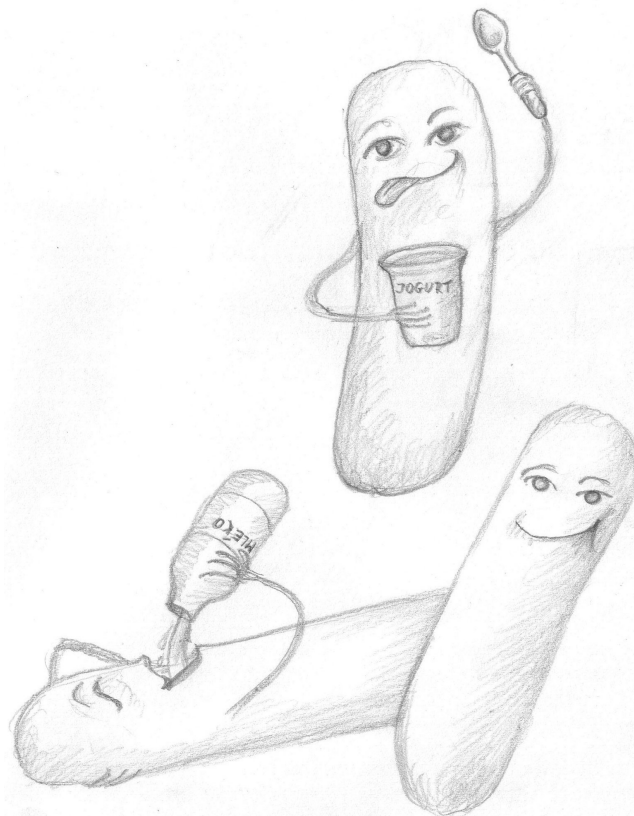


Kuchařka biologických pokusů

Jan Smyčka
Anita Brožková



Obsah

Cytoskelet.....	1
Izolace DNA.....	4
Let mouchy.....	8
Rostlinné hormony.....	11
Výroba jogurtu.....	15

Předmluva

Vážený pedagogu, dostal se Vám do rukou soubor návodů pro tvorbu laboratorních cvičení z biologie pro střední a základní školy. Jeho cílem je především oživit výuku biologie ve školách. Vesměs jde o pokusy převzaté z laboratorních cvičení vysokých škol nebo různých biologických soustředění, upravené tak, aby byly použitelné pro střední nebo základní školu. Všechna témata se dotýkají v současné době využívaných biotechnologií, laboratorních postupů a nebo alespoň témat potenciálně atraktivních pro studenty. Důraz byl kladen mimo jiné na snadnou proveditelnost a dobrou dostupnost materiálů. Prakticky všechny používané pomůcky lze sehnat v obchodě s potravinami nebo drogerii, jediným „laboratorním“ vybavením je mikroskop. Všechny pokusy jsou mnohokrát ozkoušené a obvykle vycházejí i při výraznějším pozměnění metodiky. Doporučujeme však všechny pokusy dopředu otestovat před prezentací studentům.

Každé z pěti témat souboru obsahuje kromě návodu na provádění pokusů a seznamu pomůcek i kapitolu „A co se vlastně děje?“, což je jakýsi širší rozbor problematiky a vysvětlení dějů probíhajících v pokusech. Tato kapitola je podána formou srozumitelnou pro středoškolského studenta, v případě provádění pokusů s mladšími studenty je čistě na uvážení pedagoga, zda mají studenti dostatečné schopnosti text pochopit a nebo je nutné jim jej převyprávět. Soubor dále obsahuje i časový údaj o délce přípravy a prezentace pokusů, který je však čistě orientační. Poslední kapitolou je „Užitečné odkazy a literatura“. Tato kapitola slouží spíše jako pomůcka při rozšiřování tématu nad námi uvedený rámec. Většinou se jedná o různé volně dostupné počítačové animace a jiné materiály, na které jsme při tvorbě pokusu narazili.

Celý soubor je volně šiřitelný a upravovatelný za účelem výuky. Proto je také v elektronické podobě krom formátu .pdf šířen i ve formátu .odt, který umožňuje úpravy pomocí textových editorů jako OpenOffice (volně stažitelný program). Grafický materiál z tohoto souboru není možné šířit mimo kontext díla.

Přejeme mnoho úspěchů při výuce.

Cytoskelet

Cytoskelet je velice důležitou, ale i opomíjenou buněčnou strukturou. Jedná se nejen o jakousi kostru a výztuhu buňky, jak říká název, ale zároveň o soustavu, pomocí které se buňka jednoduše pohybuje navenek, ale také přemisťuje své orgány. Cytoskelet není viditelný běžným mikroskopem, některé jeho projevy, jako například pohyby organel, však ano.



Časová náročnost:

30 - 45 minut

Potřebný materiál:

- mikroskop
- vodní mor kanadský (rostlina běžně sehnatelná v akvaristických potřebách nebo eutrofnějším rybníce), případně mech měřík
- stolní lampičku s klasickou žárovkou, či jiný silný zdroj světla (netřeba, pokud je součástí mikroskopu)
- laboratorní potřeby pro zhotovení vodného preparátu



Postup pokusu:

- zhotovíme vodný preparát lístku vodního moru
- vložíme do mikroskopu a vystavíme zdroji silného světla
- po cca deseti minutách pozorujeme, že se plastidy v rámci buňky začnou pohybovat dokola, tento jev nazýváme cyklóza cytosolu, plastidy se pohybují pomocí cytoskeletárních struktur
- když zdroj světla odstavíme, můžeme pozorovat, že se plastidy opět přestávají pohybovat

Poznámka: Pokud se plastidy nebudou hýbat, pouze se přesunou ke straně, znamená to, že zdroj světla je příliš intenzivní.

