**ΒΙΟΛΟΓΙΑ Β΄ΛΥΚΕΙΟΥ**

**Κεφάλαια 2ο -3ο**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ**

**(Με βάση τις ασκήσεις 9 και 10 του ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΥ ΟΔΗΓΟΥ)**

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΖΥΜΟΜΥΚΗΤΩΝ- ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ**

**Σκοπός:** Ανίχνευση προϊόντος της αλκοολικής ζύμωσης. Κατανόηση του γεγονότος ότι η παραγωγή των χρηστικών προϊόντων της αλκοολικής ζύμωσης (ψωμί, αλκοολούχα ποτά κ.ά.) προαπαιτεί την ύπαρξη και χρήση οργανισμών- μεταβολικών προϊόντων τους (ένζυμα). Κατανόηση του τεράστιου μεγέθους των πληθυσμών των μικροβίων. Παρατήρηση διαδικασιών πολλαπλασιασμού μικροοργανισμών. Αντίληψη του μεγέθους του όγκου προϊόντων της κυτταρικής αναπνοής.

**Υλικά:**

* Μαγιά αρτοποιίας. «Ζωντανή» μαγιά (από φούρνο) ή ένα φακελάκι ή κύβος από παντοπωλείο.
* Ζάχαρη.
* Ένα ποτήρι ζέσεως των 250 ml και ένα των 100 ml.
* Αντικειμενοφόρες πλάκες.
* Καλυπτρίδες.
* Πυρίμαχος μικρός δοκιμαστικός σωλήνας (π.χ. 10 ml) και το ανάλογο πώμα.
* Τρίποδο θέρμανσης με πυρίμαχο πλέγμα.
* Γκαζάκι.
* Νερό βρύσης.
* (Προαιρετικά: Λαβίδα- μανταλάκι συγκράτησης του δοκιμαστικού σωλήνα)
* Προαιρετικά: Υδατόλουτρο. (Είτε η ανάλογη συσκευή του εργαστηρίου, είτε λεκάνη με νερό, βραστήρας και θερμόμετρο)
* Κωνική φιάλη με το αντίστοιχο πώμα.
* Ασβεστόνερο. (Για την- ευκολότατη και …φθηνή- παρασκευή του βλ. στους εργαστηριακούς οδηγούς)

**Εκτέλεση:** Περιλαμβάνονται **τρεις** πειραματικές διατάξεις. Η Α αφορά μετωπικό πείραμα, ενώ η Β (συνιστάται) πείραμα επίδειξης. Η Γ αφορά μετωπικό πείραμα, αλλά με τη συνδράση μαθητών.

**Α.**

1. Στο ποτήρι ζέσεως των 250 ml βάζουμε νερό βρύσης, **όχι περισσότερο από 50 ml.**
2. Αναμιγνύουμε μαγιά (μισό κύβο ή ένα φακελάκι).
3. Ρίχνουμε 2 (το πολύ) κουταλάκια του γλυκού ζάχαρη.
4. Αναδεύουμε μέχρι να ομογενοποιηθεί το μείγμα.
5. Θερμαίνουμε (ΠΡΟΣΟΧΗ: **ΟΧΙ ΥΨΗΛΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ**) πάνω στο τρίποδο θέρμανσης, ώσπου να φουσκώσει εμφανώς και να παραχθούν αρκετές φυσαλίδες. Εναλλακτικά, μετά από 2-3 min θέρμανσης αφήνουμε για 10-15 λεπτά το μείγμα σε μέρος ζεστό (π.χ. δίπλα σε καλοριφέρ ή σε φωτιζόμενο από τον ήλιο κλειστό παράθυρο).
6. Λαμβάνουμε **πολύ μικρή ποσότητα** από το μείγμα με την ακίδα του σετ μικροσκοπίας ή με οδοντογλυφίδα ή, έστω, με γυάλινη ράβδο ανάδευσης.
7. Απλώνουμε (όχι απλά αποθέτουμε) τη σταγόνα στην αντικειμενοφόρο πλάκα. Συνιστάται να έχουμε πριν ρίξει μια μικρή σταγόνα νερό για να «διαλυθεί» το μείγμα. Αυτό βοηθά, γιατί το πλήθος των ατόμων-κυττάρων του ζυμομύκητα είναι τεράστιο και ίσως δυσκολεύσει τη μικροσκοπική παρατήρηση.
8. Σκεπάζουμε **απαλά** το παρασκεύασμα με καλυπτρίδα (προσοχή στις φυσαλίδες αέρα, κατά τα γνωστά).
9. Σκουπίζουμε με χαρτί κουζίνας, αν υπάρχει μείγμα εκτός καλυπτρίδας.
10. Παρατηρούμε στο μικροσκόπιο. **Δε χρησιμοποιούμε** καταδυτικό φακό **(Χ100)!**
11. Με χρήση του αντικειμενικού φακού Χ40 (σε κάποια παρασκευάσματα μπορεί απλά και με αυτόν Χ20) αναζητούμε εκβλαστήσεις ή κυτταρικές διαιρέσεις.
12. Μπορούμε να ζωγραφίσουμε χαρακτηριστικό τμήμα της εικόνας από το πεδίο ή να το φωτογραφήσουμε απευθείας από τον προσοφθάλμιο φακό.
13. … Προτείνεται η επιβράβευση της ομάδας που πέτυχε το καλύτερο αποτέλεσμα.

