

biothema

Biologie van experiment tot theorie

2 Voeding en voedselvertering

Samengesteld door:

DRS. J. E. VAN DER PLUIJM
DRS. A. H. M. TER BRAAK
DRS. P. P. H. HALLMANN
DRS. P. J. W. HOUWEN
J. G. M. MARQUENIE
W. VAN REE
J. A. SCHRAAG

Tekeningen J. G. M. Marquenie



B.V. W. J. THIEME & CIE - ZUTPHEN

2e oplage

Copyright: B. V. W. J. Thieme & Cie – Zutphen

Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd en/of openbaar gemaakt door middel van druk, fotocopie, microfilm of op welke wijze ook, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

ISBN 9003 40090 3

Voorwoord

In het kader van de Overgangswet behorende bij de Wet op het Voortgezet Onderwijs (Mammoetwet), werd in 1969 een begin gemaakt met de organisatie van applicatiecursussen voor docenten bij het mavo en lbo. Zo werd voor het vak biologie door de Raadadviseur in Algemene Dienst, Dr. J. B. Drewes, overleg gepleegd met de inspecteur drs. O. P. Mechelinck en met de Biologische Raad van de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen. Hieruit is een samenwerkingsverband ontstaan tussen het Ministerie van Onderwijs en Wetenschappen enerzijds en de Inspectie en de Biologische Raad anderzijds. Dit samenwerkingsverband kreeg vorm in een bijscholingscommissie onder voorzitterschap van Prof. Dr. G. A. van Arkel. Als uitgangspunt voor de vakinhoudelijke vormgeving van de applicatiecursus biologie diende de Programmabasis van de Biologische Raad. Onder de stuwende leiding van de toenmalige secretaris van de Biologische Raad, drs. G. P. Hekstra, kreeg het programma van de applicatiecursus biologie gestalte; hij werd bijgestaan door drs. F. D. Keuchenius, drs. F. J. van Oostrum, drs. H. J. Saaltink en door de coördinatoren drs. A. H. M. ter Braak, drs. N. A. van der Cingel, drs. J. E. van der Pluijm en drs. A. K. F. Schermer. Er werden cursusleiders aangetrokken en in september 1969 startte op 19 plaatsen in Nederland een applicatiecursus biologie. De samenstelling van de groep van coördinatoren heeft daarna herhaaldelijk wijzigingen ondergaan. Zo legden in 1970 drs. N. A. van der Cingel en drs. A. K. F. Schermer hun functie als coördinator neer en werden adviseur. Van januari tot augustus 1971 is Dr. J. P. D. W. Payens als coördinator opgetreden. Van augustus 1971 tot augustus 1972 maakte drs. F. J. van Oostrum deel uit van het team van coördinatoren. Met de definitieve vormgeving van het cursusmateriaal werd in augustus 1971 begonnen. Het toen werkzame team van coördinatoren heeft daarbij dankbaar gebruik kunnen maken van de opzet door de werkers van het eerste uur en de voortdurende inbreng van de cursusleiders en de cursisten. Toen bleek dat de cursusteksten van de biologiecursus voor mavo en lbo docenten in hun definitieve vorm op grote schaal ook werden gebruikt inde bovenbouw van vwo, havo en mavo, werd uitgave van de teksten overwogen. De coördinatoren van de biologiecursus die de definitieve vorm tot stand hebben gebracht, hebben toen als auteursteam de door hen geschreven cursusteksten omgevormd tot wat thans BIOTHEMA heet. De auteurs zijn dank verschuldigd aan de werkers van het eerste uur en aan de vroegere coördinatoren. Zij spreken de hoop uit dat BIOTHEMA de thematische benadering van de biologie in het voortgezet onderwijs zal bevorderen en de plaats die het practicum daarbij inneemt zal vergroten. De auteurs houden zich voor op- of aanmerkingen aanbevolen. Groenlo, augustus 1975.

Inhoudsopgave

	voorwoord	3
	inleiding	5
V-1	de bouw van de wortel	7
V-2	de functie van de wortel	12
V-3	de bouw van de stengel	14
V-4	watercultures; volledig medium en gebreksmedia	15
V-5	de invloed van voedingsstoffen op de groei van bacteriën	17
V-6	de invloed van voedingsstoffen op de ontwikkeling van een schimmel (Aspergillus niger)	20
V-7	de invloed van milieufactoren op het wortelstelsel	22
V-8	het aantonen van enkele asbestanddelen	23
V-9	de bouw van het blad	25
V-10	chromatografietechnieken	28
V-11	absorptiespectrum en fluorescentie van bladkleurstoffen	44
V-12	Een fotochemische reactie	48
V-13	de functie van de huidmondjes	49
V-14	de betekenis van kooldioxide voor de fotosynthese	54
V-15	CO ₂ -opname respectievelijk afgifte onder invloed van licht	56
V-16	de invloed van licht en kooldioxide op de fotosynthese; het vrijkomen van zuurstof	56
V-17	De CO ₂ -assimilatie in het licht en in het donker	59
V-18	de functie van de chloroplasten	59
V-19	zetmeelsynthese in tabaksbladeren	61
V-20	zetmeelsynthese in bonte bladeren	62
V-21	het aantonen van zetmeel in waterpest	62
V-22	de afvoer van zetmeel	63
V-23	fotosynthese en chemosynthese	64
V-24	herkenningsreacties	76
V-25	analyse van een dagmenu	80
V-26	vergelijkende anatomie van mondwerktuigen: voedselopname bij dieren	83
V-27	voedselopname door Paramecium	101
V-28	de noodzaak van vertering	103
V-29	verteringsstelsels	104
V-30	de actieve opname van verteringsproducten	107
V-31	de functie van de lever	108
V-32	enzymen	110
V-33	bufferwerking	121
V-34	theorie evenwichten en buffers	124
V-35	het eiwitkarakter van enzymen	128
V-36	I de invloed van de enzymconcentratie op de enzymwerking	129
V-37	II de invloed van de substraatconcentratie op de enzymwerking	131
V-38	de invloed van de pH op de enzymwerking	133
V-39	de invloed van de temperatuur op de enzymwerking	135
V-40	het effect van chloridenionen op speekselamylase	137
V-41	de werking van andere enzymen	139
V-42	de vertering van eiwitten	143
V-43	de vertering van vetten	144
V-44	controle van de origine van honing	144
V-45	aan voedingsmiddelen toegevoegde stoffen	150
V-46	het aantonen van bestrijdingsmiddelen	158
V-47	overzicht: energie en het organisme	160
V-48	begrippenlijst	162
	literatuurlijst	170
	register	170

Inleiding

Het verschijnsel leven voltrekt zich altijd aan geordende structuren zoals moleculen, cellen en organen in organismen. Door de warmtebeweging van atomen is er wanorde. Het aanbrengen van een ordening tot moleculen, cellen en organen kost energie.

Dit betekent dat iedere organische structuur een hoeveelheid energie bevat.

Wanneer men bedenkt dat organismen niet alleen energie gebruiken voor hun opbouw maar ook voor de instandhouding hiervan, wordt duidelijk dat 'leven' een gebeuren is dat een constante toevoer van energie vereist.

De **heterotrofe** organismen voorzien in deze energiebehoefte door het eten van bestaande structuren zoals planten, dieren, producten of restanten hiervan.

Deze heterotrofe voedingswijze zou slechts korte tijd mogelijk zijn als de voorraad organische structuren niet doorlopend werd aangevuld. Dit gebeurt door **autotrofe** organismen die ongeordende atomen in geordende organische verbindingen vastleggen.

De hiervoor vereiste energie betrekken zij uit (zon-) licht (**fotosynthese**), of uit anorganische stoffen (**chemosynthese**).

De meeste organische verbindingen zijn op het moment waarop zij worden gegeten onoplosbaar in water. Alle heterotrofe organismen beschikken over een systeem waarmee zij de opgenomen structuren **chemisch** (met enzymen) en/of **mechanisch** (gebit, spieren) tot oplosbare moleculen af kunnen breken: de **voedsel-vertering**.

Het zijn de moleculen die door de cellen voor opbouw en voor de energielevering worden gebruikt. Het omzetten van stoffen (stofwisseling) in het organisme gebeurt door enzymen. Enzymen zetten slechts één bepaalde stof om en ieder organisme bevat dan ook verschillende soorten enzymen. Deze stellen voor een optimale werking ieder hun eigen eisen aan het milieu waarin zij werken. De eisen die de verschillende enzymen aan hun milieu stellen kunnen sterk uiteenlopen. Het **voorkomen** van compartimenten (mond, maag, dunne darm, etc.) in het verteringskanaal van de meeste organismen maakt het mogelijk dat verschillende voor de enzymen vereiste milieus gescheiden voorkomen. Hierdoor kunnen de enzymen optimaal functioneren. Ook in de cel is een dergelijke verdeling in compartimenten aanwezig. In het cytoplasma zijn celorganellen aanwezig die door membranen worden begrensd waardoor ook hier de verschillende enzymen het voor hun optimale milieu aantreffen.

Traditioneel wordt steeds gesteld dat (menselijke) voeding zou moeten bevatten:

bouwstoffen (eiwitten, zouten, water), **brandstoffen** (koolhydraten, vetten) en **regulerende stoffen** (vitamines). Biochemisch onderzoek heeft echter aangetoond dat de lever uit eiwitten (bouwstoffen) koolhydraten en vetten (brandstoffen) kan maken en omgekeerd. Men kan zich daarom afvragen of deze indeling niet vervangen dient te worden door een andere indeling, omdat in de traditionele indeling de eigen biochemische activiteit van ieder organisme wordt miskend. Zo'n andere indeling zou kunnen zijn:

- a. **Essentiële voedingsstoffen:** voedingsstoffen die door een organisme met zijn voeding worden opgenomen, omdat het ze zelf niet kan maken. Welke voedingsstoffen essentieel zijn is afhankelijk van het soort organisme. Zij omvat voor de groene plant uitsluitend anorganische stoffen (bodempzouten, water, CO₂) en voor de heterotrofe organismen naast anorganische ook organische verbindingen (bijvoorbeeld bepaalde aminozuren, bepaalde vetzuren, bepaalde vitamines).
- b. **Niet-essentiële voedingsstoffen:** voedingsstoffen die door een organisme wel kunnen worden gemaakt uit andere essentiële of niet-essentiële voedingsstoffen.

In dit deel wordt aandacht besteed aan:

- a. **De planten**, waarbij achtereenvolgens ter sprake zullen komen de opname van stoffen en de verwerking daarvan.
- b. **De dieren en de mens**, waarbij naast de bestudering van de opname en vertering ook de samenstelling van voedingsmiddelen onderzocht wordt.
- c. **Enzymen**. Omdat spijsverteringsenzymen gemakkelijk te verzamelen zijn worden deze gebruikt om algemene enzymeigenschappen te onderzoeken.

V-1 De bouw van de wortel

I. ANATOMIE EN MORFOLOGIE

Het vegetatiepunt van de wortel is omgeven door een wortelmutsje dat slechts niet delende cellen bevat. De celdelingen verlopen in een deel van de wortel dat hier aan grenst (de embryonale zone). Op de celdelingszone volgt zonder duidelijke begrenzing de celstrekkingzone, waar vooral de cellen die zich later tot vaatbundel zullen ontwikkelen sterk strekken. Op deze strekkingzone volgt het gebied met wortelharen. De wortelharen ontstaan uit speciale opperhuidcellen (rhizodermis = 'wortelhuid') welke geen cuticula bezitten. Bij sommige planten vormen alle cellen in de wortelhaarzone wortelharen, bij andere planten vormen alleen de zogenaamde trichoblasten wortelharen en liggen tussen deze wortelhaarcellen andere cellen die geen wortelharen vormen. In de wortelhaarzone heeft de differentiatie van het wortelweefsel plaats.

In tegenstelling tot de stengelbouw liggen bij de wortel de vaatbundels in het midden in de zogenaamde centrale cilinder. De houtvaten (xyleem) liggen in lijsten die stervormig in de doorsnede te vinden zijn. Tussen de xyleem-lijsten liggen de bastvaten (floem). Tussen xyleem en floem liggen parenchymatische cellen. Het centrum van de centrale cilinder kan uit xyleem bestaan, maar er kan ook merg voorkomen, dat dan parenchymatisch (dunwandig en afgerond) of sklerenchymatisch (met verdikte wanden) kan zijn. De buitenste laag van de centrale cilinder noemt men de pericykel. Buiten de centrale cilinder ligt het schorsweefsel. Er zijn veel intercellulaire holtes en het bestaat uit dunwandige parenchymcellen. De binnenste cellaag van de schors, de endodermis, is meestal duidelijk van de centrale cilinder te onderscheiden. Aan de buitenkant is in oudere delen van de wortel het schorsweefsel omgeven door de rhizodermis of door de exodermis. Deze laatste draagt geen wortelharen meer en bevat cellen met verkurkte of verhoude celwanden. Dit gedeelte van de wortel is dan niet meer in staat water en voedingsstoffen op te nemen. De exodermis kan meer cellagen dik zijn.

II. PRACTICUM

A. Kleurtechnieken

a. Houtstof (lignine).

- leg het preparaat 3 minuten in een 2% oplossing van floroglucinol in ethanol.
- daarna 1 minuut in 20% zoutzuur.
- verwijder het zoutzuur met filtreerpapier.
- bekijk het preparaat in een druppel glycerol, nadat u er een dekglas hebt opgelegd. Als de reactie positief is ziet men een rode kleur.

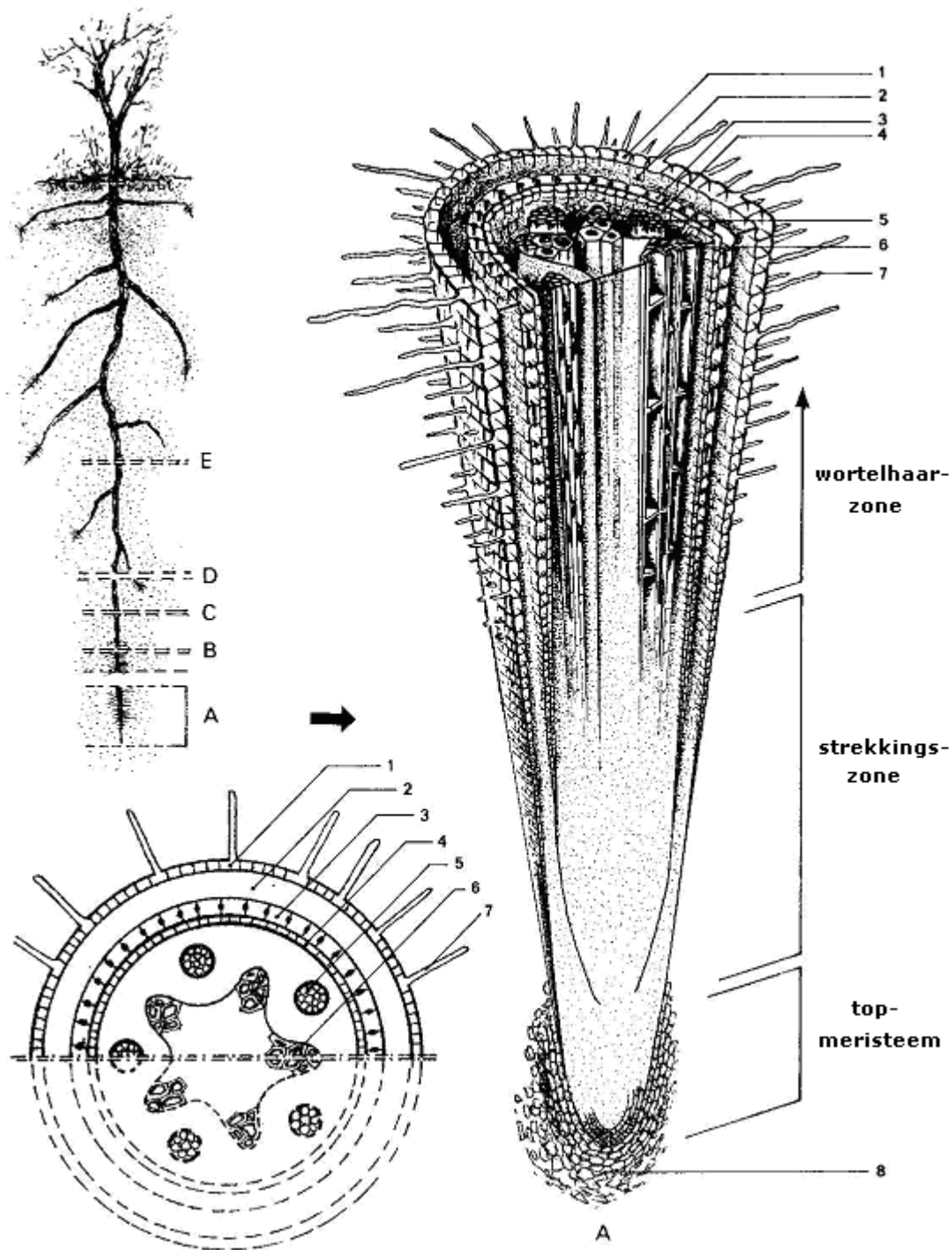
b. Vetachtige stoffen (onder andere kurk)

Vetachtige stoffen kunnen worden aangetoond met Sudan III.

In 100 ml isopropanol lost men ongeveer 0,2 gram Sudan III op.

Deze stamoplossing wordt voor gebruik met dezelfde hoeveelheid aqua dest. gemengd.

- leg het preparaat ongeveer 15 tot 20 minuten in de kleurstofoplossing.
- spoel het in aqua dest.
- bekijk het preparaat in een druppel glycerol nadat u er een dekglas hebt opgelegd. Als de reactie positief is ziet men een rode kleur.



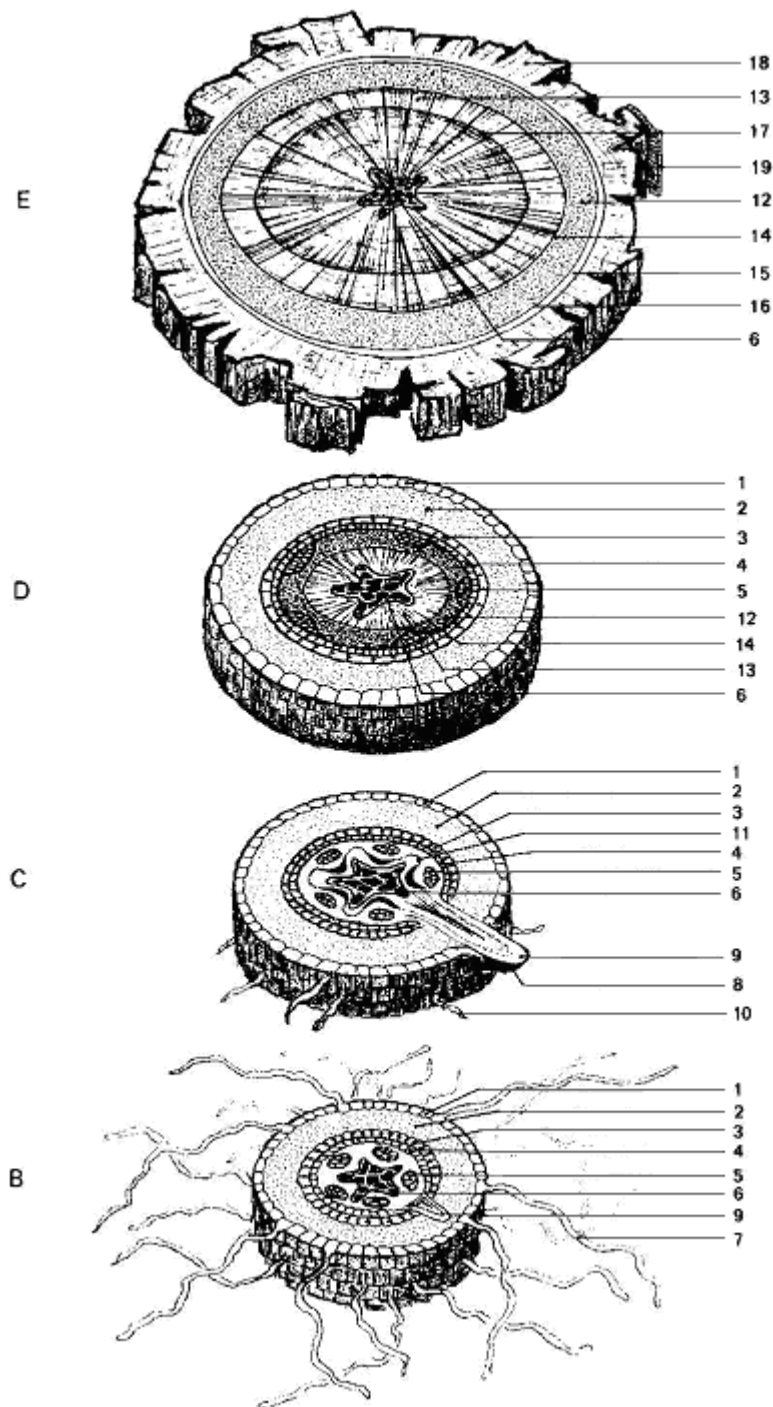
Figuur 1. Bouw van de wortel.

Links boven: wortelstelsel van een plant, waarin is aangegeven van welke plaats in de wortel de in figuur 2 getekende dwarsdoorsneden B, C, D en E afkomstig zijn.

Rechts: A. ruimtelijke ligging van de weefsels in de worteltop.

Links onder: schema van de bovenzijde van deze worteltop.

1. epidermis (rhizodermis), 2. schors, 3. endodermis, 4. pericykel, 5. primair floeem, 6. primair xyleem, 7. wortelhaar, 8. wortelmutsje.



Figuur 2. Bouw van de wortel. Dwarsdoorsneden van de wortel van een plant op de niveaus B, C, D en E, die in figuur 1 zijn aangegeven.

1. epidermis (rhizodermis), 2. schors, 3. endodermis, 4. pericykel, 5. primair floeem,
6. primair xyleem, 7. wortelhaar, 8. wortelmutsje, 9. zijwortel (in aanleg), 10. oud wortelhaar,
11. cambiumvorming. 12. secundair floeem. 13. secundair xyleem. 14. cambium. 15. kurk.
16. kurkcambium. 17. jaarring. 18. restant van de schors. 19. restant van de epidermis.

B. De wortelharen

Benodigdheden:

Ongeveer 2 à 3 dagen oude kiemplantjes van de tuinkers (*Lepidium sativum*) die op vochtig filtreerpapier in petrischalen zijn ontkiemd. De kiemplantjes moeten ongeveer 2 tot 3 centimeter hoog zijn en goed ontwikkelde wortelharen hebben.

Uitvoering:

- snijd met een scheermesje een volledig worteltje van een kiemplantje van de tuinkers af, breng het zonder de wortelharen te beschadigen op een objectglas in een druppel water en leg er een dekglas op.
- bestudeer de wortel met zwakke vergroting en teken het wortelmutsje, de strekkingszone en de wortelhaarzone.
- bestudeer met een sterkere vergroting de ontwikkeling van de wortelharen. De rhizodermiscellen die in de wortelhaarzone het dichtst bij de worteltop liggen hebben alleen kleine uitstulpingen. De verder van de punt af liggende cellen dragen langere wortelharen.
- worteltjes die gedurende korte tijd in 96% ethanol gelegen hebben zijn doorzichtig, doordat de lucht uit de intercellulaire holtes verdreven is. Maak van zo'n worteltje een preparaat in 96% ethanol. De houtvaten zijn tot in de wortelhaarzone zichtbaar doordat ze sterk verdikte wanden hebben.

C. De vaatbundels

a. De jonge wortel

Benodigdheden:

Wortels van *Clivia nobilis* met een doorsnede van ongeveer 6-8 mm of luchtwortels van *Monstera deliciosa* (gatenplant).

Wortels die in 70% ethanol bewaard zijn, zijn beter te snijden omdat ze harder zijn.

Ook geschikt zijn jonge wortels van *Ranunculus repens* (kruipende boterbloem), *Allium cepa* (ui) en *Acorus calamus* (kalmoes).

Uitvoering:

- maak een dwarsdoorsnede van de wortel. Probeer niet een complete coupe van de wortel te maken, daar deze meestal te dik wordt.
Bij een coupe van een gedeelte van het oppervlak van de doorsnede zijn de zijkanten van het preparaat over het algemeen het dunst en dus het bruikbaarst.
- maak van de coupes een preparaat in een druppel water.
- maak een overzichtstekening van de ligging van de verschillende weefsels in het preparaat en zet de namen erbij.
- kleur een coupe met floroglucinol/zoutzuur. De houtvaten (xyleem) kleuren rood.
- teken enkele houtvaten en zeefvaten (zilverkleurig).

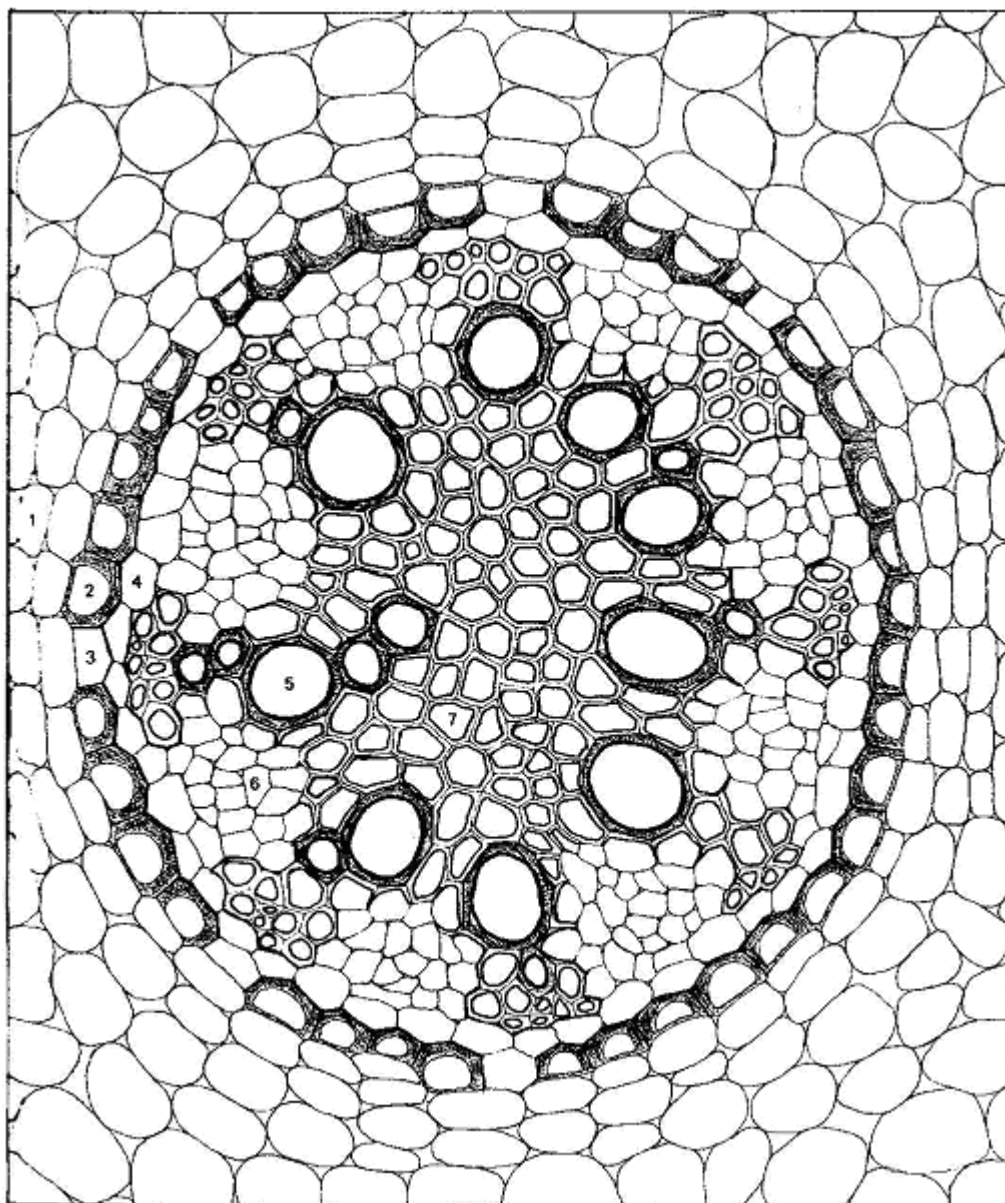
b. De oude wortel

Benodigdheden:

Wortels van *Iris germanica*. Materiaal dat in 70% ethanol bewaard is, is harder en laat zich beter snijden dan vers materiaal. Ook geschikt is de peen waarin ook mergstralen en oliekanalen waarneembaar zijn.

Uitvoering:

- maak een preparaat van een dwarsdoorsnede. De buitenkant van oudere wortels is omgeven door een exodermis die uit meer lagen bestaat. De cellen zijn verkurkt (Sudan III) en verhout (floroglucinol/zoutzuur). De xyleemstralen hebben aan de buitenkant kleinere vaten dan meer naar het midden. Tussen de xyleemstralen ligt het zilverig glanzende floeem.
- teken de ligging van de weefsels en van ieder weefsel enkele cellen.



Figuur 3. Oudere wortel van Lelietje-van-Dalen (*Convallaria majalis* L.). Dwarsdoorsnede. De meeste cellen van de endodermis zijn verhout.
 1. schorsparenchym, 2. endodermis, 3. doorlaatcellen, 4. pericykel,
 5. xyleem, 6. floeem, 7. sklerenchym.

V-2 De functie van de wortel

De ionenopname

Indien men een plant op waterculture plaatst, is zij in staat tegen een concentratiegradiënt in ionen op te nemen uit de vloeistof rond de wortel. Om in de processen die hierbij een rol spelen meer inzicht te krijgen, heeft men experimenten uitgevoerd met watercultures die radioactief natrium, kalium of chloor bevatten. De wortel werd dan eerst in een waterig milieu gebracht waarin zich geen voedingsionen bevonden. Hierna werd de wortel overgebracht in een medium mét radioactieve ionen van het te onderzoeken element. Na 10 à 20 minuten werd de wortel dan weer overgebracht in zijn oorspronkelijk ionenvrij milieu. Na kortere of langere tijd werden van de aldus behandelde wortel een serie microscopische preparaten vervaardigd. De preparaten werden bedekt met lichtgevoelig negatief materiaal en in het donker bewaard. Na enkele dagen werd het preparaat met het erop bevestigd negatief materiaal ontwikkeld. De plaats van de radioactieve stoffen in het preparaat waren als kleine zwarte puntjes in het negatief waarneembaar. Ook het preparaat zelf is — eventueel na kleuring — zichtbaar. De plaats van de radioactieve stoffen in de wortel was zo vast te stellen. (Men noemt deze methode van onderzoek: autoradiografie.)

Wat gebeurt er met de radioactieve ionen?

Een eerste onderzoek was gericht op de mogelijkheid van diffusie vanuit het wortelmilieu via de celwanden of via het cytoplasma naar de centrale cilinder. Met gebruikmaking van de bovenbeschreven methode bleek dat zowel positieve als negatieve ionen al snel in de poreuze celwanden van de epidermis en de schorscellen doordringen. Deze diffusie gaat door tot aan de endodermis met de bandjes van Caspary. Deze bandjes bestaan uit wasachtig materiaal dat voor water en de daarin aanwezige ionen ondoorlaatbaar is. Het cytoplasma is op die plaats stevig aan de celwand gehecht, zodat de ionen niet tussen cytoplasma en celwand door de centrale cilinder kunnen bereiken. Hier eindigt dus de mogelijkheid voor ionen om via de celwanden in de centrale cilinder door te dringen. Een tweede mogelijkheid zou zijn dat de ionen van cel tot cel via het cytoplasma en de plasmodesmen in de centrale cilinder doordringen. Doordat het celmembraan vetachtige stoffen bevat, is diffusie van de meeste geladen deeltjes van buiten naar binnen onmogelijk. Doordat de diffusieweg via het cytoplasma dus ook geblokkeerd is, kunnen ionen niet door diffusie in de centrale cilinder doordringen; de bandjes van Caspary en de vetachtige celmembranen blokkeren de toegang tot de centrale cilinder. Toch blijken radioactieve ionen in de cel door te kunnen dringen. Indien men levende wortels in een goed doorlucht medium met kalium 42 en/of chloor 36 brengt, en ze daarna goed spoelt, blijken er geen radioactieve ionen in de celwanden aantoonbaar. Ze zijn er eerst vanuit het medium in gediffundeerd, maar er later weer even snel uitgespoeld.

In de cellen echter blijken wél radioactieve ionen aantoonbaar te zijn. Ze zijn er niet door diffusie in doorgedrongen, want dan zouden ze er tijdens het spoelen ook weer uit gediffundeerd zijn. De wortelcellen blijven echter radioactief, hoelang men ook spoelt. De wortelcellen zijn dus kennelijk in staat om de ionen op de een of andere manier van buiten naar binnen door te laten en ze te verhinderen weer van binnen naar buiten uit de cellen te ontsnappen. Indien men in plaats van zuurstof, stikstof door het voedingsmedium leidt, blijken de wortelcellen niet meer in staat de kalium- of chloorionen uit het medium op te nemen. Ook de toediening van stoffen die het metabolisme remmen of afkoeling van het voedingsmedium leidt tot verminderde opname van ionen uit het milieu. Voor de opname van ionen uit het milieu is kennelijk energie nodig, het is een actief proces. Hoe verloopt deze actieve opname door de celmembranen?

Een van de hypothesen hieromtrent gaat uit van het bestaan van carriers. Dit zijn enzymen die gebruik maken van de energie uit ATP; de zogenaamde ATP-asen. Dit ATP-ase reageert aan de buitenkant van het celmembraan met een ion uit het medium en vormt daarmee een carrier-ion-complex. Hierbij gaat het ATP over in $ADP + P$, waarbij de voor de complexvorming benodigde energie beschikbaar komt. Dit carrier-ion-complex gaat door het celmembraan naar binnen. Daar wordt het ion weer vrij gemaakt. De lege carrier gaat weer naar de buitenkant van het celmembraan. Het ADP wordt onder opname van energie uit het celmetabolisme weer omgezet in ATP. Hierna is de carrier weer in staat om een nieuw ion te binden. De carrier kan de ionen niet van binnen naar buiten brengen omdat de structuur van de carrier aan de binnenkant van het celmembraan anders is dan de structuur van de carrier aan de buitenkant van het celmembraan. Verdergaand onderzoek heeft het waarschijnlijk gemaakt dat er twee typen carriers bij de opname van ionen betrokken zijn, één type dat bij lage ionconcentraties werkt en een ander type dat bij hoge ionconcentraties werkt. Na opname van de ionen in het cytoplasma staat de weg tot de centrale cilinder open. Via de plasmodesmen kunnen de ionen zich van cel tot cel verplaatsen, waarbij ze geen celmembranen meer hoeven te passeren. Het staat nog niet vast welke krachten hierbij een rol spelen. Het bestaan van cytoplasmastroming en diffusie is als verklaring ontoereikend. De endodermis is geen hindernis voor ionen die zich in het cytoplasma bevinden. Uiteindelijk komen de ionen aan in de cellen die aan de xyleemvaten grenzen. Om in de xyleemvaten te komen zullen ze echter wél het celmembraan moeten passeren. De cellen die in de buurt van de xyleemvaten liggen moeten met een van binnen naar buiten werkend carriersysteem de ionen uit het cytoplasma naar de celwand pompen. Daarvoor zouden deze cellen andere eigenschappen moeten hebben dan de cellen van de epidermis en de schors. Dat dit inderdaad het geval is zou kunnen blijken uit het feit dat bijvoorbeeld de kaliumconcentratie in de cellen die aan de houtvaten grenzen beduidend hoger is dan de kaliumconcentratie in de rest van de wortel. Ze kunnen dit kalium kennelijk opslaan, waarna het door het celmembraan heen in de celwand gebracht wordt. Als de ionen zich in de celwanden bevinden kunnen ze door diffusie de xyleemvaten bereiken en dan met de waterstroom mee naar de rest van de plant gebracht worden.

B. De actieve wateropname

Doordat de bandjes van Caspary watertransport via de celwand vanuit de schors naar de centrale cilinder van de wortel beletten, moet ook het door de wortel opgenomen water via het cytoplasma de centrale cilinder bereiken. Dit watertransport heeft twee motoren namelijk de worteldruk (actief) en het zogenaamde hydrostatisch watertransport (onder andere zuigkracht van de bladeren, passief).

a. Worteldruk

Actieve **wateropname** is een verwarrende uitdrukking. Deze wateropname is namelijk het passief gevolg van de hierboven besproken actieve **ionenopname**. Door deze ionenopname stijgt de osmotische waarde van de wortelcellen. De wortelcellen zijn dan hypertoonisch ten opzichte van het milieu, zodat door osmose water opgenomen wordt. De wateropname volgt op de ionenopname! In de centrale cilinder worden de ionen selectief uitgescheiden in de richting van de xyleemvaten. Ook hier volgt het water de daardoor ontstane osmotische gradiënt. Behalve het actieve ionentransport kan ook de omzetting van zetmeel in suiker binnen de cellen een motor voor het osmotische watertransport zijn. In het voorjaar is de suikerconcentratie in boomstammen erg hoog, waardoor veel water uit de bodem opgenomen wordt. Beschadiging heeft dan bloeding tot gevolg. Aan zo'n bloeding kan men de worteldruk meten. Meestal meet men dan worteldrukken in de orde van grootte van 1 à 2 atmosfeer. In bijzondere omstandigheden heeft men waarden tot 6 atmosfeer aangetoond. Het water zou daardoor alleen al tot meer dan 60 meter hoog kunnen opstijgen.

Indien de bladeren veel water verdampen, neemt de zuigkracht van de bladeren toe. Het watertransport dat hierdoor veroorzaakt wordt noemt men passief of hydrostatisch watertransport. Doordat de openingstoestand van de huidmondjes en de verdamping vanuit de bladeren elkaar beïnvloeden, moet men dit **passief** niet al te letterlijk nemen. Via het xyleem bereikt de waterstroom de plaatsen waar het water verdampt. Naar de andere plaatsen in de plant worden via het floem ionen actief vervoerd. De indeling:

dient dan ook meer genuanceerd te worden.

Doorsnede door de stengel

Reagentia: floroglucinol/zoutzuur (houtkleuring).

Maak een dwarsdoorsnede door de stengel van een eenzaadlobbige en een tweezaadlobbige plant en vervaardig hiervan microscopische preparaten. Enkele preparaten kleuren met floroglucinol/zoutzuur.

1. vergelijk de ligging van de vaatbundels in beide typen stengels.
2. let op het al of niet voorkomen van cambium.
3. maak van de preparaten van beide typen stengels topografische tekeningen.

Reagentia: floroqlucinol/zoutzuur (houtkleuring).

Maak dwarsdoorsneden door de stengel en vervaardig hiervan microscopische preparaten. Enkele preparaten worden in floriglucinol/zoutzuur gekleurd.

Aan het overzichtsbeeld kan men zien dat de vaatbundels in een kring liggen, zoals dat voor tweezaadlobbige planten gebruikelijk is. Zij zijn omgeven door een dunwandig parenchymatisch weefsel. In het midden ligt een grote lege ruimte: de mergholte. De buitenste lagen parenchymcellen bevatten chloroplasten. Aan de buitenkant is de stengel omgeven door een epidermis. De vaatbundels bestaan uit een sklerenchymcilinder die gedeeltelijk uit dikwandig sklerenchym (de sklerenchymkap) en dunwandig sklerenchym opgebouwd is. Onder de sklerenchymkap

ligt het floeem bestaande uit bast- of zeefvaten en bast-parenchym. Het grootste deel van de vaatbundel bestaat uit xyleem dat uit houtvaten en hout-parenchymcellen is opgebouwd. Tussen floeem en xyleem ligt het cambium. De jonge bastvaten bevatten nog protoplasma. Tegen de bastvaten liggen begeleidende cellen die het transport van stoffen door de bastvaten regelen. In de houtvaten is geen protoplasma meer aanwezig. In de verdikte wanden bevinden zich stippels waardoor uitwisseling van stoffen met de ernaast liggende parenchymcellen mogelijk is.

Opdracht:

- 4.** Maak een tekening van een vaatbundel uit het preparaat en geef daarin de ligging van de verschillende celtypen aan.

N.B. Losse houtvaten zijn te zien in preparaten van het centrum uit banaan en stelen van spinazie of selderijstengels. De stengels moeten 10 minuten worden gekookt in 1 N HCl; daarna squashpreparaten maken.

V-4 Watercultures: volledig medium en gebreksmedia

Voor watercultures is het gebruik van bewortelde plantenstekken te verkiezen boven uit zaad verkregen kiemplanten:

- kiemplanten bezitten aanzienlijke voedselreserves in hun zaadlobben respectievelijk endosperm en ontwikkelen zich dus enige tijd onafhankelijk van het kweekmedium.
- stekken zijn — wanneer ze van dezelfde plant of van een kloon afkomstig zijn — genetisch identiek, hetgeen betere vergelijkingen mogelijk maakt.

Omdat niet alle planten zich buiten hun vegetatieperiode gewillig laten stekken kan het gebruik van zaden evenwel noodzakelijk zijn. Beide wijzen van verkrijging worden daarom hieronder vermeld. Blijkt na 1 week dat de stekken niet aanslaan, dan kan alsnog op zaden worden overgegaan.

Benodigdheden en voorbereiding:

a. Stekken

Uitgangsmateriaal kunnen vormen 10-15 cm lange, ontbladerde loten van (kamer-) Tradescantia's (*T. albiflora* albo-vittata en *T. fluminensis*). Deze loten plaatsen in vochtig scherp zand. Na 2-3 weken hebben zij voldoende wortels gevormd en kunnen voor het experiment gebruikt worden.

Eveneens zijn bruikbaar de broedknoppen die langs de bladranden van de vetplant *Bryophyllum spec.* ontstaan.

b. Zaden.

Laat voldoende (zie **e**) zaadjes kiemen van tomaat, zonnebloem, maïs, haver of tarwe. Dit kan gebeuren in gewassen scherp zand. In een lage bak brengt men een laagje zand en bevochtigt dit zodanig met aqua dest., dat het water er niet meer uitvloeit als de bak schuin gehouden wordt. Leg nu de zaden uit en bedek ze met een laagje droog zand. Een glazen plaat of stuk doorzichtig plasticfolie zal uitdroging vertragen. Plaats de bak in een broedstoof bij een temperatuur van 22° C. Na 4-5 dagen zijn de plantjes groot genoeg om in de cultuurmedia geplaatst te worden. De glazen of plastic bedekking tijdens deze 4-5 dagen regelmatig korte tijd verwijderen; het luchten voorkomt schimmel- en bacterieontwikkeling.

c. Cultuurvaten

Voor de watercultures maakt men gebruik van jampotten (verzamelen, eventueel via kruidenier) die goed worden uitgewassen met een vaatwasmiddel en water en hierna enige keren met leidingwater en tenslotte 3x met aqua dest. gespoeld worden. De potten worden omhuld met aluminiumfolie; dit is lichtdicht en reflecterend. Op de jampotten worden deksels geplaatst van tempex (te prefereren), plastic, hardboard, kurk of gips. Deksel van hardboard, kurk en gips geven aan het cultuurmedium ionen af en moeten hierom voorzien worden van een laag paraffine.

In de deksels worden 3-4 gaten geboord met een diameter van 1 cm. Door een van deze gaten wordt een beluchtingsbuisje gestoken (met omgebogen boven einde) dat zo lang is dat het tot onder in het cultuurmedium reikt. Bij gebruik van Bryophyllum dient de deksel van het cultuurvat zo dun mogelijk te zijn, teneinde de wortels eronder uit te laten steken.

d. Samenstelling cultuurmedia

Men vervaardigt eerst de in de tabel genoemde stamoplossingen en stelt dan vanuit deze stamoplossingen volgens deze tabel de media I tot en met IX samen in voorraadflessen. Alle in de tabel genoemde aantallen ml zijn berekend per liter medium.

De per groep leerlingen benodigde aantallen liters van ieder medium zijn te berekenen door het volume van het gebruikte type jampot (meestal ca 300 ml) te vermenigvuldigen met 5 (zie e).

De leerlingen vullen hun cultuurvaten I tot en met IX uit de voorraadflessen met de kant en klare media die volgens de tabel zijn vervaardigd. Zij vullen de cultuurvaten X en XI, welke als controle fungeren, respectievelijk met aqua dest. en met aqua dest. + op de bodem 100 gram tuinaarde. Het te gebruiken water dient zo mogelijk 2x gedestilleerd te zijn, de te gebruiken chemicaliën moeten van de kwaliteit 'pro analyse' zijn. FeEDTA is een oplossing van een ijzercomplex van aethyleen-diamine-tetra-azijnzuur die per ml stamoplossing 1 mg ijzer bevat.

De stamoplossing van de spore-elementen bevat per liter 572 mg H_3BO_3 , 362 mg $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, 22 mg $ZnCl_2$, 10 mg $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ en 5 mg $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$.

No. cultuurvat resp. medium	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Kenmerk	volledig medium	— Ca	— S	— Mg	— K	— N	— P	— Fe	— spore- elem.
Stamoplossing	ml	ml	ml	ml	ml	ml	ml	ml	ml
Toe te voegen aan 910 ml aqua dest.									
0,2M $Ca(NO_3)_2$	30	—	30	30	30	—	30	30	30
0,2M KNO_3	30	30	30	30	—	—	30	30	30
0,2M $MgSO_4$	12	12	—	—	12	12	12	12	12
0,2M KH_2PO_4	6	6	6	6	—	6	—	6	6
FeEDTA	6	6	6	6	6	6	6	—	6
Spore-elementen	6	6	6	6	6	6	6	6	—
0,2M $NaNO_3$	—	30	—	—	30	—	—	—	—
0,2M $MgCl_2$	—	—	12	—	—	—	—	—	—
0,2M Na_2SO_4	—	—	—	12	—	—	—	—	—
0,2M NaH_2PO_4	—	—	—	—	6	—	—	—	—
0,2M $CaCl_2$	—	—	—	—	—	30	—	—	—
0,2M KCl	—	—	—	—	—	30	6	—	—

e. Aantallen

De leerlingen worden zodanig in groepen verdeeld dat ieder medium 5 x toegepast wordt. Per jampot kunnen 2-3 plantjes gekweekt worden (de niet gebruikte gaten in de deksel afsluiten met watten of sellotape!).

f. Belichting

Plaats de cultures op een lichte plaats, echter nooit in direct zonlicht. Tradescantia-stekken ontvangen zo — ook in de wintermaanden — doorgaans voldoende licht. Bij gebruik van zaden of Bryophyllum is echter — om etiolering te voorkomen — in de wintermaanden kunstmatige belichting noodzakelijk. Dit kan gebeuren met TL-buizen (kleur 33), die zo laag boven de planten gehangen worden dat de temperatuur rondom de planten niet boven de 25 °C stijgt. De broedknoppen van Bryophyllum verlangen bijzonder veel licht.

Uitvoering

- de best ontwikkelde stekken respectievelijk kiemplanten worden voorzichtig uit hun zandbed losgemaakt en de wortels worden onder een zachte waterstraal grondig van aanklevend zand ontdaan.
- de plantjes worden met de wortels naar beneden door een gat van de deksel gestoken en vastgezet door onder de deksel een propje watten om de stengel te wikkelen en dan het plantje met de watten omhoog duwen. Zorg dat er geen watten onder de deksel uitsteken, die zouden water opzuigen en tot rotting aanleiding kunnen geven.
- de wortels dienen geheel in het cultuurmedium ondergedompeld te zijn, waarbij het medium de deksel niet mag raken! Het bevestigen van de plantjes in op de vloeistof drijvende (tempex-)deksels moet ontraden worden, rotting is dan vrijwel onvermijdelijk.
- bij iedere wekelijkse controle het uit het cultuurmedium verdampte water aanvullen en gedurende 2-3 minuten lucht via het beluchtingsbuisje door het medium leiden. Doe dit met een aquarium- of fietspomp; met de mond blazen is ongewenst.
- om de twee weken moet het medium van ieder cultuurvat door vers medium van dezelfde samenstelling vervangen worden. Dit is noodzakelijk om de geleidelijke verandering van de samenstelling van het medium, voortvloeiend uit de selectieve ionenopname door de planten, te compenseren.

Opdracht:

Vergelijk wekelijks groei, bladgrootte, kleur, etc. van de plantjes in de diverse media en leg de verschillen in een tabel vast. Tracht na te gaan hoe een van de controle-plant afwijkend kenmerk uit het ontbreken van een element voortvloeit.

V-5 De invloed van voedingsstoffen op de groei van bacteriën

Benodigheden:

1. Voedingsbouillon, die per 1000 ml H₂O 10 gram vleesextract, 10 gram pepton en 5 gram NaCl bevat. Met 40 ml voedingsbouillon kan 5x uitvoering **a** en 2x uitvoering **b** worden uitgevoerd.
2. Voedingsschijfjes. Ze bevatten de in voedingsbouillon voorkomende stoffen in dezelfde verhouding, in filtreerpapier opgezogen en gedroogd. Er zijn 4 schijfjes nodig.
3. Voedingsagar, die per 1000 ml H₂O 1 gram vleesextract, 2 gram gistextract, 5 gram pepton, 5 gram NaCl en 15 gram agar bevat. Er is 100 ml nodig.
4. Agargel, bevattende 12 tot 24 gram gereinigde agar (met een laag zoutgehalte) per 1000 ml. Er is 175 ml nodig.

5. 1 buisje gevriesdroogde *Escherichia coli*.
6. 1 buisje gevriesdroogde *Bacillus subtilis*.
7. Vier cultuurbuizen, 2 platbodempkolfjes, 13 petrischalen, watten, aluminiumfolie, hogedrukpan, broedstoof en entnaalden.

Opmerking:

De benodigdheden 1 tot en met 6 zijn in de handel verkrijgbaar (Oxoid, Haarlem) in tablet- of korrelvorm.

Voedingsbouillon (Nutriënt Broth No. 2) als tablet CM 68 en in korrelvorm als CM 67. Eén tablet CM 68 of 0,25 gram CM 67 per 10 ml gebruiken.

Voedingsagar (Nutriënt Agar) als tablet CM 4 en in korrelvorm als CM 3. Eén tablet CM 4 of 0,14 gram CM 3 per 5 ml gebruiken.

Agargel als tablet CM 49 en in korrelvorm als L 13. Eén tablet CM 49 of 0,12 gram L 13 per 10 ml gebruiken. In zure media gebruikt met 2 tabletten CM 49 of 0,24 gram L 13 per 15 ml voedingsbodem.

N.B. Bij gebruik van tabletten of korrels deze eerst laten weken (enkele minuten tot een kwartier) vervolgens goed mengen en pas daarna steriliseren in de hogedrukpan.

Voorbereiding:

- vul 4 cultuurbuizen elk met 10 ml voedingsbouillon en sluit deze met een wattenprop af.
- steriliseer de buizen in de hogedrukpan gedurende 15 minuten bij 120 °C. Wattenproppen afdekken met aluminiumfolie tegen condensvorming.
- beënt 24 à 48 uur vóór het begin van de lesdag:
 - 1 buis met volledige inhoud van de gevriesdroogde cultuur *Escherichia coli*.
 - 1 buis met volledige inhoud van de gevriesdroogde cultuur *Bacillus subtilis*.
- flambeer de opening met metalen schroefdop alvorens de voorraadbuis te openen. Laat even afkoelen en verwijder daarna de schroefdop met de rechterhand. Klem de schroefdop met de pink in de rechter handpalm en leg deze niet neer.
- flambeer de opening opnieuw en transporteer de inhoud met behulp van een geflambeerde pincet. Flambeer nu nogmaals de opening en plaats de schroefdop terug. De voorraadbuis goed sluiten en in de koelkast bewaren.
- bebroed de cultuurbuizen in de broedstoof bij 37 °C (niet hoger). Na de kweekperiode moeten de beide bouilloncultures duidelijk troebel zijn.
- maak voor uitvoering **a** in een platbodempkolfje (inhoud 200 ml) 100 ml voedingsbodem van voedingsagar en sluit af met een wattenprop. Dek de wattenprop tegen condensvorming af met aluminiumfolie. Steriliseer in de hogedrukpan gedurende 15 minuten bij 120 °C.
- maak voor uitvoering **b** in een platbodempkolfje 175 ml voedingsbodem van agargel en sluit af met een wattenprop. Dek ook deze wattenprop af met aluminiumfolie tegen condensvorming en steriliseer in de hogedrukpan gedurende 15 minuten bij 120 °C.

Uitvoering:

a

- verwarm de tevoren gesteriliseerde voedingsbodem van voedingsagar in een waterbad met kokend water tot deze vloeibaar is (circa 30 minuten) of in een hogedrukpan zonder overdruk tot 100 °C (circa 10 minuten).
- geef op de onderkant van 5 petrischalen (niet openen!) aan:
 1. de soort voedingsbodem
 2. waar beënt wordt met welke bacteriesoort (zie hierna).
- til de deksel rustig (zonder aantikken) rechtstandig omhoog, giet de plaat en sluit daarna de deksel zonder aantikken.
- keer de plaat om (niet openen) zodra de voedingsbodem stijf is en er in de deksel condens is ontstaan. Laat nu in omgekeerde stand verder afkoelen; het gevormde condens wordt dan opnieuw geabsorbeerd door de voedingsbodem.

- beënt de ene helft van iedere voedingsagar-plaat met *Escherichia coli* en de andere helft met *Bacillus subtilis* door een entoogje met vloeistof van de reincultuur in zigzagbeweging op de voedingsbodem uit te vegen.
- bebroed de platen in omgekeerde stand bij kamertemperatuur gedurende drie dagen en bewaar ze dan in de koelkast tot de volgende les.

Vraag en opdracht:

1. Zijn er morfologische verschillen tussen de kolonies van *Escherichia coli* en *Bacillus subtilis* waar te nemen?
2. Vergelijk de groei van deze kolonies met die in de cultuurbuizen, welke eveneens dezelfde tijd gestaan hebben.

Uitvoering:

b

- de tevoren gesteriliseerde voedingsbodem van agargel wordt verwarmd in een waterbad met kokend water tot deze vloeibaar is (circa 30 minuten) of in een hogedrukpan zonder overdruk tot 100 °C (circa 10 minuten).
- geef op de onderkant van 8 petrischalen (niet openen!) aan:
 1. de soort voedingsbodem.
 2. met welke bacterie beënt wordt (zie hierna).
- giet platen zoals bij **a** is aangegeven en keer na het stijf worden van de voedingsbodem de petrischalen om (niet openen!), opdat de bodem het gevormde condens weer absorbeert.
- beënt 4 agargel-platen over de gehele oppervlakte van de plaat met *Escherichia coli* door één of twee entoogjes met vloeistof van de reincultuur in zigzagbeweging op de voedingsbodem uit te strijken.
- beënt op gelijke wijze 4 agargel-platen met *Bacillus-subtilis*.
- neem de voorraadbuis met voedingsschijfjes in de linkerhand en flambeer de opening met metalen schroefdop alvorens de voorraadbuis te openen. Laat even afkoelen en verwijder daarna de schroefdop met de rechterhand. De schroefdop tussen de pink en de handpalm van de rechterhand klemmen en deze niet neerleggen.
- flambeer de opening opnieuw en transporteer één voedingsschijfje met behulp van een geflambeerde pincet. Flambeer de opening nu nogmaals en plaats de schroefdop terug op het voorraadbuisje. Herhaal dit na ieder uitgenomen voedingsschijfje.
- leg in het midden van 2 'Coli-platen' en van 2 'Subtilis-platen' ieder één voedingsschijfje door met de linkerhand de deksel van de petriskaal rustig en rechtstandig hoog op te tillen. Na de laatste keer flamberen de voorraadbuis met voedingsschijfjes volledig dichtdraaien.
- bebroed de platen met de onderkant naar boven bij kamertemperatuur gedurende drie dagen en bewaar ze dan in de koelkast tot de volgende les.

Vraag en opdracht:

3. Wat kunt u waarnemen ten aanzien van de groei van de bacteriën op de agargel-platen en wat concludeert u uit deze waarneming?
4. Vergelijk de groei van beide bacteriesoorten op de agargel-platen met die op de voedingsagar-platen.

V-6 De invloed van voedingsstoffen op de ontwikkeling van een schimmel (*Aspergillus niger*)

Uit drie stamoplossingen 1, 2 en 3 worden drie voedingsbodems A, B en C samengesteld. Voedingsbodem A bevat glucose, B bevat glycerol en C bevat glucose en glycerol. Bestudeerd wordt het effect van beide koolstofbronnen op groei en sporulatie van *Aspergillus*.

Benodigheden: (voor een demonstratieproef in 5-voud)

- een waterbad van 50 °C.
- 4 erlenmeyers of platbodempkolfjes van 200 ml + 4 goed passende wattenproppen.
- 15 steriele petrischalen.
- een reïncultuur van *Aspergillus niger*.
- enkele naaldhouders met entoogje.
- Bunsen- of Teclubranders.
- stamoplossingen etc. (zie onder voorbereidingen).

Voorbereiding:

N.B. Om voortijdige stolling van de agar (bij ca. 40 °C) te voorkomen, dienen de stamoplossingen en voedingsbodems tussen de ermee te verrichten handelingen tot het gieten der platen in het waterbad van 50 °C geplaatst te worden. Het steriliseren dient vóór het mengen der stamoplossingen plaats te vinden. Voedingsbodems die ondanks de voorzorgen toch geïnficeerd blijken te zijn, kunnen niet opnieuw gesteriliseerd worden en dienen door verse vervangen te worden.

- markeer op de buitenzijde van ieder van de 4 erlenmeyers (respectievelijk kolven) met glaspotlood waar het vloeistofniveau zich bevindt nadat men er achtereenvolgens 25, 50, 75 en 100 ml water in heeft gedaan.
- vervaardig nu, in telkens een aparte erlenmeyer:
 - stamoplossing 1*: 75 ml aqua dest. waarin:
9 gram glucose. Van deze oplossing brengt men 50 ml in één erlenmeyer, de resterende 25 ml brengt men in een tweede erlenmeyer.
 - stamoplossing 2*: 150 ml aqua dest. waarin:
1,5 g pepton of ammoniumnitraat (NH_4NO_3) of ammoniumsulfaat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$).
300 mg dikaliumhydrogeenfosfaat (K_2HPO_4).
150 mg magnesiumsulfaat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).
6 g agar.
 - stamoplossing 3*: 75 ml aqua dest. waarin 7,5 ml watervrij glycerol ($\text{HOCH}_2\text{-CH(OH)CH}_2\text{OH}$, $d_{20}^{20} 1,26$).
- geef op de erlenmeyers met glaspotlood aan welke stamoplossing er zich in bevindt, sluit af met een wattenprop en steriliseer de inhoud in een autoclaaf of hogedrukpan met een overdruk van 1 atm gedurende 15 min.
- voor het steriel overbrengen van stamoplossingen neemt men een erlenmeyer in de linkerhand en een erlenmeyer in de rechterhand. Neem met de linkerpink de wattenprop van de rechter erlenmeyer en houdt deze vast (de prop niet op tafel leggen). Met de rechterpink neemt men de wattenprop van de linker erlenmeyer en houdt deze eveneens vast. Flambeer nu de halzen van beide erlenmeyers goed en giet — lettend op de zelf aangebrachte maatverdeling — de juiste hoeveelheid in de juiste erlenmeyer. Sluit nu beide erlenmeyers met de wattenprop die eraf genomen is, na zowel de proppen als de halzen licht geflambeerd te hebben. Vermijd tijdens deze procedure krachtig uitademen.
- vervaardig nu **voedingsbodem A** (met glucose) door 50 ml van stamoplossing 2 steriel toe te voegen aan de erlenmeyer die 50 ml van stamoplossing 1 bevat. Sluit af met de wattenproppen. Schrijf op de erlenmeyer met het mengsel: A. Meng goed en plaats de voedingsbodem in het waterbad.

- vervaardig nu voedingsbodem C (met glucose en glycerol) door achtereenvolgens 50 ml stamoplossing 2 en 25 ml stamoplossing 3 steriel toe te voegen aan de erlenmeyer die 25 ml van stamoplossing 1 bevat. Sluit af met de wattenproppen. Schrijf op de erlenmeyer met het mengsel: C. Meng goed en plaats de voedingsbodem in het waterbad.
- vervaardig voedingsbodem B (met glycerol) door de overgebleven 50 ml stamoplossing 2 steriel toe te voegen aan de overgebleven 50 ml stamoplossing 3. Sluit af met een wattenprop. Schrijf op de erlenmeyer met het mengsel: B. Meng goed en plaats ook deze voedingsbodem in het waterbad.

Uitvoering:

- op de onderzijde van 5 van de steriele petrischalen noteert men — zonder ze te openen — de letter A, op 5 andere de letter B en op nog eens 5 de letter C.
- in iedere petrischaal giet men een agarplaat van de voedingsbodem waarvan de letter op de petrischaal staat.
- na afkoelen en verstijven van de voedingsbodem de drie soorten platen beënten met sporen van *Aspergillus niger*. Hiertoe gaat men als volgt te werk:
- neem de reïncultuurbuis van *Aspergillus niger* in de linkerhand en flambeer de wattenprop. De wattenprop mag geen vlam vatten. Draai de wattenprop met de pink van de rechterhand uit de cultuurbuis en houd de wattenprop tussen pink en handpalm geklemd.
- flambeer de rand en de opening van de buis in de linkerhand goed en laat in horizontale stand even gedeeltelijk afkoelen.
- breng met de rechterhand een schoon en goed geflambeerd entoogje in de buis. Tracht de naaldhouder nergens tegen aan te laten tikken. Strijk het entoogje luchtig over het zwart gekleurde sporulerende deel van het mycelium. Ook al blijven er geen zichtbare hoeveelheden sporen hangen, het entoogje bevat voldoende materiaal om hiermee een schaal te beënten. Trek de naaldhouder rustig terug zonder het entoogje ergens tegen aan te tikken.
- flambeer de hals van de cultuurbuis en sluit af met de wattenprop uit de rechterhand.
- zet de cultuurbuis weg in een reageerbuizenrekje en til met de linkerhand de deksel van de petrischaal verticaal en voldoende hoog op.
- verdeel met het entoogje de sporen door een zigzagbeweging over de agarbodem, trek de entnaald terug, laat de deksel langzaam op de plaat zakken en sluit de schaal zonder aantikken.
- bebroed ongeveer 4 dagen bij kamertemperatuur en bewaar de platen daarna in de koelkast tot de volgende les.

Vragen:

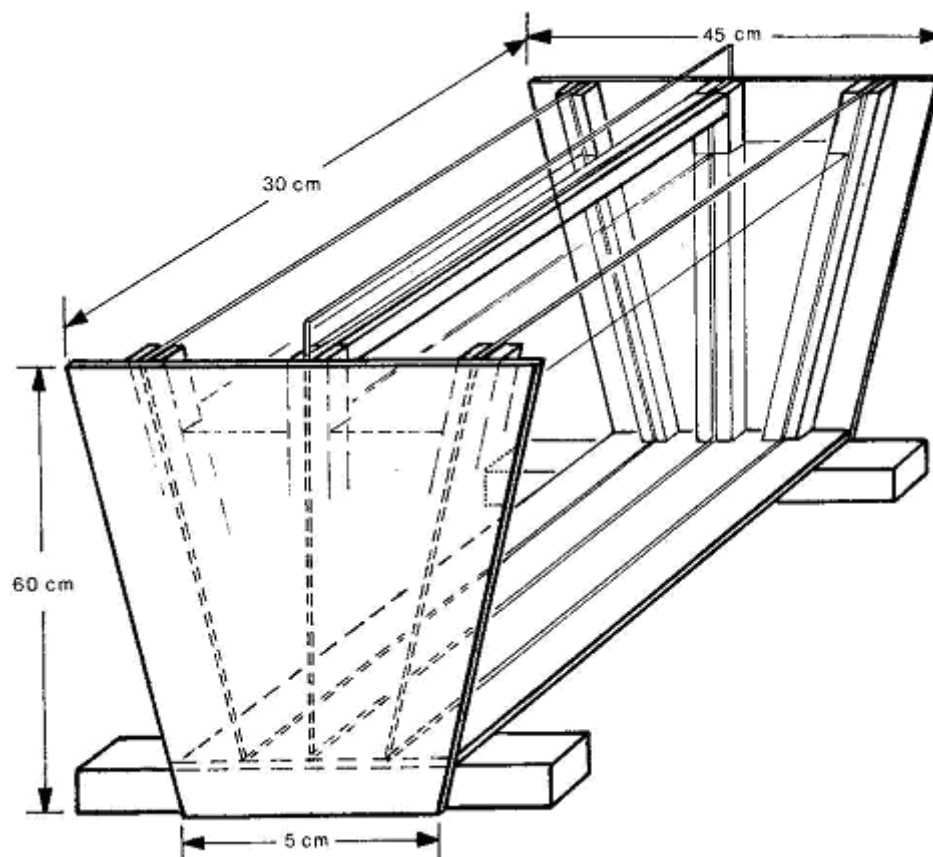
1. Blijkt uit de groei van de schimmel dat glucose en glycerol als koolstofbron gelijkwaardig zijn? Verklaar.
2. Op welke voedingsbodem vormt de schimmel sporen? Kunt u een eventueel verschil verklaren?
3. Met welk doel is voedingsbodem C aan het experiment toegevoegd?

V-7 De invloed van milieufactoren op het wortelstelsel

Ook in de wortels vinden fysiologische processen plaats zoals die zich in andere plantendelen afspelen. Wortels groeien, ontwikkelen zich en halen adem; er vindt synthese en afbraak plaats. Ze hebben een aantal functies waaronder verankering van de plant in de bodem en opname van water en mineralen. Afhankelijk van de structuur en de samenstelling van de bodem en de bereikbaarheid van water heeft de plant een wortelstelsel ontwikkeld dat een optimale opname van water en mineralen mogelijk maakt.

Benodigheden:

- verschillende grondsoorten, zoals klei, zand, tuinaarde, kalkrijke grond, en dergelijke.
- zaden van snel groeiende planten zoals tuinbonen, witte of bruine bonen, erwten, mosterdzaad, en dergelijke.
- twee kweekbakken, bijvoorbeeld volgens onderstaande tekening.
-



Figuur 4, Kweekbak voor wortelstelsels in verschillende milieus.
Maatschets voor een zelf te vervaardigen bak.

Trapeziumvormige zijwanden en bodem: hout of watervast board. Schuin staande zijwanden: glas. Tussenschot: glas of watervast board. De kweekbak wordt door twee houten latten gesteund. Aan deze latten worden de bodem en trapeziumvormige zijwanden bevestigd. Aan de bovenzijde worden de twee trapeziumvormige zijwanden aan elkaar bevestigd met twee houten latjes, zó dat het tussenschot er juist tussen past. Het tussenschot en de glazen zijwanden worden met latjes op hun plaats gehouden. Maak in de bodem enkele kleine openingen zodat overtollig water kan weglopen. De twee ruimten in de bak kunnen met verschillende grondsoorten gevuld worden. N.B. Doordat de twee glazen zijwanden schuin naar binnen zijn geplaatst zullen groeiende wortel stelsels (door positieve geotropie) langs het glas groeien en aldus zichtbaar zijn.

Uitvoering:

Indien dit experiment als demonstratie wordt gebruikt dient men geruime tijd ($\pm$ 1-2 weken) tevoren het experiment in te zetten.

- vul de twee ruimten van een kweekbak met verschillende grondsoorten. Maak een tweede kweekbak gereed met andere grondsoorten. Bevochtig de grond en plaats in iedere ruimte één zaad(je). Gebruik per experiment steeds zaden van dezelfde soort.
- plaats de bakken tijdens de kieming van het zaad in het donker; zorg ervoor dat de bakken voldoende warm staan.
- als de planten 'boven de grond zijn' kunnen de bakken in het licht worden geplaatst; dek echter de glaswand af met zwart plastic of aluminiumfolie (of iets dergelijks), zodat het wortelstelsel in verband met negatieve fototropie geen licht kan ontvangen. Het water geven dient zodanig te geschieden dat de natuurlijke omstandigheden per grondsoort zoveel mogelijk worden nagebootst; dus zand niet te nat, etc.

Ga nu zo regelmatig mogelijk de ontwikkeling van het wortelstelsel na, door de vorm en de uitgestrektheid ervan steeds in tekeningen vast te leggen. Als de wortelstelsels voldoende zijn uitgegroeid kunnen ze worden afgespoeld. Door ze naast elkaar op zwart papier te leggen is een goede vergelijking mogelijk.

V-8 Het aantonen van enkele asbestanddelen

Indien men voor het aantonen van elementen of verbindingen gebruik maakt van reacties die in oplossing verlopen, moet men eerst zorgen dat de aan te tonen stoffen in oplossing zijn. Een aantal verbindingen lossen op in (warm) *water*, andere zijn oplosbaar in verdund of geconcentreerd *zoutzuur* (HCl). Indien de te onderzoeken stof nu nog niet opgelost is kan men verdund of geconcentreerd *salpeterzuur* (HNO₃) toevoegen, alle hierdoor ontstane nitraten zijn oplosbaar. Als 'paardenmiddel' staat uiteindelijk nog '*koningswater*' ter beschikking. In dit mengsel van 3 delen geconcentreerd zoutzuur en 1 deel geconcentreerd salpeterzuur lost zelfs goud op! De stof die nu nog niet oplost is koolstof (zwart) of SiO₂ (kwarts, zand). Tijdens het oplossen kan er een gasontwikkeling van CO₂, H₂S of SO₂ plaatsvinden.

Zoutzuur, salpeterzuur en koningswater zijn zeer agressieve zuren; voorzichtigheid is geboden.

Als onderzoekingsmateriaal gebruiken we sigarenas, bij voorkeur van ongematteeerde sigaren, aangezien in het matteringspoeder vaak magnesium (voor witte as) aanwezig is. Eventueel kan van ander verbrand plantenmateriaal uitgegaan worden, bijvoorbeeld witte bonenmeel, dat in een porseleinen schaalteje verast wordt.