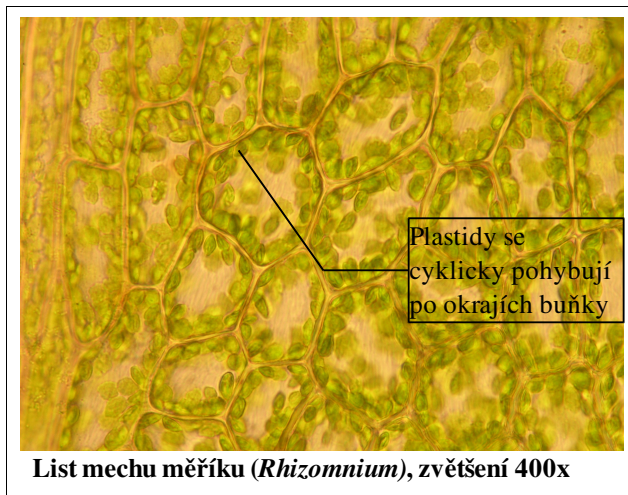
Poměrně často se stává, že je cykloza pozorovatelná jen v některých buňkách, nebo vůbec. To může souviset s konkrétními parametry světla, ročním obdobím a spoustou dalších faktorů. Pokus je tedy vhodný vyzkoušet dopředu.

A co se vlastně děje?

Cytoskelet buňky je struktura zodpovědná za spoustu jevů nezbytných pro existenci buňky. Zajišťuje **pohyb** organel a váčků (lyzozomy, trávicí vakuoly) buňky, pohyb samotných buňek, jejich mechanické vlastnosti (hlavně u živočichů, rostliny k tomu mají buněčnou stěnu) a v neposlední řadě také buněčné dělení. U rostlinných buněk se skládá ze tří základních struktur, mikrotubulů, mikrofilament a intermediálních filament.

Mikrotubuly jsou z těchto struktur větší a také méně dynamické. Jedná se o dutá vlákna skládající se z proteinu tubulinu. Jsou zodpovědné například za vytvoření dělicího vřeténka při dělení buňky.

Mikrofilamenta jsou podstatně tenčí. Skládají se z proteinu aktinu a nejsou dutá. Zodpovědná



jsou například za pohyby panožek u měňavkovitých buněk.

Intermediální filamenta se vyskytují pouze u živočichů. Jedná se o struktury složené z více možných proteinů (ale např. keratinu). Jejich funkcí není pohyb, ale především udržení tvaru živočišné buňky, která nemá buněčnou stěnu.

A jak se vlastně cytoskelet pohybuje? Jednak pomocí toho, že se jeho vlákna mohou na koncích neustále dostavovat a nebo naopak zkracovat. Dalším mechanismem jsou takzvané „**molekulové motory**“. Jde o proteiny schopné pohybovat se po cytoskeletu za spotřebování **energie**¹ a mít na sebe případně navěšený nějaký náklad² (organelu, váček, jiný kus cytoskeletu). Tyto molekuly se nazývají kineziny a dyneiny (ty se pohybují po mikrotubulech), a myosin (ten se pohybuje po aktinových mikrofilamentech)³.

A nyní již k jevu probíhajícímu pod naším mikroskopem. **Chloroplasty** zde pohybuje cytoskelet, v tomto případě mikrofilamenta. A proč to dělají? Když na vzorek posvítíme, zvýší se fotosyntetická aktivita chloroplastů. Produkují tedy víc **kyslíku** a **glukózy** a zároveň potřebují víc **oxidu uhličitého**. Kdyby zůstaly na jednom místě, brzy by se tam vytvořila obrovská koncentrace glukózy a zároveň by tam téměř chyběl oxid uhličitý. Způsobem jak tomu zabránit je právě nechat putovat chloroplast po celé buňce a rozprostřít tak rovnoměrně jeho produkci a spotřebu⁴.

Užitečné odkazy a literatura:

<http://multimedia.mcb.harvard.edu/>

Video Inner life of the cell. Zajímavá animace s poutavou hudbou, demonstrující základní buněčné pochody na příkladu makrofága prostupujícího stěnou cévy.

http://www.dailymotion.com/video/x492em_cellules-de-chlorophile_tech

Video zobrazující cyklozu.

