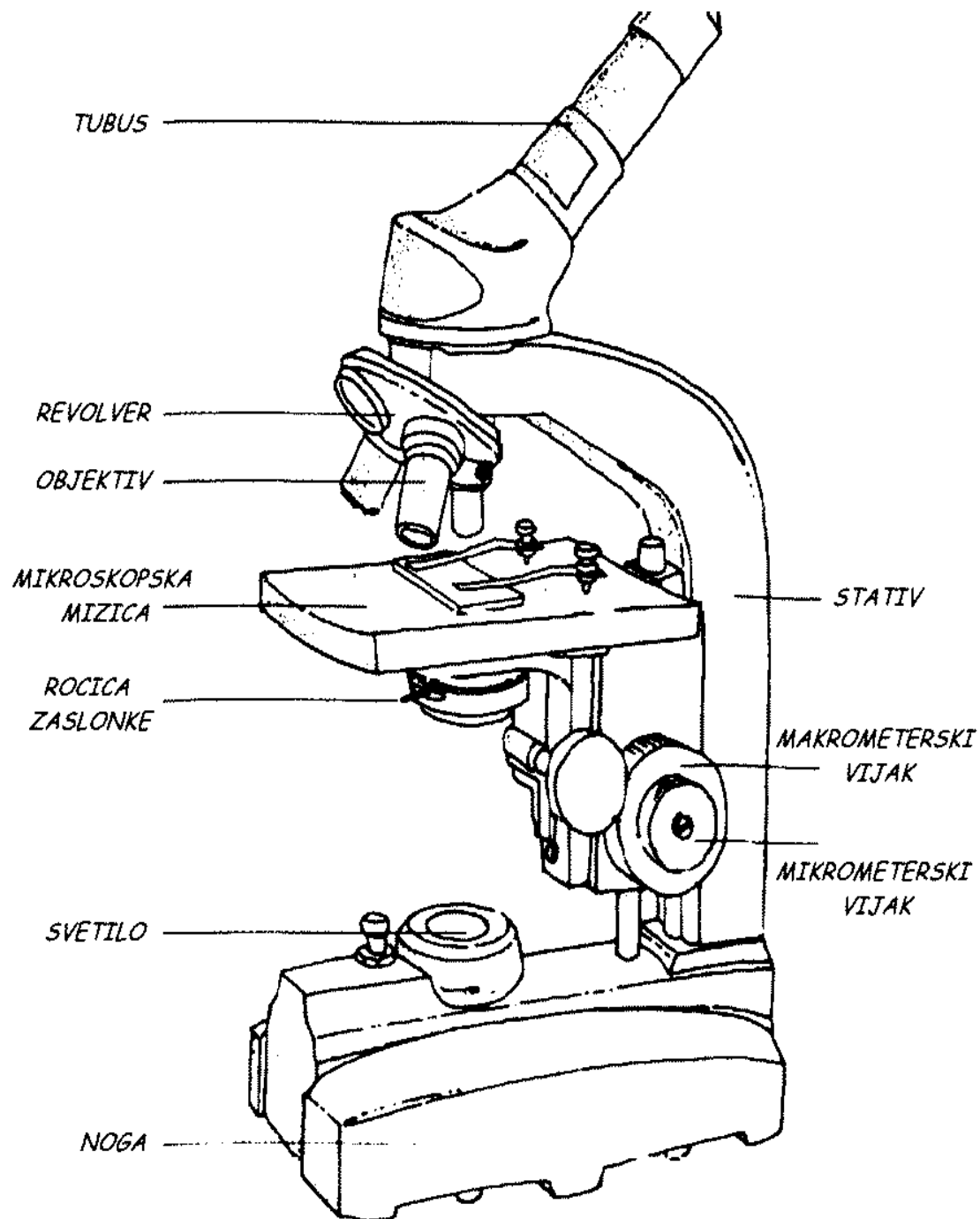
- Mikroskopiranje in risanje mikroskopskih skic
- merjenje in izračunavanje vidnega polja pri različnih povečavah

3. REZULTATI

1. Zgradba mikroskopa

a) Mehanski deli mikroskopa so tubus z lečami, revolver z objektiv, mikroskopska mizica, ročica zaslonke, marko in mikro vijak, noga, stativ.

b) Optični deli mikroskopa oz. leče sta objektiv, okular in kondenzor



Slika 1: Mehanski in optični deli mikroskopa*

2. Zmogljivost mikroskopa

- a) povečava mikroskopa = povečava okularja x povečava objektivna
- b) Ločljivost mikroskopa = razdalja na kateri razločimo še dve piki med seboj
- c) globina vidnega polja = nam pove kako debel je lahko preparat, da ga še vidimo ostrega

2. Mikroskopiranje in risanje mikroskopskih skic:

- a) Črka F:

Skica 1: Prikazuje velikost, položaj in lego črke »F« na 40X, 100X in 400X povečavi

- b) Las

Skica 1: Prikazuje las na 40X, 100X in 400X povečavi

3. Velikost vidnega polja:

a) Mala povečava:

1. Izmeri premer vidnega polja! $2r = 4 \text{ mm}$ oz. $4000\mu\text{m}$

2. Izračunaj površino vidnega polja! $(\pi R^2) = 12,56 \text{ mm}^2$

3. Približno oceni velikost in širino črke H!

Širina = $1,5 \text{ mm}$ oz. $1500\mu\text{m}$

Dolžina = 2 mm oz. $2000 \mu\text{m}$

Približno oceni debelino las!

Debelina = $0,1 \text{ mm}$ oz. $100\mu\text{m}$

b) Velika povečava:

1. Oceni s pomočjo las in črk približen premer vidnega polja

$2r = 1,8 \text{ mm}$ oz. $1800\mu\text{m}$

6. Izračunaj premer vidnega polja pod veliko povečavo s pomočjo razmerja med povečavami!

$$\frac{\text{mala povečava}}{\text{velika povečava}} = \frac{\text{premer vidnega polja pri veliki povečavi}}{\text{premer vidnega polja pri mali povečavi}}$$

$2r = 1,6 \text{ mm}$ oz. $1600 \mu\text{m}$

7. Izračunaj površino vidnega polja! $(\pi r^2) = 2,01 \text{ mm}^2$

8. DISKUSIJA

1. Naštej optične in mehanske dele mikroskopa!

Mikroskop je sestavljen iz mehanskih in optičnih delov.

Optični del mikroskopa tvorijo: leče oz. lečja (sistemi leč), objektiv (prikazuje sliko), okular (sliko dodatno poveča), kondenzor (enakomerna osvetlitev preparata) z zaslonko in kolektor z zaslonko, ali lučka

Mehanski del mikroskopa tvorijo: Podstavek, vijaka za fino ali grobo nastavljanje ostrine slike, tubus, revolver, mikroskopska mizica, vijaka za premikanje preparata, vijak za premikanje kondenzorja.