A. Koolstof

- doe ongeveer 1 theelepel sigarenas in een reageerbuis en voeg 5 ml 1 N HNO_3 toe. Voeg het salpeterzuur geleidelijk toe, pas op voor te heftig bruisen.
- leidt het zich ontwikkelende gas door kalkwater ($\text{Ca}(\text{OH})_2$ -oplossing). Als er troebeling optreedt, bevat het gas CO_2 , en is de aanwezigheid van koolstof aangetoond.

B. Calcium, chloor, magnesium

- filtreer de vloeistof en verdeel het filtraat over drie reageerbuizen 1, 2 en 3.

a. Calcium

- voeg aan reageerbuis 1 een weinig 5% ammoniumoxalaatoplossing $(\text{COONH}_4)_2$ toe.
- ammoniumoxalaat geeft ook in sterk verdunde oplossing met Ca^{++} -ionen een wit neerslag van calciumoxalaat, waarmee dan de aanwezigheid van calcium is aangetoond.

b. Chloor

- voeg aan reageerbuis 2 1 ml 0,1 N AgNO_3 -oplossing toe. Indien chloor-ionen aanwezig zijn ontstaat een wit neerslag van AgCl (zilverchloride).
- Veel aqua dest. bevat zelf reeds Cl^- ionen. Voeg daarom ter controle aan een reageerbuis met 5 ml aqua dest. 1 ml 0,1 N AgNO_3 -oplossing toe.
- laat men een neerslag van AgCl in het licht staan dan wordt het grijs door ontleding (fotografie).

c. Magnesium

- voeg aan reageerbuis 3 1 ml van een 10% Na_2HPO_4 -oplossing (natriummonowaterstoffosfaat) toe.
- indien magnesium aanwezig is, zal na 1 uur vaag een troebeling van magnesiumfosfaat $(\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2)$ waarneembaar zijn. Na enige dagen heeft zich een neerslag gevormd.
(Aangezien deze reactie ook op calcium van toepassing is, moet men het resultaat vergelijken met het neerslag bij de calcium-aantoning. Het onderscheiden van calcium- en magnesiumneerslagen is in het kader van deze aantoningsreacties te bewerkelijk.)

C. IJzer, zwavel, fosfor

- doe weer een theelepel sigarenas in een reageerbuis en voeg 5 ml 1 N HCl (zoutzuur) toe. Pas weer op voor het bruisen.
- filtreer de vloeistof en verdeel het filtraat weer over drie reageerbuizen 4, 5 en 6.

a. IJzer

- voeg aan buis 4 1 ml van een 10% oplossing van kaliumhexacyanoferraat(II) toe.
- indien ijzer(III) aanwezig is treedt er een duidelijke blauwkleuring op door het ontstaan van kaliumijzer(III)hexacyanoferraat(II).

N.B. $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ = kaliumhexacyanoferraat(II) = geelbloedloogzout.

$\text{KFeFe}(\text{CN})_6$ = kaliumijzer (III)hexacyanoferraat(II) = berlijns blauw.

b. Zwavel

- voeg aan reageerbuis 5 een weinig van een 10% oplossing BaCl_2 (bariumchloride) toe.
- indien sulfaationen aanwezig zijn vormt zich een wit neerslag van BaSO_4 (bariumsulfaat).

c. Fosfor

- voeg aan reageerbuis 6 een paar druppels 1 N HNO₃ toe en vrij veel van een 10% oplossing van ammoniumheptamolybdaat (= (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O)
- verwarm zeer geleidelijk en zet de reageerbuis rustig weg.
- indien er fosfaationen aanwezig zijn, ontstaan er na ongeveer 5 minuten afkoeling gele kristallen van ingewikkelde samenstelling ((NH₄)₃PO₄·12MoO₃·6H₂O). Deze kristallen lossen in basisch milieu gemakkelijk op. Het neerslag ontstaat alleen indien de oplossing met HNO₃ zuur gemaakt is.

N.B Droge witte bonen bevatten per 100 gram:

148 mg calcium, 35 mg chloor, 159 mg magnesium, 10,3 mg ijzer, 237 mg zwavel en 463 mg fosfor.

V-9 Gebouw van het blad

Als we de bouw van een blad bestuderen, kunnen we aandacht schenken aan de celtypen waaruit de verschillende weefsels zijn opgebouwd. Het is ook mogelijk de ligging van de verschillende weefsels in bladeren van verschillende herkomst met elkaar te vergelijken.

A. De ligging van de weefsels

a. Helleborus niger

Benodigdheden:

Bladeren van Helleborus niger (kerstroos) zijn bijzonder geschikt om de verschillende celtypen te bestuderen, omdat zij uit relatief grote cellen opgebouwd zijn. Omdat door het snijden het sponsparenchym gemakkelijk stuk getrokken wordt, moet men het blad voor het maken van een dwarsdoorsnede zó tussen tempex (of vlierpit) klemmen dat de onderkant van het blad naar het mes toegekeerd is. De chloroplasten blijven het best behouden als men de coupes in plaats van in water in een 2% NaCl oplossing bestudeert.

Ook bladeren van rhododendron, liguster of ficus zijn bruikbaar. Let bij deze bladeren op het aantal cellagen waaruit de epidermis bestaat.

Uitvoering:

- maak een dwarsdoorsnede van het blad en teken de verschillende weefsels als geheel.
- geef met omtreklijnen de scheiding tussen de verschillende celtypen weer (topografische tekening).
- teken twee of drie cellen van ieder weefseltype als detail.

b. Iris germanica

Benodigdheden:

Bladeren van Iris germanica of van gladiool. Alcoholmateriaal laat zich beter snijden.

Uitvoering:

- maak een dwarsdoorsnede door het blad en maak een topografische tekening van dit bladtype.
- geef de ligging van het assimilatieweefsel aan.

c. Pinus

Benodigdheden:

Eenjarige naalden van Pinus-soorten. Alcoholmateriaal bevat geen hars meer, maar is vaak erg hard, waardoor het minder gemakkelijk te snijden, maar beter te kleuren is.

Uitvoering:

- maak een dwarsdoorsnede door een dennennaald en maak een topografische tekening.
- geef de ligging van het assimilatieweefsel aan.

d. Waterpest of mos

Benodigdheden:

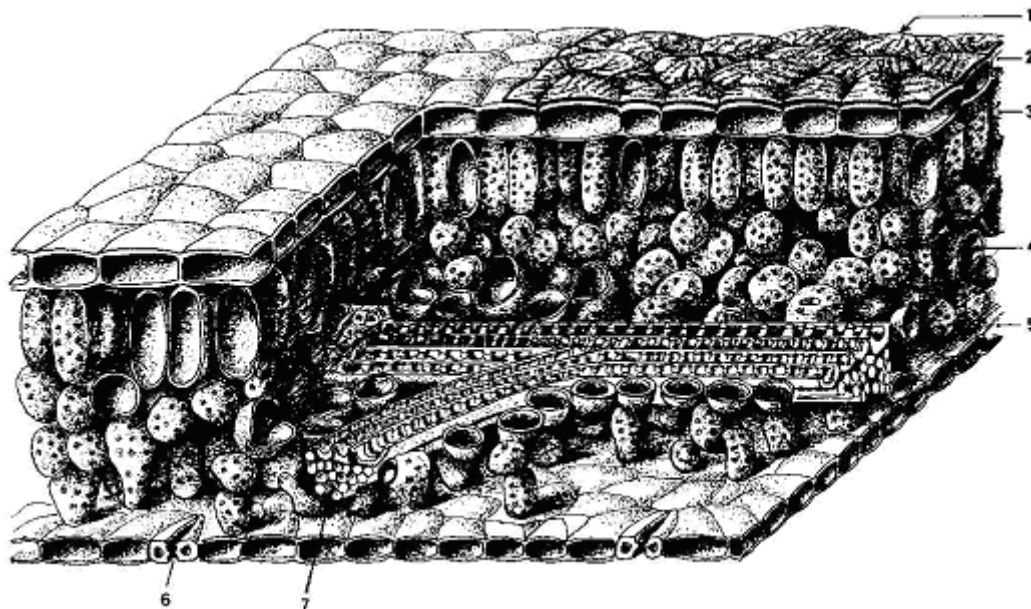
Blaadjes van waterpest of mos. Deze behoeven niet gesneden te worden.

Uitvoering:

- maak van een blaadje van waterpest of mos als geheel een preparaat. Ze zijn zo dun dat ze zonder snijden onder de microscoop bestudeerd kunnen worden.
- teken enkele cellen met de daarin aanwezige chloroplasten.
Hoe zal een dwarsdoorsnede van zo'n blad eruit zien?
- maak een topografische tekening van de dwarsdoorsnede van het blad zoals u denkt dat deze eruit zal zien.

Opdracht:

1. Vergelijk de topografische tekeningen van de verschillende bladtypen met elkaar en probeer de bouw van de verschillende bladeren te zien tegen de achtergrond van de relatieve vochtigheid van hun milieu, de noodzakelijkheid van gaswisseling, de belichtingsrichting en de lichtintensiteit. Maak een overzicht (tabel) waarin de kenmerken en milieufactoren zijn opgenomen.



Figuur 5. Ruimtelijke ligging van de weefsels in een blad.

1. cuticula. 2. bovenste epidermis, 3. palissadeparenchym. 4. sponsparenchym, 5. onderste epidermis. 6. huidmondje. 7. bladnerf (vaatbundel).

B. Zonne- en schaduwbladeren

Benodigdheden:

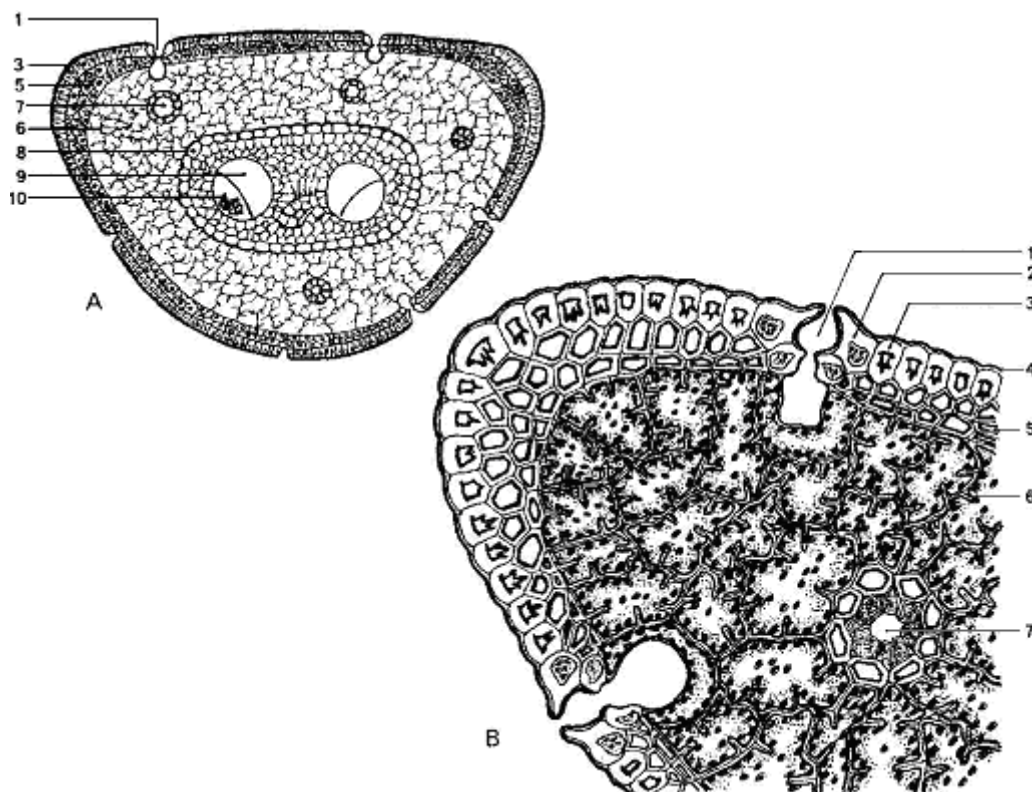
Bladeren van *Fagus sylvatica* (beuk) van de zuidkant en van de noordkant van een boom, of van de buitenkant en van de binnenkant van een beukenhaag.

Uitvoering:

- maak van beide typen bladeren dwarsdoorsneden. Dit gaat minder moeilijk indien een aantal bladstrookjes als een stapeltje tussen vlierpit of tempex geklemd wordt, zodat er per snede meerdere korte coupes vervaardigd worden.
- maak een preparaat waarin zowel een blad van de lichtkant als van de schaduwkant aanwezig is.
- maak van de twee bladtypen topografische tekeningen, waarin de bouw van de twee bladeren met elkaar vergeleken wordt.
- geef in het palissadeweefsel het aantal cellagen aan. Sommige zonnebladeren vertonen tussen het sponsparenchym en de epidermis aan de onderkant van het blad een extra palissadeparenchymlaag. Let daar op.

Opdracht:

2. Vergelijk de topografische tekeningen met elkaar en probeer de bouw van de verschillende bladeren te zien tegen de achtergrond van de relatieve vochtigheid en de lichtintensiteit.



Figuur 6. Anatomie van een blad van een den (dennennaald).

A. dwarsdoorsnede. B. detail van A.

1. verzonken huidmondje, 2. sluitcel, 3. epidermis, 4. cuticula, 5. sklerenchym (hypodermis), 6. chlorenchym, 7. harskanaal, 8. endodermis, 9. xyleem, 10. floem.

V-10 Chromatografietechnieken

A. Theoretische inleiding

De chromatografie is een methode om mengsels in hun componenten te scheiden. Deze methode berust voor een deel op adsorptiewetten, en voor een deel op de verdelingswet van Nernst en op de wet van Henry.

De verdelingswet van Nernst

Indien men een stof in een vloeistof (A) oplost en deze vloeistof daarna in contact brengt met een andere vloeistof (B) waarmee vloeistof A zich niet mengt, dan zal de opgeloste stof zich in een bepaalde verhouding verdelen over de twee vloeistoffen. Lost men hierna in een van de twee vloeistoffen meer van de oorspronkelijke stof op, dan zal deze nieuwe hoeveelheid zich weer zó over beide vloeistoffen verdelen, dat de concentratieverhouding van de in de beide vloeistoffen opgeloste hoeveelheden stof gelijk blijft. Voor de verdelingsverhouding geldt dus de wetmatigheid:

$$\frac{\text{de concentratie opgeloste stof in vloeistof A}}{\text{de concentratie opgeloste stof in vloeistof B}} = \text{constant} = \frac{\text{de verdelingscoëfficiënt}}{\text{K van een bepaalde stof.}}$$

De wet van Henry

De wet van Henry beschrijft een soortgelijk verschijnsel, waarbij echter een **vloeistof A** en een **gas B** met elkaar in evenwicht zijn. De verdelingsverhouding van een bepaalde stof heeft dan betrekking op de verhouding tussen de in het gas aanwezige hoeveelheid en de in de vloeistof opgeloste hoeveelheid. Ook deze verhouding is constant.

De adsorptiewetten

De adsorptiewetten waarmee men in de chromatografie te maken heeft, hebben betrekking op aan de ene kant de in een vloeistof of in een gas aanwezige hoeveelheid van een stof en aan de andere kant de aan het oppervlak van een vaste stof of aan het oppervlak van een vloeistof geadsorbeerde hoeveelheid van die stof. De relatie tussen de geadsorbeerde hoeveelheid en de opgeloste of gasvormige hoeveelheid van een stof is niet zo eenvoudig als de in de wetten van Nernst en Henry beschreven relaties. Hierdoor verloopt de op de wetten van Nernst en Henry gebaseerde verdelingschromatografie enigszins anders dan de op adsorptiewetten gebaseerde adsorptiechromatografie. Beide typen chromatografie hebben hun specifieke voor- en nadelen.

De tegenstroommethode van Craig

De tegenstroommethode van Craig is een toepassing van de verdelingswet van Nernst en kan als basis gezien worden van de chromatografische methoden. Het principe blijkt uit het volgende voorbeeld:

In zeven buizen (buis I tot en met VII in figuur 7, 8 en 9) brengen we gelijke hoeveelheden van een vloeistof met een relatief hoge soortelijke massa: de zogenaamde onderfase (bijvoorbeeld 10 ml water).

In de onderfase in buis I lossen we 100 milligram van een bepaalde stof op.

We brengen nu in buis I boven op de oplossing een zelfde volume van een andere

vloeistof (de zogenaamde bovenfase) die met de eerste niet mengbaar is (bijvoorbeeld 10 ml benzine). Buis I wordt zolang geschud tot de opgeloste stof zich over de beide fasen heeft verdeeld. Afhankelijk van de verdelingscoëfficiënt K bevindt zich dan een deel van de opgeloste stof in de bovenfase en de rest in de onderfase. Indien de verdelingscoëfficiënt $K=1$, dan zal zich 50 mg in de bovenfase en 50 mg in de onderfase bevinden. Is echter de verdelingscoëfficiënt $K=1/3$, dan bevindt zich 25 mg in de bovenfase en 75 mg in de onderfase. Bij een verdelingscoëfficiënt $K=3$ is het omgekeerde het geval en bevindt zich dus 75 mg in de bovenfase en 25 mg in de onderfase. Voor deze drie verdelingscoëfficiënten ($K=1/3$, $K'=1$ en $K''=3$) is in bijgevoegde overzichten (figuur 7, 8 en 9) het verdere verloop van de toepassing van de tegenstroommethode van Craig berekend.

De bovenfase van buis I wordt nu overgebracht naar buis II, terwijl buis I van verse bovenfase voorzien wordt. De buizen I en II worden geschud tot evenwicht, bovenfase II gaat naar III, bovenfase I gaat naar II en buis I krijgt weer verse bovenfase.

Weer schudden tot evenwicht bereikt is, bovenfase III naar IV, II naar III, I naar II, I verse bovenfase. Weer schudden, enzovoort, enzovoort, tot de bovenfase de laatste buis (in het voorbeeld dus buis VII) bereikt heeft.

Indien men van de drie stoffen met verdelingscoëfficiënten van $1/3$, 1 en 3 een mengsel maakt en men voegt dit mengsel aan de eerste buis toe, en laat dan de bovenfase na schudden van buis tot buis opschuiven, dan blijkt dat bij gebruik van 7 buizen dat een begin van scheiding optreedt. Buis I bevat een heel andere verdeling van de drie stoffen dan buis VII (zie diagram figuur 10).

Craig werkte afhankelijk van het te scheiden mengsel met honderden of duizenden buizen, die automatisch geschud werden en waarin de bovenfasen automatisch van buis naar buis overgebracht werden (zie figuur 11). Door het aantal buizen te vergroten kan men de drie stoffen bijna volledig van elkaar scheiden (zie figuur 12).

Chromatografie

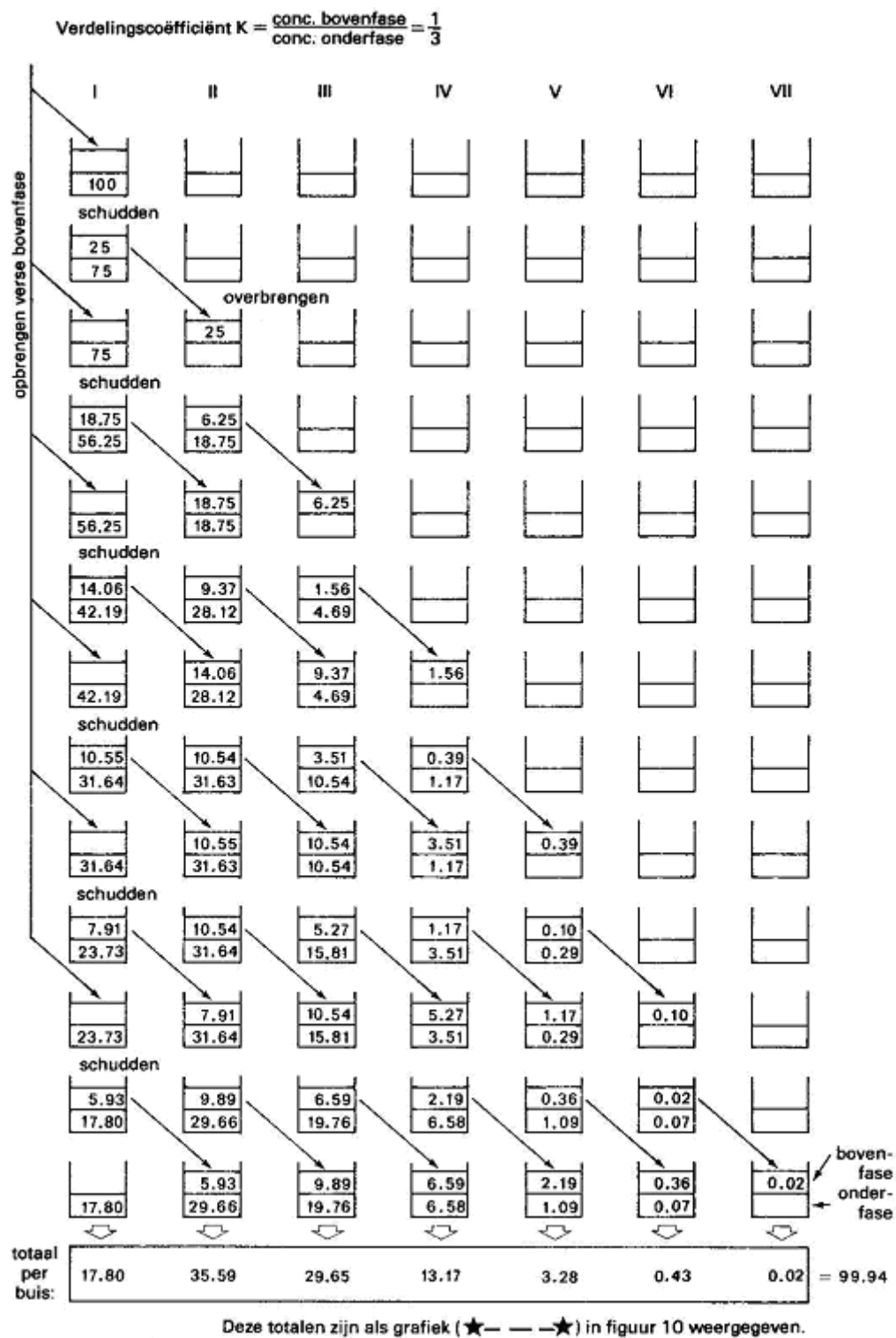
In de praktijk van de meeste chromatografietechnieken maakt men gebruik van een **onderfase** (meestal water) welke gedragen wordt door een hygroscopische vaste stof, zoals silicaatkorrels (dunnelaagchromatografie), cellulose (papierchromatografie) of zetmeelkorrels (kolomchromatografie). Als **bovenfase** gebruikt men meestal een niet met water mengbare vloeistof. Het overbrengen van de bovenfase en het schudden uit de methode van Craig is overbodig doordat de bovenfase langs de vastzittende onderfase geleid wordt door bijvoorbeeld capillaire krachten (opstijgende papierchromatografie en dunnelaag-chromatografie) of de zwaartekracht (dalende papierchromatografie en kolom-chromatografie).

Men vervangt hierom de term bovenfase door **bewegende fase** of loopvloeistof en de term onderfase door **stationaire fase**. Alle belangrijke principes waarop de Craig tegenstroommethode berustte, zijn in de huidige chromatografietechnieken dus terug te vinden.

Factoren die op het concrete verloop van de scheiding van invloed kunnen zijn, zijn onder meer:

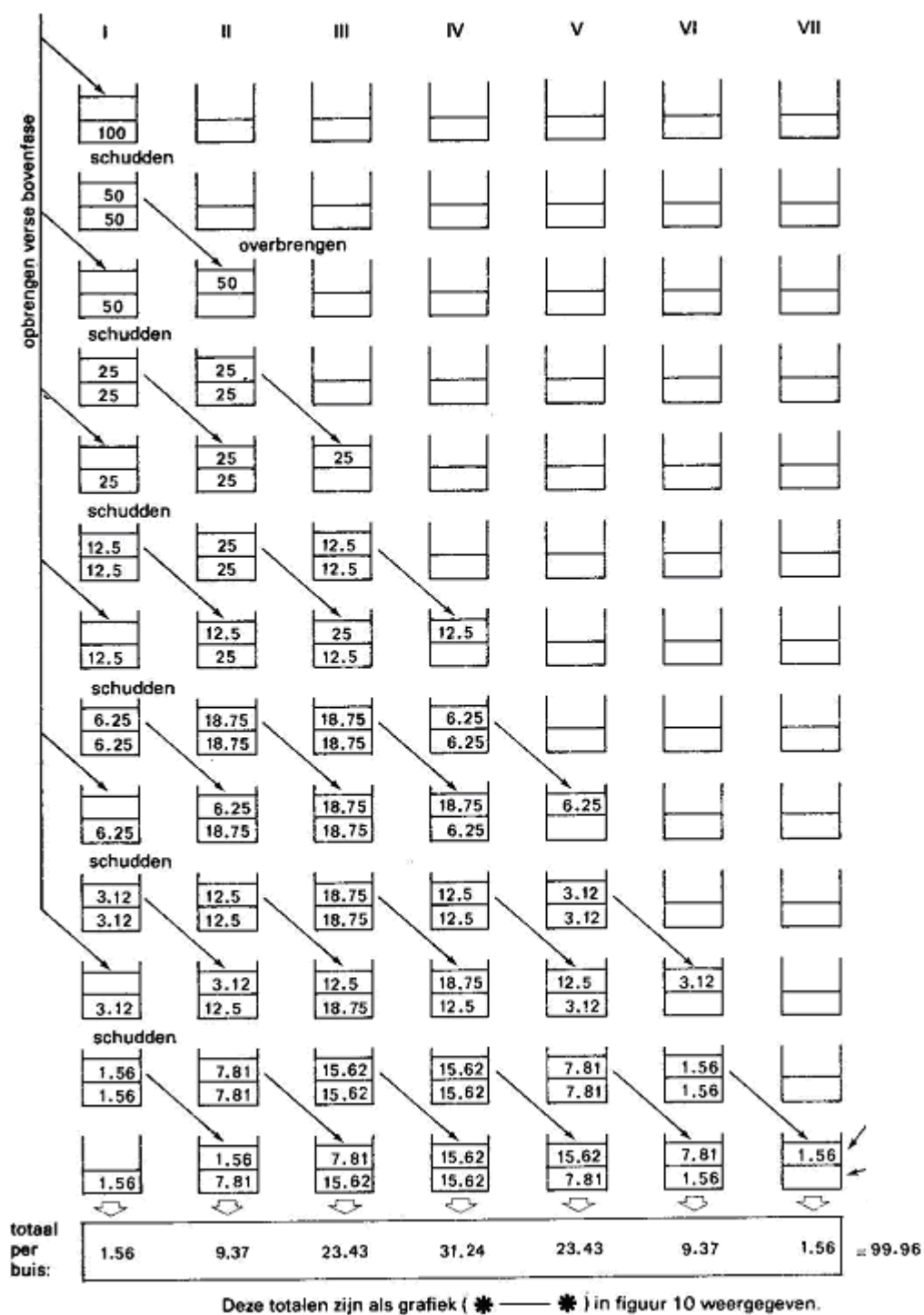
- de verhouding tussen de volumina stationaire en bewegende fase,
- de temperatuur,
- de snelheid waarmee de bewegende fase zich verplaatst,
- de mate waarin adsorptie en Nernstverdeling tegelijk plaats vinden,
- de samenstelling van de bewegende fase en van de stationaire fase,
- de lading van opgeloste moleculen,
- de grootte van de opgeloste moleculen.

Omdat bij vloeistof /vloeistof verdelingschromatografie de stationaire fase meestal waterachtig (polair) is, gebruikt men als loopvloeistoffen meestal meer of minder a-polair vloeistoffen. De volgende lijst van loopvloeistoffen is geordend op grond van hun polariteit. Water is het meest polair en petroleumether en benzine zijn het minst polair.



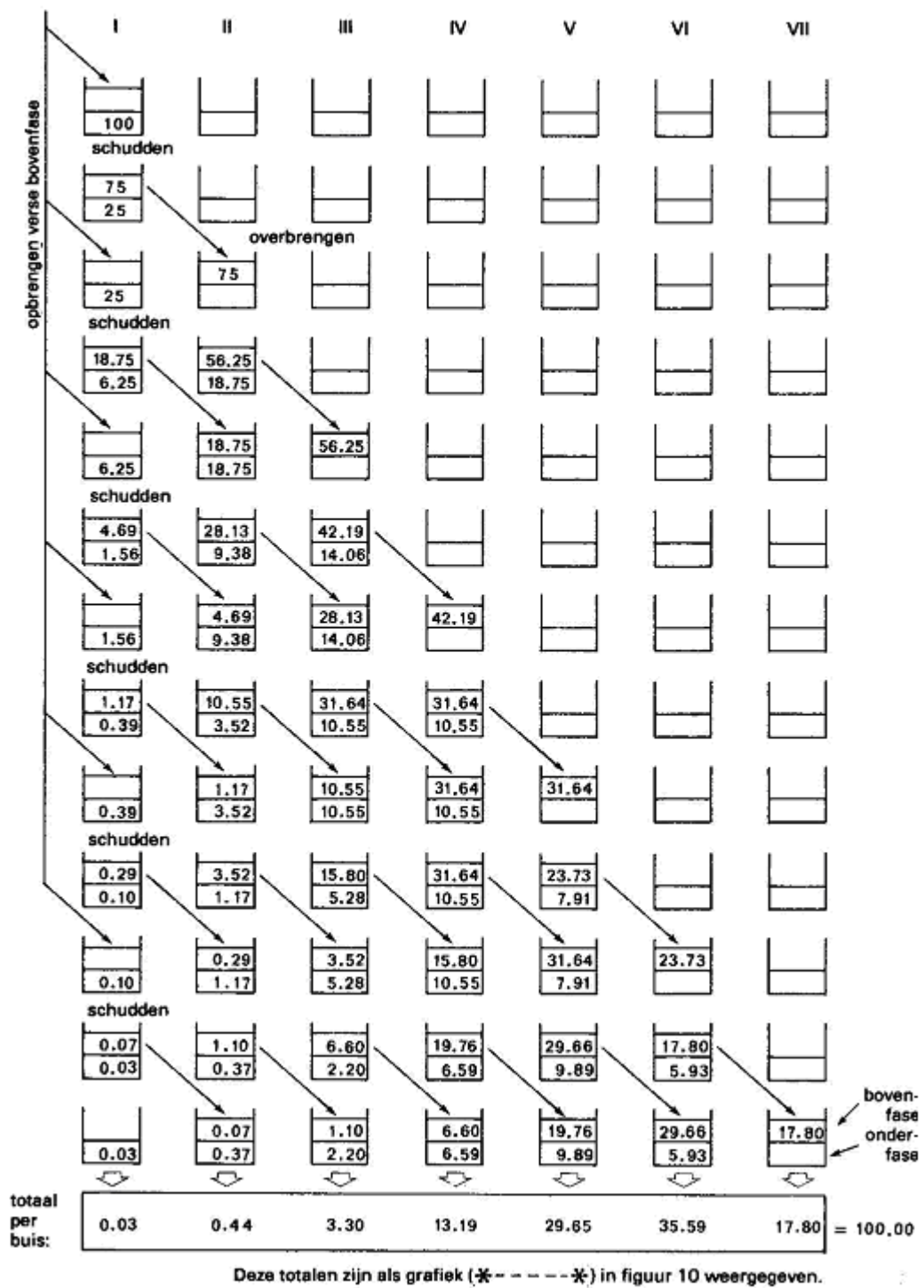
Figuur 7. Verdeling van een opgeloste stof over een onder- en een bovenfase bij een verdelingscoëfficiënt $K = \frac{1}{3}$.

$$\text{Verdelingscoëfficiënt } K = \frac{\text{conc. bovenfase}}{\text{conc. onderfase}} = 1$$

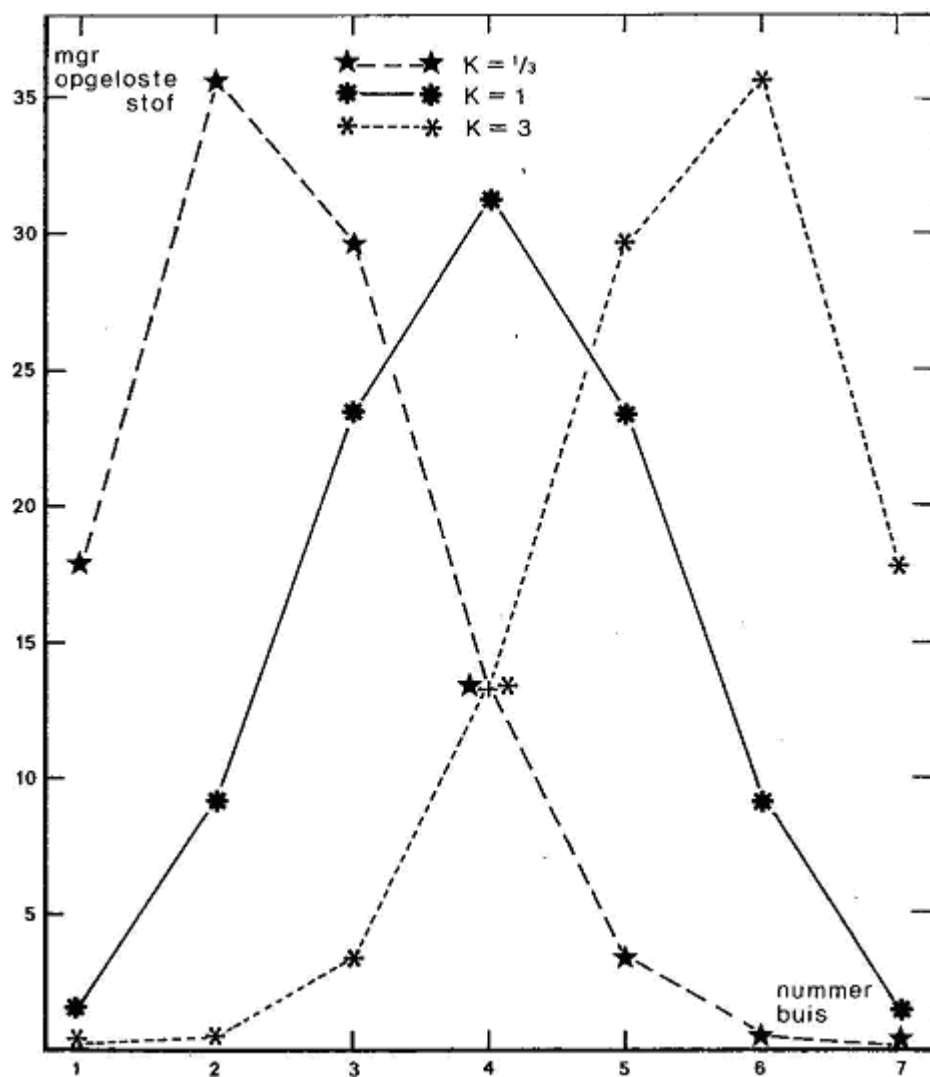


Figuur 8. Verdeling van een opgeloste stof over een onder- en een bovenfase bij een verdelingscoëfficiënt $K = 1$.

$$\text{Verdelingscoëfficiënt } K = \frac{\text{conc. bovenfase}}{\text{conc. onderfase}} = 3$$



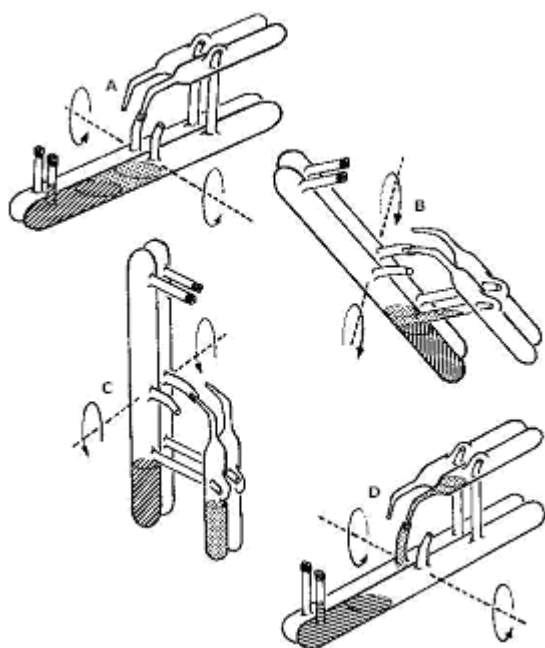
Figuur 9. Verdeling van een opgeloste stof over een onder- en een bovenfase bij een verdelingscoëfficiënt $K = 3$.



Figuur 10. Diagram van de verdeling van drie opgeloste stoffen met respectievelijk verdelingscoëfficiënten $K = 1/3$, $K = 1$ en $K = 3$ over een onder- en een bovenfase bij gebruik van zeven buizen.

- water
- methanol
- ethanol
- aceton
- n-propanol
- n-butanol
- ethylacetaat
- chloroform
- diethylether
- trichloroethyleen
- toluen
- benzeen
- tetrachloorkoolstof
- cyclohexaan
- n-hexaan
- petroleumether
- wasbenzine

Indien men niet weet welke vloeistof voor een bepaalde scheiding het best bruikbaar is, begint men met een vloeistof aan de apolaire kant van de reeks. Gaan de componenten te snel mee, dan moet men een meer polaire loopvloeistof proberen. Er wordt veel gebruik gemaakt van loopvloeistofmengsels. Voor schoolgebruik blijken soms zeepsop met keukenzout, spiritus en dergelijke bruikbare vervangingen van de vaak dure in laboratoria gebruikte loopvloeistoffen. Enig experimenteren kan veel geld besparen.



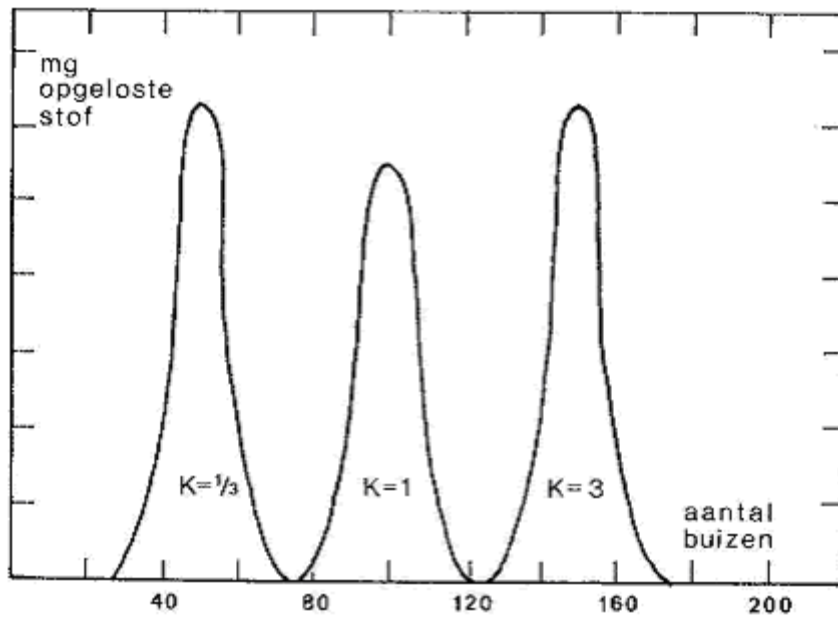
Figuur 11. Craig-cellen. Twee cellen van een apparaat voor het scheiden van een mengsel van opgeloste stoffen volgens het tegenstroomprincipe.

A. Beweging waarbij de eerste buis gevuld wordt met bovenfase vanuit het (niet getekende) voorgaande zijbuisje.

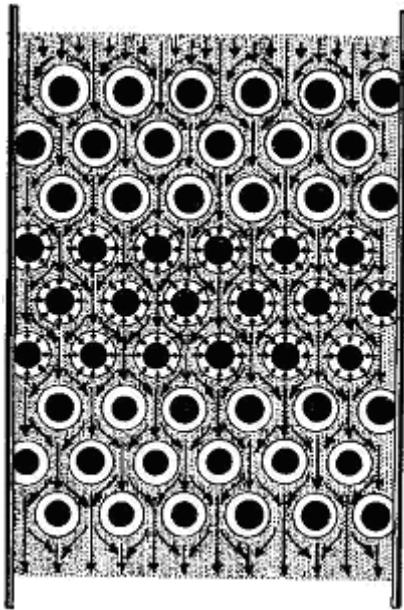
B. Beweging waarbij de bovenfase in het zijbuisje stroomt.

C en D. Beweging waarbij de bovenfase vanuit het eerste zijbuisje naar de tweede buis stroomt. In de tweede buis is steeds de daar aanwezige onderfase niet aangegeven.

Tussen stand A en stand B wordt geschud.



Figuur 12. Tegenstroommethode van Craig.
Verdeling over de buizen van drie opgeloste stoffen, met respectievelijk verdelingscoëfficiënten $K = \frac{1}{3}$, $K = 1$ en $K = 3$ bij gebruik van 200 buizen.
De drie stoffen die aanvankelijk in het mengsel aanwezig waren zijn bijna volledig van elkaar gescheiden.



Figuur 13. Chromatografie. De onderfase (stationaire fase) is meestal een vloeistof (witte cirkels) die gedragen wordt door een vaste stof (zwarte cirkels). De bovenfase (bewegende fase of loopvloeistof), waarin de te scheiden stoffen zijn opgelost, loopt langs de stationaire fase (pijlen). Daarbij treedt een verdeling van de opgeloste stoffen op tussen de stationaire fase en de loopvloeistof.

B. Kolomchromatografie

a. Het vervaardigen van een aardappelmeelkolom

Benodigdheden:

- een glazen buis met een lengte van ongeveer 30 cm en een diameter van ongeveer 3 cm.
- een daarin passende, enkel doorboorde stop met glazen buisje. Het glazen buisje mag alleen uitsteken aan die zijde van de stop die niet in de glazen buis komt.
- een houten stamper met een lengte van ongeveer 40 cm en 2,5 cm breed.
- een statief met klem.
- een waterstraalluchtpomp met afzuigerlenmeyer.
- een trechter met wijde mond (eventueel vervaardigen van glad papier).
- aardappelmeel (levensmiddelenhandel).
- watten.
- eventueel wasbenzine.

Uitvoering:

- bevestig de 'doorboorde stop met het glazen buisje in de glazen buis en klem het geheel met de stop naar beneden in de statiefklem.
- sluit de afzuigerlenmeyer van de waterstraal luchtpomp aan het glazen buisje aan en laat de pomp zachtjes zuigen.
- druk met de houten stamper een laagje watten van ongeveer 1 cm hoogte onder in de glazen buis.
- laat met behulp van de trechter losjes aardappelmeel in de glazen buis vallen tot een hoogte van 6 cm en druk dit meel met de houten stamper zachtjes aan.
- vul de glazen buis telkens ongeveer 3 cm hoger en druk de porties aardappelmeel gelijkmatig aan, tot de buis tot ongeveer 5 cm van de bovenrand gevuld is.
- maak de bovenkant van het aardappelmeel glad en druk het aan.

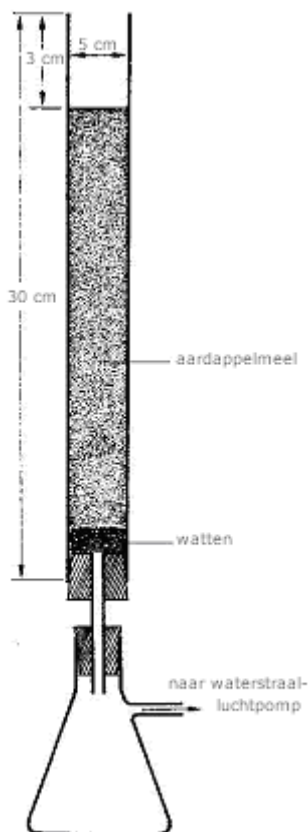
N.B

1. Het gelijkmatig vullen van de kolom is van groot belang omdat hiervan het succes van de scheiding afhankelijk is. Door gebruik te maken van een waterstraalluchtpomp wordt voorkomen dat er onregelmatige met lucht gevulde ruimten in de kolom ontstaan.
2. Om een gelijkmatige verdeling van het zetmeel in de kolom te bewerkstelligen kan men ook tevoren aardappelmeel met wasbenzine mengen tot een niet te dikke pap en er de buis mee vullen. Dan de aan beide zijden gesloten buis in horizontale stand schudden om het zetmeel in de pap zo homogeen mogelijk te verdelen en vervolgens de kolom rechtop zetten en het zetmeel laten bezinken.
3. Het aardappelmeel kan eenvoudig uit de buis verwijderd worden. Bevestig aan een slang een glazen buisje en spuit met behulp van water het aardappelmeel uit de buis.

b. Het bereiden van een bladgroenextract

Benodigdheden:

- mortier met stamper
- drie reageerbuizen, waarvan een met kurk
- pasteurse pipet of injectiespuit
- 4 ml aceton (drogist)
- 4 ml water
- 3 ml petroleumether (drogist)
- 1 gram vers groen gras, brandnetel, of andere plantenbladeren
- eventueel metalen koffiyeefje of knoflookpersje



Figuur 14. Kolomchromatografie. Aardappelmeelkolom met afzuigerlenmeyer.

Uitvoering:

N.B Bladgroen extract is lichtgevoelig! Verricht daarom de extractie en naderhand de scheiding in gedempt licht of in het donker.

- breng 1 gram plantenbladeren in een mortier en wrijf de bladeren met de stamper fijn. Breng de brij over in een reageerbuis.
- pipetteer 4 ml aceton in de mortier en spoel daarmee snel de bladresten uit de mortier in de reageerbuis. Sluit de buis. Schud goed, zodat de aceton goed met de brij in aanraking komt. Laat de buis 10 minuten in het donker staan.
- open de buis, voeg 4 ml water toe, sluit hem en schud goed.
- open de buis weer, voeg 3 ml petroleumether toe, sluit hem weer en schud, zodat het aceton/watermengsel goed met de petroleumether in aanraking komt. De bladkleurstoffen gaan dan in de petroleumether over.
- laat de buis in gedempt licht staan tot de donkergroen gekleurde petroleumether in een laag boven drijft.
- breng de groene petroleumether-laag met behulp van een pasteurse pipet of injectiespuit over in een schone reageerbuis. De bladbrij en het aceton/watermengsel kunnen weggegooid worden.

Indien bij het opzuigen het fijngewreven blad moeilijkheden veroorzaakt kan vóór het toevoegen van de 3 ml petroleumether het aceton/watermengsel in een schone buis overgebracht worden. Een metalen koffiezaefje of een knoflookpersje kunnen goede diensten bewijzen bij het scheiden van het aceton/watermengsel van de brij.

c. Het scheiden van bladpigmenten met behulp van een aardappelmeelkolom

Benodigdheden:

- een aardappelmeelkolom.
 - bladgroenextract (ongeveer 4 ml).
 - 1 liter loopvloeistof (= wasbenzine).
 - ± 100 ml ontwikkelvloeistof (benzine/petroleumether/aceton in de volumeverhouding 20:5:4).
 - een trechter.
 - een waterstraalluchtpomp met afzuigerlenmeyer.
 - houten stamper ± 40 cm lang $\pm 2,5$ cm diameter.
- N.B Wasbenzine, petroleumether en aceton kunnen van de drogist betrokken worden.

Uitvoering:

Zorg dat de benzine, het bladgroenextract en de ontwikkelvloeistof onder handbereik staan, omdat ze achtereenvolgens toegevoegd moeten worden, **zonder dat er tussentijds lucht in de kolom kan dringen.**

- sluit de kolom via de afzuigerlenmeyer aan op de waterstraalluchtpomp. De scheiding kan ook zonder waterstraalluchtpomp uitgevoerd worden, ze kost dan echter meer tijd.
- giet wasbenzine boven op het aardappelmeel en laat de luchtpomp zo sterk zuigen dat het vloeistoffront ongeveer 15 cm per minuut aflegt. Indien de hiertoe benodigde onderdruk zo groot is dat de benzine in de afzuigerlenmeyer gaat koken, is de kolom te vast gevuld. Zorg dat er steeds vloeistof boven het aardappelmeel blijft staan.
- laat de laag wasbenzine boven het zetmeel verminderen tot het zetmeel nog net niet droog staat. Voeg nu het bladgroenextract toe: giet een laagje van 0,5 cm hoogte op het zetmeel. Wanneer het zetmeel weer bijna droog staat moet opnieuw wasbenzine worden toegevoegd. Probeer het zetmeel zo weinig mogelijk op te wervelen. Blijf wasbenzine toevoegen, zodat de kolom gedurende de scheiding niet droog wordt.

Het caroteen wordt het snelst met de benzine meegenomen. Zet de waterstraalluchtpomp af vlak voordat het caroteen de onderkant van de zetmeelkolom bereikt heeft. Boven het gele caroteengebied zijn botergele banden xanthofyllen zichtbaar, terwijl boven in de kolom het blauwgroene chlorofyl-a en het geelgroene chlorofyl-b te onderscheiden zijn. Eventueel aanwezige grijsbruine banden worden veroorzaakt door phaeofytinen.

Opdracht:

Geef alle banden in figuur 15 aan.

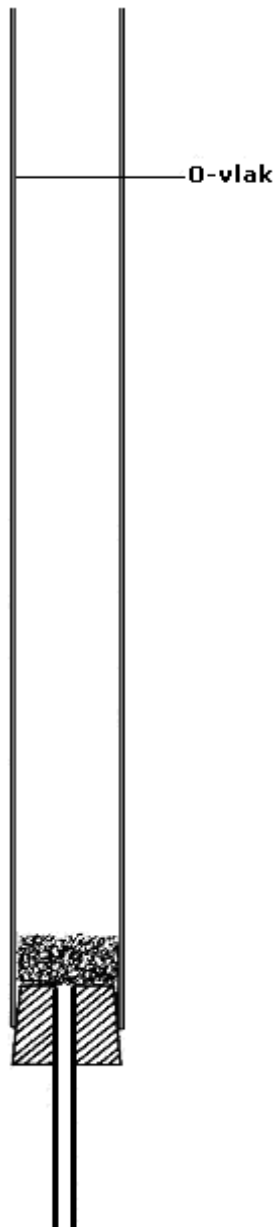
Om de scheiding van de chlorofyllen te verbeteren kan men de kolom verder ontwikkelen met de ontwikkelvloeistof.

- zet de waterstraalluchtpomp weer aan en laat de wasbenzine zover uit de kolom wegzuigen tot het zetmeeloppervlak bijna droog staat
- giet onmiddellijk de ontwikkelvloeistof (wasbenzine/petroleumether/aceton-mengsel) op de kolom en vul telkens bij.

Door deze ontwikkelvloeistof wordt de binding tussen de bladpigmenten en de zetmeelkolom verminderd, zodat de gekleurde banden zover uit elkaar getrokken kunnen worden dat er ongekleurde tussenruimten ontstaan. Het caroteen komt dan in de afzuigkolf terecht.

- als de chlorofyllen voldoende gescheiden zijn voegt men geen ontwikkelvloeistof meer toe en zuigt de kolom bijna droog.
- met behulp van de houten stamper kan de zetmeelkolom uit de glazen buis gedrukt worden. De gekleurde gedeelten kunnen met een mes van elkaar gescheiden worden. Met peroxide-vrije ether kunnen de pigmenten uit het zetmeel gewassen worden.

N.B Zet de kolom niet in fel licht omdat een aantal pigmenten in het licht verbleken.



Figuur 15. Kolomchromatografie. Aardappelmeelkolom. Breng de ligging, afmetingen en kleuren van de verschillende banden aan.

C. Papierchromatografie

a. Het vervaardigen van een capillair

- neem een glazen buis met een diameter van ± 7 mm.
- houd deze al draaiend zo lang in de punt van de vlam van een bunsenbrander tot het glas gaat smelten.
- haal het glas nu uit de vlam en trek aan beide zijden, maar blijf draaien. Er ontstaat nu een heel dun glazen buisje. De diameter van dit buisje is afhankelijk van de temperatuur van het gloeiende glas en van de uitgeoefende trekkracht.
- snijd het glazen buisje in stukken van ± 10 cm lengte.
- houd het verkregen capillair met een uiteinde even boven de vlam tot het iets buigt.
- het snijvlak aan het gebogen uiteinde van het capillair wordt nu minder scherp gemaakt door de voorkant een paar maal even in de vlam te houden.
Zorg ervoor dat het capillair hierbij niet dicht smelt.
- het capillair is nu gereed.

Er zijn speciale capillairen in de handel. Deze hebben een inhoud van 0,1 microliter.

b. Het vervaardigen van een chromatografiebak

Men kan iedere strook chromatografiepapier in een afzonderlijke cilinder hangen. Men loopt dan het risico dat de strook tegen de zijkant komt, waardoor het gelijkmatig stijgen van de loopvloeistof verstoord wordt. Voor gebruik tijdens een leerlingen-practicum voldoet de volgende bak goed:

Op een aquariumbak van glas (hoogte 22 cm of meer; bijvoorbeeld 22x18x25) wordt een deksel van spaanplaat gemaakt, die juist de bovenzijde van de bak geheel bedekt. Hierin worden zoveel rijen gaten van ± 45 mm $\varnothing$ gemaakt als mogelijk is.

Bij de hierboven als voorbeeld genoemde bak 8 gaten. In deze gaten moeten grote rubber stoppen of kurken passen. De gaten moeten zo groot zijn dat de 3 cm brede stroken chromatografiepapier er doorheen kunnen. Aan de zijkant van het deksel worden latjes aangebracht om schuiven van het deksel te verhinderen. Door de rubberstoppen of kurken boort men met behulp van een kurkboor, waaraan wat vet of zeep is gedaan, een gat. Door dit gat moet een metalen of glazen buisje of staafje (lengte ongeveer 8 cm) op en neer geschoven kunnen worden. Aan het eind van het staafje of buisje onder de stop wordt een haakje gebogen om het chromatografiepapier aan te hangen.

PAS OP: Indien **glazen** staafjes of buisjes gebruikt worden, zorg dan dat deze gemakkelijk kunnen schuiven, omdat de leerlingen anders het risico lopen dat ze het glas breken waarbij de kans op ernstige verwonding erg groot is. Het nadeel van metaal is dat het oxideert en dan vlekken op het chromatografiepapier veroorzaakt. Door gebruik van bijvoorbeeld verchromde breipennen wordt dit nadeel weggenomen.

Een andere mogelijkheid is een op de bak passend houten raam te maken waarin op afstanden van ongeveer 5 cm horizontaal glazen buisjes of staafjes bevestigd worden. Door een scherpe vouw in de stroken chromatografiepapier te maken kunnen ze over de buisjes of staafjes gehangen worden. Een nadeel is dat de stroken dan moeilijk op verschillende hoogten gehangen kunnen worden. Op het houten raam komt een goed afsluitende deksel. De bak mag niet in fel licht staan.

c. Het scheiden van blad pigmenten met behulp van papierchromatografie

Benodigheden:

- een strook chromatografiepapier (bijvoorbeeld Whatman nr. 3) van 19x3 cm.
- chromatografiebak
- bladgroenextract (zie recept bij kolomchromatografie)
- capillair
- loopvloeistof: wasbenzine/petroleumether/acetone (20:5:4)

Uitvoering:

- maak aan de bovenzijde van de strook chromatografiepapier een gat met een perforator en zet op twee cm van de onderzijde een dunne potloodstreep. Let op de juiste looprichting. Deze is op de vellen aangegeven. Raak de strook alleen aan de randen aan.
- leg de strook chromatografiepapier zodanig op een liniaal, potlood of iets dergelijks, dat bij het opbrengen van het extract de onderzijde van de opbrengplaats (= potloodstreep) niet met enig voorwerp in aanraking komt.
- doop het capillair in het bladextract en wacht tot het capillair geen vloeistof meer opzuigt.
- breng nu het capillair met de omgebogen punt op het midden van de potloodstreep tot wat vloeistof uitstroomt en licht het capillair dan onmiddellijk van het papier. Laat het vlekje drogen en breng dan opnieuw wat van het extract op dezelfde plaats. Herhaal dit ongeveer 10 maal, maar zorg ervoor dat de vlek niet groter wordt dan 5 à 6 mm. Tussendoor goed laten drogen.
N.B. Zorg dat er geen fel licht op het extract of op de startvlek kan vallen, omdat sommige bladkleurstoffen gemakkelijk verbleken.
- hang de strook nu aan het glazen haakje in een van de rubber stoppen of kurken van de chromatografiebak, trek het glazen staafje zover mogelijk in de stop of kurk omhoog. Breng het geheel voorzichtig in een gat in het deksel van de chromatografiebak. Zorg dat het papier de vloeistof nog niet raakt. Laat het papier zo 15 tot 30 minuten hangen, zodat zich een evenwicht kan instellen tussen de damp in de bak en het aan het cellulose van het papier geadsorbeerde water.
- druk na deze tijd het glazen staafje zover door de rubber stop of kurk naar beneden dat de strook chromatografiepapier ongeveer 8 mm in de loopvloeistof terecht komt. De looptijd is ongeveer ½ uur.

PAS OP DAT DE GLAZEN STAAF NIET BREEKT, DE SCHERPE PUNT KAN ZEER GEVAARLIJKE VERWONDINGEN VEROORZAKEN!

- verwijder het chromatogram uit de chromatografiebak als het vloeistoffront nog ongeveer 2 cm van de bovenkant van het papier verwijderd is. Geef met een potlood de plaats van het vloeistoffront aan. Laat het chromatogram drogen. Voorkom te felle verlichting.

Opdrachten:

1. Teken met potlood de omtrek van de verschillende vlekken op het papier. Kijk goed; er kan een vlek tegen het vloeistoffront aan gezeten hebben.
2. Bereken de R_f-waarden van de verschillende pigmenten door toepassing van de volgende formule:
3. R_f-waarde =
$$\frac{\text{afstand startlijn tot midden pigmentvlek}}{\text{afstand startlijn tot front van de loopvloeistof}}$$
4. Vergelijk de gevonden R_f-waarden met de R_f-waarden die door anderen zijn bepaald.
5. Laat fel licht op het chromatogram schijnen. Welke pigmenten verbleken het eerst?

Opmerking:

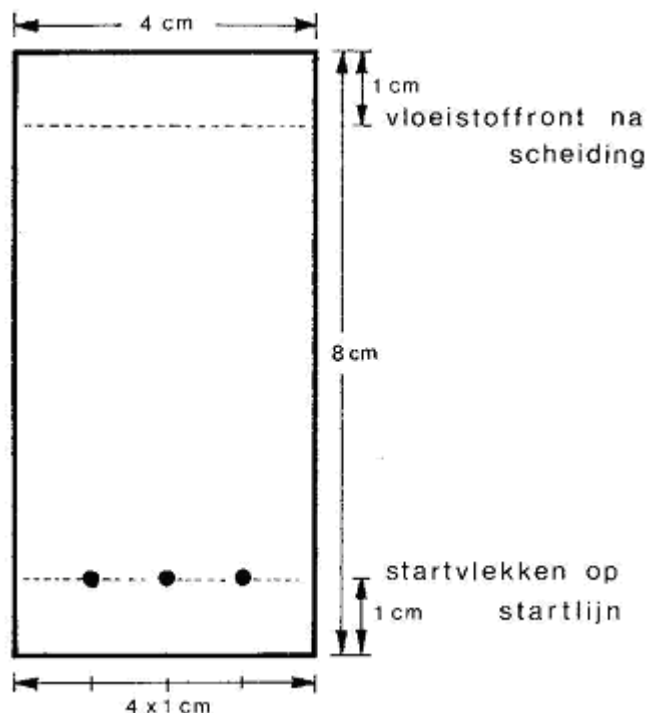
Bij deze loopvloeistof en met dit papier is de volgorde van de pigmenten van boven naar beneden: caroteen, xantofyl, chlorofyl-a, chlorofyl-b.

D. Dunnelaagchromatografie**a. Het scheiden van bladpigmenten met behulp van dunne-laag-chromatografie****Benodigheden:**

- een silicagelplaatje bijvoorbeeld van Macherey-Nagel: Polygram SILG/UV 254.
- een chromatografiebakje, bijvoorbeeld een jampot met schroefdeksel.
- loopvloeistof: diethylether/aceton/petroleumether in de volumeverhouding 1 : 1 : 2, (Diethylether = 'gewone' ether: drogist). In plaats van petroleumether kan ook wasbenzine genomen worden.
- een glascapillair.
- een elektrische broedstoof of droogstoof of oven (100–120 °C).
- bladgroenextract van gras, brandnetel en/of andere planten.

Uitvoering:

- activeer het silicagelplaatje door het gedurende 30 minuten tot ongeveer 110 °C te verhitten en het daarna te laten afkoelen. Bij het activeren verdampt het aan het silicagel geadsorbeerde water.
- trek met een potlood een dun lijntje op 1 cm van 'n korte kant van het silicagelplaatje.
- breng met behulp van een capillair drie vlekken van het bladgroenextract van een of meer plantensoorten op het silicagelplaatje aan, zoals in figuur 16 is aangegeven.



Figuur 16. Dunnelaagchromatografie. Silicagelplaatje.

- Zorg dat het silicagellaagje niet beschadigd wordt, omdat anders een onregelmatige scheiding ontstaat. De diameter van de vlekken mag niet groter zijn dan 3 mm. Laat de vlekken gedurende ongeveer 10 minuten drogen.
- giet zoveel loopvloeistof in het chromatografiebakje tot het vloeistofniveau ongeveer 5 mm hoog staat. Indien het silicagelplaatje niet meteen in het chromatografiebakje wordt geplaatst sluit men het bakje af, zodat de loopvloeistof niet verdampt.
- open het chromatografiebakje en plaats het silicagelplaatje met de startvlekken naar onderen schuin tegen de wand. Zorg dat de loopvloeistofspiegel de startvlekken niet raakt. Sluit het chromatografiebakje zonder de vloeistof te laten schommelen.

Door capillaire werking stijgt de loopvloeistof in het silicagellaagje op en veroorzaakt de scheiding van de bladpigmenten. Men noemt dit het *ontwikkelen* van het chromatogram.

- laat het vloeistoffront niet hoger dan ongeveer 1 cm van de bovenkant van het silicagelplaatje opstijgen. Indien het vloeistoffront deze hoogte bereikt heeft, wordt het plaatje uit het chromatografiebakje verwijderd.
- geef met een potloodlijntje de plaats van het vloeistoffront aan en laat het plaatje aan de lucht drogen, bij voorkeur in het donker!

Opdrachten:

1. Teken de omtrek van de verschillende vlekken met potlood op het plaatje.
N.B. Laat geen fel licht op het chromatogram schijnen omdat een aantal bladpigmenten snel verbleken.
2. Bereken van de verschillende pigmenten de Rf-waarden volgens de volgende formule:

$$Rf\text{-waarde} = \frac{\text{afstand startlijn tot midden pigmentvlek}}{\text{afstand startlijn tot front van de loopvloeistof}}$$
 De Rf-waarden worden tot twee decimalen achter de komma uitgerekend.
 Het zijn getallen kleiner dan 1.
3. Vergelijk de door u gevonden Rf-waarden met de Rf-waarden die door anderen zijn bepaald.
4. Laat fel licht op het chromatogram schijnen. Welke pigmenten verbleken meteen?

Opmerking:

Bij deze loopvloeistof en met een silicagelplaatje is de volgorde van bladpigmenten van hoge Rf-waarde naar lage Rf-waarde:

carotenen (geel), phaeofytinen (bruin-grijs), chlorofyllen (a = blauwgroen, b = geelgroen) en xanthofyllen (geel).

Vooraf in de herfst zijn phaeofytinen te verwachten, daar het afbraakproducten van chlorofyl zijn.

V-11 Absorptiespectrum en fluorescentie van bladkleurstoffen

A. Theoretische inleiding

Licht is een vorm van energie en wel elektromagnetische energie. Iedere soort licht is gekarakteriseerd door een bepaalde golflengte en energie-inhoud. Het voor ons zichtbare licht omvat een golflengtegebied van 400 nm tot 700 nm.

In vele gevallen gedraagt het licht zich als een golf (buiging, breking en verstrooiing van licht) in andere gevallen gedraagt het licht zich als een deeltje (elektrische stroom in een fotocel). Men neemt tegenwoordig aan dat licht uit golfdeeltjes bestaat, de zogenaamde fotonen. Einstein ontdekte dat deze *fotonen* energie-eenheden waren en noemde ze *lichtquanten*. De energie-inhoud van een lichtquant is bij een bepaalde frequentie (kleur) van het licht constant. Hoe hoger de *frequentie* (en dus hoe kleiner de golflengte) hoe groter de energie-inhoud van de lichtquanten of fotonen. De frequentie bepaalt de kleur van het licht bijvoorbeeld:

golflengte 395 nm kleur: violet

golflengte 590 nm kleur: geel

golflengte 650 nm kleur: rood

Stoffen, dat wil zeggen de moleculen van stoffen, kunnen licht en de daarbij behorende energie absorberen. Zo absorbeert water in geringe mate licht van alle golflengten en is daardoor kleurloos. De mate waarin een stof licht absorbeert hangt af van de bouw van het atoom en/of molecuul van die stof: dat wil zeggen van de elektronenconfiguratie rond de atoomkern, omdat het de elektronen zijn die de energie absorberen.

De elektronen zijn in een atoom op een bepaalde wijze in banen (schillen) rond de kern gerangschikt. Elektronen welke zich het dichtst bij de kern bevinden hebben een geringere energie dan de elektronen welke zich ver van de kern bevinden. Om een elektron van een baan dichtbij de kern naar een verder af gelegen baan te brengen is energie nodig, omdat het negatief geladen elektron van de positieve kern weg moet.

Als nu een lichtquant een molecuul of atoom, dat dit licht absorberen kan, treft zal een elektron deze lichtquant absorberen en daardoor zijn energie-inhoud verhogen.

Deze verhoging van energie kan voldoende zijn om dit elektron binnen het atoom naar een verder van de kern gelegen baan met grotere energie-inhoud te brengen.

Men spreekt dan van een atoom of molecuul in *aangeslagen toestand*. Een elektron springt slechts naar een verder van de kern gelegen baan indien een lichtquant wordt geabsorbeerd waarvan de energie-inhoud precies overeenkomt met het energieverschil tussen de baan met lagere energie-inhoud en de baan met hogere energie-inhoud.

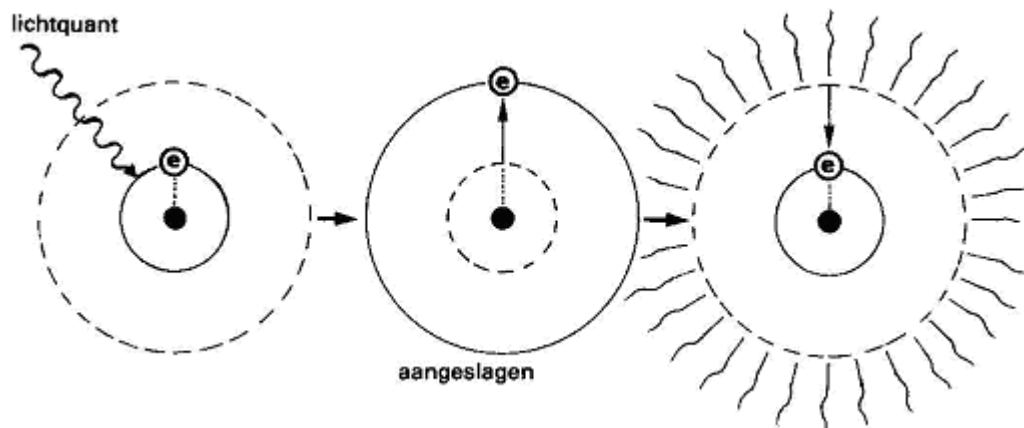
Dit betekent dat iedere atoomsoort slechts door licht met één bepaalde golflengte (bij atomen met meer dan 2 elektronenbanen meerdere bepaalde golflengten) kan worden aangeslagen. Deze golflengten verschillen van atoomsoort tot atoomsoort.

De aangeslagen toestand kan dus slechts in een 'alles of niets reactie' door een lichtquant met een bepaalde energie-inhoud bewerkt worden.

Aangeslagen atomen of moleculen zijn instabiel. Het aangeslagen elektron kan uit het atoom geslingerd worden waardoor elektrische verschijnselen ontstaan (fotocel).

Het aangeslagen elektron springt echter meestal terug in zijn oorspronkelijke baan waarbij de aanvankelijk opgenomen energie weer wordt afgestaan. Deze energie komt dan in de vorm van licht en/of warmte vrij. Indien deze energie vrijkomt in de vorm van licht + warmte spreekt men van *fluorescentie*. De golflengte van het gefluoresceerde licht is altijd groter dan die van het geabsorbeerde licht. Dit is een gevolg van het feit dat een gedeelte van de energie van de lichtquant als warmte vrijkomt.