1 Jako lokomotiva

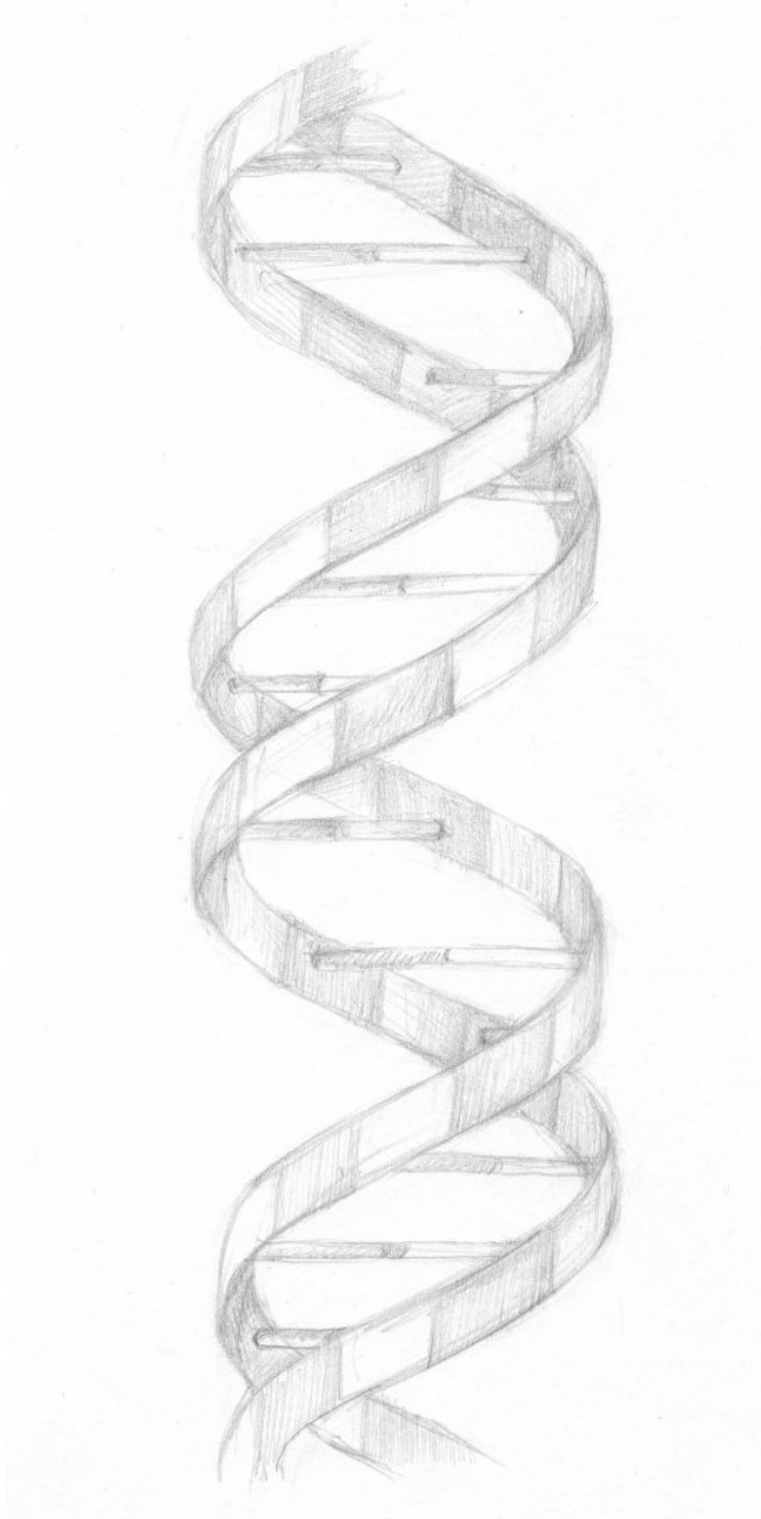
2 Jako vagonek

3 Možná víte, že z aktinu a myozinu se skládají svaly. Svalová vlákna jsou vlastně soubuní (syncytia), která jsou doslova plná mikrofilament a jejich molekulového motoru, myozinu. Svalový stah je způsoben pohybem myozinů po aktinových vláknech.

4 Ostatně je to stejný princip, jako když se o rovnoměrné „rozmístění“ cukru v čaji snažíte tím, je ho zamícháte.

Izolace DNA

DNA (deoxyribonukleová kyselina) je molekula v dnešní době nejen velice známá, ale i nesmírně důležitá pro jakýkoli život. Ostatně krom některých virů ji obsahují všechny živé organismy. Jedná se o jakousi „knihovnu“, ve které je uložen „návod“ na tvorbu molekul, které řídí a spravují buňku, ale i „vyrábějí“ jiné sloučeniny potřebné pro správný chod buňky - proteiny. DNA je odpovědná například i za to, že děti jsou podobné svým rodičům, tedy jev zvaný genetická dědičnost. Pomocí tohoto postupu si lze DNA izolovat z buněk banánu.



Časová náročnost:

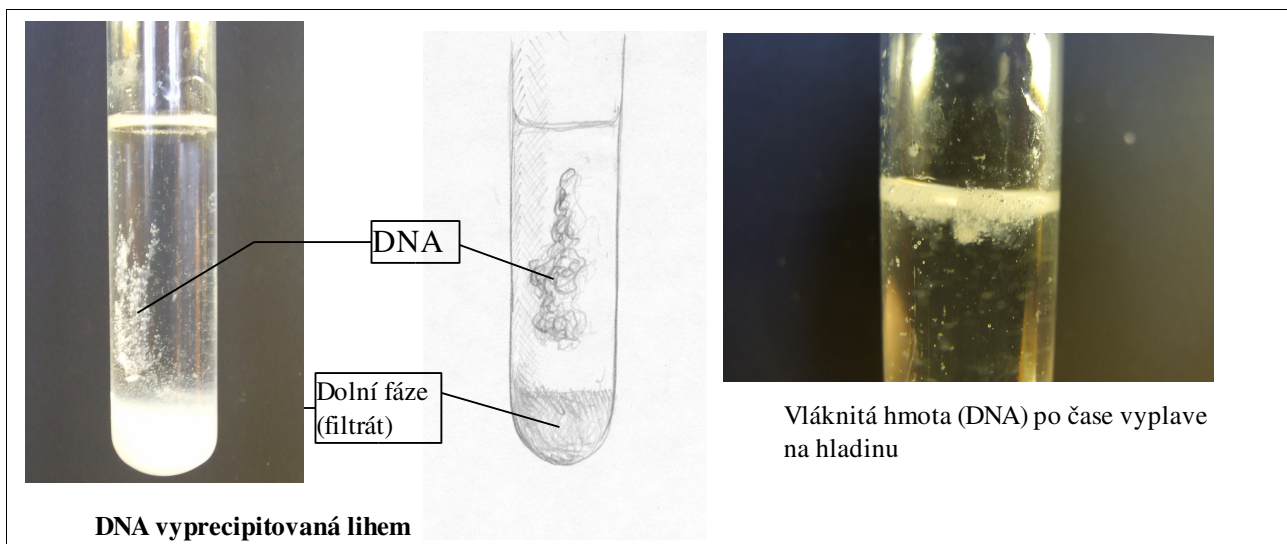
30 - 60 minut

Potřebný materiál:

- šampon obsahující EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid)
- kuchyňská sůl
- destilovaná voda (možno i z kohoutku, pokud není příliš tvrdá)
- banán
- papírový kapesník
- podchlazený líh (možno denaturovaný)
- odměrný válec a váhy (není třeba přesně odměřovat uvedená složek množství, ale je možné, že se tím výrazně sníží viditelnost výsledku)
- kádinky, zkumavky a libovolné nástroje na rozmělnění banánu a manipulaci s roztoky

Postup pokusu:

- 1 g banánu rozmělníme na kašovitou hmotu.
- Přilijeme 30 ml vody s rozpuštěnými 0.1 g soli a 5-10 ml šamponu.
- Vzniklou směs promícháme a necháme 5-10 minut odstát.
- Následně přefiltrujeme přes papírový kapesník.
- Filtrát rozlijeme do zkumavek (či jiných nádob) tak, aby výška ode dna činila asi 1 cm (cca 1 ml v případě zkumavky).
- Do zkumavek nalijeme čtyřnásobek lihu podchlazeného na teplotu okolo 0°C (možno odhadem).
- Bílá vláknitá sraženina stoupající z dolní „zamlžené“ fáze (filtrát) do horní průhledné fáze (líh) je DNA (obsahující některé jaderné proteiny, případně jiné molekuly podobnými chemickými vlastnostmi jako DNA).



A co se vlastně děje?