**Β.**

1. Στον πυρίμαχο δοκιμαστικό σωλήνα θέτουμε νερό της βρύσης, περίπου 1ml.
2. Διαλύουμε πολύ μικρή ποσότητα μαγιάς και αντίστοιχα ζάχαρης. **Το μείγμα δεν πρέπει να ξεπερνά τα 1,5- 2 ml (!)**
3. Κλείνουμε ερμητικά το άνοιγμα του δοκιμαστικού σωλήνα με ανάλογο φελλό ή πλαστικό πώμα.
4. Αναδεύουμε ισχυρά μέχρι να επιτευχθεί ομογενοποίηση του μείγματος.
5. Θέτουμε τον δοκιμαστικό σωλήνα πάνω από γκαζάκι **ΣΕ ΠΟΛΥ ΧΑΜΗΛΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ**, κρατώντας τον **υπό ΜΙΚΡΗ ΓΩΝΙΑ** και έτσι ώστε η φλόγα να εστιάζεται στην περιοχή της βάσης του.
6. ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ: **Η φορά του δοκιμαστικού σωλήνα να είναι τέτοια ώστε ο φελλός να μη διαγράψει τροχιά προς τους μαθητές ή άλλα άτομα!!!**
7. Σε ελάχιστα λεπτά της ώρας (2-3, ανάλογα με την ποσότητα του μείγματος, την κατάσταση της μαγιάς και τη θερμοκρασία) το μείγμα φουσκώνει και παράγονται έντονα φυσαλίδες.
8. Πολύ σύντομα (1-2 min) ο φελλός- πώμα **εκτοξεύεται** (μπορεί με τροχιά μήκους αρκετών μέτρων).

*Προφανώς, έχει πολύ μεγάλη σημασία και για* ***λόγους ασφαλείας*** *και για λόγους …****καθαριότητας****, η ποσότητα του μείγματος να μη ξεπερνά τα 2 ml και η θερμοκρασία να είναι χαμηλή!*

**Γ.**

* 1. Χρησιμοποιούμε κωνική φιάλη των 250 ml και πώμα με τρύπα. Ακόμα καλύτερα, αν η κωνική φιάλη διαθέτει στόμιο απορροής, οπότε το πώμα που θα χρησιμοποιήσουμε δεν πρέπει να έχει τρύπα. Στο πώμα (ή στο στόμιο απορροής) έχουμε προσαρμόσει εύκαμπτο σωλήνα ανάλογης διατομής, ώστε να μην υπάρχει διαφυγή αερίου.
  2. Στην κωνική φιάλη βάζουμε νερό βρύσης, **όχι περισσότερο από 50 ml.** Αναμιγνύουμε μαγιά (μισό κύβο ή ένα φακελάκι).

Ρίχνουμε 2 (το πολύ) κουταλάκια του γλυκού ζάχαρη.

Αναδεύουμε μέχρι να ομογενοποιηθεί το μείγμα.