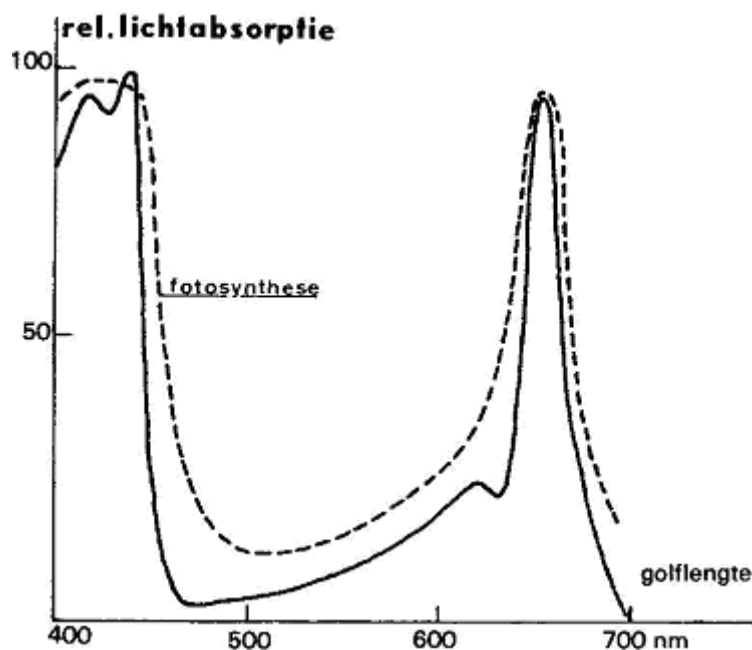
De lichtabsorptie bij planten geschiedt door de bladkleurstoffen, waarbij chlorofyl a en b de belangrijkste zijn. Men kan de mate waarin een kleurstof licht absorbeert bij verschillende golflengten meten. De grafische voorstelling van deze metingen



Figuur 17. Door absorptie van een lichtquant wordt een elektron naar een verder weg gelegen schil van het atoom getransporteerd (op een hoger energieniveau gebracht). Bij terugkeer in de oorspronkelijke toestand wordt energie als warmte of fluorescentie uitgestraald.

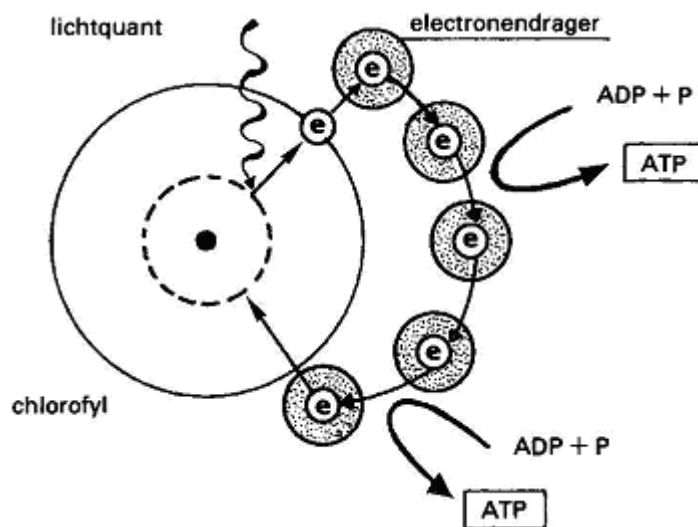
noemt men het *absorptiespectrum* (figuur 18). Metingen van de fotosynthese bij verschillende golflengten geeft in de grafische voorstelling een curve, die praktisch identiek is met het absorptiespectrum van chlorofyl. Hieruit mag tot een samenhang tussen de absorptie van licht door chlorofyl en de fotosynthetische activiteit van chlorofyl geconcludeerd worden.

Naast het chlorofyl komen in de cellen een aantal andere kleurstoffen voor: carotenoiden. Het is nu gebleken dat deze stoffen in aangeslagen toestand hun energie overdragen aan chlorofyl a. Op deze wijze komt de energie-inhoud van licht, dat niet door chlorofyl geabsorbeerd kan worden, toch ten goede aan de fotosynthese.



Figuur 18. Absorptiespectrum van chlorofyl in ether (getrokken lijn) en fotosyntheseactiviteit bij verschillende golflengten (gestippelde lijn).

Zuiver geïsoleerd chlorofyl zat na belichting fluoresceren. Dit betekent dat de chlorofylmoleculen door de absorptie van lichtquanten in aangeslagen toestand zijn geraakt. Doordat de geabsorbeerde energie niet in chemische energie wordt omgezet komt deze in de vorm van licht en warmte weer vrij. In levende cellen verliezen de aangeslagen chlorofylmoleculen hun energie niet in de vorm van licht en warmte, maar reageren als 'fotocellen': het energierijke elektron wordt uitgestoten en langs een ketting van elektronendragers getransporteerd. Deze elektronendragers vertonen grote overeenkomst met de enzymen uit de ademhaling in de mitochondriën. Langs deze ketting komt het elektron weer terug in het chlorofylmolecuul; de vrijkomende energie wordt onder andere gebruikt voor de vorming van ATP uit ADP + P. ATP is de universele energieoverdragende stof bij levende organismen; het is een organisch molecuul dat zeer veel energie bevat en dit door afsplitsen van fosforzuur vrij kan maken: chemische bindingsenergie.



Figuur 19. Het omzetten van lichtenergie in chemische bindingsenergie door een aangeslagen chlorofylmolecuul. De elektronen worden via een kringloop weer in het molecuul teruggebracht. Aan deze kringloop is de vorming van ATP gebonden (cyclische fotofosforylering). (n. Lehninger, 1970).

B. Experimenten

Bij de volgende experimenten wordt gebruik gemaakt van **benzeen**. Van deze stof is een **carcinogene werking** aangetoond: het inademen van benzeen dient dan ook te worden vermeden.

Eveneens wordt gebruik gemaakt van 3 **cuvetten**. Van de in de handel verkrijgbare cuvetten kan de kitsubstantie oplossen in benzeen. Het verdient aanbeveling zelf cuvetten te maken. Men klemt 2 glasplaatjes met wasknijpers aan weerszijden van een U-vormig gebogen stuk plastic slang.

Gebruik geen rubberslang: deze lost in benzeen op.

a. Extractie van bladkleurstoffen

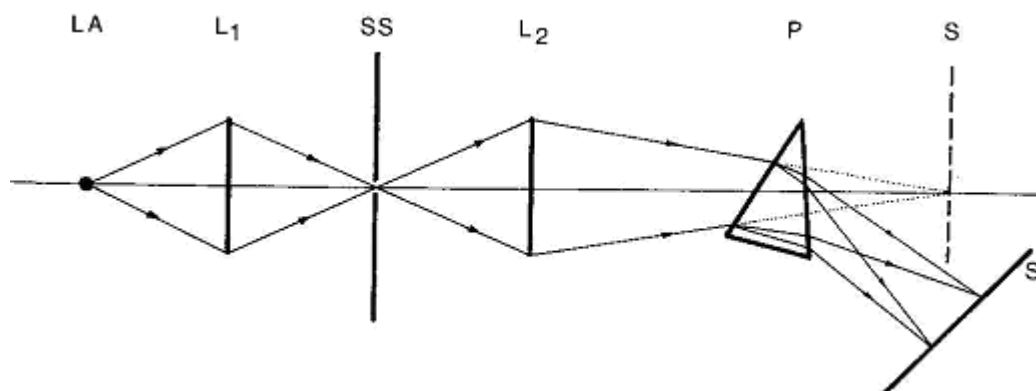
- vul een reageerbuis voor de helft met ethanol en verwarm deze in een waterbad. Ethanol is brandbaar: verwarmen op een elektrisch kookplaatje is beter dan verwarmen op een open gasvlam.
- versnipper in de warme ethanol een hoeveelheid bladeren (geschikt in de winter is diepvriesspinazie).
- als de bladkleurstof grotendeels in de ethanol is opgelost wordt afgefiltreerd.
- neem de helft van het filtraat en meng dit met een gelijke hoeveelheid benzeen. Chlorofyl lost op in benzeen; xanthofyl niet, deze blijft in de ethanol. Goed schudden en daarna de fracties scheiden en overbrengen in de cuvetten. (Benzeen heeft een hogere soortelijke massa dan ethanol, zodat de chlorofylfractie zich onderin bevindt.)
- vul nu de drie cuvetten als volgt: één met ethanol en bladkleurstof; één met benzeen en chlorofyl en één met ethanol en xanthofyl.
- eventueel de fracties wat in laten dampen om hogere concentraties kleurstoffen te krijgen.

b. Het absorptiespectrum (zie figuur 20).

- beeld met behulp van een positieve lens (L_1) de gloeidraad van een brandende (heldere) gloeilamp (LA) scherp af op een scherm (SS), waarin zich een spleet bevindt en plaats dit scherm vervolgens zodanig dat het beeld van de gloeidraad scherp op de spleet komt.

Opmerking:

Als de spleet te smal is laat deze voor het vervolg van de proef te weinig licht door; als de spleet te breed is resulteert dit in mengkleuren en krijgt men geen spectrum.



Figuur 20. Proefopstelling voor het bepalen van het absorptiespectrum van chlorofyl.

- maak met behulp van een tweede positieve lens (L_2) van de verlichte spleet in SS een scherp beeld op een scherm S.
- plaats nu een prisma (P) in de stralengang tussen L_2 en S. Stel het prisma in op de minimum-deviatie.

Opmerking:

In plaats van een prisma kan men ook gebruik maken van een prismatisch cuvet gevuld met zwavelkoolstof (CS_2).

- verplaats het scherm met de deviatie mee en vang het spectrum op S op.

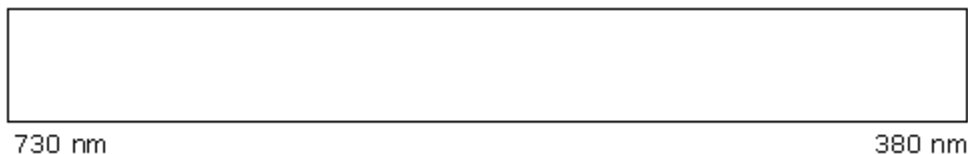
Opmerking:

Het is gewenst een rechtziend prisma te gebruiken. Het scherm heeft dan niet verplaatst te worden en het spectrum is nu breed.

- plaats nu in de lichtbundel tussen L_2 en P achtereenvolgens het cuvet met bladkleurstoffen, het cuvet met chlorofyl en het cuvet met xanthofyl.

Vragen en opdrachten:

1. Hoe ziet het spectrum er uit met en zonder bladkleurstoffen?
2. Welk pigment absorbeert welke lichtsoort?
3. Geef uw waarnemingen met behulp van kleurpotlood in onderstaande rechthoek weer.



4. Vergelijk uw waarnemingen met figuur 18.

c. Fluorescentie

- plaats het cuvet met bladkleurstof in ethanol in een sterke lichtbundel van bijvoorbeeld een diaprojector.
- verduister het lokaal.
- kijk loodrecht op de lichtbundel in het cuvet.
- herhaal dit experiment met het cuvet met chlorofyl in benzeen.

Vragen:

5. Welke golflengte wordt door de bladkleurstof geabsorbeerd?
6. Welke golflengte wordt door het chlorofyl geabsorbeerd?
7. Tracht verschillen te verklaren.
8. Wat doet het chlorofyl met het geabsorbeerde licht?

V-12 Een fotochemische reactie

Onder invloed van licht kunnen chemische omzettingen plaats vinden. Zo worden uitlaatgassen van auto's en door fabrieksschoorstenen in de lucht gebrachte afvalproducten onder invloed van het zonlicht omgezet in verbindingen die vaak schadelijk zijn voor het leven op aarde (fotochemische smog). Ook een aantal in de fotografie toegepaste procedures berusten op omzettingen onder invloed van licht.

Benodigdheden:

- 2 reageerbuizen
- 10 ml 1% AgNO_3 -oplossing
- 1% NaCl -oplossing
- een gloeilamp.

Uitvoering:

- vul 2 reageerbuizen voor $\frac{1}{4}$ met de AgNO_3 -oplossing.
- voeg er een beetje NaCl -oplossing aan toe en schud.
- plaats één buis in het donker en één buis voor een lamp.
- vergelijk na 20 minuten de beide buizen; houdt ze hierbij voor een vel wit papier.

Vragen:

1. Wat is het gevolg van het bijeenvoegen van AgNO_3 en NaCl ?
Geef de reactievergelijking.
2. Welk verschil is er na 20 minuten tussen beide buizen te zien?
3. Wat is hiervoor de verklaring?

V-13 De functie van de huidmondjes

A. Theoretische inleiding

Zowel de fotosynthese als de dissimilatie — beide wezenlijke processen in een groene plant — maken een uitwisseling van de gassen CO_2 en O_2 tussen de groene plant en de atmosfeer noodzakelijk. Voor deze uitwisseling bevat de epidermis in alle groene, bovengrondse delen een groot aantal openingen. Doordat door deze openingen behalve transport van CO_2 en O_2 ook transport van waterdamp vanuit de plant naar de atmosfeer optreedt en hierdoor een voor de plant schadelijk nevenverschijnsel (uitdrogen) zou kunnen ontstaan, is de grootte van deze openingen regelbaar. Men noemt ze hierom **huidmondjes of stomata**. De huidmondjes komen bij de meeste landplanten aan de onderzijde van de bladeren voor, bij vele monocotylen echter ook aan beide zijden der bladeren (Iris, kalmoes). Drijvende bladeren bezitten de huidmondjes aan de bovenzijde. Het aantal huidmondjes per 100 epidermiscellen is per soort constant (stomata-index) en bedraagt gemiddeld ca. 30.000 per cm^2 bladoppervlak. Bij volledige opening beslaan zij ca. 3% van het totale bladoppervlak van de plant. Door deze 3% vindt evenwel 90—95% van de totale **transpiratie** (dit is het transport van waterdamp vanuit de bovengrondse delen van de plant naar de atmosfeer) plaats, de rest vindt door de cuticula plaats en is dus voor de plant niet regelbaar. Ieder huidmondje ligt tussen **2 sluitcellen**, de opening — ook genoemd **centrale spleet** — geeft toegang tot de **inwendige ademholte**, welke weer in verbinding staat met de intercellulaire holten van het sponsparenchym. Bij droogteplanten bevindt het huidmondje zich vaak in een inzinking in de epidermis. Deze inzinking wordt dan **uitwendige ademholte** genoemd. De regelbaarheid van de grootte van de centrale spleet berust op een samenspel van 3 eigenschappen van de sluitcellen:

a. Het bezit van chloroplasten

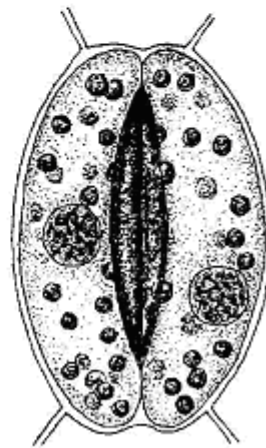
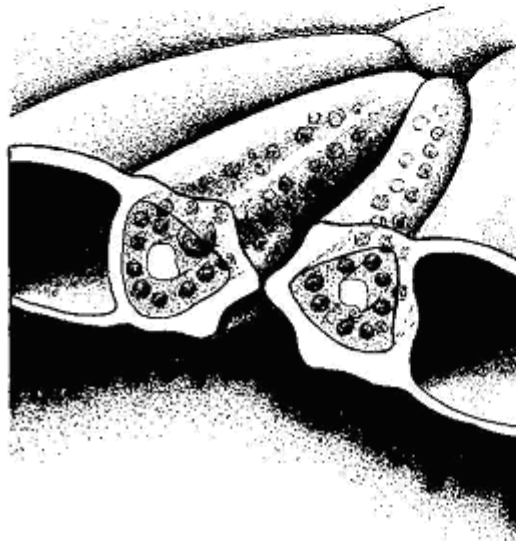
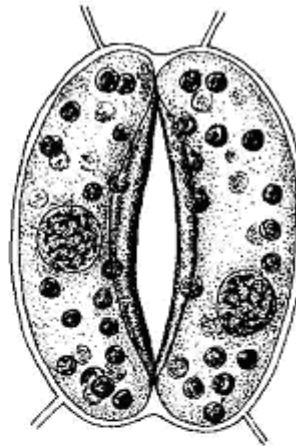
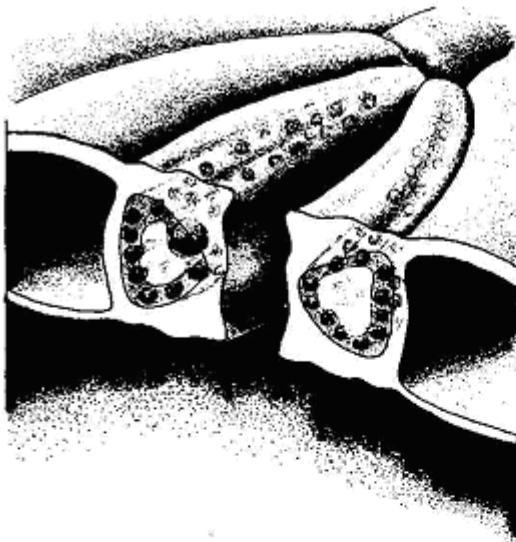
In een sluitcel is derhalve glucose en/of zetmeel aanwezig.

Het open- en sluitmechanisme berust onder meer op de verhouding van de concentraties van deze stoffen in de cel.

b. De veranderlijkheid van de turgor

Bij alle typen huidmondjes (zie c) staat centraal dat zij zich openen bij een hoge en zich sluiten bij een lage turgor*) van de sluitcellen. Deze turgorveranderingen berusten op veranderingen in de osmotische waarde*) van de sluitcellen. De osmotische waarde der sluitcellen blijkt onder meer afhankelijk te zijn van:

1. De belichting: bij sterke belichting is er glucoseproductie in de sluitcellen, waardoor de turgor in deze cellen stijgt. Dit leidt tot opening van het huidmondje.
Deze klassieke voorstelling van het mechanisme is evenwel op zichzelf ontoereikend: men heeft berekend dat de glucoseproductie in een sluitcel niet voldoende kan zijn om tot opening van het huidmondje te leiden.
De huidige verklaring van de lichtinvloed gaat uit van de waarneming dat in sluitcellen van geopende stomata minder zetmeelkorrels aanwezig zijn (en dus meer glucose in oplossing is) dan in sluitcellen van gesloten stomata (waarin minder glucose in oplossing is). Door de fotosynthese zou CO_2 aan het cytoplasma



Figuur 21. Huidmondjes in geopende en gesloten toestand.
 Kernen en chloroplasten zijn zichtbaar.
 Rechts: bovenaanzicht van huidmondjes.

van de sluitcel onttrokken worden en stijgt de pH van dat plasma (dit is inderdaad waargenomen). Hierdoor zouden de in de sluitcel aanwezige enzymen hun pH-optimum bereiken en het zetmeel snel in glucose omzetten.

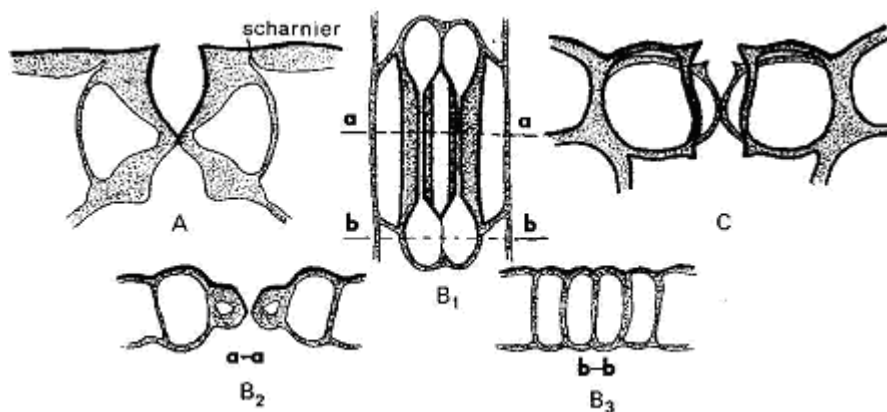
2. De temperatuur: stijging boven 25-30° C leidt tot sluiting.
3. De permeabiliteit van het cytoplasma: er zijn aanwijzingen dat de energieleverende processen in het cytoplasma de passage van water door het cytoplasma beïnvloeden.
4. De relatieve luchtvochtigheid*): in droge lucht verliezen alle bladcellen, dus ook de sluitcellen, water. Dit leidt tot vermindering van de turgor en dus tot sluiting van het huidmondje. Dat door het watergebrek de osmotische waarde van de sluitcellen stijgt is in dit geval zonder effect: ook de buurcellen hebben watergebrek en kunnen de turgor der sluitcellen niet herstellen.

c. De ongelijkmatige verdikking van de celwanden van de sluitcellen

Hierdoor leidt de op de turgortoenname volgende zwelling tot een vormverandering van de sluitcellen, waardoor de aan de centrale spleet grenzende celwanden uiteenwijken.

Naar de precieze wijze waarop de verdikkingen zijn aangebracht zijn enkele typen huidmondjes onderscheidbaar. De belangrijkste zijn:

1. het Amaryllideeëntype, bij de meeste mono- en dicotyle planten
2. het Gramineeëntype, bij gras- en cypergrasachtigen
3. Het Mniumentype, bij mossen en varens



Figuur 22. Typen huidmondjes.

A. Amaryllideeëntype (zijaanzicht),
B. Gramineeëntype (bovenaanzicht), B₂ en B₃ Gramineeëntype (zijaanzicht),
C. Mniumentype (zijaanzicht) (n. Reinders, 1949).

turgor:

De gespannen toestand waarin levende plantencellen zich normaliter bevinden als gevolg van de wederzijdse druk die de cel en de celwand op elkaar uitoefenen. De cel drukt buitenwaarts als gevolg van wateropzuiging welke tot zwelling leidt, de celwand drukt binnenwaarts als gevolg van de op de uitrekking volgende elasticiteit.

osmotische waarde:

De 'zuigkracht' waarmee het vacuolevocht water van buiten de cel door de celwand en het cytoplasma heen aantrekt.

*) De begrippen **turgor**, **osmotische waarde** en **relatieve luchtvochtigheid** komen in biothema deel 3 uitvoerig aan de orde. Omdat zij voor een goed begrip van het open- en sluit-mechanisme van stomata niet gemist kunnen worden is hier een voorlopige en vereenvoudigde omschrijving van deze begrippen opgenomen.

relatieve luchtvochtigheid:

De verhouding, uitgedrukt in procenten, tussen de hoeveelheid waterdamp welke bij een bepaalde temperatuur in een zeker volume lucht aanwezig is, en de hoeveelheid waterdamp welke bij diezelfde temperatuur in hetzelfde volume lucht maximaal aanwezig kan zijn. Omdat warme lucht meer waterdamp kan bevatten dan koude lucht, zal warme lucht die een zekere hoeveelheid waterdamp bevat, relatief droger zijn dan koude lucht die precies dezelfde hoeveelheid waterdamp bevat.

B. Experimenten**Benodigdheden:**

- groen bebladerde dicotyle potplanten, zoals Fuchsia, Geranium, niet-bonte Abutilon of (in de winter) Cineraria hybrida.
- groen bebladerde monocotyle planten, zoals Hyacint, Clivia, Chlorophytum, Dracaena of Tradescantia.

Uitvoering:

- van de dicotyle potplant wordt:
 - b. één blad aan de bovenzijde ingesmeerd met vaseline
 - c. één blad aan de onderzijde ingesmeerd met vaseline
 - d. één blad aan beide zijden ingesmeerd met vaseline
- ga, vooral bij de tere bladeren van Abutilon, voorzichtig te werk.
- merk ieder blad met een label om de bladsteel waarop staat welke kant(en) is (zijn) ingesmeerd.
- doe hetzelfde met een monocotyle plant.
- geef beide planten een lichte standplaats.
- na 3-7 dagen knipt men van beide planten de ingesmeerde bladeren af, alsmede van iedere plant één onbehandeld blad.

Ieder blad wordt nu op de aanwezigheid van zetmeel getest. Zorg ervoor dat de bladeren niet met elkaar worden verward, zodat duidelijk kan worden welk gevolg het insmeren met vaseline heeft.

- doe in een bekersglas (bijvoorbeeld 600 ml) een laag water.
- breng dit water aan de kook.
- leg het blad ongeveer 1 minuut in het kokende water.
- doe vervolgens de gasvlam uit.
- in een tweede, kleiner, bekersglas (bijvoorbeeld 250 ml) wordt nu ethanol 70% of spiritus gedaan tot ongeveer de helft.
- het blad snel uit het water halen en in de ethanol doen.
- vervolgens het bekersglas met ethanol in het bekersglas met warm water plaatsen; zonodig het water weer gedurende korte tijd met kleine vlam verwarmen; de ethanol mag niet koken. Wees voorzichtig met vuur: ethanol is brandbaar; bij ontvlammen snel doven door de vlammen af te sluiten door er een handdoek op te leggen.
- beweeg het blad af en toe in de ethanol; herhaal dit tot het blad *geheel* kleurloos is geworden. Leg het blad vervolgens even in koud water.
- neem het blad uit het water en leg het in een petrischaal; spreid het voorzichtig helemaal uit, zodat het nergens dubbel ligt (gebruik hiertoe twee pincetten).
- bedek het blad nu geheel met jood-kaliumjodide oplossing en laat het hierin enige minuten liggen.
- verwijder de jood-kaliumjodide oplossing en breng er aqua dest. voor in de plaats.

Vergelijk de verschillend behandelde bladeren en verklaar de resultaten door deze in verband te brengen met V-9 en V-14.

C. Het openen en sluiten

Uitvoering:

- neem een blad van Coleus, Fuchsia of een andere plant.
- snijd de epidermis van de onderzijde even in en trek er met een pincet een stukje vanaf.
- maak daarvan een preparaat zodat de oorspronkelijke onderzijde boven ligt.
- zoek aan de rand van het preparaat enkele huidmondjes en zet de klemmen op het objectglas zodat het preparaat niet meer verschuift.
- breng naast het objectglas een druppel 5% NaCl-oplossing en zuig deze met behulp van een filtreerpapiertje onder het dekglas door.
Kijk tegelijkertijd naar de huidmondjes.
- als er verandering is opgetreden kan de oorspronkelijke toestand hersteld worden, door weer aqua dest. onder het dekglas door te zuigen.
- N.B. Er is vrij veel water nodig om al het zout weg te zuigen.

Vragen:

1. Als de turgor in de sluitcellen groot is, zijn de huidmondjes dan open of gesloten?
2. In de sluitcellen zitten chloroplasten. Hoe is hun aanwezigheid te rijmen met de turgorveranderingen die in de sluitcellen optreden?

D. De openingstoestand

Met behulp van benzeen is na te gaan of huidmondjes open of gesloten zijn.
Benzeen is kankerverwekkend; de damp niet inademen!

Uitvoering:

- maak gebruik van een kruidachtige plant die veel water heeft gekregen (geranium, boon, zonnebloem, tabak, etc.). De plant moet in een pot staan en tenminste gedurende 1 uur in zeer helder licht zijn geplaatst.
- zet de plant voor een heldere lichtbron en strijk met behulp van een penseel een weinig benzeen op de onderste epidermis van één blad. Het blad wordt doorzichtig op de plaats waar benzeen is opgebracht.
- zet de plant vervolgens gedurende tenminste 1 uur in het donker en herhaal daarna de benzeen-behandeling.

Vragen:

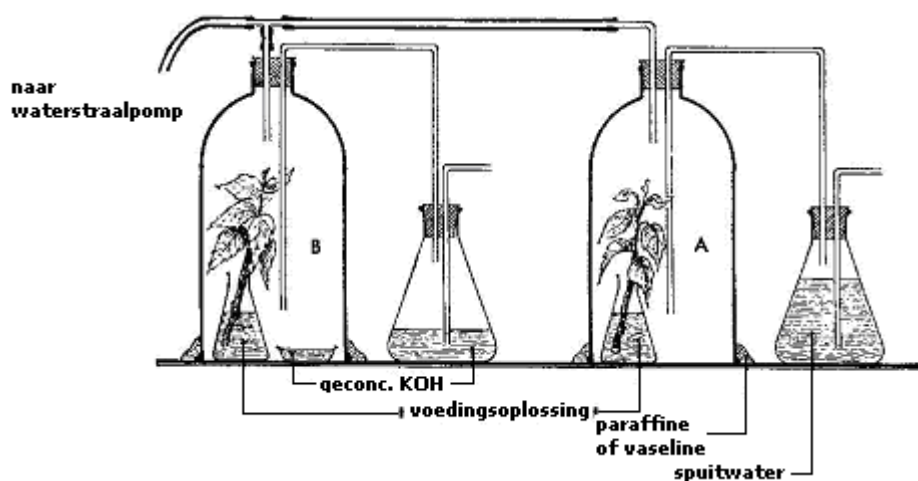
1. Wat neemt u als gevolg van de licht/donker behandeling aan de huidmondjes waar?
2. Kunt u het waargenomene verklaren?

V-14 De betekenis van kooldioxide voor de fotosynthese

Men vergelijkt in dit experiment het voorkomen van zetmeel in de bladeren van 2 twijgen. Beide twijgen hebben enkele uren in het zonlicht gestaan, de ene in CO₂-vrije, de andere in CO₂-rijke lucht.

Benodigheden en voorbereiding:

- planten waarvan de bladeren een dunne cuticula hebben zoals bijvoorbeeld: Fuchsia, Vlijtig Liesje of (niet-bonte) Abutilon.
- twee groen bebladerde twijgen hiervan, ieder geplaatst in een erlenmeyer van 100 ml met een voedingsoplossing (Pokon, ½ theelepel per 1000 ml water), die men gedurende één week in het donker heeft geplaatst.
- 2 glazen klokken A en B (zie figuur 23). Ook geschikt zijn kleurloze, wijdmondse flessen, waarvan de bodem is verwijderd.

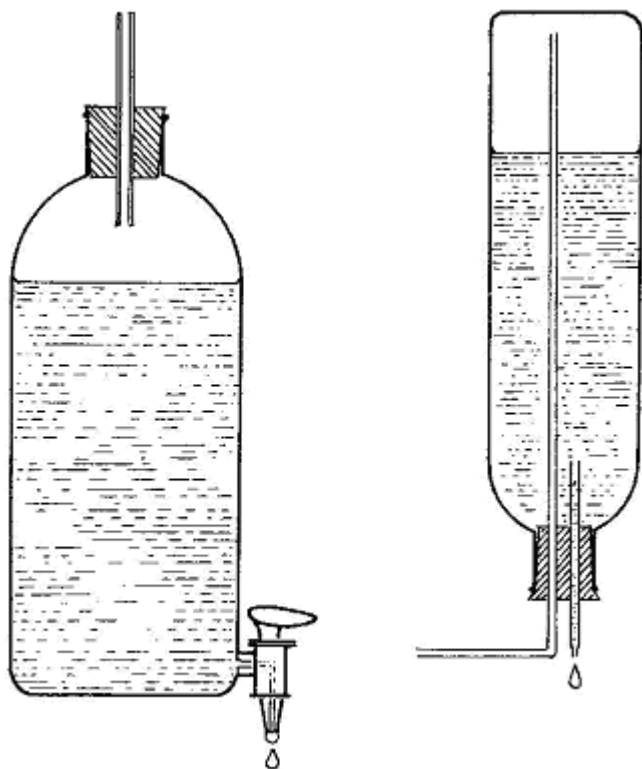


Figuur 23. Proefopstelling voor het bepalen van de invloed van kooldioxide op de fotosynthese.

Onder klok A brengt men CO₂-rijke lucht, die men verkrijgt door buitenlucht 'door een laag spuitwater heen' of door een Na₂CO₃-oplossing waaraan gedurende het experiment druppelsgewijs zwak zuur wordt toegevoegd in klok A binnen te zuigen (zie figuur 23). In klok B brengt men CO₂-vrije lucht; dit is eveneens buitenlucht welke door een geconcentreerde KOH- of NaOH-oplossing klok B binnengezogen wordt (zie figuur 23). Onder klok B plaatst men een schaalpje met een geconcentreerde KOH- of NaOH-oplossing.

De langzame luchtstroom, die door beide klokken gedurende het experiment moet optreden, kan — via het tweede gat in de stoppen van klok A en klok B — worden bereikt, door op een der volgende manieren aan te sluiten op:

- a. een in onderdruk verkerende ruimte, boven in een langzaam leeglopende fles met bodemkraan (zie figuur 24).
- b. een in onderdruk verkerende ruimte onder in een omgekeerd hangende fles (buis tot op de bodem), waarvan de tweede opening van de dubbeldoorboorde stop wordt gebruikt om de fles langzaam te laten leeglopen (zie figuur 24).
- c. een (zwak werkende) waterstraalluchtpomp.



Figuur 24. Lucht afzuigen door middel van onderdruk.
Alternatieven voor een waterstraal-luchtpomp.

Ter handhaving van de CO_2 -rijke, respectievelijk CO_2 -vrije toestand dienen beide klokken luchtdicht te zijn afgesloten. Men bereikt dit:

- aan de onderzijde door plaatsing van de klok op zeer vlakke ondergrond (bijvoorbeeld glazen plaat) en het dichtstrijken van de naad met vaseline of warme paraffine (na het eronder plaatsen van de twijgen).
- aan de bovenzijde door afsluiting van de mond met een stop (rubber, dubbel-doorboord).

Uitvoering:

- plaats één erlenmeyer met twijg onder klok A, de tweede onder klok B. Sluit de klokken nu luchtdicht af. De gehele opstelling wordt in zonlicht geplaatst.
- na enkele uren doet men op beide twijgen de zetmeelproef. Hiertoe doodt men het blad (of de twijg) door het met behulp van een pincet in kokend water te dompelen. Breng het blad over in kokende ethanol 70% of spiritus (op waterbad of elektrisch kookplaatje verwarmen) en extraheer het bladgroen door zacht te spoelen. Verwijder de alcohol uit de vrijwel kleurloze bladeren door kort onderdompelen in warm water en breng de bladeren in een jood-kaliumjodide oplossing (recept: zie V-24). Zetmeel wordt nu blauw-zwart gekleurd.

Vragen:

1. Waarom worden de twijgen vóór het experiment in het donker gezet?
2. Met welk doel wordt het schaalkje geconcentreerd KOH of NaOH onder klok B geplaatst?
3. Kunt u de werking van het geconcentreerd KOH of NaOH in een scheikundige reactie weergeven? En van het spuitwater? Beredeneer de antwoorden.

V-15 CO₂-opname respectievelijk afgifte onder invloed van licht

Of een plant CO₂ afgeeft (ademhaling) dan we! opneemt (assimilatie) is te controleren met behulp van een pH-indicator in waterige oplossing. Als gevolg van de opname van CO₂ door de plant (of het blad) wordt CO₂ aan de omgeving onttrokken, waardoor — bij een gasdicht systeem — de pH van de indicatoroplossing hoger wordt (bij CO₂-afgifte wordt de pH lager!).

Benodigdheden en voorbereiding:

- maak de indicatoroplossing als volgt:
- los 0,2 gram thymolblauw en 0,1 gram kresolrood op in 20 ml ethanol 96%.
- los 0,84 gram NaHCO₃ op in 900 ml aqua dest.
- meng beide oplossingen en vul aan met aqua dest. tot 1000 ml. De kleur van de oplossing is wijnrood en de pH 7,4.
- controleer de pH, indien deze te laag is, breng hem dan met enkele druppels geconcentreerde NaHCO₃-oplossing op pH 7,4.
Indien CO₂ aan deze indicatoroplossing wordt toegevoegd wordt de pH 5,4 en verandert de kleur in lichtrood. Bij verwarmen wordt de pH 8 en de kleur paars-rood.
- controleer de kleuromslag van de indicator door aan enkele ml van de oplossing in een reageerbuis CO₂ toe te voegen (blazen) en daarna te onttrekken (verwarmen).

Uitvoering:

- neem nu 6 reageerbuizen en doe in ieder 2 ml indicatoroplossing van pH 7,4.
- doe in 5 ervan een overeenkomstige hoeveelheid plantenmateriaal (bijvoorbeeld spinazieblad, slablad, preiblad of koolblad); zorg er echter voor dat dit niet met de indicator in aanraking komt. Breng het blad opgerold in de reageerbuis.
- sluit de reageerbuizen met kurk of plasticfolie luchtdicht af.
- omwikkel 3 buizen respectievelijk 1, 2 en 4 keer met doorschijnend materiaal, dat een gedeelte van het licht absorbeert, bijvoorbeeld elastisch schuimplastic dat ± 0,4 mm dik is. Eén buis wordt omwikkeld met aluminiumfolie.
- sluit ook de controlebuis af en zet alle zes buizen in een bekerglas met water (zodat alle buizen dezelfde temperatuur houden) voor een lichtbron (in de zon of voor een lamp).
- bekijk de resultaten na 2 à 3 uur.

V-16 De invloed van licht en kooldioxide op de fotosynthese; het vrijkomen van zuurstof

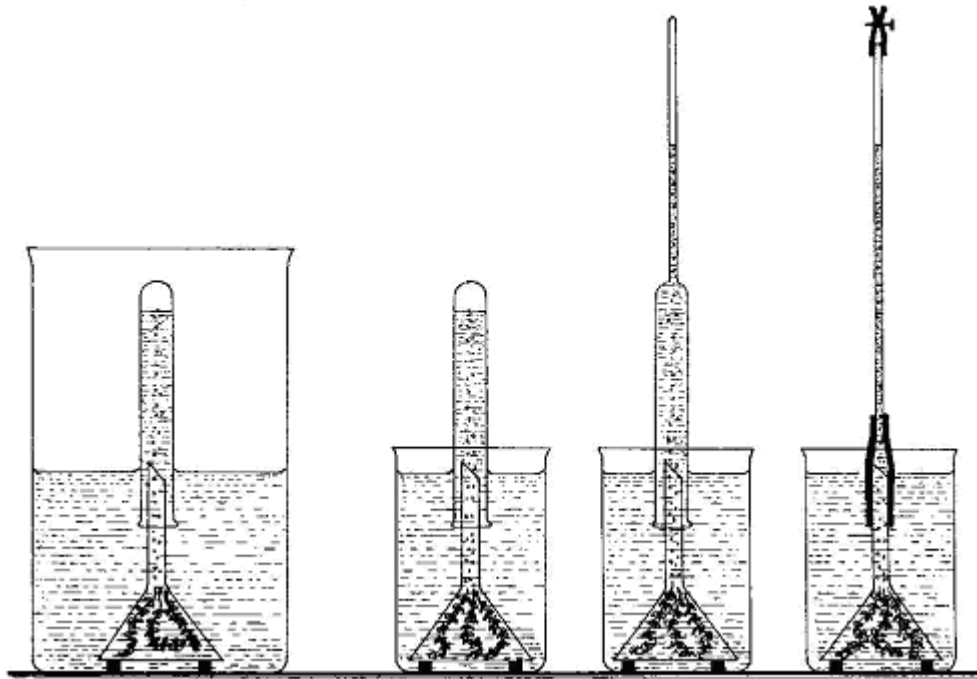
Het feit dat de zuurstof, die bij de fotosynthese van waterplanten vrijkomt, door de geringe oplosbaarheid in water voornamelijk in belletjes wordt afgescheiden kan gebruikt worden voor een benaderend kwantitatieve bepaling van de intensiteit van de fotosynthese. Een bijzonder geschikte plant is waterpest (*Elodea canadensis*). Waterpest uit de natuur geniet de voorkeur boven waterpest uit het aquarium. Ook de waterplant *Ludwigia natans* is zeer geschikt.

Benodigdheden en voorbereiding:

De volgende opstellingen kunnen worden benut (zie figuur 25):

- a. Een glazen bak die zo diep is, dat trechter + reageerbuis er geheel in ondergedompeld kunnen worden. Men kan ook gebruik maken van een klein bekerglas en dompelt dan bekerglas, trechter en reageerbuis in een grote bak onder om de reageerbuis geheel te vullen.

- b. Als bij a, maar dan in plaats van een gewone reageerbuis gebruik maken van een reageerbuis waarop een 10 cm lang meetbuisje met een binnendiameter van 4 à 5 mm gemonteerd is. De bovenkant van dit buisje is uiteraard gesloten. Door het buisje van een meetschaal te voorzien kan de zuurstofproductie worden gemeten.
- c. Op de trechtersteel wordt met behulp van een stukje slang een open glazen buisje gemonteerd. De bovenkant van dit buisje is ook voorzien van een stukje slang. Dit kan worden afgesloten met een slangklem. Met behulp van dit laatste slangetje kan de waterkolom in het buisje omhoog worden gezogen, waarna met de slangklem wordt afgesloten. Indien men behoefte heeft aan maatverdeling zou in plaats van een glazen buisje een maatpipet gebruikt kunnen worden (punt boven!).



Figuur 25. Verschillende proefopstellingen voor het bepalen van de invloed van licht en kooldioxide op de fotosynthese.

Lichtbron: gebruik een sterke lamp van 500 Watt (diaprojector). De warmte-ontwikkeling kan worden beperkt door tussen lichtbron en glas met waterpest een cuvet met water te plaatsen.

Uitvoering:

Proefopstelling c verdient de voorkeur. Naast het feit dat de meetbuis gemakkelijk met vloeistof gevuld kan worden, is hiermee het aantonen van zuurstof vrij eenvoudig uit te voeren (zie hierna onder e).

Snijd met een scherp mes van waterpest jonge dichtbebladerde eindstukken van ongeveer 10 cm lengte af. De zuurstof komt vrij in de intercellulaire ruimten van de plant en ontwijkt aan het snijvlak van de stengel. Het snijvlak moet omhoog gericht zijn. Om dit onder de trechter te bereiken kan men de stukjes waterpest losjes aan een of meer glazen staafjes binden. Indien op meerdere plaatsen van het snijvlak kleine belletjes ontstaan moet opnieuw worden afgesneden. De intercellularen kunnen, als het plantje droog komt te liggen, verstopt raken waardoor minder of in het geheel geen zuurstof bellen ontwijken.

I. Invloed van de lichtintensiteit

plaats de lichtbron op een afstand van 70 en daarna op 35 cm van de plantjes. Meet in beide gevallen de zuurstof die gedurende een bepaalde tijd is geproduceerd en vergelijk deze met elkaar.

Vragen:

1. Wat verwacht u van de intensiteit van de fotosynthese op 35 cm vergeleken met die op 70 cm?
2. Is het resultaat hiermee in overeenstemming?

b. Invloed van de CO₂-concentratie

- laat de lichtbron op een afstand van 35 cm staan, maar vervang het water (hevelen) door achtereenvolgens 0,1%, 0,5% en 1% NaHCO₃-oplossing en meet de geproduceerde zuurstof gedurende dezelfde tijd als bij **a**.

Vraag:

3. Wat kunt u uit de resultaten concluderen?

c. Invloed van de temperatuur

- vervang de natriumwaterstofcarbonaat-oplossing door water met ijsblokjes en meet de in een bepaalde tijd geproduceerde zuurstof. Doe dit eveneens met water van kamertemperatuur, 30° en 40 °C.

Opdracht:

Vergelijk de gevonden waarden.

d. Aantonen van de vrijgekomen zuurstof

- indien de opstelling van proefopstellingen c wordt toegepast kan, door het onderste stukje slang (bij de trechtersteel) dicht te knijpen met een slangklep, na het openen van de bovenste slangklep zuurstof met een gloeiende houtspaander worden aangetoond (knijpen boven de onderste slangklep).

e. Invloed van de kleur van het licht

- men gebruike achtereenvolgens een rood, een groen en een blauw filter. Meet telkens de hoeveelheid zuurstof die in een bepaalde tijd geproduceerd wordt en vergelijk de gevonden waarden met elkaar.
Het resultaat van dit experiment hangt behalve van de kleur ook af van de intensiteit van het doorgelaten licht. Deze intensiteit kan bij de verschillende filters sterk uiteenlopen (eventueel meten met lichtmeter).

Opmerking:

De meeste kleurenfilters laten meer dan een bepaald golflengtegebied door en kunnen dus ongeschikt zijn om de invloed van één kleur van het licht op de fotosynthese na te gaan.

V-17 De CO₂-assimilatie in het licht en in het donker

Benodigdheden:

- 2 groen bebladerde potplanten (bijvoorbeeld Fuchsia, Geranium of niet niet-bonte Abutilon).
- aluminiumfolie.
- jood-kaliumjodide (zie V-24).

Uitvoering:

- plaats één plant gedurende één of meer dagen in het donker.
- verpak van de andere plant één blad lichtdicht in aluminiumfolie en een ander blad in aluminiumfolie waaruit tevoren een bepaalde figuur is geknipt. Deze opening komt aan de bovenzijde (= lichtzijde) van het blad. Deze plant krijgt een of meer dagen een lichte standplaats.
- na afloop van deze periode voert men de jodiumtest op zetmeel uit met:
 - a. één blad van de onbelichte plant.
 - b. beide in aluminiumfolie verpakte bladeren van de belichte plant.
 - c. één niet verpakt blad van de belichte plant.

Opdracht:

Verklaar uw waarnemingen.

Vragen:

1. Levert het blad van de onbelichte plant u precies dezelfde informatie op als het volledig lichtdicht verpakte blad van de belichte plant?
2. Welke conclusie, omtrent het vervoer van zetmeel binnen het blad, mag u uit dit experiment trekken?

V-18 De functie van de chloroplasten

Experimenteel is aangetoond dat de opname van licht bij het fotosyntheseprocess leidt tot de vorming van zuurstof en de vorming van een verbinding die kooldioxide kan reduceren.

Dit experiment heeft tot doel na te gaan of deze reducerende stof in de chloroplasten wordt gevormd, door gebruik te maken van een kleurstof die kleurloos is in gereduceerde vorm.

Benodigdheden:

- een grote hoeveelheid ijsgruis.
- een 0,1% oplossing van 2,6 dichloorfenol indofenol (= DCPIP) in fosfaatbuffer met pH = 6,4.
- Recept fosfaatbuffer pH 6,4:
 - a. 23,88 gram Na₂HPO₄·12H₂O oplossen in aqua dest. en aanvullen met aqua dest. tot 1 liter.
 - b. 9,08 gram KH₂PO₄ oplossen in aqua dest. en aanvullen met aqua dest. tot 1 liter. Door 26,5 ml a bij 73,5 ml b te voegen krijgt men fosfaatbuffer met pH 6,4.
- in ijs gekoelde maceratievloeistof (macereren = fijnwrijven), bevattend 0,5 M saccharose-oplossing + fosfaatbuffer met pH=6,4 in de verhouding 1 : 2.
- enkele ml 0,01 M KCl oplossing.
- planten met grote, diepgroene bladeren, zoals sla, boon, brandnetel.
- koelkast, mortier, centrifuge met een vermogen van 4500 r.p.m.

Uitvoering:

- knip met een schaar 20-30 g bladeren in kleine stukjes en breng deze in een mortier. Voeg hieraan 50 ml maceratievloeistof toe en wrijf de stukjes fijn, zodat een homogene brij ontstaat.
- verwijder uit deze brij fragmenten van celwanden, nerven e.d. door de brij gedurende 4 minuten bij 200xG *) te centrifugeren.
- breng de bovenstaande vloeistof (= supernatant) over in centrifugebuizen die in ijsgruis staan en centrifugeer dit supernatant gedurende 10 minuten bij 1000xG *).
- schenk de nu ontstane supernatant af en breng op het precipitaat (= het neergeslagene) dat de chloroplasten bevat, enkele ml verse, gekoelde maceratievloeistof.
- vervaardig in de centrifugebuis een chloroplastensuspensie door het precipitaat grondig op te wervelen. Zet de buizen in ijsgruis.
- in twee reageerbuizen brengt men nu per buis: 2 ml DCPIP oplossing 0,1 %
0,5 ml chloroplastensuspensie
0,5 ml KCl oplossing 0,01 M
- Schud de buizen teneinde een homogeen mengsel te krijgen.
- omwind één buis met aluminiumfolie en plaats deze in ijskoud water.
- de andere buis wordt gedurende 10 minuten — eveneens in ijskoud water staand — vlak voor een lichtbron gezet.
- vergelijk na 10 minuten de kleur van de DCPIP-oplossing in de beide buizen met elkaar.

Vragen:

1. In welke buis vond reductie plaats?
2. Wat is hierbij de rol van de chloroplasten geweest?
3. Wat is de rol van het licht?

*) met onderstaande benaderingsformule kan het aantal omwentelingen per seconde van de centrifuge worden berekend.

$$f = \sqrt{\frac{K}{4R}}$$

f = aantal omwentelingen per seconde.

K = het getal waarmee g wordt vermenigvuldigd (bijvoorbeeld bij 200 g het getal 200),
R = de straal van de centrifuge in meters, te meten vanaf de draaias van de centrifuge tot de bodem van het centrifugebuisje in de stand waarin het zich tijdens het centrifugeren bevindt (meestal horizontaal).

g = versnelling van de zwaartekracht.

V-19 Zetmeelsynthese in tabaksbladeren

Veel herbiciden, die in de land- en tuinbouw worden gebruikt, oefenen hun remmend effect op de groei van planten uit doordat ze selectief bepaalde reacties uit de fotosynthese remmen. Daarnaast zijn er herbiciden die ingrijpen in de groeistofhuishouding van de plant en daardoor in hogere concentratie remmend werken op de planten (bijvoorbeeld het 2,4 dichloorphenoxy-azijnzuur, 2,4-D). Een van de meest actieve vormen uit de eerste groep is het diuron of DCMU (3- (3,4-dichloorphenyl) -1,1-dimethylureum). Van deze verbinding wordt de werking nader onderzocht.

Benodigheden:

- een geranium of een tabaksplant.
- jood-kaliumjodide-oplossing (zie V-24).
- kurkboor.
- TL-buis, 40W.
- 8 petrischalen.
- 1 ml 2×10^{-4} M DCMU oplossing (is 46 mg/l).
- 10 ml 5% glucose.

Vorbereiding:

- de geranium of tabaksplant wordt gedurende 4 dagen in het donker gezet.
- daarna worden uit een blad enkele stukjes (± 1 cm Ø) geponst met behulp van de kurkboor, of geknipt.
- men extraheert het chlorofyl door de stukjes even in kokend water te dompelen, ze enkele minuten in bijna kokende ethanol 70% of spiritus te brengen en ze hierna nog even in warm water te spoelen (zie ook V-13).
- de stukjes worden nu in een jood-kaliumjodide oplossing gelegd en getest op zetmeel.
- als er geen blauwkleuring in optreedt bevatten de stukjes geen zetmeel meer. Uit deze zetmeelvrije bladeren kunnen **in het donker** de 80 stukjes geponst of geknipt worden die voor onderstaand experiment nodig zijn.

Uitvoering:

- breng nu in 4 petrischalen 10 ml water en in 4 andere schalen 10 ml 5% glucose-oplossing.
- voeg aan twee van de 'glucoseschalen' en aan twee van de 'waterschalen' 0,1 ml DCMU toe (eindconcentratie DCMU in de petrischalen is dan 2×10^{-6} M; dit is gelijk aan 0,46 mg/l).
- doe in iedere schaal 10 verse ponsstukjes (in het donker ponsen!). Let er op dat de stukjes blijven drijven (met sponsparenchym naar boven!).
- zet nu een 'waterschaal', een 'glucoseschaal', een 'waterschaal' met DCMU en een 'glucoseschaal' met DCMU in het donker. Hang op ongeveer 20 cm afstand boven de vier andere schalen (water, glucose, water + DCMU en glucose + DCMU) een TL-buis. Laat de schalen open.
- **1 dag na het inzetten** wordt met behulp van jood-kaliumjodide nagegaan of er zetmeel in de ponsstukjes is gevormd.

Vragen:

1. Waar is de sterkste blauwkleuring opgetreden en waardoor?
2. Uit welke stof wordt het zetmeel gevormd?
3. Waarom moest de plant eerst enkele dagen in het donker staan?
4. Wat kunt u uit deze resultaten concluderen over de werking van het DCMU?

V-20 Zetmeelsynthese in bonte bladeren

In bonte bladeren bevatten niet alle cellen chlorofyl. Welke cellen van deze bladeren betrokken zijn bij de fotosynthese zal blijken uit het volgende experiment.

Benodigdheden:

- een bonte Coleus (siernetel)
- waterbad.
- ethanol 70% of spiritus.
- jood-kaliumjodide oplossing (zie V-24).
- enkele petrischalen + pincetten.

Uitvoering:

- teken een blad van de bontbladige Coleus op ware grootte na. Geef in de tekening nauwkeurig aan welk gedeelte groen gekleurd is en welk gedeelte niet.
- extraheer het bladgroen en kleur het zetmeel met jood-kaliumjodide volgens de methode uit V-13.
- teken het blad nu weer op ware grootte na; geef in de tekening nauwkeurig aan welk gedeelte gekleurd is,

Vragen:

1. Vergelijk de beide gemaakte tekeningen. Wat valt hierbij op?
2. In welk gedeelte van het blad zit het chlorofyl?
3. Welke stof bevindt zich in het na de proef donker gekleurde deel van het blad?
4. Wat zat oorspronkelijk op de nu donker gekleurde plaatsen?
5. Waarom is het nodig het blad eerst te koken?
6. Waarom is het nodig het blad eerst te ontkleuren?
Hoe is het antwoord op deze vraag te testen?
7. Wat is er met het chlorofyl van het blad tijdens het ontkleuren gebeurd?

V-21 Het aantonen van zetmeel in waterpest

Benodigdheden:

- waterpest.
- een kleine mortier.
- kwartszand.
- ethanol 20%.
- chloroform.
- jood-kaliumjodide oplossing (zie V-24).
- een krachtige lichtbron.

Uitvoering:

- in een kleine mortier worden een of meer takjes waterpest met behulp van wat kwartszand en onder toevoeging van 5 ml ethanol 20% fijn gewreven. Op deze wijze wordt de celinhoud in de ethanol opgelost.
- de vloeistof wordt in een reageerbuis gegoten en zeer krachtig geschud met 15 ml chloroform. De zware chloroform-fractie, waarin de pigmenten zich bevinden, scheidt zich af van de lichtere water/alcoholfase.
- door toevoeging van enkele druppels jood-kaliumjodide oplossing gaat men na of deze laatste fase zetmeel bevat.

N.B. Uiteraard geven zeer geringe hoeveelheden zetmeel geen positieve indicatie. Men dient er voor te zorgen dat de waterpest zo optimaal mogelijk heeft kunnen assimileren. Voeg een weinig NaHCO_3 aan het water toe en belicht sterk gedurende enkele uren voor de aantoning.

V-22 De afvoer van zetmeel

Indien het door de fotosynthese gevormde zetmeel in de cellen van de groene bladeren zou blijven zitten, zouden deze bladeren naarmate de zomer vordert steeds meer zetmeel moeten gaan bevatten. Bij het afvallen der bladeren in de herfst zou er aldus veel vastgelegde energie verloren gaan. In werkelijkheid verzamelt de plant zijn assimilatieproducten in delen die niet afvallen of vergaan, zodat deze producten in de vorm van reservevoedsel voor alle delen van de plant beschikbaar blijven.

Benodigdheden:

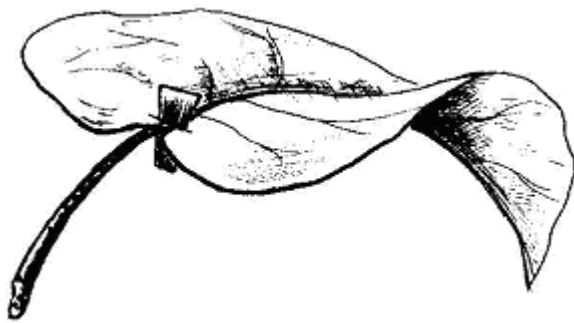
- een bonenplant.
- een dekglas, plastic of aluminiumfolie.
- een waterbad.
- ethanol 70% of spiritus.
- jood-kaliumjodide oplossing (zie V-24).

Uitvoering:

- een bonenplant wordt een gehele dag onder een sterke lamp gezet.
- aan het eind van de dag worden in twee bladeren van deze plant insnijdingen gemaakt vlak boven de bladvoet (zie tekening) zodat de hoofdnerf wordt doorgesneden.
- breng in de snede een scherfje van een dekglas, of een stukje plastic of aluminiumfolie aan, zodat de sapstroom wordt onderbroken.
- deze plant wordt nu in het donker gezet.
- de volgende dag worden de ingesneden bladeren op zetmeel getest (zie V-13).
- ook een niet ingesneden blad van dezelfde plant wordt op zetmeel getest (zie V-13).

Opdracht:

Geef een verklaring voor de gevonden resultaten.



Figuur 26. Afvoer van fotosyntheseproducten.
Doorgesneden bladvoet voorzien van een stukje aluminiumfolie.

V-23 Fotosynthese en chemosynthese

I. DE FOTOSYNTHESE

A. Inleiding

Alle organismen verbruiken energie voor hun levensprocessen. Alle organismen bevatten organische stoffen, welke alleen onder energieopname vervaardigd kunnen worden. Als energiebron voor vrijwel alle organismen blijkt direct of indirect het zonlicht te fungeren, ofschoon merkwaardigerwijs lichtenergie in de energiehuishouding van zeer veel organismen niet opneembaar is.

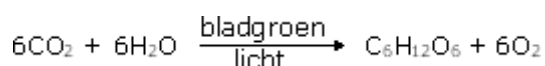
De organismen die licht direct als energiebron kunnen benutten, noemt men *foto-autotroof*. Met behulp van pigmenten absorberen zij uit het opvallende witte zonlicht bepaalde golflengtegebieden en leggen de energie hiervan chemisch vast in energierijke organische stoffen. Foto-autotrofe organismen zijn de groene hogere planten, blauwe, rode, bruine en groene wieren en enkele bacteriën.

De voedingswijze van planten heeft onderzoekers reeds lang bezig gehouden. De mening van Aristoteles (± 350 v. Chr) dat planten grond aten heeft eeuwenlang voldaan. Het is de Nederlander van Helmond geweest die door nauwkeurige weegproeven tot andere gedachten kwam (± 1600). Een wilg van 5 pond in 200 pond aarde woog na vijf jaar 164 pond terwijl de aarde niet merkbaar van gewicht veranderd was. Hij concludeerde dat water aan de grond toegevoegd als voedsel diende.

Priestly (1773) ontdekte dat plant en dier samen in een afgesloten ruimte in leven bleven en dat wanneer zij afzonderlijk in een afgesloten ruimte verbleven zowel plant als dier dood gingen. Het door het dier uitgademde gas zou door de plant in een voor het dier goed gas veranderd worden: de zuurstofproductie werd niet ontdekt. De Nederlander Jan Ingen-Housz heeft in 1779 de fotosynthese ontdekt. Door het werk van Lavoisier kende men de oxidatie en was zuurstof bekend.

Ingen-Housz startte zijn onderzoekingen met een medisch oogmerk; hij wilde voor zijn patiënten zuivere lucht produceren. Zijn proefopstelling is nog steeds te vinden in alle leerboeken: waterpest onder een trechter waarover een reageerbuis met water is geplaatst.

Aan het begin van deze eeuw stelde men vast dat de reactievergelijking voor de fotosynthese moest zijn:



Nu weet men dat deze vergelijking te eenvoudig is; inhoudelijk is het proces veel ingewikkelder.

Via hun voedsel nemen de *heterotrofe* organismen de energierijke fotosynthese-producten op. Tijdens de *celoxidatie* worden deze moleculen van hun energie ontdaan, waarbij zij uiteenvallen en waarvoor (meestal) zuurstof nodig is, bijvoorbeeld:



De O_2 wordt uit de atmosfeer opgenomen, de CO_2 eraan afgegeven en de energie vindt zijn weg in het organisme. De kringloop die fotosynthese en celoxidatie samen vormen, is uiterst belangrijk: indien de CO_2 niet teruggevormd zou worden, zou op het land het leven na enkele maanden, in de zeeën — waarin een grote voorraad gebonden CO_2 voorkomt (schelpkalk) — na ongeveer 300 jaar verdwenen zijn. De O_2 die vele organismen voor hun celoxidatie opnemen, is — voor zover bekend — door de fotosynthese in de atmosfeer gebracht.

Omdat de celoxidatie niet alleen in heterotrofe organismen, doch ook in autotrofe organismen plaats vindt, moet de *bruto* O₂-productie van een groene plant verminderd worden met de meestal geringere O₂-consumptie voor de celoxidatie in diezelfde plant. Bij lage lichtintensiteit kunnen productie en consumptie gelijk zijn. Op dit zogenaamde *compensatiepunt* is de *netto* O₂-productie nul.

B. Lichtabsorptie

De pigmenten die het zonlicht absorberen liggen bij hogere planten in plastiden: de *chloroplasten*. In het chloroplasten liggen zij geconcentreerd in de *grana* (zie Biothema 1, pag. 67). Deze granae bestaan uit stapels platte plooien, de *thylakoïden*, aan de oppervlakte waarvan de pigmenten met enzymsystemen functioneel gerangschikt zijn. Het belangrijkste pigment is het chlorofyl a, dit ontbreekt in geen enkel foto-autotroof organisme (uitgezonderd purperbacteriën). Alle andere pigmenten zijn *accessorisch*:

zij geven de geabsorbeerde energie door aan het chlorofyl a. Het 'bladgroen' van hogere planten bestaat uit de pigmenten chlorofyl a en b, β -caroteen en xanthofyl (zie fig. 27).

Wieren hebben meestal een pigmentmengsel waarvan de kleur — ter verkrijging van een maximale lichtabsorptie — *complementair* is aan de kleur van de lichtstralen die hen op hun groeiplaats bereiken. Op grote diepte onder water dringen bijvoorbeeld uitsluitend de groene stralen uit het zonlicht door, men treft hier de *roodwieren* aan (welke als pigment onder meer phycoërythrine bevatten). Andere wieren met afwijkende pigmenten zijn: *groenwieren* (bevatten onder meer chlorofyl c en d), *blauwwieren* (bevatten onder meer het phycocyanine) en *bruinwieren* (bevatten onder meer het phycoxanthine).

Het chlorofyl wordt gevormd onder invloed van het licht (het groen worden van het bovengronds gedeelte van een peen of een aardappel). Het caroteen schijnt een rol te spelen bij de vorming van chlorofyl: de staart van het chlorofyl-molecuul is caroteenachtig.

Het gewichtspercentage chlorofyl per plant is gering. Toch heeft een volwassen boom een lichtabsorberend oppervlak dat zeer groot is: in de grootte-orde van 100.000-en vierkante kilometers. Bladcellen kunnen tot 80 plastiden bevatten. De aarde is op deze wijze als het ware bedekt met een laag energieabsorberend chlorofyl.

Omdat de chloroplasten nucleoproteïden bevatten kunnen zij zich delen en houdt de hoeveelheid chloroplasten gelijke tred met de groei van de weefsels.

C. De fotosynthese

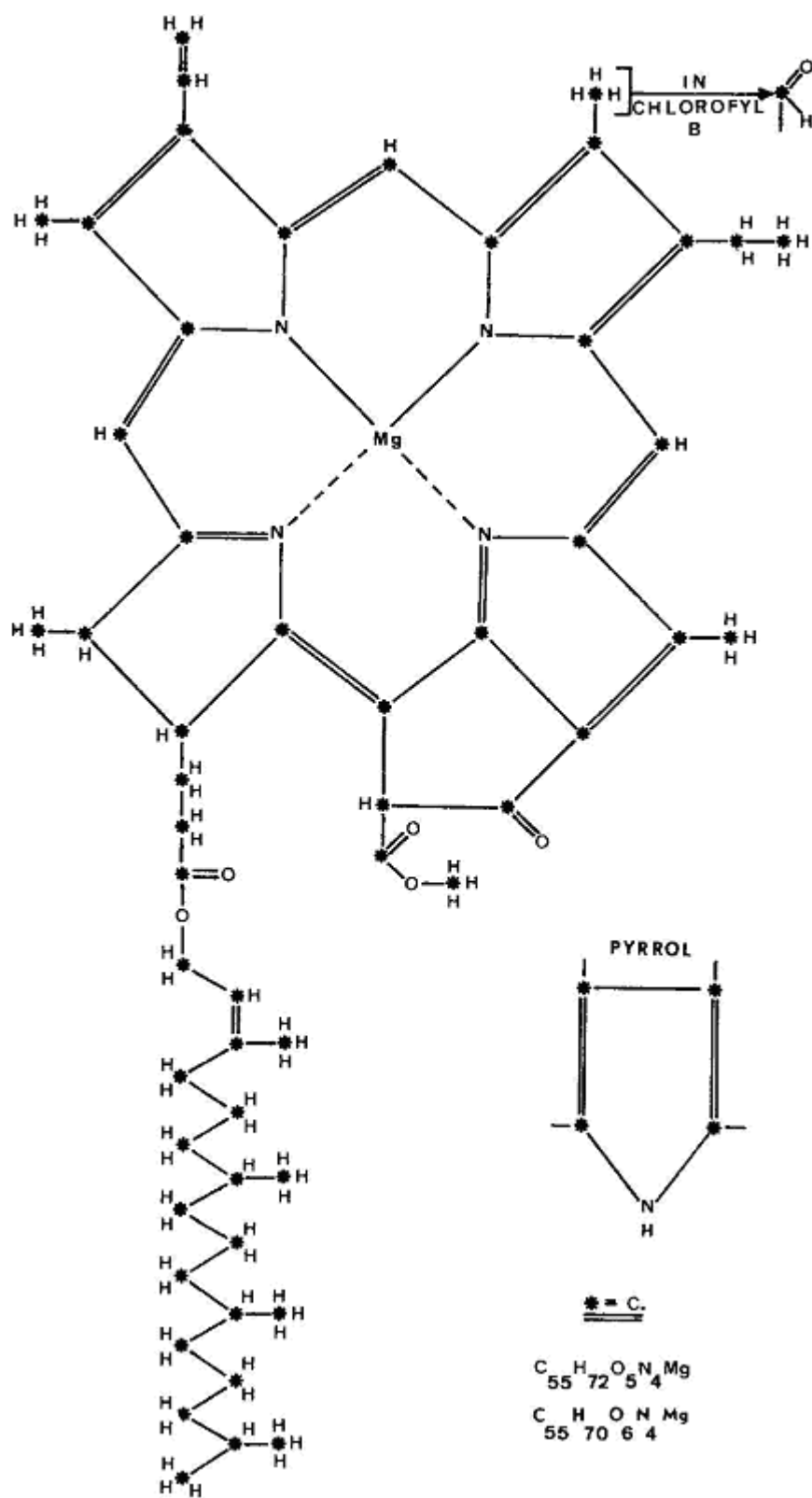
Het fotosyntheseproces bestaat uit onderdelen: de lichtreacties en de donkerreacties.

a. De lichtreacties of fotolyse

Of de ontwijkende zuurstof van het opgenomen CO₂ of van het opgenomen H₂O afkomstig is ging men na door aan een fotosynthetiserende plant het zuurstofisotoop ¹⁸O aan te bieden via het CO₂ en via het H₂O.

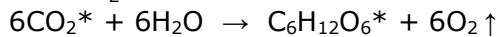
Opmerking:

Dit ¹⁸O-isotoop heeft in zijn schillen dezelfde elektronenverdeling als het normale ¹⁶O en gedraagt zich chemisch dus precies hetzelfde. De kern van het ¹⁸O-isotoop bezit evenwel twee neutronen meer dan de kern van het ¹⁶O. De meeste isotopen zijn instabiel, de kernen vallen na korte of langere tijd uiteen waarbij wat radioactieve straling vrijkomt. Deze straling kan worden geregistreerd en 'verraadt' zo op welke plaats of in welke stof het isotoop (en dus ook de normale atomen) is ingebouwd. Het ¹⁸O stellen we hierna duidelijkshalve voor als O*.

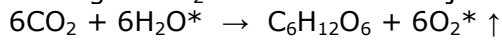


Figuur 27. Structuurformule van chlorofyl a en b.

Bij de aanbieding van CO_2^* bleek de glucose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) radioactief te zijn en de ontwijkende O_2 niet:



Bij aanbieding van H_2O^* bleek de ontwijkende O_2 radioactief te zijn en de glucose niet:



De conclusie moet dus zijn dat tijdens het fotosyntheseproces een *splitsing van water* plaats vindt. Aangezien H_2 en O_2 zich zeer gretig met elkaar verbinden (knaalgas!) moet omgekeerd de splitsing van water in H_2 en O_2 zeer *endotherm* zijn, dat wil zeggen veel chemische energie vereisen. Omdat in de groene plant deze chemische energie echter getransformeerd wordt uit de door de bladpigmenten opgevangen *stralingsenergie* van het zonlicht (zie ook V-11) noemt men de splitsing tegenwoordig de *fotolyse* van water. De fotolyse is gebleken een onderdeel te zijn van een complex biochemische reacties welke slechts kunnen verlopen doordat door 2 *pigmentsystemen* zonlicht geabsorbeerd wordt. Men noemt dit lichtafhankelijke complex de **lichtreacties**. Dit complex lichtreacties speelt zich af langs de oppervlakte van membranen, die zich in de chloroplasten bevinden. Voor de andere reacties in de fotosynthese is geen lichtenergie noodzakelijk (zie donkerreacties).

De voornaamste resultaten van de lichtreacties zijn:

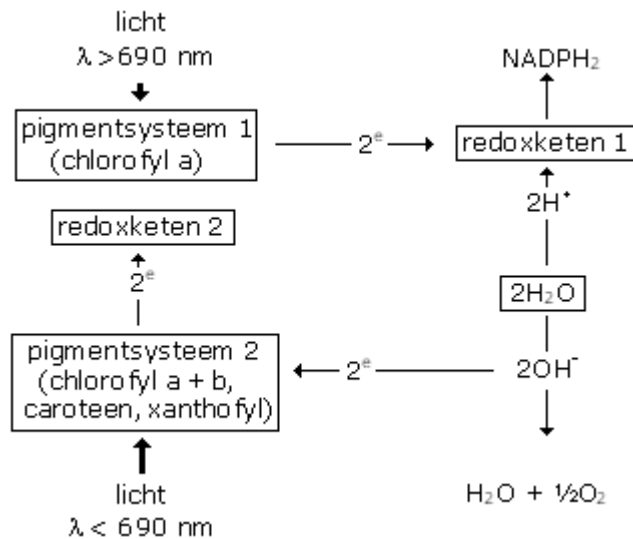
- 1. Aan een waterstof-donor (bij de meeste planten water) wordt H^+ onttrokken en gekoppeld aan een waterstof drager NADP^+ welke hierdoor overgaat in NADPH_2 .**

NADP^+ , de afkorting van **N**icotinamide-**A**denine-**D**inucleotide-**P**hosfaat, kan waterstof binden en deze naar allerlei chemische reacties in de cel vervoeren en daaraan afgeven. (De koppeling van H^+ aan NADP^+ — beide positief geladen — komt tot stand door elektronenverschuivingen binnen het molecuul NADP^+).