2. Kakšne vrste mikroskopov poznamo in zakaj jih uporabljamo?

Poznamo:

-Svetlobni mikroskop za delo z biološkimi objekti, polarizacijski mikroskop (primeren za opazovanje tkiv, ki imajo pravilno urejene molekule, na primer: prečnoprogasto mišično vlakno)

-Fluorescentni mikroskop (primeren za opazovanje preparatov, ki fluorescirajo)

-Stereoskopski mikroskop (primeren za opazovanje manjših organizmov v celoti ali koščka tkiva med poskusom)

-Invertni mikroskop (primeren je za opazovanje celičnih kultur, ker omogoča direktno opazovanje celic v posodi v kateri rastejo)

3. Kaj določa zmogljivost mikroskopa?

Zmogljivost mikroskopa določajo osnovni mikroskopski parametri. Ti parametri so: globina vidnega polja, dobra ločljivost, dobra povečava... Zmogljiv mikroskop pa vsebuje vse te parametre in je predstavljen z dobrimi parametorskimi lastnostmi.

4. Kako uporabljamo mikroskop

- Na objektno stekelce s kapalko kanemo kapljico vode, na njo položimo objekt, ki ga hočemo opazovati. Nato položimo čez objektno še krovno stekelce tako, da obe stekelci med seboj ujameta objekt.. Preverimo, ali je nastavljen objektiv z manjšo povečavo, če ni ga nastavimo. Preparatno stekelce položimo na mizico in objektiv približamo k preparatu tako, da je od njega oddaljen za pribl. 0,5 cm. Vključimo svetilko in z makro vijakom poiščemo sliko, naravnamo preparat, in nato sliko izostrimo še z mikro vijakom. Če želimo večjo povečavo, naravnamo preparat približno na sredo vidnega polja in revolver prestavimo na objektiv z večjo povečavo. Kadar imamo revolver naravnana na veliko povečavo, lahko izostrujemo samo in le z mikro vijakom. Med tem preparata ne smemo premikati, četudi slike ne vidimo. V takem primeru znova nastavimo objektiv z manjšo povečavo in znova naravnamo preparat kar se da na sredo vidnega polja. Ko pridemo do jasne slike jo narišemo. Slike zaporedoma oštevilčimo, jih poimenujemo, napišemo pri kateri povečavi smo sliko opazovali, označimo dele opazovanega objekta napišemo datum in se podpišemo. Slike rišemo s svinčnikom (priporočeno je, da z navadnim in ne s tehničnim). Povečavo dobimo z množenjem številke, ki je označena na okularju, s številko na objektivu. Poleg slike napišemo: "7×8 (56)"

Ko mikroskop pospravljamo, ugasnemo svetilko, Preparat vzamemo z mizice le če je nastavljen objektiv z manjšo povečavo. Če ni, ga nastavimo. Obrišemo vsa stekelca s priloženim papirjem. Mikroskop pokrijemo s plastičnim pokrivalom in vse pospravimo na svoje mesto.

5. Kakšna je slika pod mikroskopom?

Slika je pod mikroskopom povečana na določeno povečavo. Povečava slike je odvisna od povečave leče in povečave okularja. Ponavadi okular sliko poveča za faktor 10X, ostalo povečavo pa opravi leča. Slika pod mikroskopom pa je horizontalno in vertikalno zasukana

6. Kaj je vidno polje? Kdaj je največje?

Vidno polje je premer, ki jo mi vidimo ko pogledamo skozi tubus. Največje vidno polje je pri najmanjši povečavi

7. Kakšne preparate poznaš?

Preparati, ki jih uporabljamo so različni. Lahko so ne obarvani ali obarvani, sveži ali mokri, lahko so trajni itd.

8. Ali je vidno polje pri veliki povečavi večje ali manjše kot pri manjši povečavi?

Vidno polje je večje pri najmanjši povečavi, najmanjše pa pri največji povečavi

9. Kako bi točno izmeril objekte na preparatu?

Objekte na preparatu je zelo težko natančno izmeriti. Meritev bi izvedel tako, da bi na preparat dodal še milimetrski papir. Nato bi ocenil dolžino vzorca pod povečavo. Nato bi iz ocenjene dolžine vzorca s pomočjo povečave izrazil dolžino vzorca.

5.SKLEPI (ZAKLJUČKI)

Pri tej vaji smo spoznali osnove mikroskopiranja, dele mikroskopa in kako ravnati z samim mikroskopom.

Delali smo z različnimi preparati katere smo si tudi sami pripravili. Te preparate smo opazovali pod različnimi povečavami in jih nato skicirali.

7. VAJA

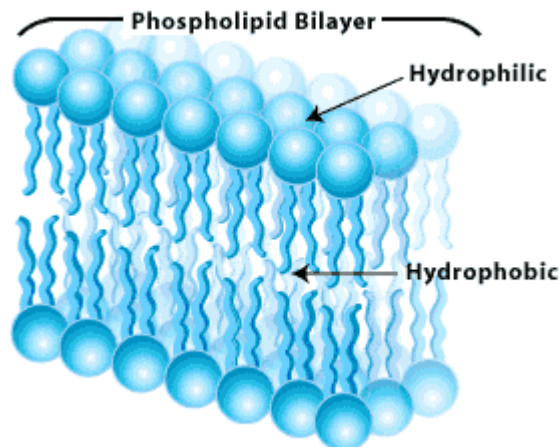
LASTNOSTI PLAZMALENE

1. UVOD

Celico loči od okolja celična membrana. Celična membrana je polprepustna, saj s tem omogoči, da snovi, potrebne za normalno delovanje celice, preidejo v celico.

Membrana je sestavljena iz fosfolipidov. Najlažje prepušča majhne delce, kot so voda, kisik, ogljikov dioksid. Težje skozi membrano prehajajo velike molekule in ioni, ker so velike. V celicah poteka proces difuzije (usmerjeno gibanje delcev iz višje koncentracije proti nižji) in osmoze (usmerjeno gibanje vode oz. topila iz nižje koncentracije snovi proti višji, da bi prišlo do izenačenja).

Izotonično okolje je za celico najbolj primerno, v tem primeru je koncentracija snovi v in izven celice enaka. V hipertoničnem okolju je koncentracija snovi v okolju celice višja, zato celica izgublja vodo, da bi izenačila koncentraciji snovi. Celična membrana se skrči in naguba. Temu pravimo plazmoliza. V hipotoničnem okolju je koncentracija snovi zunaj celice nižje kot v njej, zato voda vdira v celico, poteka izenačenje koncentracije snovi okolice in celice. Pri obratnem procesu, celična membrana nabreka in voda v celici povzroča turgorski tlak, ki pritiska na celično steno. Procesu pravimo deplazmoliza. Lahko pride tudi do uničenja celice oz. poka celice pri živalskih celicah, saj le-te nimajo celične stene. Temu pravimo citoliza.



