

# biothema

## Biologie van experiment tot theorie

3

### Transport, energiehouding en uitscheiding

*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

## 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. Saaltinken 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 voordurende 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 in de 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, december 1977

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 40120 9

## Inhoudsopgave

	voorwoord	2
	inleiding	5
T- 1	diffusie-theorie	7
T- 2	diffusie-experimenten	9
T- 3	osmose, turgor en plasmolyse	12
T- 4	osmose-experimenten	19
T- 5	plasmolyse en permeabiliteit	23
T- 6	de permeabiliteit van levende celwanden bij gist	24
T- 7	cytoplasmastroming	26
T- 8	transportsystemen bij planten	27
T- 9	wateropname bij bewortelde en onbewortelde stekken	34
T-10	worteldruk	35
T-11	capillaire opstijging	37
T-12	transport in de stengel	38
T-13	transport in het floeem	39
T-14	zuigkracht van bladeren (potetometer)	40
T-15	ademhalingsystemen bij dieren	43
T-16	de mossel ( <i>Mytilus edulis</i> L.)	51
T-17	adembewegingen bij vissen	54
T-18	frequentie van de adembeweging bij vissen	54
T-19	bouwen werking van zoogdierlongen	57
T-20	ademhaling bij de mens: meting vitale capaciteit en normaal ademvolume	58
T-21	nabootsing middenrifademhaling	59
T-22	transportsystemen bij dieren	60
T-23	bloedstroming in vaten	74
T-24	de bouw van het zoogdierhart (anatomiepracticum)	75
T-25	hartslagfrequentie voor en na een inspanning	77
T-26	de invloed van de temperatuur op de hartslagfrequentie bij daphnia's	81
T-27	de invloed van farmaca op de hartslagfrequentie van daphnia	84
T-28	voorbereidingen voor het bloedpracticum	86
T-29	onderzoek van bloedcellen; het maken van een bloeduitstrijkje	87
T-30	bepaling van de bloedgroepen A, B, AB en O	92
T-31	bloedstollingtheorie	96
T-32	de invloed van $Ca^{++}$ en temperatuur op de bloedstolling	100
T-33	kwalitatieve analyse van bloed	101
T-34	eiwitten in bloedplasma en serum	102
T-35	zuurstof en kooldioxide in het bloed	103
T-36	buffermengsels	104
T-37	regulatie van de bloedsamenstelling	105
T-38	de celademhaling	107
T-39	overzicht van de voornaamste typen stofwisselingsprocessen	112
T-40	stofwisseling	112
T-41	warmteafgifte bij kiemende erwten	114
T-42	warmteafgifte door de menselijke huid	115
T-43	ademhalingsquotiënt of respiratoir-quotiënt: de R.Q	116
T-44	zuurstofverbruik door kiemende erwten	118
T-45	zuurstofopname door de mens	118
T-46	vorming van kooldioxide bij gisting of anaërobe ademhaling	119
T-47	vorming van kooldioxide bij planten en dieren	122
T-48	de afgifte van kooldioxide via de uitademingslucht bij de mens	123
T-49	verdamping bij planten; aantonen van vrijgekomen waterdamp	124
T-50	de sluitcellen van huidmondjes	125

T-51	kristallen in bladeren	126
T-52	uitscheiding bij planten	127
T-53	osmoregulatie	128
T-54	de kloppende vacuole	131
T-55	het aantonen van enkele stoffen in urine	134
T-56	urinezuur in vogel-excrementen	137
T-57	organische uitscheidingsproducten	138
T-58	begrippenlijst	139
	literatuurlijst	145
	register	146

## Inleiding

Iedere cel staat in contact met zijn omgeving. Bij eencelligen is die omgeving het milieu waarin het organisme leeft. Bij meercellige dieren is die omgeving de lichaamsvloeistof (bloed en lymfe). De cellen van deze meercellige dieren zullen reageren op iedere verandering in de samenstelling van de lichaamsvloeistof en vice versa. Het is dan ook voor het organisme een noodzaak de lichaamsvloeistof onder controle te houden. Hiervoor zijn twee orgaansystemen verantwoordelijk: het circulatiesysteem en het excretiesysteem. Het circulatiesysteem is meer dan een netwerk van kanalen; de fysische eigenschappen van de lichaamsvloeistof (druk, stroomsnelheid, en dergelijke) worden namelijk gereguleerd. Zo is ook het excretiesysteem meer dan alleen een systeem dat onbruikbare stoffen uitscheidt, omdat tevens regulatie plaatsvindt van de chemische samenstelling van de lichaamsvloeistof.

Uit het uitwendig milieu dient het organisme stoffen op te nemen om in de behoefte aan synthesesmateriaal en energie te voldoen. Hiertoe beschikt het organisme over het spijsverteringsstelsel en het ademhalingsstelsel. De processen waarbij energie wordt vrijgemaakt en de processen die tot synthese van stoffen leiden spelen zich af in de cel. De cel moet hiertoe voorzien worden van de benodigde moleculen en dient tevens de bij de genoemde processen gevormde afvalproducten te kunnen afgeven. In dit deel van Biothema zijn de gebeurtenissen in de cel dan ook centraal geplaatst.

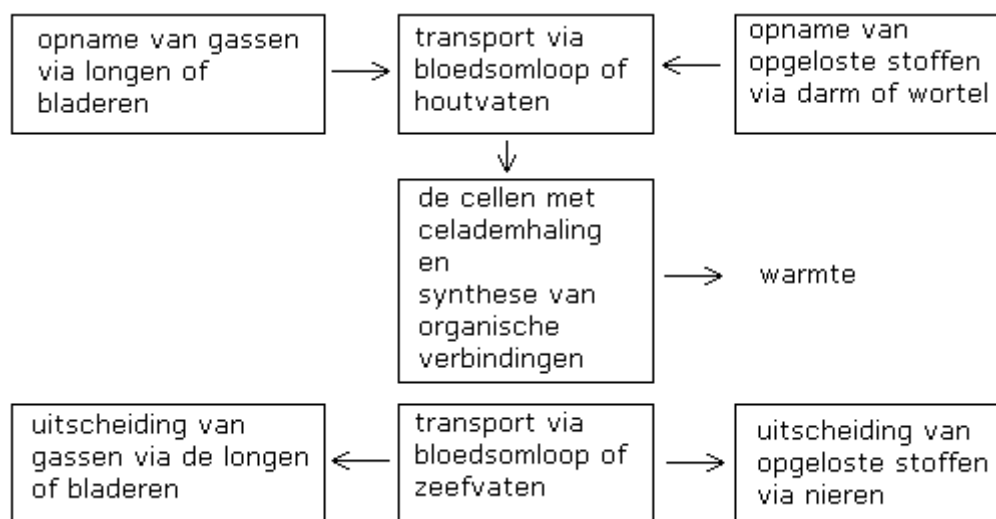
Omdat experimenten waarmee de energieleverende processen en de synthese in de cel worden aangetoond moeilijk zijn uit te voeren, is vooral uitgegaan van de resultaten van deze processen (warmteafgifte, CO<sub>2</sub>-vorming, e.d.). Aangezien fysische processen een rol spelen bij de opname en afgifte van stoffen door de cellen — de relatie tussen cel en interne milieu — en bij de contacten die het organisme heeft met het externe milieu, staan deze fundamentele gebeurtenissen vooraan.

De opname van voedingsstoffen is in Biothema 2 reeds ter sprake gekomen, zodat nu als tweede onderwerp volstaan kon worden met de opname van gassen.

De transportsystemen van planten en die van dieren komen daarna aan de orde.

Het is niet geheel juist om bij planten over uitscheiding te spreken daar deze organismen niet over speciaal hiervoor bestemde orgaansystemen beschikken. Toch worden door planten overtollige stoffen opgeslagen en afgegeven. Uitscheiding bij planten en dieren is het laatste onderwerp.

Het volgende schema geeft een indruk van de samenhang van de onderwerpen die in dit deel aan de orde komen:

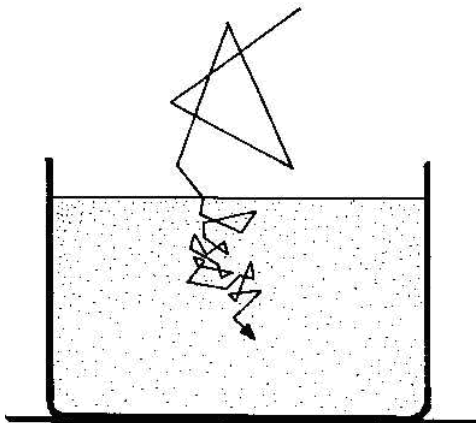




## T-1 Diffusie-theorie

De Engelse botanicus Robert Brown merkte in 1827 voor het eerst op dat zich in stuifmeelkorrel deeltjes bevonden die, wanneer men ze met de microscoop bekeek, niet geheel stil bleken te liggen, maar een onregelmatige trillende beweging bleken uit te voeren. Eerst dacht hij met een levensverschijnsel te doen te hebben. Later ontdekte hij dat fijn verdeeld stof, zowel van organische als van anorganische oorsprong, hetzelfde te zien gaf. De warmtebeweging van de moleculen van het oplosmiddel veroorzaakt botsingen van deze moleculen tegen de gesuspendeerde deeltjes. Omdat deze botsingen niet aan alle kanten van het deeltje tegelijkertijd gebeuren zal het deeltje heen en weer gestoten worden. Dit bewegen van het deeltje noemt men Brownse beweging. Ook niet microscopisch zichtbare deeltjes, zoals moleculen en atomen, worden door de warmtebeweging van hun plaats gestoten. Het gevolg van deze warmtebeweging is dat de deeltjes zich uiteindelijk gelijkmatig over de beschikbare ruimte verdelen. Men noemt dit verschijnsel diffusie.

Berekeningen hebben als uitkomst opgeleverd dat het zeer goed mogelijk is dat een diffunderend deeltje per seconde 10 miljoen maal van richting veranderd. Door deze richtingsveranderingen wordt het diffusieproces vertraagd. Het aantal richtingsveranderingen is afhankelijk van het aantal moleculen dat zich op ieder moment in de onmiddellijke omgeving van het diffunderende deeltje bevindt. Aangezien het aantal moleculen in een gas veel geringer is dan het aantal in eenzelfde volume vloeistof zal de diffusiesnelheid in een gas veel groter zijn dan in een vloeistof (figuur 1).



Figuur 1. Diffusie. Diffusieweg van een gasmolecule in lucht en water (n. Dijkgraaf 1970).

De gegevens die over diffusiesnelheden in vloeistoffen en gassen beschikbaar zijn, zijn nogal afwijkend van elkaar. Om een idee van de orde van grootte te geven kunnen de getallen dienen, die Krogh geeft voor de verhouding van diffusiesnelheden ( $D$ ) van gassen in weefsel, in water en in lucht namelijk

$$D_{\text{weefsel}} : D_{\text{water}} : D_{\text{lucht}} \text{ als } : 1 : 3 : 1.000.000 (10^6),$$

Het zal duidelijk zijn dat door het met lucht gevulde tracheeënsysteem van insecten voor deze dieren een grotere diffusiesnelheid mogelijk is dan wanneer de zuurstof en het kooldioxide via het weefselvocht tot in de binnenste cellen van het organisme hadden moeten diffunderen (aangenomen dat dit weefselvocht niet stroomt!). Zie figuur 18.

De *diffusiesnelheid* van een stof is afhankelijk van een aantal grootheden zoals:

- de temperatuur
- de viscositeit ('stroperigheid') van het oplosmiddel
- de grootte van de diffunderende deeltjes
- de concentratie van de opgeloste stof.

De *totale hoeveelheid* door diffusie verplaatste moleculen wordt ook nog beïnvloed door:

- de afstand waarover de deeltjes zich verplaatsen
- de grootte van het (denkbeeldig) vlak waardoor de deeltjes zich verplaatsen
- de tijdsduur waarin diffusie plaatsvindt.