DNA je **molekula** zodpovědná za chod buňky. A jak to vlastně dělá? Funguje jako jakási **knihovna**, pomocí které vznikají molekuly aktivně ovlivňující buňku, **proteiny**. Celý proces funguje tak, že v DNA, což je dlouhá řetězovitá molekula, je uložena informace pomocí kódu obsahujícího čtyři různé znaky (báze), označované písmeny A, G, C, T. Vlastně jde o čtyři různé molekuly, znaky jsou prvními písmeny jejich názvu (adenin, guanin, cytosin, thymin). Aby vznikla

známá **dvojšroubovice**, je však nutné, aby k sobě přisedly dva takovéto řetězce. Některé báze k sobě totiž přiléhají díky tzv. **vodíkovým můstkům**. Funguje to tak, že se k sobě můstky váží vždy G s C a T s A. Tato struktura je vhodná proto, že když se jeden z řetězců poškodí, lze jej pomocí báze v druhém řetězci opravit. Tato informace se z DNA **přepisuje** (procesem zvaným transkripce) do **RNA**, což je molekula velice podobná, jen obvykle jednořetězcová a kódující obvykle již jen jeden gen. Ta putuje ven z jádra buňky, kde probíhá její **překlad** (translace) do proteinu. Překlad probíhá na struktuře zvané ribosom a jde o to, že vždycky tři báze RNA kódují nějakou aminokyselinu, stavební jednotku proteinu. Aminokyseliny se tedy lepí (kovalentní vazbou) za sebe v pořadí, které určují tyto trojbáze (triplety), až vznikne protein.

Při **izolaci DNA** vycházíme z jejího umístění v buňce a jejích chemických vlastností. Co tedy vlastně o DNA víme?

DNA je umístěna v **jádře buňky**, tedy je od okolního prostředí oddělena několika fosfolipidovými membránami. Zde je na ni navázáno množství proteinů. Jedná se o strukturální proteiny (molekuly zodpovědné za to, aby se dlouhá DNA do jádra nějak „rozumně“ poskládala), dále o transkripční faktory (molekuly ovlivňující, jestli se příslušný úsek DNA bude přepisovat, nebo ne) nebo polymerázy a jejich pomocné proteiny (molekuly aktivně přepisují řetězce DNA, ať již do jiné DNA, nebo RNA).

Po chemické stránce je DNA **lineární⁵ makromolekula**, jejíž dva komplementární řetězce jsou k sobě připoutané vodíkovými můstky. Molekula DNA nese náboj (resp. je to kyselina), takže je rozpustná ve vodě, nicméně může být z vodného roztoku vysrážena (precipitována) ethanolom.

Vlastností DNA by bylo možno samozřejmě vyjmenovat mnohem víc, nicméně právě výše uvedené využijeme k izolaci.

Když do rozmačkaného **banánu** nalijeme roztok šamponu s EDTA, vodou a solí, sledujeme tím vlastně několik kroků. Detergenty obsažené v šamponu **proděraví** a vysráží buněčnou membránu banánu a také některé proteiny. EDTA inhibuje proteiny obsahující kovy, z nichž jsou některé schopné poškodit DNA. Sůl se přidává kvůli zachování osmotického tlaku roztoku. Voda je reakčním prostředím a mimo jiné látkou, ve které je DNA rozpustná. Není rozpustná jako třeba sůl, ale ve vodném roztoku je schopná projít filtrem⁶.

Následnou filtrací se tedy odstraní všechny látky, které jsou **nerozpustné** ve vodě. Do filtrátu projde kromě DNA i řada dalších látek z původní buňky, ale i sůl a některé složky šamponu. Podchlazený **lih** se přilévá, protože se za nižší teploty příliš nemísí s vodou. DNA se **vysráží** (precipituje) a vyplave do horní, lihové fáze. V lihu je nerozpustná. Kdybychom ji převedli z lihu opět do vody, znovu se rozpustí (i když její chemická struktura nebude úplně stejná, jako předtím).

Nutno dodat, že kromě DNA se mohou podobně chovat i některé jiné složky buňky a že se tímto způsobem nezbavíme většiny proteinů vázaných na DNA (např. histonů).

Námi získaná hmota tedy obsahuje především DNA⁷, nicméně ta by byla pro další použití v biochemii příliš znečištěná a pravděpodobně i poškozená. V laboratorních podmínkách by bylo možno ji dokázat např. pomocí barvení **ethyidium bromidem** nebo **DAPI** (což jsou však látky jednak nedostupná a druhak karcinogenní).

5 U všech organismů krom bakterií

6 Mechanismus průchodu filtrem není úplně stejný jako u malých anorganických látek. Ty jsou víceméně kulaté, takže mechanismus filtrace je tak trochu jako prosívání písku sítím. Molekula DNA je však „dlouhá a úzká“, takže její filtrace by se dala přirovnat spíše k tomu, že na hrubé síto vylejete čerstvě uvařené špagety, z nichž část projde.

7 Že se skutečně jedná o DNA není v běžných podmínkách stoprocentně průkazné, je to však vysoce pravděpodobné. Lze například ještě zjistit, že se jedná o látku s kyselou reakcí pomocí barvení hematoxylinem.

Užitečné odkazy a literatura:

<http://www.lf2.cuni.cz/Projekty/prusa-DNA/newlook/defa2.htm>

Popis obvyklých laboratorních postupů na izolaci DNA pro další laboratorní využití.

Let mouchy

Hmyz je velice složitou a zajímavou skupinou organismů. V mnoha znacích je podobný nám, obratlovcům. Stejně jako my má oči, končetiny typu „nožiček“, jasně rozpoznatelnou hlavu s nervovým centrem. Když se však na dané znaky podíváme podrobněji, zjistíme, že jde o podobnosti poněkud povrchní. Vnitřní systém fungování „nám podobných mechanismů“ je často naprosto odlišný. Tento jev se nazývá konvergence⁸. Mezi znaky konvergentní k ptákům, netopýrům a ostatně i letadlům patří schopnost letu a orientace ve vzduchu



8 Ke konvergenci nedochází jen mezi živými organismy. V šedesátých letech soupeřila západní Evropa se Sovětským svazem o to, kdo dříve vytvoří nadzvukové dopravní letadlo. Tvrdí se, že nezávisle na sobě vznikly plány Concordu a Topolevu 114 (později nazvaného Concorde), přičemž šlo o letadla, která se tvarově prakticky nelišila. Nutno však dodat, že Concorde se nakonec prosadil mnohem více, díky lepší obchodní taktice západu a vyšší spolehlivosti.