Slika 1: Fosfolipidni dvosloj celične membrane

Namen vaje:

A:

- Spoznavanje principov prehoda snovi preko membrane
- Ugotavljanje vpliva različnih koncentracij v okolju na prehod snovi skozi membrane

B:

- Ugotavljanje sposobnosti preživetja celice ob propadu membrane
- Ugotavljanje zmožnosti uravnavanja prehoda snovi preko membrane

Cilji:

A:

- Razumeti plazmolizo in deplazmolizo
- Razumeti pomen osmoze

B:

- Razumeti pomen selektivne prepustnosti membrane

2. POSTOPEK

Material:

A:

- rdeča čebula
- raztopina soli
- destilirana voda

B:

- mikroskopska stekelca
- filtrirni papir
- mikroskop

Metode dela:

A:

Mikroskopiranje celic povrhnjice čebule

B:

Mikroskopiranje suspenzije kvasovk

3. REZULTATI

A: VPLIV RAZLIČNIH KONCENTRACIJ OKOLJA NA CELICE

1. Opazuj in skiciraj celice povrhnjice luskolista čebule!

Skica 1: Prikazuje celice povrhnjice luskolista čebule na 100X povečavi

2. Opazuj in skiciraj iste celice v 10% raztopini NaCl!

Skica 2: Prikazuje celice povrhnjice luskolista čebule v 10% raztopini NaCl na 100X in povečavi

3. Ponovno opazuj in skiciraj celice v destilirani vodi!

Skica 3: Prikazuje celice (te celice so bile že uporabljene za poizkus z NaCl) v destilirani vodi na 100X in povečavi

B: URAVNAVANJE PREHODA SNOVI V CELICO IN IZ CELICO Z MEMBRANO

1. Opazuj in skiciraj celice kvasovk

Skica 4: Prikazuje celice kvasovk na 40X in 400X povečavi

2. Opazuj in skiciraj celice kvasovk v nesegeti in prevreti raztopini z dodanim kongo rdečim.

Skica 5: Prikazuje celice kvasovk v nesegeti raztopini z dodanim kongo rdečim barvilom na 100X povečavi

4. DISKUSIJA

A.

1. *Kaj je plazmoliza in deplazmoliza?*

Plazmoliza je odstop membrane od celične stene kot posledica krčenja vakuole zaradi oddajanja vode v hipertoničnem okolju (okolju z večjo koncentracijo raztopljenih snovi).

Deplazmoliza je obraten proces od plazmolize, pri katerem celica v hipotoničnem okolju (okolju z manjšo koncentracijo raztopljenih snovi) postopoma dobiva obliko.

2. *Kakšen dokaz lahko navedeš za prehod vode v celice ali iz njih?*

Ko je bila celica obdana z vodno raztopino soli, je voda iz celic uhajala. Dokaz za to je krčenje celične membrane, kar se je lepo videlo, saj je bila vakuola polna vijoličnega celičnega soka. Obarvani del se je začel krčiti. Tukaj smo videli, da je voda začela prehajati po principu osmoze.

3. *Razložite zakaj se nasoljeno meso, jagode v kompotu in kumare v kisu ne pokvarijo, čeprav do njih pridejo bakterije? Ali poznaš še kakšen drug način konzerviranja živil?*

Konzerviranje je zelo spremenilo prehranjevalno verigo pri ljudeh. Čeprav do živil pridejo bakterije se živila ne pokvarijo, saj s konzerviranjem izločimo pogoje za življenje in razvoj mikroorganizmov. Poznamo tri klasične metode konzerviranja:

-Fizikalna metoda konzerviranja

-Kemijska metoda konzerviranja

-Naravna biološka metoda konzerviranja

Poznam še način kondenziranja z uporabo nizkih temperatur (metoda hlajenja in globokega zmrzovanja) in način z uporabo visokih temperatur (metoda je pogosto uporabljena v gospodinjstvu in pri izdelovanju konzerv polnjenih z različnimi vrstami živil).

4. *Zakaj bi živalske celice destilirana voda raztrgala veliko prej kot rastlinske?*

Če damo celice v destilirano vodo, bodo začele absorbirati vodo po principu difuzije. Prišlo bo do deplazmolize (osmotsko vdiranje vode v celico), posledično se bo volumen vakuole povečal in začel pritiskati na celično steno. Živalska celica v hipotoničnem okolju nabrekne in poči zaradi krvnih celic (krvničk- eritrocite), katere absorbirajo preveliko količino vode (hemoliza). Rastlinske celice pa le nekoliko nabreknejo, vendar ne počijo, zato ker imajo celično steno, poveča se turgorski tlak, posledica tega je, da je celica čvrsta in rastlina pokončna (takrat, ko dežuje).

B.

1. *Zakaj v preparatu iz nesegete raztopine kvasovk in kongo rdečega opazite le nekaj rdečih celic?*

Pri nesegetih kvasovkah je celična membrana delovala normalno, saj s temperaturo nismo vplivali na membrano. Ta celična membrana pa je preprečila, da bi lahko barvilo kongo rdeče vdrlo v celico in jo obarvalo. Zato smo pod mikroskopom videli le nekaj obarvanih celic.

2. *Kako je vročina delovala na celične membrane gliv kvasovk?*

Celična membrana je sestavljena iz beljakovin, na katere pa močno vpliva temperatura. Kadar celično membrano izpostavimo visokim temperaturam se membrana uniči zaradi vpliva temperature na beljakovine, katere sestavljajo membrano. Ta uničena membrana pa ni sposobna več upravljati svojega dela, zato je barvilo lahko stopilo v njo brez težav.

3. *Ali lahko celica preživi, če njena membrana ni zmožna uravnati prehoda snovi?*

Ne. Saj celična membrana opravlja glavno nalogo prehoda snovi v celico ali iz nje. Brez celične membrane celica ne more opravljati svojih nalog in celica umre.

3. SKLEPI (ZAKLJUČKI)

Pri tej vaji smo spoznali razlike med plazmolizo in deplazmolizo. Prav tako smo spoznali zgradbo celične membrane, kaj lahko vpliva na njo in kakšne naloge opravlja. Ugotovili smo, da celica brez celične membrane ne more preživeti, saj ni nobene kontrole na prehod snovi v celico in iz nje.