Deze grootheden zijn door Fick met elkaar in verband gebracht in de zogenaamde wet van Fick:

$$D = C \frac{(c_1 - c_2) \cdot O}{l}$$

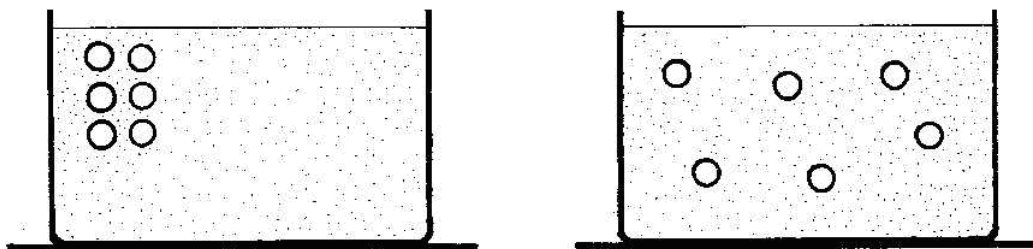
waarin:

- D = de hoeveelheid per tijdseenheid verplaatste stof  
( $c_1 - c_2$ ) = het verschil tussen de concentraties van de diffunderende deeltjes aan het begin en aan het einde van de diffusieweg  
O = het oppervlak van het denkbeeldige vlak waardoor de diffusie optreedt  
l = de lengte van de diffusieweg  
C = een van stof tot stof verschillende diffusieconstante waarin de volgende grootheden opgenomen zijn: de deeltjesgrootte, de viscositeit van het oplosmiddel, de temperatuur en dergelijke. Men kan deze grootheden ook ieder afzonderlijk in de formule weergeven. De formule wordt hierdoor minder overzichtelijk.

Uit deze formule blijkt dat het aantal door diffusie verplaatste deeltjes:

- recht evenredig is met het concentratieverschil
- recht evenredig is met het oppervlak
- omgekeerd evenredig is met de lengte van de diffusieweg
- afhankelijk is van de diffusieconstante.

Het diffusieproces heeft tot gevolg dat concentratieverschillen van een stof binnen één ruimte (al of niet gevuld met andere moleculen) spontaan worden genivelleerd. De stof verdeelt zich gelijkmatig. Diffusie leidt dus tot een homogene verdeling van de moleculen van een gas- of vloeistofmengsel, of tot een homogene verdeling van de opgeloste moleculen in een oplossing (zie figuur 2).



Figuur 2. Diffusie, De diffusie van moleculen leidt na enige tijd tot een homogene verdeling van deze moleculen over de ruimte (rechts), zodat concentratieverschillen (links) verdwijnen. De cirkels stellen de moleculen van de opgeloste stof voor.

In organismen is vaak diffusie van een groot aantal deeltjes noodzakelijk, bijvoorbeeld bij zware spierarbeid. Hiertoe zijn de daarbij betrokken organen zodanig gebouwd dat:

- $c_1 - c_2$  (concentratieverschil) zo groot mogelijk is
- O (het oppervlak) zo groot mogelijk is
- l (diffusieweg) zo kort mogelijk is.



## T-2 Diffusie-experimenten

### a. Diffusie van $\text{KMnO}_4$ (Kaliumpermanganaat)

Kaliumpermanganaat lost goed op in water. Het  $\text{MnO}_4^-$ -ion heeft een paarse kleur.

#### Benodigheden:

- statief of reageerbuizenrek.
- reageerbuis of glazen buis met een lengte van ongeveer een halve meter. Deze buis moet aan één zijde zijn dichtgesmolten.
- millimeterpapier.
- kaliumpermanganaatkristallen ( $\text{KMnO}_4$ ).

#### Uitvoering:

- neem een droge reageerbuis of een langere aan één zijde afgesloten glazen buis. Bevestig met doorzichtig plakband een lange smalle strook millimeter-papier tegen de buis zodat er een eenvoudige maatcilinder ontstaat.
- laat een aantal kristallen kaliumpermanganaat op de bodem vallen. Let op dat er geen kaliumpermanganaatstofjes aan de wand blijven hangen.
- houd de buis schuin en laat er heel voorzichtig tegen de zijkant water in lopen. Pas op voor wervelingen.
- zet de gevulde buis verticaal (in een statief). Vermijd plaatselijke verwarming, omdat hierdoor convectiestromingen kunnen optreden.

#### Opdracht:

1. Lees de ligging van het grensvlak tussen de kaliumpermanganaat-oplossing en het water af. Noteer deze waarneming en de tijd. Herhaal deze waarneming regelmatig en zet het resultaat grafisch uit tegen de tijd.

### c. Diffusie van $\text{CuSO}_4$ (kopersulfaat)

Kopersulfaat is in water oplosbaar. Het  $\text{Cu}^{2+}$ -ion heeft in water een lichtblauwe kleur. Het  $\text{Cu}^{2+}$ -ion heeft in water waaraan wat ammonia is toegevoegd een diepblauwe kleur. In water zit er om het  $\text{Cu}^{2+}$ -ion een watermantel, die met het ion mee diffundeert:  $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_n^{2+}$ . In water met ammonia zit er om de koperionen een ammoniakmantel, die eveneens mee diffundeert:  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ . Uit dit experiment zal blijken of deze twee typen ionen een verschillende diffusiesnelheid hebben. Het grootste ion diffundeert het langzaamst. De ionen kunnen ongeveer één jaar doen over een afstand van 150 cm!

#### Benodigheden:

- statief of reageerbuizenrek.
- 2 reageerbuizen of glazen buizen (zie onder a).
- millimeterpapier.
- kleine kopersulfaatkristallen ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ).
- geconcentreerde ammonia = 25% ammoniumhydroxide = 15N  $\text{NH}_4\text{OH}$ .

#### Uitvoering:

- maak twee 'maatcilinders' zoals aangegeven onder a.
- breng in beide droge cilinders enkele kopersulfaatkristallen (volume ca.  $1 \text{ cm}^3$ ).
- vul, zoals onder a beschreven is, de ene cilinder met water en de andere met water waaraan enkele druppels ammonia zijn toegevoegd.
- zet beide buizen trillingsvrij verticaal naast elkaar.

**Opdracht:**

2. Lees de ligging van het grensvlak tussen de koperzoutoplossingen en het water af. Noteer waarneming en tijd. Herhaal de waarneming regelmatig en zet het resultaat grafisch uit tegen de tijd.

**c. Diffusie van  $\text{CuSO}_4$  in gelatine**

Diffusie in gelatine gaat ongeveer even snel als diffusie in water. Hiervan wordt in dit experiment gebruik gemaakt. Met behulp van een halve bol bestaande uit gelatine en kopersulfaat opgelost in water (oplossing x) en een andere halve bol bestaande uit alleen gelatine opgelost in water (oplossing y) kan men snel de diffusie van het kopersulfaat aantonen (figuur 3).

**Benodigheden:**

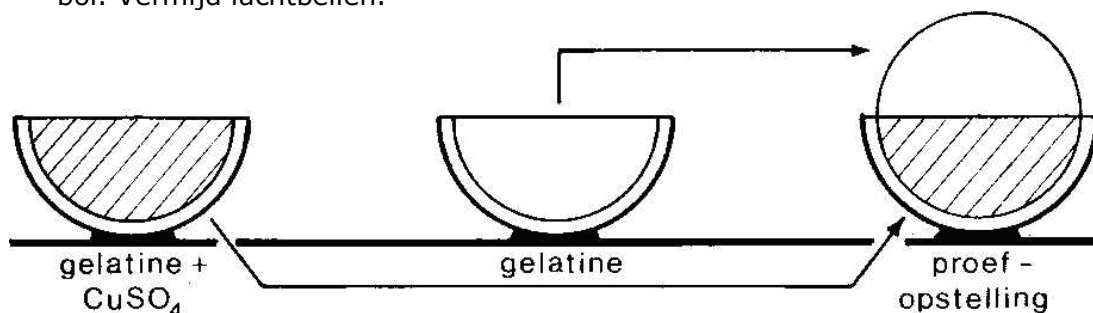
- 2 even grote gietvormen met een inhoud van 50-100 ml, waarvoor gloeischaaftjes, uitdampschaaftjes, vijzels, enz. gebruikt kunnen worden.
- 10 gram gelatine in poedervorm.
- 5 gram kopersulfaat ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ).
- waterbad van 60 °C.

**Vorbereiding:**

- maak volgens onderstaande recepten zowel van oplossing x als van oplossing y zoveel als nodig is om één gietvorm geheel te vullen.
- oplossing x: laat 5 gram gelatine een halve dag zwellen in 50 ml water. Los 5 gram kopersulfaat op in 50 ml water. Voeg de kopersulfaatoplossing bij de gezwollen gelatine. Verwarm het mengsel voorzichtig totdat de gelatine is opgelost. Vermijd koken.
- oplossing y: laat 5 gram gelatine een halve dag zwellen in 100 ml water. Verwarm het mengsel voorzichtig totdat de gelatine is opgelost en vermijd koken.
- giet oplossing x warm in de ene gietvorm en oplossing y warm in de andere gietvorm en laat ze hierin afkoelen.

**Uitvoering:**

- neem de blanke halve bol uit de gietvorm; de gelatinebol kan losgemaakt worden van de wand van de gietvorm door de gietvorm even in water van ongeveer 60 °C te plaatsen.
- plaats de blanke halve bol met de vlakke zijde op de vlakke zijde van de blauwe halve bol. Vermijd luchtballen.



Figuur 3. Diffusie. Proefopstelling voor de diffusie van koperzulfat in gelatine.

**Opdracht en vragen:**

3. Neem om het kwartier waar hoever de diffusie is voortgeschreden.
4. Welke variabelen uit de wet van Fick zijn hier gunstig voor het snelle verloop van de diffusie?
5. Bedenk variaties, waarmee de invloed van de variabelen uit de wet van Fick op de diffusiesnelheid gedemonstreerd kunnen worden.

#### **d. Diffusie van OH<sup>-</sup> -ionen in gelatine met fenolftaleïne als indicator**

##### **Benodigdheden:**

- reageerbuizen of cultuurbuizen.
- gelatine in poedervorm of als blaadjes.
- 1 % fenolftaleïne-oplossing in 50-70% ethanol.
- NaOH.
- jampotten, bekersglazen of helften van petrischalen.
- plastic liniaaltjes, lengte ongeveer 20 cm.
- wasknijpers.

##### **Vorbereiding:**

- laat 6 gram gelatine een halve dag zwellen in 125 ml water.
- verwarm het mengsel voorzichtig totdat de gelatine is opgelost. Vermijd koken.
- laat afkoelen tot ongeveer 50° C en voeg 2 ml fenolftaleïne-oplossing toe. Meng goed. Met dit mengsel kunnen 5 reageerbuizen worden gevuld.
- vul de reageerbuizen geheel (met een 'kop' erop) met deze oplossing en laat ze rechtop staand afkoelen tot de gelatine stijf is geworden.
- indien de buizen niet onmiddellijk worden gebruikt dekt men ze af met aluminiumfolie om uitdrogen tegen te gaan.

##### **Uitvoering:**

- los 10 gram NaOH op in 100 ml water. Contact van NaOH of NaOH-oplossing met huid of kleding vermijden. Zo dit toch optreedt direct grondig af- respectievelijk uitspoelen.
- giet deze 10% NaOH-oplossing in een jampot (of ander dergelijk glaswerk).
- klem een doorzichtig plastic liniaaltje (minstens 15 cm lang en liefst 1 cm breed) tezamen met de gevulde reageerbuis in een wasknijper. De wasknijper komt ongeveer in het midden van de reageerbuis. Het liniaaltje moet zo tegen de reageerbuis geklemd worden dat het beginpunt van de meetschaal gelijk ligt met de open bovenkant van de reageerbuis, respectievelijk met het bovenzvlak van de gelatine indien de buis niet geheel gevuld is.
- plaats nu de reageerbuis (met de open zijde onder) in de jampot. Zorg ervoor door schuin inbrengen dat er geen luchtbel ontstaat onder tegen de gelatine aan. Schuif de reageerbuis + meetlat zover naar beneden, dat ze ± 1 cm onder het vloeistofoppervlak komt. De wasknijper blijft op de bovenrand van de jampot steunen. Zet de wasknijper met plastic plakband vast aan de jampot. Wil men de buizen op een andere manier rechtop houden dan kan dit door gaas over de opening van de pot te vouwen.
- giet nu een laagje slaolie op de NaOH-oplossing om verdamping van water en de invloed van kooldioxide uit de lucht tegen te gaan.  
De reageerbuis mag nu niet meer uit de vloeistof gehaald worden!

