

BIOLOGIJA



Navodila za lab. delo

Ime in priimek:

Razred:

NAVODILA ZA LABORATORIJSKO DELO

V naravoslovni dejavnosti sta nadvse pomembna branje in razgovor, vendar je mnoge ideje mogoče preizkusiti in dokazati samo v laboratoriju, in sicer na ustrezno izbranem materialu. Spretnost, ki jo zahteva laboratorijsko delo, si lahko pridobite le, če upoštevate ustrezna pravila.

Osnovni laboratorijski pribor

EPRUVETA



ČAŠA



LIJ



PETRIJEVKA



TERILNICA IN
PESTILO



IZPARILNICA



URNO STEKLO



KAPALKA



ERLENMAJERICA



LIJ LOČNIK



MERILNI VALJ



PUHALKA



STEKLENA
BUČKA



PIPETA



STEKLENA
PALČKA



DESTILACIJSKI
HLADILNIK



Potek laboratorijskega dela

- na problem, ki ga boste raziskovali, se že doma pripravite s prebiranjem literature,
- preden vstopite v laboratorij, si oglejte dano nalogo, da čas bolje izkoristite in se lažje posvetite lab. delu,
- z materialom in priborom ravnajte po navodilih,
- pripravite in označite material,
- navodila natančno upoštevajte (npr. » ena minuta« pomeni eno minuto),
- zapišite vse podatke, ki ste jih ugotovili med delom.

Skrb za laboratorijski pribor

- s priborom skrbno ravnajte,
- varujte se okužbe, posebno pri poskusih, ki zahtevajo sterilne metode,
- odpadkov ne puščajte v umivalnih koritih, ampak jih zavijte v papir in jih odvrzite v zato pripravljeno posodo,
- po učiteljevih navodilih pospravite material in pribor.

Skrb za rastline in živali

- rastline zalivajte redno tako, da je zemlja vedno primerno vlažna, ne pa razmočena,
- živalske kletke redno čistite in preverjajte, če so res zaprte, da živali ne bi pobegnile,
- živali redno hranite, tudi ob nedeljah in praznikih,
- z laboratorijskimi živalmi moramo ravnati humano.

Merske enote

Količina	Osnovna SI enota	Dopustne enote	Decimalne merske enote
Dolžina (l)	meter (m)		kilometer = 1000m centimeter = 0,01m milimeter = 0,001m mikrometer = 0,000001m nanometer = 0,000000001m
Masa (m)	kilogram (kg)		gram = 0,001kg miligram = 0,000001kg mikrogram = 0,000000001kg
Čas (t)	sekunda (s)	minuta (min) ura (h)	milisekunda = 0,001s mikrosekunda = 0,000001s
Prostornina (V)	kubični meter (m ³)	liter (l)	kubični centimeter = 0,000001 m ³ kubični milimeter = 0,000000001 m ³
Temperatura (T)	Kelvin (K)	Celzijeva stopinja (1° C)	
Osvetljenost (I)	candela (cd)		
Tlak (p)	pascal (Pa = N/m ²)	bar = 10 ⁵ Pa	

Preglednica 1 Merske enote

NAVODLA ZA PISANJE POROČIL

NASLOV EKSPERIMENTALNEGA DELA:

Komponente poročila	Razlaga
Namen dela	Opredelitev problema, teme raziskave, postavitev vprašanja.
Hipoteza	Predvidevanja, trditve, ki jih dokazujemo.
Material, pripomočki	Oprema, potrebna za izvedbo ED (eksp. delo).
Metoda dela	Vrsta raziskovalnega pristopa; opazovanje, merjenje, mED (metoda eks. dela), zbiranje in statistična obdelava podatkov,...
Rezultati dela	Zapis dobljenih rezultatov: opisno, tabela, skica, graf,...
Izračun	Zapis uporabljenih formul in izračun.
Diskusija	Analiza rezultatov: primerjava rezultatov med seboj ali z vrednostmi iz zakonodaje.
Sklep	Potrditev, dopolnitev ali zavrženje hipoteze.

Preglednica 2 Navodila za pisanje poročil

KRITERIJI IN OPISNIKI ZA OCENJEVANJE ZNANJA

OCENA	VSEBINA POROČILA	OBLIKA POROČILA	NAVEDBA VIROV IN PRIPOMOČKOV
Nezadostno (1)	Odgovori so nepopolni, nepravilni, mimo bistva, ne razumejo problema in vprašanj.	Manjka večina osnovnih podatkov, poročilo je nepregledno, nesistematično, v njem ni nobenih poudarkov.	Ni navedenih virov literature in seznama pripomočkov.
Zadostno (2)	Polovica odgovorov je pravih, ni jasno izraženo bistvo, delno razumevanje problema.	Večina osnovnih podatkov je navedenih, poročilo je slabo pregledno, rezultati so nepovezani, ni skic, preglednic.	Večina virov je navedenih, ni seznama pripomočkov.
Dobro (3)	Odgovori so večinoma pravilni, splošni in niso usmerjeni k bistvu, splošno razumevanje problema.	Poročilo vsebuje vse elemente, ni sistematično in povezano, dodanih je le del skic, opisov.	Viri so navedeni, niso pa pravilno citirani, ni seznama pripomočkov.
Prav dobro (4)	Vsi odgovori so popolni in pravilni, presplošni in niso v celoti usmerjeni k bistvu, iz dela odgovorov je vidno kritično mišljenje posameznika.	Poročilo vsebuje vse elemente, je pregledno, ni pa v celoti sistematično oblikovano, dodane so skice, opisi, preglednice.	Viri so pravilno in v celoti navedeni, dodan je seznam uporabljenih pripomočkov.
Odlično (5)	Vsi odgovori so popolni in pravilni, v celoti usmerjeni k bistvu, izražajo kritično mišljenje posameznika in celovito razumevanje problema.	Poročilo vsebuje vse elemente, je pregledno in sistematično oblikovano, vsebuje vse ključne besede, dodane so skice, opisi, preglednice.	Viri so pravilno in v celoti navedeni, dodani so seznam in slike uporabljenih pripomočkov.

Preglednica 3 Kriteriji in opisniki ocenjevanja znanja

1. Vaja: RAZISKOVANJE NEZNANE SNOVI

V tem lab. delu boste spoznali znanstveno metodo dela, ugotavljali razliko med dejstvom in hipotezo ter kritično vrednotili svoje domneve in sklepe. Uporabljali boste indikatorje – kemikalije, ki reagirajo z določeno snovjo tako, da spremenijo barvo.