* 1. Βάζουμε την κωνική φιάλη στη συσκευή υδατόλουτρου που από πριν έχουμε προσθέσει ποσότητα νερού της βρύσης, ώστε να καλύπτεται το μείγμα της φιάλης και έχουμε ρυθμίσει τη θερμοκρασία, περίπου, στους 37ο C. Αν δε διαθέτουμε συσκευή υδατόλουτρου θερμαίνουμε νερό σε βραστήρα ή με χρήση φλόγας, το ρίχνουμε σε κατάλληλου μεγέθους λεκάνη και καλούμε ένα μαθητή (-τρια) να προσθέτει κρύο ή και ζεστό νερό ώστε η θερμοκρασία να διατηρείται στους 37ο C, ενώ άλλος μαθητής (-τρια) ελέγχει με θερμόμετρο.
  2. (Εναλλακτικά: Απλά θέτουμε την κωνική φιάλη πάνω στο τρίποδο θέρμανσης, οπότε θα θερμάνουμε σε ΠΟΛΥ ΧΑΜΗΛΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ).
  3. Βυθίζουμε το άλλο άκρο του εύκαμπτου σωλήνα στο ποτήρι ζέσεως των 100 ml.
  4. Σε αυτό το ποτήρι ζέσεως ρίχνουμε προσεκτικά ασβεστόνερο, μέχρι να καλυφθεί σαφώς το άνοιγμα του εύκαμπτου σωλήνα. (Συνιστάται η χρήση γαντιών μιας χρήσης, αν και δεν είναι απολύτως απαραίτητη. Αν, από κάποιο λάθος το δέρμα μας έρθει σε επαφή με μικρή ποσότητα ασβεστόνερου, αρκεί η απόπλυση του αμέσως με νερό της βρύσης)
  5. Μετά από ελάχιστα λεπτά παρατηρούνται φυσαλίδες να αναδύονται μέσα στο διάλυμα του ποτηριού ζέσεως. Πρόκειται ΑΡΧΙΚΑ για τον αέρα που ήταν εγκλωβισμένος στην κωνική φιάλη. Μετά από περίπου 10-15 min το ασβεστόνερο έχει αρχίσει να θολώνει και τελικά σε πολύ λίγο χρόνο θολώνει χαρακτηριστικά.
  6. (Προαιρετικά έχουμε από πριν καλύψει, σχεδόν αεροστεγώς, το άνοιγμα του ποτηριού ζέσεως με διαφανή μεμβράνη ή αλουμινόχαρτο, ώστε να μην υπάρξει περίπτωση να θολώσει η ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ του ασβεστόνερου-δηλαδή να σχηματιστεί μια πολύ λεπτή επιφανειακή θολή στιβάδα- από το CO2 της ατμόσφαιρας. Πρακτικά αυτό ΔΕ ΧΡΕΙΑΖΕΤΑΙ γιατί για αυτό το αποτέλεσμα απαιτείται κατά πολύ περισσότερος χρόνος και, εξάλλου, δε θα θολώσει όλη η μάζα του διαλύματος σε τέτοιες συνθήκες, αλλά μόνο η επιφάνεια του.)

**Σταθερά προτείνεται η εργαστηριακή ενασχόληση να μην είναι ξεκομμένη από τη διδακτική πράξη, αλλά αντίθετα να αποτελεί οργανικό μέρος της.**

Συνεπώς: Η ενότητα που αφορά την αναερόβια κυτταρική αναπνοή μπορεί να γίνει ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ!

Αφού, θέσουμε το βασικό περίγραμμα της ενότητας με αναφορές σε σύγχρονες εφαρμογές, προτείνεται να αναφερθούμε στην αλκοολική ζύμωση και τα προϊόντα της (αιθανόλη και CO2 , ως «ορατά» προϊόντα). Επιβάλλεται, φυσικά, να αναφερθούμε στο ότι **η διαδικασία αποσκοπεί στη σύνθεση ΑΤΡ.** Κάνουμε αναφορά στο ότι δε χρειάζεται να είναι ζωντανοί οι μύκητες, αλλά αρκεί τα ένζυμα τους να παραμένουν δραστικά. Να τονίσουμε ότι η ουσία που διασπάται είναι, κυρίως, η γλυκόζη που αποτελεί συστατικό της ζάχαρης και ότι το CO2 είναι το εκλυόμενο αέριο. Τονίζουμε ότι ένας «κλασσικός» τρόπος πιστοποίησης της έκλυσης CO2 είναι η εισαγωγή του αερίου σε ασβεστόνερο και το θόλωμα του μετά από αυτό.