8. VAJA

MIKROBIOLOGIJA – BAKTERIJE

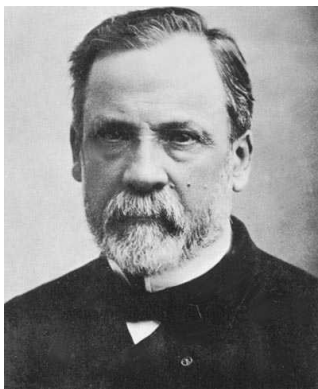
1. UVOD

Mikrobiologija je veda o mikroorganizmih (mikrobih), veliki in raznoliki skupini organizmov, ki obstajajo kot posamezne celice ali skupki celic. Sem sodijo evkarionti, kot so glive, praživali in alge ter prokarionti, kot so bakterije in arheje. V skupino mikroorganizmov sodijo tudi virusi, čeprav niso striktno razvrščeni kot živi organizmi. Glede na obravnavan mikroorganizem se mikrobiologija deli na mnoge veje: bakteriologija, virologija, mikologija, parazitologija. Specialist s področja mikrobiologije se imenuje mikrobiolog. Mikroba celica je sposobna samostojnega življenja in je sposobna rasti, tvorbe energije in razmnoževanja neodvisno od drugih celic (izjema so virusi). Tako se celice mikroorganizmov razlikujejo od celic živali ali rastlin, saj le-te ne morejo živeti samostojno.

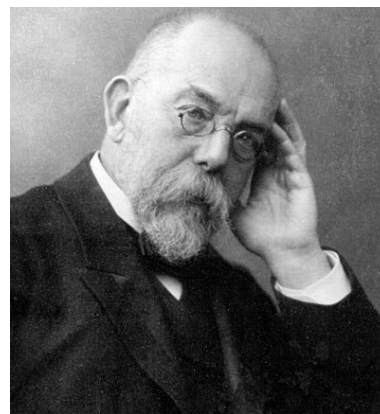
Dolgo so domnevali, da obstajajo organizmi, ki niso vidni s prostim očesom. Stari Egipčani so uporabljali proces fermentacije za pridelavo piva, kjer sodelujejo mikroorganizmi. Stare civilizacije so odkrile povezavo med odplakami in boleznimi. Stari Rimljani so nadzorovali vodo v akvaduktih in onesnaženje vode je bilo strogo kaznovano. V trinajstem stoletju so osebe obbolele za gobavostjo (povzročja jo bakterija *Mycobacterium leprae*) osamili od zdravih ljudi. Leta 1348 je epidemija kuge, imenovana tudi črna smrt (bolezen povzročja bakterija *Yersinia pestis*), za tretjino zmajšala število ljudi na Zemlji. Hitro širjenje bolezni so omogočile zelo slabe sanitarne razmere srednjega veka. Napredek optike v renesansi je omogočil tudi razvoj mikroskopa in s tem opazovanje s prostim očesom nevidnih organizmov. Robert Hook je z uporabo enostavnega mikroskopa leta 1664 prvi opisal glive. Znanstvenik Antony van Leeuwenhoek je sam predelal mikroskop ter prvi opisal in narisal bakterije, kar je bilo leta 1684 tudi objavljeno. Ta prva odkritja so vodila do širše uporabe mikroskopa kot standardnega raziskovalnega orodja.

Naslednji pomemben korak v mikrobiologiji je naredil Louis Pasteur, ki je ovrgel teorijo o spontani generaciji in dokazal, da živo nastane le iz živega. Začel je z uporabo cepiv proti boleznim, kot so vranični prisad, ptičja kuga in steklina. Po njem je znan tudi proces konzerviranja živil, pasterizacija. Poleg pasterizacije je uvedel tudi sterilizacijo. Oba postopka s toploto uničujeta mikroorganizme.

Pomembna oseba v mikrobiologiji je bil tudi Robert Koch. Dokazal je, da določeni patogeni mikroorganizmi lahko povzročijo določeno bolezen. Na osnovi svojih raziskovanj je razvil kriterije, ki so znani kot Kochovi postulati. Svoja raziskovanja je osredotočil tudi na izolacijo bakterij v čistih kulturah. Pasteurja in Kocha pogosto smatramo kot ustanovitelja medicinske mikrobiologije.



Slika 1: Louis Pasteur



Slika 2: Robert Koch

Namen vaje:

- Spoznati osnovne mikrobiološke tehnike pri delu z bakterijami
- Izolacija bakterij različnih vrst vzorcev
- Izolacija čiste kulture bakterij

Cilji:

- Poznati postopke pri izolaciji bakterij iz vzorcev
- Poznati tehnike izolacij čiste kulture
- Znati pregledati gojišča in določiti število bakterij

2. POSTOPEK

Material:

- petrijevke
- cepilne zanke
- sterilne palčke za ušesa
- epruvete
- stojalo za epruvete
- spatula
- merilni valj
- vata
- vzorci (tekoči, trdni, bris)
- fiziološka raztopina
- razkužilo

Metode dela:

- Izolacija iz različnih vzorcev
- inkubacija
- izolacija čiste kulture
- pregled in določitev števila bakterij

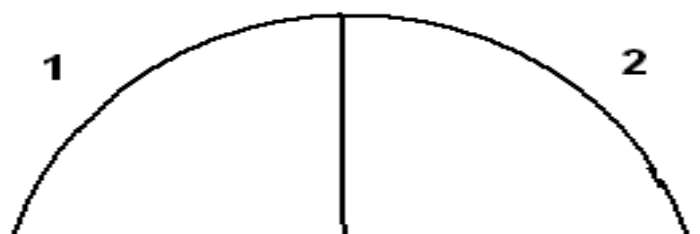
3. REZULTATI

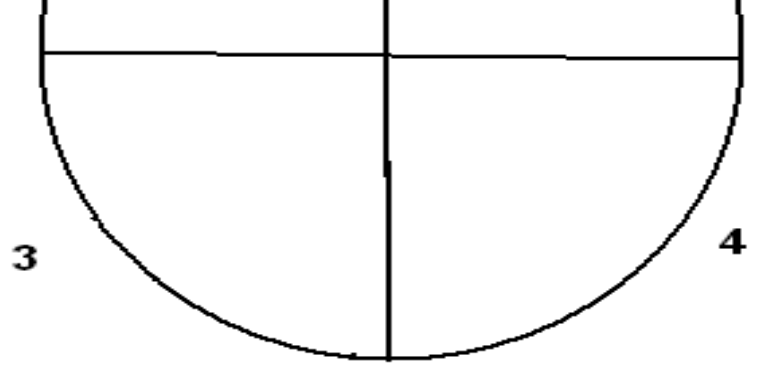
1. Odvzem vzorcev

1. Iz podlage – brisi



Slika 3: Prikaz prostora odvzema brisov





Skica 1: Prikazuje rezultate brisa

- Št. kolonij v 1 kvadrantu = 1 (barve: bela)
- Št. kolonij v 2 kvadrantu = 4 (barve: rumene)
- Št. kolonij v 3 kvadrantu = 1 (barve: belo-rumene)
- Št. kolonij v 4 kvadrantu = 1 (barve: rumena)

2. iz sluznic

Skica 2: Rezultat brisa bakterij
iz ustne votline

Skica 3: Rezultat brisa bakterij iz nosne
votline

Skica 4: Rezultat brisa bakterij iz sluhovoda

3. iz zraka

Skica 5: Rezultat zaprte petrijevke

4. iz tekočih in trdnih vzorcev

Skica 6: Rezultat odprte petrijevke

Skica 7: Rezultat razredčenega mleka

3. Izolacija čiste kulture



Slika 4: Izolacija kulture s krožno tehniko

4. Pregled bakterij

a) Določanje bakterijskih kolonij in njihovega števila

4. DISKUSIJA (RAZPRAVA)

1. *Kaj so bakterijska gojišča?*

Bakterijska gojišča so »prostori« namenjena za razvoj bakterij. Gojišča izdelujemo v petrijevkah, tam pa se bakterije razvijajo ker imajo zelo dobre pogoje (vodo, sol, sladkor in agar).