Po opravljenem lab. delu boste:

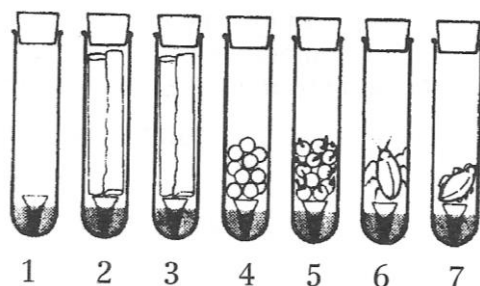
- znali uporabljati znanstvene metode dela pri reševanju problemov,
- spoznali pomen podatkov, kontroliranega eksperimenta,
- znali z natančnim opazovanjem zbirati podatke,
- spoznali in razumeli razlike med dejstvi, podatki in hipotezo,
- znali oblikovati hipotezo,
- spoznali pojem indikatorja in znali indikatorje praktično uporabljati,
- spoznali etične probleme pri bioloških eksperimentih.

Material, pribor

- fenol rdeče barvilo
- apnena voda
- sodavica (karbonatna voda)
- razredčena kislina (HCl)
- kapalke
- slamice
- papirnate brisače
- stojalo za epruvete
- 7 malih epruvet z zamaški
- 7 medeninastih vijakov
- 6 standardnih epruvet
- raztopina kvasa in sladkorja
- prekuhana raztopina kvasa in sladkorja
- suha semena
- kaleča semena iste vrste
- mala živa žuželka
- mala mrtva žuželka (iste vrste)
- ura

Postopek

A – V stojalo namestite 7 malih epruvet in vanje kanite 5 kapljic fenol rdečega. Na dno rahlo nagnjenih epruvet počasi spustite vijake s konico naprej. Nato dodajte v epruvete material po naslednjem vrstnem redu (slika 1).



Slika 1 Priprava epruvet za eks.

Epruveta 1: nič

Epruveta 2: zvit košček filtrirnega papirja namočenega v raztopino kvasa in sladkorja, ki ga dobro ožmite

Epruveta 3: : zvit košček filtrirnega papirja namočenega v **prekuhano** raztopino kvasa in sladkorja, ki ga dobro ožmite

Epruveta 4: suha semena

Epruveta 5: kaleča semena

Epruveta 6: živa žuželka

Epruveta 7: mrtva žuželka.

Ko ste vse pripravili epruvet zamašite. Opazujte spremembe fenol rdečega.

B – V naslednjih poskusih boste odkrili značilnosti dveh indikatorjev, ki vam bodo pomagali razložiti rezultate.

V stojalo postavite 6 epruvet standardnih velikosti in jih označite s številkami 8, 9, 10, 11, 12, 13. v epruvete 8, 9 in 10 kanite 10 – 12 kapljic fenol rdečega; epruvete 11, 12 in 13 pa do četrte napolnite z apneno vodo. Nato dodajte:

Epruveta 8: 1 – 5 kapljic razredčene kisline

Epruveta 9: 5 – 10 kapljic sodavice

Epruveta 10: skozi slamico pihajte 10 – 30 sekund v raztopino fenol rdečega

Epruveta 11: 15 – 20 kapljic razredčene kisline

Epruveta 12: 5 – 10 kapljic sodavice

Epruveta 13: skozi slamico pihajte 10 – 30 sekund v apneno vodo.

Opazujte spremembe v epruvetah od 8 – 13.

Rezultati

V preglednico vpišite delovni material, ki ste ga dali v posamezno epruveto (od 1 – 13), spremembo indikatorja in čas, potreben za spremembo.

Diskusija

1. Katere snovi nastanejo iz ogljikovega dioksida, če ga raztopite v vodi?
Odgovor dajo rezultati v epruvetah 8,9 in 10.
2. Kako ugotovite, da je v izdihanem zraku snov, ki tvori kislino, če jo pomešate s fenol rdečim, raztopljenim v vodi?
3. Ali apnena voda reagira z ogljikovim dioksidom in sproži vidno spremembo?
4. Ali je v izdihanem zraku ogljikov dioksid, če sodite po rezultatih dobljenih v epruvetah 10 in 13?
5. V katerih epruvetah od 1 do 7 se barva ni spremenila?
6. Kateri dodani materiali so v 1 do 7 povzročili spremembo barve indikatorja?
7. V čem se snovi, ki povzročajo spremembe v epruvetah od 1 do 7 razlikujejo od snovi, ki sprememb ne povzročajo?
8. **Oblikujte hipotezo in razložite z njo spremembe, ki ste jih opazili pri poskusu.**
9. Zakaj ste v vajo vključili tudi snovi, ki niso povzročile spremembe barve indikatorja?
10. Čemu služijo medeninasti vijak?
11. Kakšen je pomen epruvete 1?

Poročilo 1. vaje: RAZISKOVANJE NEZNANE SNOVI

Namen dela:

Hipoteza:

Material in pripomočki:

Metoda dela:

Rezultati dela:

Št. epruvete	Delovni material	Sprememba indikatorja	Čas potreben za spremembo
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			

Diskusija:



Sklep:

2. Vaja: MIKROSKOP IN MIKROSKOPIRANJE, IZDELAVA SUHEGA IN MOKREGA PREPARATA, MIKROSKOPIRANJE ORGANIZMOV

Mikroskop je instrument za preučevanje predmetov, ki jih s prostim očesom ne vidimo. Človeško oko ne more brez pomoči razločevati predmetov, ki so manjši od 0,1 mm.

Sestavljen monokularni mikroskop je dobil ime po tem, ker lahko z njim gledamo sliko le z enim očesom. Svetloba preseva (preden pride do očesa) skozi predmet, ki ga opazujete. Naše oko ima lečo, ki avtomatično naravna svoje žarišče na predmet, ki ga gledate. Leče mikroskopa pa je treba naravnati mehanično. Zato sta tu dva vijaka, eden za grobo (makrometrski vijak) in drugi za fino naravnavanje ostrine (mikrometrski vijak). Pri nekaterih mikroskopih pa se namesto leč premika mizica, na kateri leži predmet. Z razdaljo med opazovanim predmetom in objektivom se uravnava žarišče. Da bi bil predmet v žarišču pri veliki povečavi, mora biti leča veliko bližje predmetu kot pri majhni povečavi. Ker je leča tako blizu predmeta, je pri veliki povečavi večja verjetnost, da se poškoduje predmet ali leča, kot pri majhni povečavi. Kadar gledate skozi mikroskop, je pomembno, da veste, kolikokrat je opazovani predmet povečan. Stopnjo povečave lahko ugotovite, če pomnožite število, ki je vrezano na uporabljenem objektivu, s številom na okularju. Če je moč okularja 10 x (povečava desetkrat), objektiv pa 40 x (povečava štiridesetkrat), je celotna povečava 400 – krat.