Časová náročnost:

60 - 90 minut

Potřebný materiál:

- dvě živé mouchy domácí (v případě, že se rozhodnete provádět pokus tak, že každý student bude mít svoji mouchu, je třeba upozornit, že živé mouchy se poměrně špatně chytají a uchovávají)
 - nádoby na skladování much (například zkumavky s kouskem vaty jako zátkou)
1. **Pokus s receptory na tykadlech:**
 - lak na nehty
 2. **Pokus s kyvadélky:**
 - pinzeta, nůžky, žiletka, či jiný vhodný nástroj na odtržení kyvadélek

Postup pokusu:

1. Pokus s receptory na tykadlech

- Mouše zakapeme tykadla lakem na nehty.
- Počkáme, až lak zaschne.
- Necháme mouchu odletět zároveň s jinou bez zakapaných tykadla, moucha se zakapanými tykadly by měla letět podstatně rychleji.

2. Pokus s kyvadélky

- Mouše odtrhneme pomocí pinzety kyvadélka (haltery) a pokusíme se při tom nepoškodit křídla.
- Je vhodné se řádně ujistit, zda odtrháváme skutečně kyvadélka a ne nějakou jinou strukturu.
- Mouchu necháme odletět (kdyby nechtěla, tak ji vyhodíme do vzduchu). Buďto nebude schopna letu, anebo poletí velice nekoordinovaně a nakonec pravděpodobně spadne.

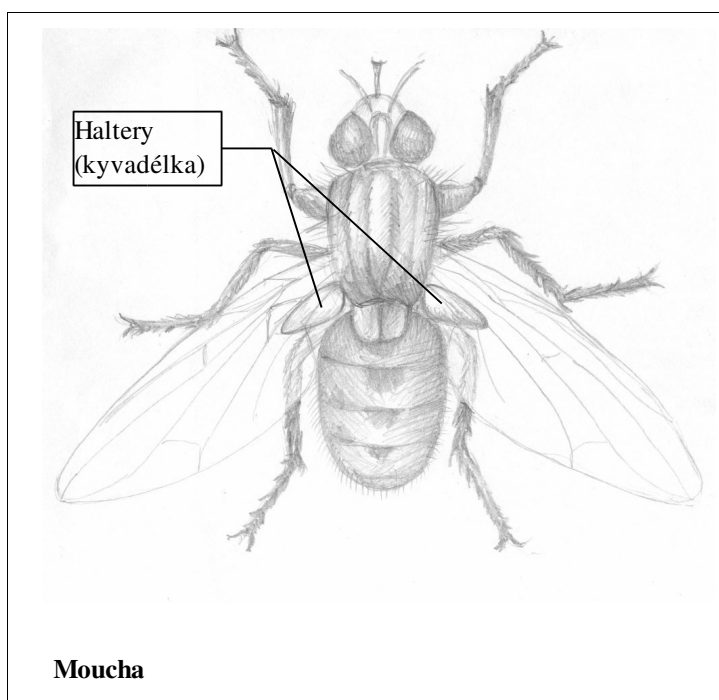
A co se vlastně děje?

1. Pokus s receptory na tykadlech

Moucha odhaduje rychlost svého letu podle toho, jak moc má **sklopená tykadla** působením odporu vzduchu. Když mouše **zafixujeme** tykadla v klidové poloze (když neletí) a následně ji necháme odletět, tykadla zůstanou v klidové poloze. Moucha si tedy bude myslet, že letí pomalu a bude neustále **zrychlovat**.

2. Pokus s kyvadélky

Kyvadélka jsou strukturou specifickou pro **dvoukřídly hmyz (Diptera)**. Jedná se vlastně o přeměněný **druhý pár křídel**. Neslouží již bezprostředně k letu, ale k **udržování rovnováhy** tím, že se



pohybuje a posouvá těžiště těla při pohybech křídly. Díky nim mohou mouchy a komáři (a jiní zástupci dvoukřídlych) provádět takové kousky, jako je zastavení se ve vzduchu, anebo dosednutí potenciálnímu hostiteli přesně na to místo, kam si nedosáhne. Tento hmyz je však na kyvadélkách závislý i při „standardních“ letových úkonech. Pokud je odstraníme, sice poletí⁹, ale není schopen manévrovat a ovládat takové zásadní parametry letu, jako je směr.

Užitečné odkazy a literatura:

ŽĎÁREK J. , Neobvyklá setkání, Praha: Panorama, 1981

⁹ Pokud nepoletí, pravděpodobně jsme mouše nechtě pochroumali křídla.

Rostlinné hormony

Život a růst rostlin musí být, stejně jako u živočichů, nějakým způsobem řízen. Rostliny nemají nervovou soustavu, ale o to důležitější místo zde zastávají různé signální molekuly – hormony. Ethylen je jeden z mála rostlinných hormonů, který je plynem. Signalizuje stres rostliny, případně stárnutí. Komerčně se využívají ethylenové komory ke zrání ovoce.



Časová náročnost:

1. Auxin

příprava pokusu:

15 – 20 minut

doba růstu:

cca 30 dní

2. Ethylen

příprava pokusu:

5 minut

doba zrání:

4 dny

Potřebný materiál:

1. Auxin

- několik fazolí (případně čočku, nebo semena jiných dvouděložných rostlin)
- nádobku vyplněnou vatou nebo papírovými kapesníčky
- nůžky

2. Ethylen

- tři nezralé (nazelenalé) banány
- jablko
- dva igelitové sáčky

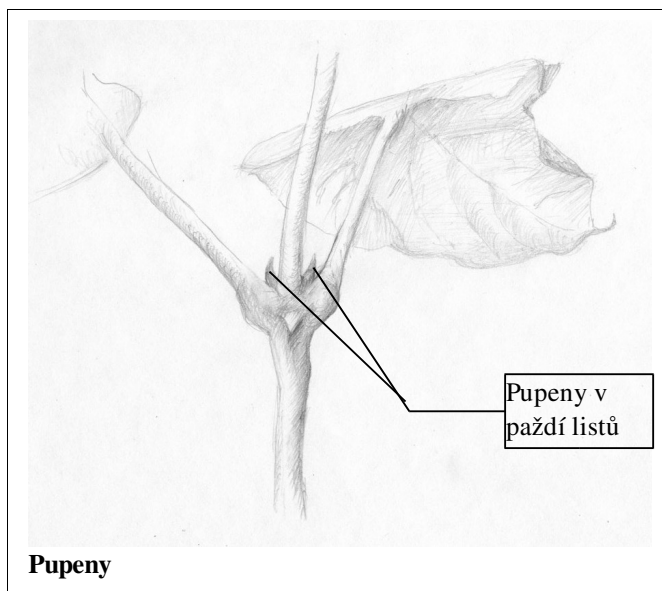
Postup:

1. Auxin

- položíme fazole na vatou v nádobce a zalijeme vodou
- udržujeme vatou stále vlhkou (fazole mohou být jednorázově pod vodou, ale neměly by ta být celou dobu)
- necháme rostlinky fazolí vyrůst tak, aby měly první pravé (nikoli děložní) listy
- nad těmito listy ustříhneme vzrostný vrchol
- pozorujeme jeden z pupenů v paždí listů, jak roste, a tím nahrazuje původní vzrostný vrchol

2. Ethylen

- zabalíme jeden z banánů do igelitového sáčku a zavážeme
- druhý do igelitového sáčku společně s jablkem a zavážeme
- třetí necháme nezabalený
- všechny tři banány umístíme do stínu, ale nikoli do tmy
- po nějaké době (záleží hlavně na teplotě a množství světla) pozorujeme, že zabalené banán dozrávají podstatně rychleji, než ten nezabalený



A co se vlastně děje?

Rostliny jsou, stejně jako živočichové, nějak **řízeny**. Nemají sice mozek, dokonce ani nervovou soustavu, ale jeden způsob ovládní mají podobný živočichům. Stejně jako živočichové produkují signální molekuly, **hormony**. Rostlinné hormony ovlivňují především růst, stárnutí, kvetení rostlin. Patří mezi ně auxin, gibereliny, cytokininy, kyselina abscisová a ethylen.

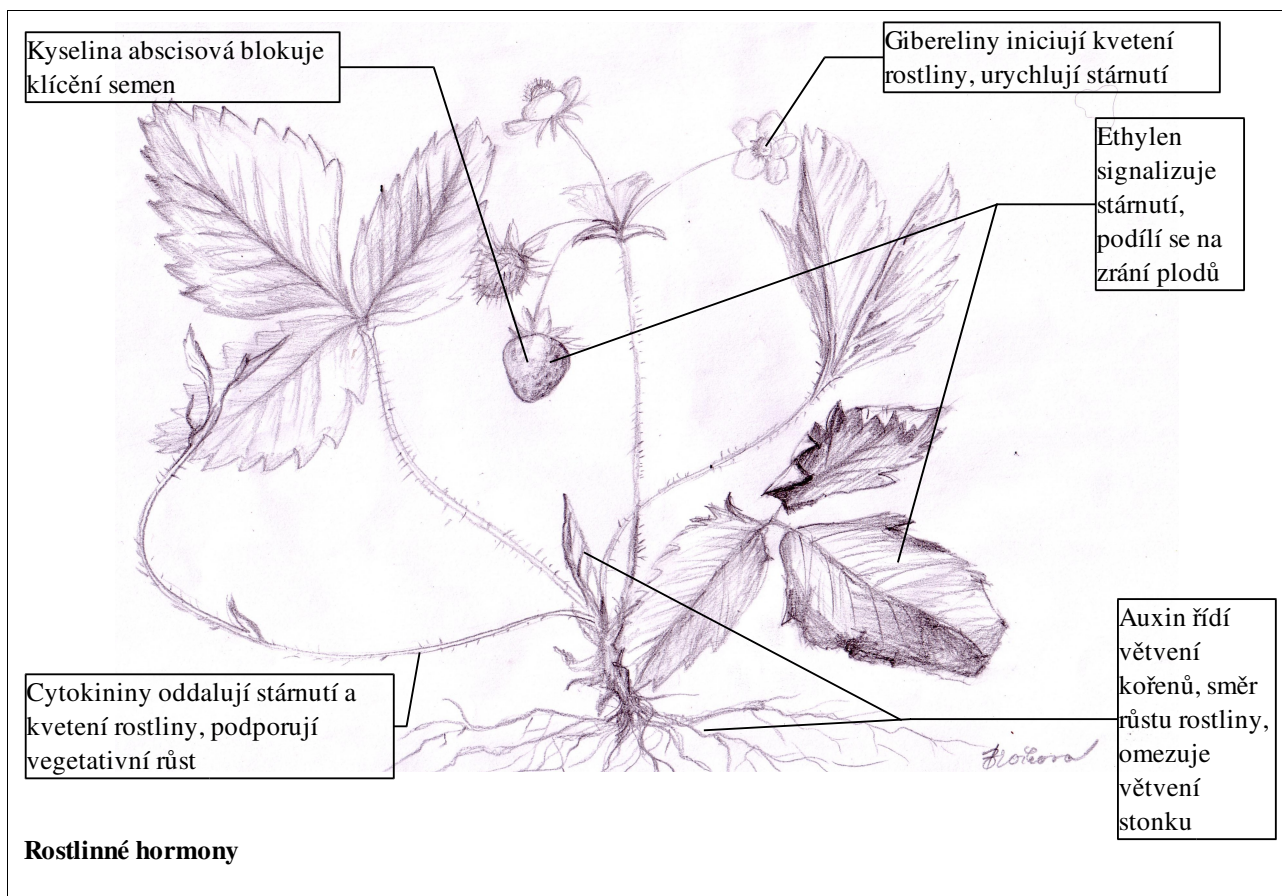
Auxin je nejdéle známým rostlinným hormonem. Produkuje se ve vrcholových pletivech stonku, odkud je rozváděn do celé rostliny. Mezi jeho hlavní funkce patří potlačování růstu stonkových pupenů, takže nepřerostou hlavní **vzrostlý vrchol** stonku (udržování apikální dominance). Dále se podílí na iniciaci větvení kořenů. Ale i na udržování směru růstu rostliny (vrchol roste za světlem, kdežto kořen proti gravitaci). Auxin se v praxi používá například pro zakořeňování řízků.

Gibereliny iniciují **kvetení** rostliny. Při umělé aplikaci způsobují abnormálně vysoký vzrůst rostliny a nasazení květu často i mimo normální dobu kvetení.