Vanaf het moment van inzetten (= tijdstip 0) wordt met behulp van het meetlatje op vaste tijdstippen afgelezen (in mm nauwkeurig) hoever de diffusie van de OH<sup>-</sup>-ionen in de gelatine zijn voortgeschreden. Zet de proef op een zodanig tijdstip in, dat een week lang iedere dag (ook zaterdag en zondag!) op hetzelfde tijdstip kan worden afgelezen. De eerste dag moet bovendien 1 uur, 2 uur en 8 uur na het inzetten worden afgelezen. Uiteraard kan men op nog meer tijdstippen aflezen.

##### **Opdracht:**

**6.** Zet in een tabel naast elkaar:

- a. de nauwkeurige tijd in uren, die bij het aflezen is verstreken, gerekend vanaf het inzetten van de proef.
- b. de hoogte van het diffusiefront gerekend vanaf het begin van de buis, respectievelijk het vrije gelatineoppervlak.

7. Maak nu met behulp van de gegevens uit de tabel een grafiek. Neem hiervoor een vel grafiekpapier van tenminste 16 X 20 cm. Neem de langste zijde als X-as en zet daarop de tijd af (10 uur = 1 cm op het grafiekpapier); de kortste zijde is de Y-as en daarop wordt de stijghoogte aangegeven (1 cm stijging = 1 cm op het grafiekpapier).

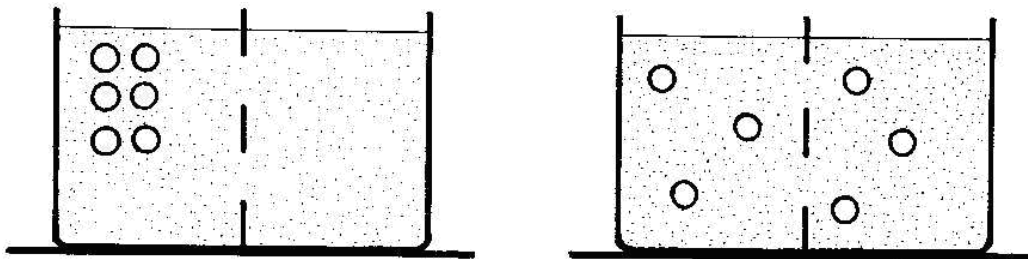
### T-3 Osmose, turgor en plasmolyse

Zoals reeds eerder werd uiteengezet bewegen in iedere vloeistof en in ieder gas de miljarden moleculen onophoudelijk door elkaar heen. Deze bewegingen zijn ongeordend (er is geen voorkeursrichting) (figuur 1) en de gemiddelde snelheid van de moleculen hangt onder andere af van de afmetingen der moleculen, de temperatuur en de concentratie. Met deze moleculaire beweging, ook genoemd warmtebeweging, verklaart men onder meer verschijnselen als verdamping, condensatie, koken, bevriezen, oplossen, gasdruk en Brownse beweging. In de biologie ontdekte men dat de warmtebeweging bij veel fysiologische processen een voorname rol speelt. Om dit te begrijpen is behalve kennis van het diffusieproces inzicht in de volgende processen vereist:

#### I. Diffusie door een poreuze wand

##### a. De wand is permeabel.

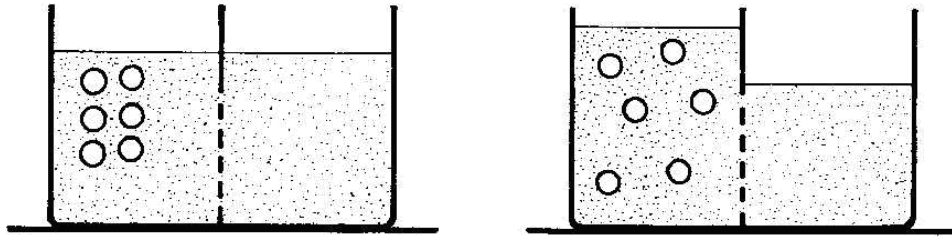
In de meeste gevallen zijn de moleculen van de opgeloste stof aanzienlijk groter dan die van het oplosmiddel. Dit is onder meer het geval bij een oplossing van glucose in water.



Figuur 4. Diffusie. De aanwezigheid van een permeabele wand verhindert de diffusie niet: de moleculen worden homogeen verdeeld. De cirkels stellen de moleculen van de opgeloste stof voor.

Figuur 4 toont een glazen vat dat door een poreuze scheidingswand in twee compartimenten is verdeeld. De gehele bak is gevuld met water waaraan in het linker compartiment wat glucose wordt toegevoegd. De diameter van de poriën in de scheidingswand is zo groot dat zowel de kleine moleculen van het oplosmiddel (het water) als de grote moleculen van de opgeloste stof (de glucose) ongehinderd door de wand heen kunnen. Een dergelijke wand heet (vol-)permeabel.

Zoals te verwachten is zal ook nu ongehinderde diffusie optreden en hetzelfde proces plaats vinden als in figuur 2 is afgebeeld. De glucose bevindt zich na enige tijd homogeen verspreid in beide compartimenten. Alle moleculen in de bak blijven natuurlijk in beweging. Er zullen nu door een zeker stukje wand (bijvoorbeeld 1 mm<sup>2</sup>) per tijdseenheid (bijvoorbeeld 1 seconde) evenveel watermoleculen van links naar rechts bewegen als van rechts naar links. Hetzelfde geldt voor de glucosemoleculen.



Figuur 5. Osmose. De aanwezigheid van een semi-permeabele wand heeft tot gevolg dat het oplosmiddel wel de wand passeert. Er gaan per tijdseenheid meer moleculen oplosmiddel naar het compartiment met de hoogste concentratie opgeloste stof dan andersom: het vloeistofniveau van de hoogste concentratie opgeloste stof zal stijgen. De cirkels stellen de moleculen van de opgeloste stof voor.

### b. De wand is semi-permeabel.

In figuur 5 is de begintoestand (links) hetzelfde als in figuur 4. Het verschil echter is, dat de scheidingswand tussen de compartimenten uitsluitend poriën bevat met een zo kleine diameter dat alleen de moleculen van het oplosmiddel er doorheen kunnen.

De moleculen van de opgeloste stof kunnen dit niet. Zij zijn te groot. Een dergelijke wand noemt men semi-permeabel (= halfdoorlatend). (Men dient deze Nederlandse vertaling niet letterlijk op te vatten. Het is zeker niet zo dat het membraan voor de helft van het aantal moleculen oplosmiddel en voor de helft van het aantal opgeloste moleculen doorlatend is.)

Na enige tijd kan men aan de bak het volgende waarnemen:

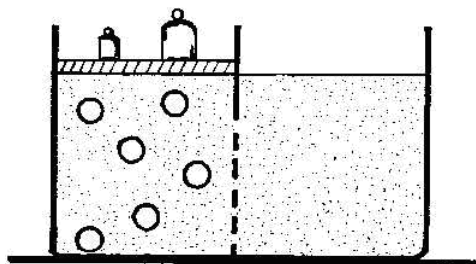
- de glucose blijft in het linker compartiment (dit was te verwachten).
- het vloeistofniveau in het linker compartiment is iets gestegen, het niveau in het rechter compartiment is iets gedaald. (Deze daling respectievelijk stijging is duidelijker waarneembaar wanneer beide meniscussen zich in een nauwe buis bevinden.) (Figuur 5 en 7).

Voor de verklaring van deze laatste waarneming moeten we bedenken, dat een zeker volume (bijvoorbeeld  $1 \text{ mm}^3$ ) van het linker compartiment minder water bevat dan een zelfde volume van het rechter compartiment. Immers, in iedere oplossing neemt de erin opgeloste stof een deel van de ruimte in. Dit betekent dat, hoewel er zich zeker een aantal watermoleculen van links naar rechts door de wand zullen bewegen, er meer watermoleculen per tijdseenheid van rechts naar links de wand passeren en de glucoseoplossing binnendringen. Diffusie vindt dus ook plaats door een semi-permeabele wand, waarbij echter alleen het oplosmiddel zich verplaatst. Dit selectieve proces heet osmose.

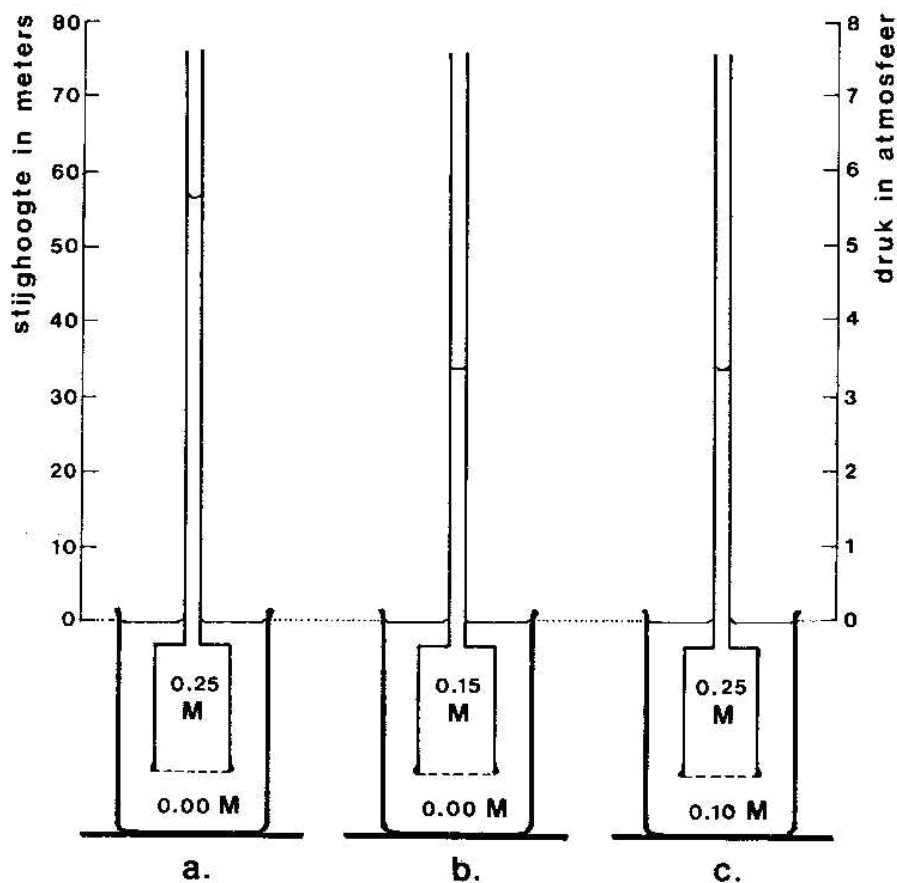
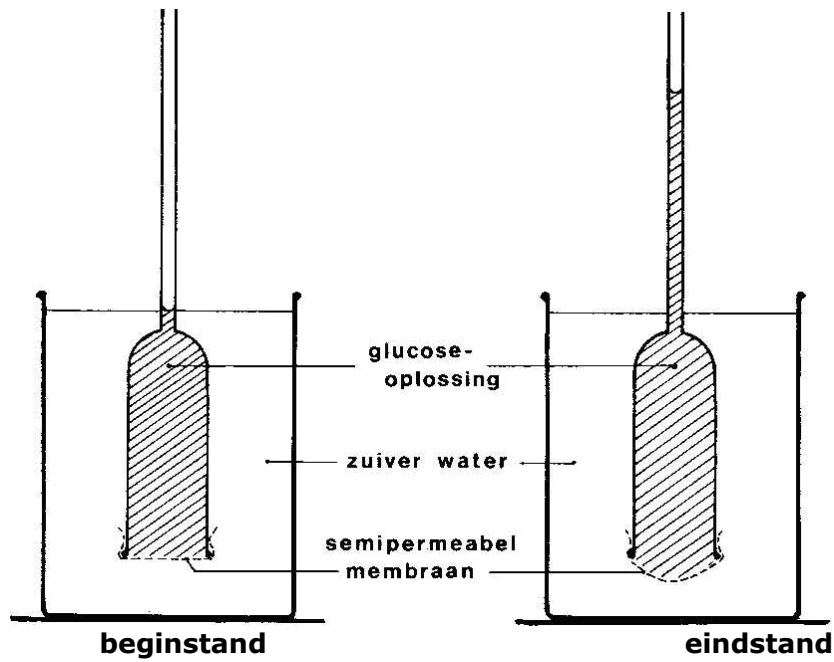
Osmose vindt plaats, wanneer twee oplossingen met verschillende concentraties opgeloste stof van elkaar gescheiden zijn door een semi-permeabele wand.

Er treedt dan een verplaatsing van het oplosmiddel op naar het compartiment met de hoogste concentratie opgeloste stof.