Po opravljenem lab. delu boste:

- razumeli delovanje svetlobnega mikroskopa,
- znali mikroskopirati,
- znali pripraviti suhe in mokre preparate,
- znali natančno opazovati in skicirati predmete ter organizme,
- znali izračunati povečavo.
-

Navodila za uporabo mikroskopa

- Mikroskop nosimo vedno z obema rokama, z eno ga držimo spodaj za nogo, z drugo za stativ.
- Nikoli ga ne postavimo na rob mize.
- Če je na instrument pritrjena svetilka, pazimo na žice.
- Kadar delamo z mikroskopom, je najbolje, da pospravimo z mize vse, česar ne potrebujemo.
- Če opazujemo objekt v kapljici vode, mikroskopa ne nagibamo.
- Ko nehamo mikroskopirati, naravnamo objektiv na malo povečavo in pokrijte mikroskop s plastično vrečko.

Priprava mikroskopa

- Objektiv z majhno povečavo naravnamo na njegovo mesto. Pri zamenjavi enega objektiva z drugim rahlo škrtno, ko pride v svoj položaj.
- Če mikroskop nima vgrajene svetilke, naravnamo ogledalo tako, da se svetloba odbija in usmerja navzgor skozi odprtino v mizici. Večina mikroskopov ima zaslonko za uravnavanje svetlobe.
- Na opazovani predmet usmerimo dovolj svetlobe, upoštevamo, pa, da nekatere stvari bolje vidimo v slabši, druge pa v močnejši svetlobi.

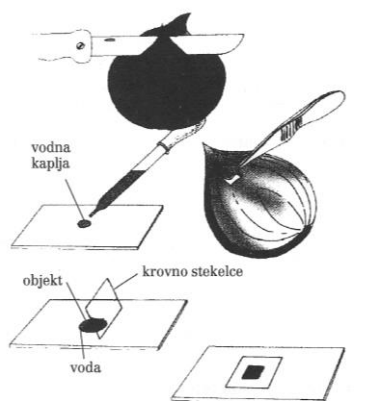
Priprava mikroskopskega preparata in mikroskopiranje

- Na objektno steklo položimo predmet in s kapalko kanemo nanj kapljico vode. To se imenuje mokri preparat.
- Krovno stekelce držimo cca. pod kotom 45 stopinj, nato pa ga počasi spuščamo. Morebitne zračne mehurčke v preparatu odstranimo tako, da po krovnem stekelcu potolčemo.
- Objektno steklo položimo na mizico in ga premikamo tako, da predmet pride v sredino odprtine.
- Prepričamo se če je objektiv z majhno povečavo na svojem mestu.
- Od strani gledamo na mizico, medtem, ko z roko vrtimo makrometrski vijak in spuščamo objektiv toliko, da bo 5 mm nad krovnim stekelcem.
- Z levim očesom pogledamo skozi okular in z grobim naravnavanjem počasi dvigamo objektiv, dokler ne zagledamo predmeta.
- Z mikrometrskim vijakom izostrimo sliko.
- Poiščemo predmet pod majhno povečavo.
- Izostrimo sliko in izravnamo zaslonko tako, da dobimo najboljšo svetlobo.
- Zavrtimo objektiv z veliko povečavo v lego za gledanje.
MAKROMETRSKEGA VIJAKA NE PREMİKAMO!!!
- Izostrimo sliko z mikrometrskim vijakom.
- Spremenimo lego zaslonke tako, da kar najbolje osvetlimo preparat.
- Če se prvič ne posreči najti preparata pod veliko povečavo, začnemo od začetka in skrbno ponovimo celotni postopek.
- Ponavljamo ga tako dolgo, dokler preparata ne zagledamo pod veliko povečavo.

Naloga

A – pripravite suhe mikroskopske preparate črk A, H in F in mikroskopirajte pod majhno in veliko povečavo.

B – pripravite mokri mikroskopski preparat luskolista čebule in ga mikroskopirajte pod majhno in veliko povečavo.



Slika 2 Priprava mokrega mikroskopskega preparata z luskolistom čebule

Rezultati in diskusija

1. Skicirajte črke A, H in F kot jih vidite s prostim očesom in pod mikroskopom.
2. Opišite kako vidite črke.
3. Izračunajte povečave opazovanih predmetov.
4. Kako izostrite sliko predmeta, ki ga opazujete?
5. Zakaj je bolj verjetno, da se bodo objektna stekla ali leče poškodovale pri veliki povečavi kot pri majhni?

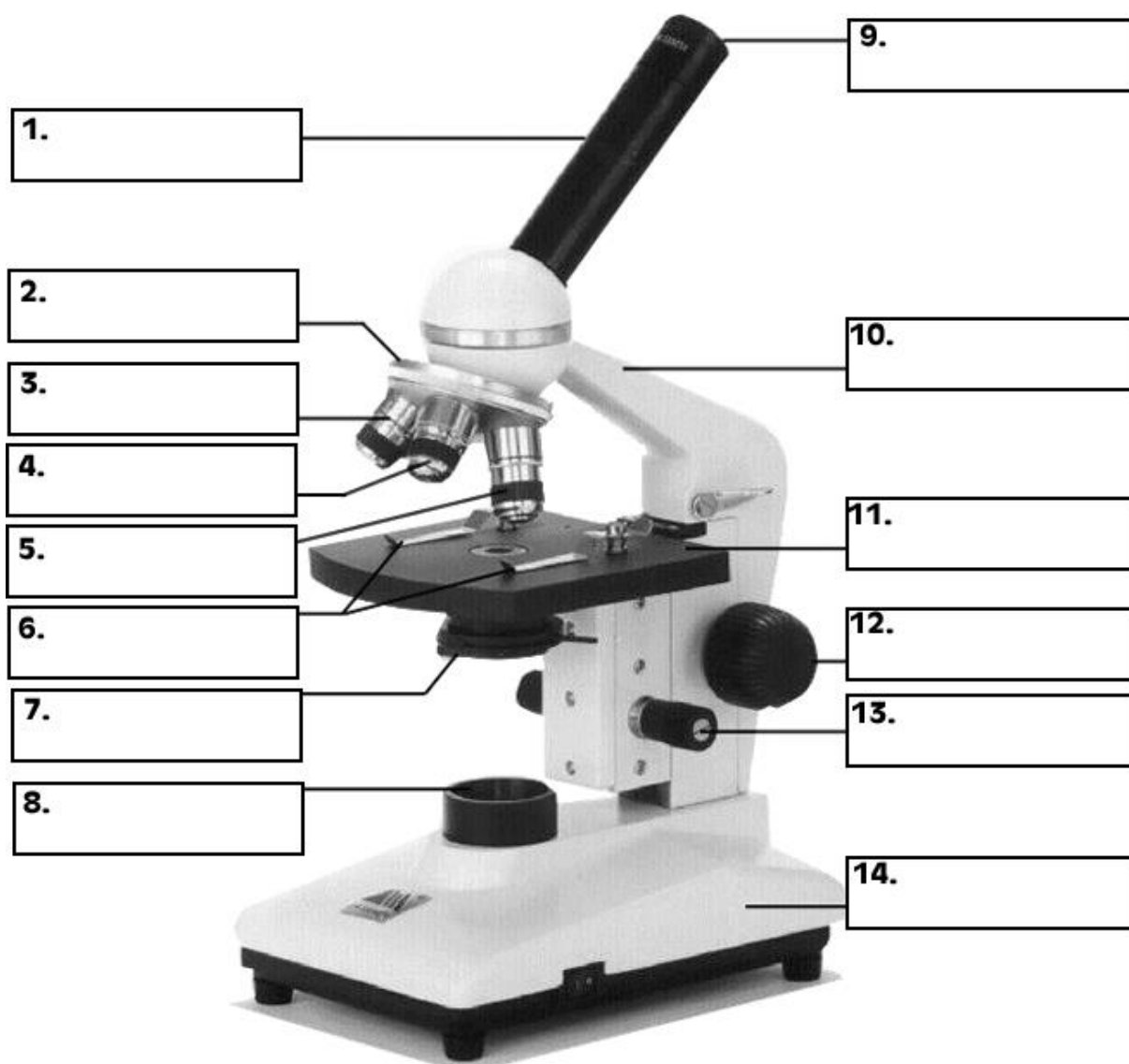
Poročilo 2. vaje: MIKROSKOP IN MIKROSKOPIRANJE