Cytokininy vznikají především v kořenech rostlin. Obecně stimulují **dělení buněk**. Potlačují stárnutí rostliny, ale i její kvetení. Působí proti apikální dominanci auxinu. Rostliny, jimž byly do média přidány cytokininy, mají obvykle vyvinuté i větve z pupenů v paždí listů.

Kyselina abscisová, narozdíl výše uvedených, není hormonem stimulačním. Zabraňuje totiž rostlině klíčit a růst. Velká koncentrace kys. abscisové je například v **semenech**. Zabraňuje zde semenům vyklíčit už na podzim. Na jaře rostliny vyklíčí díky tomu, že tento hormon se rozkládá mrazem. Pro mnoho rostlin je tedy důležité, aby jim v zimě přemrzla semena.

Ethylen je jako jediný rostlinný hormon **plynem**. To výrazně ovlivňuje jeho šíření. Ethylen mimo rostlinu rychle **difunduje** (rozplyne se) a k signalizaci již potom neslouží. Ethylen signalizuje rostlině stárnutí, opad listů, zrání plodů.



Když rostlině odstříhneme **vzrostný vrchol**, odstraníme tím místo, kde se produkuje **auxin**. Růst stonkových pupenů teď nic nepotlačuje, začnou tedy pučet a dávají základ novým vzrostným vrcholům. Ty opět produkují **auxin**, takže jeden z nich obvykle potlačí ty ostatní a stane se jediným vzrostným vrcholem.

Banán produkuje **ethylen**, který iniciuje jeho zrání. Velké množství ethylenu však uniká z plodu, a tím se snižuje koncentrace „**aktivního**“ ethylenu uvnitř banánu. Tím, že banán obalíme **igelitovým sáčkem**, zabráníme úniku ethylenu. Jeho koncentrace v banánu bude vyšší než u neobaleného, a banán tedy bude zrást rychleji. Jablka při zrání produkují výrazně větší množství ethylenu než banán. Necháme-li tedy spolu s banánem zrást jablko, urychlí to proces ještě více než samotné zabalení banánu do igelitáku.



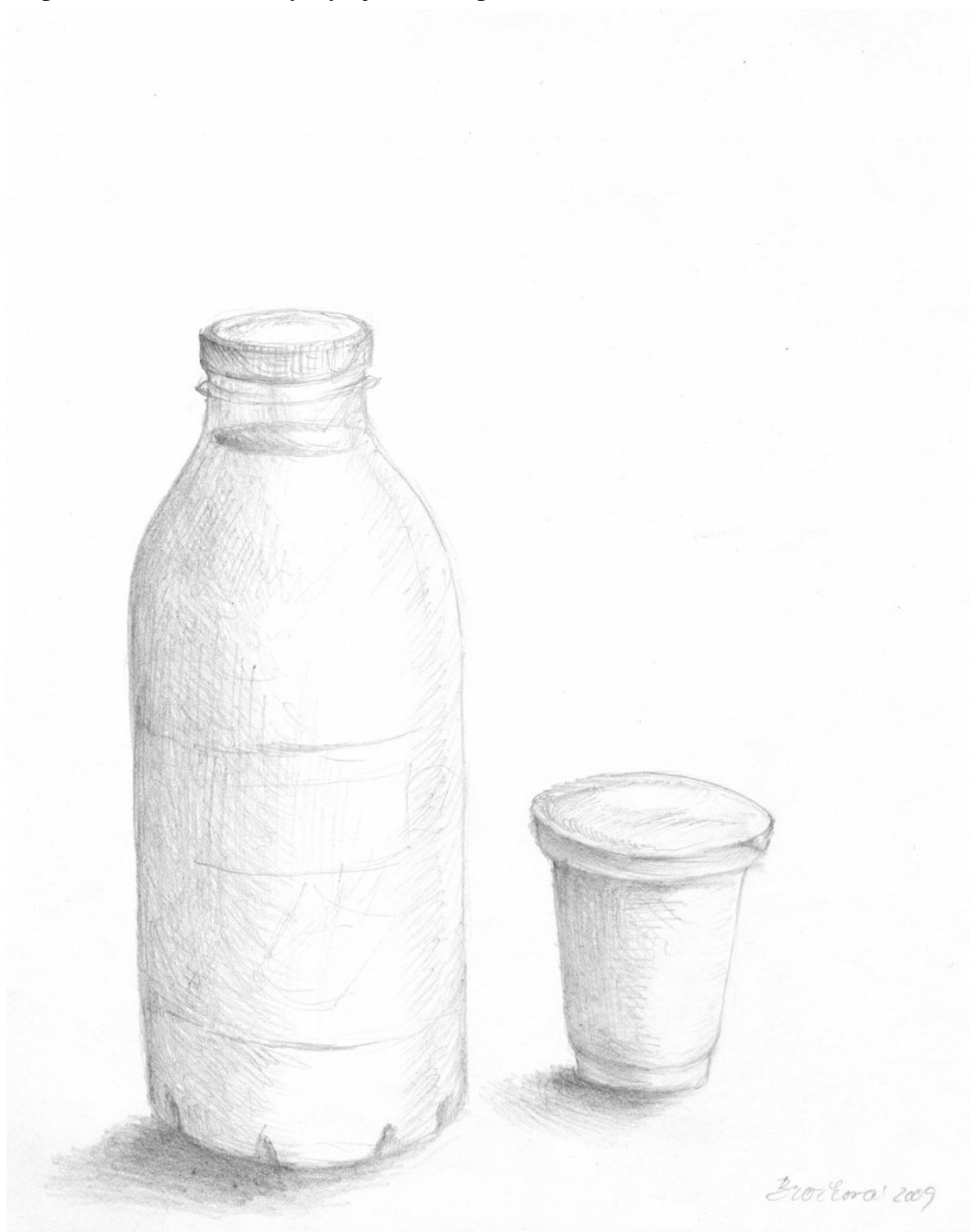
Ethylen. Nahoře tři nezralé banány a jablko. Dole banány po čtyřech dnech. Levý zrál igelitovém pytlíku spolu s jablkem, prostřední zrál v igelitovém pytlíku a pravý byl ponechán bez ošetření.