Het binnenstromen van het oplosmiddel kan worden tegengegaan door op de vloeistof in het compartiment met de hoogste concentratie opgeloste stof een druk uit te oefenen. Bijvoorbeeld oefent men met behulp van gewichten op een zuiger een kracht uit op het bovenoppervlak van de vloeistof (zie figuur 6).



Figuur 6. Osmose. Bepaling van de osmotische druk. Bij gelijkblijvende niveaus in het linker en rechter compartiment gaan er evenveel moleculen van het oplosmiddel van linker naar rechter compartiment als andersom. De cirkels stellen de moleculen van de opgeloste stof voor.



Figuur 7. Osmometer.

Boven: De druk van de waterkolom heeft tot gevolg dat er evenveel moleculen oplosmiddel door de semi-permeabele wand naar buiten gaan als er door osmose naar binnen komen.

Onder: De stijghoogte in de buis is evenredig met het concentratieverschil binnen en buiten de semi-permeabele wand. 0,00 M = gedestilleerd water; 0,1 - 0,15 - 0,25 M = suikeroplossing (n. Alberda e.a. 1966).

De kracht waarbij de vloeistof spiegel niet meer stijgt of daalt noemt men — omgerekend per  $\text{cm}^2$  vloeistof oppervlak — de osmotische druk van de oplossing (kracht per  $\text{cm}^2$  is druk). Dit is de kracht waarbij er per tijdseenheid precies evenveel moleculen oplosmiddel uit het compartiment geperst worden als er door de osmose in stromen.

N.B. Het begrip 'osmotische druk' wordt in de literatuur nogal uiteenlopend gedefinieerd. Sommige auteurs bedoelen ermee de grotere druk die de in volume toenemende oplossing op de semi-permeabele wand uitoefent. Andere auteurs verstaan er onder de kracht waarmee het oplosmiddel de oplossing binnendringt, of vervangen het begrip door de 'osmotische zuigkracht'. De door ons aan het begrip gegeven inhoud is evenwel de meest gangbare.

Men kan het verschijnsel osmose gemakkelijk demonstreren met een osmometer (zie figuur 7). De stijging van de oplossing in de buis gaat zo lang door tot de (hydrostatische) druk van de waterzuil op de semi-permeabele wand het verder naar binnen diffunderen van water verhindert. Uit de dan te meten stijghoogte valt opnieuw de osmotische druk van de oplossing af te leiden. Wanneer een oplossing niet van haar oplosmiddel is gescheiden door middel van een semi-permeabele wand, doch zich bijvoorbeeld in een fles bevindt, is het zinloos om over 'osmotische druk' te spreken. De osmotische vermogens van een dergelijke oplossing geeft men dan aan met het begrip 'osmotische waarde'. Dit is de osmotische druk die deze oplossing zou bezitten, indien zij door een semi-permeabele wand van haar zuivere oplosmiddel zou zijn gescheiden. Het is als het ware de maximale osmotische druk die aan een bepaalde oplossing gemeten kan worden.

De osmotische waarde wordt meestal uitgedrukt in atmosferen en kan bepaald worden:

1. proefondervindelijk, bijvoorbeeld met behulp van een osmometer.
2. theoretisch, door middel van een berekening. Het blijkt namelijk dat de osmotische waarde van een oplossing recht evenredig is met de concentratie en de absolute temperatuur (= temperatuur in graden Keivin) van de oplossing (zie tabel 1).

Het kan voorkomen dat er zich aan beide zijden van de semi-permeabele wand oplossingen bevinden, waarvan de ene echter geconcentreerder is dan de andere. In zo'n geval treedt eveneens osmose op. Het oplosmiddel stroomt nu naar de oplossing met de hoogste concentratie. Deze oplossing bezit nu een lagere osmotische druk dan men op grond van haar osmotische waarde zou verwachten. De osmotische druk is dan het verschil tussen de osmotische waarde van de oplossing met de hoogste concentratie en de osmotische waarde van de oplossing met de laagste concentratie.

De oplossing met de hoogste osmotische waarde heet hypertoonisch, die met de lagere hypotoonisch. Twee oplossingen met een gelijke osmotische waarde zijn isotoonisch.

N.B. Het aantal en niet de aard van de opgeloste deeltjes is van belang voor de osmotische waarde van een oplossing. Dit blijkt bijvoorbeeld bij de meeste zouten, waar één molecuul, zodra het in oplossing gaat, uiteen valt in ionen, die onafhankelijk van elkaar bewegen in de oplossing. De osmotische waarde van zoutoplossingen (bijvoorbeeld  $\text{CuSO}_4$ ) is — althans bij een lage concentratie — inderdaad ongeveer twee maal zo hoog als de osmotische waarde van een even geconcentreerde oplossing van een niet-zout (bijvoorbeeld glucose), omdat  $\text{CuSO}_4$  dissocieert in  $\text{Cu}^{2+} + \text{SO}_4^{2-}$  wanneer het in oplossing wordt gebracht.

**Tabel 1**

Opgeloste stof	gr/100 gr H <sub>2</sub> O	mol/liter	Osmotische waarde in ATM
GLUCOSE	0,5	0,028	0,6
	1	0,056	1,3
	2	0,112	2,7
	3	0,168	4,2
	4	0,225	5,6
	5	0,282	7,0
	6	0,340	8,6
	7	0,398	10,2
	8	0,457	11,7
	9	0,516	13,3
	10	0,576	15,0
SACCHAROSE	0,5	0,015	0,3
	1	0,029	0,6
	2	0,059	1,4
	3	0,089	2,2
	4	0,118	2,9
	5	0,149	3,7
	6	0,179	4,5
	7	0,210	5,3
	8	0,241	6,2
	9	0,272	7,1
	10	0,303	7,8
KALIUMCHLORIDE	0,5	0,067	2,9
	1	0,135	5,9
	2	0,271	11,7
	3	0,409	17,8
	4	0,549	23,9
NATRIUMCHLORIDE	0,5	0,086	3,8
	1	0,172	7,6
	2	0,346	15,2
	3	0,523	23,1
	4	0,703	31,1
NATRIUMCARBONAAT	0,5	0,060	2,7
	1	0,120	5,4
	2	0,241	10,7
	3	0,364	15,7
	4	0,489	20,4
ZEEZOUT	0,5		3,5
	1		6,8
	2		13,8
	3		20,8
	4		28,0
	5		34,6



## II. Osmose rond biologische membranen

De meeste in en rond organismen voorkomende vloeistoffen zijn waterige oplossingen. Er blijkt een groot aantal biologische membranen te bestaan die in levende toestand ten aanzien van waterige oplossingen semi-permeabel zijn, met als gevolg een veelvuldig voorkomen van osmose in en rond organismen. Van belang is hierbij het volgende:

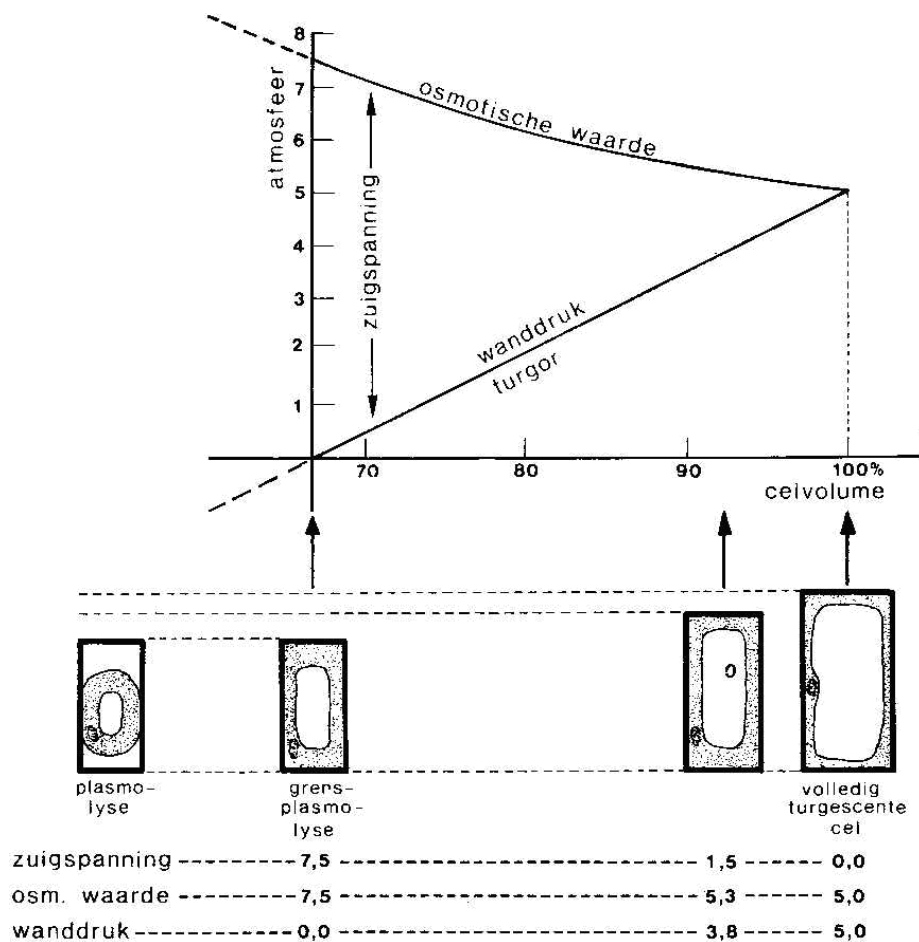
- a. In tegenstelling tot het hierboven beschreven zuiver fysische osmotische model, is de semi-permeabiliteit van levende membranen niet altijd simpelweg toe te schrijven aan een zeefwerking. Andere oorzaken kunnen zijn:
  1. de opgeloste deeltjes zijn elektrisch geladen (ionen) en het qua poriewijdte permeabele membraan eveneens. De lading van het membraan beïnvloedt de mogelijkheid van de ionen om het membraan te passeren. Het wordt hierdoor semi-permeabel.
  2. de opgeloste deeltjes zijn slecht oplosbaar in het materiaal van het membraan, met als gevolg een zeer langzame of in het geheel geen passage door het membraan.
- b. De semi-permeabiliteit van levende membranen is in veel gevallen relatief, doordat bepaalde opgeloste moleculen vaak in zeer geringe mate toch doorgelaten worden. Dit leidt tot osmotische effecten van tijdelijke aard.

## III. De levende cel als osmotisch systeem

Op grond van de volgende feiten treden vooral bij plantencellen spectaculaire osmotische verschijnselen op (zie Biothema 1, pagina 62 e.v., figuur 33 en 34).

- a. Van de verschillende grensvlakken in en rondom een plantaardige cel zijn er een aantal permeabel (onder andere de kernmembraan, de celwand inclusief de stippels) overwegend semi-permeabel zijn:
  1. de tonoplast: de grenslaag van het cytoplasma met de vacuole. Dit membraan verhindert een vrije uitwisseling van deeltjes tussen de vacuole en het cytoplasma.
  2. het plasmalemma: de grenslaag van het cytoplasma gelegen tegen de celwand. Het is voor bepaalde ionen permeabel en laat andere ionen niet door. Voor oplossingen, waarin meerdere soorten ionen aanwezig zijn, is het plasmalemma daarom meestal semi-permeabel.
- b. De wortelharen van een plant zijn omgeven door een fijne waterfilm die een zeer lage (bodem-)zoutconcentratie bezit, terwijl ook de andere cellen in het inwendige van de plant door een waterfilm met een lage osmotische waarde zijn omgeven (Biothema 2, figuur 1).
- c. Het vacuolevocht is een waterige oplossing van onder andere suikers, zouten, kleurstoffen, organische zuren en looistoffen met een gezamenlijke concentratie die duizenden malen groter kan zijn dan de concentratie van de opgeloste stoffen in de waterfilm buiten de cellen.

Het resultaat van deze gegevens is dat het vacuolevocht een 'netto' osmotische waarde bezit van 5-7 atmosfeer ten opzichte van het intercellulaire medium en krachtig water zal aanzuigen. Dit noemt men de zuigspanning. Dit opgenomen water verlaagt de osmotische waarde van de cel enigszins, terwijl het volume van de cel toeneemt. Het gevolg is dat het cytoplasma een druk op de celwand gaat uitoefenen. Deze druk heet turgordruk. De zuigspanning is dus het verschil tussen de osmotische waarde en de turgordruk. De elasticiteit van de celwand laat een zekere uitrekking toe, maar veroorzaakt tegelijkertijd een druk tegen het cytoplasma. Deze druk heet wanddruk en is des te groter naarmate de celwand verder is uitgerekt (figuur 8).