Namen dela:

Hipoteza:

Material, pripomočki:

Metoda dela:



Slika 3 Deli monokularnega mikroskopa



Rezultati:

Diskusija:

3. Vaja: IZOLACIJA DNK IZ SADJA

DNK je molekula, v kateri je deni zapis celice. Največ DNK v evkariontskih celicah je v jedru, nekaj pa še v mitohondrijih in kloroplastih. DNK obdajajo beljakovine.

Namen vaje je izolirati DNK iz vzorca.

Material in pripomočki

- pest sadja ali zelenjave, ki ga je lahko zmečkati (zrele jagode, paradižnik, kivi ipd.) pri sobni temperaturi
- 10 ml slane vode pomešane z detergentom
Priprava; v 100 ml čašo nalijte 5 ml detergenta, dodajte 1,5 g nejudiranega NaCl ter dolijte destilirano vodo do oznake 100 ml. Pomešajte tako, da se ne peni.
- 20 ml ledeno hladnega etanola
- vrečko za zamrzovanje
- čašo
- lijak s filter papirjem
- leseno palčko

Postopek

1. Sadje dajte v vrečko in ga mečkajte tako dolgo, da nastane sadna pasta.
2. Dodajte okoli 10 ml mešanice slane vode z detergentom in z mečkanjem dobro premešajte.
3. Iz vrečke prelijte zmes v lijak s filter papirjem in filtrirajte v čašo.
4. Enemu volumskemu delu filtrata (3-5 ml) previdno dolijte dva volumska dela ledeno hladnega etanola. Dolivajte ob steni čaše tako, da se alkohol ne meša s filtratom, temveč tvori sloj nad njim.
5. Počakajte minuto ali dve in na meji med obema tekočinama boste opazili nastanek belega »oblaka« iz nitastih molekul DNK.
6. Z leseno palčko lahko prenesete molekule DNK v čisto epruveto ali čašo tako, da jih navijete okoli nje.

Poročilo 3. vaje: IZOLACIJA DNK IZ SADJA

Namen dela:

Hipoteza:

Material, pripomočki:

Metoda dela:

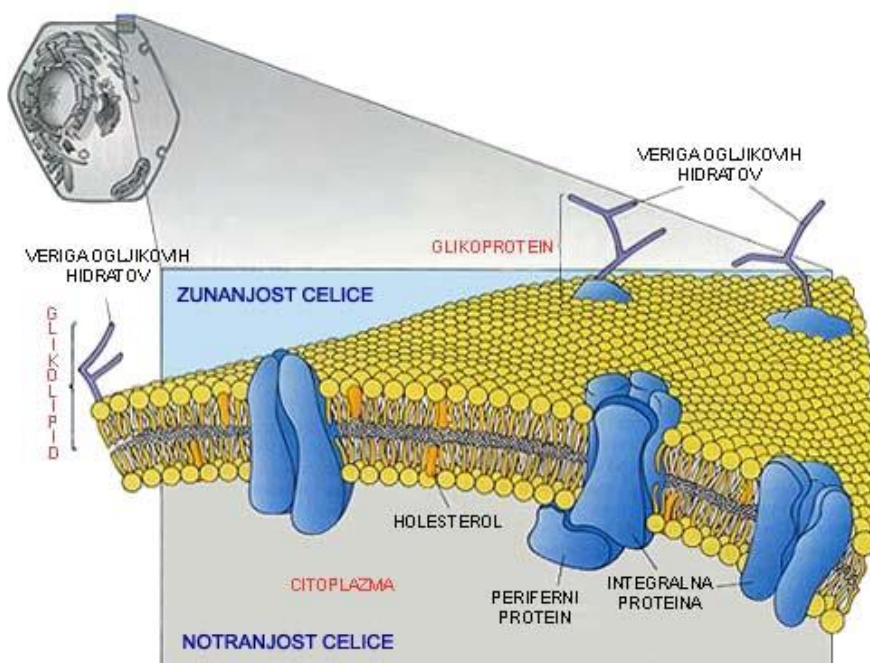
Rezultati/diskusija:

1. Kakšno vlogo je imel v vaji detergent? (Namig, katere molekule je raztapljal?)
2. Kje v celici je DNK?
3. Kako bi ugotovili, da je ves DNK pripadal le rastlini?

CELICA – OSNOVNA ŽIVLJENJSKA ENOTA

4. Vaja: LASTNOSTI CELIČNE MEMBRANE - PLAZMALEME

Vse snovi, ki gredo v celico ali iz nje morajo skozi celično membrano. Celica ne more pravilno delovati in ostati živa, če njena membrana ne uravnava prehajanja snovi. Pri tem eksperimentu boste raziskali, kakšno vlogo in sposobnost ima celična membrana pri ohranitvi pravilnega kemijskega ravnotežja v celici. Dokazali boste gibanje molekul v celico in iz nje.