2. *Kako izoliramo bakterije iz različnih vzorcev (trdni, tekoči, površinski)?*

Iz trdnih vzorcev izoliramo bakterije z redčenjem in resuspendiranjem. Iz tekočih vzorcev izoliramo bakterije z razredčitvami. Iz površinskih vzorcev pa z brisi.

3. *Kaj so bakterijske kolonije?*

Je skupek posameznih bakterijskih celic, ki so potomke enega samega prednika.

4. *Zakaj in kakšne razredčitve uporabljamo pri izolaciji bakterij?*

-Da bakterije lažje preštejemo in zaradi hitre razrasti, jih moramo razredčevati. Razredčitve so so vedno 10x-tne

5. Kako izoliramo čiste kulture na trdnih gojiščih?

Najprej se nam razrastejo bakterije različnih vrst, oblik, barv,... Nato si izberemo željeno kolonijo in jo prenesemo na novo gojišče

6. Zakaj je pri delu z mikroorganizmi potrebno zagotoviti aseptične pogoje dela?

Na naših gojiščih bi se lahko razrasla kolonija potencialno nevarnih bakterij, zato moramo zagotoviti te pogoje.

5. SKLEPI

Mikroorganizmi so prisotni povsod v našem okolju, če ne v aktivni obliki pa v odporni obliki

spore. Enake vrste so prisotne na tistih mestih, ki večkrat pridejo v stik z drugimi mesti.

Največ je prisotnih okroglih, gladkih kolonij bakterij različnih barv. V vsakem prahu je veliko

bakterij. Od različnih vrst vode destilirana voda vsebuje najmanj bakterij.

Za

odstranjevanje bakterij (čiščenje površin) je bolj kot voda učinkovito milo, bolj kot detergent

pa 70% alkohol. Če je okolje sterilno, mikroorganizmov ni.

7. VAJA RAZNOLIKOST ZNOTRAJ VRSTE

1. UVOD

Pripadniki iste vrste se med seboj razlikujejo, ker nanje vpliva več dejavnikov, dednih in nedednih. Variacije med posameznimi organizmi, ki pripadajo isti vrsti, lahko opišemo s slikami, z besedami, najbolj objektivne podatke pa dobimo z merjenji.

Namen vaje

- Ugotavljanje razlik med pripadniki iste vrste
- Ugotavljanje pomena variacij za organizme

Cilji:

- Znati zbrati podatke z natančnimi meritvami
- Znati prikazati dobljene podatke grafično in tabelarno
- Razumeti pomen velikih vzorcev za raziskovanje

2. POSTOPEK

Material:

- listi bršljana
- mm ravnilo
- petrijevke
- vrvica
- mm papir
- računalo

Metode dela:

- meritve velikosti listov, med očesne razdalje in telesne višine

3. REZULTATI

1. Merjenje

a) Velikosti bršljanovih listov (129)

Velikosti (mm)	38-48	49-58	59-68	69-78	79-88	89-98	99-108	109-118
Število listov	14	30	45	21	12	4	2	1

Tabela 1: Prikaz velikosti listov

Velikosti listov smo razdelili v 8 razredov:

1. RAZRED: od 38 do 48 mm;
2. RAZRED: od 49 do 58 mm;
3. RAZRED: od 59 do 68 mm;
4. RAZRED: od 69 do 78 mm;
5. RAZRED: od 79 do 88 mm;
6. RAZRED: od 89 do 98 mm;
7. RAZRED: od 99 do 108 mm;
8. RAZRED: od 109 do 118 mm;

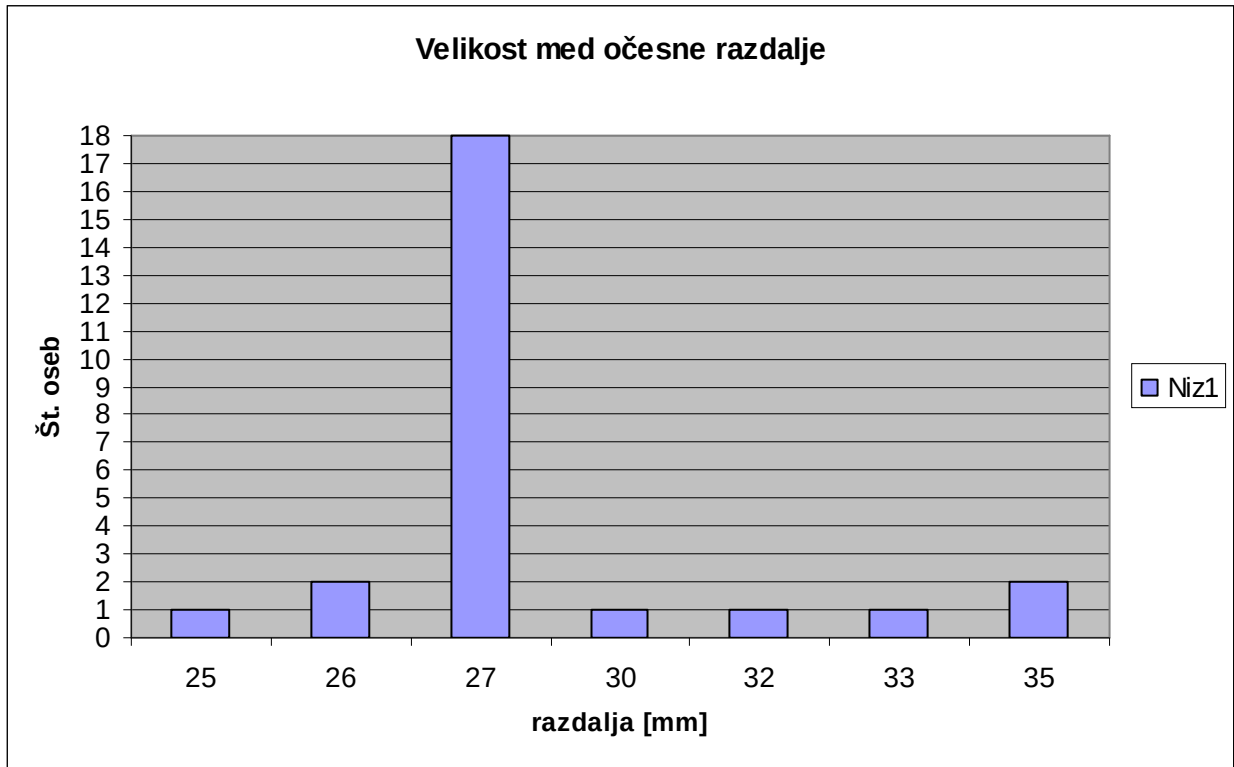


Graf 1: Grafični prikaz velikosti listov

b) Medočesne razdalje

Razdalja (mm)	25	27	30	26	32	33	35
Št. oseb	1	2	18	1	1	1	2

Tabela 2: Velikost med očesne razdalje udeležencev maturitetnih vaj v šolskem letu 2009/2010