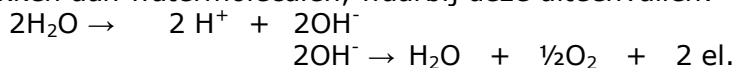
Het *pigmentsysteem 1*, bestaande uit chlorofyl a, absorbeert uit het zonlicht stralen met een golflengte ($= \lambda =$ de griekse letter lambda) groter dan 690 nm. Het raakt hierdoor aangeslagen en staat energierijke elektronen af aan *redoxketen 1*, die uit de stoffen ferredoxine, flavoproteïne en NADP^+ bestaat.

Een redoxketen is een reeks stoffen waarvan iedere stof elektronen of H^+ van de voorgaande stof overneemt en deze aan de volgende stof afstaat. De stof die elektronen of H^+ afstaat wordt geoxideerd, de ontvangende stof wordt gereduceerd. Het elektronen dragende ferredoxine is nu zo'n krachtig oxidatiemiddel geworden dat het met kracht H^+ uit een andere stof aantrekt. Deze H^+ worden uit water of uit een andere donor vrijgemaakt door de activiteit van *pigmentsysteem 2*, bestaande uit chlorofyl a en b, alsmede uit caroteen en xanthofyl.

De fotolyse van water en de vorming van NADPH₂ is als volgt schematisch weer te geven:



Pigmentsysteem 2 absorbeert uit het zonlicht stralen met een golflengte kleiner dan 690 nm. Het chlorofyl a raakt in aangeslagen toestand en verliest elektronen aan een *redoxketen 2*. De elektronen worden vervangen door elektronen welke worden onttrokken aan watermoleculen, waarbij deze uiteenvallen:



Hierbij ontstaat O₂ dat als voor de fotosynthese onbelangrijk bijproduct door de plant aan de atmosfeer wordt afgegeven. Bacteriën welke andere stoffen als H₂-donor gebruiken (bijvoorbeeld H₂S, H₂ of barnsteenzuur) produceren uiteraard geen O₂, doch bijvoorbeeld in het geval van H₂S, zuivere zwavel.

Dat H⁺ en OH⁻ niet onmiddellijk na de splitsing weer met elkaar reageren komt doordat beide ionen waarschijnlijk door de submicroscopische celstructuur gescheiden blijven. Bovendien wordt H⁺ meteen door het ferredoxine opgenomen.

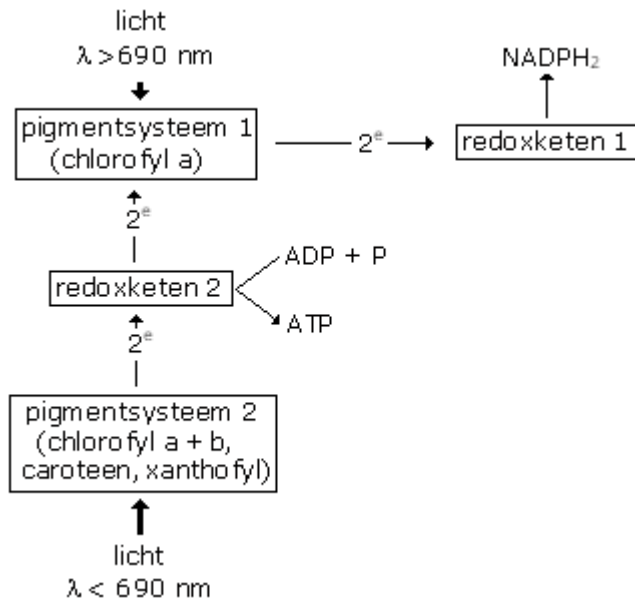
2. De geabsorbeerde stralingsenergie wordt gebruikt om ADP te fosforileren tot ATP.

Ieder elektronenpaar dat een chlorofylmolecuul verlaat geeft als energie minstens 50.000 cal af voordat deze elektronen in het molecuul terugkeren. De cel legt deze vrijkomende energie vast in de vorm van ATP. Het ATP kan, als cellulaire energiedrager, zijn derde molecuul H₃PO₄ afstaan, waarbij energie (alsmede ADP) vrijkomt. Deze chemische energie wordt voor vele belangrijke endotherme celprocessen gebruikt.

Het ATP zal later de energie leveren voor de donkerreacties van de fotosynthese.

De uit chlorofyl a van pigmentsysteem 2 verwijderde elektronen bezitten ten opzichte van het nog steeds geoxideerd zijnde — en dus krachtig elektronen aantrekkende — chlorofyl a van pigmentsysteem 1 een hoog energieniveau. Bij het transport

van deze elektronen via redoxketen 2 naar pigmentsysteem 1 wordt deze energie gebruikt om uit ADP en P het energierijke ATP te vormen. Omdat de door pigmentsysteem 1 opgenomen elektronen uiteindelijk in het NADPH_2 belanden noemt men deze wijze van ATP-vorming de *niet-cyclische fosforylering* (van ADP). Deze is als volgt schematisch voor te stellen:

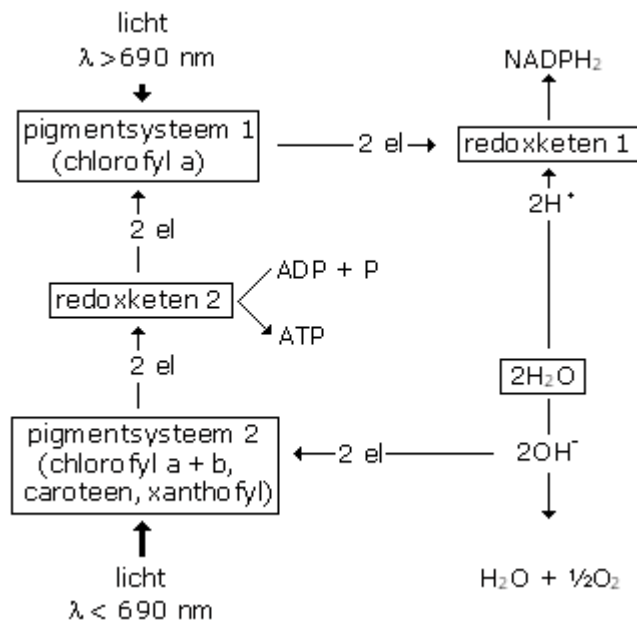


Er bestaat ook — zij het waarschijnlijk in minder belangrijke mate — een cyclische fosforylering, waarbij de uit pigmentsysteem 1 door lichtabsorptie vrijgekomen elektronen, hierin via enkele andere stoffen weer terugkeren.

3. De restauratie van de aangeslagen pigmenten

Na lichtabsorptie verliest zowel het chlorofyl a van pigmentsysteem 1 als dat van pigmentsysteem 2 elektronen. Om opnieuw te kunnen worden aangeslagen moet het elektronenbezit van beide pigmentsystemen worden hersteld, dat wil zeggen zij moeten elektronen opnemen. Binnen het complex lichtreacties vindt deze reductie dan ook inderdaad plaats. Het chlorofyl a van pigmentsysteem 1 ontvangt elektronen via redoxketen 2 (en ten dele krijgt het ook zijn eigen elektronen weer terug door cyclische fosforylering). Chlorofyl a van pigmentsysteem 2 onttrekt elektronen aan watermoleculen, waarbij deze uiteenvallen.

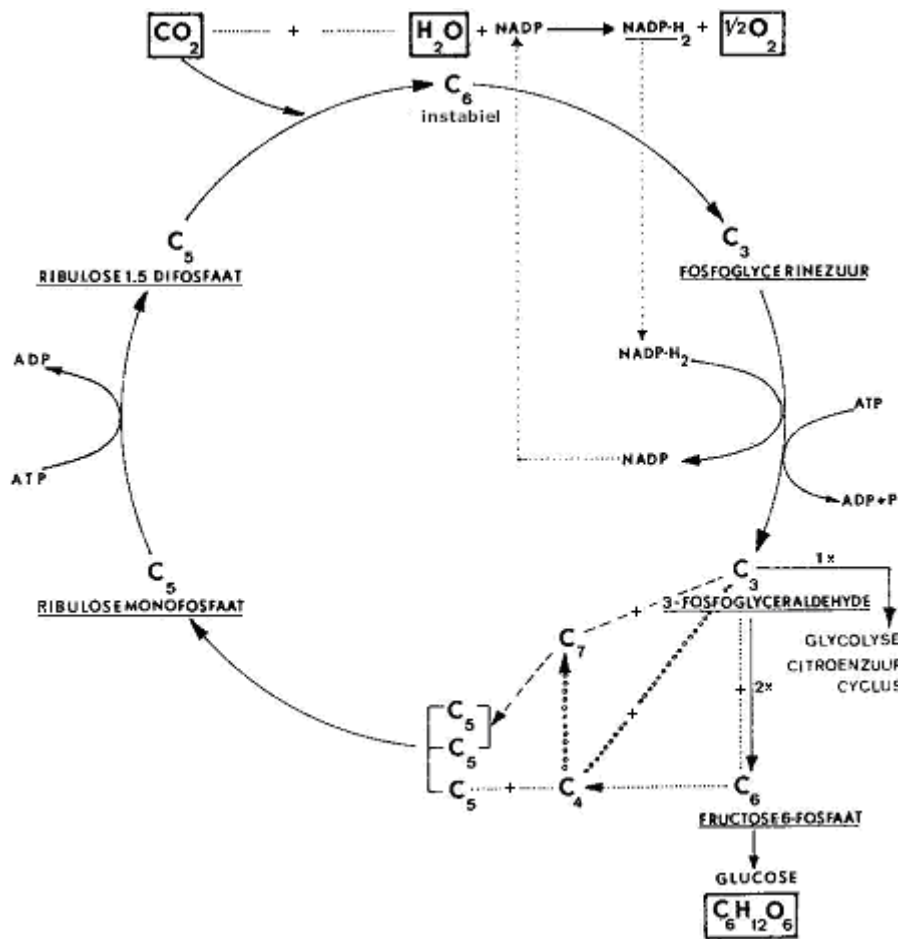
De samenhang tussen de lichtreacties is schematisch als volgt weer te geven:



b. De donkerreacties (zie figuur 28)

De vorming van $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, het glucose, verloopt allesbehalve rechtstreeks. Het is niet, zoals men lang dacht, een simpel aaneenrijgen van 6 CO_2 moleculen die van H_2 worden voorzien. Men stelde ook hier een complex vast van reacties, welke alle *zonder lichtabsorptie* kunnen verlopen. Men noemt dit complex hierom de *donkerreacties*. De erbij betrokken enzymen bevinden zich ten dele los van de thylakoiden in de chloroplast. Calvin onderzocht in de jaren 1945-1960 de synthese van glucose. Hij deed dit door onder meer de inbouw van het isotoopbevattende $^{14}\text{CO}_2$ te volgen en ontdekte dat het donkerreactiecomplex een duidelijk *kringloopkarakter* bezat. Men noemt het complex tegenwoordig de *Calvin-cyclus*.

De 'motor' van de Calvin-cyclus is het ATP; het NADPH_2 levert de benodigde waterstof. Beide zijn gevormd tijdens de lichtreacties, zodat het ATP en het NADPH_2 als de schakels tussen de licht- en de donkerreacties beschouwd moeten worden. Het opgenomen CO_2 wordt in de groene plantencel allereerst gebonden aan een suiker met 5 C-atomen (het ribulose-1,5-difosfaat). De ontstane keten met 6 C-atomen (= C_6 -keten) is echter instabiel en valt uiteen in 2 ketens met 3 C-atomen (= C_3 -ketens) (3-fosfoglycerinezuur). Dit wordt met behulp van ATP en NADPH_2 gereduceerd tot een suiker met 3 C-atomen (het 3-fosfoglyceraldehyde), dat hierna *triose-fosfaat* genoemd zal worden. Uit 2 moleculen triose-fosfaat ontstaat nu een suiker met 6 C-atomen: fructose-6-fosfaat (= een hexosefosfaat), dat kan worden omgezet in glucose. Vanuit triose- en hexosefosfaat ontstaan nu door hergroepering van de C-atomen suikers met 4,5 en 7 C-atomen (zie schema). Uit de zo ontstane 'pool' van assimilaten kan ieder onderdeel van het plantaardig metabolisme C-ketens van de voor dat onderdeel vereiste lengte als grondstof opnemen. De eiwitstofwisseling onttrekt vooral C_3 - en C_4 -ketens, de vetstofwisseling



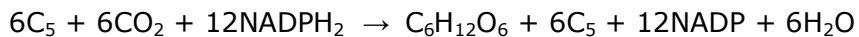
Figuur 28. Schema **van de donkerreactie** van de fotosynthese (Calvin-cyclus).

C_3 -ketens, de koolhydraatstofwisseling vooral C_6 -ketens en de stofwisseling der nucleïnezuren voor de vorming van (desoxy-)ribose C_5 -ketens. Het triosefosfaat (3-fosfoglyceraldehyde) kan bovendien in de glycolyse geoxideerd worden tot pyrodruivenzuur, dat in de citroenzuurcyclus opgenomen wordt (zie hiervoor Biothema deel 3). De metabolische 'pool' van de Calvin-cyclus is dus gekoppeld aan de 'pool' van de citroenzuurcyclus. Alle niet elders in het metabolisme verwerkte C_5 -suikers worden omgezet in ribulose-monofosfaat, dat onder ATP-verbruik overgaat in ribulose-1,5-difosfaat, waarmee de Calvin-cyclus hierboven startte. Het glucose, dat zoals gebleken is, niet *hét* doch *een* product is van de fotosynthese, wordt meteen na de vorming gecondenseerd tot zetmeel dat door zijn onoplosbaarheid uit het waterige reactiemengsel verdwijnt. Hierdoor wordt voorkomen dat door de hoge glucoseconcentratie het aflopen van enkele evenwichtsreacties uit de Calvin-cyclus belemmerd zou worden en dat de osmotische waarde van de assimilerende cel te hoog wordt. Gedurende de op een assimilatieperiode volgende donkerperiode wordt dit zetmeel enzymatisch afgebroken en (meestal als saccharose) uit de chloroplasten naar de plaatsen van verbruik of opslag getransporteerd.

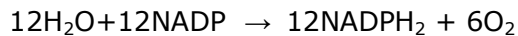
Hoewel alle stappen uit de fotosynthese hun eigen specifieke optimale condities verlangen, bezit het fotosyntheseproces een 'over-all' temperatuuroptimum van ca. 35 °C, bij een maximum temperatuur van ca. 40 °C. De optimale CO₂-concentratie in de atmosfeer bedraagt voor een sterk belichte plant ca. 0,15%, hetgeen betekent dat de normale CO₂-concentratie van 0,03% voor de meeste planten een ernstige beperkende factor is!

c. De totaal reactie

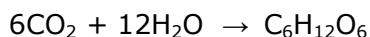
Van iedere 12 gevormde triose-fosfaatmoleculen wordt één C₆-keten (bijvoorbeeld glucose) gevormd, de overige 30 C-atomen worden (mits zij niet in het metabolisme verwerkt worden) gehergroepeerd tot 6 C₅-ketens (het ribulose-1,5-difosfaat). De donkerreacties kunnen — wanneer men het ATP buiten beschouwing laat — als volgt samengevat worden:



De lichtreacties kunnen zo samengevat worden als:



Beide reacties optellend komt men tot de reeds lang bekende totaalreactie:



Van de op een blad vallende zonnestraling wordt slechts 1 % door de chloroplasten geabsorbeerd (de rest wordt teruggekaatst of omgezet in warmte). Van deze 1% wordt 20-40% als chemische energie in koolhydraten gebonden. Dit rendement is veel hoger dan dat van de meeste door de mens veroorzaakte energieomzettingen!

II. DE CHEMOSYNTHESE

A. Inleiding

Tegen het einde van de vorige eeuw en rond de eeuwwisseling stond het 'nitrificatieproces' — de omzetting van stikstof zouten in nitraten — in de bodem in het brandpunt van de wetenschappelijke belangstelling. Deze belangstelling was veroorzaakt door de onderzoeken van de chemicus Liebig naar de behoefte van planten aan zouten en mineralen en de toepassing daarvan in de landbouw als kunstmest. De verwachtingen van de toepassing van kunstmest waren hoog gespannen: men dacht het wereldvoedsel-probleem in een klap opgelost te hebben. De onderzoeken van onder andere Pasteur, Winogradsky, Liebig en Beyerinck leidden spoedig tot de ontdekking dat bij de nitrificatie bacteriën een grote rol spelen. Het bleek dat deze pigmentloze bacteriën de voor de synthese van hun organische stoffen benodigde energie verkregen door oxidatie van zich in de bodem bevindend NH₃. Men noemt deze organismen, die zonder lichtabsorptie toch uit kooldioxide glucose kunnen maken, *chemo-autotroof* en de processen *chemosynthese*. Later ontdekte men andere soorten bodembacteriën, die alle hun eigen type anorganische stof als energiebron oxideren.

B. De chemische reacties als energiebron

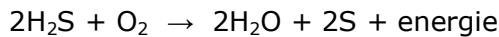
De reacties die bij de chemosynthese de benodigde energie leveren voor de synthese van glucose (kooldioxideassimilatie) zijn oxidaties van anorganische verbindingen.

Oxidatie kan zowel:

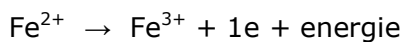
- verbinden met zuurstof,
- afgifte van waterstof,
- afgifte van elektronen inhouden.

In al deze gevallen komt er energie vrij. De reacties zijn exotherm.

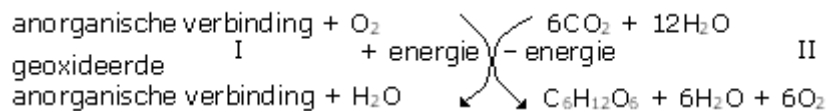
Zo zijn er bacteriën die zwavelwaterstof (H_2S) oxideren tot elementaire zwavel en water:



en zijn er bacteriën die ijzer oxideren door onttrekking van elektronen:



Met behulp van de bij de oxidatie vrijgekomen energie wordt glucose gesynthetiseerd uit kooldioxide en water. Beide reacties zijn dan ook steeds aan elkaar gekoppeld. In het onderstaande schema stelt I de energieleverende reactie en II het syntheseproces voor.



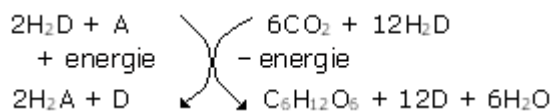
De energieleverende processen kunnen dus verlopen indien er een waterstofacceptor of electronenacceptor aanwezig is. Dit kan wel, doch hoeft geen zuurstof te zijn.

De chemosynthese kan anaëroob verlopen als zuurstof in de bodem ontbreekt.

De waterstofdonor is in de fotosynthese meestal het water. Het kan echter zoals reeds opgemerkt iedere andere stof zijn die waterstof bevat. Bij de zwavel-purperbacteriën is dit inderdaad het geval; ze zijn fotoautotroof en de waterstofdonor is H_2S .

Ook bij de chemosynthese behoeft de donor niet uitsluitend water te zijn ook daar kunnen andere stoffen de waterstof leveren, zoals bijvoorbeeld H_2S en NH_3 .

Algemeen is dit als volgt voor te stellen indien D = donor en A = acceptor is:



De D(onoren) van het energieleverende proces en het syntheseproces kunnen verschillend of hetzelfde zijn. Indien de donoren van het syntheseproces *anorganische* verbindingen zijn spreekt men van *chemo-autotrofie* en als de donoren *organische* verbindingen zijn van *chemo-heterotrofie*.

Evenals bij het fotosyntheseprocess wordt de afgesplitste waterstof tijdelijk gebonden aan de waterstofdrager NADP^+ , die het op zijn beurt weer overdraagt aan de Calvin-cyclus; een deel van de vrijkomende energie wordt gebruikt voor het synthetiseren van ATP die in de Calvin-cyclus met het NADPH_2 en de CO_2 de 'pool' van C-ketens doet ontstaan voor de synthese van koolhydraten, vetten en eiwitten.

C. Enkele chemo-synthetiserende bacteriën

Afhankelijk van het substraat dat wordt geoxideerd onderscheidt men een aantal groepen chemo-synthetiserende bacteriën. De belangrijkste zijn hieronder vermeld.

1. Nitrificerende bacteriën

Deze bacteriën spelen in de bodem een belangrijke rol. In een goed doorluchte bodem worden door het mineralisatieproces ontstane NH_4^+ ionen door deze bacteriën snel geoxideerd. Deze oxidatie verloopt in twee fasen:

- a. Nitrosomonas-soorten oxideren NH_4^+ tot nitriet
$$2\text{NH}_3 + 3\text{O}_2 \rightarrow 2\text{HNO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{energie}$$
- b. Nitrobacter-soorten oxideren nitriet tot nitraat
$$2\text{HNO}_2 + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{HNO}_3 + \text{energie}$$

Nitrosomonas levert het substraat voor Nitrobacter. Aangezien een hoge concentratie NH_4^+ toxisch is voor Nitrobacter verbetert Nitrosomonas de levensomstandigheden voor Nitrobacter.

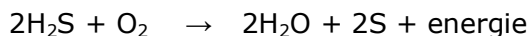
Over de betekenis van de nitrificerende bacteriën in de natuur bestaat de laatste tijd onenigheid, omdat gebleken is dat NH_4^+ ionen door bodemdeeltjes beter worden geadsorbeerd dan NO_3^- ionen, waardoor de laatste sneller kunnen uitspoelen.

Onderdrukking van de nitrificatie kan in bepaalde gevallen noodzakelijk zijn.

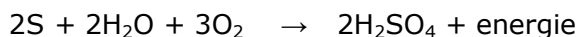
Niettemin blijft in het algemeen de biologische betekenis van deze bacteriën evident: ze zetten het door het mineralisatieproces ontstane ammoniak om in nitraat, een stikstofverbinding die door de planten kan worden opgenomen. De stikstofkringloop is zonder deze bacteriën ondenkbaar.

2. Zwavel-oxiderende-bacteriën

Sommige zwavel bacterie-soorten zijn in staat zwavelwaterstof (H_2S) te oxideren:



In de cellen zijn druppeltjes colloïdale zwavel waar te nemen. Is de zwavelwaterstof uit het milieu verbruikt dan wordt de zwavel verder geoxideerd:



Dergelijke bacteriën kunnen een grote hoeveelheid zwavelzuur produceren, waarin ze nog in leven blijven. Een pH lager dan 1 doet ze nog geen kwaad! Andere typen zwavelbacteriën kunnen anaëroob leven, indien nitraat in het milieu aanwezig is.

Ze identificeren nitraat en zijn in staat CO_2 te assimileren. Er zijn ook zwavelbacterie-soorten die organische moleculen als waterstofdonor gebruiken.

Onder de Thiobacillus-soorten (zwavelbacteriën) zijn alle chemo-autotrofe en chemo-heterotrofe stofwisselingsmechanismen aan te treffen, waardoor deze groep bacteriën moeilijk te onderzoeken is.

3. IJzer-oxiderende bacteriën

De energie die nodig is voor de assimilatie van CO_2 wordt verkregen door de oxidatie van ijzer II tot ijzer III zouten:



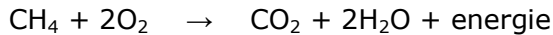
Ook deze bacteriën behoren tot de groep Thiobacillus. Ze tolereren nog een pH van 2,5. Ze zijn vaak de oorzaak van de vorming van ijzeroer in beken. Ze kunnen geleïachte kolonies vormen en waterleidingen kunnen erdoor verstopt raken.

4. Bacteriën die organisch substraat oxideren

Deze bacteriën zijn chemo-heterotroof. Zonder organisch substraat kunnen ze niet leven. Benzeenbacteriën oxideren benzeen:

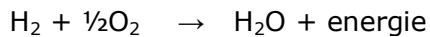


Methaanbacteriën gebruiken moerasgas als substraat:



5. Bacteriën die moleculaire waterstof oxideren.

Deze bacteriën zijn in staat tot oxidatie van H_2 om energie te verkrijgen voor de assimilatie van CO_2 .



Opmerkelijk is dat voor dit proces de zuurstofspanning aanzienlijk lager moet zijn dan die van lucht. Bovendien blijken ze bij hun assimilatie de waterstof niet alleen op CO_2 te kunnen overdragen, maar ook op een organisch substraat, dat dan zowel bij de ademhaling als bij de assimilatie verwerkt wordt.

Zoals uit de opsomming blijkt is het onmogelijk een duidelijke indeling van de bacteriesoorten te maken op grond van hun stofwisselingsstype. Steeds weer blijkt hoe merkwaardig de stofwisseling van deze bacteriën kan zijn. Toch zijn het slechts graduele afwijkingen van één grondpatroon, waarin elektronen-overdracht de energie oplevert voor alle celprocessen.

D. Overzicht

Het zal duidelijk zijn dat, afhankelijk van welk substraat er wordt geoxideerd, er een bepaalde hoeveelheid energie ter beschikking zal komen. Evenredig hiermee wordt een bepaalde hoeveelheid kooldioxide geassimileerd. Het energierendement van de chemosynthese is vele malen geringer dan van de fotosynthese. De chemo-autotrofe organismen maken gebruik van de reeds op aarde aanwezige energie; de foto-autotrofe organismen verkrijgen hun energie van buiten af: het zonlicht.

De nauwe relatie tussen foto- en chemosynthese blijkt vooral uit de gemeenschappelijke donkerreactie, die in beide gevallen vrijwel gelijk is. Bepaalde purperbacteriën kunnen via fotosynthese glucose maken; in het donker doen zij dit via chemo-synthese.

Hoogstwaarschijnlijk was de chemosynthese in de evolutie er eerder dan de fotosynthese. Zolang er nog geen fotochemische reacties mogelijk waren kon de assimilatie van CO_2 alleen plaats vinden bij een gelijktijdige oxidatie van een anorganische en/of organische verbinding. Pas toen de stralingsenergie in chemische energie kon worden omgezet werd water de elektronendonor en werd het onderscheid tussen chemo- en fotosynthese groter.

V-24 Herkenningsreacties

Aanwijzing voor de amanuensis: Het is de bedoeling dat de herkenningsreacties op vijf verschillende stoffen worden uitgevoerd. Per leerling zijn hiervoor 30 verschillende reageerbuizen nodig. Indien deze niet beschikbaar zijn, kan worden volstaan met 6 buizen per leerling, die telkens schoon gemaakt worden. Zorg dat de buizen goed schoon zijn, omdat enkele reacties bijzonder gevoelig zijn en al positief reageren met in de buizen achtergebleven stoffen.

Het practicum kost veel minder tijd, als de reageerbuizen tevoren door de amanuensis met de benodigde hoeveelheden van de reagentia worden gevuld (bijvoorbeeld met behulp van buretten) en in reageerbuisrekken (of in plankjes met een aantal gaten) worden klaargezet en als alle benodigde oplossingen, ook die van de te onderzoeken stoffen, door de amanuensis van tevoren worden klaargemaakt.

Inleiding.

Er bestaan een aantal stoffen, die een kleurverandering laten zien als ze met andere stoffen worden samengebracht. Als deze kleuromslag alleen optreedt met een *beperkte* groep stoffen, dan kan men de kleuromslag gebruiken om zo'n groep aan te tonen.

Voorbeeld: Als men een microscopisch preparaat van een houtig twijgje ongeveer 3 minuten in een 2% oplossing van floroglucinol (= phloroglucine) in ethanol legt en het daarna in geconcentreerd zoutzuur overbrengt, kleuren alleen de houtige delen van het preparaat intens rood, terwijl de andere delen van het preparaat ongekleurd blijven. In water verdwijnt de kleur weer.

Wil men het preparaat met de microscoop bekijken, dan brengt men na het kleuren en het wegzuigen van het overtollige zoutzuur met behulp van filtreerpapier eerst een druppeltje geconcentreerde glycerol op de coupe aan en daarop een dekglas, omdat de zoutzuurdampen anders de objectieven aantasten. Houtstof (lignine) wordt met floroglucinol/zoutzuur rood. Dit is een **herkenningsreactie** voor houtstof. Floroglucinol/zoutzuur noemt men dan een **indicator** voor houtstof.

Benodigdheden (recepten en toepassing van reagentia):

1. *Jood-kaliumjodide-oplossing* (= jood-joodkaliumoplossing).

Recept: - los 2 gram kaliumjodide (KI) op in 5 ml aqua dest.
 - voeg 1 gram jood (I_2) toe
 - verdun daarna met aqua dest. tot 300 ml

Toepassing: - men voegt enkele druppels van deze oplossing toe aan de te onderzoeken stof of oplossing ervan.

2. *Haines-reagens*

Recept: - los 2 gram gekristalliseerd kopersulfaat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) op in 90 ml aqua dest.
 - voeg 15 ml glycerol toe en roer goed
 - voeg 75 ml 10% oplossing kaliumhydroxide (KOH) toe

Toepassing: - voeg aan een reageerbuis met een halve ml reagens, die in heet water staat, 3 ml van de te onderzoeken vloeistof toe
 - indien de te onderzoeken oplossing een te lage concentratie heeft moet minder reagens worden gebruikt.

Opmerking:

Bewaar het reagens in een met een rubberstop afgesloten fles. Het is zeer lang houdbaar in tegenstelling tot het gemengde Fehling's reagens, dat gebruikt wordt om dezelfde stoffen aan te tonen.

3. Fehling's reagens

Recept: Oplossing A:

- los 35 gram kopersulfaat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) op in 500 ml aqua dest.

Oplossing B:

- los 173 gram kaliumnatriumtartraat (seignettezout, $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$) en 50 gram natriumhydroxide (NaOH) op in 500 ml aqua dest.

De benodigde hoeveelheid reagens wordt verkregen door, kort voor de uit te voeren reactie, gelijke hoeveelheden van de oplossingen A en B te mengen. Dit mengsel heeft een diep blauwe kleur en is beperkt houdbaar.

Toepassing: - zie Haines-reagens.

4. Biureet-reagens

Recept: - een 15-20% oplossing van kaliumhydroxide ($\text{KOH} \pm 3\text{N}$) of een 10-15% oplossing van natriumhydroxide ($\text{NaOH} \pm 3\text{N}$) in aqua dest.

- een 1% oplossing van kopersulfaat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) in aqua dest.

Toepassing: - voeg enkele druppels kalium- of natriumhydroxide aan 2-3 ml van de te onderzoeken oplossing toe.

- druppel voorzichtig de kopersulfaatoplossing erbij.

- op het grensvlak van de kopersulfaatoplossing en de te onderzoeken oplossing ontstaat een verkleuring.

5. Xanthoproteïne-reagens

Recept: - 66% salpeterzuur-oplossing (HNO_3 15N).

- 25% ammoniak (NH_4OH 13N)

Toepassing: - voeg aan de te onderzoeken stof of oplossing ervan een druppel 66% HNO_3 toe en verwarm voorzichtig. Er ontstaat een kleur.

- deze kleur verandert in een andere kleur indien men enkele druppels 25% ammonia toevoegt.

6. Sudan III

Recept: - los 0,2 gram Sudan III op in 100 ml 2-propanol (= isopropanol) ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$).

- verdun deze stamoplossing vlak voor gebruik met 100 ml aqua dest.

toepassing: - voeg enkele druppels van deze oplossing toe aan de te onderzoeken stof.

- goed schudden: de kleurreactie treedt op in de vorm van druppels of lagen in het mengsel.

7. Jood-zinkchloride (= chloorzinkjodium).

Recept: - los 20 gram zinkchloride (ZnCl_2), 6,5 gram kaliumjodide (KI) en 1,3 gram jood (I_2) op in 10 ml aqua dest.

toepassing: - voeg enkele druppels van deze oplossing toe aan de te onderzoeken **droge** stof.

Opmerking:

De oplossing in een donkere fles bewaren. Ze bederft echter na een paar maanden.

De totale concentratie aan zinkchloride moet ongeveer 65% bedragen. Daalt deze beneden 60%, dan vindt de reactie slecht of in het geheel niet plaats. Het reagens is zeer hygroscopisch, daarom moet de fles goed gesloten blijven.

Uitvoering van de herkenningreacties:

Men gebruikt of Haines of Fehling's reagens. Indien men beide wenst te gebruiken wordt het aantal reageerbuizen per leerling met één vermeerderd. De onder A tot en met E vermelde reacties worden uitgevoerd met het doel na te gaan welk reagens als indicator dienst kan doen voor een bepaalde stof (of groep stoffen). In een tabel — zie F — worden de verkregen gegevens vermeld. De toepassing vindt plaats onder G waar met behulp van herkenningreacties (kwalitatief) wordt nagegaan welke stoffen in bepaalde levensmiddelen aanwezig zijn.

A. Welk reagens is geschikt voor welke stof?

– Zetmeel

- vul 5 reageerbuizen met 0,1% zetmeeloplossing (amylum solubile): de buizen voor $\frac{1}{6}$ deel vullen.
- voer de herkenningreacties 1, 2 (of 3), 4, 5 en 6 achtereenvolgens uit zoals daar vermeld is.
- vermeld in bijgaande tabel eerst de uitgangskleur en vervolgens de optredende kleur of kleuromslag door het grote hokje in de betreffende kleur te kleuren.
- als alle buizen getest zijn geeft men in de tabel de positieve reactie aan met een + in het kleine hokje in de betreffende kolom.

– Glucose

- vul 5 reageerbuizen met 1% glucose-oplossing: de buizen voor $\frac{1}{6}$ deel vullen.
- voer de herkenningreacties 1, 2 (of 3), 4, 5 en 6 achtereenvolgens uit zoals dat daar vermeld is.
- vermeld in bijgaande tabel eerst de uitgangskleur en vervolgens de optredende kleur of kleuromslag door het grote hokje in de betreffende kleur te kleuren.

– Vetten

- vul 5 reageerbuizen voor $\frac{1}{6}$ deel met aqua dest.
- voeg aan iedere buis 5-8 druppels sla- of olijfolie toe.
- voer de herkenningreacties 1, 2 (of 3), 4, 5 en 6 achtereenvolgens uit zoals dat daar vermeld is.
- schud deze buizen tijdens en na het uitvoeren van de reacties en laat ze een tijdje staan voordat het resultaat wordt waargenomen.
- vermeld in bijgaande tabel eerst de uitgangskleur en vervolgens de optredende kleur of kleuromslag door het grote hokje in de betreffende kleur te kleuren.
- als alle buizen getest zijn geeft men in de tabel de positieve reactie aan met een + in het kleine hokje in de betreffende kolom.

Opmerking:

Deze herkenningreactie verloopt alleen goed indien het vet (of de olie) zich in een waterig milieu bevindt.

– Eiwitten

- roer of klop het wit van een ongekookt ei met een gelijke hoeveelheid 0,9% NaCl-oplossing tot het mengsel dun vloeibaar is.
- vul 5 reageerbuizen met deze 50% kippeneiwit-oplossing: de buizen voor $\frac{1}{6}$ deel vullen.
- voer de herkenningreacties 1, 2 (of 3), 4, 5 en 6 achtereenvolgens uit zoals dat daar vermeld is.
- vermeld in bijgaande tabel eerst de uitgangskleur en vervolgens de optredende kleur of kleuromslag door het grote hokje in de betreffende kleur te kleuren.
- als alle buizen getest zijn geeft men in de tabel de positieve reactie aan met een + in het kleine hokje in de betreffende kolom.

- **Cellulose**
- breng onder in 6 reageerbuizen een klein plukje watten of wat snippers filtreerpapier.
- voer de herkenningreacties 1, 2 (of 3), 4, 5 en 6 achtereenvolgens uit zoals dat daar vermeld is, en 7 met droge stof.
- vermeld in bijgaande tabel eerst de uitgangskleur en vervolgens de optredende kleur of kleuromslag door het grote hokje in de betreffende kleur te kleuren.
- als alle buizen getest zijn geeft men in de tabel de positieve reactie aan met + in het kleine hokje in de betreffende kolom.
- **Tabel herkenningreacties**
- verzamel de bij a tot en met e verkregen gegevens in onderstaande tabel

	Beginkleur	Zetmeel	Glucose	Olie/vet	Eiwit	Cellulose
Jood-kaliumjodide						
Haines						
Fehling						
Biureetreactie						
Xanthopr. reactie						
Sudan III						
Jood-zinkchloride						

B. Onderzoek van voedingsmiddelen

- maak een aantal buizen gereed met: sinaasappelsap, limonade, suikerwater, melk, pinda-, ui- en aardappelschraapsel en andere voedingsmiddelen.
- maak eerst een hypothese over de aanwezigheid van zetmeel, glucose, vet, eiwit en cellulose in het te onderzoeken voedingsmiddel.
- toets de hypothese met behulp van de herkenningreacties 1 tot en met 7.

	Zetmeel	Glucose	Vet	Eiwit	Cellulose
Sinaasappelsap					
Limonade					
Suikerwater					
Melk					
Pindaschraapsel					
Ui-schraapsel					
Aardappelschraapsel					

V-25 Analyse van een dagmenu

Met behulp van de gegevens uit de Nederlandse voedingsmiddelentabel is het mogelijk om de samenstelling van een dagmenu te analyseren en de resultaten te vergelijken met de eisen die aan een evenwichtig samengesteld menu gesteld moeten worden.

Opdrachten:

1.
 - lees vóór u begint in de Nederlandse voedingsmiddelentabel de toelichting op die tabel.
 - bepaal uw eigen calorieënbehoefte met behulp van de tabel 'Gemiddelde calorieënbehoefte bij vijf vormen van activiteit bij verschillende lichaamssamenstelling'. Corrigeer volgens de gegevens bij deze tabel voor leeftijd, lichaamsgewicht en lichaamssamenstelling. (Onderwijzend personeel wordt in groep IB: 'geringe activiteit' geplaatst.)
 - Zoek in de tabellen 'Aanbevolen hoeveelheden calorieën en nutriënten per persoon per dag' de bij uw calorieënbehoefte aanbevolen hoeveelheden nutriënten. Noteer deze gegevens op de onderste regel van werkblad I.
2.
 - noteer gedurende een normale door de weekse dag alle voedingsmiddelen die u gedurende deze dag gebruikt. Orden deze gegevens (alle sneden brood bij elkaar bijvoorbeeld) en noteer ze op werkblad I in de eerste en tweede kolom.
 - zoek de gegevens in de tabel op en vul de overige kolommen van het werkblad I in.

Voor het schatten van maten en gewichten kunt u gebruik maken van de tabel 'Maten en Gewichten' opgenomen in de voedingsmiddelentabel. Staat een van de door u gebruikte voedingsmiddelen niet in de tabel, dan zit er niets anders op dan met een brievenweger de hoeveelheid te bepalen!

- tel de ingevulde getallen per kolom op en vergelijk met de voor u aanbevolen hoeveelheden (A). Bedenk dat een afwijking van 10% naar boven of naar beneden normaal is.
3.
 - vul onderaan op het werkblad II de aanbevolen hoeveelheden calorieën en nutriënten voor een 14-jarige jongen of voor een 14-jarig meisje in. Stel een dagmenu samen en verdeel de voedingsmiddelen zo over de verschillende maaltijden dat een voor Nederland normaal voedingspatroon ontstaat. Vul de gegevens in op werkblad II.

Werkblad I

Lengte-----cm

Gewicht-----kg

Voedings- middelen van één dag	Gewicht in grammen	Aantal kcal	Cal. Leverende voeding			Mineralen		Vitaminen							
			eiwit gr	vet gr	koolh. gr	Ca (mg)	Fe (mg)	Vit. A (mg)	β – caro- teen (mg)	Vit. B ₁ (mg)	Vit. B ₂ (mg)	Nicotine- zuur (mg)	Vit. C (mg)		
TOTAAL															
Aanbevolen	gram	kcal	kcal	Kcal 30- 35%	Kcal 55- 60%	gram	mg	mg	mg	mg	equi- valent	mg			

Werkblad II

Lengte-----cm

Gewicht-----kg

Voedings- middelen van één dag	Gewicht in grammen	Aantal kcal	Cal. Leverende voeding			Mineralen		Vitaminen							
			eiwit gr	vet gr	koolh. gr	Ca (mg)	Fe (mg)	Vit. A (mg)	β – caro- teen (mg)	Vit. B ₁ (mg)	Vit. B ₂ (mg)	Nicotine- zuur (mg)	Vit. C (mg)		
TOTAAL															
Aanbevolen	gram	kcal	kcal 30- 35%	Kcal 55- 60%		gram	mg	mg	mg	mg	equi- valent	mg			

V-26 Vergelijkende anatomie van mondwerktuigen: voedselopname bij dieren

I. INLEIDING

Het verschil tussen plant en dier is ruwweg voor iedereen duidelijk: planten staan vastgeworteld in de grond, verplaatsen zich niet en dieren bewegen, verplaatsen zich voortdurend. Dit hangt samen met het fundamentele verschil in de manier waarop deze organismen voedsel opnemen. Hoe planten voedsel opnemen is in het voorgaande besproken. Hoe dieren voedsel opnemen hangt, zoals hierna zal blijken, sterk af van hun lichaamsbouw.

Het verschil tussen plant en dier is het minst duidelijk bij de eencellige zweepdieren (Flagellata). Sommige zijn groen (Euglena) en voeden zich als autotrofe planten, andere voeden zich als de heterotrofe dieren. Groene flagellaten, die in het donker gehouden worden, verliezen hun bladgroen en gaan zich op heterotrofe wijze voeden. Zij lijken op eencellige diertjes.

Dieren zijn niet in staat de zonne-energie op te nemen en daarmee voedingsstoffen te synthetiseren. Zij moeten hun prooi meestal actief opzoeken. Sessiele (vastzittende) dieren hoeven hun prooi slechts van dichtbij naar zich toe te halen: zij zijn minder actief, waardoor vele van deze dieren in het verleden voor planten aangezien werden en nu nog steeds plantennamen hebben (zeeanemoon, zee-anjelier, zee-chrysant en zee-lilie). De verscheidenheid aan voedsel, alsmede de verscheidenheid in grootte en complexiteit van dieren heeft geleid tot zeer verschillende manieren van voedsel opnemen (steken, zuigen, scheuren, kauwen, etc.).

Iedere wijze van voedselopname vereist zintuigen die informatie verschaffen uit de omgeving, mechanismen voor de voortbeweging om het voedsel te benaderen of te bemachtigen, mechanismen om het voedsel op te nemen (mondwerktuigen) en tenslotte een daarbij passend verteringsproces. Al deze systemen dienen dan gecoördineerd te functioneren, hetgeen leidt tot een 'zinvol' gedrag. Een gedrag leidend tot 'to be or not to be': wel eten, maar niet gegeten worden.

II. VOEDSELOPNOME OP CYTOPLASMA-NIVEAU

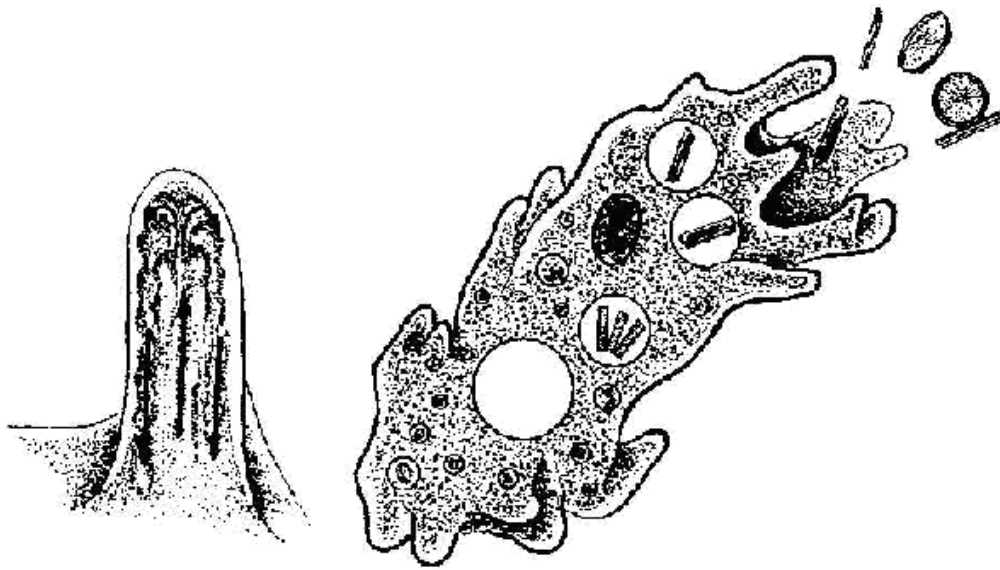
Eenvoudige organismen bezitten mechanismen voor de voedselopname op het niveau van de cytoplasma-organisatie, dit zijn de organellen.

De meest eenvoudige vorm van voedselopname treffen we aan bij de amoebe.

Deze vormt *schijnvoetjes* of *pseudopodiën*. Aan de oppervlakte van het diertje vormen zich stompe uitsteeksels; het cytoplasma wordt daar ter plaatse meer vloeibaar en vloeit uit naar de top van het uitsteeksel. In de top van het pseudopodium buigt de stroom om en keert langs de buitenzijde terug waarbij het cytoplasma steviger wordt. Op deze wijze kan een amoebe steeds vervloeiend zich naar alle zijden voortbewegen (zie figuur 29 en 30). Bij voedselopname worden deze pseudopodiën ver uitgestoken en omvatten de prooi. De prooi komt dan in een kleine tegelijkertijd opgenomen hoeveelheid water in het cytoplasma te liggen: de *voedselvacuole* (zie figuur 30)

Vanuit het omringende cytoplasma komen de enzymen binnen om de prooi te verteren.

Aanvankelijk is het vacuolevocht zuur om de prooi te doden, later wordt de inhoud alkalisch, een milieu voor de betreffende verteringsenzymen. Neemt een amoebe dood materiaal op dan pakken de pseudopodiën dit voedsel beet. Blijkbaar kan een amoebe voedseldeeltjes van elkaar onderscheiden en vertoont aangepast gedrag. Deze wijze van voedselopname noemt men **fagocytose**. Het opnemen van vloeibare deeltjes (pinocytose) komt hierna ter sprake (zie V-30). Ook bij hogere dieren komen cellen voor die fagocytose vertonen: leukocyten, histiocyten en lymfocyten.



Figuur 29. Een pseudopodium. Centraal stroomt een sol die in de top uitwaaiert en aan de buitenzijde terugkeert.

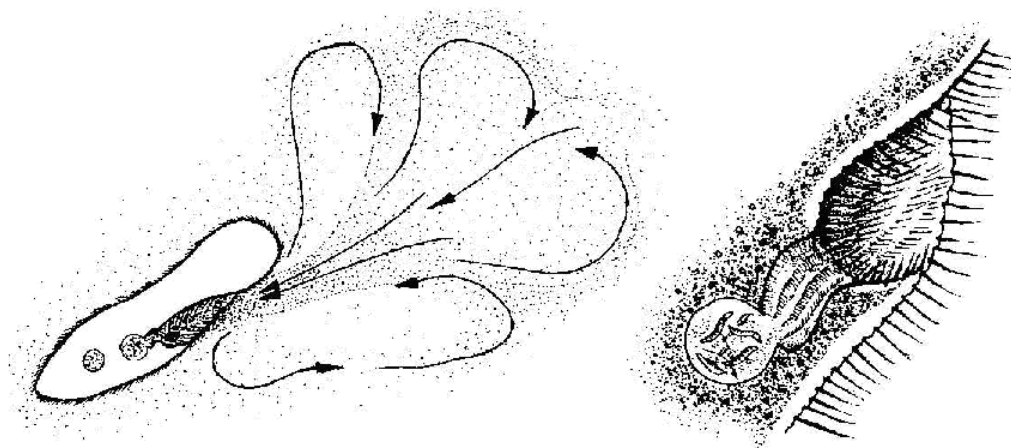
Figuur 30. Fagocytose. Amoebe eet met behulp van pseudopodiën kiezelwieren. In de amoebe zijn drie voedselvacuolen en een contractiele vacuule zichtbaar.

Opmerking:

Een druppel chloroform in water vertoont een op fagocytose lijkende 'voedselopname'; paraffine wordt opgenomen, hout wordt geweigerd. Houtdeeltjes verpakt in paraffine worden opgenomen en nadat de paraffine is 'verteerd' 'spuwt' de druppel het houtdeeltje uit.

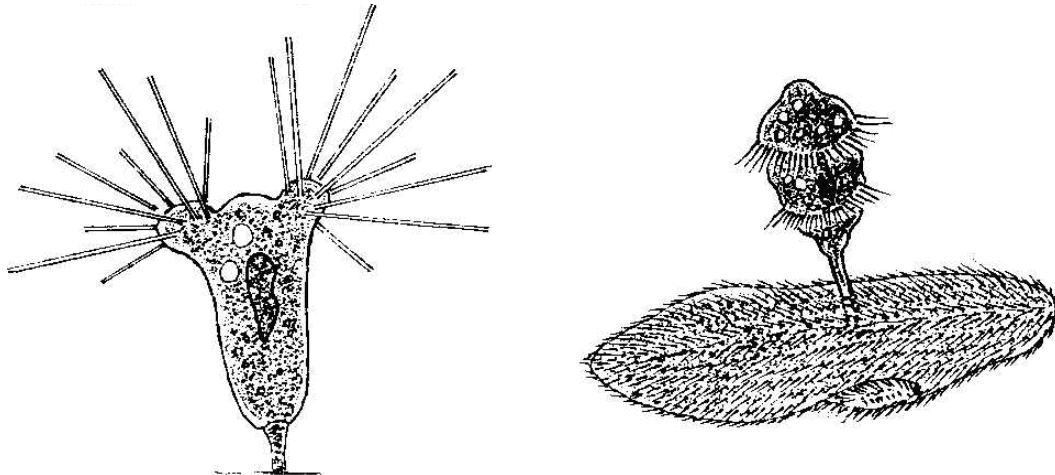
Ingewikkelder wordt de voedselverwerving bij dieren met een meer gefixeerde vorm. Het voedsel wordt dan opgenomen op één bepaalde plaats die we met mond kunnen aanduiden. We vinden deze situatie bijvoorbeeld bij het pantoffeldiertje.

Aan een zijde van het diertje bevindt zich een trechtervormige insluiting bezet met trilharen of ciliën. De trilharen veroorzaken een stromingsveld in het omringende water waardoor eetbare partikeltjes zoals bacteriën de trechter binnenkomen,



Figuur 31. Pantoffeldiertje. Links: watercirculatie veroorzaakt door de ciliën van de mondtrechter. In de stroom worden voedselpartikels meegesleurd. Rechts: Detail. Mondtrechter en 'slokdarm' met aansluitende voedselvacuole. De 'slokdarm' bevat undulerende membranen (aaneengesloten ciliën).

zich onderin concentreren en in een voedselvacuole opgenomen worden. De volle voedselvacuole laat los van de mondtrechter, gaat door het cytoplasma circuleren en wordt aan de trechter vervangen door een nieuwe vacuole (zie figuur 31). Etende pantoffeldiertjes komen vol te zitten met gevulde voedselvacuolen. Pantoffeldiertjes reageren positief op zwak zure omgeving; daar bevinden zich de meeste bacteriën. Bij eencelligen komen nog andere vormen van voedselopname voor. Didinium is uitgerust met een lange stilet waarmee andere eencelligen gespietst worden; Suctoria hebben lange holle cytoplasmabuizen waarmee prooien leeggezogen worden (zie figuur 32).



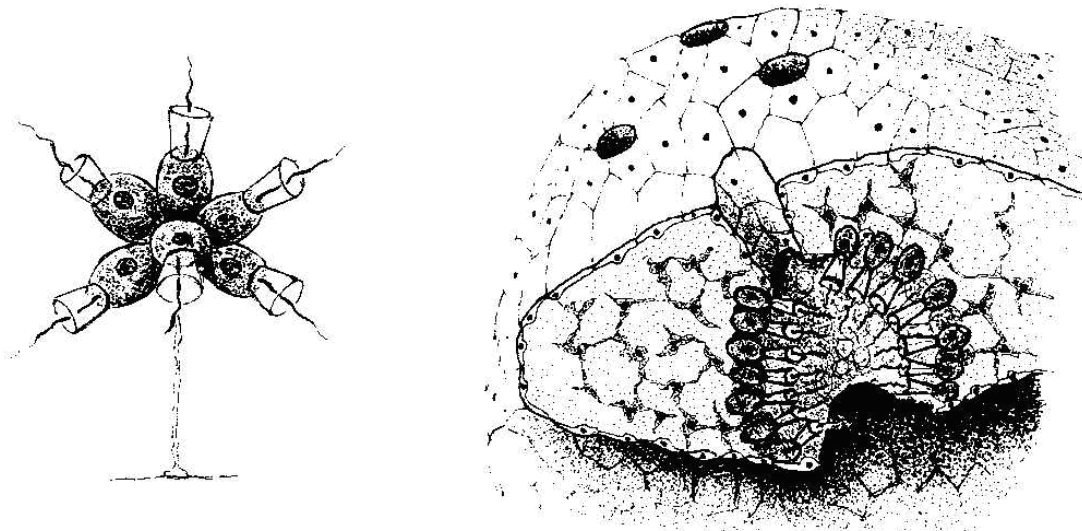
Figuur 32. Links: Tokophrya spec. Een eencellige (Suctoria) voorzien van holle cytoplasmauitsteeksels die dienen om prooien leeg te zuigen (n. Redeke, 1948). Rechts: Didinium spec., die met behulp van een soort priem een pantoffeldiertje aanboort en leegzuigt. (n. Redeke, 1948)

III. VOEDSELOPNAME OP CEL-NIVEAU

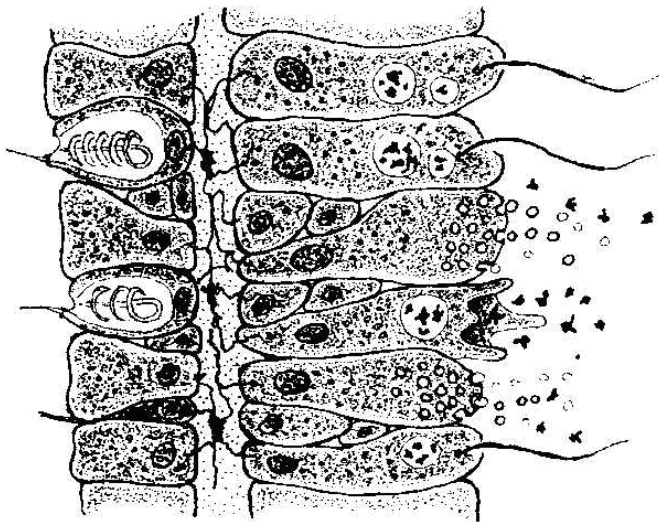
Bij de laagste groepen meercelligen (sponsen en holtedieren) treedt een *organisatie op cel-niveau* op met behoud van de voedselopname op het cytoplasmaniveau. Gespecialiseerde cellen bij de sponsen zorgen voor inwendig watertransport. Het zijn de *kraagcellen*: cellen voorzien van een cilindrische kraag cytoplasma, die in de lichaamsholte uitsteekt.

In de cilinder bevindt zich een zweefhaar. De door deze zweefhaar opgewekte waterstroom brengt de voedselpartikeltjes op de buitenzijde van de kraag waar het stromende cytoplasma van de kraag de partikeltjes in de voedselvacuole brengt. Tussen de twee cellagen, waar de spons uit bestaat, bevinden zich amoeboïde cellen die door hun pseudopodiën met elkaar in verbinding staan. Ze nemen het verteerde voedsel op vanuit de kraagcellen en distribueren dit door het gehele organisme (zie figuur 33). Bij de holtedieren vinden we voedselopname door middel van tentakels bezet met netelcellen. De ontploffende netelcellen verlammen en vangen de prooi, die dan door de tentakels in de lichaamsholte gebracht wordt. Cellen in de wand van de lichaamsholte scheiden enzymen af. Verteerde delen worden door de in de wand liggende cellen met behulp van pseudopodiën opgenomen (zie figuur 34).

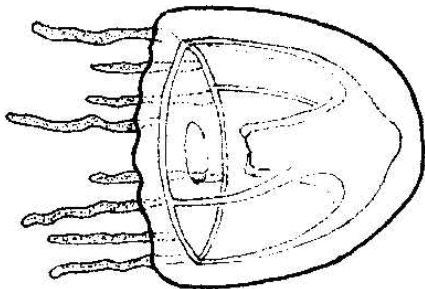
De lichaamsholte is een soort voormaag waar het voedsel een voorvertering ondergaat, zodat deze dieren in staat zijn andere dieren te verorberen die hen in grootte overtreffen. Flagelcellen komen in de holte eveneens voor; zij zorgen voor transport door de gehele holte.



Figuur 33. Links: Een kolonie flagellaten (*Codosiga* spec.) Deze gekraagde eencellige lijkt zeer veel op de kraagcellen die bij sponzen voorkomen, (n. Redeke, 1948)
 Rechts: Detail van een spons. Een trilhaarkamer met kraagcellen.
 Aan de buitenzijde in-stroomopeningen, waardoor het water in de trilhaarkamers komt.
 Achter de kraagcellen bevinden zich amoeboïde cellen.



Figuur 34. Detail van de wand van een zoetwaterpoliep (*Hydra* spec.)
 Buitenzijde (links): twee netelcellen en één zintuigcel.
 Binnenzijde (rechts): zweefhaarcellen met gevulde voedselvacuolen, amoeboïde cellen, voedsel partikels fagocyterend en kliercellen die enzymen produceren.
 In de tussenlaag bevinden zich zenuwcellen.



Figuur 35. Jong stadium van een kwal (*Craspedacusta* spec.) uit het eutrofe zoetwater in Nederland. Maagholte met radiairkanalen. (n. Redeke, 1948)

Bij nog grotere holtedieren (zoals kwallen) komen kanaalsystemen voor, die uitgaan van de maagholte en voor de distributie van het voedsel zorgdragen. Meestal zijn deze systemen radiaal gerangschikt (zie figuur 35).

De vrij zwemmende dieren hebben een klokvorm. De klok pulseert voortdurend en veroorzaakt een voortbeweging omhoog om het zinken te compenseren. De tentakels worden al of niet gestrekt en vissen zo een heel gebied af. De beweging en voedselopname vereist een grotere coördinatie: kwallen hebben een diffuus zenuwstelsel en bezitten zintuigorgaantjes (bijvoorbeeld voor het evenwicht). Veel kwallen hebben binnen de krans van tentakels, rond de mond zogenaamde mondlappen. Deze zijn bezet met trilharen, die de door de tentakels gevangen diertjes naar de mond brengen. De lichaamsholte bij anemonen is verdeeld door tussenschotten. Hierdoor is het verterende en voedselopnemende oppervlak vergroot waardoor deze dieren grotere prooien kunnen eten.

IV. VOEDSELOPNAME OP ORGAAN-NIVEAU

Bij de tot nu toe besproken lagere dieren zijn de weinige gespecialiseerde cellen tamelijk diffuus over het lichaam verspreid. De in de verdere loop van de evolutie ontstane diergroepen verkrijgen een '*mozaïekopbouw*': in functie verwante cellen liggen dicht bij elkaar en vormen *organen*; in functie verwante organen groeperen zich bij elkaar op een doelmatige positie. Zintuigen, zenuwcellen en monddelen concentreren zich — gezien vanuit de overheersende bewegingsrichting — aan de voorzijde van het dier en maken op hun beurt deze voortbeweging weer gericht. Er ontstaat aldus een *kop*, waarachter zich een min of meer langgerekt, tweezijdig symmetrisch lichaam bevindt.

A. Wormen, mossels, slakken en inktvissen

Het voedsel wordt op één plaats — meestal de voorzijde — opgenomen. Voor transport en vertering ontwikkelen zich organen als maag en darm in de lengterichting van het dier. Eventueel nog gespecialiseerd in onderdelen zoals slokdarm, krop, maag, maagblindzakken, dunne en dikke darm. De vertering is niet meer cellulair maar *extracellulair*.

Vele wormen hebben achter de mond een *farynx* liggen. Dit is een buisvormig orgaan dat van spieren voorzien is en dat door de mond naar buiten gestulpt kan worden.

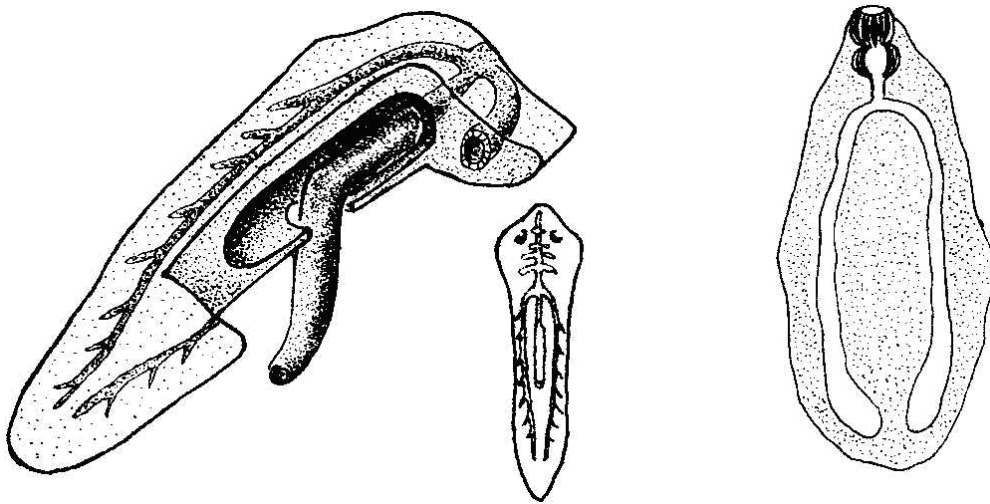
De prooi wordt of door de gespierde huid òf door zuignappen vastgehouden.

De farynx trekt de prooi aan stukken en zuigt de deeltjes naar binnen; de farynx werkt als zuigperspomp. Amoeboïde cellen in de darmwand nemen de deeltjes op voor de intracellulaire vertering.

Bij al deze dieren wordt het voedsel in de lichaamsholte of darm verteerd en opgenomen door in de wand gelegen cellen. Onverteerbare delen worden bij deze systemen door de mond uitgescheiden.

Pas toen in de evolutie de darm aan de achterzijde een eigen opening, de anus verkreeg, was verdere differentiatie mogelijk. Er ontstond een éénrichtingsverkeer van het voedsel. Voedselopname wordt nu de speciale taak van het begin van het darmstelsel.

Voor het eerst zien we deze organisatie bij in zee levende wormen: de snoerwormen (Nemertini). Dit zijn ook de eerste dieren met een circulatiesysteem met bloedvaten. Van deze wormen zij vermeld dat zij in een boven de mond gelegen buis een uitstulpbare slurf hebben liggen. Deze slurf schiet naar buiten en windt zich om de prooi of steekt deze met een stilet. Daarna wordt de slurf ingetrokken en de mond zuigt de prooi naar binnen.

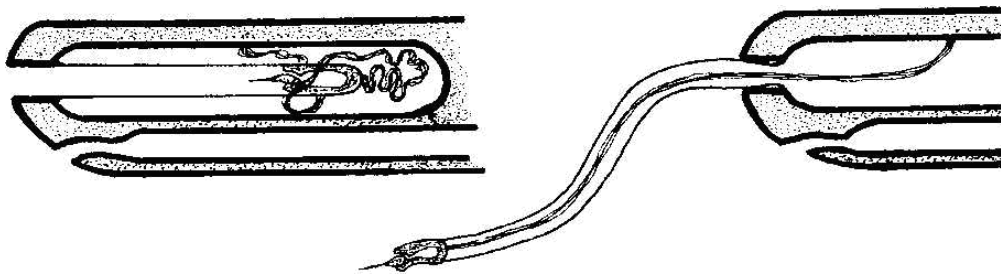


Figuur 36. Platworm (*Planaria spec.*).

Midden: Gehele dier met farynx en aansluitend darmstelsel dat blind eindigt.

Links: Deel van een platworm. De farynx met aansluitend gesloten darmstelsel. De farynx (anders opgeborgen in een schede) is hier door de mond aan de onderzijde van het dier naar buiten gestoken. (Gedeeltelijk n. Buchsbaum, 1969)

Rechts: Platworm (leverbot). Rond de mond bevindt zich een zuignap, daaronder een gespieerde farynx met aansluitend een gesloten darmstelsel.



Figuur 37. Kopeinde van een snoerworm (*Nemertini*), schematisch getekend.

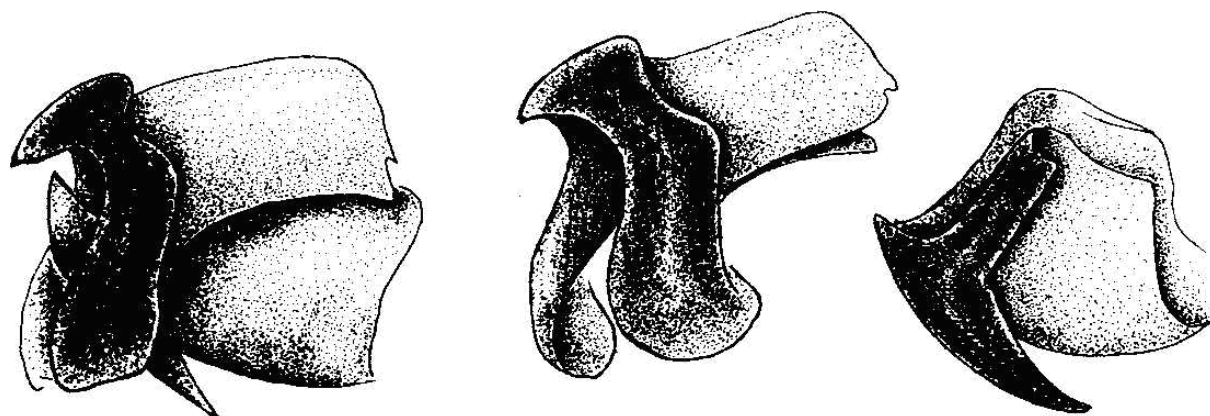
Links een ingetrokken, rechts een uitgestulpte slurf of proboscis. De slurf draagt een — steeds opnieuw te vervangen — stilet en is voorzien van een spier voor het terugtrekken in de schede. Onder de schede bevindt zich de mond en het darmkanaal, (n. Buchsbaum, 1969)

Sommige dieren (Raderdieren) behouden zelfs bij een ontwikkeld darmstelsel met anus toch nog ciliën rond de mond voor opname van voedsel. De gespieerde farynx bezit harde tandjes en maalt het door de ciliën verzamelde voedsel. Een soortgelijke verbetering en specialisatie in de voedselopname komt voor bij de slakken. In de farynx bevindt zich een *radula* of raspplaat. Dit is een gespieerde tong bezet met naar achteren gerichte chitinetandjes. De radula kan naar buiten gestoken worden en het voedsel fijn raspen door van voren naar achteren te bewegen.

De farynx zuigt het geschraapte voedsel naar binnen. Inktvissen hebben eveneens een radula doch vlak hiervoor liggen twee chitinekaken, lijkend op een papegaaiensnavel, die het voedsel in stukken knippen.



Figuur 38. Links: een doorsnede door de mond van de wijngaardslak (*Helix pomatia* L.). Het steunkussen onder de radula is voorzien van spieren, die de radula van voren naar achteren doen gaan. Voor de radula bevindt zich een soort lip die voorzien is van smaakorganen en aan de bovenzijde van de mond bevindt zich een 'bovenkaak'. Rechts: Detail van de radula, waarop de tandjes zijn weergegeven.



Figuur 39. Snavel van de zeekat (*Sepia officinalis* L.). Van links naar rechts: boven- en ondersnavel, bovensnavel en ondersnavel.

De aan slakken en inktvissen verwante mossels hebben — als partikeleeters — de ciliën behouden. Deze bevinden zich op de kieuwen in de mantelholte. De kieuwen werken als zeef, waardoor de voedseldeeltjes achterblijven in de slijm laag op de kieuwen. De ciliën voeren het slijm met het voedsel in de richting van de mond. Rond de mond vinden we de mondlappen eveneens bezet met ciliën die het voedsel via een groeve in de mond brengen.

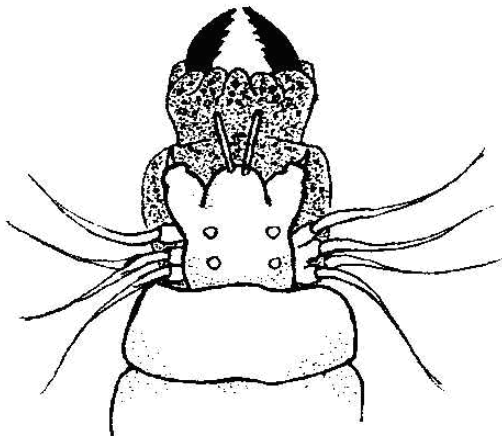
Ringwormen eten aarde met organisch materiaal met behulp van een farynx. De maag bestaat uit twee delen: een dunwandige krop, die voor voedselopslag dient en een kauwmaag. Hier wordt het voedsel met behulp van ingeslikte steentjes fijn gemalen.

Andere soorten (zeeduizendpoot, zager) hebben een farynx voorzien van kaken.

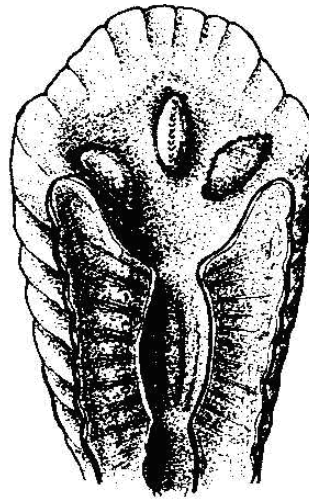
De farynx wordt uitgestoken, de kaken grijpen de prooi en de farynx wordt weer teruggetrokken. Trilharen rond de mond vinden we bij sessiele vormen (kokerwormen). Bloedzuigers zijn rond de mond voorzien van een zuignap waarin zich een drietal radiaal gerangschikte kaken met tandjes bevinden. Zij werken als cirkelzagen. Speekselklieren scheiden hirudine af dat het opgezogen bloed onstolbaar maakt.