Slika 4 Celična membrana

Po opravljenem laboratorijskem delu boste:

- plazmolizo in deplazmolizo v rastlinskih celicah,
- razumeli pojem selektivne prepustnosti plazmaleme,
- razumeli pojem ozmoze

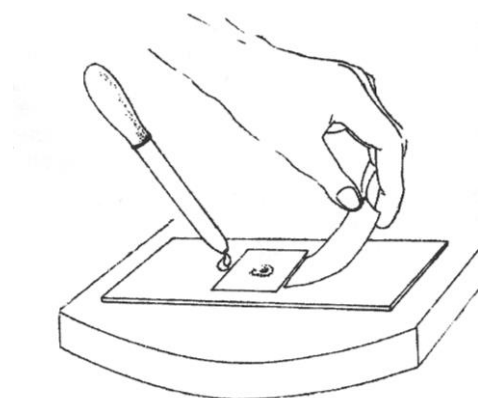
Kako vplivajo različne koncentracije vodnih raztopin na celice luskolista rdeče čebule?

Material

- luskolist rdeče čebule
- 10% raztopina kuhinjske soli
- kapalka
- destilirana voda
- objektna stekla
- krovna stekelca
- mikroskop
- filtrirni papir

Postopek

- na objektno steklo kanite kapljico vode,
- na notranji strani čebulnega luskolista odlučite plast povrhnjice in jo položite v vodo na objektno steklo, preparat pokrijte s krovnim stekelcem,
- košček filtrirnega papirja položite ob rob krovnega stekelca, tako da začne vleči vodo izpod stekelca,
- na nasprotni strani pa dodajte ob rob stekelca 10% raztopino NaCl, filtrirni papir bo tekočino vsrkal, tako da bo slana voda stekla pod krovnim stekelcem in obdala celice, ki jih opazujete,
- odstranite raztopino soli in jo zamenjajte z destilirano vodo,
- uporabite nov košček filtrirnega papirja, destilirana voda naj steče pod krovno steklo, da bo zamenjala raztopino soli.



Slika 5 Dodajanje slane vode pod krovno stekelce

Rezultati

1. Skicirajte 3 ali 4 rastlinske celice (označite celično steno, plazmalemo in vakuolo) v vodi, v 10% raztopini soli ter v destilirani vodi.
2. Opišete, kaj se dogaja z rastlinskimi celicami, ki jih obdaja slana voda.
3. Opišite, kaj se dogaja z rastlinskimi celicami, ki ste jih dali ponovno v destilirano vodo.

Diskusija

1. Ali je voda prehajala v celice ali iz njih, ko so bile obdane z raztopino soli? Kakšen dokaz imate za svojo trditev?
2. V katero smer je prehajala voda skozi celično membrano, ko so bile celice obdane z destilirano vodo?
3. Kaj bi se po vašem mnenju zgodilo s celicami luskolista, če bi jih pustili v raztopini kuhinjske soli nekaj ur?
4. Bakterije povzročajo kvarjenje hrane. Razložite, zakaj se nasoljeno meso, jagode v kompotu in kumare v kisu ne pokvarijo, čeprav do njih lahko pridejo bakterije.
5. Naštejte še druge možnosti za konzerviranje hrane in razložite delovanje.
6. Ali lahko pričakujemo, da bi katera koli rastlina iz sladkovodnega jezera preživela, če bi jo prenesli v morje?
7. Učinkovit način za uničevanje plevela je polivanje zemlje okoli plevela s slano vodo. Razložite, zakaj rastline propadejo.

Poročilo 4. vaje: LASTNOSTI CELIČNE MEMBRANE - PLAZMALEME

Namen dela:

Hipoteza:

Material, pripomočki:

Metoda dela:

Rezultati:

Skice celic v vodi	Skice celic v 10% raztopini soli	Skice celic v destilirani vodi

Diskusija:

5. Vaja: DELOVANJE ENOSTAVNIH KATALIZATORJEV

Vodikov peroksid (H_2O_2) je kemična snov, ki nastaja kot stranski produkt pri kemičnih reakcijah v živih celicah. Ker je strupen, ga mora celica takoj razgraditi. Pri razkroju sodeluje snov – katalizator, ki pospešuje kemične reakcije. Katalizatorje v živih celicah imenujemo **encimi ali fermenti**. Encimi so kemično beljakovine.

Pri tem lab. delu boste opazovali delovanje encima katalaze, ki pospešuje razkroj vodikovega peroksida. Katalazo najdemo v tkivih. Primerjali boste njeno delovanje z delovanjem nebeljakovinskih katalizatorjev in ugotovili, v kakšnih razmerah deluje.

Pri opravljenem lab. delu boste:

- spoznali razlike in podobnosti v delovanju anorganskega katalizatorja in encima,
- spoznali dejavnike, ki vplivajo na delovanje encimov (pH, temperatura, velikost delcev),
- razumeli pomen encimov v živih celicah,
- spoznali katalazo in njeno vlogo v celicah.

Material

- manganov dioksid v prahu
- sveža 3% raztopina vodikovega peroksida
- destilirana voda
- koščki svežih jeter in krompirja
- standardne epruvete
- pinceta
- termometer
- držalo za epruvete
- kopel z vrelo vodo
- ledena kopel
- kopel sobne temperature
- steklena palčka
- kremenčev pesek
- univerzalni indikatorski papir
- skalpel
- raztopina natrijevega hidroksida (0,1M)
- raztopina klorovodikove kisline (0,1M)
- lesene trske
- vžigalice

Postopek

Pri poskusih označite hitrost reakcije takole:

0 = ni reakcije

1 = počasna reakcija

2 = zmerna reakcija

3 = hitra reakcija

4 = zelo hitra reakcija

a) učinek katalizatorja

Nalijte raztopino H_2O_2 v dve epruveti do višine 2 cm (5 ml). V eno dodajte malo drobnega peska, v drugo pa približno enako količino manganovega dioksida. Pazite, da ne boste prenašali MnO_2 in kremenčevega peska z isto žličko.

b) učinek encima

V dve čisti epruveti nalijte enaki količini (2 ml) H_2O_2 . V eno dodajte za riževo zrno velik košček jeter, v drugo pa enako velik košček krompirja. Košček jeter držite v epruveti s pomočjo palčke, dokler reakcija ne poteče.

c) ponovna uporaba encima

Tekočino iz epruvete z jetri iz prejšnjega poskusa razdelite v 2 čisti epruveti. Tudi jetra razdelite na dva dela in dajte v vsako epruveto 1 košček. V prvo epruveto dodajte še svež košček jeter, v drugo pa dolijte še 1 ml svežega H_2O_2 .

č) vpliv velikosti delcev na delovanje encima

Dajte košček jeter v eno in enako velik košček krompirja v drugo epruveto. V obe epruveti vsujte malo peska in ves material previdno zmečkajte s stekleno palčko. Nato dodajte še po 2 ml H_2O_2 .

d) vpliv temperature na delovanje encima

Nekaj zmečkanih jeter na dnu epruvete postavite za 5 minut v vrelo vodo. Potem dodajte kuhanim jetrom približno 1 ml svežega H_2O_2 .