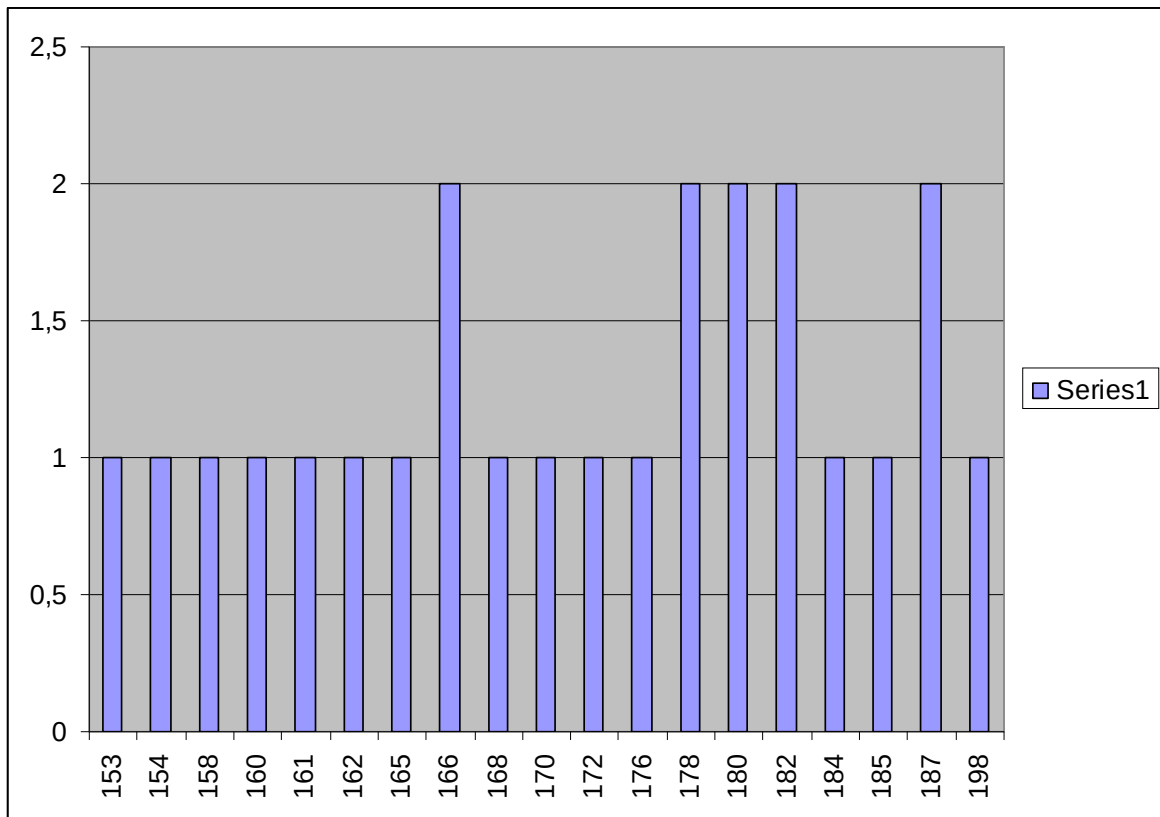
Graf 2: Prikaz velikosti medočesnih razdalj med dijaki maturitetne skupine v šolskem letu 2009/2010

c) telesne višine

Telesna višina (cm)	135	154	158	160	161	162	165	166	168	170	172	176	178
Število oseb	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	2

180	182	184	185	187	198
2	2	1	1	2	1

Tabela 3: Tabela telesnih višin dijakov maturitetne skupine v šolskem letu 2009/2010



Graf 3: Graf telesnih višin dijakov maturitetne skupine v šolskem letu 2009/2010

2. Obdelava podatkov

a) Izračun srednje vrednosti

$$A = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{N}$$

A_1 (za bršljanove liste)=

A_2 (za medočesne razdalje)=

A_3 (za velikosti dijakov)=

b) Označite srednje vrednosti na grafu:

4. DISKUSIJA

1. Kaj je variabilnost?

Variabilnost je temeljni povzročitelj evlucijskih sprememb, saj zagotavlja biološki vrsti nastajanje novih alelov

2. Kako vpliva na življenje osebkov?

Učinki teh mutacij na variabilnost so seveda različni. Genske mutacije pomenijo nastanek novega alela v okviru danega lokusa. Usoda tega alela je nato odvisna od selekcijskih

pritisikov in naključnega genskega zdrsa (drifta). Vsekakor pa genske mutacije delujejo tako, da se alelelni polimorfizem povečuje. Pri kromosomskih mutacijah lahko nastajajo novi genotipi organizmov (na primer pojav novih lokusov). Tu nato ne gre za alelno variabilnost oziroma za variabilnost na lokusu, ampak za kromosomsko variabilnost. Novi kromosomi po svojem nastanku tekmujejo s starimi za utrditev v okviru populacije oziroma vrste. O tem odloča zlasti selekcija, lahko pa tudi taki pojavi, kot je meiotski vlek, ki rezultira v neenakem prenosu kromatid v spolne celice. Pri mutacijah v okviru genoma lahko nastanejo novi genomi (drugačno število kromosomov, drugačni kromosomi ipd.). Pogosto so taki organizmi močno spremenjeni in če njihova zmogljivost zadošča za preživetje, lahko predstavljajo celo začetnike nove vrste te mutacije torej lahko sodijo že v domeno makroevolucije.

3. Kako poteka statična obdelava podatkov?

Statistična obdelava podatkov oblikuje podatke na način, po katerem je mogoče priti do predstave o večji populaciji, ki jo predstavlja vzorec. Taka obdelava vključuje preizkuse domnev (npr. anketna vprašanja z dvema možnima odgovoroma), določanje lastnosti zbranih kvantitativnih podatkov, časovne vrste (npr. napovedovanje prihodnjih trendov), opisovanje povezanosti (korelacija), oblikovanje odnosov med spremenljivkami (regresija) in drugo

4. Kaj je vzorčenje?

Vzorčenje pomeni, da vzamemo nek vzorec preiskovalnega problema, ki je najbolj podoben populaciji in podatke dobljene iz tega vzorca posplošimo na celotno populacijo

5. Kaj nam pove srednja vrednost?

Srednja vrednost je v matematiki vrednost, ki se nanaša na osrednjo težnjo niza podatkov. Na ta način prikazuje tipične predstavnike populacije (niza podatkov). Sredin, ki jih je mogoče izbrati kot mero srednje vrednosti, je v opisni statistiki mnogo. Najbolj poznana sredina je povprečje ali aritmetična sredina.