B. Geleedpotigen

Bij de geleedpotigen treffen we per segment één paar gelede poten aan. De meest oorspronkelijke vorm is de zogenaamde *slijtpoot*. Op een basisstuk (basipood) staan twee gelede aanhangsels: één aan de binnenzijde (endopood) en één aan de buitenzijde (exopood). Van deze primitieve poot zijn alle andere poten, sprieten en mondwerktuigen afgeleid. Bij looppoten is de exopood gereduceerd en blijft een gelede endopood als poot over. De voorste slijtpoten ontwikkelen zich tot al of niet gevorkte sprieten. Bij kreeften ontwikkelen de slijtpoten zich tot scharen en dikwijls bezitten de daaropvolgende looppoten ook nog kleine scharen. Zij dienen om de prooi te vangen en vast te houden.



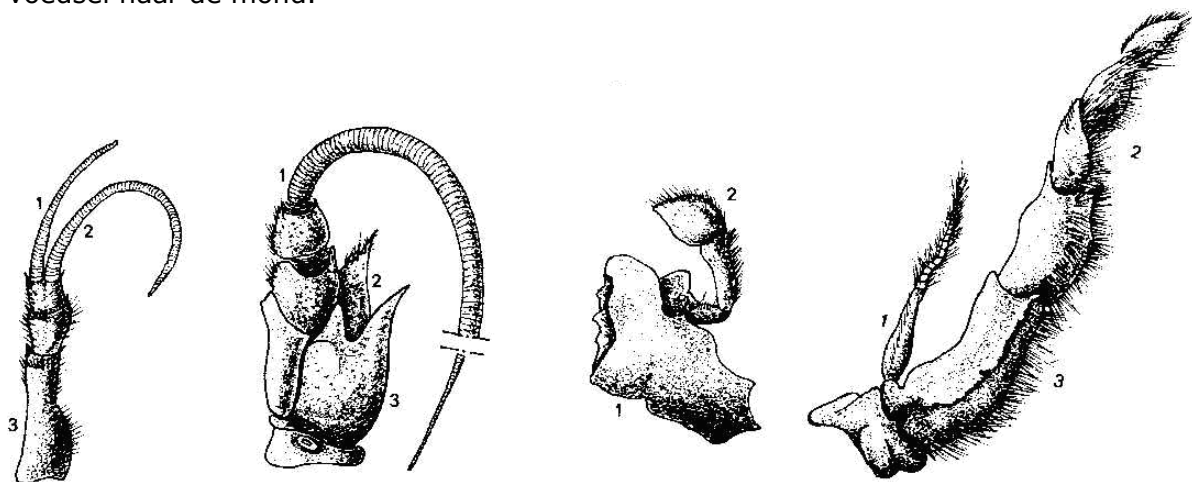
Figuur 40. Zeeduizendpoot of zager (*Nereis spec.*). De uitgestulpte farynx is voorzien van kaken. Zeevissers gebruiken zagers als aas; zij snijden er eerst de kop af: zagers kunnen gemeen bijten.



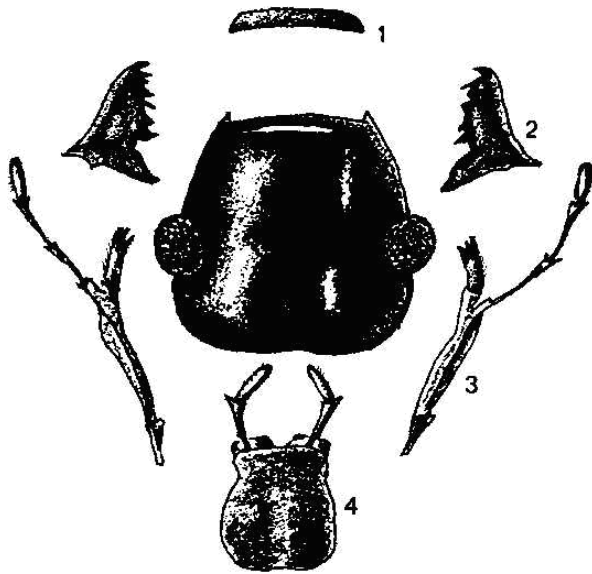
Figuur 41. De kop van de bloedzuiger (*Hirudo spec.*). Zuignap, mond en farynx zijn opengelegd. In de zuignap rond de mond bevinden zich drie radiaal gerangschikte kaken die een stervormige wond veroorzaken. De farynx is voorzien van radiaal verlopende spieren, die er voor zorgen dat de farynx als zuigerspomp werkt.

De splijtpoten op de kop hebben zich behalve tot ogen en sprieten ook tot de mondwerktuigen ontwikkeld. De endopood bezit naar binnen gerichte tanden en ontwikkelt zich tot een krachtige kaaklob, de exopood wordt een kaaktaster. Het geheel heet *mandibula* of *bovenkaak*. De twee daarachter liggende splijtpoten veranderen in de eerste en tweede *maxillae* of *onderkaken*. De exo- of endopood wordt taster of verdwijnt.

Het fraaist treffen we deze gemodificeerde werktuigen aan bij kreeftachtigen. De scharen houden de prooi vast, de mandibulae knippen kleine stukjes prooi los, de tasters proeven deze en de maxillae brengen de eetbare stukjes naar de mond. Hogere kreeften hebben bovendien nog een kauwmaag. Deze is voorzien van harde chitinelijsten. Bij lagere kreeften (*Daphne*) is de splijtpoot behouden. Ze zijn dikwijls sterk verlengd waardoor de dieren in het water blijven zweven. Door hun bewegingen wervelen ze voedsel naar de mond.



Figuur 42. Extremititeiten van de Noordzeekreeft (*Homarus vulgaris* L.). Als in de evolutie omgevormde splijtpoten zijn van links naar rechts afgebeeld: de eerste spriet of antenne, de tweede spriet of antenne, de mandibula of bovenkaak en de derde kaakpoot. 1. endopood, 2. exopood en 3. basipood.



Figuur 43. Monddelen van de pikzwarte watertor (*Hydrous piceus* L.).
 1. bovenlip (labrum), 2. bovenkaken (mandibulae),
 3. onderkaken (maxillae) met tasters, 4. onderlip (labium) met tasters.

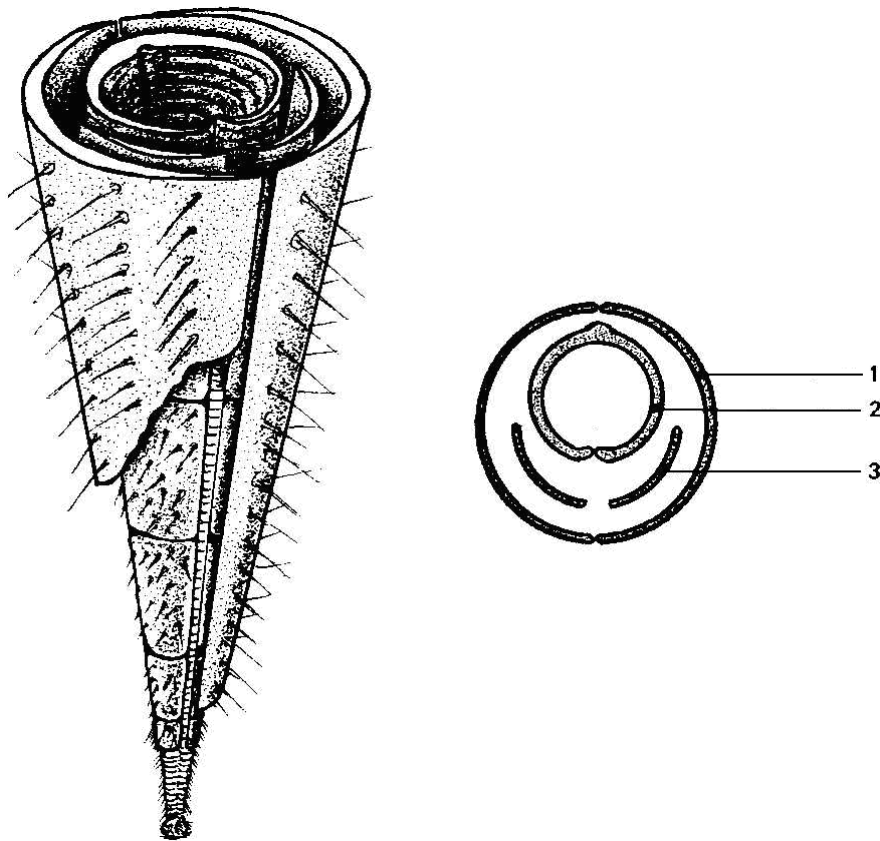
Bij insecten verdwijnt het karakter van de splijtpoot geheel met uitzondering van de maxillae. De mandibula is het restant van de basipoot; zij vormen een krachtige bijttang. Het tweede paar maxillae vergroeit dikwijls en wordt dan onderlip genoemd. Het is een plaat met aan weerszijden kaaktasters. De bovenlip die over de mandibulae en maxillae heen ligt is geen oorspronkelijke poot, maar een huidplooi van het derde segment.

We hebben dus achtereenvolgens:

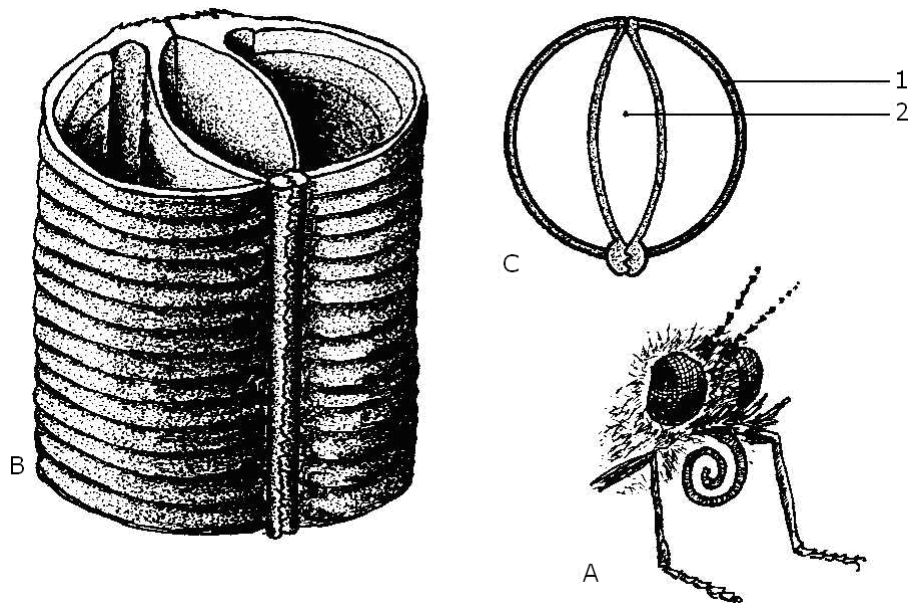
- ogen op het eerste segment.
- sprieten (antennae) op het tweede segment.
- op het derde segment:
 - bij **kreeften**: een 2e paar sprieten
 - bij **insecten**: geen sprieten, maar wel een huidplooi (bovenlip of labrum).
- een paar bovenkaken (mandibulae) op het vierde segment.
- een paar onderkaken (maxillae) met tasters op het vijfde segment.
- op het zesde segment:
 - bij **kreeften**: het tweede paar maxillae
 - bij **insecten**: een onderlip (labium = vergroeide tweede paar maxillae) met tasters.

Dit grondplan van mondwerktuigen kan wijzigingen ondergaan waardoor deze omgevormd worden voor speciale functies: *likkend-zuigende*, *zuigende* en *stekend-zuigende* monddelen. Over het algemeen komen deze wijzigingen tot stand doordat de monddelen sterk verlengd en goot- of buisvormig worden:

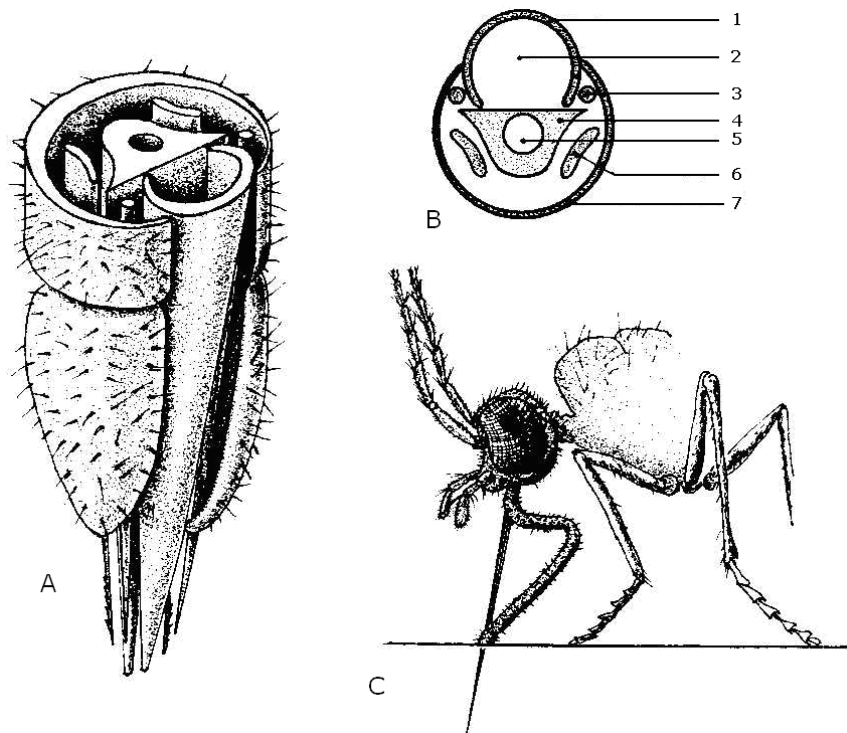
- a. Likkend-zuigende monddelen** (honingbij): De endopoden van het tweede paar maxillae worden vervormd tot een zuigbuis: de tong. Daarnaast liggen de exopoden als tasters. Het geheel wordt omgeven door de twee gootvormige eerste maxillae. De mandibulae blijven bestaan en dienen voor bijten en kneden bij de bouw van de raten.
- b. Zuigende monddelen** (vlinders): De eerste maxillae groeien sterk uit, zijn aan de binnenzijde uitgehold en passen tegen elkaar: een zuigbuis. In rust is deze opgerold. De mandibulae zijn sterk gereduceerd.



Figuur 44. Likkend-zuigende monddelen van de honingbij (*Apis mellifica* L.).
 Rechts een schematische dwarsdoorsnede.
 1. onderkaken (eerste paar maxillae), 2, onderlip of labium (tweede paar vergroeide maxillae),
 3. tasters van het labium.



Figuur 45. Zuigende monddelen van de vlinder.
 A. Kop van een vlinder met een roltong, B. Gedeelte van de roltong, C.
 Schematische dwarsdoorsnede van de roltong:
 1. onderkaken (eerste paar maxillae), 2. zuigkanaal.



Figuur 46. Stekend-zuigende monddelen van de steekmug (*Culex spec.*).

A. Onderste einde van de monddelen, B. Schematische dwarsdoorsnede van de monddelen; 1. bovenlip of labrum (huidplooi), 2. zuigkanaal, 3. bovenkaken (mandibulae), 4. hypofarynx (verlengde farynx) met speekselkanaal, 5. speekselkanaal, 6. onderkaken (eerste paar maxillae), 7. onderlip of labium (tweede paar vergroeide maxillae). C. Stekende mug. De onderlip buigt door en klapt terug. De bovenlip (zuigkanaal) en hypofarynx (speekselkanaal) dringen de huid binnen in de door de onder- en bovenkaken geboorde opening.

c. Stekend-zuigende monddelen: De onderlip (tweede maxillae) vormt een diepe groeve die afgesloten is door de bovenlip. Binnen deze buis liggen de mandibulae en de eerste maxillae, die aan hun uiteinde getand zijn en steken kunnen. Van de bodem van de mondholte verheft zich nog een ongepaard orgaan: de hypofarynx. Deze is sterk verlengd en ligt eveneens binnen de door boven- en onderlip gevormde buis. De hypofarynx is hol. Dit is het speekselkanaal, waardoor speeksel in het op te zuigen bloed gebracht wordt. Het bloed wordt daardoor onstolbaar. De bovenlip vormt met de hypofarynx een zuigkanaal, waardoor het bloed opgezogen wordt. Bij het steken rust de onderlip tegen de huid en buigt enigszins door zodat de stekende monddelen vrijkomen en kunnen boren. Vele andere variaties van monddelen zijn mogelijk.

C. Gewervelde dieren

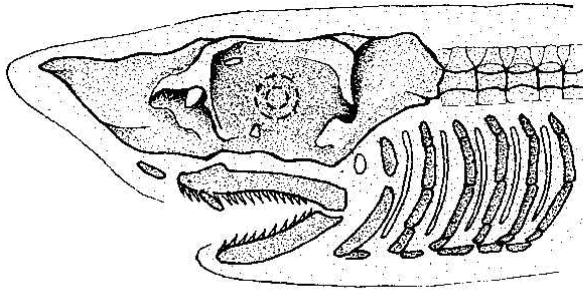
De gewervelde dieren bezitten een schedel. Functioneel-anatomisch toont de schedel vanaf het primitieve stadium bij de haaien en roggen tot aan de hogere zoogdieren een toenemende mate van vormgeving. Deze vormgeving wordt in grote mate bepaald door drie factoren:

1. de *groei en differentiatie* van de *hersenen*, vooral de volumetoename van de grote hersenen.
2. de *ontwikkeling* van de *neusholte*. Bij vissen is de neusholte een blind eindigende buis. Bij op het land levende gewervelde dieren moet de ademhalingslucht langs een aparte weg in de keelholte komen. Er ontwikkelt zich een

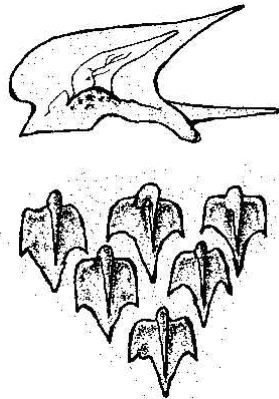
monddak, dat de mondholte scheidt van de ademholte en er ontstaan inwendige neusgaten, de choanen. Vooral bij zoogdieren wordt de neusholte naar achteren sterk vergroot en het monddak verlengd. Tenslotte levert de samenkomst van voedselweg en luchtweg een probleem bij het slikken.

3. de *voedselopname*: een gedeelte van de schedel dient voor een aan de leefwijze aangepaste manier van voedselopname.

Oorspronkelijk (haaien en roggen) is de schedel een kraakbenige doos, die hersenen en zintuigen bevat. Hieraan vast zitten een aantal kraakbeenbogen die het begin van de darm omgeven en fungeren bij voedselopname en ademhaling. De eerste kraakbeenboog is de kaakboog en steunt de mondrand; de overige functioneren als kieuwbogen.



Figuur 47. Kraakbeenschedel van de doornhaai (*Acanthias vulgaris* L). De eerste kaakboog bestaat uit een boven- en onderkaak. Deze wordt gevolgd door een reeks kieuwbogen.



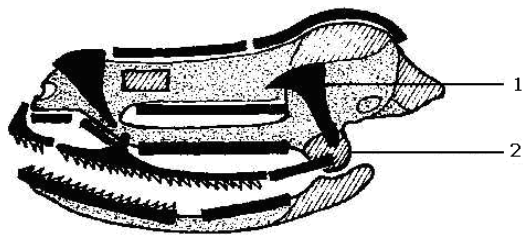
Figuur 48. Tandschubben van de doornhaai. Boven: tandschub van de doornhaai op doorsnede, met pulpaholte. Onder: tandschubben in bovenaanzicht.

Bij haaien en roggen komen in de huid schubben voor, voorzien van achterwaarts gerichte tanden. Deze huidbedekking zet zich voort over de kaakranden in de mondholte. De tanden zijn hier veel groter en de gehele mond is aan de binnenzijde van tanden voorzien. Gedurende de evolutie vanuit dit type naar de zoogdieren verdwijnt deze bekleding en beperkt zich het voorkomen van tanden tenslotte alleen maar tot de kaakranden. Zo vinden we bij vissen en slangen nog tanden in de gehele bek. Bij haaien en roggen wordt een uitgevallen tand vervangen door een nieuwe: er is een voortdurende tandwisseling. Bij hogere vertebraten resteert daarvan nog één tandwisseling van melkgebit naar definitief gebit. Alle tanden van gewervelde dieren vertonen in principe dezelfde bouw.

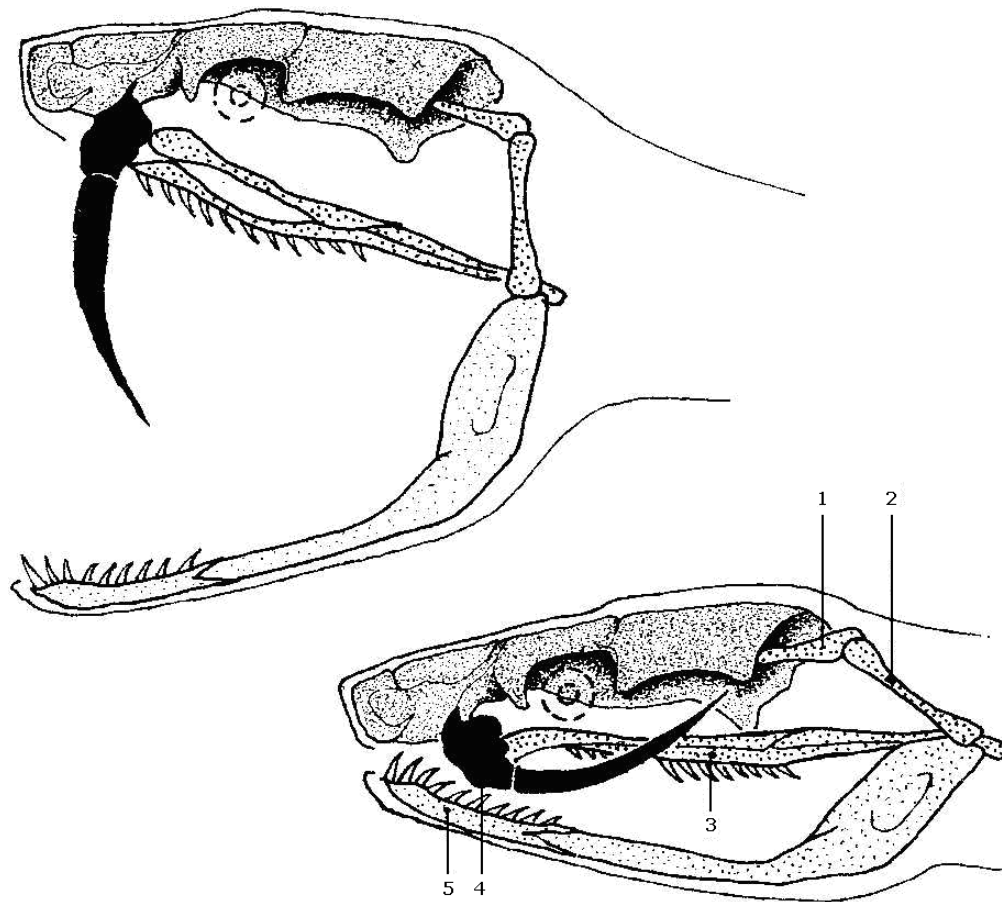
De benige schedel ontstaat uit de kraakbenige ten gevolge van twee verbeningsprocessen:

1. beenvorming in de kraakbenige substantie van de oorspronkelijke schedel.
2. in de huid gevormde dekbeenderen zakken weg in de diepte en sluiten aan op de oorspronkelijk schedel. Zo wordt bijvoorbeeld het schedeldak gevormd.

De ontwikkeling van de boven- en onderkaak in de loop van de evolutie betekende een revolutie in de voedings- en leefgewoonten van de dieren. De kraakbenige bovenkaak wordt vervangen door twee dekbeenderen: de tussenkaaksbeenderen en bovenkaaksbeenderen, die tezamen de bovenkaak vormen. Evenzo verbeent



Figuur 49. Schedel van een amfibie; schema van de schedelverbeningen.
 Gestippeld: de oorspronkelijke kraakbenige schedel; gearceerd: delen van de oorspronkelijke kraakbenige schedel die verbenen (zoals het achterhoofdsbeen) en zwart: dekbeenderen, gevormd in de huid, die de oorspronkelijke schedel vervangen.
 1. slaapbeen, 2. vierkantsbeen. (n. Kühn, 1961)



Figuur 50. Gesloten en geopende bek van een ratelslang (*Crotalus viridis* L.).
 1. slaapbeen, 2. vierkantsbeen, 3. verhemeltebeenderen, 4. bovenkaaksbeenderen (zwart met giftand, 5. dentale van de onderkaak. (n. Hesse-Doflein, 1943).

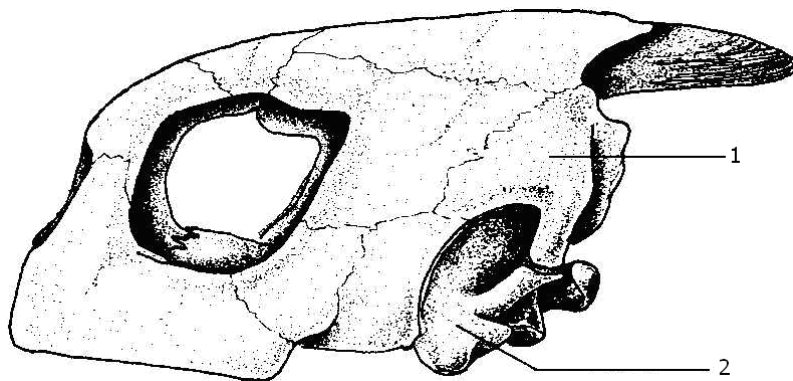
de onderkaak en wordt voorzien van een dekbeen dat tanden draagt. Bij vissen en slangen kunnen we deze beenderen nog min of meer los in de schedel terugvinden. Slangen kunnen daardoor een grote prooi verzwelgen: de beenderen verplaatsen zich ten opzichte van elkaar.

Bij andere dieren zijn deze beenderen vergroeid tot een geheel. De mond van vissen is zo geconstrueerd dat deze wijd opengestulpt kan worden. Door samenwerking van mondbodem en kieuwdeksels gaat een sterke waterstroom de bek in, waardoor die als een stofzuiger werkt. Bij de schuttersvis werkt dit systeem andersom en is de tong gootvormig, waardoor water naar buiten geschoten kan worden om een prooi te raken. De stand van de bek is eveneens een indicatie voor de wijze van voedselopname. Zo staat de bek van de rietvoorn schuin naar boven; een ideale stand om prooien van het wateroppervlakte grijpen.

Een gedeelte van de kraakbenige bovenkaak blijft nog bestaan en verbeent tot het *vierkantsbeen* (schildpadden, slangen en vogels). Het ligt tussen de schedel en het gewricht tussen de benige boven- en onderkaak. In de basis van de kraakbenige schedel ontstaan verhemeltebeenderen, die met de bovenkaak onder andere door plaatvormige uitbreiding het monddak vormen. Er ontstaan langs deze — zeer kort samengevatte — weg twee typen schedels, die hieronder beschreven worden.

a. De akinetische schedel

Bovenkaak, verhemeltebeenderen, slaapbeen en al of niet het vierkantsbeen vergroeien tot een geheel (schildpadden, krokodillen, amfibieën en zoogdieren).



Figuur 51. Schedel van de zeeschildpad (*Chelone spec.*). De bovenkaak is onbeweeglijk.
1 slaapbeen. 2. vierkantsbeen.

De bovenkaak is onbeweeglijk met de rest van de schedel verbonden. Bij zoogdieren ontbreekt het vierkantsbeen; dit is aambeeld geworden. De onderkaak blijft beweeglijk en scharniert of met het vierkantsbeen (schildpad) of met het slaapbeen (zoogdieren). Over het algemeen zijn de kaken kort en de aanhechting van de kauwspier — onder de jukboog door — is van dien aard dat bij het bijten een grote kracht ontwikkeld kan worden. De typen, plaats en ontwikkeling van de tanden en kiezen of de harde kaakrand (schildpad) in samenwerking met het type kaakgewricht is aangepast aan de wijze van voedselbemachtiging en voedselopname (koe-paard-ree; konijn-rat-eekhoorn; egel-mol; vos-kat-tijger; mens-aap en schildpad).

Op deze wijze kan voedsel vastgehouden, gescheurd, geknipt of gemalen worden. De wijze van voedselbemachtiging komt in de verdere bouw van het dier nog tot uiting. Het gebruik van de zintuigen (oog-neus), de wijze van naderen (teenganger-hoefganger), de soepelheid van de wervelkolom (tijger-koe), de lengte van de darm (vleeseter-planteneter) en daardoor het verloop van de buiklijn (omhooglopend-recht), de vorm van samenleving (solitair-kudde) en de manier van verdedigen (klauwen-hoorns) passen allen in de wijze van voedselverwerving.

b. De kinetische schedel

Bovenkaak en onderkaak zijn beweeglijk. Het vierkantsbeen blijft hier scharnierend met de onderkaak aan de ene, en met de schedel aan de andere zijde verbonden. Hierdoor kan de onderkaak zeer wijd geopend worden (slangen en vogels). Bovendien scharniert het vierkantsbeen met het jukbeen en de verhemeltebeenderen, die verschuifbaar zijn ten opzichte van de rest van de schedel. De verhemeltebeenderen liggen tegen de zeer smalle basis van de schedel. Deze is zo smal geworden doordat er tussen de oogkassen een reductie in de schedel heeft plaats gevonden. De neusholte komt gescheiden te liggen van het hersengedeelte, wat bij vogels goed te zien is. Beide gedeelten zijn door een smalle beenstrook met elkaar verbonden waarlangs de verhemeltebeenderen kunnen glijden. Deze constructie houdt in dat door het draaien van het vierkantsbeen de bovenkaak via verhemeltebeenderen en jukboog naar voren en naar boven gaat. Hiervoor moet de bovenkaak aan de bovenzijde buigzaam zijn. Het buigpunt ligt bij iedere vogelsoort anders. Papegaaien en eenden hebben het buigpunt vlak tegen de schedel liggen, bij steltlopers ligt het meer naar de snavelpunt. Steltlopers kunnen daardoor hun gesloten snavel in de zachte bodem steken en bij het vangen van een prooi alleen de beide snavelpunten openen. Andere vogels hebben geen buigzame bovensnavel (spechten, reiger en stootduikers als Jan van Genten).

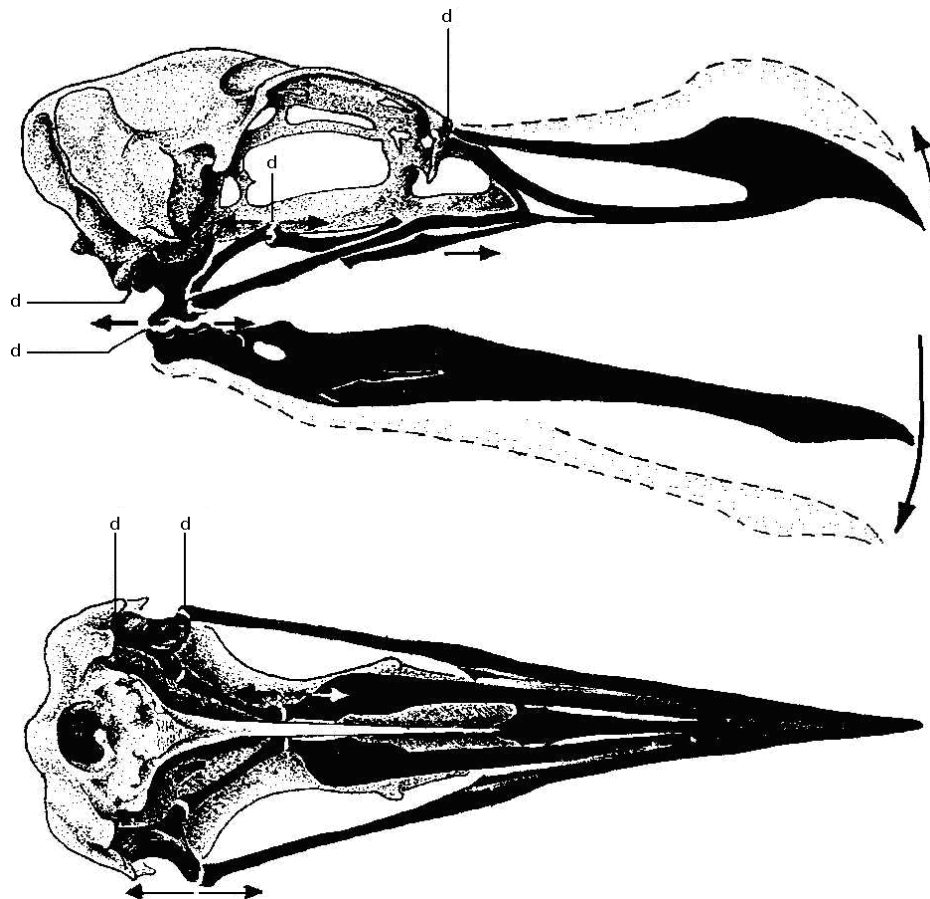
De hierboven beschreven schedelconstructie is zowel *beweeglijk* als *veerkrachtig*.

De snavel is dan ook enerzijds geschikt als pincet voor fijn werk zoals nestbouw en het lospeuteren van kleine voedseldelen en kan anderzijds dienen als beitels voor grovere stoten zoals pikken, hakken en roffelen. Bij sommige vogels (bijvoorbeeld groene specht) kan de kleverige tong door het gevorkte tongbeen ver naar buiten gestoken worden en als lijmdraad bij het bemachtigen van de prooi (mieren) gebruikt worden.

De vormen van snavel (krom, haakvormig, kegelvormig, priemvormig, lang, recht, zeefvormig of combinaties daarvan) zijn weer aangepast aan de diverse wijzen van voedselopname. De ligging van de enkelvoudige achterhoofdsknobbel en daarmee de verbinding met de al of niet lange hals is per soort verschillend. Steltlopers hebben deze knobbel aan de onderkant van de schedel; de kop staat haaks op de hals waardoor het boren in zachte grond mogelijk wordt. Bij de reiger ligt deze knobbel recht naar achteren, de snavel dient om te kunnen stoten. De bouw van de poten, ofschoon weinig gebruikt bij de directe voedselverwerving, is aangepast aan de omgeving waar het voedsel voorkomt.

V. SAMENVATTING

De wijze van voedselopname is zeer gevarieerd. Vele dieren nemen in het water zwevende deeltjes op, meestal door een waterstroom op te wekken en het water te filtreren (trilhaardieltjes, sponsen, wormen, mossels en Amphioxus). Andere slikken grote hoeveelheden aarde, zand of slik (regenwormen, zeepieren). Er zijn dieren die het voedsel in hun geheel inslikken (holtedieren, slangen), andere die het voedsel eerst verkleinen door middel van tanden, kaken of wrijfplaten in de mondopening of in de maag (inktvissen, insecten, slakken en gewervelde



Figuur 52. Boven: Schedel van de zilvermeeuw (*Larus argentatus* L.). De bovenkaak is beweeglijk. De verhemeltebeenderen glijden langs de scherpe kielbasis van de schedel. Gestippeld: onbeweeglijke deel van de schedel en zwart: de beweeglijke beenderen, d. draai- of buigpunt. Onder: Dezelfde schedel in onderaanzicht. De scherpe kielbasis, waarlangs de verhemeltebeenderen glijden, is zichtbaar. Geheel aan de buitenzijde bevinden zich de jukbeenderen.

dieren). Weer anderen verteren het voedsel alvorens het op te nemen uitwendig door spijsverteringssappen over of in de prooi te brengen (kevers, spinnen, zeester, slakken). Zeer veel dieren voeden zich met sappen uit planten of vloeistof uit dieren door deze aan te boren en te zuigen. Ze doen dit zo nu en dan (bloedzuigers, muggen, vlooien) of continu (luizen). Bij regelmatig of continu zuigen op een prooi spreken we van *parasieten*. Deze kunnen uitwendig zijn (ectoparasieten, luizen) of inwendig zijn (endoparasieten, wormen, schurftmijt).

Het voedsel is voor iedere diersoort beperkt. Er zijn weinig dieren die zowel plantaardig als dierlijk voedsel kunnen opnemen. Dit zijn *omnivoren* (varken, beer, mens). Dieren die plantaardig voedsel gebruiken noemen we *herbivoren* (paard, koe, hert); zijn het voornamelijk vruchten dan spreken we van *fructivoren* (kalong, aap). Dieren die dierlijk voedsel opnemen zijn *carnivoren* (tijger, leeuw); beperkt zich dit tot insecten dan heten zij *insectivoren* (egel, vleermuis).

Ook zijn er dieren die organisch afval eten: *saprofagen* (regenworm). Bestaat dit afval uit fecaliën dan noemen we deze dieren *caprofagen* (vele kevers); bestaat het afval uit slik, modder, zand of aarde dan spreken we van *detrituseters* (zee-pier).

Sommige dieren zijn op één bepaalde soort plant of dier aangewezen: rupsen op één bepaalde voedselplant, parasieten op een bepaalde gastheer. We noemen dit *monofagen*.

Deze onderscheidingen moeten, ofschoon zij de beperking van het voedselpakket weergeven, niet al te letterlijk genomen worden; de hoeveelheden insecten die een koe al gras etend binnen krijgt zijn aanzienlijk. Apen eten graag eieren, jonge vogels en insecten.

Het voedselpakket varieert met de levensloop van het dier. Jeugdstadia eten dikwijls ander voedsel dan volwassen dieren. Zoogdieren krijgen in hun jeugd melk; larven van vele solitaire wespen krijgen bepaalde prooien (rupsendoder-rupsen, vliegendoder-vliegen, bijenwolf-bijen, etc.) terwijl de volwassen dieren honing zuigen. Bovendien varieert het voedsel niet alleen met de leeftijd doch ook met het seizoen. Koolmezen eten in de zomer insecten, in de winter onder andere zaden.

VI. PREPAREREN VAN SCHEDELS

Koppen zijn verkrijgbaar bij abattoirs (koe, paard, varken, schaap), poeliers (kip, eend, fazant, konijn, haas, hert, ree) en fokkerijen (nerts, zilvervos).

Verwijder met een scalpel zoveel mogelijk weefsel rond het achterhoofd zodat het achterhoofds gat zichtbaar wordt en haal de hersenen met een lepel er voorzichtig uit.

Verwijder daarna van achteren af de huid van de kop en snij oren weg, verwijder eveneens de ogen. Snij nu zoveel als mogelijk is vet en spierweefsel weg.

Kook de kop in een sterke soda- of biotex-oplossing, waarna de resten aan spierweefsel, pezen, bindweefsel, etc. het best meteen pincet verwijderd kunnen worden. Kook niet te krachtig; bij het koken kunnen botten vernield worden doordat het bot poreus wordt.

Bij grote schedels (koe, paard) bevatten de botten veel vet dat, indien het blijft zitten, ranzig wordt en de schedel na verloop van tijd doet stinken. Boor kleine gaten in de botten en leg de schedel enige tijd ondergedompeld in tetrachloorkoolstof (CCl_4).

Tetrachloorkoolstof is vluchtig en brandgevaarlijk en de dampen mogen niet ingeademd worden. Breng hierom op de tetrachloorkoolstof een laag water aan. Afgieten, schedel spoelen met schoon water (gebruik rubberhandschoenen) en aan de lucht laten drogen. Losgeraakte delen als tanden vastzetten met lijm. Donkere schedels kunnen gebleekt worden door ze enkele uren in een 3% waterstofperoxide-oplossing (H_2O_2) te leggen. Schoon spoelen en laten drogen. Eventueel bespuiten met heldere plastic.

VII. PRACTICUM

Benodigdheden:

- Pantoffeldiertjes (zie V-27).
- levende slakken, levende mossels (te betrekken via de vishandel).
De mossels moeten enige tijd in goed doorlucht zeewater gelegen hebben, omdat de in de gesloten mossel optredende verhoging van de koolzuurspanning de ciliënbeweging remt.
- regenwormen (zie Biothema deel 1), sprinkhanen (zie Biothema deel 1), krekels en Daphnia's.
- schedels van schildpad, slang, vogels, hoefdieren (zoals koe, paard, ree, hert, schaap, varken), roofdieren (zoals vos, hond, kat, tijger, bunzing), knaagdieren (zoals haas, konijn, rat, eekhoorn), insecteneters (zoals egel, mol) en mensaap of mens.
- microscopische preparaten van een radula.
- microscopische preparaten van monddelen van een insect.
- 3% NaCl-oplossing.

A. Voedselopname op protoplasma niveau

Voedselopname door Paramecium: zie V-27.

B. Voedselopname op orgaanniveau

a. Weekdieren:

Slak:

- observeer in een aquarium de bewegingen van de mond van een slak.
- bekijk een preparaat van een radula en teken een klein stukje.

–

Mossel: (zie Biothema, deel 3, T-13).

- snijd de grote sluitspier van een mossel door en klap de schelp open.
- neem de bovenste schelp met de daarbij behorende mantel weg.
Laat de kieuwen intact.
- strooi vervolgens wat fijne karmijnkorrels op de kieuw.
- beschrijf de door de korrels afgelegde weg.
De mondlappen selecteren de voedseldeeltjes op grootte.
- maak van de rand van de kieuw een microscopisch preparaat door een stukje van enkele mm² in een druppel 3% NaCl-oplossing te leggen.
- leg er een dekglas op, bekijk het preparaat en beschrijf de bewegingen van de ciliën.

b. Wormen:

- zie anatomie regenworm {Biothema deel 1, IB-27)

c. Geleedpotigen:

- bekijk een microscopisch preparaat van monddelen van een insect. Teken.
- anatomie sprinkhaan (zie Biothema deel 1, IB-29). Bekijk en teken de monddelen.
- breng op een objectglas in een druppel water een Daphnia. Leg er een dekglas op.
Bekijk en teken de sprieten en poten (zie Biothema deel 3).

d. Gewervelden:

1. kinetische schedels:

- bepaal of een schedel kinetisch is door deze vast te houden bij het hersengedeelte en dan de bovenkaak of bovensnavel voorzichtig op en neer te bewegen.
- bepaal bij de kinetische schedels de draaien buigpunten van de bovenkaak.
Tussen welke beenderen liggen deze?
- hoe is bij deze schedels de ligging van de oogkassen en de breedte van de schedelbasis?
- hoe draait de onderkaak ten opzichte van de schedel?
- maak een globale tekening van een kinetische schedel waarin de voorgaande waarnemingen worden vastgelegd.
- vergelijk de ter beschikking staande schedels van vogels wat betreft de snavelvormen, ligging van het achterhoofdsgat en de hoek tussen de schedel en de hals.
Tracht deze gegevens in verband te brengen met het voedsel, de halslengte en de leefwijze van deze vogels.
- zijn de poten van deze vogelsoorten aangepast aan de voedsel verwerving, aan de voedselopname of aan het milieu waarin het voedsel gezocht moet worden?
- bepaal op dezelfde wijze bij een aantal door u uitgezochte vogelsoorten het verband tussen voedsel, voedselverwerving, voedselopname en milieu enerzijds en de snavelvormen, hals-kophoek, halslengten en poten anderzijds.

2. akinetische schedels:

- bepaal welke schedels akinetisch zijn.
- welke bewegingen zijn voor de onderkaken mogelijk bij de door u onderzochte schedels en hoe wordt de bewegingsmogelijkheid van de onderkaak door het kaakgewricht bepaald?
- welke tandtypen zijn in deze schedels aanwezig? Waar zijn ze in de kaak geplaatst en is er verband tussen de plaatsing en het voedsel?
- vergelijk de bouw van de kronen van de kiezen van vleeseters, planteneters en alleseters met elkaar. Teken.
- indien u let op de bouw van de kronen en de door u geconstateerde bewegingen van de onderkaak kunt u dan conclusies trekken ten aanzien van de voedselverwerving en voedselverwerking?
- zoek de scheurkies bij vleeseters.
Waarom heet deze kies zo en waarin onderscheidt deze zich van andere kiezen?
Waardoor zou met deze kies zo'n grote kracht uitgeoefend kunnen worden?
- vergelijk de breedte van de onderkaak met die van de bovenkaak bij vleeseters.
Waarom spreekt men hier van knipkiezen en waarom moet het voedsel 'geknipt' worden? Vergelijk deze voedsel bewerking met bijvoorbeeld het kauwen van vlees door de mens.
- hoe is de breedte en de aanhechting van de kauwspier en de ligging van de jukboog bij een vleeseter, een planteneter en bij de mens? Hoe is de lengte van de onderkaak bij deze dieren ten opzichte van de totale lengte van de schedel?
- hoe lang is de bovenkaak en daarmee de grootte van de neusholte bij de door u onderzochte schedels van vleeseters en planteneters?
- kunt u een vermoeden uitspreken of deze dieren hun ogen of hun reuk gebruiken bij de voedselverwerving?
- hoe komen de door u verzamelde gegevens van alle schedels overeen met het type dier ten aanzien van het gebruik van zintuigen, gebruik van poten, de houding en ligging van de wervelkolom, de darmlengte, de vorm van samenleving binnen de soort, alsmede de wijze van voedsel zoeken. Verdeel de schedels daartoe in groepen, zoals planteneters, vleeseters, alleseters en insecteneters.

V-27 Voedselopname door Paramecium

Onder ongunstige omstandigheden (gebrek aan voedsel of water; te lage temperatuur) kapselt een eencellige zich in en vormt zo een spore of cyste. In deze spore kan het protoplasma zeer lang levend blijven. Deze toestand wordt aangeduid met latent leven. Worden de omstandigheden weer gunstig dan neemt de spore of cyste water op en het organisme leeft verder.

Hooi bevat zeer veel cysten van bacteriën, pantoffeldiertjes en andere eencelligen. De hierna volgende kweekmethode berust op het laten 'ontkiemen' van deze cysten uit hooi. In feite zal er na verloop van tijd in de kweek een voedselweb ontstaan. Het in ontbinding zijnde hooi levert de organische voedingsstoffen voor de heterotrofe bacteriën; deze zullen zich aanvankelijk zo snel vermeerderen dat het water troebel wordt. Daarna nemen de eencelligen toe in aantal en stelt er zich een biologisch evenwicht in waarbij het water weer helder wordt en een theekleur krijgt.

Pantoffel diertjes hebben geen grote zuurstofbehoefte. De toetreding van zuurstof kan worden verhinderd door gebruik te maken van een kweekvat met nauwe opening (erlenmeyer) en door het vlies dat zich op het wateroppervlak vormt niet stuk te maken. Vele soorten eencelligen gaan daardoor dood met uitzondering van de pantoffeldiertjes, waarvan er relatief veel overblijven en die zich dan vlak onder het vlies verzamelen.

Bij vernietigen van het vlies, schudden van de kweek, meermalen achter elkaar pipetteren van pantoffeldiertjes zal men tevergeefs pantoffeldiertjes zoeken omdat deze zich in het medium verspreiden. De kweek dus niet schudden of omroeren: voorzichtig transporteren en pipetteren.

Benodigdheden:

- hooi
- erlenmeyers (1000 ml)
- zoutarme magere melkpoeder (bijv. natrinon van Nutricia)
- 10% oplossing van methylcellulose (Methocel van 400 centiPoise)
- Oost-Indische inkt
- gist in 2% congorood-oplossing
- Pasteurse pipet
- object- en dekglazen
- microscoop

Uitvoering:

a. Hooi-infuus

- vul een erlenmeyer van 1000 ml voor een kwart tot de helft met hooi en giet hier 1000 ml water bij.
- laat deze erlenmeyer bij kamertemperatuur zo lang staan totdat het water na troebel te zijn geweest de kleur van thee krijgt. Op het water ontwikkelt zich een dik vlies.
- trek met een pasteurse-pipet een monster *vlak onder* dit vlies. De punt van de pipet dient bij het pipetteren met de dalende vloeistofspiegel mee te gaan.
- bedien **alle** leerlingen met de inhoud van één pipet.
Meerdere keren achter elkaar monsters nemen gaat niet!

b. Magere melkkweek

- vul een erlenmeyer met 1000 ml water en doe hier 2 g magere melkpoeder bij.
- trek uit het hooi-infuus met behulp van een pasteurse-pipet een monster *vlak onder* het vlies. De punt van de pipet dient bij het pipetteren met de dalende vloeistofspiegel mee te gaan.
- beënt de oplossing van de magere melkpoeder in de erlenmeyer met dit monster.
- laat de kweek staan (ongeveer 2 dagen) totdat de melkkleur verdwijnt en er een dik wit vlies aan de oppervlakte verschijnt.
- trek met een pasteurse-pipet een monster *vlak onder* dit vlies. De punt van de pipet dient bij het pipetteren met de dalende vloeistofspiegel mee te gaan.
- bedien **alle** leerlingen met de inhoud van één pipet.
Meerdere keren achter elkaar monsters nemen gaat niet.

c. Aanhouden van de kweek

Hooi-infuus: Deze is maandenlang houdbaar. Men moet zo nu en dan 1 g magere melkpoeder toevoegen en het water aanvullen tot 1000 ml.

Magere melkkweek: Deze kweek is langer houdbaar dan het hooi-infuus. Zo nu en dan 1 g magere melkpoeder toevoegen en het water aanvullen tot 1000 ml. Deze kweek wordt op de duur eveneens theekleurig en bevat steeds voldoende pantoffeldiertjes om eventueel een nieuwe kweek te beënten.

d. Afremmen

Het snelle voortbewegen van Paramecium blijkt veelal een belemmering te zijn voor gedetailleerde waarneming. Voor het vertragen of stilleggen van de exemplaren kan men gebruik maken van methylcellulose (bijvoorbeeld Methocel). Hiervan brengt men 10 gram in 45 ml kokend water, na 20 minuten weken voegt men nog eens 45 ml koud water toe. Afkoelen tot 10 °C tot de oplossing helder is. Dit kan enkele dagen duren.

De zo ontstane stroperige vloeistof brengt men als een ring (passend onder een dekglas) aan op een voorwerpglas. In de ring brengt men een druppel infuus. Er ontstaat nu een gradiënt met naar buiten toe toenemende viscositeit, waarin de eencelligen zich 'vastzwemmen'. Over ring en inhoud wordt een dekglas geplaatst.

e. Voedselopname

- voeg aan het te bestuderen hooi-infuus zoveel (beter is: zo weinig) O-I inkt toe dat de zwarte deeltjes juist afzonderlijk gezien kunnen worden.
- bestudeer en teken de door de ciliën veroorzaakte beweging van de O-I inkt rond het mondveld van Paramecium.
- voer de stilliggende pantoffeldiertjes met gist dat tevoren in 2% congorood-oplossing is gekookt. Men kan dan de voedselopname waarnemen, evenals de verandering in de kleuring van de voedselvacuole tijdens de vertering.

V-28 De noodzaak van vertering

In het hier volgend experiment worden stukken dialyseerslang als model voor de darmwand gebruikt. De 'poriënwijde' van de dialyseerslang is 300—800 nm, wat inhoudt dat moleculen met een molecuulmassa kleiner dan 10.000—15.000 worden doorgelaten.

Benodigdheden:

- 20 ml 4% zetmeeloplossing in water.
- 20 ml 2% maltoseoplossing in water.
- 20 ml 2% glucoseoplossing in water.
- 10 ml vers bereide 50% speekseloplossing in water.
- 4 stukken dialyseerslang van minstens 25 cm lengte.
- 4 bekersglazen van 100 ml.
- gedestilleerd water.
- Fehlings reagens en jood-kaliumjodide-oplossing.

Uitvoering:

- nummer de bekersglazen: I tot en met IV. Vul ze half met gedestilleerd water.
- laat de stukjes dialyseerslang een paar minuten in water weken*).
- wrijf met duim en wijsvinger over een der uiteinden, zodat de slang geopend wordt. Spoel water door de slang.
- leg een knoop in de slang zo dicht mogelijk bij een der uiteinden.
- vul de 4 zo gevormde hulzen respectievelijk met de hieronder genoemde oplossingen:
Oplossing I: 10 ml 4% zetmeeloplossing + 10 ml aqua dest.
Oplossing II: 20 ml 2% maltoseoplossing.
Oplossing III: 20 ml 2% glucoseoplossing.
Oplossing IV: 10 ml 4% zetmeeloplossing + 10 ml 50% speekseloplossing.
- leg nu een knoop in de slang zo dicht mogelijk bij het nog open uiteinde.
- spoel de buitenkant van de geheel gesloten hulzen met stromend water af.
- buig de hulzen voorzichtig in U-vorm en plaats ze in de erbij behorende bekersglazen. Zorg dat de dichtgeknoopte uiteinden boven het vloeistofniveau blijven.
- zet de vier bekersglazen in een waterbad van 37 °C en laat ze ± 30 minuten bij deze temperatuur staan.
- voer de herkenningreacties op zetmeel en op reducerende suikers uit op 2 ml monsters, genomen uit de vier bekersglazen én op 2 ml monsters genomen uit iedere dialysehuls.
- geef in de tabel de resultaten van deze reacties weer.

Vragen:

1. Welke koolhydraten kunnen wel en welke kunnen niet door de dialysehuls?
2. Wat is het gevolg van de speekselinwerking op het zetmeel?
3. Welke van de gebruikte koolhydraten zijn respectievelijk poly-, di-, en monosacchariden?
4. Wat is de blanco-proef?

*) Eenmaal week gemaakte dialyseerslang kan, voor een eventueel nieuw gebruik, niet zonder meer gedroogd worden. Wel is het mogelijk de eenmaal week gemaakte dialyseerslang te bewaren in 0,1 % formaline-oplossing of na behandeling met een 15% glyceroloplossing te laten drogen.

	Oplossing I		Oplossing II		Oplossing III		Oplossing IV	
	beker - glas	dialyse- huls	beker- glas	dialyse- huls	beker- glas	dialyse- huls	beker- glas	dialyse- huls
Jood-kalium- jodide								
Fehlings reagens								

V-29 Verteringsstelsels**Inleiding**

De functie van een verteringsstelsel is het in water oplosbaar maken van het door het organisme opgenomen voedsel, zodat dit voedsel met de waterige lichaamsvloeistoffen inwendig vervoerd kan worden. De cellen kunnen de stoffen, die ze nodig hebben voor hun groei of dissimilatie, uit de lichaamsvloeistof (bloed, lymfe) opnemen.

De darmwandcellen nemen door een actief proces de opgeloste stoffen op en geven ze door aan een circulatiesysteem. De bloedsomloop transporteert de stoffen naar verder af gelegen weefsels. De cellen hiervan nemen de stoffen op door middel van diffusie en door een actief celproces.

In V-26 wordt verklaard hoe de lagere organismen (Eencelligen, Sponsen en Holtedieren) als partikeleters zich voeden (zie voedselopname op respectievelijk cytoplasma-niveau en cel-niveau).

Voor de voedselopname op orgaan-niveau is het spijsverteringskanaal meer gedifferentieerd. Bepaalde organen van dit stelsel zijn aangepast aan bepaalde taken in het verteringsproces. De taakverdeling is:

- a. *Vermalen* van het voedsel in de mondholte en farynx.
- b. *Opslag* van het voedsel in de krop of uitzakkingen van de slokdarm.
- c. *Enzymatische afbraak* van de voedingsstoffen in de maag en bepaalde delen van de darm.
- d. *Resorptie* van de opgeloste stoffen door de cellen van de darm, of opname door fagocytose of pinocytose (zie V-30)
- e. *Verzamelen* van onverteerbare voedselresten in de einddarm.

A. Vertering door gewervelde dieren

Meestal wordt bij de behandeling van spijsverteringssystemen volstaan met de behandeling van het spijsverteringsstelsel van de mens. Dit is toelaatbaar omdat de indeling van het spijsverteringsstelsel en de manier waarop de verteerde stoffen opgenomen worden bij alle gewervelde dieren in grote lijnen op dezelfde manier gebeurt als bij de mens.

De meest in het oog vallende verschillen binnen de gewervelde dieren zijn: de *afwezigheid* van speekselklieren en van speekselafscheiding in alle klassen van de gewervelde dieren met uitzondering van de zoogdieren en *speciale aanpassingen* van de planten-etende zoogdieren omdat deze grote hoeveelheden cellulose in hun voedsel opnemen, terwijl het celluloseverterend enzym cellulase ontbreekt. Dit cellulase wordt wél gevormd door vele bacteriën. Veel planteneters hebben daarom aanpassingen in hun spijsverteringskanaal, waardoor daarin cellulase producerende bacteriën kunnen leven. De afbraakproducten van cellulose worden door de herbivoren opgenomen, terwijl de celinhoud van de plantencellen door de afbraak van de celwand toegankelijk wordt voor de eiwit- en vet-verterende enzymen die door de herbivoren zelf gemaakt worden. Bij de herkauwers (kameel, hert, koe, schaap en dergelijke) zijn de pens, netmaag en boekmaag zakvormige aanhangsels van de slokdarm waarin het voedsel door bacteriëninwerking vóór het 'herkauwen' wordt afgebroken. De lebmaag is de echte maag. Bij de kameel is de netmaag bovendien in staat om een watervoorraad vast te houden. Bij paarden en bij knaagdieren is de maag hetzelfde gebouwd als bij de mens, maar is de blinde darm sterk vergroot. Het voedsel gaat eerst deze blinde darm binnen waar dan een bacteriële vertering plaats vindt voordat het voedsel naar de dikke darm verder gaat. In de blinde darm en in de dikke darm wordt veel water aan het voedsel onttrokken waardoor veel knaagdieren in staat zijn met erg weinig drinkwater toe te komen.

B. Vertering door ongewervelde dieren

a. De protozoa

Door de eencellige protozoa wordt het voedsel verteerd in een voedselvacuole. Dit is een door een (elementair) membraan omgeven holte in de cel. Door gebruik te maken van geschikte indicatoren zoals neutraalrood of congorood blijkt deze voedselvacuole eerst zuur en later basisch te zijn. Deze wisseling van zuurgraad komt ook bij gewervelde dieren voor. De oplosbaar gemaakte voeding wordt dan door het elementair membraan in de cel opgenomen en de niet verteerde delen worden door de celmembraan uit de cel verwijderd. *Parasitisch levende protozoa* nemen het door de gastheer verteerde voedsel meteen in de cel op, of verteren het voedsel buiten de cel door naar buiten afgegeven verteringsenzymen.

b. holtedieren

Bij de holtedieren wordt een deel van het voedsel in de holte (met één opening) verteerd en worden de verteerde stoffen daarna in de cellen opgenomen. Sommige cellen nemen kleine voedseldeeltjes in voedselvacuolen op en verteren deze deeltjes dan binnen de cel.

c. De trilwormen (planaria)

Deze dieren bezitten een slokdarm die ze uit kunnen steken om zo hun voedsel op te nemen (zie figuur 36). De vertering heeft plaats in de darm die veel vertakkingen bezit. De darmwandcellen scheiden daartoe enzymen in de darm af. Doordat de darmvertakkingen tot in alle delen van het dier doorlopen komt het verteerde voedsel meteen bij de lichaamscellen. Een bloedsomloop ontbreekt. De aan de trilwormen verwante *lintworm* neemt het door de gastheer verteerde voedsel door zijn oppervlak op. Een eigen spijsverteringsstelsel ontbreekt. Doordat het lichaam afgeplat is, is het lichaamsoppervlak groot genoeg in verhouding tot de inhoud van het dier.

d. De gelede wormen (regenworm)

Het voedsel van de regenworm bestaat uit humus, bladdelen en zand. Het door de slokdarm opgenomen voedsel wordt in een spiermaag met behulp van het zich in het voedsel bevindende zand fijngeveven. De wandcellen van de rest van het darmkanaal vormen enzymen waardoor het organisch materiaal in het voedsel verteerd wordt. Het darmoppervlak wordt door een dorsale darmplui vergroot. In de slokdarm bevinden zich veel slijmkliertjes die het voedsel gladder maken waardoor het gemakkelijker door het darmkanaal kan glijden. Daarnaast monden in de slokdarm kalkklieren uit, die calciumcarbonaat afscheiden om de humuszuren in het voedsel te neutraliseren.

e. De geleedpotige dieren

Hier verloopt de vertering, net als bij de gewervelde dieren, extracellulair. Bij *kreeften* is het voorste en achterste deel van het spijsverteringskanaal bekleed met ectoderm en is daardoor ondoorlatend voor het verteerde voedsel. Alleen een relatief kort stuk van het darmkanaal — de middendarm — is in staat voedsel op te nemen. Het oppervlak van dit deel van het darmkanaal is vergroot doordat hier middendarmklieren voorkomen waarin zowel de vertering als de opname van het voedsel plaats vinden. Doordat het voorste deel van het darmkanaal met ectoderm bekleed is kan hier het voedsel door cuticulan randen fijn geveven worden. In deze voordarm heeft al enzymatische vertering plaats doordat enzymen uit de middendarmklieren naar voor diffunderen en hier hun werk al beginnen. Bij *insecten* gebeurt de vertering ook hoofdzakelijk in middendarmklieren en in de middendarm. In het mondgedeelte zitten bovendien klieren die amylase bevattend speeksel produceren. Soms wordt dit speeksel vóórdat het voedsel opgegeten wordt al over het voedsel uitgestort om het voor te verteren (kakkerlak en huisvlieg). In de krop zijn de enzymen uit de middendarmklieren al werkzaam. Ze zijn er evenals bij de kreeft door diffusie terechtgekomen.

f. De weekdieren

Hier heeft maar een deel van de vertering extracellulair plaats. De voedseldeeltjes zijn meestal bij de opname al klein doordat ze bijvoorbeeld bij de slakken zijn geraspt of bij de schelpdieren door de kieuwen zijn gefilterd. De verteringsklier voltooit de vertering. Deze bevat buisjes die zowel enzymen afscheidende cellen als cellen die kleine voedseldeeltjes opnemen bevatten. De voedseldeeltjes worden door trilhaartjes tot in deze buisjes vervoerd.

Veel schelpdieren hebben in hun darmkanaal vele amoeboïde cellen, die de voedseldeeltjes opnemen en die dan in hun geheel door de darmwand heen naar de intercellulaire ruimten gaan. *Slakken* bezitten vaak een zogenaamde kristalsteel. Dit is een doorzichtig staafje dat uit een zakje in de maag uitsteekt. Door trilhaarbewegingen wordt het rondgedraaid. Hierdoor slijt het af waardoor de enzymen (amylasen) waaruit het bestaat vrijkomen.

Bij *inktvissen*, die voornamelijk vlees eten, heeft de vertering voornamelijk buiten de cellen in het spijsverteringskanaal plaats.

g. De stekelhuidigen

Ook hier komt zowel extracellulaire als intracellulaire vertering voor. Bij *zeesterren* kan zelfs de maag uitgestulpt worden en heeft de vertering *in* de maag maar *buiten* het dier plaats. Hierdoor zijn zeesterren in staat om mossels, die in hun geheel niet door hun mondingopening kunnen, te eten.

In de darmklieren bevinden zich veel cellen die kleine voedseldeeltjes door fagocytose opnemen en dan door de darmwand het dier binnen gaan.

Ook bij *zee-egels* en *zeekomkommers* heeft de vertering gedeeltelijk in de darm en gedeeltelijk door fagocytose plaats.

V-30 De actieve opname van verteringsproducten

De 'inwendige' vertering, welke de gewervelde dieren in tegenstelling tot bijvoorbeeld spinnen bezitten, blijkt heel wat minder inwendig te zijn als men de darmholte — terecht — als een verlengstuk van de buitenwereld beschouwt. In feite bevinden de monosacchariden, aminozuren, vetzuren en glycerol zich op het moment waarop zij uit de organische voedingsstoffen afgesplitst worden, *buiten* het lichaam omdat zij nog geen enkel epitheel gepasseerd zijn. De bloedvaten, die de verteringsproducten door het lichaam zullen transporteren, zijn in de darmwand weliswaar ruimschoots aanwezig, doch van de verteringsproducten in de darmholte gescheiden door het één cellaag dikke darmepitheel. Het passeren van dit darmepitheel is dus de noodzakelijke volgende stap en *heet resorptie*.

De resorptie vindt voor sommige stoffen reeds in de mond plaats (alcohol, glucose), voor andere in de maag en voor de meeste verteringsproducten in de dunne darm, terwijl water (hetzij uit het voedsel, hetzij uit de verteringssappen afkomstig) in de dikke darm geresorbeerd wordt. Men heeft vastgesteld dat het een *actief* proces is: het vindt plaats tegen een osmotisch verval in, terwijl de epitheelcellen tijdens het opnameproces O_2 verbruiken en tevens de stoffen selecteren.

De binnenzijde van de darmwand draagt vele uitsteeksels: *plooien* (dwars of in de lengterichting) waarop *darmvlokken*, vingervormige uitstulpingen van ca. 1mm x 0,5mm, voorkomen. De epitheelcellen, die deze uitsteeksels bekleden, dragen bovendien op hun aan de darmholte grenzende zijde, grote aantallen fijne celmembraanuitstulpingen. Het totale resorberend oppervlak is op deze wijze ca. 600 x groter dan wanneer de darmbinnenzijde volkomen vlak zou zijn.

Op welke wijze de verteringsproducten in de epitheelcellen opgenomen worden is slechts ten dele bekend. Bepaalde waarnemingen doen vermoeden dat de monosacchariden en de aminozuren tijdens het opname- en transportproces door de epitheelcellen aan zogenaamde *carriers* zijn gekoppeld.

Carriers zijn moleculen die in het cytoplasma van levende cellen een grote beweeglijkheid bezitten. Door een losse binding aan een door bijvoorbeeld onoplosbaarheid of molecuul-grootte niet-beweeglijk molecuul, wordt dit ook beweeglijk, zodat dit vervoerd kan worden en op een andere plaats in de cel de carrier kan loslaten. Het is waarschijnlijk dat in de meeste epitheelcellen door carriers 'pendeldiensten' onderhouden worden.

De producten van de vetvertering, glycerol en vetzuren, zijn op zich onoplosbaar in water. Zij kunnen echter omhuld worden dooreen mantel van galzuren — die in de 12-vingerige darm zijn uitgestort — en toch als emulsie colloïdaal in de waterige darminhoud blijven zweven. Deze 'glycerol-vetzuur-galzuur'-deeltjes worden nu door *pinocytose* in de epitheelcellen opgenomen en er doorheen getransporteerd. De opgenomen glycerol en vetzuren worden in de darmwand weer tot vet aaneengekoppeld.

In de darmvlokken dringen onder meer bloed- en lymfecapillairen door. De bloedvaten nemen de monosacchariden, de aminozuren en de vetten met een ketenlengte kleiner dan 11 C-atomen op, terwijl de lymfevaten de vetten met grotere ketenlengte opnemen. Alle bloedvaten in de darmwand verenigen zich tot één afvoerend bloedvat: de poortader. Het bloed hierin wijkt door zijn grote rijkdom aan verteringsproducten sterk af van de normale bloedsamenstelling. De poortader brengt dit bloed naar de lever, waarin door opname en verwerking van alle overtollige hoeveelheden (zie V-31) het bloedplasma zijn normale samenstelling herkrijgt.

Vragen:

1. Vindt er bij de mens resorptie door de huid plaats? Geef voorbeelden.
2. Hoe zou de poortader eigenlijk moeten heten?
3. In de farmacologie vormen de plaats en de wijze waarop geneesmiddelen geresorbeerd worden een belangrijk terrein van onderzoek. Kunt u dit verklaren?
4. Op welke andere wijzen kunnen geneesmiddelen worden toegediend wanneer orale opname uitgesloten is?

V-31 De functie van de lever

De lever komt bij alle Vertebraten voor en behoort meestal tot de grootste en zwaarste organen in een gewerveld organisme (de menselijke lever weegt ca 1500 gram).

Hij ontstaat embryonaal als een uitgroeiing van het darmkanaal en blijft ook later altijd hiermee verbonden.

De verbinding lever-darm is buisvormig, mondt uit in de twaalfvingerige darm en bezit ongeveer in het midden een zakvormige verwijding: de *galblaas*. Het gedeelte tussen lever en galblaas heet *leverbuis*, het gedeelte tussen galblaas en darm heet *galbuis*.

De lever bezit 2 **aan**voerende bloedvaten: de *leverslagader* met O₂-rijk bloed uit de aorta en de *poortader* met de verteringsproducten uit de darmwand (zie V-30). De *leverader* voert bloed uit de lever **af** naar de onderste holle ader. Het leverweefsel is verdeeld in *leverlobben*; groepjes van enkele duizenden cellen welke ieder in verbinding staan met uitlopers van de leverslagader, poortader, leverader en leverbuis (zogenaamde galgangen). Het contact met het poortader-bloed is hierbij het innigst.

De vele taken die de lever in een organisme verricht behoren globaal tot 2 categorieën:

A. Klierwerking

De lever produceert onder meer protrombine en fibrinogeen die beide een rol spelen bij de bloedstolling (zie Biothema deel 3), alsmede de *gal*, die de vetvertering bevordert. De gal is een gele vloeistof, bestaande uit water, slijm, Na-zouten van galzuren en galkleurstoffen. De galzouten *emulgeren* in de darmholte aanwezige vetten: grotere, samenhangende vetmassa's worden verdeeld in kleine, afzonderlijke vetdeeltjes. Dit leidt — bij gelijkblijven van de gewichtshoeveelheid vet — tot een drastische vergroting van de oppervlakte van het vet en dus tot sterkere blootstelling aan het vetsplitsende lipase, dat door de pancreas in de twaalfvingerige darm is gebracht.