Vzemite 2 epruveti in dajte v vsako 1 ml H_2O_2 . Eno epruveto postavite za 5 minut v toplo vodno kopel (37°), drugo pa v ledeno. Potem vzemite obe epruveti iz njunih vodnih kopeli in v vsako dodajte košček jeter.

e) vpliv pH na delovanje encima

V vsako izmed treh čistih epruвет dajte košček jeter in malo peska ter vse skupaj zmečkajte s stekleno palčko. V prvo epruveto dodajte 2 ml destilirane vode, v drugo 2 ml natrijevega hidroksida in v tretjo 2 ml klorovodikove kisline. Izmerite in si zapišite pH vsake epruvete. V vsako epruveto vlijte še 2 ml H_2O_2 .

Rezultati

Zapišite snovi v epruvetah, ocenite in zapišite hitrost reakcije v preglednico 7.

Diskusija:

1. Izdelajte grafikone hitrosti reakcij, ki ste jih opazovali pri poskusih od 1 do 6!
2. S kakšnimi katalizatorji ste se srečali pri vaji?
3. Ali je mogoče razgraditi vodikov peroksid tudi z nebeljakovinskimi katalizatorji?
4. Katera snov se je spremenila pri reakciji med H_2O_2 in jetri?
5. Opišite vpliv temperature, pH in velikosti delcev na hitrost delovanja encima.
6. Kateri plin se pri delovanju encimov sprošča iz H_2O_2 ?
7. Napišite enačbo reakcije razgradnje H_2O_2 .
8. Ali se strupeni H_2O_2 vplivom delovanja katalaze v celicah živih organizmov spremeni v neškodljive snovi? Razložite.
9. Poiščite v leksikonu definicijo besede katalaza.
10. Razložite delovanje encima katalaze.

Poročilo 5. vaje: Delovanje enostavnih katalizatorjev

Namen dela:

Hipoteza:

Material, pripomočki:

Metoda dela:

Rezultati:

Učinek katalizatorja

epruveta	dodane snovi	hitrost reakcije
1		
2		

Učinek encima

epruveta	dodane snovi	hitrost reakcije
3		
4		

Ponovna uporaba encima

epruveta	dodane snovi	hitrost reakcije
5		
6		

Vpliv velikosti delcev na delovanje encima

epruveta	dodane snovi	hitrost reakcije
7		
8		

5. Vpliv temperature na delovanje encima

epruveta	dodane snovi	temperatura	hitrost reakcije
9			
10			
11			

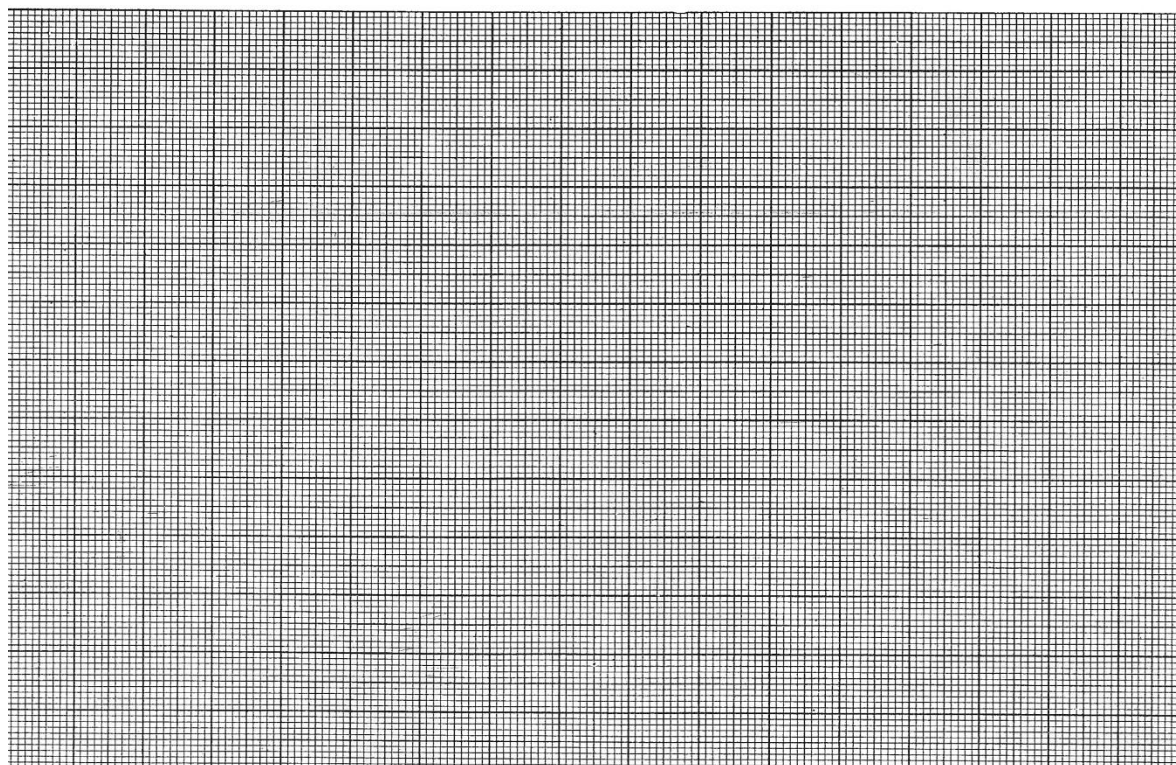
6. Vpliv pH na delovanje encima

epruveta	dodane snovi	pH	hitrost reakcije
12			
13			
14			

Preglednica 5 Vplivi dejavnikov na delovanje encimov

Diskusija:

Grafikon hitrosti reakcij pri poskusih od 1 do 6.



OSNOVNI ŽIVLJENJSKI PROCESI: VRENJE, DIHANJE IN FOTOSINTEZA

6. Vaja: PREUČEVANJE ALKOHOLNEGA VRENJA

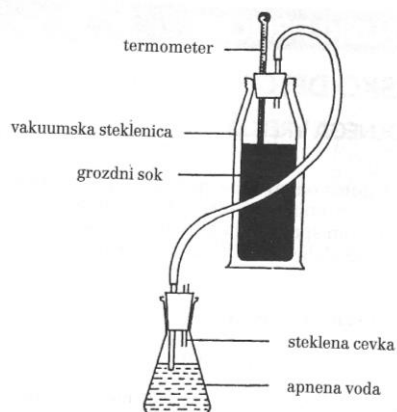
S preučevanjem vrenja boste dobili odgovor na vprašanje, kako je potekal proces sproščanja energije in nastajanja ATP pri prvotnih heterotrofnih organizmih. Ugotovili boste, kakšen je odnos med življenjskim procesom sproščanja energije in med aktivnostjo encimov. Pri tem laboratorijskem delu si boste ogledali vrenje, ki ga povzročajo glive kvasovke.