Figuur 8. Het verband tussen celvolume, zuigspanning, osmotische waarde, wanddruk en turgordruk. Bij een volledig turgescente cel is de zuigspanning (Z) gelijk aan het verschil tussen osmotische waarde (O) en wanddruk (W).  $Z = O - W$ . (n. Alberda e.a. 1966).

Het einde van de celvergroting treedt op bij het bereiken van een evenwichtstoestand. De turgordruk van de cel is dan even groot als de wanddruk. Dit wil zeggen: per tijdseenheid worden er uit de onder spanning staande cel evenveel watermoleculen geperst als er worden aangezogen. De zuigspanning is op dit moment tot nul gereduceerd. De strak gespannen en een zekere stevigheid bezittende cel verkeert nu in turgor, of, zoals men ook zegt, zij is volledig turgescient. Door het bezit van uitsluitend een celmembraan en het als gevolg daarvan ontbreken van voldoende inwendige sterkte, geven dierlijke cellen veel minder aanleiding tot genoemde osmotische verschijnselen.

#### IV. Verwelken. Plasmolyse

##### A. Verwelken:

Alle niet-verhoute plantedelen ontleen hun stevigheid grotendeels aan de turgescentie van hun cellen. Dat deze stevigheid afhankelijk is van de waterhuishouding van de plant blijkt uit het verwelken van afgeplukte bloemen en bladeren. De watermoleculen verdampen in dit geval door de voor hen permeabele membranen, terwijl de plant niet bij machte is het verlies aan te vullen.

##### B. Plasmolyse:

Omgeeft men een stukje turgescient plantaardig weefsel met een hypertoonische oplossing, dan gaat er water uit de cellen de oplossing in. In iedere cel wordt de

vacuole kleiner, de turgordruk gaat afnemen, de elasticiteit van de celwand brengt de gehele cel tot een kleiner volume terug. Gaandeweg daalt hierbij de wanddruk en wordt nul. Op dat moment heeft de celwand zijn minimale afmetingen bereikt (de gehele cel zijn minimale volume) en is niet meer uitgerekt. Bij voortgaande verkleining van de vacuole blijft het cytoplasma direct de vacuole omgeven en laat los van de celwand. Deze toestand heet plasmolyse en is microscopisch waarneembaar (figuur 8).

Als in een weefsel circa 50% van de cellen een begin van plasmolyse vertoont spreekt men van grensplasmolyse. De oplossing die grensplasmolyse veroorzaakt bezit de gemiddelde osmotische waarde van de weefselcellen.

Brengt men een geplasmolyseerde cel na een korte tijd (minder dan ongeveer één uur) terug in zuiver water, dan treedt deplasmolyse op en herstelt zich de normale toestand.

De cel blijft dan in leven. Bij langdurige plasmolyse is door het watergebrek het cytoplasma klaarblijkelijk irreversibel (onomkeerbaar) beschadigd en sterft de cel.

Wanneer een cel zwak plasmolyseert met een juist hypertoonische oplossing, treedt er na enige tijd spontaan deplasmolyse op (zie IIb).

Hoewel plasmolyse in principe aan iedere plantaardige cel gedemonstreerd kan worden, gebruikt men bij voorkeur die weefsels waarbij de vacuolen door anthocyaan gekleurd zijn (epidermis Rhoen, bladhaar Gynura, opperhuid rode ui) of waarbij het cytoplasma veel plastiden bevat (blad waterpest met chloroplasten, opperhuid bloemkelk Oost-Indische kers met chromoplasten).

## T-4 Osmose-experimenten

### A. De chemische tuin

#### a. Eenvoudige uitvoering

##### Benodigdheden:

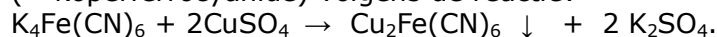
- statief of reageerbuizenrek.
- reageerbuis.
- 25 ml 5% kopersulfaatoplossing ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ).
- enkele kleine kristallen geelbloedloogzout - kaliumhexacyanoferraat(II) ( $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ).

##### Uitvoering:

- vul een reageerbuis met 5% kopersulfaatoplossing en laat er enkele kleine kristallen kaliumhexacyanoferraat(II) (=kaliumferrocyanide) in vallen.

Het kaliumferrocyanide lost op en na korte tijd vormt zich in de contactlaag tussen beide oplossingen een semi-permeabel huidje van koper(II)hexacyanoferraat(II)

(= koperferrocyanide) volgens de reactie:



Omdat er steeds meer moleculen van het kaliumhexacyanoferraat(II)kristal in oplossing gaan, stijgt de concentratie en daarmee de osmotische waarde van de vloeistof binnen het membraan. De watermoleculen kunnen ongehinderd door het membraan.

Er gaan meer watermoleculen van buiten naar binnen dan van binnen naar buiten, waardoor de druk van de oplossing binnen groter zal worden dan de druk buiten. Door deze hogere osmotische druk barst het tere membraan, de kaliumhexacyanoferraat(II) oplossing stroomt door de opening naar buiten, maar vormt onmiddellijk een nieuw semi-permeabel membraan, waarna de geschiedenis zich herhaalt.

## b. Ingewikkelde uitvoering

### Benodigheden:

- bekeerglas inhoud 400 ml, breed en laag model.
- 300 ml waterglas = natriummetasilicaat = natronwaterglas = ca. 35%  $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$
- enkele kristallen kopersulfaat ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )  
kobaltsulfaat ( $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )  
nikkelsulfaat ( $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )  
tinsulfaat ( $\text{SnSO}_4$ )  
mangaansulfaat ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )  
loodnitraat ( $\text{Pb}\{\text{NO}_3\}_2$ )  
ijzer(III)chloride ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )

### Uitvoering:

- vul het bekeerglas gedeeltelijk met waterglas.
- voeg kristallen van genoemde stoffen toe.

## B. Een ei als osmometer

Dit experiment demonstreert osmose, waarbij gebruik gemaakt wordt van de semi-permeabiliteit van het eiwitvlies van een kippenei (figuur 10).

### Benodigheden:

- een kippenei.
- een dikwandige glazen buis met een inwendige diameter van 3 mm en een lengte van ongeveer 50 cm.
- sneldrogende lijm (bisonkit).
- een bekeerglas, inhoud 250 ml.
- statief met klemmen.

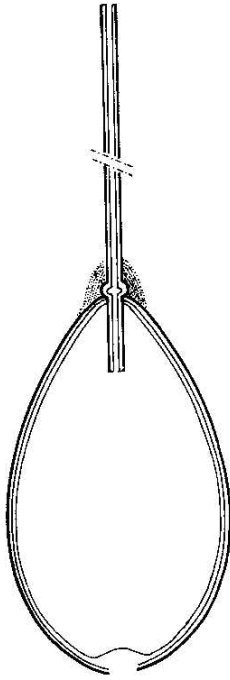
### Voorbereiding:

- plaats het kippenei gedurende 1 à 2 dagen met de punt naar beneden in een eierrekje, zodat de luchtkamer zich volledig naar de bolle pool verplaatst.
- voorzie de glazen buis op 1 cm van de ene opening van een stuikrand, door de buis op die plaats in een vlam goed te verhitten. Als de buis zacht is duwt men deze in de lengterichting in elkaar: op de zachte plaats ontstaat een kraag of stuikrand (figuur 9). Laat afkoelen en blaas er door om na te gaan of de buis nog open is. N.B. Men kan het 1 cm stuk ook langer maken, zodat dit in de dooier gestoken wordt.



Figuur 9. Nauwe buis voorzien van een stuikrand. Lengte ongeveer 30 cm.

- tik de kalkschaal aan de bolle pool van het (ongekookt) ei zachtjes stuk, zodat er over een gebied van enkele mm kleine breukjes ontstaan.
- verwijder met een stompe naald zeer voorzichtig de stukjes kalkschaal met het daaronder liggende schaalvlies zonder het eiwitvlies te beschadigen. N.B. Aan deze kant ligt de luchtkamer.
- tik of boor de kalkschaal aan de andere pool stuk over een gebied dat iets groter is dan de diameter van de buis en verwijder daar de kalkschaal en de vliezen geheel. Dit wordt de bovenzijde van de osmometer.



Figuur 10. Osmose. Ei, aan de spitse pool voorzien van een nauwe buis met stuikrand, bevestigd met bisonkit. Aan de bolle pool van het ei zijn bij de luchtkamer kalkschaal en schaalvlies over een gebied van enkele mm. verwijderd.

- voorzie de stuikrand van de buis aan de onderzijde — bij het korte stuk — van de sneldrogende lijm.
- steek de buis (het 1 cm stuk!) in het gat aan de spitse kant van het ei en voorzie de gehele stuikrand zo nodig nogmaals van sneldrogende lijm opdat er een goede verbinding ontstaat tussen kalkschaal en buis (zie figuur 10). Laat rechtopstaand drogen in een bekersglas.

#### **Uitvoering:**

- hang het aan de buis bevestigde ei in een bekersglas met water, zodat het hele ei onder water is; het ei mag niet op de bodem rusten.
- meet op bepaalde tijden de stijghoogte in het capillair.
- breng het ei eventueel voorzichtig over in verdunde zoutoplossingen en meet daarna de stijging of daling van de meniscus ten opzichte van de tijd.

#### **Opdracht:**

Maak een diagram waarin de stijghoogte wordt uitgezet tegen de tijd.

### **C. Osmose bij uitgeholde aardappels**

#### **Benodigdheden:**

- 4 grote aardappels, minimale diameter 7 cm. Het is aan te bevelen niet-bloemige aardappels te gebruiken, zoals Bintjes.
- bekersglas, inhoud 1 liter.
- schaal of bak die afgedekt kan worden met een glazen plaatje of in een plastic zak gezet kan worden.
- bietsuiker.

#### **Uitvoering:**

- schil vier grote aardappels en kook er twee zeer kort (maximaal 5 min).
- snijd aan de 'onder'- en 'boven'-kant van de aardappels een schijfje van de aardappels af zodat deze kanten vlak worden.

- hol aan de bovenzijde de aardappels uit tot er een Kom is ontstaan met een wand die ongeveer 1,5 cm dik is.
- plaats de vier aardappels nu in een bak, waarvan de wanden enkele cm hoger zijn dan de hoogte van de aardappels.
- vul de bak zo ver met water dat de waterspiegel ongeveer 1 cm onder de bovenrand van de aardappels komt te staan. Zorg ervoor dat geen water in de uithollingen komt.
- vul de holte van de eerste ongekookte aardappel tot de helft met sacharosenkristallen (bietsuiker). De holte van de tweede ongekookte aardappel wordt niet gevuld.
- vul de holte van de eerste gekookte aardappel tot de helft met sacharosenkristallen (bietsuiker). De holte van de tweede gekookte aardappel wordt niet gevuld.
- sluit de bak waarin de aardappels staan met een glazen plaatje of een plastic zak af, zodat er geen water meer kan verdampen.

### **Opdracht en vragen:**

1. Noteer regelmatig uw bevindingen (ongeveer om het uur).
2. In welke gevallen is er osmose opgetreden?
3. Welke aardappels doen dienst als blanco-proef?
4. Tot hoe hoog is het water gestegen in de gekookte aardappels?
5. Is osmose een uitsluitend aan de levende cel verbonden proces?
6. Verklaar het verschil tussen de resultaten bij de vier aardappels.

### **D. De osmotische waarde**

#### **Benodigdheden:**

- 5 grote aardappels.
- kurkboor, appelboor of fritessnijder.
- scheermesje.
- liniaal met millimeterverdeling of schuifmaat.
- suiker (sacharose).
- 5 bekerglazen, inhoud 100 ml (ook Drosophila cultuurbuizen en plastic pillendozen zijn geschikt).

#### **Vorbereiding:**

- maak vijf sacharose-oplossingen met respectievelijk concentraties van:  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{8}$ ,  $\frac{1}{16}$ ,  $\frac{1}{32}$  mol/l. Van iedere oplossing is ongeveer 50 ml nodig.