N.B. De emulgerende werking van galzouten berust op verlaging van de *oppervlakte-spanning* van het water in de darmholte. Bij vloeistoffen waarvan de moleculen elkaar sterk aantrekken (zoals water), leidt deze aantrekking tot een versterkte samenhang van de moleculen langs de grensvlakken van de vloeistof. Het grensvlak verzet zich hierdoor tegen vorm-veranderingen van buitenaf. Deze weerstand noemt men oppervlakte-spanning. Een vloeistof met lage oppervlaktetenspanning (bijvoorbeeld olie) zal, na menging met een vloeistof met hogere oppervlakte-spanning (bijvoorbeeld water), door deze laatste tot een zo klein mogelijk gemeenschappelijk grensvlak worden teruggedrongen. Het op het water lopen van 'schaatsenrijders' (Gerris spec.) is mogelijk doordat hun gewicht door de oppervlakte-spanning gedragen wordt.

De galzouten activeren voorts het pancreas-lipase en verbinden zich tevens aan de bij de vertering vrijgekomen vetzuren, zodat opneembare *vetzuur-galzuur-complexen* ontstaan (zie V-30).

De *galkleurstoffen* (voornamelijk biliverdine (groen) en bilirubine (rood)) hebben geen verteringsfunctie. Zij ontstaan uit het rode *haem* van afgestorven rode bloedcellen, dat in de lever van het ijzer ontdaan wordt. In de darm veranderen de galkleurstoffen tot de stoffen die de uitwerpselen kleuren.

B. Coördinerende functies van de lever

De lever ontvangt via de poortader (zie V-30) alle uit de darminhoud geresorbeerde stoffen. Hiertoe behoren niet alleen monosacchariden, aminozuren, glycerol en vetzuren, doch ook zouten, vitamines, in de darm ontstane rottingsproducten en talloze andere verbindingen zoals alcohol en geneesmiddelen. Het orgaan is hierbij niet passief; levercellen vertonen een hoge chemische activiteit en bezitten enzymsystemen voor onder meer de volgende taken:

- Levercellen nemen onder invloed van het hormoon *insuline* uit het poortaderbloed zoveel glucose op dat het gehalte hiervan in het bloed dat de lever verlaat rond de 0,1% schommelt. Het opgenomen glucose wordt omgezet in het dierlijk zetmeel *glycogeen*, dat in de lever opgeslagen wordt en waarvan in hongertoestand glucose kan worden afgesplitst.
- Alle onderdelen van de stofwisseling der Vertebraten (koolhydraat-, vet-, eiwitstofwisseling en dergelijke) worden 'gevoed' vanuit de lever. Zij zijn in dit orgaan echter ook onderling verbonden, doordat de grondstoffen voor ieder stofwisselingsonderdeel in de levercellen uit elkaar kunnen worden gevormd (zie Biothema deel 3: citroenzuurcyclus en glycolyse). Zo kan uit overtollige aminozuren glucose gevormd worden, uit glucose vetzuren, etc. Een organisme is hierdoor enigszins bestand tegen eenzijdige voeding en uithongering.
- Overtollige aminozuren kunnen van hun aminogroep ($-NH_2$) worden ontdaan (**desaminering**). Deze aminogroep kan het lichaam verlaten (als ureum $CO(NH_2)_2$, of urinezuur, zie Biothema deel 3), of gebruikt worden bij de opbouw van niet-essentiële aminozuren (**transaminering**).
- Vele giftige of lichaamsvreemde stoffen (geneesmiddelen!) worden in de lever aan andere stoffen gebonden en zo onwerkzaam gemaakt. Men noemt dit ontgiftiging.

Samenvattend kan men de lever beschouwen als een 'biochemisch rangeerterrein', van waaruit binnenkomende verteringsproducten — eventueel na verandering — over de onderdelen van het metabolisme gedistribueerd worden, en de stofwisseling als geheel bevorderd en beschermd wordt.

C. Experimenten:

a. De werking van de gal

- breng in een reageerbuis enkele ml water, in een andere buis evenveel verdunde galoplossing.
- voeg aan beide buizen enkele druppels olijfolie toe en schud krachtig.
- voeg aan beide buizen wat Sudan III-oplossing toe (zie V-24), en schudt opnieuw.
- breng uit iedere buis een druppel op een objectglas en bekijk deze druppels onder de microscoop.

b. De werking van de gal

- maak, uitgaande van een 10% galoplossing, in 10 reageerbuizen een verdunningsreeks, waarbij iedere buis ten opzichte van de vorige buis een 10 x verdunde galoplossing bevat. De laatste buis bevat zuiver water.
- breng op het vloeistofoppervlak in iedere buis een weinig zwavelbloem of krijtpoeder. Verklaar het resultaat.

c. Galkleurstoffen

- breng in een reageerbuis enkele ml verdunde galoplossing.
- breng nu met behulp van een pipet **voorzichtig** 1 ml geconcentreerd HNO_3 **onder** in de buis. Er ontstaan nu ringen van verschillende kleur, onder andere groen (biliverdine), blauw en violet, welke oxidatieproducten van galkleurstoffen bevatten.

Vragen:

1. Maagsap van veel jonge zoogdieren bevat lipase (zonder gal!). Verklaar de betekenis hiervan.
2. Hoewel op het water levend, nam de schaatsenrijder de laatste jaren in Nederland snel in aantal af. Een studie toonde aan dat de oorzaak hiervan verdrinking betrof. Welke op het oppervlaktewater geloosde chemicaliën hebben hierbij een rol gespeeld? Verklaar.
3. Welke kracht speelt bij het ontmengen van een olie-watermengsel eveneens een rol?
4. Behalve een groene plant kan ook de dierlijke lever glucose vormen. Betekent dit dat dieren autotroof zijn? Verklaar.
5. Vervaardig een lijst met alle in V-31 genoemde functies van de lever.

V-32 Enzymen

Een chemische reactie is een verandering in de moleculaire structuur van een of meer stoffen, waarbij energie vrijkomt (exotherm) of wordt opgenomen (endotherm). De meeste chemische reacties zijn *reversibel* (omkeerbaar). De chemische reacties die in of door levende organismen plaats hebben verschillen niet fundamenteel van die van de niet-levende materie. Vele stoffen die in of door levende cellen worden omgezet vertonen onafhankelijk van die levende cellen dezelfde reacties maar dan in de meeste gevallen met oneindig kleine snelheid. Het levend organisme beschikt over geëigende katalysatoren: enzymen.

a. Bouw en werking van enzymmoleculen

Een *enzym* is een doorgaans zeer ingewikkelde eiwitachtige verbinding, die de eigenschap heeft een bepaalde reactie te kunnen versnellen zonder daarbij zelf verbruikt te worden.

Sommige enzymen, zoals het in het maagsap voorkomende pepsine, bestaan uitsluitend uit proteïne (= eiwit). Andere bestaan uit twee delen: eiwitdeel + niet-eiwitdeel.

Het niet-eiwitdeel kan bestaan uit een anorganische stof, bijvoorbeeld ionen van de metalen Mg, Zn, Co, Fe, Cu (spore-elementen), of een organische stof, *co-enzym* genoemd (bijvoorbeeld sommige vitaminen, zoals vitamine B, en vitamine C).

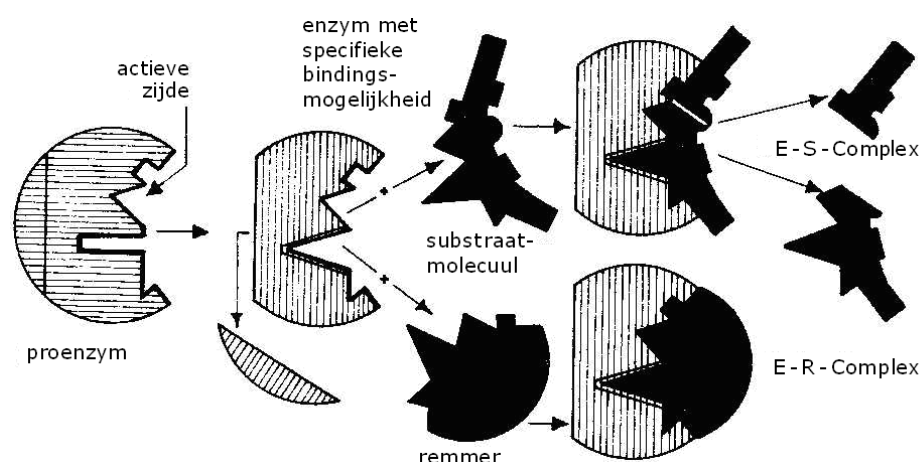
Het eiwitdeel of *apo-enzym* is het eigenlijke enzym, maar zonder het niet-eiwitdeel kan het niet functioneren.

Sommige enzymen (bijv. pepsine) ontstaan als een onwerkzaam pro-enzym en worden pas actief bij het bereiken van hun werkterrein.

Bij één bepaald apo-enzym behoort één substraat of een bepaald type substraat: *substraatspecificiteit*. Daarnaast is er bij enzymen sprake van *reactiespecificiteit*, dat wil zeggen het substraat ondergaat onder invloed van een bepaald enzym één bepaalde chemische reactie. Indien bij de reactie een co-enzym betrokken is bepaalt dit co-enzym veelal de reactiespecificiteit.

Enzymen verschillen wat hun substraatspecificiteit betreft: sommige zijn absoluut specifiek, ze kunnen maar op één substraat inwerken. Andere enzymen zijn relatief specifiek en werken alleen in op een aantal nauw verwante verbindingen. We kennen op dit ogenblik ± 900 enzymen, waarvan er 75 in gezuiverde kristallijne toestand geïsoleerd zijn. Bij een enzymreactie wordt het substraatmolecuul aan het enzymmolecuul gebonden; zij vormen dan samen het *enzym-substraatcomplex* (zie figuur 53). Het is het *actieve centrum* van het apo-enzym dat door zijn eigen bouw de mogelijkheid bezit substraatmoleculen op te nemen. De bouw van het actieve centrum is als het ware complementair ten opzichte van de bouw van het substraatmolecuul (zoals een sleutel en een slot). Bij de vorming van het enzym-substraatcomplex wordt het enzymmolecuul iets gedeformeerd en oefent

dan een druk uit op de substraatmoleculen, die daardoor gevoeliger worden voor bijvoorbeeld. H^+ - of OH^- -ionen, waardoor de reactie van de substraatmoleculen kan plaats hebben. Een enzymmolecuul kan in een minuut de chemische omzetting van verschillende miljoenen substraatmoleculen bevorderen.



Figuur 53. Model van de werkwijze van een enzym.

b. Enzymwerking en energie

Om de werking van een enzym beter te begrijpen dienen we ons te realiseren wat er gebeurt bij een chemische reactie: $A + B \rightarrow AB + \text{energie}$. Wil hier het product AB ontstaan dan moeten de moleculen A en B elkaar ontmoeten. Deze moleculen hebben echter de neiging elkaar af te stoten wat onder andere een gevolg kan zijn van hun ladingen. Een ontmoeting tussen deze moleculen kost energie. Deze energie is nodig om de afstoting of energiebarrière (potentiaal-barrière) te overwinnen. Men noemt dit de *activeringsenergie*. De activeringsenergie kan bijvoorbeeld toegediend worden door de temperatuur of druk te verhogen. Het afstrijken van een lucifer voegt warmte (activeringsenergie) toe aan de moleculen in de luciferkop, zodat deze ontbranden kan. Zo kan men NH_3 maken uit N_2 en H_2 door de temperatuur te verhogen tot $400^\circ C$ en de druk tot 1000 atmosferen. De toegevoegde warmte wordt door de moleculen geabsorbeerd: hun inwendige energie neemt toe en daarmee de waarschijnlijkheid dat ze zullen botsen.

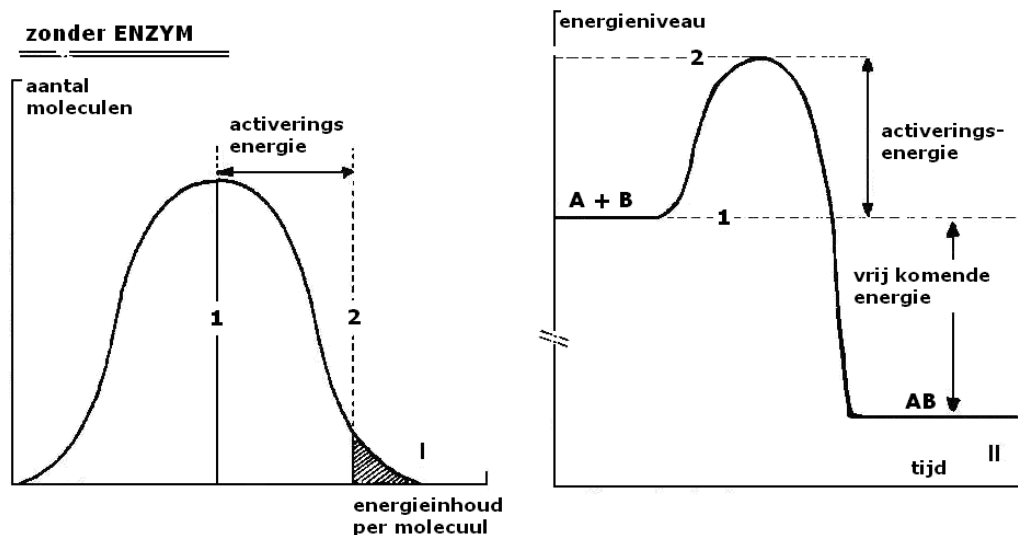
De activeringsenergie is dus de energie die de moleculen op een hoger energieniveau brengt.

Zouden de **biochemische** reacties verlopen volgens het model $A + B \rightarrow AB$, waarbij de moleculen A en B alleen door toeval reageren als ze voldoende activeringsenergie verzameld hebben, dan zouden alle levensprocessen ongelofelijk traag of helemaal niet verlopen. De activeringsenergie is voor de meeste stoffen die bij biochemische reacties zijn betrokken te hoog, zodat zonder 'hulp' de reactie niet zou kunnen verlopen.

Deze 'hulp' nu wordt geboden door enzymen. Zij verlagen de activeringsenergie doordat zij met de moleculen een instabiel complex vormen, dat weer snel uiteenvalt onder vrijmaking van het reactieproduct. Het enzym is nu weer beschikbaar voor de vorming van een nieuw complex:



Door de vorming van het enzym-substraatcomplex wordt de waarschijnlijkheid van de ontmoeting tussen de moleculen groter en is er dus minder activeringsenergie nodig. Enzymen versnellen op deze wijze de snelheid van de reactie.

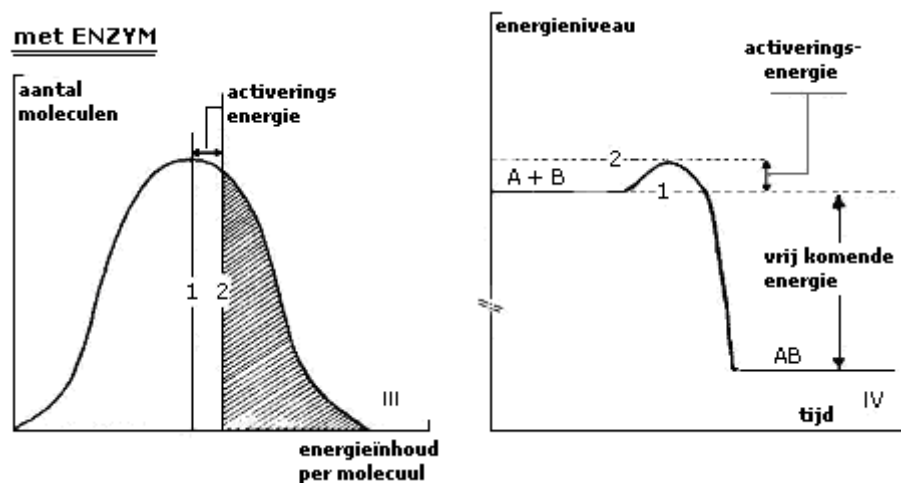


Figuur 54. Het verloop van een exotherme reactie $A + B \rightarrow AB + \text{energie}$, zonder de medewerking van een enzym.

I. Grafische voorstelling van de energie-inhoud van de moleculen A (of B).

Slechts de moleculen met een grote energie-inhoud kunnen deelnemen aan de reactie en het product AB vormen (gearceerde gedeelte). Deze moleculen bezitten een hoge activeringsenergie, dit is het verschil tussen de gemiddelde energie-inhoud van de moleculen (1) en de energie-inhoud die de moleculen moeten bezitten om aan de reactie deel te nemen (2).

II. Toevoegen van deze energie verhoogt de energie-inhoud van de moleculen (van 1 naar 2), zodat de energiebarrière overwonnen wordt: de reactie loopt af.



Figuur 55. Het verloop van de exotherme reactie $A + B \rightarrow AB + \text{energie}$, met medewerking van een enzym.

III. Toevoeging van een enzym vermindert de benodigde activeringsenergie (vergelijk met Figuur 54 I), omdat het enzym met de moleculen een instabiel complex vormt zodat er meer moleculen kunnen reageren en het product AB vormen (gearceerde gedeelte).

IV. De energiebarrière is veel geringer (vergelijk met Figuur 54 II). Bij endotherme reacties moeten de grafische voorstellingen II en IV links-rechts gespiegeld worden.

c. Evenwichten, concentraties en reactiesnelheden

Enzymatische reacties zijn reversibel, hetgeen wil zeggen dat de reactie $A + B \rightarrow AB$ ook in omgekeerde richting kan verlopen: $AB \rightarrow A + B$. In welke richting de reactie zal verlopen wordt bepaald door de concentraties van de deelnemende stoffen. In het voorbeeld $A + B \rightarrow AB$ dus door de concentratie van A en B enerzijds en AB anderzijds. Er ontstaat aldus een *evenwicht*.

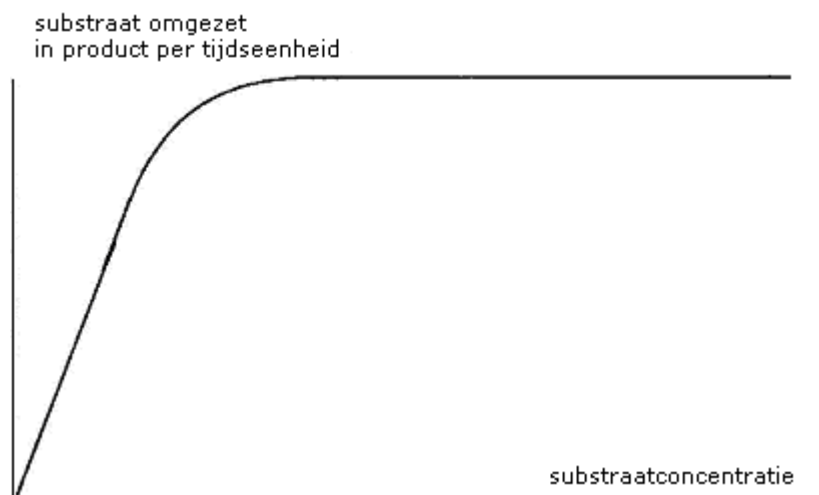
Indien AB door een andere reactie voortdurend verdwijnt of afgevoerd wordt zullen steeds meer A en B met elkaar reageren om het evenwicht te herstellen. Of als er weinig A en B is zal er weinig AB gevormd worden of zelfs AB worden omgezet in A en B. De *ligging* van het evenwicht wordt niet beïnvloed door het enzym: wel de *snelheid* waarmee het zich instelt.

Bij een gegeven enzymconcentratie wordt de snelheid van de enzymreactie, dat wil zeggen de snelheid waarmee enzym-substraatcomplexen gevormd worden, beïnvloed door de concentraties van de deelnemende substraatmoleculen: substraatconcentratie.

Dit betekent dat de snelheid van de enzymreactie bepaald wordt door de frequentie waarmee de enzymmoleculen de substraatmoleculen ontmoeten. Als bij een bepaalde enzymconcentratie de concentratie van het substraat laag is zal de enzymreactie traag verlopen omdat in deze situatie slechts een klein gedeelte van de enzym moleculen een enzym-substraatcomplex kan vormen. De overige enzymmoleculen zijn onbezet.

Bij hogere concentraties van het substraat neemt het aantal ontmoetingen met enzymmoleculen toe: er worden steeds meer enzymmoleculen ingeschakeld en de reactiesnelheid zal toenemen. Neemt de concentratie van het substraat nog meer toe dan zullen alle enzymmoleculen een enzym-substraatcomplex vormen en op het moment dat ze het product vrij geven direct weer met andere substraatmoleculen een nieuw complex vormen. Bij gelijkblijvende overige omstandigheden is dan de maximale enzymactiviteit bereikt, iedere verdere toename van de substraatconcentratie heeft geen effect meer op de reactiesnelheid om de eenvoudige reden dat er geen onbezette enzymmoleculen meer zijn.

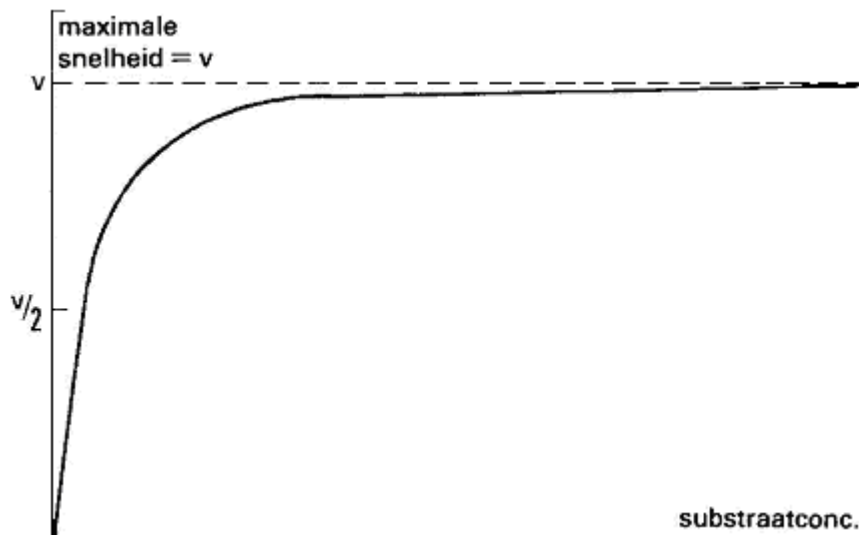
Samengevat: Bij een bepaalde enzymconcentratie zal, als de concentratie van het substraat toeneemt, de snelheid van de enzymreactie ook toenemen totdat bij een bepaalde substraatconcentratie de snelheid niet meer toeneemt. De reactiesnelheid heeft dan een maximale waarde bereikt en blijft constant (zie figuur 56).



Figuur 56. Enzymreactie. Het verloop van de reactie uitgedrukt in de hoeveelheid substraat die per tijdseenheid door omzetting verdwijnt. Experimenteel gevonden waarden.

De experimenteel gevonden waarden komen overeen met de waarden die men met behulp van de evenwichtsvergelijkingen heeft kunnen berekenen (Michaelis-Menten vergelijking).

Ieder enzym bezit zijn eigen karakteristieke curve: bij een bepaalde enzymconcentratie is de maximale snelheid van de reactie bij zeer hoge substraatconcentratie een maat voor het vermogen van het enzym om substraatmoleculen om te zetten vanuit het enzym-substraatcomplex (enzym-substraatcomplex = product + enzym) en de hellingshoek van de curve gerekend vanaf het beginpunt tot aan de helft van de maximale snelheid is een maat voor de affiniteit (= aantrekkingskracht) van het enzym voor de substraatmoleculen (enzym + substraat → enzym-substraatcomplex).

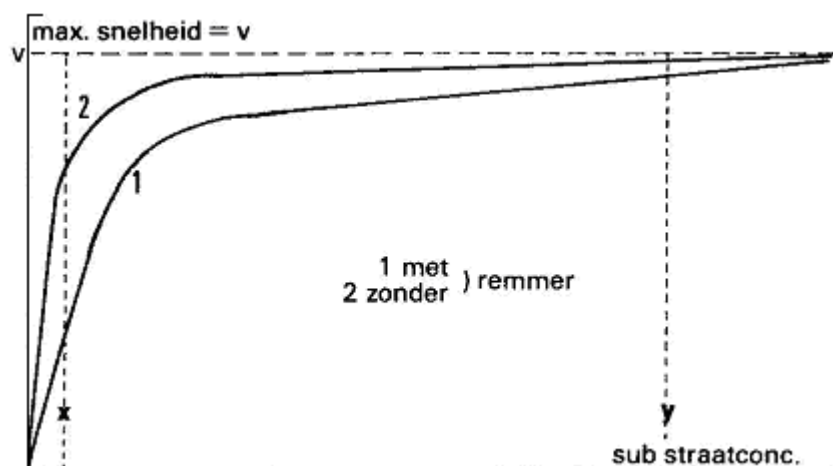


Figuur 57. Enzymreactie. Mathematisch berekend verband tussen de snelheid van een enzymreactie en de concentratie van het substraat volgens de Michaelis-Menten vergelijking.

d. Het remmen van enzymmoleculen

Het verband tussen (enzymale) reactiesnelheid en de concentraties van het enzym respectievelijk substraat wordt verder verduidelijkt door waarnemingen aan zogenaamde enzymremmers. Deze zijn te verdelen in drie categorieën: narcotica, niet-concurrerende remmers en concurrerende remmers. Door deze remmers wordt het enzymmolecuul niet beschadigd; wel wordt de activiteit sterk verminderd en kan zelfs verdwijnen.

Voor de studie van de enzymen zijn de concurrerende remmers van groot belang. Deze remmers zijn stoffen waarvan de moleculen een grote structurele gelijkenis vertonen met de substraatmoleculen waar het enzym normaal mee reageert. Zij vormen, dank zij deze gelijkenis, met het enzym een enzym-substraatcomplex = enzym-remmercomplex; zie figuur 53) zonder dat de reactie verder verloopt of andere producten ontstaan: de betrokken enzymmoleculen zijn tijdelijk geblokkeerd. De reactiesnelheid zal dan afnemen. Voeren we echter de concentratie van het echte substraat op dan valt de concentratie ten gunste van het substraat uit en zullen de meeste zo niet alle enzymmoleculen bezet zijn met echte substraatmoleculen. De 'remmermoleculen' krijgen dan geen kans waardoor toch de maximale snelheid zal worden bereikt (zie figuur 58).



Figuur 58. Enzymreactie met en zonder concurrerende remming. Snelheid van de reactie bij aanwezigheid van een bepaalde concentratie van de remmer (1) in vergelijking met de normaal verloopende reactie (2). Vergelijk de snelheid bij de substraatconcentraties x en y. Bij lage substraatconcentraties is het effect van de remmer aanzienlijk; bij hoge substraatconcentratie verdwijnt het effect van de remmer.

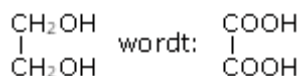
Andersom is het mogelijk door de concentratie van de remmers op te voeren alle enzymmoleculen te bezetten. Vele drugs werken op deze wijze. Als voorbeeld het volgende: methanol (= methylalcohol) en 1,2-ethaandiol (= glycol) worden wel gedronken als vervanging van ethanol (sterke drank) bij verslaving of zelfmoordpogingen. Methanol en 1, 2-ethaandiol zijn concurrerende remmers. Ethanol wordt door enzymen omgezet in ethanal (aceetaldehyde), welke stof normaal geoxideerd wordt in normale reactieketens van de koolhydraatstofwisseling en tenslotte CO_2 en H_2O oplevert:



Methanol reageert met hetzelfde enzym dat ethanol omzette, onder vorming van methanal (formaldehyde) een uiterst giftige stof welke niet verder afgebroken wordt:



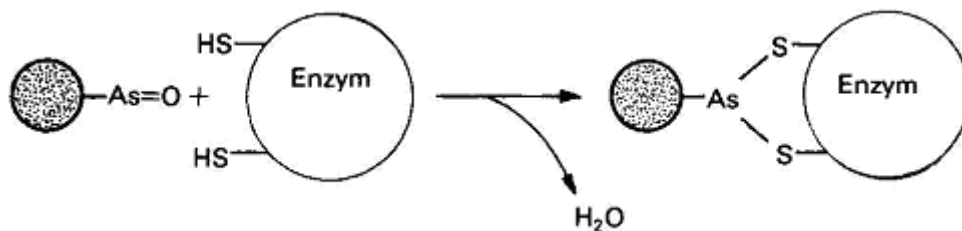
Glycol geeft op deze wijze oxaalzuur, dat uitkristalliseert in de urinekanaaltjes en de nier beschadigt:



Deze stoffen zijn dus giftig; niet als in te nemen stof, maar door de producten die zij leveren via de enzymreactie. Zouden zij zonder aan de stofwisseling deel te nemen normaal uitgescheiden kunnen worden dan waren zij onschadelijk. Boven genoemde reacties hebben plaats in de lever. Volgens bovenstaande gegevens zou methanol onschadelijk zijn indien we de enzymmoleculen voortdurend bezet zouden houden met het juiste substraat. Vergiftiging met methylalcohol of glycol kan dan ook medisch bestreden worden door in de aders (intraveneus) ethanol in te brengen (via een infuus) totdat alle methylalcohol of glycol is uitgescheiden.

De niet-concurrerende remmers zijn over het algemeen stoffen die zich met de zware metalen in het enzym verbinden. Bekend is de werking van blauwzuur (CN^-) dat enzymmoleculen volledig blokkeert door zich te verbinden met Cu of Fe in het enzymmolecuul. Ook koolmonoxide (CO) en arsenicum hebben een dergelijke werking (zie figuur 59).

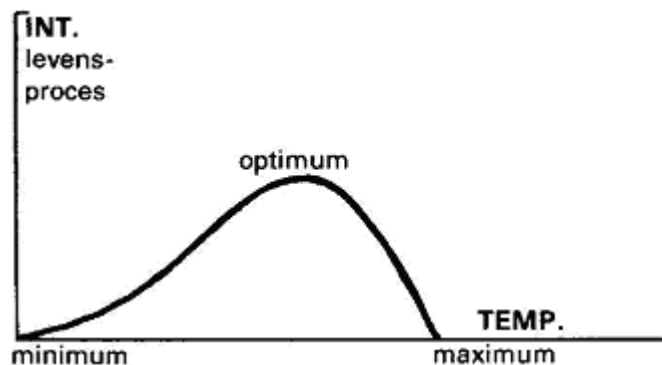
Sommige narcotica tasten de permeabiliteit aan van de elementaire membranen. De desorganisatie van deze membranen zal de activiteiten van de enzymen welke aan deze membranen verbonden zijn teniet doen. Andere werken weer op dezelfde wijze als de niet-concurrerende remmers.



Figuur 59. De koppeling van een arsenicumhoudend molecuul aan een enzym.

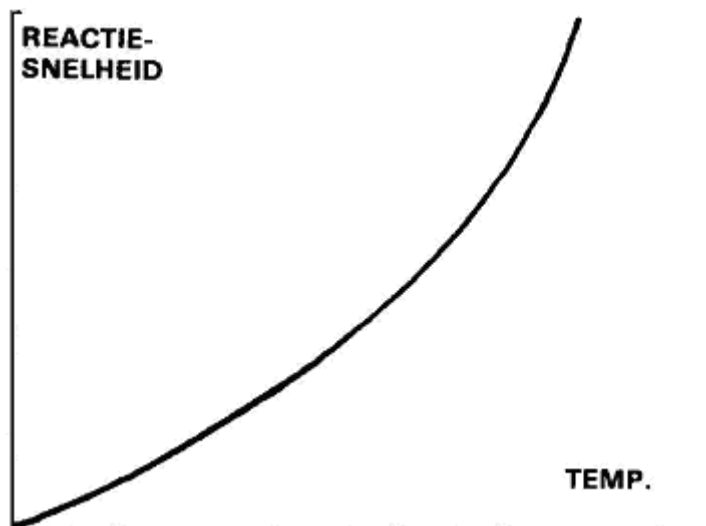
e. De invloed van de temperatuur op een enzymreactie

Een van de eersten die de invloed van de temperatuur op levensprocessen onderzocht heeft was von Sachs. Hij vond dat ieder proces bij een bepaalde temperatuur aanvangt (*minimumtemperatuur*), bij een bepaalde temperatuur zijn grootste intensiteit heeft (*optimumtemperatuur*) en bij een bepaalde temperatuur ophoudt (*maximumtemperatuur*). Men noemt de grafische voorstelling die hier het verband weergeeft tussen de temperatuur en de snelheid waarmee het levensproces verloopt de kromme van von Sachs (zie figuur 60).



Figuur 60. De optimumkromme: het verband tussen de intensiteit van een levensproces en de temperatuur (kromme van von Sachs).

Later vond van 't Hoff een wetmatigheid voor de temperatuur-afhankelijkheid van de snelheid van een chemische reactie (zie figuur 61): een verhoging van de temperatuur met 10°C verdubbelt de snelheid van de reactie (in werkelijkheid een vermenigvuldigingsfactor welke varieert van 2 tot 3). Men noemt dit de Q_{10} van een proces: bij een bepaalde reactie is de Q_{10} de verhouding van de reactiesnelheden bij twee verschillende temperaturen, die onderling 10°C verschillen. De $Q_{10} = 2$ à 3.



Figuur 61. Het verband tussen de snelheid van een chemische reactie en de temperatuur (wet van van 't Hoff).

Aan levensprocessen liggen enzymreacties ten grondslag. Met betrekking tot de relatie tussen temperatuur en snelheid van het proces is de schijnbare tegenstrijdigheid tussen levensprocessen en chemische reacties een gevolg van het feit dat eiwitten een belangrijk onderdeel vormen van de in levensprocessen werkzame enzymen. Eiwitten worden immers bij temperatuurverhoging onomkeerbaar 'beschadigd' (gedenatureerd).

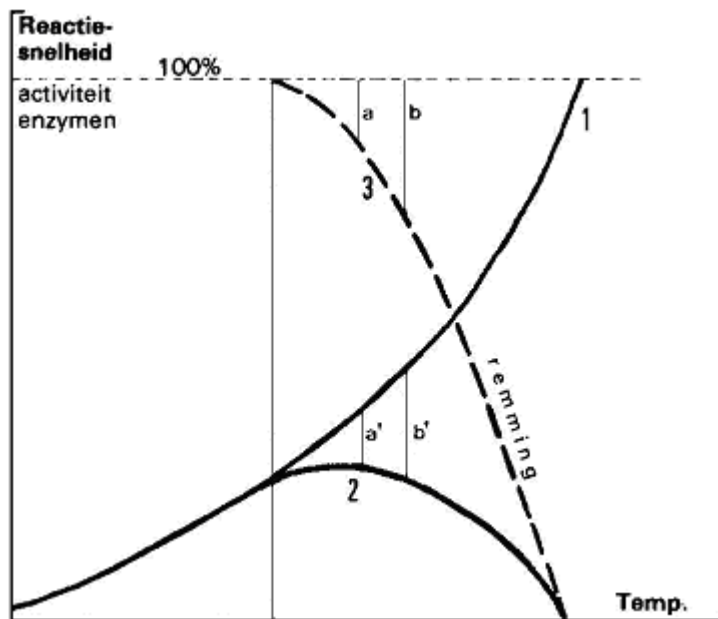
Hoewel een enzymoplossing bij stijgende temperatuur het aantal intacte enzym-moleculen vermindert, zal deze vermindering aanvankelijk nog gecompenseerd worden door de grotere activiteit per 'onbeschadigd' enzymmolecuul. Het aantal enzymmoleculen zal echter des te meer afnemen, naarmate de enzymoplossing langer aan een hoge temperatuur wordt blootgesteld. Als gevolg van de vermindering van de hoeveelheid intacte enzymmoleculen zal boven een bepaald de temperatuur de reactiesnelheid van de door dit enzym gekatalyseerde reactie in de regel minder snel toenemen dan volgens de wet van van 't Hoff te verwachten was en bij verdere stijging van de temperatuur zelfs afnemen.

Indien men de grafische voorstelling van de wet van van 't Hoff (zie figuur 62 curve 1) combineert met de door von Sachs gevonden optimumkromme (zie figuur 62 curve 2) kan men een curve construeren die de afname van de activiteit van de enzymoplossing als gevolg van de afname van het aantal enzym moleculen weergeeft (zie figuur 62 curve 3: $a = a'$ en $b = b'$).

Dat bovenstaande verklaring voor het ontstaan van de optimumkromme juist is blijkt als we een derde factor in beschouwing nemen: de tijd, een factor die in de regel buiten beschouwing blijft.

Dij proeven is gebleken dat het optimum van een reactie des te lager ligt naarmate een enzym-substraatmengsel zich langer bij een bepaalde temperatuur bevindt. In figuur 63 is in drie dimensies het verband tussen de reactiesnelheid (Y-as), de temperatuur (X-as) en de derde factor, de waarnemingstijd (Z-as) weergegeven. Evenwijdig aan het door de twee assen gevormde vlak XY liggen een aantal vlakken waarin de optimumkrommen zijn getekend, die men verkrijgt door de proef één, twee, drie en vier uur te laten duren.

We kunnen de overeenkomstige punten van de optimumcurven bij één temperatuur met elkaar verbinden: a, b, c, d en e, f, g, h



Figuur 62. Het verband tussen de snelheden van een chemische en van een enzymreactie onder invloed van de temperatuur.

In de optimumkromme blijft beneden de optimumtemperatuur geldig dat de $Q_{10} = 2$ à 3 .
(n. Baas Becking, 1934).

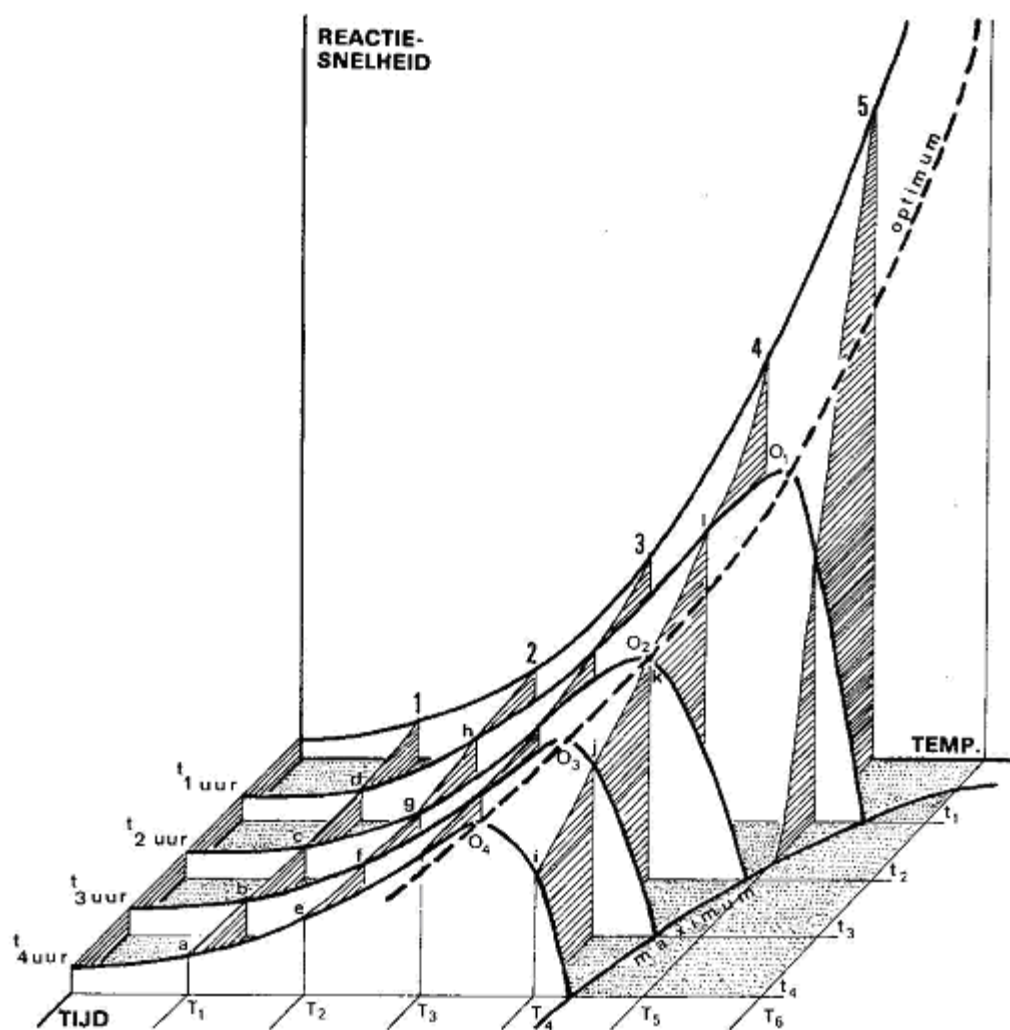
en i, j, k, l (in de gearceerde vlakken) bij respectievelijk T_1 , T_2 en T_4 . Extrapolatie van deze lijnen naar het XY-vlak geeft de punten 1, 2 en 4. Verbinden we deze punten met elkaar dan ontstaat er een curve, die reeds door van 't Hoff gevonden werd. Deze curve zou gelden voor een tijdsduur gelijk aan nul. Dat wil zeggen dat bij theoretisch ideale omstandigheden, waarbij er geen tijd is voor de beschadiging van de enzymmoleculen, de biochemische reactie zou verlopen volgens de wet van van 't Hoff. In feite is weergave van een optimumcurve (zie figuur 60) niet juist indien de tijd-as ontbreekt, hetgeen hersteld kan worden door de tijdsduur te vermelden. Tenslotte moet nog gewezen worden op de lijn die de maximumtemperaturen van de afzonderlijke curven met elkaar verbindt (liggend in het vlak ZX). Deze lijn geeft de tijd aan die benodigd is om een bepaald verschijnsel bij een gegeven schadelijke temperatuur te doen ophouden en is in de bacteriologie bekend als de 'sterilisatiecurve'.

Een enzym is bij de minimum- en de maximumtemperatuur onwerkzaam. De oorzaak hiervan is echter verschillend. Een bij lage temperatuur bewaard enzym zal bij verhoging van de temperatuur tot boven het minimum weer werkzaam worden. Een enzym dat lang aan de maximumtemperatuur is blootgesteld blijft onwerkzaam. Het is onomkeerbaar beschadigd.

'Bovenstaande beschouwing toont hoe gecompliceerd de invloed van de temperatuur op een enkele levensfunctie reeds is, wanneer men de onvermijdelijke factor 'tijd' in aanmerking neemt. Waar nu het leven zelf bestaat uit een groot aantal verschijnselen, die ieder op eigen wijze door de temperatuur worden beïnvloed, moet het wel duidelijk zijn, dat een verklaring van het thermale gedrag van organismen, zelfs onder gecontroleerde omstandigheden, nog verre ligt'. (Baas-Becking, 1934).

f. De invloed van de zuurgraad op een enzymreactie

Ieder eiwit is in het bezit van een aantal ioniseerbare groepen: $-\text{NH}_2$ en $-\text{COOH}$. Eiwitmoleculen zijn *amfoteer*, dat wil zeggen bij een *hoge* zuurgraad kunnen zij een



Figuur 63. De optimumkromme van een enzymreactie bij verschillende tijdsduren in relatie met de wet van Van 't Hoff. (n. Baas Becking, 1934)

alkalische reactie vertonen: $\text{-NH}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{-NH}_3^+$ en bij een *lage* zuurgraad kunnen zij een *zure* reactie vertonen: $\text{-COOH} \rightarrow \text{COO}^- + \text{H}^+$.

Het is duidelijk dat de concentratie van H^+ ionen in het milieu van invloed is op de ionisatie van deze groepen en dus op de oplosbaarheid en de functie van een eiwit-molecuul. Voor enzymmoleculen betekent dit dat er een bepaalde pH is, waarbij zij substraten het snelst kunnen omzetten: het optimum.

Voor de meeste enzymen geldt dat hun pH-optimum ligt in neutraal of zwak zuur milieu; enkele enzymen vertonen extreme optima (pepsine 1,5-2,5). Bij waarden, die ver van het optimum afliggen treedt denaturatie van het eiwit op.

g. Samenvatting

1. Een enzym is een ingewikkelde *eiwitachtige verbinding*. Het eiwitdeel noemt men het *apo-enzym*. Het niet-eiwitdeel (= co-factor) kan zijn:
 - een *prosthetische groep*: een molecuul dat een vaste verbinding vormt met het apo-enzym. Afscheiding van deze groep vernietigt de enzymatische eigenschappen en veroorzaakt denaturatie van het eiwit.
 - Een *co-enzym*: een molecuul dat geen vaste verbinding vormt met het apo-enzym. Tijdens een bepaald enzymatisch proces kan het in de tijd gerekend betrokken zijn bij de activiteit van een aantal verschillende enzymmoleculen. Sommige co-enzymen zijn betrokken bij de reacties van meerdere enzymen.
 - Een *metaalion*: vormt een losse verbinding met het apo-enzym.
 - Een *activator*: een klein ion of molecuul, dat de enzymactiviteit stimuleert zonder deel te nemen aan de reactie.Prosthetische groepen en co-enzymen zijn actief bij het enzymatisch proces betrokken. Metaalionen en activatoren helpen bij de bescherming van het enzym of houden het substraat in een bepaalde vorm.
2. Enzymen *verlagen* de *activeringsenergie* doordat zij met de substraatmoleculen een instabiel enzym-substraatcomplex vormen. Na de reactie zijn de enzymen weer beschikbaar voor een volgende reactie.
3. Enzymen zijn *specifiek*, hetgeen wil zeggen dat ze slechts met één type substraatmoleculen een complex kunnen vormen. Bij sommige enzymen is sprake van een beperkte specificiteit, dat wil zeggen ze vormen een complex met meerdere nauw verwante molecuulsoorten.
Het apo-enzym bepaalt de substraatspecificiteit en de co-factor (indien aanwezig) de reactiespecificiteit.
4. Enzymen *beïnvloeden* de *snelheid* waarmee een evenwicht tussen de concentraties van de deelnemende substraatmoleculen wordt bereikt. Ze hebben dus invloed op de reactiesnelheden.
5. Enzymen hebben *geen invloed* op de *ligging* van het *evenwicht*. Dit wordt bepaald door de concentraties van de deelnemende substraatmoleculen.
6. Indien de concentratie van het substraat toeneemt zal de snelheid van de enzymatische reactie ook toenemen tot zij een bepaalde waarde bereikt en vervolgens constant blijven. Alle enzym moleculen zijn dan bezet.
Bij verhoging van de enzym-concentratie zal de reactiesnelheid weer toenemen.
7. De werking van enzymen kan worden geremd:
 - Door *niet-concurrerende* remmers; zij verbinden zich met de metalen in de prosthetische groep (voorbeelden: kwik, koper, koolmonoxide, en dergelijke). Verhoging van de substraatconcentratie vermindert de remmende werking niet.
 - Door *wel-concurrerende* remmers; zij bezetten het actieve centrum van het apo-enzym. Het zijn moleculen, waarvan de structuur sterk lijkt op die van de substraatmoleculen waarvoor het enzym specifiek is. Door een verhoging van de substraatconcentratie kan de remmende werking worden verminderd.
 - Door sommige *narcotica* die het actieve centrum van het apo-enzym aantasten.

8. Enzymen spelen meestal een rol in processen, waarbij de gevormde stof weer als substraat dienst doet voor een volgende reactie
- $$A + B \rightleftharpoons AB$$
- $$AB + C \rightleftharpoons ABC$$
- $$ABC + D \rightleftharpoons ABCD \text{ enz.}$$
9. Indien de temperatuur van het reactiemengsel van een enzymatische reactie wordt gevarieerd zal blijken dat bij een bepaalde temperatuur (het optimum) de reactie het snelst verloopt. Boven dit optimum zullen de apo-enzymmoleculen geleidelijk irreversibel worden beschadigd en neemt de snelheid van de reactie dus af; bij het maximum zijn alle apo-enzymmoleculen irreversibel beschadigd. Onder dit optimum neemt de reactiesnelheid eveneens af, zonder dat de apo-enzymmoleculen worden beschadigd.
10. Indien de zuurgraad van het reactiemengsel van een enzymatische reactie wordt gevarieerd zal blijken dat bij een bepaalde zuurgraad (het optimum) de reactie het snelst verloopt. Boven en onder dit optimum neemt de reactiesnelheid af tot respectievelijk het maximum en minimum zijn bereikt.
11. Nomenclatuur. Men noemt enzymen naar het substraat dat zij omzetten, of naar de verandering die het substraat ondergaat, met hierachter de uitgang 'ase' (bijvoorbeeld amylase, peptidase, dehydrogenase). De meeste oude namen zijn hierdoor vervallen. Het speekselenzym ptyaline heet nu amylase.

V-33 Bufferwerking

Buffers zijn oplossingen die een zodanige samenstelling hebben dat toevoeging van zuur of base slechts een kleine verandering van de pH tot gevolg heeft. Meestal bestaan zij uit oplossingen die naast een zwak zuur ook een zout van dat zwakke zuur, of die naast een zwakke base ook een zout van die base bevatten.

Benodigdheden:

We vergelijken met elkaar:

- HCl 0,1 mol/l (zie uitvoering a)
- CH₃COOH (azijnzuur) 0,1 mol/l (zie uitvoering b)
- HCl + NaCl, elk in oplossingen van 0,2 mol/l (zie uitvoering c)
- CH₃COOH + CH₃COONa (natriumacetaat), elk in oplossingen van 0,2 mol/l (zie uitvoeringen d en e).

Aan deze oplossingen gaat men tijdens de uitvoeringen a t/m e 0,1 N NaOH dan wel 0,1 N HCl toevoegen.

Om de pH te meten gebruiken we indicatorpapier met een pH-bereik van 0 tot 14.

Uitvoering:

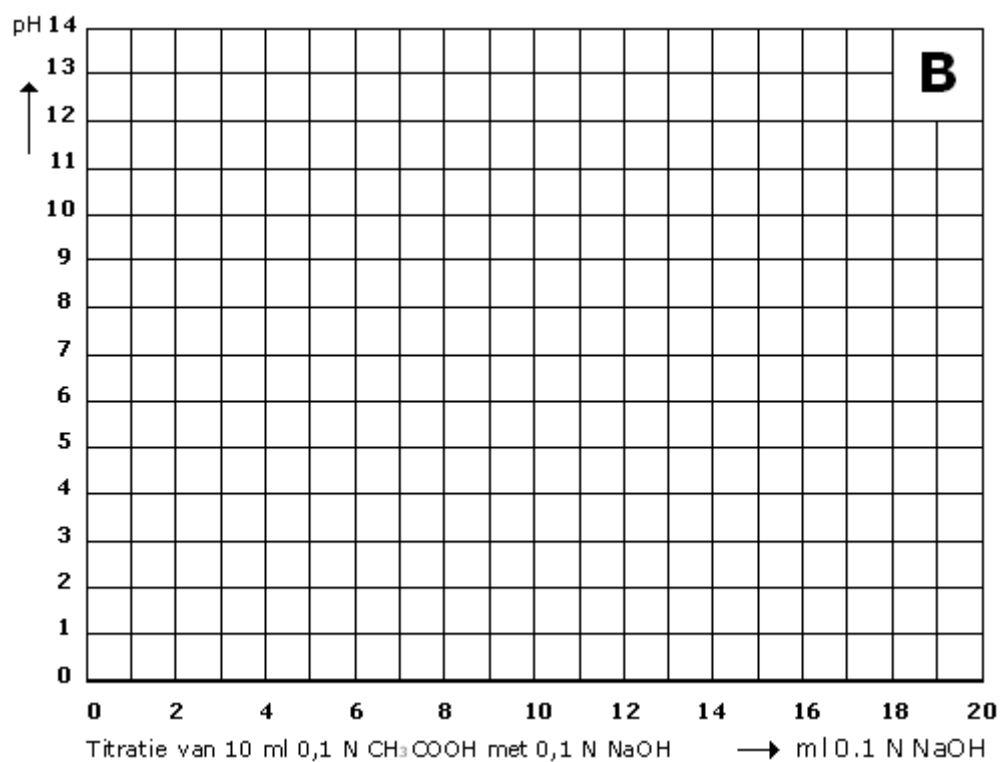
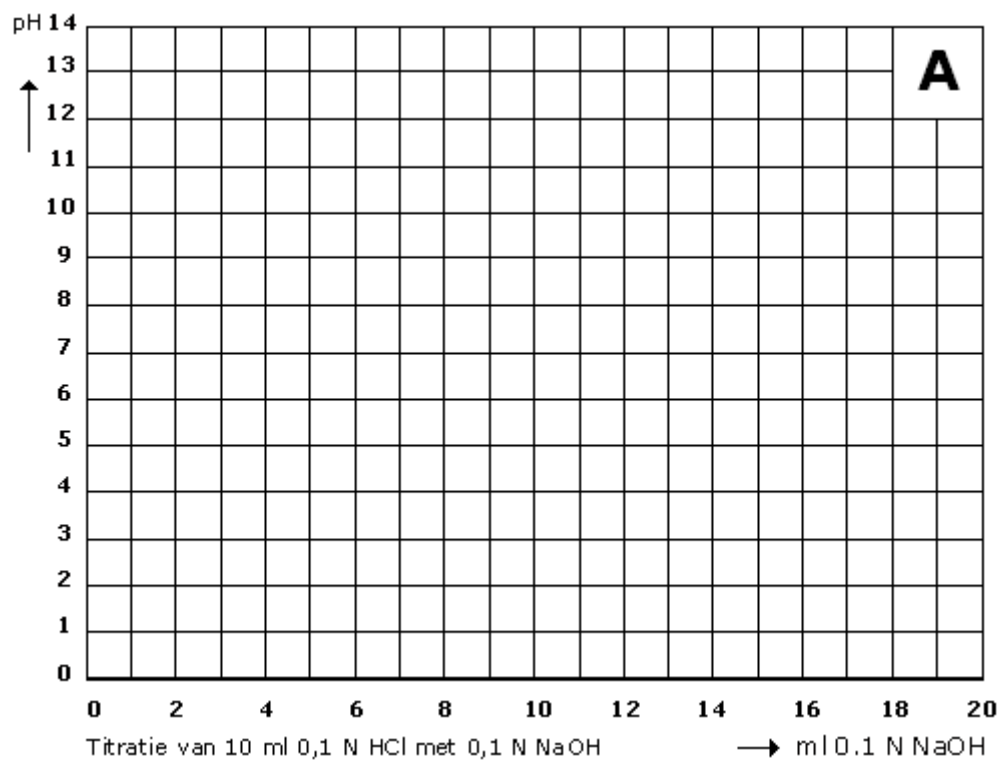
a. HCl en NaOH. Een sterk zuur en een sterke base

- breng 10 ml 0,1 N HCl in een erlenmeyer van 100 ml.
- doop een glazen staafje in de vloeistof en breng daarmee een druppeltje op een stukje indicatorpapier.
- bepaal de pH door vergelijking met de kleurschaal, noteer het resultaat in de grafiek A.
- voeg 1 ml 0,1 N NaOH toe (met behulp van een buret of 10 ml injectiespuit), schud, bepaal weer de pH en noteer in de grafiek A.
- herhaal dit ongeveer 20x.
- verbind de meetpunten in de grafiek met een vloeiende lijn.

b. CH₃COOH en NaOH. Een zwak zuur en een sterke base

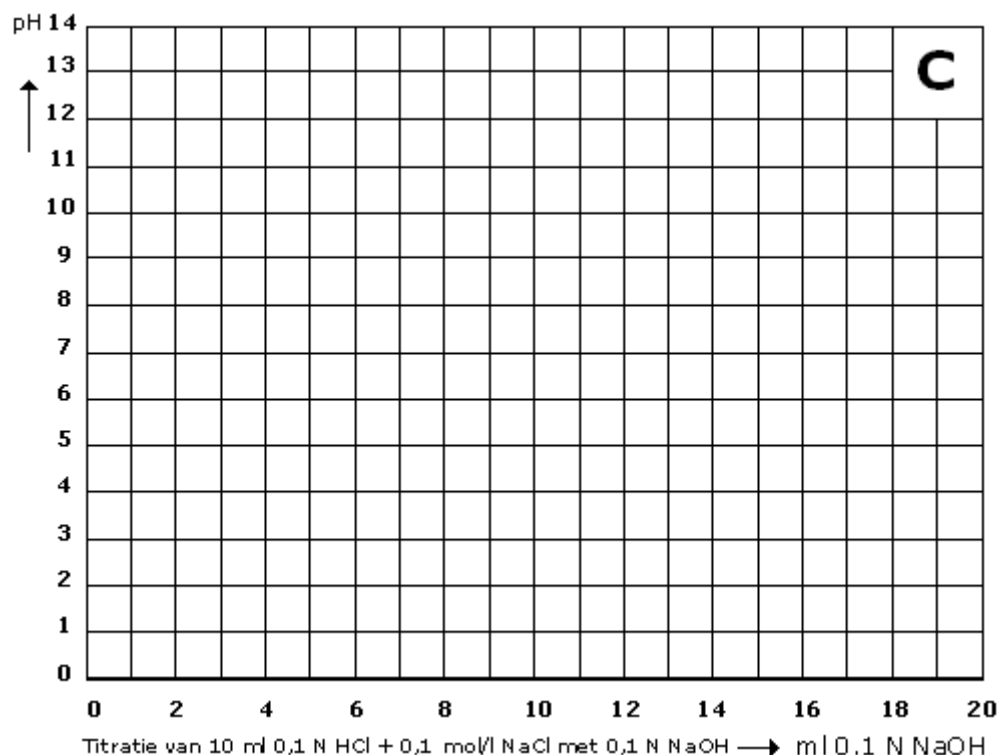
- breng 10 ml 0,1 N CH₃COOH in een erlenmeyer van 100 ml.
- doop een glazen staafje in de vloeistof en breng daarmee een druppeltje op een indicatorpapiertje.

- bepaal de pH door vergelijking met de kleurschaal, noteer het resultaat in de grafiek B.
- voeg 1 ml 0,1 N NaOH toe, schud, bepaal de pH weer en noteer in de grafiek B.
- herhaal dit ongeveer 20x.
- verbind de meetpunten met een vloeiende lijn.



c. HCl + NaCl en NaOH. Een sterk zuur met zijn zout en NaOH

- breng 5 ml van een oplossing die 0,2 mol/l HCl en 5 ml van een oplossing die 0,2 mol/l NaCl bevat bijeen in een 100 ml erlenmeyer.
- bepaal de pH met behulp van indicatorpapier.
- noteer het resultaat in de grafiek C.
- voeg 1 ml van een 0,1 N NaOH oplossing toe, schud, bepaal de pH en noteer in de grafiek C.
- herhaal dit ongeveer 20x.
- verbind de meetpunten in de grafiek met een vloeiende lijn.



d. CH₃COOH + CH₃COONa en HCl. Een zwak zuur met zijn zout en HCl

- breng 5 ml van een oplossing die 0,2 mol/l azijnzuur en 5 ml van een oplossing die 0,2 mol/l natriumacetaat bevat bijeen in een 100 ml erlenmeyer.
- bepaal de pH met behulp van een stukje indicatorpapier en noteer het resultaat in de grafiek D.

Let op! Noteer boven het nulpunt in het midden van het diagram.

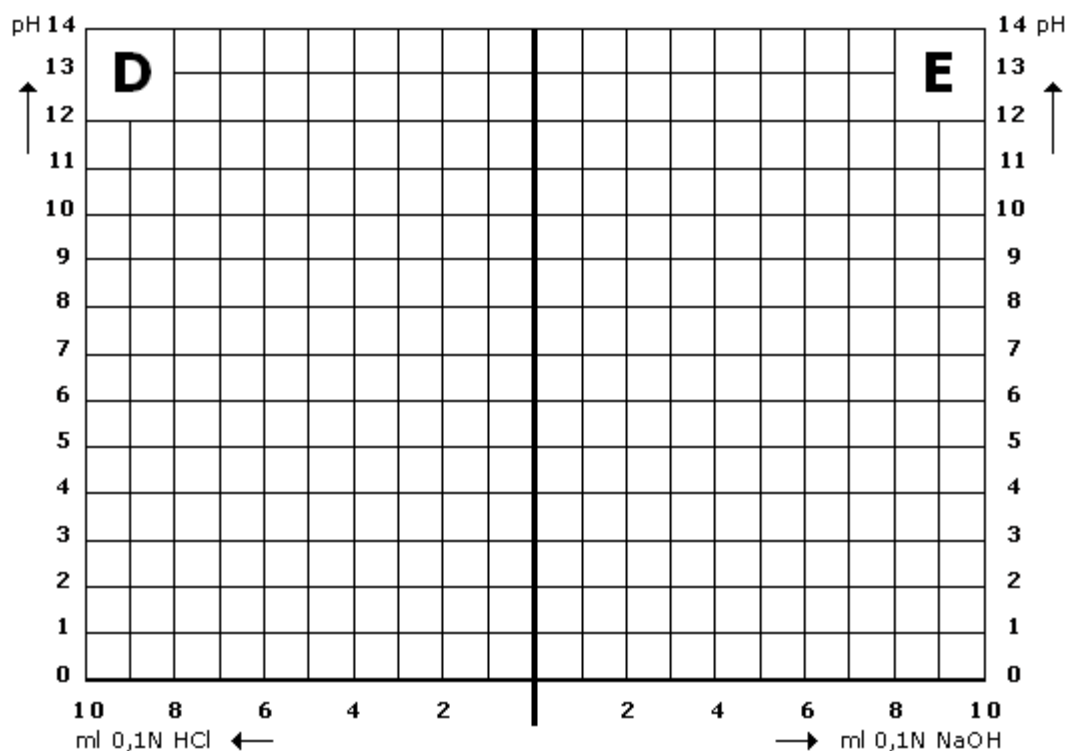
- voeg 1 ml 0,1 N HCl toe, schud, bepaal de pH en noteer in de grafiek D.

Let op! De toegevoegde ml HCl is *naar links* in de grafiek opgenomen.

- herhaal dit ongeveer 10x.

CH₃COOH + CH₃COONa en NaOH. Een zwak zuur met zijn zout en NaOH

- breng 5 ml van een oplossing die 0,2 mol/l azijnzuur en 5 ml van een oplossing die 0,2 mol/l natriumacetaat bevat bijeen in een 100 ml erlenmeyer.
 - bepaal de pH met behulp van een stukje indicatorpapier en noteer het resultaat in de grafiek E. Dit resultaat moet hetzelfde zijn als de eerste bepaling in experiment d en komt ook op dezelfde plaats in de grafiek.
 - voeg 1 ml 0,1 N NaOH toe, schud, bepaal de pH en noteer in de grafiek E.
- Let op!** De toegevoegde ml NaOH is *naar rechts* in de grafiek opgenomen.
- herhaal dit ongeveer 10x.



Titratie van 10 ml 0,1 N azijnzuur + 0,1 mol/l natriumacetaat met 0,1 N HCl en met 0,1 N NaOH

Vragen:

1. Hoe komt het dat de pH van 0,1 N HCl en van 0,1 N azijnzuur niet gelijk zijn?
2. Welk zout wordt er gevormd indien men HCl en NaOH bij elkaar voegt?
3. Welk zout wordt er gevormd indien men CH_3COOH en NaOH bij elkaar voegt?
4. Hoeveel ml 0,1 N NaOH moet men toevoegen aan 10 ml 0,1 N HCl om de pH van 4 naar 10 te doen stijgen? (Zie grafiek A.)
5. Over hoeveel ml strekt het traject pH 4 tot pH 10 zich uit bij de andere bepalingen? (Zie grafieken B t/m D.)
6. Welke oplossing heeft blijkens de antwoorden op vraag 4 en 5 de beste bufferende eigenschappen?

V-34 Theorie evenwichten en buffers

A. Sterke en zwakke zuren

Een buffer is een mengsel van buffermengsel in te gaan. Indien men azijnzuur (CH_3COOH) in water brengt, dan zal dit zuur uiteenvallen (dissociëren) in ionen: H^+ ionen (waterstofionen) en CH_3COO^- ionen (acetaationen). De H^+ -ionen zijn verantwoordelijk voor de zure eigenschappen van de oplossing. Ook als men HCl in water brengt (zoutzuur) zullen ionen ontstaan namelijk H^+ ionen en Cl^- ionen. Ook hier zijn de H^+ ionen verantwoordelijk voor de zure eigenschappen van de oplossing. Toch is een oplossing van één mol azijnzuur in een liter water niet even zuur als een oplossing van één mol zoutzuur in een liter water.

Bij de dissociatie van $\text{HCl} \rightarrow \text{H}^+ + \text{Cl}^-$ vallen nagenoeg alle HCl moleculen in H^+ en Cl^- ionen uiteen; er zijn bijna geen HCl moleculen meer in de oplossing. Bij de dissociatie van azijnzuur: $\text{CH}_3\text{COOH} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+$ loopt de ionisatie niet helemaal naar rechts af; er blijven naast de ionen nog een aanzienlijk aantal niet geïoniseerde CH_3COOH moleculen in de oplossing aanwezig. Azijnzuur noemt men hierom een zwakker zuur dan zoutzuur. Hoe zwak een bepaald zuur is kan men afleiden uit de dissociatie-constante 'K' van dat zuur. Voor azijnzuur is $K = 10^{-4,76}$. Dit getal K is de uitkomst van de breuk.

$$\frac{(\text{concentratie } \text{H}^+) \times (\text{concentratie } \text{CH}_3\text{COO}^-)}{\text{concentratie } \text{CH}_3\text{COOH}}$$

Hoe hoger de waarde van K, hoe meer zuurmoleculen tot ionen gedissocieerd zijn. Omdat K een negatieve exponent bevat, geeft men vaak als eenvoudigere weergave de pK aan: De negatieve logaritme van K. De waarde van K en de pK voor een aantal zwakke zuren staan in de tabel.

Naam van het zuur	Dissociatie	K	PK
Fosforzuur: H_3PO_4	$\text{H}_3\text{PO}_4 \rightleftharpoons \text{H}_2\text{PO}_4^- + \text{H}^+$ $\text{H}_2\text{PO}_4^- \rightleftharpoons \text{HPO}_4^{--} + \text{H}^+$ $\text{HPO}_4^{--} \rightleftharpoons \text{PO}_4^{---} + \text{H}^+$	$10^{-2,13}$ $10^{-7,21}$ $10^{-12,32}$	2,13 7,21 12,32
Citroenzuur: $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ $\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{COOH} \end{array}$	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \rightleftharpoons \text{C}_6\text{H}_7\text{O}_7^- + \text{H}^+$ $\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_7^- \rightleftharpoons \text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7^{--} + \text{H}^+$ $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7^{--} \rightleftharpoons \text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{---} + \text{H}^+$	$10^{-3,06}$ $10^{-4,74}$ $10^{-5,40}$	3,06 4,74 5,40
azijnzuur: CH_3COOH	$\text{CH}_3\text{COOH} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+$	$10^{-4,76}$	4,76
koolzuur: H_2CO_3	$\text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ $\text{HCO}_3^- \rightleftharpoons \text{CO}_3^{--} + \text{H}^+$	$10^{-6,1}$ $10^{-10,25}$	6,1 10,25

B. De werking van één buffermengsel

Om de werking van bijvoorbeeld een azijnzuur/natriumacetaatbuffer te verklaren moeten we met de volgende drie gegevens rekening houden:

- CH_3COOH is in water zover gedissocieerd als blijkt uit de dissociatieconstante K van azijnzuur
 $10^{-4,76} = \frac{(\text{concentratie } \text{H}^+) \times (\text{concentratie } \text{CH}_3\text{COO}^-)}{\text{concentratie } \text{CH}_3\text{COOH}}$
De waarde van deze breuk blijft bij gelijkblijvende temperatuur *constant*.
- CH_3COONa (natriumacetaat) is in water helemaal gedissocieerd in Na^+ en CH_3COO^- .
- Het product van de H^+ ionenconcentratie en de OH^- ionenconcentratie is bij 25 °C 10^{-14} mol per liter.

Voegt men nu aan een oplossing van azijnzuur in water een hoeveelheid natriumacetaat toe, dan zal daardoor de concentratie van de CH_3COO^- ionen stijgen. Hierdoor stijgt de waarde van het product: (conc. H^+) x (conc. CH_3COO^-) en is de verhouding tussen de wél en niet gedissocieerde azijnzuurmoleculen niet meer in

overeenstemming met de dissociatieconstante van azijnzuur. Als gevolg hiervan zal een aantal H^+ ionen met een zelfde aantal CH_3COO^- ionen overgaan in CH_3COOH -moleculen. Hierdoor neemt de waarde van de teller van de breuk in a af en neemt de waarde van de noemer in de breuk in a toe. De overgang van *ionen* uit de teller in *moleculen* uit de noemer gaat door tot de waarde van de breuk weer gelijk is aan de dissociatieconstante van azijnzuur. Het verdwijnen van H^+ ionen uit de oplossing heeft tot gevolg dat het product van H^+ ionen en OH^- ionen in het water niet meer gelijk is aan 10^{-14} mol per liter. Als gevolg hiervan zullen een aantal H_2O moleculen in H^+ en OH^- ionen uit elkaar vallen tot het product (conc. H^+) $\times$ (conc. OH^-) weer gelijk is aan 10^{-14} mol per liter. Deze nieuwe H^+ ionen beïnvloeden op hun beurt weer het evenwicht in het azijnzuur/natriumacetaat mengsel.

Na al deze reacties — die zeer snel verlopen — is het buffermengsel klaar. Bij toevoeging van zuur of base wordt de concentratie van respectievelijk H^+ ionen en OH^- ionen veranderd. Een buffermengsel is in staat deze verandering op te vangen, zoals onderstaande voorbeelden nog eens laten zien:

Toevoeging van zuur:

Gevolg: De H^+ ionenconcentratie stijgt.

Het evenwicht $\text{CH}_3\text{COOH} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+$ verschuift naar links (de molecuulkant), waardoor een aantal H^+ ionen gebonden worden.

Het evenwicht $\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{OH}^-$ verschuift eveneens naar links waardoor ook een aantal H^+ ionen verdwijnen.

Totaaleffect: Veel van de toegevoegde H^+ ionen zijn gebonden en hebben daardoor geen invloed meer op de zuurgraad van het buffermengsel, de pH is maar weinig veranderd.