6. Kako vpliva natančnost meritev in velikost vzorca na statistične rezultata?

Če vzorec prilagodimo celotni populaciji, potem pride do zelo malih odstopanj, če pa vzorec ni reprezentativen potem so odstopanja zelo velika

5. SKLEPI (ZAKLJUČKI)

Izmerjenih vrednosti ne bi mogli posplošiti na Slovence, Evropejce ali Zemljane, ker smo za to prvič imeli premajhen vzorec, drugič nismo upoštevali vseh sekundarnih dejavnikov (okolje, ...), ki so drugod po svetu drugačni kot pri tej populaciji in tretjič nismo upoštevali raznolikosti ljudskih ras.

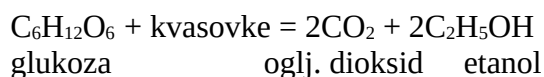
Če bi to še vedno storili, bi videli, da bi prišlo pri ujemanju podatkov do velikih odstopanj.

10. VAJA

PREČEVANJE ALKOHOLNEGA VRENJA IN CELIČNEGA DIHANJA

1. UVOD

-Vrenje je eden od anaerobnih metaboličnih procesov, ki se začne z glikolizo in konča s pretvorbo glukoze v CO₂ in etanol ali pa v podobne organske spojine (maslena in mlečna kislina).



Pomen vrenja je anaerobno sproščanje energije - večji del se porabi za toplotno energijo - izguba. Sproščena energija se porablja za ATP.

-Celično dihanje ali celična respiracija je skupno ime za metabolne reakcije v celici, s katerimi ta pridobiva biokemijsko energijo iz organskih molekul. Energija se sprošča v procesu oksidacije organskih molekul in se porablja za sintezo energetsko bogatih prenašalcev. Reakcije, udeležene pri celičnem dihanju, sodijo med katabolne.

Med organskimi molekulami, ki jih celice porabljajo pri celičnem dihanju, so glukoza, aminokislina in maščobne kisline, najobičajnejši oksidant (prejemnik elektronov) pa je molekularni kisik (O₂). Obstajajo pa tudi organizmi, ki uporabljajo namesto kisika druge organske molekule, npr. molekularni dušik (N₂). Respiraciji, kjer je končni prejemnik elektronov kisik, pravimo aerobna, kjer so prejemnik druge molekule pa anaerobna.

Energija, ki jo celica pridobi s celičnim dihanjem, se porablja za sintezo molekul, ki služijo kot kemična shramba. Ena najbolj razširjenih takih molekul je adenzin trifosfat (ATP), ki posreduje shranjeno energijo za mnogo drugih reakcij. Zaradi njegove razširjenosti je poznan kot »univerzalna energetska valuta«, njegova količina v celici namreč pove, koliko energije je na voljo za energetske zahtevne procese.

Namen vaje:

- Spoznavanje procesov vrenja in dihanja
- Risanje in odčitavanje grafov

Cilji:

- Razumeti razlike med vrenjem in dihanjem
- Razumeti energetske prednosti celičnega dihanja pred vrenjem
- Razumeti pomen kontrolnega preizkusa
- Znati podatke grafično prikazati in analizirati grafe

2. POSTOPEK

Material:

- vakuumske steklenice z zamaški
- erlenmajerice (250 ml)
- steklene cevke
- gumijaste cevi
- termometra
- kopeli
- steklena paličica
- mikroskop + mikroskopska stekelca
- sadni sok
- kvas
- apnena voda (25 ml)
- mm papir

Metode dela:

- Opazovanje alkoholnega vrenja z zbiranjem podatkov
- Grafični prikaz razlik v rasti bakterij brez in v prisotnosti kisika