Výroba jogurtu

Jogurt je pokrm, který pravděpodobně vznikl ve střední Asii. Tam se vyrábí od nepaměti, ale za posledních sto let se rozšířil do celého světa. Stejně jako ostatní kysané mléčné výrobky vzniká díky činnosti bakterií (případně kvasinek a jiných organismů, záleží na typu jogurtu). Tyto mikroorganismy jsou dnes do jogurtů přidávány jako speciální, člověkem vyšlechtěné, čisté kultury.

Bakterie mléčného kvašení v mléce rozkládají sacharidy za vzniku kyseliny mléčné, případně jiných produktů. Tímto způsobem získávají energii potřebnou ke svému životu. Výsledkem jejich působení je tedy produkt, který je na chuť zjevně kyselý, právě díky kyselině vznikající činností mikroorganismů.

V následujícím pokusu srovnáme činnost mikroorganismů speciální jogurtové kultury za různých teplot, a těch, které se vyskytují volně v přírodě.



Časová náročnost:

příprava vzorků:

30 - 45 minut

doba kultivace:

4 - 6 dní

Potřebný materiál:

- čerstvé mléko (tedy nikoli trvanlivé krabicové, ale lahvové nebo z sáčku)
- hrnec
- bílý jogurt (500 g)
- sklenice nebo kádinky, menší skleničky se šroubovacími víčky
- elektrický nebo plynový vařič či ploténka
- termotaška nebo termoska
- naběračka, lžice, vařečka
- teploměr (např. na zavařování)

Postup pokusu:

- mléko rozdělíme na tři stejně velké vzorky

vzorek I.

- 1/3 čerstvého mléka zahřejeme v hrnci na ploténce nebo vařiči na teplotu cca 50°C.
- Poté odstavíme a přidáme bílý jogurt (zhruba 1-2 polévkové lžice na půl litru mléka) a nalijeme buď do termosky, nebo nalijeme jednotlivě do skleniček, zavíčkneme, dáme do termotašky, uzavřeme a necháme fermentovat.

vzorek II.

- K další 1/3 mléka přidáme jogurt opět ve stejném poměru jako ke vzorku I.
- Nalijeme směs do sklenic a necháme bez přikrytí stát při pokojové teplotě cca 20-25°C.

vzorek III.

- Zbylou třetinu mléka dáme do sklenice, nebo kádinky a necháme opět volně stát při pokojové teplotě 20-25°C.

výsledky

- Všechny vzorky necháme za stálých podmínek, po 7-12 hodinách můžeme sledovat změny na vzorku I., mléko je zjevně zkvašené, má kyselější chuť a vzorek má hustší, jogurtovou konzistenci.
- Třetí nebo čtvrtý den pozorujeme změny u vzorku II. V závislosti na podmínkách a typu mléka lze pozorovat výrazně menší změny, než u vzorku I. Mléko je slabě kyselé, fermentace probíhá jen nepatrně. Po šesti dnech lze pozorovat známky zahuštění a je znatelná i fermentace.
- Čtvrtý až šestý den můžeme pozorovat změny na vzorku III. Pozorujeme fermentaci, „zkysnutí“ mléka. Uvolní se syrovátka z mléka se stává „divoký kefir“.

A co se vlastně děje?

V jogurtu obsažené **bakterie mléčného kvašení** dokáží štěpit cukry. Mléčný cukr se nazývá **laktóza**. Bakterie jej štěpí v procesu, kterému se říká **anaerobní glykolýza**. Tak vzniká **energie**

(poměrně malé množství ve srovnání aerobním dýcháním), kterou tyto mikroorganismy využívají. Principem glykolýzy je rozklad cukru (laktózy) na kyselinu pyrohroznovou, která je poté enzymaticky přeměněna na **kyselinu mléčnou**. Ta dodává mléčným výrobkům charakteristickou chuť, nicméně důležité jsou i jiné produkty mikroorganismů, například některé vitaminy.

Bakterie mléčného kvašení přítomné v jogurtu jsou aktivní při **vyšších teplotách** (40-50°C). Tuto skutečnost lze dobře pozorovat při porovnání jednotlivých vzorků. Po sedmi hodinách lze u prvního vzorku zjevně pozorovat známky fermentace způsobené činností bakterií. Bakterie se při vyšší teplotě intenzivně množí. Naproti tomu u dalších dvou vzorků, po tak krátké době téměř nepozorujeme viditelné změny.

Přidáme-li do mléka čistou jogurtovou kulturu, ale **nezahřejeme** ho na ideální teplotu pro růst kultury, proces se viditelně **zpomalí**. Po delší době lze i u nezahříváné kultury pozorovat činnost bakterií, která je ale podstatně méně intenzivní, než u zahříváné kultury.

I okolní prostředí obsahuje **mikroorganismy** podobné těm z jogurtových kultur, které po delší době samovolně způsobí **zkysnutí** mléka. Zkysnutím se mléko modifikuje, uvolní se z něj syrovátka a vytvoří se malé hrudky, ve kterých právě přežívají mikroorganismy.

Jogurt i jiné mléčné výrobky vznikly v oblasti **střední Asie** z toho důvodu, že tamní obyvatelstvo nemá vyvinutý enzym pro **rozklad laktózy**¹⁰. Čerstvé **mléko** jim tak způsobuje zažívací potíže, které téměř vylučují, aby ho konzumovali. Původní účel kvašení mléka tedy souvisí s tím, že mikroorganismy **zmetabolizují laktózu** a učiní tak mléko požitelným¹¹. V současné době se však zjišťuje, že bakterie mléčného kvašení obsažené v kysaných mléčných výrobcích jsou **prospěšné** pro lidský organismus. Lze je použít jako **doplňek** stravy při některých zdravotních obtížích (průjmy, zácpa). Jejich prospěšnost spočívá mimo jiné v tom, že **osidlují** trávicí trakt a zamezují tak množení **patogenních** (pro tělo nebezpečných) mikroorganismů.

10 Přesněji řečeno má, ale pouze v dětském věku, na rozdíl od obyvatel např. Evropy, kde přetrvává i do dospělosti.

11 Množství laktózy v námi vytvořeném jogurtu a mléku by bylo možno dokázat například Fehlingovým roztokem. Po přidání Fehlingova roztoku do vzorku obsahujícího laktózu totiž vzniká hnědá sraženina, oxid měďný.