#### **Uitvoering:**

- snijd uit de aardappels met behulp van de appelboor, kurkboor of fritessnijder een aantal cilinders of staafjes van gelijke lengte (ongeveer 4 cm). Er zijn 15 cilinders nodig. Voor het op maat afsnijden gebruikt men een scherp mes (scheermesje).
- meet de lengten nauwkeurig af en noteer dit.
- vul de vijf bekerglazen voor de helft met de respectievelijke oplossingen en zet op ieder bekersglas de concentratie van de erin aanwezige suikeroplossing.
- leg in elk bekersglas drie aardappelstaafjes en laat ze daar enkele uren in liggen,
- neem de staafjes daarna uit de bekerglazen en meet ze opnieuw.
- bepaal de gemiddelde lengtetoeename of -afname van de drie staafjes per bekersglas en bereken deze als percentage van de totale lengte.

### **Opdrachten en vragen:**

7. Geef een verklaring voor de gevonden verschillen,
8. Welke oplossing is isotonisch met het celvocht van de aardappelcellen?
9. Zet de percentages van de gevonden gemiddelde lengte uit tegen de concentratie van de oplossingen. Geef ook de oorspronkelijke lengte aan.  
Lees uit de grafiek de osmotische waarde van het celvocht af.
10. Zou de osmotische waarde van de gebruikte aardappelen gelijk zijn?

N.B. De proefopstelling kan een week blijven staan. De buizen dan afdekken en koel bewaren (niet in de koelkast). Bij de lage suikerconcentraties kan een begin van schimmelvorming of rotting optreden.

Deze proef kan ook met keuzenzoutoplossingen worden uitgevoerd. De molariteit van de te gebruiken zoutoplossingen ligt dan veel lager dan die der suikeroplossingen (zie de tabel bij T-3).

## T-5 Plasmolyse en permeabiliteit

### **Benodigheden:**

- rode uien, een anthocyaanhoudende variëteit van *Allium cepa* L.
- bladeren van *Gynura aurantiaca*.
- 10% kaliumnitraat-oplossing.
- 0,01 M natriumhydroxide-oplossing.
- 0,01 M kaliumhydroxide-oplossing.
- 0,01 M ammoniumhydroxide-oplossing (ammonia) = 0,75 ml 25%  $\text{NH}_4\text{OH}$  in 100 ml aquadest.
- voorwerpglazen, dekglasjes en strookjes filtreerpapier.

### **Uitvoering:**

- verwijder het droge buitenvlies van een ui.
  - snij de ui langs de lengteas in vier parten.
  - maak de bolschubben (rokken) los.
  - snij een vierkantje, kleiner dan een dekglas (bijvoorbeeld 3x3 mm), in de gekleurde (buiten-)epidermis van een niet te ver naar buiten gelegen bolschub.
  - trek met een pincet het stukje epidermis los.
  - De randcellen van de vliesjes zijn beschadigd en worden daarom van waarneming uitgesloten.
- a. *Plasmolyse* (kan ook uitgevoerd worden met bladharen van *Gynura*).
- maak een preparaat in een druppel water op een voorwerpglas en breng er een dekglas op.
  - maak een tekening van een cel (celwand, protoplasma, vacuole en kern).
  - zuig m.b.v. filtreerpapier vervolgens een 10%  $\text{KNO}_3$ -oplossing onder het dekglas door.
  - vervolg het ontstaan van de plasmolysevormen en teken deze.
  - zuig daarna weer water onder het dekglas door tot volledige deplasmolyse is opgetreden.

*b. Permeabiliteit*

- Het anthocyaan in de vacuole verandert van kleur als de pH in de vacuole verandert.
- maak drie nieuwe preparaten van de buitenepidermis van *Allium* en leg ze respectievelijk in een druppel
  - 0,01 M NaOH-oplossing,
  - 0,01 MKOH-oplossingen
  - 0,01 M NH<sub>4</sub>OH-oplossing.
- bekijk de preparaten met tussenpozen van 10 minuten.

**Opdracht:**

Verklaar de optredende verschillen.

## T-6 De permeabiliteit van levende celwanden bij gist

De semi-permeabiliteit van levende celmembranen is vaak relatief (zie T-3, III en IV). Behalve water zijn er meer stoffen die door diffusie zo'n levend membraan kunnen passeren (= permeëren) en hierbij door de cel niet kunnen worden tegengehouden. In de regel permeëren ongeladen (elektrisch neutrale) moleculen snel door een levend membraan, geladen ionen niet of zeer langzaam. Hierbij neemt de permeatiesnelheid af naarmate de waardigheid van de ionen groter is.

In dit experiment wordt gebruik gemaakt van het feit dat

- a. de kleurstof neutraalrood ongehinderd door het cytoplasma in de vacuole van levende gistcellen permeëert. Dit gaat het snelst (zie boven) als het neutraalroodmolecuul ongeladen is, dat wil zeggen in een zwak alkalisch milieu.
- b. de kleurstof neutraalrood zelf een pH-indicator is: rood beneden pH = 6,8 en geel boven pH = 8,0. Neutraalrood kan hierom gebruikt worden als 'verklikker' voor het al of niet binnendringen van andere stoffen in een cel.  
Het celvocht van levende gistcellen reageert door de dissimilatieprocessen zwak zuur. Als men een suspensie van levende gistcellen mengt met een gele oplossing van neutraalrood, dan ziet men na enkele seconden dat de cellen rosé gekleurd zijn: het neutraalrood is in de vacuolen van de levende cellen doorgedrongen.  
Het binnendringen van stoffen in de vacuole kan passief gebeuren door diffusie, maar ook actief, dat wil zeggen met behulp van energie.

**Benodigdheden:**

- verse bakkersgist (*Saccharomyces cerevisiae* Meyen).
- reageerbuizen met kurk of rubber stop.
- reageerbuizenrek.
- maatpipetten, inhoud 5 ml.
- 2 trechters met vouwfilters.
- 0,5% natriumcarbonaatoplossing (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O).
- 0,02% neutraalroodoplossing.
- 0,01 M kaliumhydroxide-oplossing.
- 0,01 M ammoniumhydroxide-oplossing (ammonia) = 0,75 ml geconcentreerd NH<sub>4</sub>OH in 100 ml aqua dest. Geconcentreerde NH<sub>4</sub>OH bevat ongeveer 25% NH<sub>3</sub>.



**Vorbereiding:**

- suspendeer 6 gram verse bakkersgist in 100 ml aqua dest.  
De suspensie voor gebruik steeds goed schudden.
- maak de benodigde oplossingen.

**Uitvoering:***a. Permeatie van neutraalrood in dode en levende gistcellen*

- vervaardig een zwak alkalische neutraalroodoplossing door 10 ml 0,02% neutraalroodoplossing te mengen met 10 ml 0,5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-oplossing.
- breng in een reageerbuis 3 ml van de zwak alkalische neutraalroodoplossing.  
Sluit de buis af met een rubberstop of kurk, nummer de buis '1' en bewaar hem als kleurstandaard bij dit experiment.

**Vraag:**

**1.** Wat kan men, blijkens de kleur van het mengsel, concluderen omtrent de pH van de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-oplossing?

- breng 3 ml gistsuspensie in een reageerbuis 2 en eveneens 3 ml in een reageerbuis 3.
- dood de gist in één van beide buizen door deze buis 5-10 minuten in kokend water te plaatsen.
- voeg na afkoelen aan beide buizen 2 en 3 drie ml zwak alkalische neutraalroodoplossing toe en schud de buizen goed.
- vergelijk de kleur van beide buizen direct na het schudden en blijf dit doen tot u een duidelijk kleurverschil waarneemt.
- filtreer nu snel de inhoud van buis 2 en 3, bekijk de gistcellen van iedere buis onder de microscoop en vergelijk de kleurintensiteit van het filtraat uit iedere buis met de kleurintensiteit van de inhoud van buis 1.  
N.B. Een suspensie van levende gist kan een vrij groot aantal dode gistcellen bevatten!

**Vragen en opdracht:**

- 2.** Is het neutraalrood de levende gistcellen binnengedrongen? En de dode gistcellen? Waaruit blijkt dit?
- 3.** Verklaar het optredende kleurverschil tussen de buis met dode en de buis met levende gistcellen.
- 4.** Welke pH-verlagende stof produceren de meeste levende organismen?

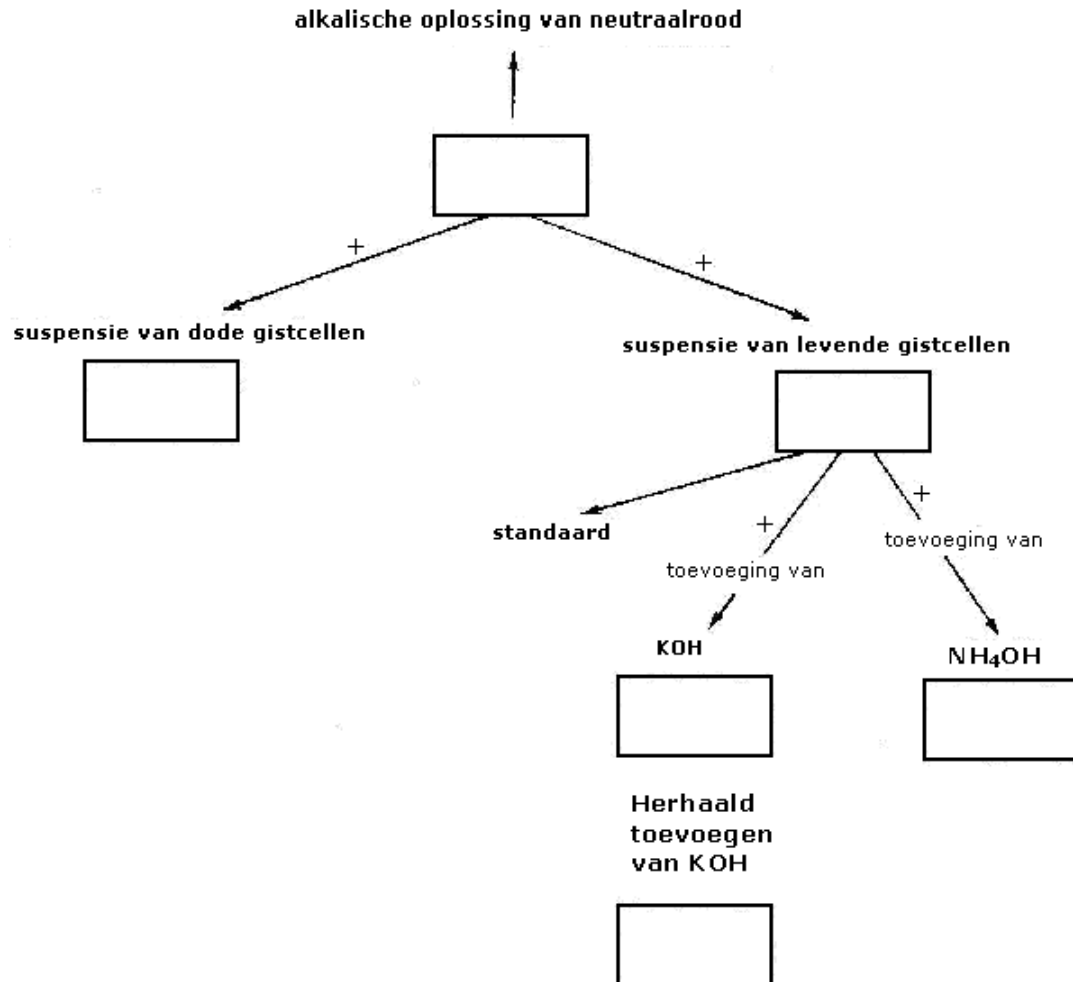
*b. Permeatie van geladen ionen en ongeladen moleculen*

Als ionen gebruikt men K<sup>+</sup> en OH<sup>-</sup>, als molecuul gebruikt men NH<sub>3</sub>. In iedere oplossing van NH<sub>4</sub>OH bevinden zich vele moleculen NH<sub>3</sub>. Deze zullen (zie boven) in de gistcellen permeëren en dan daar aan het reeds aanwezige rose neutraalrood H<sup>+</sup> onttrekken, zodat deze indicator zijn alkalische kleur krijgt.

- breng 3 ml gistsuspensie in een reageerbuis 4 en voeg hierbij 3 ml zwak alkalische neutraalroodoplossing. Schud goed en bewaar deze buis gesloten als kleurstandaard voor dit experiment.
- neem 2 andere reageerbuizen 5 en 6 en breng in ieder 3 ml gistsuspensie, alsmede in ieder 3 ml zwak alkalische neutraalroodoplossing.
- schud iedere buis goed en voeg 2 ml 0,01 M KOH-oplossing aan buis 5 en 2 ml 0,01 M NH<sub>4</sub>OH-oplossing aan buis 6 toe. Schud beide buizen nogmaals goed.