Po opravljenem lab. delu boste:

- spoznali pomen zaporednih meritev pri poskusih,
- razumeli pomen kontroliranega poskusa,
- poznali pomen kvalitativnih poskusov za določanje bioproduktov,
- spoznali in razumeli proces vrenja in ga primerjali z dihanjem,
- znali risati in odčitavati grafikone.

Material

- dve vakuumski steklenici
- dva zamaška z odprtinama za vakuumski steklenici
- erlenmajerici s prostornino 250 ml
- 25 ml apnene vode
- 2 zamaška z dvema odprtinama za erlenmajerici
- 4 krajše steklene cevke
- tanjši gumijasti cevi
- 2 termometra
- sadni sok
- steklena palčka za mešanje
- mikroskop
- objektna stekla
- krovna stekla
- dve kapalki



Slika 6 Vrenje – priprava za poskus

Postopek

- Pripravite aparat, kot ga prikazuje slika 9,
- Nalijte v obe vakuumske steklenici do dve tretjini grozdnega soka sobne temperature. V eno dodajte še košček zdrobljenega kvasa in označite steklenici, da boste lahko spoznali tisto, v kateri je kvas.
- Vakuumske steklenici zamašite tako, da sega termometer v tekočino, cevka pa ne. Potem zamašite še erlenmajerici tako, da daljši cevki segata pod gladino apnene vode, krajši pa nad njo. S pomočjo gumijaste cevke povežite stekleno cevko, ki gleda iz vakuumske steklenice, z daljšo cevko v erlenmajerici.
- Po preteku 48 ur odprite obe vakuumske steklenici in primerjajte vonj njunih vsebin.

Rezultati

1. V preglednico vpišite temperaturo v obeh steklenicah. Zapisujte jo vsako uro.
2. Izdelajte grafikon na podlagi zbranih podatkov o temperaturi. Podatke o obeh steklenicah vnesite v isti grafikon. Na vodoravno os nanašajte čas, na navpično os pa temperaturo.



Diskusija

1. Kaj dokazuje, da je prišlo do kemijske spremembe?
2. Kateri produkt vrenja se pokaže pri reakciji v apneni vodi?
3. Kateri produkt lahko odkrijemo po vonju?
4. Katere kvantitativne podatke prikazuje vaš grafikon? Izdelajte hipotezo, ki bo razložila spremembo, prikazano na grafikonu.
5. C_2H_5OH je kemijska formula za alkohol etanol, CO_2 pa za ogljikov dioksid. Katera snov v grozdnem soku se je spremenila v ta dva produkta?

Poročilo 6. vaje:

Namen dela:

Hipoteza:

Material, pripomočki:

Metoda dela:

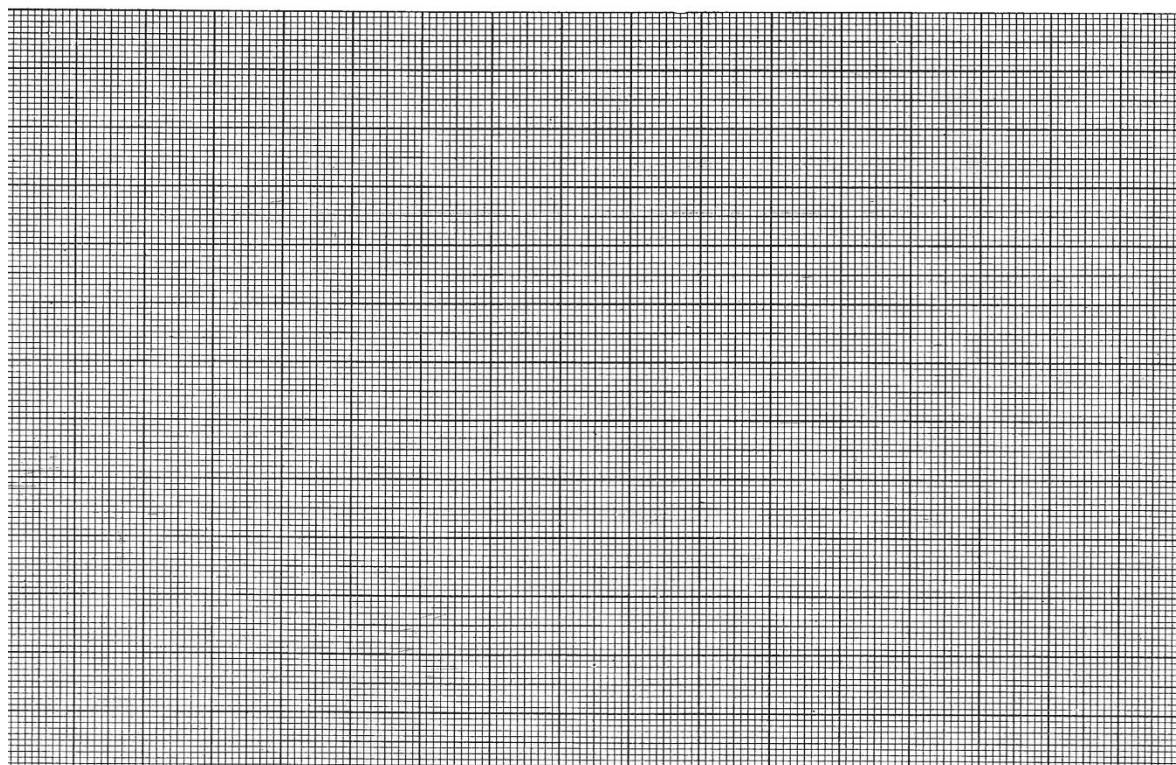
Rezultati:

1. Preglednica meritev temperatur v obeh steklenicah.

Ura	T (°C) – steklenica1 (kvas)	T (°C) – steklenica 2	Ura	T (°C) – steklenica1 (kvas)	T (°C) – steklenica 2
1			25		
2			26		
3			27		
4			28		
5			29		
6			30		
7			31		
8			32		
9			33		
10			34		
11			35		
12			36		
13			37		
14			38		
15			39		
16			40		
17			41		

18			42		
19			43		
20			44		
21			45		
22			46		
23			47		
24			48		

2. Grafikon zbranih podatkov o temperaturi. Podatke o obeh steklenicah vnesite v isti grafikon. Na vodoravno os nanašajte čas, na navpično os pa temperaturo.