Ακολούθως προετοιμάζουμε κατά σειρά:

* Το μείγμα με τους ζυμομύκητες για μικροσκοπική παρατήρηση. Μέχρι να φουσκώσει χαρακτηριστικά το μείγμα, εκτελούμε το πείραμα με την εκτόξευση του φελλού.
* Την πειραματική διάταξη για το θόλωμα του ασβεστόνερου.
* Και αναμένοντας:

Ρωτάμε ποιο αέριο προκάλεσε την εκτόξευση του φελλού και γιατί παρήχθη. Ρωτάμε γιατί χρειάζεται θερμοκρασία περίπου 37 βαθμών Κελσίου.

* Κατόπιν συνεχίζουμε με τη μικροσκοπική παρατήρηση των μυκήτων. Αν οι μαθητές βρουν εκβλαστήσεις- κυτταρικές διαιρέσεις, κάνουμε σχετική συζήτηση για την αναπαραγωγή των μυκήτων. Με αφορμή το μεγάλο πλήθος των κυττάρων μονοκύτταρων οργανισμών που παρατηρούνται, αναφερόμαστε στο «μικρόβια πανταχού παρόντα» όταν οι συνθήκες είναι όχι δυσμενείς.
* Εν τω μεταξύ θα έχει θολώσει το ασβεστόνερο και επιδεικνύεται.
* Συζητάμε για τις πολλές χρήσεις μικροβίων από τον άνθρωπο και αναφερόμαστε και στη γαλακτική ζύμωση για την παραγωγή τουρσιού από αρχαιοτάτων χρόνων και, βέβαια, στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Αναφερόμαστε στην παραγωγή του πλήθους των φαρμακευτικών σκευασμάτων (π.χ. της ινσουλίνης, πολλών αντιβιοτικών) που επιτυγχάνεται με χρήση μικροβίων.
* Κάνουμε αναφορές και στη χρήση ΓΤΟ (GMO’s) για παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών ή για άλλες χρήσεις. Μπορούμε να κάνουμε μια «γέφυρα» για συζήτηση σε επόμενο μάθημα για τις χρήσεις των ΓΤΟ, οπότε αναλυτικότερα μπορούμε να συζητήσουμε βιοηθικά ζητήματα.
* Παράλληλα, ένθετα του βιβλίου προσφέρονται για πλατύτερη κατανόηση των εφαρμογών της κυτταρικής αναπνοής (εκτός από τις ζυμώσεις, έχει αξία η ενασχόληση με φαινόμενα βιοφωτισμού).
* (Μπορούμε συνεπώς, στο επόμενο μάθημα, να αναθέσουμε σε μαθητές σχετικές εργασίες-αναζήτηση παρουσίαση στοιχείων από πηγές στην τάξη.)
* Καλούμε τους μαθητές να εκτυπώσουν τις φωτογραφίες που έβγαλαν από το μικροσκόπιο τους και τις αναρτάμε στο εργαστήριο ή την τάξη στο επόμενο μάθημα (το ίδιο μπορεί να γίνει με τα καλύτερα σκίτσα που ίσως έφτιαξαν).

Η ΔΙΑΘΕΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΜΙΑ ΣΤΕΙΡΑ ΕΝΝΟΙΑ. ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΓΙΝΕΙ **παιδαγωγικά σημαντική ΠΡΑΞΗ**, …ΧΩΡΙΣ ΠΟΛΛΑ ΛΟΓΙΑ! **Π.χ.** ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ: ΒΙΟΛΟΓΙΑ + ΧΗΜΕΙΑ (συχνά και ΦΥΣΙΚΗ)!

*Επιμέλεια: Ανδρέας Ζοάνος (βιολόγος)*