### Opdrachten:

5. Vergelijk beide buizen 5 en 6 met de standaardbuis 4 en verklaar het opgetreden kleurverschil tussen buis 5 en 6.
6. Onderzoek of KOH bij hogere concentratie wel permeëert door aan buis 5 2 ml 0,01 M KOH extra toe te voegen. Herhaal dit enkele malen.
7. Reconstrueer de permeatieverschijnselen bij gist, door in de rechthoeken van bijgaande tabel de door u waargenomen kleuren in te vullen.



### T-7 Cytoplasmastroming

Bij het transport van de ene cel naar de andere geschiedt de verplaatsing binnen de cel door middel van stromingsverschijnselen in het cytoplasma. Deze cytoplasmastroming is gevoelig voor temperatuur.

#### Benodigheden:

- waterpest (*Elodea canadensis* Rich of *E. densa* Casp.), *Vallisneria* (*Vallisneria spiralis* L.), epidermis van ui (*Allium cepa* L.), fluweelplant (*Gynura aurantiaca* DC.).  
*Opmerking:* De planten *E. densa* moeten vers zijn en onder optimale aquariumomstandigheden gegroeid hebben. In de herfst is de hoeveelheid licht onvoldoende en zijn de planten aan het afsterven.
- scheermesje, microscoop, etc.

## **Uitvoering:**

### *a. Waterpest (Elodea spec.):*

- trek met een pincet frisgroene blaadjes van een stengeltop van waterpest.
- maak van een blaadje een preparaat en zoek enkele cellen op die in de buurt van de 'middennerf' van het blaadje liggen. Door de verwonding en door het plotselinge temperatuurverschil is de cytoplasmastroming opgehouden.
- na enkele minuten — eventueel na voorzichtig verwarmen van het preparaat op de handpalm — kan men de chloroplasten door de cellen zien bewegen.

## **Opdracht:**

- 1.** Maak een tekening waarin de stromingsrichting van de chloroplasten in enkele aan elkaar grenzende cellen is aangegeven.

### *b. Vallisneria spiralis L:*

- neem een nog niet geheel uitgegroeid jong blad en gebruik daarvan het middengedeelte.
- sla het om de vinger en maak met het scheermesje een coupe van de epidermis met het daaronder liggende weefsel (mesofyl), ter dikte van ongeveer de halve bladdikte.
- leg de coupe in een waterdruppel op een objectglas met de epidermis naar beneden en de mesofylcellen naar boven. Leg er een dekglas op.
- stel de microscoop scherp op enkele langgerekte mesofylcellen.
- aan de beweging van de chloroplasten is de cytoplasmastroming te herkennen. Ook hier is de stroming gestopt door de beschadiging. Voorzichtige verwarming kan na enkele minuten de stroming versnellen.

## **Opdracht:**

- 2.** Maak een tekening waarin de stromingsrichting van de chloroplasten in enkele aan elkaar grenzende cellen is aangegeven.

### *c. Opperhuid van de ui (Allium cepa L):*

- maak een preparaat van de opperhuid van een uienrok.
- bekijk het bij grote vergroting en bij zwakke belichting, waardoor in het cytoplasma zeer kleine plastiden zichtbaar zijn. Deze plastiden worden door de cytoplasma-stroming verplaatst.
- begin met naar het cytoplasma rond de kern en in de punten van de cellen te kijken.

## **Opdracht:**

- 3.** Maak een tekening waarin de stromingsrichting van organellen in enkele aan elkaar grenzende cellen is aangegeven.

## T-8 Transportsystemen bij planten

### **A. De bouw van de wortel**

(zie ook Biothema 2 pagina 7 tot en met 14).

Het vegetatiepunt van de wortel is door een wortelmutsje omgeven dat hoofdzakelijk uit niet delende cellen bestaat. De celdelingen voor de groei van de wortel verlopen in een deel van de wortel dat hier aan grenst (de embryonale zone). Op de celdelingzone volgt zonder duidelijke begrenzing de celstrekkingzone, waar vooral de cellen die zich later tot de vaatbundel zullen ontwikkelen sterk strekken.

Op deze strekkingszone volgt het gebied met wortelharen. De wortelharen ontstaan uit speciale opperhuidcellen (rhizodermis = 'wortelhuid') welke nog geen cuticula bezitten. Bij sommige planten vormen alle opperhuidcellen in de wortelhaarzone wortelharen. Bij andere planten vormen alleen korte opperhuidcellen, de zogenaamde trichocyten, wortelharen en liggen tussen deze wortelhaarcellen andere cellen die geen wortelharen vormen. In de wortelhaarzone heeft de differentiatie van het wortelweefsel plaats (Biothema 2 figuur 1 en 2).

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. De xyleemstralen hebben aan de buitenkant kleinere vaten dan meer naar het midden. Tussen de xyleemlijsten liggen de zilverkleurige bastvaten (floem). Eveneens 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 celwanden) kan zijn. De buitenste laag van de centrale cilinder noemt men de pericykel.

Buiten de centrale cilinder ligt het schorsweefsel. Daarin zijn veel intercellulaire holten en het bestaat uit dunwandige parenchymcellen. De binnenste cellaag van de schors, de endodermis, is meestal duidelijk van de centrale cilinder te onderscheiden.

In eerste aanleg liggen in de radiale endodermis-celwanden suberine-verdikkingen; de zogenaamde bandjes van Caspary. Hierdoor worden de radiale celwanden ondoorlatend voor water. Het transport van water + opgeloste stoffen, zowel van de schors naar de centrale cilinder als van de centrale cilinder naar de schors, kan niet via de celwanden van de endodermis plaats hebben, maar slechts door de levende cytoplast. In oudere delen van de wortel worden ook de andere wanden (vooral de aan de centrale cilinder grenzende binnenwand) verdikt tot er uiteindelijk verhoude celluloselagen tegen afgezet worden. Dergelijke cellen zijn ondoorlatend. In doorsnede zien de wanden er U-vormig uit (Biothema 2 figuur 3).

Tegen de xyleemvaten of tegen het parenchym dat tussen xyleem en floem in ligt bevat de endodermis doorlaatcellen die in de radiale wanden bandjes van Caspary bezitten.

Door een actief proces van het cytoplasma van deze cellen zijn ze in staat het water en daarin opgeloste stoffen vanuit de schors tot de centrale cilinders toe te laten.

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 verschillende cellagen dik zijn.

#### **a. De bouw van de jonge wortel Benodigdheden:**

- kiemplantjes van tuinkers (*Lepidium sativum* L.).
- scheermesjes.
- horlogeglas.
- microscoop etc.
- 0,1% toluïdineblauw-oplossing.
- 2% floroglucinol in ethanol 96%.
- 5% zoutzuuroplossing.
- glycerine (= geconcentreerd glycerol =  $C_3H_8O_3$  87%).
- ethanol 96%.

**Vorbereiding:**

- laat zaden van tuinkers op vochtig filtreerpapier in petrischalen ontkiemen. De kiemplantjes moeten ongeveer 2 tot 3 cm lang 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 wortel te beschadigen op een objectglas in een druppel water en leg er een dekglas op.
- snijd met een scheermesje een volledig worteltje van een kiemplant van de tuinkers af, breng het zonder de wortelharen te beschadigen op een objectglas in een druppel 0,1% toloïduneblauwoplossing. Hierdoor worden de wortelharen gekleurd.
- Leg er een dekglas op.
- leg een worteltje in een horlogeglas gedurende 3 minuten in 2% floroglucinol. Daarna gedurende 1 minuut met 5% zoutzuuroplossing laten reageren. Is de reactie nog onvoldoende voeg dan 1 druppel geconcentreerd zoutzuur toe.
- maak een preparaat van dit worteltje in een druppel glycerine. Dekglas.
- leg een worteltje gedurende korte tijd in 96% ethanol. Ze worden dan doorzichtig en de lucht is uit de intercellulaire holten verdreven. De houtvaten zijn tot in de wortelhaarzone zichtbaar doordat ze sterk verdikte wanden hebben.

**Opdrachten:**

1. Bestudeer de wortel van alle preparaten met zwakke vergroting en teken het wortelmutsje, de strekkingszone en de wortelhaarzone.
2. 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.

**b. Doorsnede door de jonge wortel****Benodigdheden:**

- jonge wortels van clivia (*Clivia miniata* Renel), kruipende boterbloem (*Ranunculus repens* L.), ui (*Allium cepa* L.), kalmoes (*Acorus calamus* L.) en jonge luchtwortels van de gatenplant (*Monstera deliciosa* Liebm.). De wortels kunnen in 70% ethanol bewaard worden. Ze zijn dan beter te snijden dan verse, omdat ze harder zijn.
- scheermesjes.
- horlogeglas.
- microscoop, etc.
- 2% floroglucinol in ethanol 96%.
- 5% zoutzuuroplossing.
- 0,2% Sudan III in isopropanol. Een hoeveelheid van deze stamoplossing voor het gebruik met een gelijke hoeveelheid gedestilleerd water mengen.
- chloorzinkjodium = jood-zinkchloride, bevat 20 gram  $ZnCl_2$ , 6,5 gram KI en 1,3 gram  $I_2$  opgelost in 10 ml aquadest.

**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 vormen de zijkanten van de coupe over het algemeen het dunste deel en zijn dus het best te gebruiken.
- maak van de coupes een preparaat in een druppel water.
- kleur een coupe met floroglucinol-zoutzuur zoals beschreven onder A.a. Zowel de houtvaten (xyleem) als de bandjes van Caspari (endodermis) kleuren rood.

- de bandjes van Caspary kleuren ook positief met Sudan III, terwijl men na behandeling met chloorzinkjodium een soort negatieve kleuring krijgt, doordat de celwanden van de endodermis blauw kleuren (cellulose) terwijl de bandjes van Caspary ongekleurd blijven.

#### **Opdrachten:**

3. Maak een overzichtstekening van de ligging van de verschillende weefsels in het preparaat en zet de namen erbij.
4. Teken enkele houtvaten, zeefvaten (zilverkleurig) en endodermiscellen.

#### **c. De bouw van de oudere wortel**

##### **Benodigdheden:**

- wortels van iris (*Iris germanica* L. of *Iris pseudo-acorus* L.) en peen (*Daucus carota* L.). De wortels zijn beter te snijden, indien ze enige tijd in alcohol 70% bewaard worden.
- scheermesjes.
- horlogeglas.
- microscoop etc.
- floroglucinol-oplossing, zoutzuuroplossing, Sudan III en chloorzinkjodium zoals beschreven onder A.b.

##### **Uitvoering:**

- maak een preparaat van een dwarsdoorsnede in een druppel water.
- behandel de coupes zoals aangegeven is onder A.b.

#### **Opdrachten:**

5. Tekende ligging van de weefsels en van ieder weefsel enkele cellen.
6. Snijd dunne schijven van een peen voor een macroscopisch overzicht en teken de ligging van de onderdelen.

#### **B. De bouw van de stengel**

##### **a. Doorsnede door de stengel; vergelijking van de monocotyle en de dicotyle stengel** (zie ook Biothema 2, pagina 14).

##### **Benodigdheden:**

- monocotylen: stengels van tulp (*Tulipa gesneriana* L.) of andere monocotylen.
- dicotylen: stengels van kruipende boterbloem (*Ranunculus repens* L.) of van kruidachtige kamerplanten zoals begonia (*Begonia pirtella* Link), siernetel (*Coleus blumei* Beuth.) en gynura (*Gynura aurantiaca* Dc.).
- scheermesjes.
- horlogeglas.
- microscoop, etc.
- floroglucinol-oplossing en zoutzuuroplossing zoals beschreven onder A.b.

##### **Uitvoering:**

- maak een dwarsdoorsnede door de stengel van een eenzaadlobbige en een tweezaadlobbige plant en vervaardig hiervan microscopische preparaten.
- enkele coupes kleuren met floroglucine/zoutzuuroplossing (zie onder A.a.).