3. REZULTATI

1. Alkoholno vrenje

- (1.)steklenica – dodatek kvasa
- (2.)steklenica – kontrola

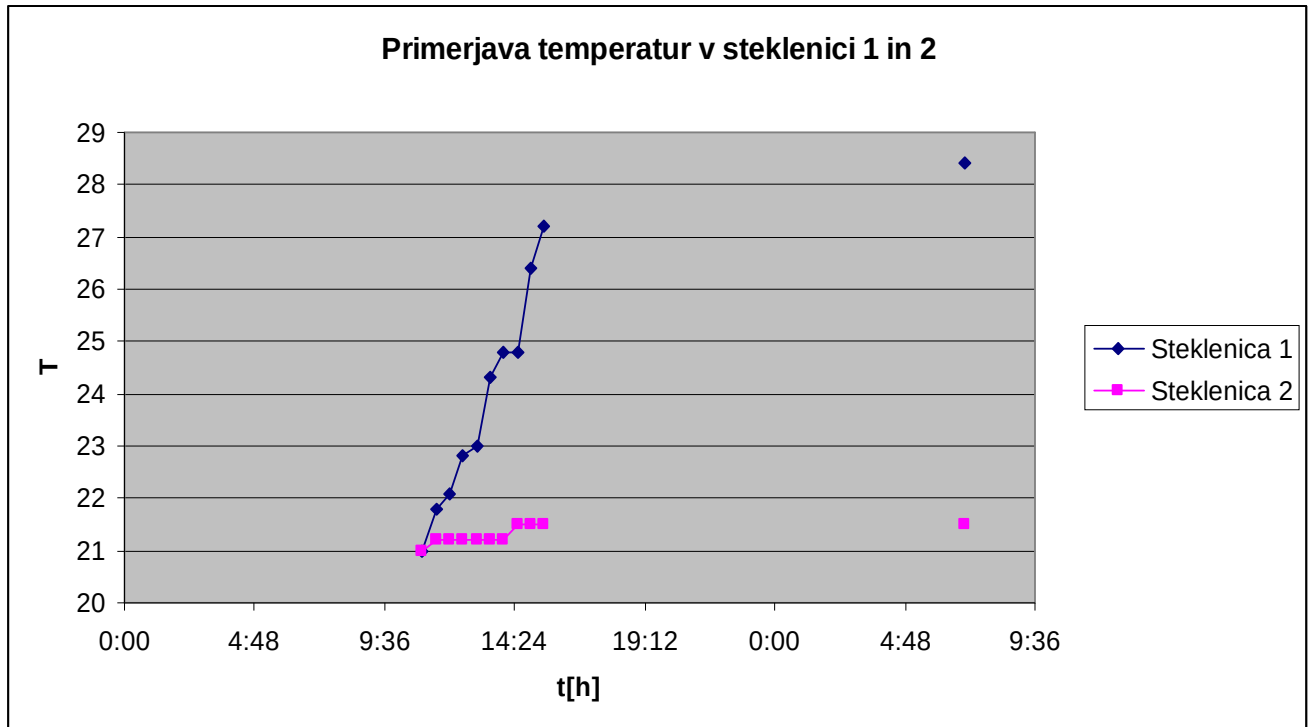
a) Zapiši podatke v preglednico

Ura	Temperatura °C		
	1. steklenica	2. steklenica	sprememba
11:00	21	21	/
11:30	21,8	21,2	/
12:00	22,1	21,2	/
12:30	22,8	21,2	Izhajajo posamezni mehurčki
13:00	23,0	21,2	Izhajajo posamezni mehurčki
13:30	24,3	21,2	Mehurčki izhajajo pogosteje
14:00	24,8	21,2	Apnica postane motna
14:30	24,8	21,5	Močno izhajanje mehurčkov (kontinuirno)
15:00	26,4	21,5	Močno izhajanje mehurčkov (kontinuirno)
15:30	27,2	21,5	Močno izhajanje mehurčkov (kontinuirno)

07:00(Naslednji dan)	28,4	21,5	Apnica je motna
----------------------	------	------	-----------------

Tabela 1: Prikaz spremembe temperature med procesom vrenja v 48 urah

b) Izdelaj grafikon na podlagi zbranih podatkov o temperaturi v obeh steklenicah



Graf 1: Grafično prikazuje spremembe temperature med procesom vrenja v steklenici 1 in 2

c) primerjaj kvasovke pod mikroskopom pred in po poteku vrenja

kvasovke pred vrenjem (400x)

kvasovke po vrenju (400x)

Skica 1: Prikazuje kvasovke pred vrenjem in po vrenju na 400X povečavi

2. Primerjava med vrenjem in celičnim dihanjem

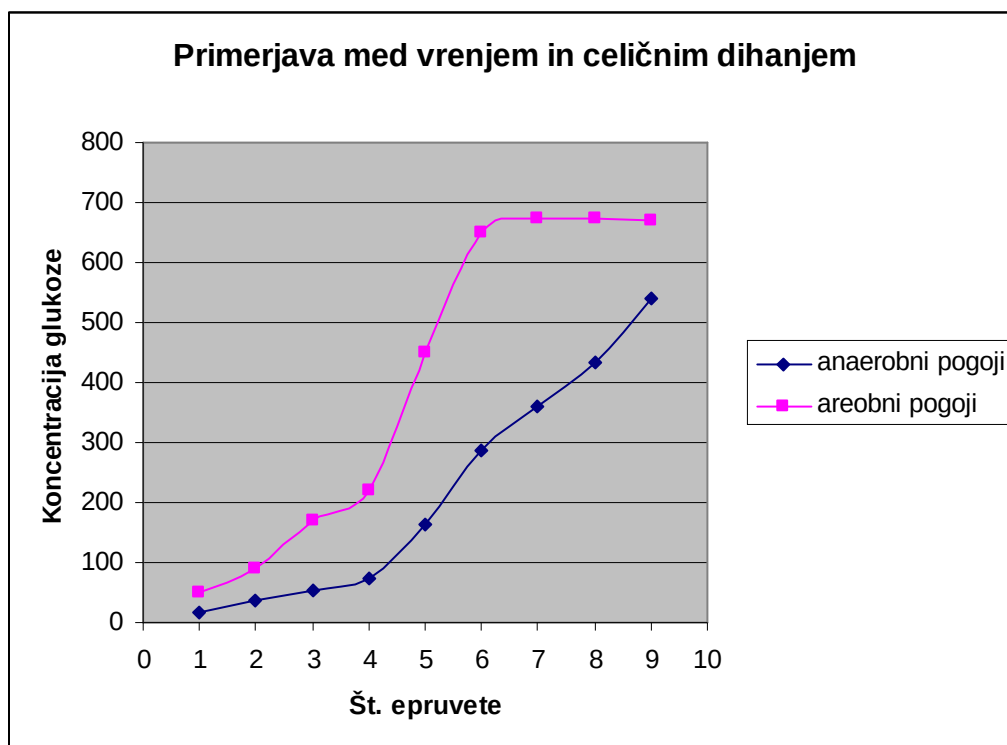
a) Teoretično predvidi rast bakterij v epruveh B pri višjih koncentracijah glukoze

-Bakterije bodo hitreje rastle v epruveh B, zaradi boljših pogojev.

b) Podatke grafično prikaži

Koncentracija glukoze (mg/100mL vode)	Številka epruvete	V epruveti ni zraka	Številka epruvete	V epruveti je zrak
18	1A	50	1B	200
36	2A	90	2B	500
54	3A	170	3B	800
72	4A	220	4B	1100
162	5A	450	5B	2100
288	6A	650	6B	/
360	7A	675	7B	/
432	8A	675	8B	/
540	9A	670	9B	/

Tabela 2:: Vpliv koncentracije glukoze na rast bakterij



Graf 2: Vpliv koncentracije glukoze na rast bakterij pri anaerobnih in aerobnih pogojih

4. DISKUSIJA

1. Kaj dokazuje da je prišlo do kemijske spremembe?

Da je reakcija potekla nam dokazuje naraščanje temperature, motna apnena voda in vonj po alkoholu

2. Kateri produkt vrenja se pokaže pri reakciji v apneni vodi?

Prisotnost ogljikovega dioksida pa smo dokazali z apnico, ki je postala motna. Apnica je namreč indikator za CO₂

3. Kateri produkt vrenja odkrijemo po vonju?

Glive kvasovke so glukozo spremenile v alkohol, kar nam pove tudi značilen vonj

4. Zakaj je prišlo med obema steklenicama do razlik?

Zato, ker je v eni steklenici potekalo alkoholno vrenje v drugi pa je potekal proces celičnega dihanja

5. Kako se med poskusom spreminja oblika in število kvasovk?

Celice, ki smo jih gledali pod mikroskopom so bile pred poskusom manjše in jih je bilo manj od tistih po poskusu. S tem smo dokazali, da se sproščena energija uporablja za rast in razmnoževanje celic.

6. V čem se razlikuje rast bakterij serije A in B?

Pri aerobnih pogojih rast in razmnoževanje kvasovk poteka v večjem številu, kot pri anareobnih pogojih.

LITERATURA

- Pevec Smilja, Biologija: Navodila za laboratorijsko delo, DZS, Ljubljana, 1991
- Pevec Smilja, Biologija: Laboratorijsko delo, DZS, Ljubljana, 1991
- Peter Stušek in Andrej Podobnik, Biologija: Učbenik za splošne gimnazije, Celica, DZS, Ljubljana, 2003.