Toevoeging van base:

Gevolg: De OH^- ionenconcentratie stijgt.

Het evenwicht $\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{OH}^-$ verschuift naar links, waardoor evenveel H^+ als OH^- ionen uit de oplossing verdwijnen. Doordat H^+ ionen verdwijnen verschuift het evenwicht $\text{CH}_3\text{COOH} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+$ naar rechts (de ionenkant). De daarbij vrijkomende H^+ ionen kunnen de toegevoegde OH^- ionen neutraliseren.

Totaaleffect: Veel van de toegevoegde OH^- ionen zijn met H^+ ionen overgegaan in H_2O moleculen, ze hebben daardoor geen invloed meer op de zuurgraad, de pH is maar weinig veranderd.

C. De keuze van een buffer; enkele recepten

Het neutraliseren van toegevoegde H^+ en OH^- ionen kan niet onbeperkt doorgaan.

Hoe geconcentreerder de bufferoplossing, hoe meer ionen gebonden kunnen worden.

Té sterke bufferoplossingen zijn echter ongewenst omdat veel organismen niet alleen door de zuurgraad, maar ook door de concentratie van de vloeistof buiten de cel beïnvloed worden.

Indien men een buffer zoekt voor een bepaald pH-gebied, dan kan men uit de pK afleiden welk zuur en welk zout van dat zuur men het beste voor deze buffer kan benutten. De bufferwerking is namelijk het beste bij een pH die dezelfde waarde heeft als de pK .

Dus: azijnzuur ($\text{pK} = 4,76$) en zijn zout buffert het beste bij een pH tussen 4 en 5.

Zoekt men een buffer rond pH 7 dan kan men gebruik maken van fosforzuur.

De pK van NaH_2PO_4 is 7,21. Als zout kan men dan K_2HPO_4 gebruiken.

Veel biologische reacties verlopen bij een pH van 7,0-7,5. Hier kunnen we de fosfaatbuffer gebruiken. In de cel zijn positieve ionen zoals Ca^{++} en Mg^{++} aanwezig, die met de bestanddelen van de fosfaatbuffer reageren. Hoewel de fosfaatbuffer in het gewenste pH-traject het beste buffert, is hij door deze nevenwerking vaak ongeschikt. Een buffer die wel goed voldoet is de 'tris-buffer' bestaande uit 2-amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propaandiol (=tris-(hydroxymethyl)aminomethaan) met HCl.

a. Fosfaatbuffer

Stamoplossing A: los 9,078 gram KH_2PO_4 op in aqua dest., waarvan de pH = 7 moet zijn (controleren). Eerst oplossen in 70 ml heet water, dan afkoelen en aanvullen tot 1000 ml.

Stamoplossing B: los 11,876 gram $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ op in aqua dest., van pH = 7 en vul aan tot 1000 ml.

ml Stamoplossing A	ml Stamoplossing B	pH
2,5	97,5	8,3
10,0	90,0	7,7
30,0	70,0	7,2
50,0	50,0	6,8
70,0	30,0	6,5
90,0	10,0	5,9
97,5	2,5	5,3

b. Trisbuffer

Stamoplossing A: 0,2 M Tris(=2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propaandiol). Weeg 24,2 gram Tris af en los het op in aqua dest. Vul aan tot 1 liter.

Stamoplossing B: 0,2 M HCl

Bereiding van de buffer: Voeg aan 50 ml van oplossing A de hieronder aangegeven hoeveelheid stamoplossing B toe en vul aan tot 200 ml.

B x ml HCl	PH
5,0	9,0
8,1	8,8
12,2	8,6
16,5	8,4
21,9	8,2
26,8	8,0
32,5	7,8
38,4	7,6
41,4	7,4
44,2	7,2

c. Citroenzuurbuffer: Deze is samengesteld volgens Mac-Ilvain en bestrijkt een groter pH-gebied.

Stamoplossing A: 0,1 Mol citroenzuuroplossing (= 21 gram $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ per liter).

Stamoplossing B: 0,2 Mol Na_2HPO_4 -oplossing (= 35,6 gram $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ per liter).

ml Stamoplossing A	ml Stamoplossing B	PH
98	2	2,2
84,15	15,85	2,8
71,5	28,5	3,4
61,45	38,55	4,0
53,25	46,75	4,6
46,4	53,6	5,2
39,55	60,45	5,8
30,75	69,25	6,4
17,65	82,35	7,0
6,35	93,65	7,6
2,75	97,25	8,0

d. Azijnzuur - acetaatbuffer

Stamoplossing A: 0,2 Mol azijnzuur (= 12 gram CH_3COOH per liter).

Stamoplossing B: 0,2 Mol natriumacetaat (= 27,2 gram $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ per liter).

ml Stamoplossing A	ml Stamoplossing B	pH
92,5	7,5	3,6
82	18	4,0
63	37	4,4
40	60	4,8
21	79	5,2
9,5	90,5	5,6
4	96	6,0

V-35 Het eiwitkarakter van enzymen

Een groot aantal enzymen bestaat uit een eiwitdeel, het apo-enzym en een co-factor. Het gehele enzym noemt men wel het holo-enzym. Met behulp van een herkenningsreactie op eiwit is aan te tonen dat een holo-enzym een eiwitdeel bevat.

Benodigdheden:

- enkele reageerbuizen.
- 2 ml speeksel.
- 2 ml van een oplossing van zuiver pepsine 4% en/of pancreatine 4% en/of een ander enzym.
- $CuSO_4$ -oplossing 1%.
- KOH-oplossing 5%.

Uitvoering:

- verzamel in een klein bekerglas speeksel; dit doet men door eerst de mond goed met water te spoelen (zodat alle etensresten die zetmeel, suikers of eiwit bevatten worden verwijderd) en vervolgens enige tijd niet te slikken en het speeksel voor in de mondholte te verzamelen. De speekselvloed wordt bevorderd door tijdens het verzamelen op watten te kauwen.

N.B. Het amylase verliest spoedig zijn activiteit, het speeksel dient daarom zo kort mogelijk vóór het experiment verzameld te worden. Speeksel van hongerige personen bevat meer amylase dan van verzadigde personen.

- breng in een reageerbuis 2 ml speeksel.
- breng in een andere reageerbuis 2 ml pepsine-oplossing 4%.
- ook in de volgende reageerbuizen worden steeds 2 ml van een enzymoplossing gebracht.
- voeg aan iedere buis enkele druppels KOH-oplossing toe:
voeg vervolgens enkele druppels CuSO_4 -oplossing toe.
- indien op het grensvlak van het toegevoegde CuSO_4 en de in de buis aanwezige vloeistof een verkleuring ontstaat is er eiwit aanwezig (biureetreactie).

Vragen:

1. Is in ieder getest enzym eiwit aanwezig?
2. Welke eigenschappen hebben eiwitten; welke eigenschappen van enzymen vloeien hieruit voort?

V-36 De invloed van de enzymconcentratie op de enzymwerking

Aan de feitelijke enzymatische omzetting van een substraat gaat de vorming van een *enzym-substraat-complex* vooraf. Het aantal van zulke complexen dat per tijdseenheid gevormd kan worden en dat mede bepalend is voor de reactiesnelheid van het enzym, is onder meer afhankelijk van de concentratie enzymmoleculen en de concentratie substraatmoleculen. De invloed van beide genoemde concentraties op de enzymactiviteit wordt nagegaan in dit en in het volgende experiment.

Benodigheden:

- een waterbad met water van 37 °C.
- 8 reageerbuizen.
- 50 ml 0,5% zetmeeloplossing.
- onverdund speeksel (zie V-35).
- 10 ml 2% NaCl-oplossing.
- jood-kaliumjodide-oplossing (zie V-24).
- aqua dest.

Voorbereiding:

- men vervaardigt de 0,5% zetmeeloplossing als volgt:
 - los 0,5 gram amyllum solubile op in 50 ml aqua dest., door het zetmeel langzaam, onder roeren, in het water te strooien.
 - vul aan met aqua dest. tot 100 ml.
 - verwarm de oplossing tot deze helder is en laat afkoelen.
 - vermijd, indien mogelijk, dat de oplossing gaat koken.
- men plaatst de zetmeeloplossing van 0,5% in het waterbad.
- 8 reageerbuizen worden genummerd 1 tot en met 8 en in iedere buis wordt 1 ml aqua dest. gebracht.
- in buis 1 wordt 1 ml speeksel gepipetteerd en goed met het aqua dest. gemengd door de inhoud van buis 1 in de pipet te zuigen en deze weer leeg te laten lopen.
Dit 3 x herhalen.
- pipetteer nu 1 ml uit buis 1 over in buis 2 en na telkens opnieuw op boven beschreven wijze gemengd te hebben, 1 ml uit buis 2 in buis 3, uit buis 3 in buis 4, etc.
De 1 ml die men uit buis 8 opzuigt kan worden weggegooid.
- noteer van de aldus vervaardigde verdunningsreeks de speekselconcentratie in iedere buis in de tabel.
- breng nu in alle buizen 1 ml 2% NaCl-oplossing en plaats de buizen in het waterbad.
- men verdunt de jood-kaliumjodide-oplossing 10 x met aqua dest.

Uitvoering:

- op een glazen plaat, die op een witte ondergrond moet liggen, brengt men naast elkaar 8 druppels van de verdunde jood-kaliumjodide-oplossing.
- wanneer zowel de zetmeeloplossing als de speekseloplossing in de buizen 37 °C bereikt hebben, wordt in iedere reageerbuis 5 ml 0,5% zetmeeloplossing gebracht (schudden!). Dit starttijdstip wordt genoteerd in de tabel.
- 1 minuut na het starttijdstip brengt men uit iedere buis één druppel op een van de jood-kaliumjodide-druppels en test deze door middel van de blauwkleuring op aanwezigheid van zetmeel. De buizen even schudden en terugplaatsen in het waterbad. Noteer het resultaat in de tabel.
N.B. In een bepaalde fase van de omzetting treedt roodkleuring op. Noteer daarom in de tabel blauwkleuring met +, roodkleuring met ± en kleurloos met -.
- herhaal deze test iedere minuut, gedurende 10 minuten na het starttijdstip.
Gebruik telkens nieuwe druppels jood-kaliumjodide.
- na de eerste 10 minuten herhaalt men de test om de 5 minuten.
- noteer voor iedere buis het tijdstip waarop geen blauw- of roodkleuring meer optreedt, in de tabel. Deze buis wordt dan verder niet meer getest.
- stop het experiment als ook buis 8 geen blauwkleuring meer oplevert.
- geef het verband tussen de enzymconcentratie (X-as) en de reactiesnelheid (Y-as) grafisch weer. (De reactiesnelheid is omgekeerd evenredig met de voor iedere buis vastgestelde reactietijd.)

Vragen:

- Leidt iedere halvering van de enzymconcentratie tot een overeenkomstige halvering van de enzymactiviteit?
- Kunt u het waargenomen 'gedrag' van het enzym verklaren?

Tabel

Nr. Buis	1	2	3	4	5	6	7	8
Speekselconcentratie								
Starttijdstip								
na 1 minuut								
na 2 minuten								
na 3 minuten								
na 4 minuten								
na 5 minuten								
na 6 minuten								
na 7 minuten								
na 8 minuten								
na 9 minuten								
na 10 minuten								
na 15 minuten								
na 20 minuten								
na 25 minuten								
na 30 minuten								
Reactietijd								

Zetmeeltest positief (blauwkleuring) = +

Zetmeeltest positief (roodkleuring) = ±

Zetmeeltest negatief (kleurloos) = –

V-37 De invloed van de substraatconcentratie op de enzymwerking

Benodigdheden:

- een waterbad met water van 37 °C.
- 4 ml 4% zetmeeloplossing (zie V-36).
- 10 reageerbuizen.
- enkele ml onverdund speeksel van dezelfde persoon als in experiment V-36.
- aqua dest.
- jood-kaliumjodide-oplossing (zie V-24).

Voorbereiding:

- voorzie 10 reageerbuizen met glaspotlood of etiketten (deze hoog aanbrengen) van de nummers 1 tot en met 10 en breng in ieder van de buizen 2 tot en met 10 2 ml aqua dest.
- vervaardig een verdunningsreeks van 4% tot en met $\frac{1}{128}$ % zetmeel als volgt:
- in buis 1 wordt 2 ml 4% zetmeeloplossing gepipetteerd.
- in buis 2 wordt eveneens 2 ml 4% zetmeeloplossing gepipetteerd en goed met het aqua dest gemengd door de inhoud van buis 2 in de pipet te zuigen en deze weer leeg te laten lopen. Dit 3x herhalen.
- pipetteer nu 2 ml uit buis 2 over in buis 3 en na telkens opnieuw op bovenbeschreven wijze gemengd te hebben, 2 ml uit buis 3 in buis 4, uit buis 4 in buis 5, etc. De 2 ml die men uit buis 10 opzuigt kunnen worden weggegooid.
- plaats de 10 buizen bij 37 °C.
- vervaardig 15 ml verdunde speekseloplossing van dezelfde concentratie als die welke in experiment V-36 de 0,5% zetmeeloplossing in 10-15 minuten zetmeelvrij maakte, en plaats deze bij 37 °C.

Uitvoering:

- als alle oplossingen 37 °C bereikt hebben (controleren), brengt men met behulp van een maatpipet snel in iedere reageerbuis 1 ml speekseloplossing, schudt goed en plaatst de buizen terug bij 37 °C.
- noteer voor iedere buis het starttijdstip in de tabel.
- na 1 minuut test men uit iedere buis één druppel van de inhoud op de aanwezigheid van zetmeel, zoals beschreven is in V-36 en noteert het resultaat in de tabel.
- herhaal dit iedere minuut gedurende 5-10 minuten.
- na de eerste 5-10 minuten, herhaalt men de test om de 5 minuten, gedurende $\pm$ 30 minuten.
- noteer voor iedere buis de reactietijd in de tabel.
- vervaardig een diagram waarin men de afhankelijkheid van de reactiesnelheid (Y-as) van de substraatconcentratie (X-as) weergeeft.

Tabel

Nr. Buis	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Zetmeelconcentratie										
Starttijdstip										
na 1 minuut										
na 2 minuten										
na 3 minuten										
na 4 minuten										
na 5 minuten										
na 6 minuten										
na 7 minuten										
na 8 minuten										
na 9 minuten										
na 10 minuten										
na 15 minuten										
na 20 minuten										
na 25 minuten										
na 30 minuten										
Reactietijd										

Zetmeeltest positief (blauwkleuring) = +
Zetmeeltest positief (roodkleuring) = ±
Zetmeeltest negatief (kleurloos) = —

Vragen:

1. Is het mogelijk met dit experiment de maximale reactiesnelheid van de enzymoplossing bij deze temperatuur te bepalen?
2. Kan deze reactiesnelheid uitgedrukt worden in: aantal omgezette moleculen zetmeel per enzymmolecuul? Verklaar.
3. Tot welke concentratie zetmeel zou de verdunningsreeks zinvol kunnen worden voortgezet?

V-38 De invloed van de pH op de enzymwerking

De meeste enzymmoleculen functioneren als gevolg van hun overwegend eiwitkarakter optimaal bij één bepaalde zuurgraad. Het verband tussen de pH en de reactiesnelheid wordt aangetoond bij 2 enzymen. Voor het bereiken en handhaven van verschillende pH's gedurende het experiment wordt gebruik gemaakt van buffers.

a. De invloed van de pH op de werking van speekselamylase

Benodigdheden:

- ca. 5 ml speekseloplossing.
- 0,5% zetmeeloplossing.
- jood-kaliumjodide-oplossing (zie V-24).
- 10% NaCl-oplossing.
- 7 reageerbuizen.
- stamoplossingen voor fosfaatbuffer.

Voorbereiding:

- verzamel speeksel in een klein bekersglas (zie V-35).
- De in dit experiment gebruikte speekseloplossing wordt verkregen door 1 ml speeksel in een maatcilinder te mengen met 99 ml aqua dest.
- vervaardig een 0,5% zetmeeloplossing (zie V-36); per 2 leerlingen is ca 50 ml nodig.
- De amanuensis zet een waterbad van 37° C klaar.
- vervaardig fosfaatbuffers van pH's 5,3 - 5,9 - 6,5 - 6,8 - 7,2 - 7,7 - 8,3 (zie V-34).

Uitvoering:

- op 7 reageerbuizen noteert men met glaspotlood respectievelijk de volgende pH's: 5,3 - 5,9 - 6,5 - 6,8 - 7,2 - 7,7 - 8,3.
- men voegt aan iedere buis 5 ml buffer van de erop genoteerde pH toe.
De pH van de buffers eerst controleren!
- in iedere buis brengt men 5 ml van de 0,5% zetmeeloplossing en bovendien 2 druppels 10% NaCl-oplossing.
- de 7 reageerbuizen en de verdunde speekseloplossing worden in het waterbad van 37 °C geplaatst.
- de volgens het recept van V-24 gemaakte jood-kaliumjodide-oplossing verdunt men 10x met aqua dest.
- op een glazen plaat — die op een witte ondergrond moet liggen — brengt men naast elkaar 7 druppels verdunde jood-kaliumjodide-oplossing.
- wanneer de inhoud van alle buizen de temperatuur van het waterbad bereikt heeft (controleren door een extra buis met 10 ml water en een thermometer erin, in het waterbad te plaatsen) pipetteert men vlug 0,5 ml van de verdunde speekseloplossing in iedere buis en mengt de inhoud goed. Noteer dit starttijdstip in de tabel.
- op de in V-36 beschreven wijze test men de inhoud van elke buis op vaste tijden, bijvoorbeeld om de 5 minuten en tot 30-45 minuten na de starttijd, op de aanwezigheid van zetmeel. Doe dit met telkens verse druppels jood-kaliumjodide-oplossing.
- noteer in de tabel voor iedere buis het tijdstip waarop de druppel uit die buis geen blauw-zwartkleuring meer veroorzaakt. Men kan nu, rekenend vanaf de starttijd, de tijd afleiden die het enzym nodig had om het in de buis aanwezige zetmeel af te breken. Deze tijd is omgekeerd evenredig met de activiteit van het amylase bij de pH in de buis.
- maak nu een grafische voorstelling van de enzymactiviteit als functie van de pH door op de X-as de pH en op de Y-as de reactietijd uit te zetten.

Tabel

Nr. Buis	1	2	3	4	5	6	7
pH in buis							
Starttijdstip							
na 5 minuten							
na 10 minuten							
na 15 minuten							
na 20 minuten							
na 25 minuten							
na 30 minuten							
na 35 minuten							
na 40 minuten							
na 45 minuten							
Reactietijd							

Zetmeeltest positief = +

Zetmeeltest negatief = –

b. De invloed van de pH op de werking van pepsine

Benodigdheden:

- pepsine in poedervorm.
- een vers kippenei.
- 1 N NaOH-oplossing.
- citroenzuur in kristalvorm.
- 1N HCl-oplossing.
- waterbad met water van 37 °C.
- pH staafjes, bereik pH 0 - 7.
- 6 reageerbuizen.

Voorbereiding:

- maak een 4% pepsine-oplossing in aqua dest.; dit moet zo kort mogelijk vóór het experiment gebeuren. De oplossing moet in de koelkast bewaard worden.
Per 2 leerlingen is ca 10 ml nodig.
- vervaardig het substraat: klop het 'wit' van een vers ei met een gelijk deel aqua dest. Breng het mengsel daarna langzaam over in 500 ml aqua dest van 60 °C. Hierbij krachtig roeren.
Voer onder krachtig roeren de temperatuur geleidelijk op, doch verhit niet boven 80 °C. Het gehele mengsel wordt nu een melkwitte suspensie van eiwitmoleculen. Men laat deze suspensie af koelen en indien zij hierbij dik en stroperig wordt, filtreert men de suspensie over glaswol en gebruik het filtraat.
Per 2 leerlingen is 20-30 ml suspensie voldoende.
- maak een bufferoplossing door in 100 ml 1 N NaOH 10,5 g citroenzuur op te lossen. Na goed mengen controleert men de pH; deze moet 5 bedragen. Indien dit niet het geval is brengt men de buffer op pH 5 door voorzichtig toevoegen van NaOH respectievelijk citroenzuur.
Per 2 leerlingen is ca 25 ml bufferoplossing nodig.
- men maakt een oplossing van 1N HCl. De pH hiervan moet 0 zijn!
Per 2 leerlingen is 20-25 ml nodig.

- de amanuensis zet een waterbad van 37 °C klaar (eventueel zijn per groep bekers met water van 37 °C te gebruiken).
- voorzie 6 reageerbuizen van de nummers 0 tot en met 5. Bij gebruik van etiketten deze hoog aanbrengen in verband met losweken in het waterbad.
- plaats in ieder buisje een pH-staafje met bereik 0 tot 6,0.
- breng 2 ml 1N HCl in de buizen 1 tot en met 4.
- voeg dan aan de buizen 1 tot en met 4 achtereenvolgens zoveel druppels van de citroenzuur/NaOH-buffer toe, dat de pH van buis 1 = 1, buis 2 = 2, buis 3 = 3 en buis 4 = 4 wordt.
- breng 2 ml van de citroenzuur/NaOH-buffer in buis 5.
- breng nu — met gebruikmaking van zo weinig mogelijk aqua. dest. — het vloeistofniveau in ieder buisje 1 tot en met 5 op gelijke hoogte.
- in buis 0 brengt men nu zoveel 1 N HCl-oplossing dat ook hierin het vloeistofniveau even hoog staat als in de andere buizen.
- controleer nogmaals of de pH in iedere buis hetzelfde is als het nummer dat de buis draagt. Eventueel een te hoge pH bijregelen met citroenzuur en een te lage met NaOH.
- voeg nu aan iedere buis 3 ml eiwitsuspensie toe, meng de inhoud goed en plaats de buizen ca. 10 minuten in het waterbad. De buizen die niet melkachtig wit zijn, zijn voor het experiment onbruikbaar en moeten vervangen worden.

Uitvoering:

- voeg aan de melkwhite inhoud van iedere buis 1 ml pepsine-oplossing toe, meng de inhoud door schudden en plaats de buizen in het waterbad van 37 °C. Noteer het tijdstip waarop de inhoud gemengd werd.
- controleer meteen de pH van alle buizen en let op veranderingen.
- schud iedere buis even om de paar minuten en noteer van iedere buis het tijdstip waarop de witte eiwitsuspensie heeft plaatsgemaakt voor een heldere oplossing.
- maak op de wijze als beschreven is in onderdeel a van V-38 een grafiek welke het verband tussen de activiteit van het pepsine en de pH weergeeft en bepaal het pH-optimum van pepsine.

Vragen:

1. In welke buis of buizen trad na inbrengen van het pepsine een verandering van de pH op?
2. Verklaar waarom een verandering optreedt.
3. Waarom is dit niet in alle buizen het geval?
4. Is het verband tussen pH en reactiesnelheid bij beide enzymen rechtlijnig?
5. Verklaar het verloop van de grafieken.

V-39 De invloed van de temperatuur op de enzymwerking

De activiteit van speekselamylase bij het afbreken van zetmeel wordt bepaald bij 5 verschillende temperaturen.

Benodigheden:

- ca 5 ml speeksel (zie V-35).
- een 1% zetmeeloplossing (zie V-36).
- jood-kaliumjodide-oplossing (zie V-24).
- 3 waterbaden van respectievelijk 37 °C, 60 °C en 90 °C.
- 17 reageerbuizen.

Voorbereiding:

- de volgens het recept in V-24 gemaakte jood-kaliumjodide-oplossing verdunt men 10x met aqua dest.

- zo kort mogelijk vóór de aanvang van het experiment verzamelt iedere groep van 2 leerlingen zoveel ml speeksel als noodzakelijk is. Het speeksel wordt met een ongeveer gelijke hoeveelheid aqua dest. verdund.
- voorzie 7 reageerbuizen van de nummers 1 tot en met 7 en breng in iedere buis 1 ml speekseloplossing.
- voorzie 7 andere reageerbuizen van de nummers 8 tot en met 14 en breng in iedere buis 1 ml 1% zetmeeloplossing.
- de amanuensis zet een waterbad van 37 °C, van 60 °C en van 90 °C klaar. (Eventueel per groep bekerglazen met water van 37 °C, 60 °C en 90 °C gebruiken).

Uitvoering:

- 2 buizen met speekseloplossing (nr. 1 en 2), alsmede één buis met zetmeeloplossing (nr. 8) plaatst men bij 5 °C (koelkast). Na ca. 10 minuten hebben zij de gewenste temperatuur bereikt.
- één buis met speekseloplossing (nr. 3) en een buis met zetmeeloplossing (nr. 10) plaatst men bij ca 20 °C (kamertemperatuur).
- één buis met speekseloplossing (nr. 4) en 3 buizen met zetmeeloplossing (nr. 9, 11 en 14) worden geplaatst bij 37 °C (waterbad). Controleer wanneer deze 37 ° bereikt hebben door er een extra reageerbuis met 2 ml water waarin een thermometer staat, bij te plaatsen.
- een buis met speekseloplossing (nr. 5) en een buis met zetmeeloplossing (nr. 12) worden bij 60 °C geplaatst.
- 2 buizen met speekseloplossing (nr. 6 en 7), alsmede één buis met zetmeeloplossing (nr. 13) worden geplaatst bij 90 °C (waterbad).
- van de buizen met speekseloplossing nr. 1, 2, 6 en 7 blijft er één (nr. 1) op 5 °C, één op 90 °C (nr. 6) en de beide andere worden, na enkele minuten op hun temperatuur (5 °C respectievelijk 90 °C) gebleven te zijn, opgewarmd respectievelijk afgekoeld (waterstraal) tot ca 37 °C en in het waterbad van 37 °C geplaatst.
- wanneer alle buizen hun voorgeschreven temperatuur hebben start het eigenlijke experiment met het toevoegen van de zetmeeloplossingen aan de speekseloplossingen van dezelfde temperatuur, dat wil zeggen buis 8 bij buis 1 (5 °C), 10 bij 3 (20 °C), 11 bij 4 (37 °C), 12 bij 5 (60 °C) en 13 bij 6 (90 °C). Noteer dit starttijdstip in de tabel.
- de inhoud van buis 9 wordt toegevoegd aan die van buis 2 (37 °C), de inhoud van buis 14 wordt toegevoegd aan die van buis 7 (37 °C). Noteer het starttijdstip in de tabel.
- de zetmeel-speekseloplossing in iedere buis 1 tot en met 7 wordt goed gemengd en geïncubeerd bij de betreffende temperatuur.
- na 5 minuten test men van de inhoud van iedere buis één druppel, door toevoeging aan een druppel verdunde jood-kaliumjodide, op de aanwezigheid van zetmeel (zie V-36).
- herhaal dit om de 5 minuten, gedurende 15-30 minuten. Gebruik telkens nieuwe druppels jood-kaliumjodide-oplossing.
- verwerk de resultaten in de tabel.

Vragen:

1. Verwacht u een verschillend resultaat in de buizen 1 en 2? En in de buizen 6 en 7?
2. Stemmen deze verwachtingen met uw waarnemingen overeen? Verklaar.
3. In welke buis of buizen wordt het meeste zetmeel afgebroken? Verklaar.

Tabel

Nr. Buis	1	2	3	4	5	6	7
Temperatuur	5 °C	5 °C 37 °C	20 °C	37 °C	60 °C	90 °C	90 °C 37 °C
Starttijdstip							
na 5 minuten							
na 10 minuten							
na 15 minuten							
na 20 minuten							
na 25 minuten							
na 30 minuten							
Bijzonderheden							

Zetmeeltest positief = +

Zetmeeltest negatief = –

V-40 Het effect van chloride-ionen op speekselamylase

Vele soorten enzymen zijn eerst werkzaam, wanneer in het milieu waarin de enzym-moleculen aanwezig zijn ook een bepaald ion als co-factor voorkomt. Het speeksel-amylase vereist de aanwezigheid van Cl⁻ionen. Door verdunning wordt de concentratie van de in het speeksel aanwezige Cl⁻ionen verlaagd. Door toevoeging van Cl⁻ionen aan het verdunde speeksel kan de in onverdund speeksel heersende Cl⁻ionenconcentratie worden hersteld.

Benodigdheden:

- een waterbad met water van 37 °C.
- enkele ml onverdund speeksel van dezelfde persoon als in experiment V-36.
- 15 reageerbuizen,
- 75 ml 0,5% zetmeeloplossing (zie V-36).
- 10 ml 0,16% NaCl-oplossing.
- 10 ml 0,1% NaCl-oplossing
- jood-kaliumjodide-oplossing (zie V-24).

Voorbereiding:

- vervaardig 15 ml verdunde speekseloplossing, van dezelfde concentratie als die welke blijkens experiment V-36 de 0,5% zetmeeloplossing in 10-15 minuten zetmeelvrij maakte, en plaats deze bij 37 °C.
- voorzie 6 reageerbuizen met glaspotlood of etiketten (deze hoog aanbrengen) van de nummers 1 tot en met 6.
- vervaardig NaCl-oplossingen 0,16%, 0,1 %, 0,08%, 0,04%, 0,01 %. Maak eerst de oplossingen 0,16% en 0,1 % en verdun deze tot 0,08% en 0,04% respectievelijk 0,01%.

Breng nu in

buis 1:	1 ml aqua dest.
buis 2:	1 ml 0,01% NaCl-oplossing.
buis 3:	1 ml 0,04% NaCl-oplossing.
buis 4:	1 ml 0,08% NaCl-oplossing.
buis 5:	1 ml 0,1% NaCl-oplossing.
buis 6:	1 ml 0,16% NaCl-oplossing.

- voeg aan iedere buis 10 ml van de 0,5% zetmeeloplossing toe.
- meng de inhoud van de buizen goed en plaats ze in het waterbad van 37 °C.

Uitvoering:

- zodra de buizen de temperatuur van het waterbad bereikt hebben, voegt men aan ieder van de 6 buizen 2 ml verdunde speekseloplossing toe.
- Dit is het starttijdstip dat in de tabel genoteerd wordt.
- meng de inhoud van de buizen goed en plaats ze terug in het waterbad.
- op een glazen plaat, die op een witte ondergrond moet liggen, brengt men naast elkaar 6 druppels van de verdunde jood-kaliumjodide-oplossing.
- 1 minuut na het starttijdstip brengt men uit iedere buis één druppel op een van de jood-kaliumjodide-druppels en test deze door middel van de blauwkleuring op aanwezigheid van zetmeel.
- De buizen even schudden en terugplaatsen in het waterbad.
- noteer het resultaat van de test in de tabel.
- herhaal deze test gedurende de eerste 10 minuten om de minuut, tussen de 10^e en 20^e minuut om de 2 minuten en daarna om de 5 minuten.
- Gebruik telkens nieuwe jood-kaliumjodide-druppels.
- noteer voor iedere buis het tijdstip waarop geen blauwkleuring meer optreedt.

Tabel

Nr. Buis	1	2	3	4	5	6		
Concentratie NaCl								
Starttijdstip								
na 1 minuut								
na 2 minuten								
na 3 minuten								
na 4 minuten								
na 5 minuten								
na 6 minuten								
na 7 minuten								
na 8 minuten								
na 9 minuten								
na 10 minuten								
na 12 minuten								
na 14 minuten								
na 16 minuten								
na 18 minuten								
na 20 minuten								
na 25 minuten								
na 30 minuten								
Reactietijd								

Zetmeeltest positief (blauwkleuring) = +

Zetmeeltest positief (roodkleuring) = ±

Zetmeeltest negatief (kleurloos) = —

Vraag en opdracht:

1. Welke conclusie kunt u trekken uit de tijden, die voor de enzymatische afbraak van zetmeel bij de verschillende concentraties NaCl gevonden werden?
2. Tijdens de uitvoering van experiment V-36 is aan de buizen met speekseloplossing NaCl toegevoegd; bij experiment V-37 is aan de buizen met speekseloplossing geen NaCl toegevoegd. Verklaar bovenstaand verschil in behandeling.

V-41 De werking van andere enzymen

Enzymen kunnen zowel in de cel als buiten de cel werkzaam zijn. In het eerste geval spreekt men van intra-cellulaire enzymen en in het tweede geval van extra-cellulaire enzymen. *In* de cel zijn dat bijvoorbeeld de enzymen die een rol spelen bij de afbraak van glucose (celademhaling of celoxidatie) of bij de eiwitsynthese. *Buiten* de cel zijn dat onder meer de spijsverteringsenzymen. De enzymen worden door het organisme naar behoefte gevormd. Er zijn echter micro-organismen bekend die in staat zijn zeer grote hoeveelheden extra-cellulaire enzymen te vormen, veel meer dan ze zelf nodig hebben. Van deze mogelijkheid tot overproductie maakt men in de industrie gebruik, onder andere bij de fabricage van enzymen die aan wasmiddelen worden toegevoegd. Aangezien enzymen specifiek zijn voor een bepaald type substraat worden er afhankelijk van het aantal typen substraatmoleculen waarmee een organisme wordt geconfronteerd een aantal typen enzymmoleculen vervaardigd door het organisme. Vanzelfsprekend vormen niet alle soorten organismen alle denkbare typen enzymen. De vorming is erfelijk bepaald en synthese vindt plaats afhankelijk van de behoefte, met als uitzondering de reeds eerder genoemde overproductie bij sommige micro-organismen. Met een aantal enzymen, die geen verteringsenzymen zijn, kan in de volgende experimenten kennis worden gemaakt.

a. Oxidase in aardappelcellen

Enzymen uit de ademhalingsketen (zogenaamde oxidasen) van aardappelcellen zijn in staat om, behalve stoffen uit deze keten, ook andere stoffen te oxideren, zoals bijvoorbeeld de fenolen uit guajaktinctuur, die dan na oxidatie blauw kleuren.

Benodigdheden:

- aardappelschillen van verse aardappelen.
- mortier.
- guajaktinctuur (1 gram guajakhout wordt met 10 ml ethanol 70% geëxtraheerd. Enkele uren laten staan. Als gevolg van de extractie wordt de vloeistof geelbruin).
- 2 reageerbuizen.

Uitvoering:

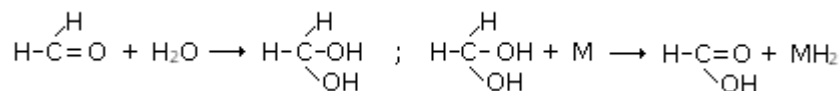
- schil een aardappel en wrijf de schillen fijn in een mortier (het is ook mogelijk de schillen door een keukenzeef te wrijven).
- filtreer de fijngewreven massa.
- vul 2 reageerbuizen voor de helft met de gefiltreerde oplossing.
- kook de inhoud in buis 2 enkele minuten en laat afkoelen.
- voeg aan beide buizen enkele druppels guajaktinctuur toe en laat ze enige tijd staan.

Vragen:

1. Wat is de blancoproef. Waarom?
2. In welke buis vond oxidatie plaats?
3. Waarom werd de inhoud van de tweede buis gekookt?

b. Het enzym van Schardinger

In de lever van vele zoogdieren vindt men een enzym (het molybdeen bevattende xanthine-oxidase) dat een rol speelt bij de afbraak van purines (bijvoorbeeld uit kernzuren) tot urinezuur en allantoïne. Dit enzym komt ook voor in verse melk en is verantwoordelijk voor de oxidatie van vrij veel stoffen door verse melk. In het volgende experiment wordt een toegevoegd aldehyde geoxideerd tot een zuur en wordt methyleenblauw (M) gereduceerd:



Benodigdheden:

- rauwe melk (bij de boer vers te halen).
- 3 reageerbuizen.
- methyleenblauw - formaldehyde-oplossing (los 25 mg methyleenblauw op in 195 ml water. Voeg hieraan 5 ml methanal 40% toe).
- waterbad 37 °C.

Uitvoering:

- voorzie 3 reageerbuizen met behulp van glaspotlood van de nummers 1, 2 en 3.
- breng in buis 1 en 2 ieder 5 ml verse rauwe (ongekookte) melk.
- voeg aan buis 1 en 2 toe: 0,5 ml methyleenblauw-formaldehyde-oplossing (de melk moet dan juist lichtblauw gekleurd zijn).
- laat buis 1 open aan de lucht staan.
- sluit buis 2 af meteen doorboorde kurk waarin een glazen buisje is aangebracht.
- breng door dit glazen buisje in de buis N₂ of H₂ gas en laat de lucht uit de buis langs de rand van de kurk ontsnappen, zodat alle lucht wordt verwijderd.
- sluit buis 2 nu goed af.
- breng in buis 3: 5 ml melk die men gedurende 5 minuten op een kleine vlam zachtjes heeft laten doorkoken.
- voeg aan buis 3 toe: 0,5 ml methyleenblauw-formaldehyde-oplossing.
- meng de inhoud van de buizen goed en incubeer op waterbad van 37 °C.
- vergelijk na enkele minuten de buizen met elkaar.

Vragen:

1. Welke proef (proeven) doen dienst als blanco? Waarom?
2. Om welke reden is buis 3 ingezet?
3. Waarom werd de lucht boven de melk in buis 2 verwijderd?
4. Waarom mag de melk, wil het experiment goed verlopen, maar juist lichtblauw gekleurd zijn?
5. Welke functie vervult het methyleenblauw in dit experiment?

c. Urease

Onder andere in sojabonen komt een enzym voordat ureum (een product van de eiwit-stofwisseling) afbreekt, waarbij ammoniak vrijkomt. Indien aan het reactiemengsel (sojabonenmeel + ureumoplossing) een zuur wordt toegevoegd is met behulp van lakmoes een geleidelijk optredende verandering in de zuurgraad aan te tonen. In onderstaand experiment reageren de vrijkomende ammoniumionen met azijnzuur tot ammoniumacetaat.

Benodigdheden:

- sojabonenmeel (sojabonen met een koffiemolen malen en het meel daarna met behulp van een mortier fijner maken).
- 4 ml ureumoplossing 1%.
- lakmoesoplossing (0,2% oplossing in water).
- azijnzuuroplossing 1%.
- 2 reageerbuizen.

Uitvoering:

- doe in ieder van 2 reageerbuizen 2 ml ureumoplossing.
- voeg aan buis 1 een klein beetje sojabonenmeel toe.
- voeg aan buis 2 een klein beetje aqua dest. toe.
- doe in buis 1 en 2 enkele druppels lakmoesoplossing.
- voeg aan buis 1 en 2 zoveel druppels azijnzuuroplossing 1 % toe tot de vloeistof lichtroze is gekleurd.
- laat beide buizen enige tijd staan en schud af en toe.

Vraag:

Welke buis ruikt na enige tijd naar ammoniak? Verklaar dit.

N.B. Men kan het experiment een aantal malen herhalen door na het ontkleuren opnieuw telkens zoveel druppels azijnzuuroplossing 1% toe te voegen tot de vloeistof weer lichtroze is gekleurd.

d. Saccharase

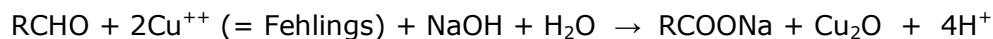
Saccharase is een enzym dat in staat is het disaccharide saccharose (= riet- of biet-suiker) om te zetten in twee monosacchariden, namelijk glucose en fructose.

Een oude naam voor dit enzym is invertase.

Met Fehlings reagens zijn glucose en fructose aan te tonen, saccharose niet.

De monosacchariden zijn namelijk in het bezit van een reducerende groep, evenals het disaccharide maltose; het disaccharide saccharose bezit zo'n groep niet.

De herkenningreactie met Fehlings reagens berust dan ook op de mogelijkheid de reducerende groep te oxideren.

**Benodigdheden:**

- 10% oplossing van saccharose.
- invertase-oplossing, als volgt te bereiden:
 - meng één deel vochtige gist met één deel zilverzand
 - (zeer fijn zuiver kwartszand).
 - wrijf de gistcellen in een mortier fijn.
 - voeg aqua dest. toe en filtreer af.
 - herhaal het filtreren tot het filtraat helder is; de vloeistof bevat invertase.
- Fehlings reagens (zie V-24) of Clinitest tabletten.
- 3 reageerbuizen.

Uitvoering:

- voorzie 3 reageerbuizen van de nummers 1 tot en met 3.
- breng in buis 1: 5 ml saccharose oplossing.
- voer de reactie met Fehlings reagens of Clinitest tabletten uit.
- breng in buis 2 en 3 ieder 5 ml saccharose oplossing.
- voeg aan buis 2 toe: 5 ml invertase oplossing.
- voeg aan buis 3 toe: 5ml aqua dest.
- plaats beide buizen in een bekersglas met water van 37 °C gedurende 30-60 minuten.
- voer na enige tijd de reactie met Fehlings reagens of Clinitest tabletten uit op de inhoud van de buizen 2 en 3 (verwarmen!).

e. Peroxidase

H_2O_2 (waterstofperoxide) is een stof die in organismen wordt gevormd bij de eiwitstofwisseling en chemisch zeer actief is. Indien deze stof niet onmiddellijk zou worden afgebroken zou het beschadigingen kunnen aanrichten. In het organisme komt dan ook een enzym voor dat H_2O_2 af breekt tot H_2O en O_2 . Dit enzym heet nu peroxidase, vroeger katalase.

Benodigdheden:

- allerlei soorten plantaardig en dierlijk materiaal, zoals aardappel, blad, vlieg, worm, drosophila-larve, enz.
- reageerbuisen, voor ieder soort materiaal één.
- H_2O_2 oplossing 3% (drogist)
- 0,1 N NaOH-oplossing.
- 0,1N HCl-oplossing.

Uitvoering:

- snijd diverse soorten plantaardig en dierlijk materiaal in kleine stukjes.
- breng de stukjes van iedere soort in een aparte reageerbuis.
- voeg aan iedere buis 5 ml H_2O_2 toe.
- breng in een reageerbuis enkele stukjes glas of kiezelsteen en voeg ook hieraan 5 ml H_2O_2 toe.
- welke reactie is er te zien?
- ga na of er verschil in reactie te zien is als gevolg van de aanwezigheid van de verschillende soorten materiaal.
- herhaal de voorgaande handelingen, maar nu met materiaal dat als volgt is behandeld:
 - b. even koken.
 - c. fijn wrijven.
 - d. fijn wrijven, suspensie in water, daarna filtreren; filtraat zowel als residu testen.
 - e. enkele minuten in 0,1 N NaOH leggen.
 - f. enkele minuten in 0,1 N HCl leggen.

Verwerk de resultaten in de tabel waarbij de reactie-sterkte kan worden aangegeven met —, +, ++, enz.

Tabel

Type materiaal	gesneden	fijn gewreven suspensie	fijn gewreven residu	NaOH	HCl
Aardappel					
Blad					
Vlieg					

f. Het aantonen van amylase in kiemende zaden

Bij een groot aantal typen zaden is het reserve voedsel in of buiten de zaadlobben opgeslagen in de vorm van polysacchariden, zoals zetmeel. Tijdens de kieming moet dit zetmeel worden omgezet in oplosbare monosacchariden om door de groeiende cellen te kunnen worden verbruikt. In de zaden zal een enzym (amylase) aanwezig moeten zijn dat zetmeel kan afbreken.

Benodigdheden:

- agar-agar in poedervorm 2 gram.
- aardappelmeel 1 gram.
- droge erwten of bonen.
- erwten of bonen, die 2-3 dagen geweekt hebben op vochtige watten.
- 4 petrischalen.
- jood-kaliumjodide-oplossing (zie V-24)

Uitvoering:

- los 2 gram agar op in 100 ml aqua dest.
- maak een papje van 1 gram aardappelmeel en 15 ml koud aqua dest.
- voeg langzaam aan dit papje 85 ml heet aqua dest. toe.
- voeg 10 ml van deze zetmeeloplossing bij de agar-oplossing.
- giet het verkregen mengsel in 4 petrischalen tot een hoogte van 2-3 mm.
- zet op schaal 1 en 2 ieder 8 halve erwten.
(De erwten eerst van de zaadhuid ontdoen en vervolgens splijten).
- zet op schaal 3 en 4 ieder 8 halve erwten, die 2-3 dagen hebben liggen weken.
- neem na 15 minuten de erwten van de platen en giet er wat verdunde (10x) jood-kaliumjodide-oplossing overheen.
- laat even inwerken en giet de vloeistof er weer af.

V-42 De vertering van eiwitten

Iedere groep leerlingen ontwerpt, met gebruikmaking van ervaringen uit eerder uitgevoerde enzym-experimenten en informatie uit de leerstof, een experiment waarin de eiwitvertering in de maag optimaal wordt nagebootst. Hierbij kunnen één of meer ter zake doende factoren naar keuze worden gevarieerd. Het experiment wordt uitgevoerd met als substraat *karmijnfibrine*. Bij uiteenvallen van het eiwit (fibrine), wordt de eraan gebonden kleurstof (karmijn) losgelaten, hetgeen na ca. 2 uur duidelijk waargenomen kan worden.

Voorbereiding:

- materialen, oplossingen, e.d. zoals de leerlingen deze kwalitatief en kwantitatief noodzakelijk achten, worden klaargezet.
- karmijnfibrine: ieder aan het experiment deelnemend substraat moet een even groot stukje karmijnfibrine zijn.
Karmijnfibrine kan op school gemaakt worden uit 1,5-2 liter runder- of varkensbloed, waaraan geen ontstollingsmiddel toegevoegd mag zijn. De beste garantie om zulk bloed te verkrijgen, is, gezien de praktijk op de meeste slachthuizen, dit bloed zelf op te vangen. Het bloed wordt met de hand geroerd tot de fibrine in lange slierten komt bovendrijven. De fibrine wordt uit het bloedserum verwijderd en met water schoon-gewassen. Hak nu de fibrine in kleine stukjes en leg deze 24 uur in een karmijn-oplossing (1 gram karmijn + 1 ml ammonia oplossen in 500 ml water). Hierna wordt de overmaat aan kleurstof weggewassen met water en het karmijnfibrine aan de lucht gedroogd. Het droge karmijnfibrine is lange tijd houdbaar.

Uitvoering:

- de leerlingen stellen zelf de volgorde der handelingen vast.
- opzet, gegevens en resultaten van dit experiment worden door iedere groep leerlingen in een zelf ontworpen tabel verwerkt.

V-43 De vertering van vetten

Benodigdheden:

- olijfolie (2 ml per groep leerlingen).
- gal (2 ml per groep leerlingen).
- 4% oplossing van pancreatine in aqua dest. (10 ml per groep leerlingen).
- fenolftaleïne 1% oplossing.
- 0.05N NaOH (10 ml per groep leerlingen) in buret of maatpipet.

Voorbereiding:

- nummer 4 reageerbuisen met glaspotlood of etiketten 1 tot en met 4.
- breng in buis 1: 0,5 ml olijfolie + 9,5 ml aqua dest.
- breng in buis 2: 0,5 ml olijfolie + 5 ml pancreatine-oplossing + 4,5 ml aqua dest.
- breng in buis 3: 0,5 ml olijfolie + 1 ml gal + 8,5 ml aqua dest.
- breng in buis 4: 0,5 ml olijfolie + 5 ml pancreatine-oplossing + 1 ml gal + aqua dest.
- meng de inhoud van de buizen goed en plaats ze gedurende ca. 3 uur in de broedstoof bij 35-40° C.

Uitvoering:

- voeg hierna aan iedere buis 2 druppels van de 1 % fenolftaleïne-oplossing toe.
- breng nu in buis 1 telkens 0,1 ml 0,05N NaOH uit de buret of maatpipet en schudt na iedere toevoeging. Zodra kleuromslag naar roze optreedt noteert u het in totaal aan de buis toegevoegde aantal ml NaOH in een tabel.
- neutraliseer op dezelfde wijze ook de buizen 2, 3 en 4.
Eventueel maatpipet of buret opnieuw vullen,

N.B. In sommige buisjes zal de roze kleur na enige tijd weer verdwijnen.

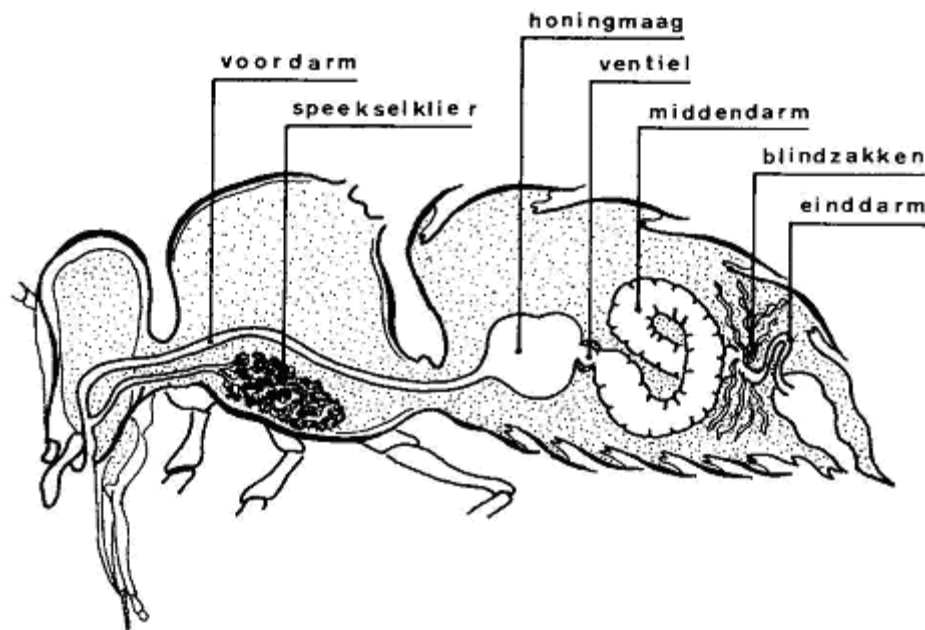
Door toevoeging van NaOH zal opnieuw kleuring optreden, doch *deze* ml NaOH moeten in het experiment buiten beschouwing blijven.

Vragen:

1. Welk criterium wordt in dit experiment gebruikt om de vetvertering aan te tonen?
2. Waarom verdwijnt de roze kleur bij sommige buisjes wel, bij andere echter niet?
3. Welk buisje bootst het best de vetvertering in de menselijke darm na?
4. Waarom zijn de andere buisjes aan het experiment toegevoegd?
5. Welke andere substraten kunnen ook met pancreatine worden afgebroken?

V-44 Controle van de origine van honing

Natuurhoning is een product dat totaal verschilt van kunsthoning. De nectar van de bloemen of wel de suikeroplossing van de nectarklieren aan de voet van de meeldraden passeert bij het verzamelen door de bijen een deel van het verteringskanaal. Bij het opzuigen van de nectar vermengt de suikeroplossing zich dus met de speekselenzymen, onder andere met amylase (diastase). De zuigende werking ontstaat door de spieren in de wand van de farynx, het eerste deel van de voordarm of oesofagus.



Figuur 64. De inwendige bouw van een werkster van de honingbij (*Apis mellifica* L.). Schematische verticale doorsnede met de ligging van de honingmaag of sociale maag.

De nectar komt via de slurf door de mondopening in de lange ectodermale voordarm. Deze voordarm is aan de binnenzijde met een dun laagje chitine bedekt. De voordarm loopt van de kop recht door de thorax (borststuk) naar het achterlijf. Hier verwijdt hij zich tot de krop of zogenaamde honingmaag, die met een goed sluitend ventiel verbonden is met de middendarm, waar de vertering plaats vindt. In de honingmaag wordt de nectar gedurende het verzamelen opgeslagen. Hieruit voedert de werkster bij terugkomst in de korf de jongere bijen. Het grootste deel van de inhoud deponeert zij in de cellen van de raat. Gezien deze dubbele functie noemt men deze verwijding van de voordarm ook wel de 'sociale maag'. In de cellen van de raat wordt de nectar ingedikt tot ongeveer 80% suiker en 20% water en ondergaat door de speekselenzymen nog enkele chemische omzettingen. Zo ontstaat de kenmerkende smaak en samenstelling van honing en wordt de duurzaamheid groter. De typische bloemengeur wordt veroorzaakt door restanten van etherische stoffen uit de bloemen of hun stuifmeel.

a. Aantonen van de aanwezigheid van amylase in honing

De aanwezigheid van amylase is een kenmerk van verse natuurhoning en kan worden aangetoond door te onderzoeken of zetmeel door de honing wordt ontleed. Een aan de honing toegevoegde zetmeeloplossing, die bij aanvang blauw gekleurd wordt door jood-kaliumjodide-oplossing, zal spoedig worden ontkleurd tot licht-paars of roze. Kunsthoning (of massé) doet dit niet, omdat daarin geen enzymen voorkomen. De snelheid, waarmee dit ontledingsproces verloopt, is afhankelijk van de hoeveelheid enzym. Verse natuurhoning, direct betrokken van de imker, kan vrij veel amylase bevatten. Wordt de honing lange tijd bewaard, dan loopt het amylasegehalte terug.

Benodigheden:

- natuurhoning, 25% oplossing in water.
- kunsthoning of massé (gebruikt in banketbakkerij), 25% oplossing in water.
- waterbad.
- jood-kaliumjodide-oplossing (zie V-24).

Uitvoering:

- plaats 3 reageerbuisen in een reageerbuisrek.
- breng 5 ml van een 25% natuurhoning-oplossing in de eerste reageerbuis. Deze oplossing wordt vlak voor aanvang van het practicum bereid door de amanuensis. Wanneer het oplossen enigszins moeilijk verloopt, moet men niet verhitten, maar door flink schudden de honing tot oplossing brengen.
- in de tweede reageerbuis komt 5 ml van een 25% oplossing van kunsthoning.
- in de derde reageerbuis komt 5 ml van een 25% saccharose-oplossing.
- pipetteer in alle buizen 1 ml van een 1% zetmeeloplossing.
- breng in iedere buis 1 à 2 druppels van een jood-kaliumjodide-oplossing.
- plaats alle reageerbuisen in een waterbad van 40 °C.
- controleer regelmatig (bijvoorbeeld iedere 10 minuten) of er kleurverandering optreedt. Noteer de tijd waarop de blauwe kleur volledig verdwenen is.

b. Aantonen van pollen in natuurhoning

Door de wijze, waarop de bijen na het verzamelen van de honing deze bewaren in de cellen van de raat, is het zeer goed mogelijk dat de aan hun lichaam aanwezige stuifmeelkorrels in de honing geraken.

Een pollenonderzoek van natuurhoning kan een indruk geven omtrent de meest bezochte bloemensoorten. Wanneer men de pollenvormen van subtropische gewassen kent, bijvoorbeeld uit Mexico, is het mogelijk een onder Nederlandse naam verkochte honing als importartikel van Mexicaanse origine te herkennen. Voorbeelden van buitenlandse honingsoorten zijn:

Acacia uit Hongarije, Appel uit Amerika, Dennen uit Griekenland, Klaver uit Californië, Linde uit China, Rozemarijn uit Spanje, Sinaasappel uit Spanje, Thijm uit Griekenland en Zonnebloem uit Mexico.

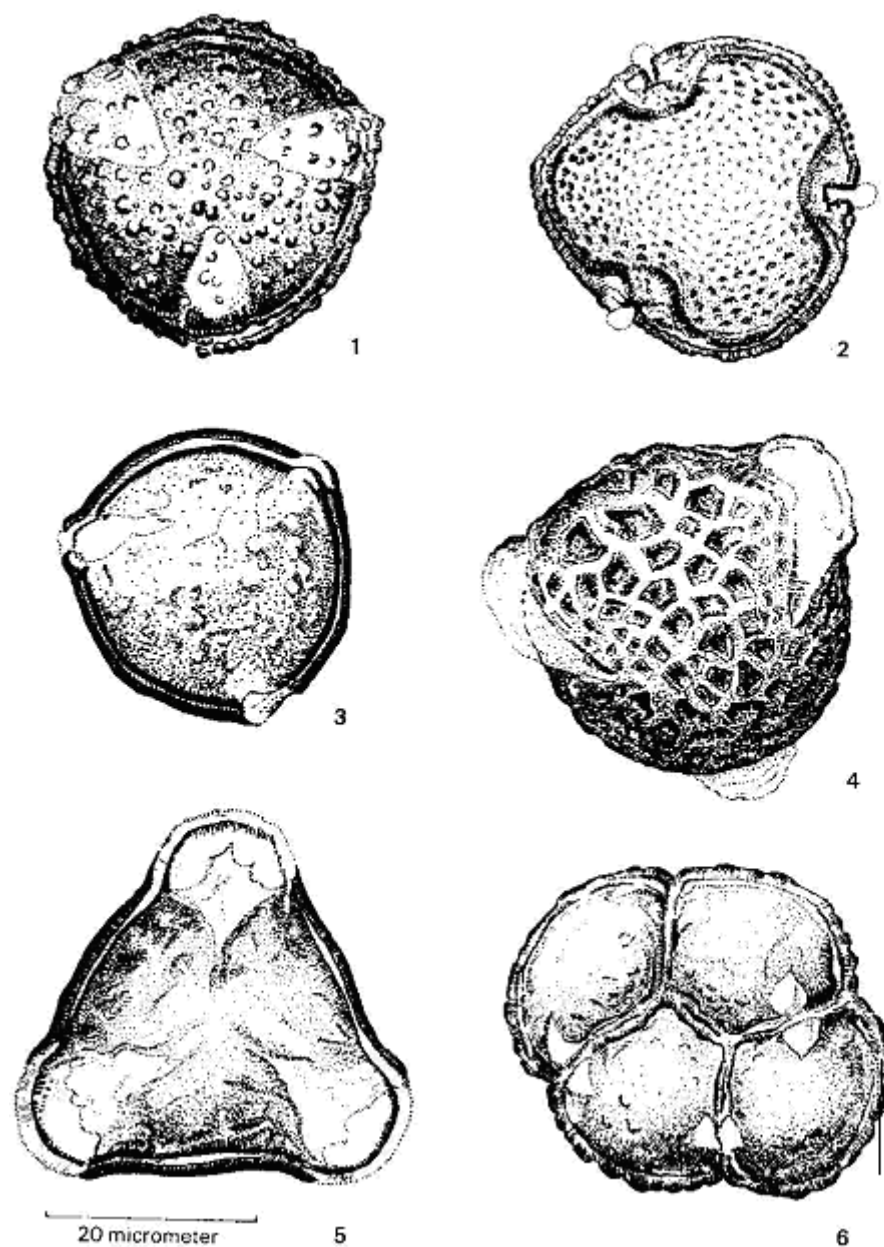
Benodigheden:

- enkele soorten Nederlandse natuurhoning.
- centrifuge + buizen met conische punt.
- pasteurse pipet.
- 3,4% saffranine in ethanol.
- glycerine.
- microscoop.

Uitvoering:

Onderzoek naar het voorkomen van pollen in natuurhoning:

- maak van enkele honingsoorten een 10% oplossing in water.
- deze oplossingen worden gedurende minstens 15 minuten gecentrifugeerd met ongeveer 1200 omw./min. of met een groter aantal omwentelingen per minuut. Voor de aanvang van het practicum bereidt de amanuensis de bovengenoemde oplossingen en centrifugeert ze.
- na het centrifugeren dient eerst zeer voorzichtig de vloeistof (supernatans) te worden afgeschonken, waarbij het neerslag (precipitaat) dat het pollen bevat zo min mogelijk in beroering mag worden gebracht.
- van het neerslag dat nu is achtergebleven op de bodem van het centrifugebuisje wordt met een Pasteurse pipet een weinig opgezogen, hiermee kan dan een preparaat worden gemaakt. De gevonden stuifmeelkorrels zijn kenmerkend voor de streek van oorsprong van de honing.
- tracht met behulp van de hierna volgende figuren vast te stellen welke soorten pollenkorrels in de honing voorkomen. Is de structuur van de uitwendige exinelaag van de pollenkorrels onvoldoende duidelijk, dan kan men deze als volgt kleuren met saffranine:
- voeg voor het centrifugeren aan de honingoplossingen een paar druppels van een verzadigde saffranine-oplossing in ethanol toe.
- centrifugeer daarna 15 min. in conisch toelopende centrifugebuisjes.



1 *Ranunculus bulbosus* L.

Knolboterbloem

3 *Robinia pseudo-acacia* L.

Acacia

5 *Malus sylvestris* (L.) MILL.

Appel

2 *Tilia spec.*

Linde

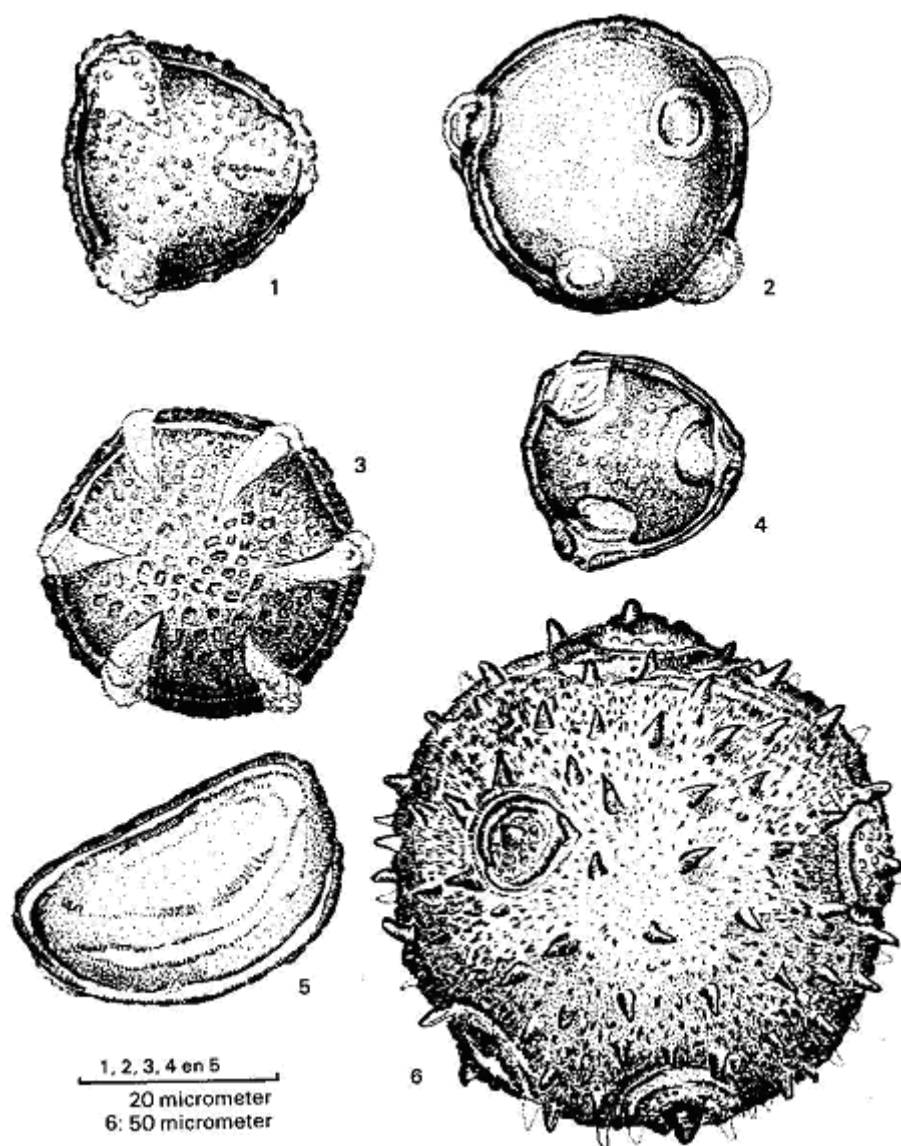
4 *Trifolium pratense* L.

Rode Klaver

6 *Calluna vulgaris* (L.) HULL.

Struikheide

Figuur 65. Pollenkorrels van knol boterbloem (*Ranunculus bulbosus* L.); linde (*Tilia spec.*); acacia (*Robinia pseudo-acacia* L.); rode klaver (*Trifolium pratense* L.); appel (*Malus sylvestris* L.) en struikheide (*Calluna vulgaris* L.).



1 Papaver rhoeas L.

Klaproos

3 Origanum vulgare L.

Marjolein

5 Allium cepa L.

Ui

2 Ribes sylvestre M & K.

Aalbes

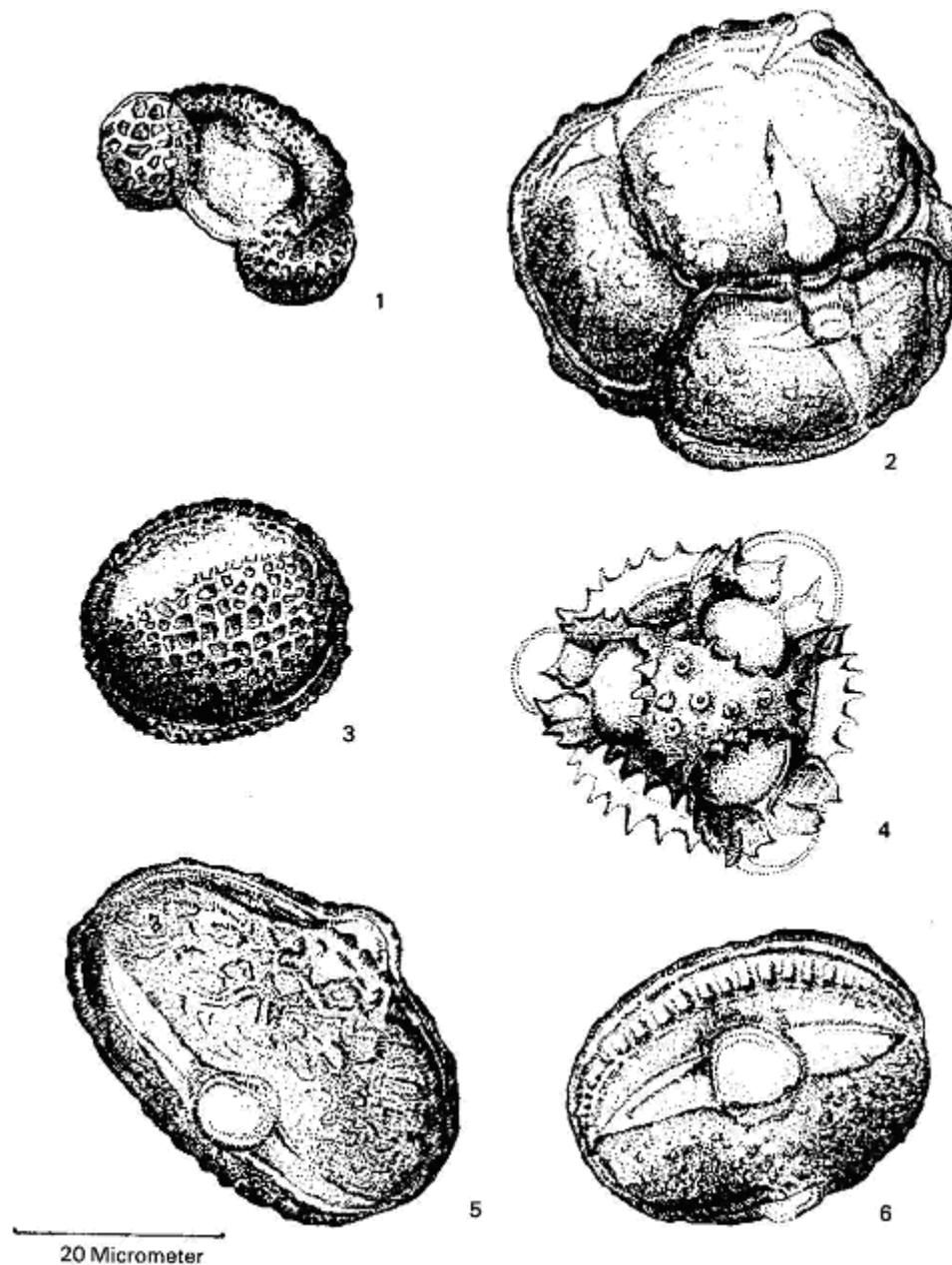
4 Corylus avellana L.

Hazelaar

6 Cucurbita pepo L.

Pompoen

Figuur 66. Pollenkorrels van klaproos (*Papaver rhoeas* L.); aalbes (*Ribes sylvestre* M en K); marjolein (*Origanum vulgare* L.); hazelaar (*Corylus avellana* L.); ui (*Allium cepa* L.) en pompoen (*Cucurbita pepo* L.).



1 Pinus sylvestris L.

Grove den

3 Brassica spec.

Kool, koolzaad

5 Vicia faba L.

Tuinboon

2 Erica cinerea L.

Grauwe dopheide

4 Taraxacum spec.

Paardebloem

6 Centaurea cyanus L.

Korenbloem

Figuur 67. Pollenkorrels van grove den (*Pinus sylvestris* L.); grauwe dopheide (*Erica cinerea* L.); kool of koolzaad (*Brassica spec.*); paardebloem (*Taraxacum spec.*); tuinboon (*Vicia faba* L.) en korenbloem (*Centaurea cyanus* L.).

- giet de heldere vloeistof af en vervang door aqua dest. waaraan enige druppels glycerine zijn toegevoegd.
- roer het neerslag op met een fijn glasstaafje.
- centrifugeer opnieuw 15 minuten.
- maak van het neerslag een microscopisch preparaat.

Kunsthoning kan nooit stuifmeelkorrels bevatten, want deze honing wordt gemaakt uit aardappelmeel. Door hydrolyse van zetmeel in zuur milieu ontstaat een zoete stroop, dextrose, die zeer veel glucose of druivensuiker bevat. Of men te maken heeft met deze zetmeelstroop (of andere dextrinehoudende stoffen) kan eventueel worden aangetoond met een 10% tannine-oplossing. Het optredende neerslag wordt na 12 uur afgefiltreerd en aan 2 ml van het heldere filtraat worden 2 druppels sterk zoutzuur (37% HCl) en 20 ml 96% ethanol toegevoegd. Een optredende troebeling wijst op de aanwezigheid van bovengenoemde stoffen.