Diskusija:

7. Vaja: BARVILA V ZELENIH LISTIH

Zanima nas, ali daje barvo zelenim listom samo eno barvilo, ali je teh barvil morda več? **Kaj mislite vi?**

Vašo hipotezo preverite s posebno metodo papirne kromatografije. Izvajamo jo na dva načina – na traku in na krogu, vendar je osnovni princip v obeh primerih enak. Tiste snovi, ki se v topilih bolje topijo, odnaša topilo hitreje, tiste, ki se slabše topijo, pa počasneje. Topilo se dviguje po filtrirnem papirju zaradi kapilarnosti – s seboj odnaša raztopljene snovi, ki sena filtrirnem papirju ločijo tako, da lahko opazujemo posamezne sestavine. Če so te sestavine barvila, jih lahko opazujemo s prostim očesom. Če so v vzorcu neobarvane snovi, si pomagamo z različnimi detektorji (UV svetloba, indikatorji,...).

Po opravljenem lab. delu boste:

- spoznali in razumeli metode papirne kromatografije,
- zvedeli, da je v zelenih listih več različnih barvil,
- znali določiti posamezno barvilo v ekstraktu na osnovi R_f vrednosti.

Material

- zeleni listi (trava, kopriva, teloh, pelargonija,...)
- alkohol (etanol)
- zamašek s kavljem iz žice
- škarje
- topilo (8% acetona, 92% petroletra)
- epruvete
- pipeta
- mikropipeta
- velika epruveta ali stekleni valj z zamaškom
- petrijevka
- trak filtrirnega papirja ali okrogli filtrirni papir
- stojalo za epruvete
- urno steklo
- kremenčev pesek

Priprava listnega ekstrakta

- v terilnico drobno narežite zelene liste rastline, dodajte malo kremenčevega peska in dobro strite,
- dodajte 4ml acetona oz. toliko, da pokrijete zmes in jo nato prefiltrirajte.

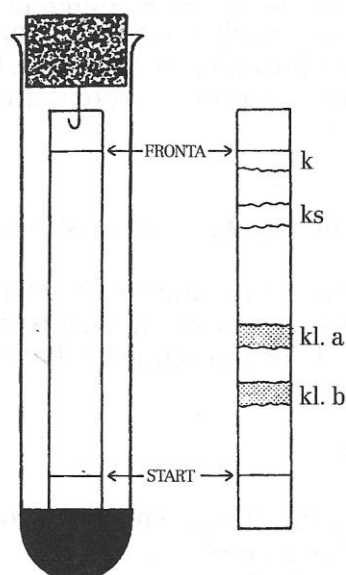
Postopek

Papirna kromatografija na traku

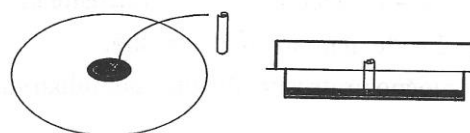
- Trak filtrirnega papirja pritrdimo na zamašek.
- Odstranimo zamašek in v epruveto nalijemo topilo, tako da bo trak f. papirja segal v tekočino, ko epruveto spet zamašimo.
- S svinčnikom naredimo 2 črti na papirni trak. Prvo približno 2 cm od spodnjega roba, drugo pa približno 2 cm pod zgornjim robom.
- Na spodnjo črto naneseemo z stekleno palčko kapljico pigmenta. Papir naj se posuši. Ta postopek večkrat ponovimo.
- Trak z barvno črto postavite v epruveto. Prepričajte se, da konec traku res sega v topilo. Pazite, da se trak ne bo dotikal sten posode. Kromatografija je končana takrat, ko se topilo dvigne skoraj do vrha papirnega traku.

Papirna kromatografija na krogu

- S kapilaro nanašamo ekstrakt v sredino kroga, vedno na isto točko.
- Ko se posuši, naredimo v sredini kroga luknjico in vanjo vstavimo zvitek, ki smo ga naredili iz koščka kromatografskega papirja.
- V petrijevko nalijemo topilo. Kromatografski papir položimo na petrijevko tako, da je zvitek iz papirja v topilu. Petrijevko pokrijemo in počakamo toliko časa, da bo topilo doseglo rob kromatografskega papirja oz. rob dna petrijevke.
- Kromatografski papir vzamemo iz petrijevke in ga na zraku posušimo.



Slika 7 P. kromatografija na traku



Slika 8 Papirna kromatografija na krogu

Določanje retencijskega faktorja (Rf)

Po opravljeni papirni kromatografiji lahko za posamezne sestavine preizkusnega vzorca določimo Rf vrednost. To je hitrost, s katero se določena snov giblje po kromatografskem papirju, v primerjavi s hitrostjo, s katero se giblje topilo.

Retencijski faktor (Rf) =	$\frac{\text{razdalja, ki jo preide snov (v našem primeru določen pigment)}}{\text{razdalja, ki jo preide topilo}}$
---------------------------	---

Retencijski faktor ima vrednost 1 ali pa je manjši od 1, vendar večji od 0. Razdalja, ki jo preide snov, je razdalja od startnega mesta (od črte na traku, oz. od sredine kroga) do sredine določene barvne lise.

Rezultati

1. Po opravljeni kromatografiji na traku in krogu si zapišite in skicirajte ugotovitve.
2. Izračunajte retencijske faktorje za vse barvne lise na vaših kromatografih in jih zapišite v preglednico.

Barvne lise	Rf

Preglednica 7 Rf za barvne lise na kromatografu

Diskusija

1. Naštejte barve po vrsti, kot si sledijo od vrha traku ali od zunanjega roba proti središču kroga.
2. Vsaka barvna lisa vsebuje določeno rastlinsko barvilo. Kako bi spoznali imena in kemijsko sestavo posameznih barvil na kromatografu? Razložite.
3. Razložite, zakaj so listi jeseni rumeni ali oranžni?
4. S pomočjo papirne kromatografije lahko analizirate pigmente različno obarvanih listov: svetlozelenih, temnozelenih, rumenih,... Kako vpliva okolje na vrste pigmentov in na njihove relativne količine?



Poročilo 7. vaje:

Namen dela:

Hipoteza:

Material, pripomočki:

Metoda dela:

Rezultati:

Diskusija:

LITERATURA

Pevec, S., 1999: BIOLOGIJA, Laboratorijsko delo, DZS

Drašler, J., Gogala, N., Povž, M. ,in ostali, 1998: BIOLOGIJA, Navodila za laboratorijsko delo, DZS

Stušek P., 2001: Celica za strokovne in tehniške gimnazije, DZS

Golčar T., Sušnik F.,...,1994:Biologija 1, Ljubljana, DZS

Tarman K., 2001: Ekologija, Ljubljana, DZS

Artač, S., 2011: Biologija, Praktikum za terensko delo, MZ

Potočnik, Vičar, H., 2005: Od molekule do celice, Delovni zvezek za splošno gimnazijo, Rokus

Sedlar, A., 2011: Ekološke analize in monitoring. Osnove laboratorijskih in terenskih vaj