V-45 Aan voedingsmiddelen toegevoegde stoffen

A. Inleiding

Door de sterke bevolkingsaanwas en de voortdurend toenemende industrialisatie zijn in de laatste decennia de voedselvoorziening, het bewaren van voedsel en het voedseltransport ingrijpend gewijzigd. Veel voedsel dat vroeger alleen vers kon worden gekocht is nu op zodanige wijze bereid en bewerkt dat het over grote afstanden kan worden vervoerd en gedurende lange tijd kan worden bewaard. Het voedsel wordt hiertoe bijvoorbeeld geconserveerd in blik, ingevroren, gedroogd, gepasteuriseerd, gesteriliseerd of voorzien van chemische middelen die bederf tegen gaan.

Ook aan het uiterlijk van het voedsel worden steeds strengere eisen gesteld of wellicht de consument opgedrongen. Boter behoort geel te zijn en appels behoren gaaf te zijn. Hiertoe worden aan levensmiddelen stoffen toegevoegd die een aantrekkelijk uiterlijk bevorderen. Of een aantrekkelijk uiterlijk ook samengaat met een goede smaak valt te betwijfelen.

Al die stoffen die geen voedingsstoffen zijn en aan eet- en drinkwaren worden toegevoegd noemt men chemische hulpstoffen of toegevoegde stoffen. Ze worden toegevoegd met de bedoeling de eigenschappen van de voedingsstoffen of hun culinaire bereidingsvormen te wijzigen, waarbij onder meer het uiterlijk, de geur, de smaak, de verteerbaarheid, de waarde als genotmiddel, de fysische en chemische stabiliteit en de houdbaarheid worden verbeterd en verhoogd.

B. Welke soorten stoffen en waarom

a. Conserveermiddelen en antioxidantia

Conserveermiddelen zijn stoffen die het voedsel beschermen tegen biochemische en fysiologische veranderingen die als bederf worden gekarakteriseerd. Licht, lucht, vocht, hoge temperatuur en sporenelementen — die als katalysator dienst kunnen doen — versnellen het bederf. In de eerste plaats zal men deze factoren tot een minimum moeten terugbrengen, waardoor het bederf kan worden vertraagd. In de tweede plaats kan het bederf nog verder worden tegengegaan — of zelfs worden voorkomen — door toevoeging van conserveermiddelen. Het oxideren van voedingsstoffen kan worden tegengegaan door antioxidantia toe te passen. De houdbaarheid van vetten kan zo worden verhoogd. Citroenzuur en ascorbinezuur zijn bekende antioxidantia.

Als conserveermiddel worden onder meer gebruikt benzoëzuur en zwaveligzuur, die in beperkte mate toegepast onschadelijk zijn. Boorzuur, monochloorazijnzuur, mierenzuur, salicylzuur en vele andere stoffen zijn tenminste dubieus. Als natuurlijke producten komen conserveermiddelen eveneens voor. De schil van sinaasappelen bevat difenyl dat schimmelwerende eigenschappen heeft. Conserveermiddelen zijn vaak werkzaam in zeer lage concentraties (0,001 - 0,1%) en werken alleen bij een gunstige pH. Zwaveligzuur en benzoëzuur vragen om een zuur milieu. De meeste conserveermiddelen zijn enzymremmers voor de enzymatische processen die in de levensmiddelen zelf plaats vinden en voor stofwisselingsprocessen van micro-organismen. Ze zijn niet altijd specifiek voor deze levensmiddelen of micro-organismen, maar kunnen ook de consument schaden. De grootste voorzichtigheid is dan ook geboden.

b. Emulgatoren en stabilisatoren

Een aantal levensmiddelen is samengesteld uit mengsels van verschillende stoffen die weer gemakkelijk uiteenvallen in de afzonderlijke componenten. Margarine, mayonaise, consumptie-ijs, chocolademelk zijn voorbeelden van dergelijke weinig stabiele mengsels die men emulsies noemt. Teneinde het uiteenvallen van deze emulsies tegen te gaan worden stabilisatoren en emulgatoren toegevoegd, zoals pectine, gelatine, agar-agar en natriumalginaat. De mengsels worden door deze stoffen homogeen gehouden.

c. Kleurstoffen

De voedingsmiddelenindustrie maakt al lang gebruik van kleurstoffen om hun producten vers te laten lijken of om andere producten na te bootsen. Margarine wordt gekleurd om het op roomboter te laten lijken; haricots verts worden bijgekleurd met koperzouten; sulfiet geeft gehakt een rode kleur. Tegenwoordig is sulfiet niet meer toegestaan en vervangen door citroenzuur of nicotinezuur. Een aantal kleurstoffen is schadelijk, zoals die waarmee sinaasappelen worden gekleurd.

d. Antibiotica en hormonen

Bepaalde bacteriën en schimmels scheiden stoffen af die antiseptische eigenschappen hebben. Deze stoffen— de antibiotica— worden in de voedingsmiddelenindustrie gebruikt ter conservering. Antibiotica vertragen bacterieel bederf; geslachte kippen kunnen langer worden bewaard door tetracycline in de bloedvaten in te spuiten.

Sommige van deze stoffen hebben groei bevorderende eigenschappen voor hogere dieren en worden daarom toegepast bij de veevoeding. Toepassing in de menselijke voeding is onverantwoord, omdat bepaalde ziekteverwekkende bacteriën resistent kunnen worden voor een antibioticum en omdat een aantal mensen allergisch is voor antibiotica.

Tevens zouden er door de groeibevorderende eigenschappen van antibiotica onverantwoorde complicaties kunnen optreden. In de menselijke voeding vinden hormonen geen toepassing, in Nederland tenminste. Voor het mesten van rundvee en pluimvee worden wel hormonen met het voedsel vermengd. Het vlees van pluimvee wordt hierdoor blanker.

e. Bestrijdingsmiddelen

Door het aanplanten van monocultures ontstaat een eenzijdig aanbod van voedsel aan dieren die van de gewassen leven waaruit deze monocultures bestaan. Van deze dieren neemt het aantal vervolgens sterk toe; er ontstaat een plaag. Bestrijding is om deze en andere redenen noodzakelijk. Ook de bestrijding van planten is in een aantal gevallen noodzakelijk gebleken.

De mogelijkheid bestaat dat na het oogsten sporen van de gebruikte bestrijdingsmiddelen achterblijven, waardoor de volksgezondheid wordt geschaad. Dwingend is dan ook voorgeschreven tot hoe lang voor de oogst een bepaald bestrijdingsmiddel gebruikt mag worden. Deze tijdsduur is afhankelijk van de bestendigheid van de stof en de gevoeligheid voor weersinvloeden.

C. Het kwalitatief aantonen van enkele toegevoegde stoffen

a. Conserveermiddelen

Benodigdheden: (voor a1 t/m a5):

Het onderzoek kan worden verricht aan enkele soorten jam, limonade en vruchtensap van verschillende kwaliteit, waaronder ook jam, limonade en vruchtensap die volgens mededelingen op het etiket geen conserveermiddelen bevatten (Reform winkels).

Ook bier en wijn bevatten conserveermiddelen.

Het kwalitatief aantonen van conserveermiddelen is nauwkeurig omschreven in de uitvoeringsvoorschriften van de warenwet. In het jam- en limonade-besluit staat hierover het volgende:

'De oplossing die voor het onderzoek dient, wordt in de regel verkregen voor suikers, stropen, jams, geleien en limonades, door 1 gewichtsdeel in 4 gewichts-delen water op te lossen en zo nodig daarna te filtreren, terwijl vruchtensappen als zodanig worden onderzocht'.

In het bierbesluit:

'De conserveermiddelen worden aangetoond en bepaald volgens de methode aangegeven in het jam- en limonadebesluit. Voor het onderzoek wordt 100 ml bier in bewerking genomen'.

In het wijnbesluit:

'Deze worden aangetoond volgens de methoden aangegeven in het jam- en limonadebesluit, waarbij wordt uitgegaan van een hoeveelheid wijn die, na met kali- of natron-loog alkalisch te zijn gemaakt, door uitdampen op het waterbad van alcohol is bevrijd en daarna weer is aangezuurd'.

N.B. Verricht de hieronderstaande handelingen in de zuurkast!

1. Salicylzuur

Benodigdheden:

- 50-100 ml te onderzoeken oplossing (van vruchtensap is 25-50 ml nodig).
- 4N zwavelzuur-oplossing.
- ethylacetaat.
- ijzer(III)-chloride-oplossing.
- waterbad.
- broomwater (een verzadigde oplossing van Br₂ in water).

Uitvoering:

- zuur 50-100 ml oplossing aan met 4N zwavelzuur (indien vruchtensap wordt onderzocht neem dan 25-50 ml hiervan).
- voeg 20 ml ethylacetaat toe, schud goed en laat enige tijd staan (= uitschudden) Giet daarna de bovenstaande vloeistof af in een bekerglas. (Indien vruchtensap wordt onderzocht slechts met 10 ml ethylacetaat uitschudden).
- schud de waterige oplossing voor de tweede maal uit met 20 ml ethylacetaat en giet de bovenstaande vloeistof bij de eerder afgegoten vloeistof in het bekerglas. (Indien vruchtensap wordt onderzocht dan ook hier slechts met 10 ml ethylacetaat uitschudden).
- verdeel het mengsel afgegoten vloeistof in twee gelijke delen.
- verdamp het ethylacetaat door zacht te verwarmen (in een waterbad plaatsen) Er ontstaan aldus twee residuen: A en B.
- los het residu A op in water en deel de oplossing in twee gelijke delen.

- voeg bij het ene deel van de oplossing van residu A enkele druppels ijzer(III)-chloride-oplossing.
N.B. Is salicylzuur aanwezig dan ontstaat een violette kleur, die bij toevoeging van spiritus of een weinig azijnzuur niet verdwijnt.
- voeg bij het andere deel van residu-oplossing A wat broomwater.
N.B. Is salicylzuur aanwezig dan ontstaat een wit neerslag.

2. Benzoëzuur

Benodigdheden:

- 4N zwavelzuur-oplossing.
- rokende salpeterzuur-oplossing.
- ammonia.
- zwavelammonium (NH_4SH), te verkrijgen door een ammonium-oplossing te verzadigen met H_2S .

Uitvoering:

- meng residu B met 10 druppels sterk zwavelzuur en met een druppel rokend salpeterzuur (voorzichtig!, in de zuurkast uitvoeren!).
- verhit vervolgens 3 minuten op 180°C en laat afkoelen (zuurkast!), (niet laten koken: kookpunt zwavelzuur is 333°C).
- voeg zoveel ammonia toe tot de vloeistof alkalisch is.
- kook de vloeistof enkele minuten.
- voeg na afkoelen wat zwavelammonium (NH_4SH) toe.

N.B. Is benzoëzuur aanwezig dan ontstaat een roodbruine kleur.

3. Para-oxybenzoëzuur en para-oxybenzoëzure esters

Indien salicylzuur en benzoëzuur *afwezig* zijn gebleken, wordt op de volgende wijze op de aanwezigheid van para-oxybenzoëzuur en para-oxybenzoëzure esters onderzocht:

Benodigdheden:

- 50 ml te onderzoeken oplossing (of 25 ml vruchtensap).
- ethylacetaat.
- Millons reagens.

Uitvoering:

- schud 50 ml oplossing (of 25 ml vruchtensap) uit met 20 ml ethylacetaat en giet de bovenstaande vloeistof uit in een bekersglas.
- verdamp de ethylacetaat door zachte verwarming (waterbad).
- voeg aan het residu enkele druppels Millons reagens (giftig!) toe.

N.B. Zijn para-oxybenzoëzuur en para-oxybenzoëzure esters aanwezig dan ontstaat na enige tijd, eventueel bij verwarming, een rode kleur.

Indien salicylzuur en benzoëzuur *aanwezig* zijn gebleken, wordt als volgt te werk gegaan om para-oxybenzoëzure esters aan te tonen:

Benodigdheden:

- 50 ml te onderzoeken oplossing (of 25 ml vruchtensap).
- 0,5N NaOH-oplossing.
- lakmoespapier.
- ether.
- petroleumether.
- 0,05N NaOH-oplossing.
- Millons reagens.

Uitvoering:

- ongeveer 50 ml oplossing (of 25 ml vruchtensap) worden met 0,5N NaOH geneutraliseerd (controleer met lakmoespapier).
- vervolgens uitschudden met 20 ml van een mengsel van gelijke delen ether en petroleumether.
- de etherische vloeistof afgieten in een bekerglas.
- schud de waterige oplossing ten tweede male met 20 ml van het mengsel ether-petroleumether uit en giet de etherische vloeistof bij de eerder verkregen etherische vloeistof.
- de verkregen oplossing in ether-petroleumether moet zonodig, teneinde haar van nog eventueel aanwezige geringe hoeveelheden salicylzuur en benzoëzuur te bevrijden, tweemaal met telkens ongeveer 3 ml 0,05N NaOH en daarna nog een paar maal met enkele ml aqua dest. worden uitgeschud.
- van de oplossing in ether-petroleumether wordt het oplosmiddel door zachte verwarming verdampt (waterbad).
- voeg vervolgens aan het residu enkele druppels Millons reagens (giftig) toe.
N.B. Zijn para-oxybenzoëzure esters *aanwezig* dan ontstaat na enige tijd, eventueel bij verwarming, een rode kleur.

Indien salicylzuur en benzoëzuur *aanwezig* zijn gebleken, wordt als volgt te werk gegaan om para-oxybenzoëzuur aan te tonen:

Benodigdheden:

- 50-100 ml te onderzoeken oplossing (van vruchtensap is 25 ml nodig).
- 4N zwavelzuur-oplossing.
- ethylacetaat.
- chloroform (CHCl_3) of tetrachloorkoolstof (CCl_4).
- Millons reagens.

Uitvoering:

- zuur 50-100 ml oplossing (of 25 ml vruchtensap) aan met 4N zwavelzuur.
- uitschudden met 20 ml ethylacetaat en de bovenstaande vloeistof afgieten in een bekerglas.
- schud de waterige oplossing ten tweede male uit met 20 ml ethylacetaat en giet de bovenstaande vloeistof bij de eerder verkregen bovenstaande vloeistof.
- verdamp het ethylacetaat door zachte verwarming (waterbad).
- behandel nu het residu met kokende chloroform of tetrachloorkoolstof, teneinde het residu van salicylzuur en benzoëzuur te bevrijden.
- voeg hierna enkele druppels Millons reagens (giftig) toe.

N.B. Is para-oxybenzoëzuur aanwezig dan ontstaat na enige tijd, eventueel bij verwarming, een rode kleur.

4. Chloorbenzoëzuur**Benodigdheden:**

- 50 ml van de te onderzoeken oplossing (van vruchtensap is 25 ml nodig).
- 4N zwavelzuur-oplossing.
- ethylacetaat.
- chloorvrije kalk.

Uitvoering:

- zuur 50 ml oplossing (of 25 ml vruchtensap) aan met 4N zwavelzuur.
- uitschudden met 20 ml ethylacetaat en de bovenstaande vloeistof afgieten in een bekerglas.
- schud de waterige oplossing ten tweede male uit met 20 ml ethylacetaat en giet de bovenstaande vloeistof bij de eerder verkregen bovenstaande vloeistof.

- vervolgens het ethylacetaat verdampen door zachte verwarming (waterbad).
 - het residu moet nu worden gesublimeerd.
 - verhit vervolgens het sublimaat met chloorvrije kalk.
- N.B. Indien chloorbenzoëzuur aanwezig is wordt CaCl_2 gevormd.

5. Zwaveligzuur

Tot 1959 was het toegestaan gehakt te kleuren met sulfiet.

Het behield hierdoor het — bedrieglijke — uiterlijk van versheid. Beginnend bederf of erger kon hiermee worden verhuld. Tegenwoordig zijn ascorbinezuur, citroenzuur en nicotinezuur toegestaan ter behoud van de kleur van gehakt. Sulfiet wordt nog wel gebruikt om geschildte aardappelen blank te houden. Het geeft dan wel verlies aan vitamine B. Ook in gedroogde groenten en vruchten mag het worden gebruikt. Voor bier is het het enige toegestane conserveermiddel. Zwaveligzuur veroorzaakt soms hoofdpijn. Het onderzoek kan (met malachietgroen-papier) worden verricht aan gehakt dat in verschillende typen winkels is gekocht (methode B), aan geschrapte aardappelen die lange tijd in winkels liggen (kant en klaar pak) en aan bier en wijn (methode A)

Methode A

Benodigdheden:

- 25 ml van de te onderzoeken oplossing (bier en wijn behandelen volgens de onder 'C-a, Conserveermiddelen' beschreven methode).
- 4N zwavelzuur-oplossing.
- stroken papier.
- kaliumjodaat-zetmeel-oplossing.

Uitvoering:

- voeg bij 25 ml oplossing respectievelijk 20 ml vruchtensap, 100 ml bier of 100 ml wijn, in een erlenmeyer een weinig zwavelzuur.
- sluit de kolf met een kurk die voorzien is van een met kaliumjodaat-zetmeel-oplossing bevochtigde papieren strook.
- verwarm op een waterbad.
- indien Zwaveligzuur aanwezig is wordt het papier aanvankelijk blauw gekleurd.

Methode B.

Benodigdheden:

Stroken malachietgroen-papier als volgt te bereiden:

- drenk stroken filtreerpapier, ca. 1 cm breed en 5 cm lang, in een 0,02% waterige oplossing van malachietgroen (200 mg per liter).
- laat de stroken aan de lucht drogen en bewaar ze daarna afgesloten van lucht en licht.

N.B. Na verloop van tijd ontkleurt het papier en is dan niet langer bruikbaar.

Uitvoering:

- indien gehakt wordt onderzocht wordt het strookje eerst met een weinig water bevochtigd.
 - druk het papiertje stevig tegen het gehakt (bijvoorbeeld met behulp van een objectglaasje).
 - bij andere voedingsmiddelen: met de te onderzoeken stof bevochtigen.
- N.B. Indien binnen 10 minuten algehele of plaatselijke ontkleuring optreedt wijst dit op sulfiet. Bij afwezigheid van sulfiet treedt pas na veel langere tijd ontkleuring op. Nitriet, nitraat, suiker, glucose en ascorbinezuur storen deze aantooningswijze niet.

b. Vreemde kleurstoffen

Bij de gasproductie uit steenkool ontstaat als bijproduct steenkoolteer (ongeveer 4%). Hieruit wint men grondstoffen voor de kleurstofindustrie. De opkomst van

deze industrie heeft de winning van natuurlijke plantenkleurstoffen verdrongen. Men noemt deze synthetisch bereide kleurstoffen teerkleurstoffen. Het onderzoek kan worden verricht aan enkele soorten jam, limonade en vruchtensap van verschillende kwaliteit. Ook in wijn kunnen teerkleurstoffen aanwezig zijn. De benodigde woldraadjes eerst ontvetten met behulp van ether.

Aantoningsreactie A

Benodigdheden:

- 10% kaliumbisulfaat-oplossing.
- ammonia.

Uitvoering:

- maak een-oplossing van jam of limonade door 1 gewichtsdeel op te lossen in 4 gewichtsdelen aqua dest. en zonodig daarna te filtreren (vruchtensap en wijn worden onverdund onderzocht).
- voeg aan 50-100 ml van de oplossing (25-50 ml vruchtensap of 50 ml wijn) 5-10 ml 10% kaliumbisulfaat-oplossing toe, alsmede 3-4 draden witte ontvette wol.
- kook het mengsel gedurende 10 minuten.
- neem de draden uit de vloeistof en was ze met aqua dest.
- indien kleurstoffen aanwezig zijn dan zijn de draden gekleurd.
- dompel de draden in ammonia.
- indien de kleur niet verandert zijn daarmee teerkleurstoffen aangetoond (synthetisch), indien de kleur verandert in vuil groen betreft het kleurstoffen die van nature in de waar aanwezig zijn (natuurlijk).

Aantoningsreactie B

Benodigdheden:

- ammonia.
- ethylacetaat.

Uitvoering:

- maak een oplossing van jam of limonade door 1 gewichtsdeel op te lossen in 4 gewichtsdelen aqua dest. en zonodig daarna te filtreren (vruchtensap en wijn worden onverdund onderzocht).
- voeg aan 100 ml oplossing (25 ml vruchtensap of 50 ml wijn) 5 ml ammonia toe.
- voeg vervolgens 30 ml ethylacetaat toe en schud het mengsel.
- laat enige tijd staan en pipetteer daarna van de ethylacetaatlaag 20 ml af.
- voeg aan deze 20 ml enkele druppels azijnzuur toe en breng er een witte ontvette wollen draad in.
- verdamp de ethylacetaat door zacht te verwarmen (waterbad).
- neemt de draad een rode kleur aan dan wijst dit op teerkleurstof.

c. Organisch gebonden halogeen

Verpakkingsmiddelen kunnen ongewenste stoffen afgeven aan de zich erin bevindende voedingsmiddelen. Vooral plastics zijn hierom berucht. Bij de fabricage ervan worden namelijk weekmakers gebruikt die schadelijk (mogelijk kankerverwekkend) kunnen zijn. Chloorhoudende kunststoffen zoals gechloreerde rubber en PVC bevatten het halogeen chloor dat — indien in het verpakkingsmiddel verwerkt — in oplossing kan gaan in het erin aanwezige levensmiddel.

Benodigdheden:

Een stuk electrisch snoer dat uit meerdere koperdraden bestaat. Hiervan dient men een stuk isolatie te verwijderen en de draden los in elkaar te draaien.

Uitvoering:

- gloei de dradenbundel in een kleurloze vlam uit.
- voorzie één eind van de dradenbundel van een weinig van de te onderzoeken stof.
- breng dit einde opnieuw in de kleurloze vlam.

N.B. Er vormen zich koperhalogeniden die betrekkelijk vluchtig zijn en daardoor in de vlam verdampen en deze groen kleuren. Andere halogeen-verbindingen zijn over het algemeen minder vluchtig en kleuren de vlam niet.

d. Kaliumjodide

Volgens het broodbesluit in de warenwet zijn alle broodbakkers verplicht om bij de broodbereiding gejodeerd zout te gebruiken dat 41 —51 mg KI per kg bevat, zulks ter voorkoming van krop (struma).

Benodigdheden:

- JOZO keukenzout.
- 4N azijnzuur-oplossing.
- brood.
- natrium- of kaliumnitriet.
- 0,5% zetmeeloplossing.

Uitvoering:

- breng in een reageerbuis of kolfje een mespunt kalium- of natriumnitriet.
- voeg er enkele druppels van een 0,5% zetmeeloplossing aan toe.
- voeg een paar gram van het te onderzoeken zout toe en eventueel een weinig water zodat bij menging een dikke brei ontstaat.
- voeg druppelsgewijs azijnzuur toe, bijvoorbeeld 4N.

N.B. Bij aanwezigheid van jodiden wordt de vloeistof blauw gekleurd.

e. Conservering van melk

Met behulp van de reactie van Storch kan worden nagegaan in hoeverre melk is gepasteuriseerd. Rauwe melk krijgt bij deze proef bijna onmiddellijk een indigo-blauwe kleur. Melk die tot even boven 80 °C verhit is geweest wordt na enige tijd grijs-blauw. Bij melk die tot 85 °C of hoger verhit is geweest treedt binnen 30 seconden geen duidelijke verkleuring op tenzij de verhitting zeer snel heeft plaats gehad en de hoge temperatuur slechts korte tijd is aangehouden. Melk die goed gepasteuriseerd is, is gedurende 15 tot 20 minuten verhit geweest bij een temperatuur die ligt tussen 80 en 85 °C. In de praktijk verhit men korter; men laat de melk in een dunne film over tot 85 °C verhitte platen lopen.

Benodigdheden:

- 0,5% H₂O₂-oplossing.
- 2% oplossing van zoutzure parafenyleendiamine in water.

Uitvoering:

- breng in een reageerbuis 5 ml van de te onderzoeken melk.
- verwarm tot ca 35 °C.
- voeg 4 druppels toe van de 0,5% H₂O₂ oplossing.
- breng vervolgens 2 druppels van de zoutzure parafenyleendiamine-oplossing in de buis.
- meng goed dooreen.
- resultaat:

indigoblauw (binnen 30 seconden): rauwe melk.

grijs-blauw (na enige tijd): melk verhit tot 80 °C.

geen verkleuring: (binnen 30 seconden): melk verhit boven 85 °C.

N.B. Indien de hete melk in een slecht vertind werktuig met koper in aanraking is geweest, treedt er bij de toepassing van de reactie van Storch na enige tijd, dikwijls zelfs binnen 5 minuten, een duidelijke verkleuring op, ook al was de melk hoog gepasteuriseerd. Om een verkeerde toepassing van de reactie van Storch te voorkomen doet men het best de beoordelingstijd langer te nemen dan 30 seconden.

V-46 Het aantonen van bestrijdingsmiddelen

Als voorbeeld wordt **parathion** aangetoond. Het is sinds vele jaren een van de meest universeel werkzame insectenbestrijdingsmiddelen. Het is daardoor ook bijzonder economisch in het gebruik. In de glastuinbouw wordt het meestal gebruikt als stuifmiddel. In de fruitteelt wordt het gebruikt bij de vóórbespuiting, wanneer een groot aantal schadelijke insecten opgeruimd moet worden. In de landbouw gebruikt men het voor de bestrijding van onder andere vroege-akker trips, bietevlieg, bladluis en tarwestengelgalmug. De werkzame stof is een organische fosforverbinding met anti-cholineësterase (een belangrijk enzym in het zenuwstelsel) werking. Het is een snelwerkend aanrakings-, maag-, en ademhalingsgif. De werkingsduur op groene planten is maximaal 4 dagen. Vergiftigingsverschijnselen; hoofdpijn, duizeligheid, misselijkheid, onrust, buikkrampe, sterk transpireren, spierkrampen. De 50% letale dosis is 6 mg/kg rat bij opname door de mond en 100 mg/kg rat bij opname door de huid. Het spuiten op consumptiegewassen onder glas is in Nederland tussen 1 november en 1 maart niet toegestaan.

Benodigheden: (voor één bepaling):

- 150 ml petroleumether, kooktraject 40°-60 °C.
- 30 ml ethanol 96%.
- 7,5 ml HCl 4N pro analyse.
- 3 ml natriumnitriet oplossing 0,25% chemisch zuiver (1 week houdbaar).
- 3 ml ammoniumsulfamaat (= ammoniumamidosulfonaat) oplossing 2,5% ($\text{H}_2\text{NSO}_3\text{NH}_4$).
- 6 ml 1 % naftylethyleendiamine = N(1-naftyl)-ethyleendiamine dihydrochloride.
- 600 mg zinkstof = Zn poeder, chemisch zuiver.
- standaardoplossing van 0,02% parathion = 0,0-diethyl-0-nitrofenyl-fosforothionaat in petroleumether.
- 150 gram plantenmateriaal, vooral de buitenste bladeren van kool, de schillen van tomaten, druiven, perziken, pruimen, appels (uit het buitenland).
- drie reageerbuizen.
- drie indampschaaftjes + drie horlogeglazen waarmee de indampschaaftjes kunnen worden afgedekt.
- waterbad, mixer of mortier met zilverzand.
- 4 trechters met vouwfilters.
- aqua dest.

Uitvoering:

Bij dit experiment worden met elkaar vergeleken: plantenextract (=A), een 0,02% standaardoplossing parathion (=B) en een blanco (=C).

a. Bereiding van het plantenextract.

- wrijf 150 gram plantemateriaal fijn in een mortier met zilverzand, of maal het fijn met behulp van een elektrische mixer.
- extraheer de pap met 150 ml petroleumether (kooktraject 40°-60 °C) gedurende één dag.
- filtreer het mengsel.
- breng 100 ml van het filtraat in een schaaftje en damp het op een waterbad in tot het bijna droog is.
- Het schaaftje met het residu is **schaaltje A**.

- b. Behandeling van de standaardoplossing van 0,02% parathion in petroleumether (kooktraject 40°-60 °C)
- breng 100 ml van de standaardoplossing in een schaalkje en damp op een waterbad in.
- Het schaalkje met het residu is **schaalkje B**.

- c. Een schoon, leeg schaalkje, wordt de blanco: **schaalkje C**.

De nu volgende handelingen worden steeds met alle drie de schaalpjes uitgevoerd.

Let er wel op dat de series in de loop van het experiment niet verwisseld worden.

Merk alles met **A**, **B** of **C**!

- voeg aan ieder schaalkje 10 ml ethanol 96%, 10 ml aqua dest, 2,5 ml 4N HCl en 200 mg zinkstof toe.
- dek de schaalpjes met horlogeglazen af en laat de inhoud 5 minuten koken (op waterbad).
- spoel de horlogeglazen en de randen van de drie schaalpjes met 10 ml aqua dest. naar het centrum van de schaalpjes af, laat de schaalpjes afkoelen.
- filtreer uit ieder schaalkje 10 ml af in een met **A**, **B** of **C** gemerkte reageerbuis.
- voeg aan iedere buis 1 ml 0,25% natriumnitriet toe en laat dit gedurende 10 minuten inwerken.
- voeg daarna aan iedere buis 1 ml 2,5% ammoniumsulfamaat toe en laat ook dit gedurende 10 minuten inwerken.
- voeg tot slot aan iedere buis 2 ml 1% naftylethyleendiamine toe.
- Indien er een paarsrode kleur (welke na ongeveer 15 minuten zijn maximum bereikt) optreedt, is daarmee parathion aangetoond.

Dinitro-thiocyanobenzene (cladox), trinitro-trichloorbenzene (bulbosan), EPN en chloorthion geven op deze wijze behandeld eveneens paarse ('magenta') kleuren. TCNB geeft een gele en dinitroöthocresol een zich langzaam ontwikkelende blauwe kleur.

V-47 Overzicht: Energie en het organisme

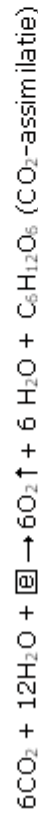
METABOLISME = Stofwisseling: alle processen in een levend organisme, waarbij ☐ (energie) opgenomen of vrijgemaakt wordt.

I. ASSIMILATIE = Endotherme processen, waarbij ☐ opgenomen en vastgelegd wordt.

Stoffen met een eenvoudige chemische structuur worden omgezet in stoffen met een ingewikkelder chemische structuur.

☐ afkomstig uit de energiebronnen:

A. LICHT: lichtenergie via pigment omgezet in chemische bindingsenergie:



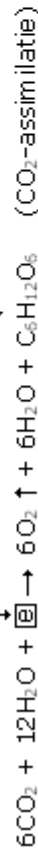
↓
synthese van vetten,
eiwitten, etc.

FOTOSYNTHESE
- bij *fotoautotrofe*
organismen

B. CHEMISCHE REACTIES (OXIDATIES)



zonder
pigment!



↓
synthese van vetten,
eiwitten, etc.

CHEMOSYNTHESE
- bij *chemoautotrofe*
organismen

**AUTOTROFE
ORGANISMEN
=
PRODUCENTEN**

C. AUTOTROFE ORGANISMEN gegeten door **HETEROTROFE ORGANISMEN**

voorbeeld: Groene plant $\rightarrow$ Dier X (zie ook N.B. 1))
 Dier X kan hier bij zijn

- herbivoor, fructivoor of omnivoor
- parasiet (als $X \ll$ groene plant)
- reducent (als groene plant dood is, zie ook N. B. 1))

D. HETEROTROFE ORGANISMEN gegeten door **HETEROTROFE ORGANISMEN**

voorbeeld: Dier X $\rightarrow$ Dier Y (zie ook N. B. 1))

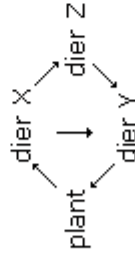
Dier Y kan hierbij zijn:

- carnivoor, insectivoor of omnivoor
- predator (als $Y \gg X$)
- parasiet (als $Y \ll X$)
- reducent (als X dood is, zie ook N.B. 1))

N.B.: 1) Alle organismen kunnen na hun dood eveneens door plantaardige reductanten (saprofieten) gegeten worden:
 bijvoorbeeld: bacteriën, schimmels.

2) **Voedselketen**: organisatie 'in serie': plant $\rightarrow$ dier X $\rightarrow$ dier Y $\rightarrow$ dier Z

3) **Voedselweb**: organisatie 'parallel' en 'in serie':



ZIE
 'BIO THEMA'
 deel 1 en deel 4.

HETEROTROFE
 ORGANISMEN
 =
 CONSUMENTEN

II. DISSIMILATIE = Oxidatie: exotherme processen, waarbij [E] vrijgemaakt wordt.

A. **OXYBIOTIE (Cel-)oxidatie: verbranding** [E] vrijgemaakt met O_2 (aëroob)

voorbeeld: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 \rightarrow 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} + \text{[E]}$

B. **ANOXIBIOSE = gisting en rotting**: [E] vrijgemaakt zonder O_2 (anaëroob)

voorbeeld $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} + 2\text{CO}_2 + \text{[E]}$

$\text{[E]} \gg \text{[E]}$] zie
 'BIO THEMA'
 deel 3

V-48 Begrippenlijst

A.

aangeslagen molecuul	een molecuul met een hogere energieinhoud dan normaal doordat dit molecuul energie geabsorbeerd heeft
absorptiespectrum	grafische voorstelling van de mate waarin de golflengten uit het doervallend licht door een bepaalde stof worden opgenomen
actief centrum	deel van het apo-enzym dat door zijn structuur de mogelijkheid bezit zich aan een bepaald substraatmolecuul te hechten of een bepaald substraatmolecuul op te nemen
activator	klein ion of molecuul, dat als co-factor de enzymactiviteit stimuleert zonder aan de reactie deel te nemen. (zie co-factor)
activeringsenergie	energie die toegevoegd moet worden aan atomen of moleculen om deze met elkaar te laten reageren
aerobiose	oxidatie door een organisme van een organisch substraat, waarbij de elektronen door zuurstof opgenomen worden
amfoteer	verbindingen die zowel zure als basische eigenschappen hebben. Bijvoorbeeld: $\text{Al}(\text{OH})_3$ is basisch; H_3AlO_3 is zuur en eiwitten die talrijke positief en negatief geladen groepen (NH_4^+ en COO^-) hebben.
aminozuur	organische verbindingen die meestal aan hetzelfde C-atoom zowel een aminogroep (NH_2) als een carboxylgroep (COOH) dragen.
anaerobiose	oxidatie door een organisme van een organisch substraat, waarbij de elektronen niet door zuurstof opgenomen worden
anoxibiose	zie anaerobiose
apo-enzym	eiwitdeel van het enzym. Het bepaalt de substraatspecificiteit van het enzym.
assimilatie	1. alle processen in levende organismen waarbij energie wordt vastgelegd 2. vorming van organische stoffen uit anorganische stoffen onder opname van energie 3. ook wel: opname en verwerking van stoffen tot bestanddelen van het organisme 4. voeding
autotrofie	vorming van organische verbindingen door organismen uit anorganische stoffen door middel van een endotherme reactie. Als energiebron fungeert licht: fotoautotrofie, of energie uit een exotherme chemische reactie: chemoautotrofie

B.

bastvaten	zie zeefvaten
begeleidende cellen	parenchymatische cellen grenzend aan een zeefvat. Zij regelen het transport van stoffen door deze vaten
bladkleurstoffen	kleurstoffen gelegen in plastiden (caroteen, xanthofyl en chlorofyl) of aanwezig in vacuolen (gele xantheïnen en paarse anthocyanen)
buurcellen	epidermiscellen naast de sluitcellen van een huidmondje

carnivoor	1. dier dat zich voedt met zelf gevangen dierlijke prooi 2. (mv.) systematische verzamelnaam voor roofdieren, zoals: leeuw, tijger, kat, etc.
caroteen	plantaardige geel-oranje kleurstof ($C_{40}H_{56}$). Heeft een nog niet geheel opgehelderde functie bij de lichtabsorptie in de fotosynthese en bij de vorming van chlorofyl
centrale cilinder	weefsels van de wortel en de stengel die binnen de endodermis gelegen zijn: merg, xyleem, floeem, parenchym en pericykel
chemoautotrofie	zie autotrofie
chemosynthese	de synthetiserende processen bij chemoautotrofie: vorming van glucose uit kooldioxide en water onder opname van energie verkregen uit oxidatieve reacties
chlrenchym	parenchymatisch weefsel waarvan de cellen chloroplasten bevatten
chlorofyl	in de chloroplasten voorkomend, organisch, groen pigment dat lichtenergie absorbeert en omzet in chemisch gebonden energie
chloroplast	bladgroenkorrel = chlorofylkorrel: plastide dat onder andere een groen pigment (chlorofyl) bevat
co-enzym	niet-eiwitdeel van een enzym. Bestaat of uit een anorganische stof (=co-factor), veelal metaalionen of een organische stof, vaak vitamine. Het bepaalt de chemische verandering die het substraat ondergaat. Heeft geen vaste binding met eiwitdeel
co-factor	niet-eiwitdeel van een enzym bestaande uit anorganische stof. Ook activator geheten
complementair	aanvullend 1. twee kleuren die bij menging wit licht geven zijn complementair: rood en groen; oranje en blauw; geel en violet. 2. het door een kleurstof gereflecteerde licht is ten opzichte van het geabsorbeerde licht complementair indien het opvallende licht wit is
concurrerende enzymremmer	stof die met een bepaald enzym een complex vormt zodat dit enzym niet in staat is met de substraatmoleculen een complex te vormen
D.	
denatureren	het beschadigen door hitte of chemicaliën van de structuur van moleculen (bijvoorbeeld eiwit) zodat de eigenschappen van de stof veranderen
disaccharide	koolhydraat bestaande uit twee monosacchariden die onder afsplitsing van een molecuul water aan elkaar verbonden zijn door een glycosidische binding
doorlaatcellen	endodermiscellen, liggend tegenover de xyleemstralen, waarvan de wanden niet verkurkt zijn. Spelen vermoedelijk een rol bij de selectieve opname van stoffen
E.	
electronendrager	als co-enzym werkende stof die electronen kan opnemen en overdragen
endodermis	cilindervormige eencellige laag rond de centrale cilinder in wortels en soms in de stengel: heeft invloed op het watertransport van buiten naar binnen

endotherm	proces waarbij de eindproducten meer energie bevatten dan de oorspronkelijke stoffen aan het begin van het proces.
enzym	Energie wordt opgenomen biokatalysator. Organische, kolloïdale katalysator, meestal in water oplosbaar, in plantaardige en dierlijke cellen gevormd en daarin werkzaam bij chemische reacties, doch ook in staat actief te zijn buiten de cel en zonder enig contact daarmee. Organisch molecuul (eiwit) dat het instellen van een chemisch evenwicht versnelt zonder in de eindproducten aanwezig te zijn
enzym-remmer etioleren	zie concurrerende en niet-concurrerende remmer abnormale groei van planten doordat de stengels sterk groeien. De plant is bovendien bleek en heeft kleine bladeren. Veroorzaakt door te geringe hoeveelheid opvallend licht
evenwicht	toestand die zich instelt bij een omkeerbare chemischen reactie, waarbij de reacties doorgaan maar elkaars uitwerking opheffen: dynamisch evenwicht
exodermis	buitenste laag cellen van een wortel waarvan de celwanden verkurkt of verhout zijn
exotherm	proces waarbij de eindproducten minder energie bevatten dan de oorspronkelijke stoffen aan het begin van het proces. Energie komt vrij
F.	
fagocytose floem	opname van vaste deeltjes door een celmembraan in een cel deel van een vaatbundel waarin zeefvaten, begeleidende cellen, vezels en parenchym voorkomen. Dient voor transport van organische stoffen. Zie zeefvat
fotolyse	het uiteenvallen van water door onttrekking van electronen door chlorofyl, waarbij vrije zuurstof ontstaat. Deel van de lichtreacties bij de fotosynthese
foton	'golfdeeltje' waaruit het licht bestaat: de energie-inhoud wordt lichtquant genoemd
fructivoor	dier dat zich voedt met vruchten
G.	
glucose	druivensuiker = dextrose: monosaccharide, dat in grote hoeveelheden gevormd wordt bij de fotosynthese
glycogeen	dierlijk zetmeel, als reserve opgeslagen in de lever en ook in de spieren
glycosidische binding	binding tussen twee monosaccharide- moleculen welke ontstaat als twee OH-groepen van deze monosacchariden onder waterafplitsing met elkaar reageren
H.	
herbivoor heterotrofie	dier dat zich hoofdzakelijk voedt met planten het betrekken van energie uit organische voedingsstoffen. Het direct of indirect afhankelijk zijn voor wat de voeding betreft van autotrofe organismen
houtvat	dood element van het xyleem van de vaatbundel; dient voor vervoer van water en zouten vanuit de wortel naar boven en voor de stevigheid
huidmondje	regelbare spleet of porie in de epidermis omgeven door 2 erbij horende sluitcellen; dient voor de regeling van de gaswisseling bij planten

I.	
insectivoor	dier dat zich voedt met kleine geleedpotigen
inwendige ademholte	ademholte. Grote intercellulaire ruimte aan de binnenzijde van een huidmondje welke in verbinding staat met de overige intercellulair
irreversibel	niet omkeerbaar
K.	
Koolhydraten	verbindingen van koolstof, water en zuurstof met de algemene formule: $C_n(H_2O)_m$
L.	
lichtabsorptie	het niet reflecteren of niet doorlaten door een medium van straling met een bepaalde frequentie
lichtquant	de energie-inhoud van een foton
M.	
maltase	enzym dat maltose splitst in 2 moleculen glucose
maltose	moutsuiker:disaccharide, bestaande uit 2 moleculen glucose
mandibula	de uit primitieve poten ontstane bovenkaak bij geleedpotigen. Bij gewervelde dieren de onderkaak
maxillae	de 2 paar achter de mandibula gelegen uit primitieve poten ontstane onderkaken bij geleedpotigen. Bij gewervelde dieren bovenkaaksbeenderen
metabolisme	stofwisseling;het totaal van fysische en chemische processen in een levend organisme
monofaag	dier dat voor zijn voedsel op één soort plant of dier is aangewezen, bijvoorbeeld Atalanta-rupsen op brandnetel
monosacchariden	enkelvoudige suikers; de eenvoudigste koolhydraten met als algemene formule $C_n(H_2O)_n$ waarbij n ligt tussen 3 en 7
N.	
NADP	nicotinamide-adenine-dinucleotide-fosfaat, stof in het cytoplasma van vele levende cellen die in staat is H^+ te binden en later aan andere verbindingen in de cel af te geven
NADPH ₂	de H^+ dragende vorm van NADP ⁺ waarin bovendien twee electronen opgenomen zijn
nectar	een suikers bevattend slijmerig sap, gevormd door klierzellen in bloemen
niet-concurrerende enzym-remmer	stof die een enzymmolecuul onwerkzaam maakt door zich te binden aan metalen in het enzymmolecuul, bijvoorbeeld CN^- dat zich bindt aan het Cu of Fe in bepaalde enzymen
O.	
oesofagus	slokdarm
omnivoor	alles-etend; dier dat zich met zowel plantaardig als dierlijk voedsel voedt
onverzadigd (chemisch)	in organische scheikunde: verbindingen waarin twee of meer C-atomen voorkomen met dubbele bindingen tussen deze C-atomen
oppervlaktespanning	de versterkte cohesie tussen moleculen in de nabijheid van een grensvlak; het zo klein mogelijke grensvlak verzet zich hierdoor tegen vormverandering

optimumtemperatuur	de temperatuur waarbij de biochemische reactie of het biologisch proces het snelst verloopt of de grootste opbrengst heeft
oxibiose	zie aerobiose
oxidase	1. het afstaan van electronen 2. het aangaan van een chemische binding met zuurstof 3. het verbreken van een chemische binding met waterstof
P.	
palissadeparechym	weefsel in het blad, bestaande uit chlorofylrijke, langgerekte cellen waarvan de lengte-as loodrecht op het bladoppervlak staat
parasiet	organisme dat op of in, en ten koste van een gastheerorganisme leeft dikwijls zonder de dood van deze gastheer te veroorzaken
peptidase	enzym dat peptidebindingen verbreekt
peptidebinding	binding tussen 2 aminozuren, welke ontstaat doordat de COOH-groep van het ene aminozuur onder afsplitsing van water reageert met de NH ₂ -groep van een andere aminozuur
pepton	mengsel van afbraakproducten (hydrolysaat) dat uit eiwit ontstaat door de werking van pepsine. Het is oplosbaar in water
pericykel	de buitenste laag cellen van de centrale cilinder van een wortel die tegen de endodermis is gelegen
pinocytose	1. oud: de opname van extracellulaire vloeistof druppels door de celmembraan heen in de cel. (Opname van vaste deeltjes noemt men dan fagocytose) 2. nieuw: de opname van zowel vloeistofdruppels als vaste deeltjes in een cel door in- of uitstulping van het cytoplasma onder verbruik van energie (ATP)
plastide	organel in het cytoplasma van meestal plantaardige cellen, dat zetmeel of een mengsel van pigmenten kan bevatten.
pollen	stuifmeel (enkelvoud = pollenkorrel)
polypeptide	lange keten van met peptidebindingen aaneengekoppelde aminozuren. Hoeft biologisch niet functioneel te zijn
polysaccharide	lange keten van met glycosidische bindingen aaneengekoppelde monosacchariden
poortader	bloedvat waardoor de geresorbeerde stoffen van de darm naar de lever worden gevoerd
predator	roofvijand van een dier
prosthetische groep	een met een apo-enzym vast verbonden molecuul dat de reactiespecificiteit van het enzymmolecuul bepaalt
proteïden	samengestelde eiwitten. Dit zijn organische stoffen waarvan de moleculen bestaan uit een eiwit en een niet-eiwitachtige stof, bijvoorbeeld hemoglobine, dat bestaat uit het proteïne globine en het pigment haem.
proteïnase	Term raakt in onbruik
proteïne	enzym dat eiwit (proteïne) splitst
Q.	eiwit; biologisch functionele keten(s) van aminozuren
Q ₁₀	de verhouding van de reactiesnelheden van één bepaalde reactie bij twee verschillende temperaturen die onderling 10 °C verschillen. Beneden de optimumtemperatuur bedraagt de Q ₁₀ meestal 2 tot 3

R.

radula	bij slakken voorkomende raspplaat. Is bezet met tandjes en kan uit de mondholte gestoken en op en neer bewogen worden
reactiesnelheid	het aantal moleculen dat per tijdseenheid door één bepaalde chemische reactie wordt gevormd of afgebroken
reactiespecificiteit	het verschijnsel dat door een enzym slechts één bepaalde reactie beïnvloed kan worden
reducent	organisme dat een organische stof afbreekt (mineraliseert) tot een anorganische stof, of tot een eenvoudiger organische stof
reductie (biologisch)	het afbreken van organische stoffen tot eenvoudiger organische stoffen of tot anorganische stoffen
reductie (chemisch)	1. het ontvangen van elektronen 2. het aangaan van een chemische binding met waterstof 3. het verbreken van een chemische binding met zuurstof
resorptie	de opname van stoffen, soms tegen een concentratieverval in waarbij dan dus energie verbruikt wordt
reversibel	omkeerbaar
rhizodermis	wortelhuid; de opperhuid van een wortel

S.

saccharose	rietsuiker = bietsuiker = sucrose; disaccharide, bestaande uit een molecuul glucose en een molecuul fructose, die glycosidisch verbonden zijn
saprofaag	organisme dat zich voedt met organisch afval
saprofyt	plantaardige saprofaag
sluitcel	bladgroen-bevattende epidermiscel die van vorm kan veranderen. De opening tussen 2 naast elkaar gelegen sluitcellen is hierdoor regelbaar en wordt huidmondje genoemd
speeksel	vloeistof die door klieren bij de mondholte geproduceerd wordt. Menselijk speeksel heeft onder meer een oplos-, glij-, verterings- en bufferfunctie en bevat hierom respectievelijk water, slijm, amylase en eiwit
sponsparencym	weefsel in het blad, bestaande uit chlorofylrijke cellen en grote intercellulaire holten, welke door middel van huidmondjes in verbinding staan met de atmosfeer
sporenelementen	elementen, meestal (zware) metaalionen zoals Co, Cu, Fe en Mn, die in uiterst kleine hoeveelheden door organismen moeten worden opgenomen en vaak een rol spelen als co-factor van een enzym
steriliseren	het doden van alle micro-organismen in een vloeistof of op een voorwerp door verhitting, bestraling, e.d.
stoma(ta)	zie 'huidmondje(s)'
substraat	1. in bacteriologie: de 'onderlaag' (= voedingsbodem) waarop bacteriën kunnen groeien 2. in enzymologie: de stoffen die door een enzym kunnen worden omgezet
substraatspecificiteit	het verschijnsel dat een apo-enzym zich met slechts één type substraat kan verbinden tot een enzym-substraatcomplex

T.

transpiratie het verdampen van water uit de bovengrondse delen van een plant

turgor de gespannen toestand waarin een plantencel verkeert wanneer celwand en celdruk uitoefenen op elkaar

U.

uitwendige ademholte bekervormige inzinking in het bladoppervlak op de bodem waarvan zich een huidmondje bevindt. Vooral bij planten die aan een droog klimaat zijn aangepast

V.

vaatbundel groep transportkanalen (zeef- en/of houtvaten) in een plantenstengel, vaak omgeven door begeleidende cellen en steunweefsel (sklerenchym)

vertering afbraak van samengestelde voedingsstoffen door enzymen tot eenvoudige stoffen die de celmembranen van het organisme kunnen passeren

vet organische verbinding welke ontstaat door de reactie tussen 3 of 2 moleculen vetzuur aan drie of twee -OH groepen van glycerol (=1, 2,3-propaantriol)

vetzuur organische verbinding bestaande uit een lange koolstofketen met een eindstandige carboxylgroep (-COOH)

Indien de koolstofatomen in de keten het maximaal mogelijke aantal waterstof atomen dragen spreekt men van een verzadigd vetzuur, zijn er minder H-atomen dan het vetzuur onverzadigd

vierkantsbeen uit oorspronkelijke kraakbenige bovenkaak ontstaan beenstuk dat bij schildpadden, slangen en vogels een rol speelt bij de scharnierwerking tussen boven- en onderkaak: bij de zoogdieren is dit beenstuk de hamer in het gehoororgaan geworden
vitaminen organische stoffen die meestal niet door een heterotroof organisme geproduceerd kunnen worden, maar waarvan kleine hoeveelheden met het voedsel opgenomen moeten worden. Ze fungeren vaak als co-enzym

voedselvacuolen door elementairmembranen omgeven blaasjes in het cytoplasma waarin extracellulaire voedseldeeltjes, die door pinocytose (of fagocytose) in het cytoplasma van sommige eencelligen (Amoeba, Paramecium) opgenomen zijn, zijn komen liggen. De ingesloten voedseldeeltjes worden verteerd en daarna door het elementairmembraan heen opgenomen

W.

watercultuur het kweken van planten in gedestilleerd water of in enig ander medium dat geen ongewenste ionen bevat of afgeeft (gewassen grint, mica-, of plastic korrels). Aan dit medium kunnen zouten in bekende hoeveelheden worden toegevoegd

wortelhaar langgerekte (tot 8 mm lang) uitgroeisels van afzonderlijke opperhuidcellen bij de top van een wortel. Zij vergroten het oppervlak van deze wortel waardoor de in het bodemwater opgeloste zouten actief in de wortel kunnen worden opgenomen

wortelhaarzone het gebied op enige afstand van de worteltop waar de rhizodermiscellen tot wortelhaarvorming overgaan

X.

xanthofyl

geel pigment dat onder andere in chloroplasten van hogere planten voorkomt

xyleem

het houtgedeelte van een vaatbundel. Samengesteld uit houtvaten en houtparenchymcellen. Het vervoert in de regel water en zouten

Z.

zeefplaat

de door z.g. hofstippels geperforeerde celwand tussen 2 opeenvolgende zeefvatcellen

zeefvat

keten van in de lengterichting achter elkaar liggende, langgerekte cellen in het floem van een vaatbundel.

De cellen zijn dunwandig, bevatten levend cytoplasma en vervoeren overwegend assimilatieproducten

zetmeel

polysaccharide, bestaande uit 60—6000 moleculen glucose welke door glycosidische bindingen tot ketens zijn verbonden

Literatuurlijst

<i>Auteur</i>	<i>Titel</i>
Alberda, e.a.	De Groene Aarde
Aubert, M.	Voedselgewinning uit de zee
Baldwin, E.	Inleiding tot de biochemie
Baldwin, E.	Vergelijkende biochemie
Barrington, E. J. W.	Hormonen en Evolutie.
Bodin, F.	Vergiften
Dubos, e.a.	Ziekte en Gezondheid.
Dijkgraaf en Vonk	Vergelijkende dierfysiologie, deel 1
Harrison, G. A., e.a.	Biologie van de mens, deel 2
Hartog, C. den	Gezonde voeding, gezonde mensen.
Hartog, C. den	Nieuwe Voedingsleer.
Koningsberger V. J.	Inleiding in de plantenfysiologie.
Kuijper, J.	Onze kultuurgewassen.
Löhnis, M. P.	Rol der micro-organismen in het dagelijks leven.
Meadows, D.	Rapport van de Club van Rome
	De grenzen aan de groei.
Meeuse, A. D. J.	De inwendige structuur van de hogere plant.
Mossel, D. A. A	Elementaire Microbiologie.
Nultsch, W.	Algemene Botanie.
Oordt, G. J. van	Endocrinologie van de Gewervelde Dieren.
Reijnders L., e.a.	Voedsel in Nederland.
Romijn, C. & van Asperen, K.	Fysiologische Chemie
Tausk, M.	De Hormonen.
Verleur	Leerboek der Plantenfysiologie.
Weevers, Th.	Het Leven der Planten.
Wijn, de en Weits	Steensma's Voedingsleer.

Folders en persberichten bij Bureau Voorlichting voor de Voeding,
Laan Copes van Cattenburch 44, Den Haag.

Register

A

aangeslagen toestand 44, **46**, 162
aantoningsreacties 23, 24, 25
absorptiespectrum 44, **45**, 47, 162
Abutilon 52, 54, 59
Acanthias **94**
achterhoofdsknobbel 97
Acorus (kalmoes) 10
actief centrum 110, 162
activeringsenergie 110, **112**, 162
ademhalingsketen 139
ademholte 49, 165, 168
ADP 13, 46, **46**, 68
adsorptiewetten 28
agar 17, 18, 19, 20
akinetische schedel 96, **96**
Aflum (ui) 10
amfibie **95**
amfoteer 162
aminozuur 109, 162
amoëbe 83, **84**
amoëboïde cellen 85, **86**, 87, 106
amylase 106, 129, 133, 135, 137, 143, 144, 145
anoxibiose 160, 162
antibiotica 151
antioxidantia 150
apo-enzym 110, 162
Aristoteles 64
asbestanddelen 23
Aspergillus 20
assimilatie 160, 162
ATP 13, 46, **46**, 68, 70
ATP-ase 13
autoradiografie 12
autotrofe organismen 5, 160, 162

B

Bacillus subtilis 18, 19
bacteriën, groei v. 17
basipood 89, **90**
bastvaten 7, 15, 162
belichting v. planten 17
benzeenbacteriën 75
benzoëzuur 153
bestrijdingsmiddelen 151, 158
beuk 27
Beyerinck 72
bilirubine 108
biliverdine 108
biureetreagens 77
blad, anatomie 25, **26**
—, bont 62
— groenextract 36
— nerf 26, **26**
— pigmenten 38, 41, 42, 47, 162
—, schaduw- 27
—, zonne- 27
blauwwieren 65
bloeding 13

bloedsomloop 104
bloedzuiger 89, **90**
boon 59, 63
bouillon, voedings- 17
bouwstoffen 5
bovenkaak 90, **90**, **91**, 95
brandnetel 59
brandstoffen 5
bruinwieren 65
Bryophyllum 15, 16, 17
buffer 121
—, azijnzuur-acetaat- 128
—, citroenzuur- 128
—, fosfaat- 127
—, Tris- 127
— werking 124

C

calcium, aantonen v. 24
Calvin-cyclus 70, 73
cambium 9, 15
caprofaag 98
carnivoor 98, 160, 163
caroteen 38, 43, 65, 67, 162
carotenoïden 45
carrier 13, 107
carrier-ion-complex 13
Caspary, bandjes v. 12, 13
cellulase 105
cellulose, aantonen v. 79
celoxidatie 64, 160
centrale cilinder 7, 12, 13, 163
centrale spleet 49, **51**
Chelone **96**
chemoautotroof 72, 73, 160, 163
chemoheterotroof 73
chemosynthese 5, 72, 160, 163
chloor, aantonen v. 24
chloorbenzoëzuur, aantonen v. 154
chlorenchym 26, 162
chlorofyl a 38, 4e, 45, 47, 65, **66**, 67, 163
chlorofyl b 38, 43, 65, 67
Chlorofytum 52
chloroplasten 14, 25, 26, **50**, 65, 163
— functie v. 59
chromatografie
— bak 40
—, dunnelaag- 29, 42, **42**
—, kolom- 29, 36, **37**
—, papier- 29, 40, **41**
—, scheiding door, 29
— technieken 28
—, verdelings- 29, **35**
ciliën 84, **84**, 89
Cineraria 52
citroenzuurcyclus 71
Clivia 10, 52
Codoriga **86**
co-enzym 110, 162
co-factor 137, 162

Coleus 53, 62
 compensatiepunt 65
 complementaire kleur 65, 163
 conserveermiddelen 150, 151
 consumenten 160
 Convallaria **11**
 Craigcellen **11**
 —, tegenstroommethode v. 28, 29, **33, 35**
 Craspedacusta **86**
 Crotalus **95**
 Culex **93**
 cultuurmedium 16, **16**, 17
 cultuurvat 16
 cuticula 7, **26**, 49
 cyste 101
 cytoplasmastroming 13, 83, 85
D
 dagmenu 80
 Daphne 90, 100
 darm 104
 —, blinde 105
 —, midden- 106
 — vlok 107
 dennenaald 26, **27**
 desaminering 109
 detritus-eters 98
 dialyseerslang 203
 diastase 144
 Didinium 85, **85**
 diffusie 12
 donkerreacties 65, 68, 70, 72
 doorlaatcellen **11**, 163
 doornhaai 94
 Dracaena 52
 dunnelaagchromatografie 29, 42
E
 Einstein 44
 eiwitten 5
 —, aantonen v. 78
 —, vertering v. 143
 elektronenconfiguratie 44, **45**
 Elodea 56
 emulgatoren 151
 endodermis 7, **8, 9, 11**, 13, 164
 endopood 89, **90**
 energie 5
 enzym 5, 104, 105, 110, **111**, 120, 121, 164
 —, apo- 110, 162
 —, co- 110, 162
 —, holo- 128
 — -substraat-complex 110, **111**, 114, 129
 epidermis 7, 8, 9, 14, 25, **26**
 Escherichia 18, 19
 essentiële voedingsstoffen 5
 Euglena 83
 exodermis 10, 164
 exopood 89, **90**
F
 fagocytose 83, **84**, 104, 164
 Fagus 27
 Farynx 87, 89, **90**, 104
 —, hypo- 93, **93**
 fase, bewegende 29
 —, boven- 29
 —, onder- 29
 —, stationaire 29

FeEDTA 16
 Fehlings reagens 77
 ferredoxine 67, 68
 Ficus 25
 Flageliata 83, **86**
 flavoproteïne 67
 floem 7, **8, 9, 10**, 15, 164
 floroglucinol 7, 10, 14, 76
 fluorescentie 44, 48
 3-fosfoglyceraldehyde 70
 3-fosfoglycerinezuur 70
 fosfor, aantonen v. 25
 fosforylering, cyclische 69
 —, niet-cyclische 69
 fotoautotraaf 64, 160
 fotochemische reactie 48
 foton 44, 164
 fotolyse 65, 67, 164
 fotosynthese 5, **45**, 54, 56, 64, 65, 160
 fructivoor 98, 160, 164
 Fuchsia 52, 53, 54, 59
G
 gal 108, 109
 galkleurstoffen 108, 109
 galzuren 107, 108
 geledpotigen 89, 100, 106
 geranium 52, 5e, 59, 61
 gewervelde dieren 93, 100, 105
 gladiool 25
 glucose 20, 49, 72, 164
 —, aantonen v. 78
 glycerol 20, 107
 glycogeen 109, 164
 granae 65
 groenwieren 65
 guajaktinktuur 139
H
 haai 94, **94**
 haem 108
 Haines-reagens 76
 halogeen 156
 Helix 89
 Helleborus 25
 Helmond, van 64
 Henry, wet v. 28
 herbivoor 98, 160, 164
 herkenningsreactie 76
 heterotrofe organismen 5, 64, 60, 164
 hexosefosfaat 70
 hirudine 89
 Hoff, van 't 116
 holtedieren 85, 105
 Homarus **90**
 honing 144
 — bij 91, **92, 145**
 — maag 145, **145**
 hooi-infuus 102
 hormonen in voedsel 151
 houtstof, kleuring v. 7
 houtvat 7, 10, 14, 164
 huidmondje 14, **26**, 49, **50**, 164
 — typen, **51**
 Hydrous **91**
 hypofarynx 93, **93**

I

ijzer 73
—, aantonen v. 24
— oxiderende bacteriën 74
indicator 56, 76
Ingen-Housz 64
inktvissen 87, 88, **89**, 106
insecten 91, 100, 106
insectivoor 98, 160
insuline 109
intercellulaire holtes 7
invertase 141
ionen, opname v. 12, 17
Iris 10, 25, 49
isotoop 65

J

jaarring **9**
jood-kaliumjodide 76
jood-zinkchloride 77
K
karmijnfibrine 143
katalase 142
kleurstoffen in voedsel 151, 155
kinetische schedel 97, **98**
koningswater 23
kolomchromatografie 29, 36, **37**, **39**
koolhydraat 5, 165
koolstof, aantonen v. 24
koolzuurgas, afgifte en opname 56, 59
kraagcellen 85, **86**
kraakbeen 94
kreeften 91, 106
kristalsteel 106
krop 89, 104
kurk 9
—, kleuring v. 7
—, cambium 9

L

labium 91, **91**
labrum 91, **91**
Larus **98**
lelietje-van-dalen **10**
lever 5, 107, 108, 109
—, bouw v. d. 108
licht, frequentie v. 44
—, golflengte v. 44
—, kleur v. 44
— quant 44, 165
— reacties 65, 67, **70**, 72
Liebig 72
lignine, kleuring v. 7
liguster 25
loopvloeistof 29
—, polariteit v. 29, 34
Ludwigia 56
lymfevaten 107

M

maag 104
—, boek- 105
—, honing- 145, **145**
—, leb- 105
—, net- 105
magere melkkweek 102
magnesium, aantonen v. 24
mandibula 90, **90**, 165
maxilla 90, **90**, 165
melk 157
merg 7
— holte 14
— straal 10
metabolisme 160, 165
methaanbacteriën 75
methylecellulose 102
middendarmklier 106
mitochondriën 46
mond delen, likkend-zuigend 91, **92**
—, stekend-zuigend 91, **93**
—, zuigend 91, **92**
mond lappen 87, 89, 100
monofaag 99, 165
Monstera 10
mossel 87, 89, 100

N

NADP⁺ 67, 165
NADPH₂ 67, 70, 165
nectar 144, 165
Nemertini 87, **88**
Nereïs 90
Nernst, verdelingswet v. 28
netelcellen 85
niet-essentiële voedingsstoffen 5
nitrificatie 72
nitrificerende bacteriën 74
Nitrobacter 73
Nitrosomonas 73
noordzeekreeft **90**

O

oesofagus 104, 165
omnivoor 98, 160, 165
onderkaak 90, **90**, **91**, 95
ongewervelde dieren 105
ontwikkelen chromatogram 43
ontwikkelvloeistof 38
opname v. ionen 12
oppervlaktespanning 108, 165
optimumkromme **116**, **118**, **119**
— pH 120, 133
— temperatuur 72, 116, 136, 166
osmose 13
osmotische waarde 13, 51, 71
oxibiose 160, 166
oxidase 139

P

palissadeparenchym **26**, 66
pantoffeldiertje **84**, 100, 101
papierchromatografie 29, 40, 41
Paramecium **84**, 100, 101
parasiet 98, 160, 166
parathion 158
Pasteur 72
pasteuriseren 157
peen 10
pens 105
pepsine 110, 134
pericykel 7, **8**, **9**, 10, 166
peroxidase 142
phaeofytinen 38, 43
pH-optimum 133
phyocyanine 65
phycoerythrine 65
phycoxanthine 65
pigmenten, blad- 38, 41, 42, 43
—, accessorische 65
pigmentsysteem 1 67, 68, 69
pigmentsysteem 2 67, 68, 69
Pinus 26
pinocytose 83, 104, 107, 166
Planaria **88**, 105
plasmodesme 13
plastide 65, 166
platwormen **88**
polariteit 29
pollen 146, 166
pollenkorrels **147**, **148**, **149**
poortader 107, 166
predator 160, 166
Priestly 64
prisma 47
producenten 160
prosthatische groep 120, 166
pseudopodium 83, **84**, 85
purperbacteriën 65, 73
pyrodruivenzuur 71

Q

Q₁₀ 116, 166

R

raderdieren 88
radula 88, **89**, 167
Ranunculus 10, 14
ratelslang 95
reactiesnelheid 116, 167
reactiespecificiteit 110, 167
redoxketen 1 67
redoxketen 2 68
reducent 160, 167
regenworm 100, 106
regulerende stoffen 5
remming, concurrerende, 114, **115**, 163
—, niet-concurrerende 114, **116**, 165

resorptie 104, 107, 167
Rf-waarde 41, 43
rhizodermis 7, **8**, **9**, 10, 167
rhododendron 25
ribulose-1,5-difosfaat 70, 71, 72
ribulose-monofosfaat 71
roggen 94
roodwieren 65

S

saccharase 141
saccharose 71, 167
Sachs, von 116
salicylzuur 152
saprofaag 98, 167
saprofijt 160, 167
Schardinger, enzym v. 140
schedel 93, **94**, **95**
—, akinetische 96, **96**, 100
—, kinetische 97, **98**, 100
—s, prepareren v. 99
schijnvoetje 83, **84**
schildpad 96, **96**
schimmel, ontwikkeling v. 20
schors 7, **8**, **9**, **11**, 12
— weefsel 7
Sepia **89**
silicagel 42
sklerenchymkap 14
slaapbeen **95**, 96, **96**
sla 59
slakken 87, 100, 106
slangen 96
slokdarm 104, 165
sluitcel 49, **50**, 167
snavel 97, **98**
speeksel 89, 93, 105, 128, 167
splijtpoot 89
spons 85, **86**
— parenchym 25, **26**, 49, 167
spore 101
sporenelementen **16**, **167**
sprinkhaan 100
stabilisatoren 151
steekmug **93**
stekelhuidigen 106
stekken 15
stengel, bouw v. 14
stippels 15
stomata (zie huidmondje) 167
strekkingzone 7, **8**, 10
stuifmeel 146
substraatconcentratie 131
substraatspecificiteit 110, 167
Suctoria 85, **85**
sudan III 7, 77

T

tabak 61
tandschub 94
— wisseling 94
tentakels 85, 87
Thiobacillus 74
thylakoïden 65
Tokophrya **85**
Tradescantia 15, 52
transaminering 109
transpiratie 49, 168
trichoblasten 7
triosefosfaat 70, 71, 72
tuinkers 10
tulp 14
turgor 49, 51, 168

U

urease 140
ureum 109
urinezuur 109

V

vaatbundel, bouw v. 14, 15, **26**, 168
vacuole, voedsel- 83, **84**, **86**
—, contractiele **84**
verdelingscoëfficiënt (K) 28, 29, 30, 31, 32, 33
vertering 95, 103, 104, 105, 106, 168
—, chemisch 5, 104
—, extracellulair 87, 106
—, intracellulair 87, 106
—, mechanisch 5, 104
verteringsorganen 5, 104
verteringsstelsel 104
vet, 5, 168
—, aantonen v. 78
—, opname v. 107
—, vertering v. 144
vetzuur 107, 168
—, -galzuur-complex 107, 108
vierkantsbeen **95**, 96, 168
vissen 96
vitamine 5, 168
vlijtig liesje 54
vlinders 91, 92
vochtigheid, relatieve 27, 51, 52
voedingsagar 12, 19
voedingsbouillon 17
voedingsmiddelen 79
voedingsschijfjes 17, 18
voedingsstoffen, essentiële 5
voedingsstoffen, niet-essentiële 5
voedselketen 160
voedselvacuole 83, **84**, **86**, 103, 168
voedselweb 160

W

water 5
—, actieve opname v. 13
—, culture 12, 15, 168
—, hydrostatisch transport v. 13, 14
— pest 26, 56, 62
— straalluchtpomp 38, 54
— tor, pikzwarte **91**
weekdieren 100, 106
Winogradsky 72
wormen 87, 100
—, gelede 105
—, koker- 89
—, lint- 105
—, plat- **88**
—, regen- 106
—, ring- 89
—, snoer- 87, 88
—, tril- 105
wortel, anatomie v. 7, **8**, **9**, 10
— druk 13
—, functie v. 12, 22
— haar **8**, **9**, 10, 168
— haar zone 7, 10, 168
—, jonge 10
— mutsje 7, **8**, **9**, 10
—, oude 10
— stelsel 22
— stelsel, kweekbak voor, 22, **22**
X
xanthine-oxidase 140
xanthofyl 38, 43, 65, 67, 169
xanthoproteïne-reactie 77
xyleen 7, **8**, **9**, 10, **11**, 13, 15, 169
— straal 10
Z
zager **90**
zeeduizendpoot **90**
zeeëgel 106
zeefvat 10, 14, 169
zeekomkommer 106
zeeschildpad **96**
zeester 106
zetmeel 49, 61, 129, 169
—, aantonen v. 78
—, afvoer v. 63
—, synthese v. 61, 62
zij wortel **9**
zilverbreeuw **98**
zoetwaterpoliep **86**
zouten 5
zuigkracht v, bladeren 13, 14
zuurstof, productie v. 57
zwavel, aantonen v. 24
zwaveligzuur 155
zwavel oxiderende bacteriën 74
zwavelwaterstof 73, 74