##### **b. Bouw van de vaatbundel**

In een 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 kunnen chloroplasten bevatten

(bij vers materiaal). Aan de buitenkant is de stengel omgeven door een epidermis. De vaatbundels bestaan uit een sklerenchymcilinder, die gedeeltelijk uit dikwandige sklerenchymvezels (de sklerenchymkap) en dunwandige sklerenchymvezels opgebouwd is. Onder de sklerenchymkap ligt, naar de buitenkant gericht, het floeem bestaande uit bast- of zeefvaten en bastparenchym. Het grootste deel van de vaatbundel bestaat uit naar het centrum gericht xyleem, dat uit houtvaten en houtparenchymcellen is opgebouwd (figuur 11 en 12). Tussen floeem en xyleem ligt het cambium, waaruit door voortdurende celdelingen nieuwe elementen ontstaan. Naar de periferie ontstaan nieuwe floeemelementen, naar het centrum ontstaan nieuwe xyleemelementen. Hierdoor past de vaatbundel zich aan bij vermeerderend verticaal transport van assimilatieproducten of van water en zouten. 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: het zijdelingse horizontale transport in de stengel. Losse houtvaten zijn te zien in preparaten van het centrum uit een bananenvrucht en bladstelen van spinazie of selderij.

#### **Benodigheden:**

- stengels van kruipende boterbloem (*Ranunculus repens* L.) en van kamerplanten (zie onder B.a.).
- vrucht van banaan en bladstelen van spinazie en selderij.
- 4% zoutzuuroplossing.
- floroglucinoplossing, zoutzuuroplossing en chloorzinkjodium zoals beschreven onder A.b.
- joodjoodkali = joodkaliumjodide, bevat 500 mg I<sub>2</sub> en 15 gram KI in 100 ml aqua dest.
- scheermesjes.
- horlogeglas.
- microscoop, etc.

#### **Vorbereiding:**

- de bladstelen van spinazie en selderij moet men minstens 10 minuten koken in 4% zoutzuur = 1 N HCl.

#### **Uitvoering:**

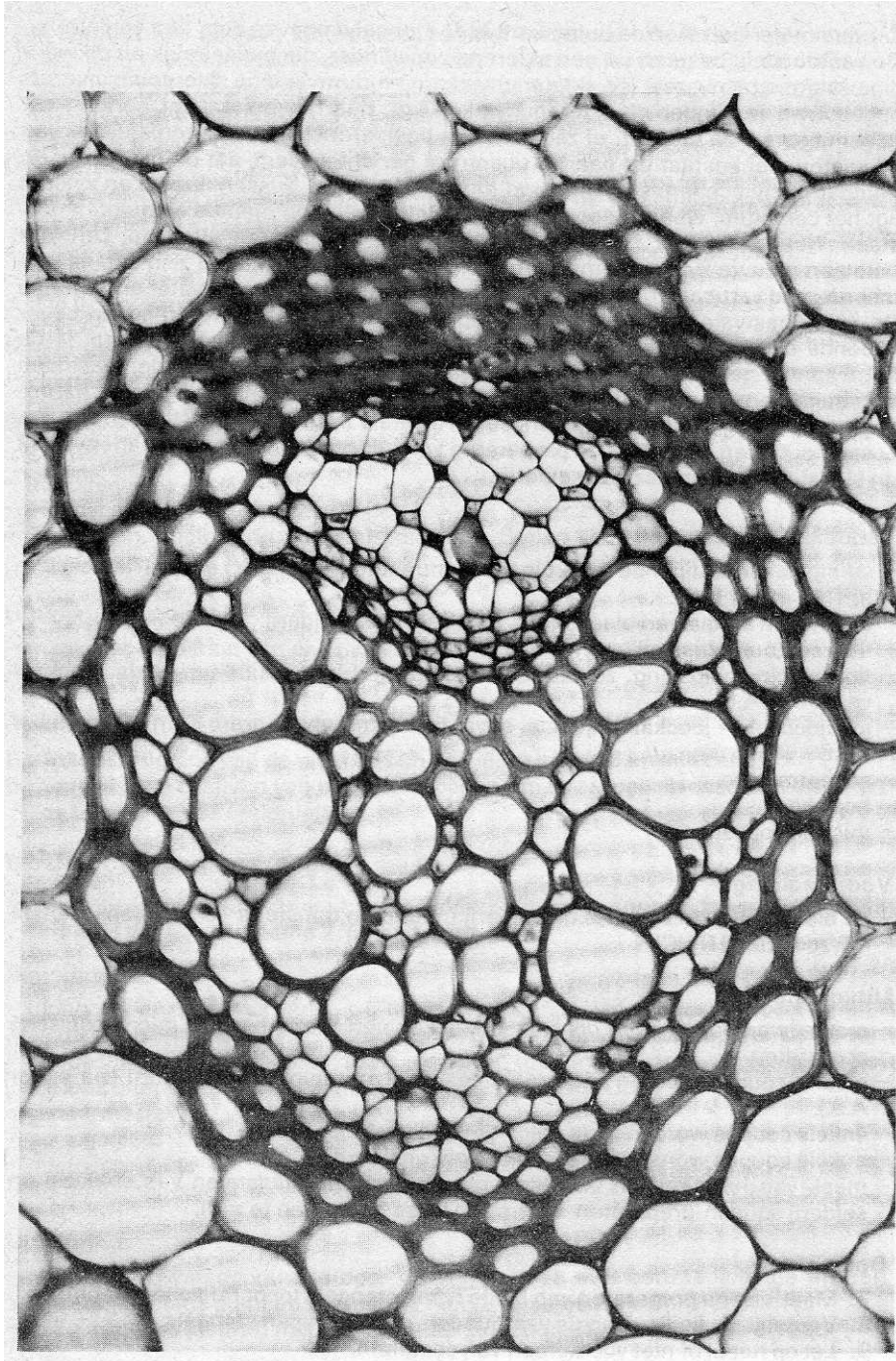
- maak dwarsdoorsneden door de stengel en vervaardig hiervan microscopische preparaten.
- enkele coupes worden in floroglucine/zoutzuuroplossing gekleurd (zie onder A.a.).
- enkele coupes worden in de chloorzinkjodium gekleurd.
- enkele coupes worden in de joodjoodkali gekleurd.
- maak van het centrum uit een banaan en van de bladstelen van spinazie en selderij squash-preparaten. Hierin zijn losse houtvaten te zien.

#### **Opdracht:**

7. Maak van de preparaten van beide typen stengels topografische tekeningen.
8. Vergelijk de ligging van de vaatbundels in beide typen stengels.
9. Let op het al of niet voorkomen van cambium.
10. Maak een tekening van een vaatbundel waarin de ligging van de verschillende celtypen wordt aangegeven.

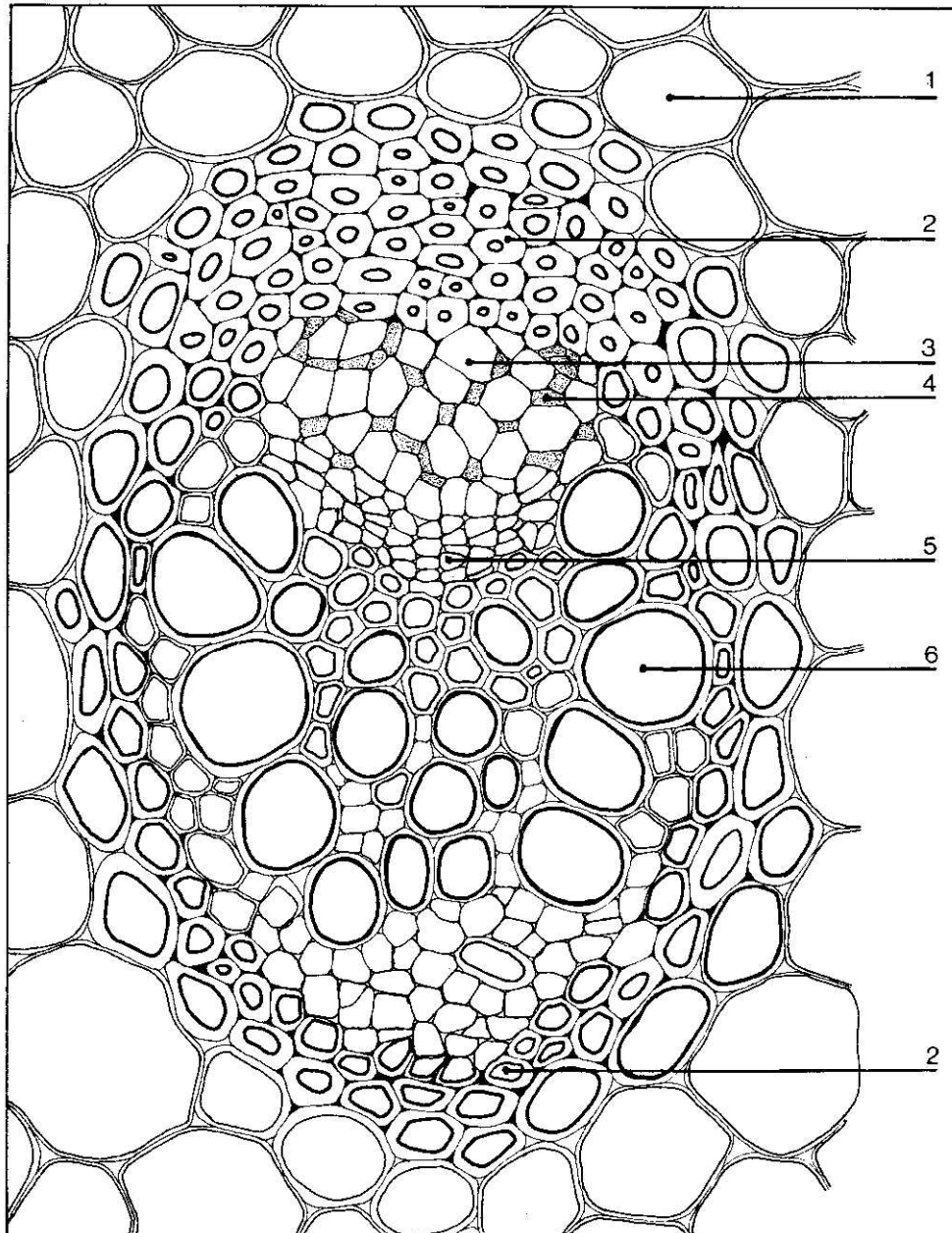
### **C. Het blad**

- a. **De nervatuur** (zie ook Biothema 2, pagina 25 e.v.).



Figuur 11 Kruipende boterbloem (Ranunculus repens L.).  
Dwarsdoorsnede van een vaatbundel in de stengel. Foto drs. J. van der Pluijm.





Figuur 12. Kruipende boterbloem (*Ranunculus repens* L.).  
 Anatomie van de vaatbundel uit figuur 11. 1 = parenchym;  
 2 = sklerenchymschede; 3 = floern; 4 = floemparenchym, begeleidende cellen;  
 5 = cambium; 6 = houtvat in het xyleem.

**Benodigdheden:**

- jonge blaadjes van Vlijtig Liesje (*Impatiens sultani* Hook.)
- ethanol 70%.
- broedstoof.
- chloraalhydraatoplossing (of fenol, kruidnagelolie, wintergroenolie of kreosoot).

**Vorbereiding:**

- dunne jonge blaadjes van een Vlijtig Liesje worden eerst enkele dagen in 70% ethanol gelegd om het chlorofyl te verwijderen. Dit proces kan men bespoedigen door verwarming tot 60 °C (broedstoof).
- de blaadjes brengt men vervolgens in een chloraalhydraatoplossing tot ze glasachtig doorzichtig zijn geworden. In deze oplossing zijn ze voor langere tijd geconserveerd.
- in plaats van chloraalhydraat kan zuiver fenol gebruikt worden: het resultaat is dan niet zo fraai. Breng uw huid niet in contact met fenolkristallen!! (Brandwonden).
- indien men de blaadjes watervrij maakt met behulp van absolute ethanol kan men ze ook doorzichtig maken met kruidnagelolie of wintergroenolie of met kreosoot.

**Uitvoering:**

- breng een doorzichtig geworden blaadje met de onderzijde naar boven op een voorwerpglas in een druppel chloraalhydraatoplossing. Dekglas opbrengen.

**Opdracht:**

**11.** Bestudeer het verloop van de vaatbundels in de nerven en in het blad.

**b. Huidmondjes** (zie T-50 en Biothema 2, pagina 49 tot en met 53}.

## T-9 Wateropname bij bewortelde en onbewortelde stekken

**Benodigdheden:**

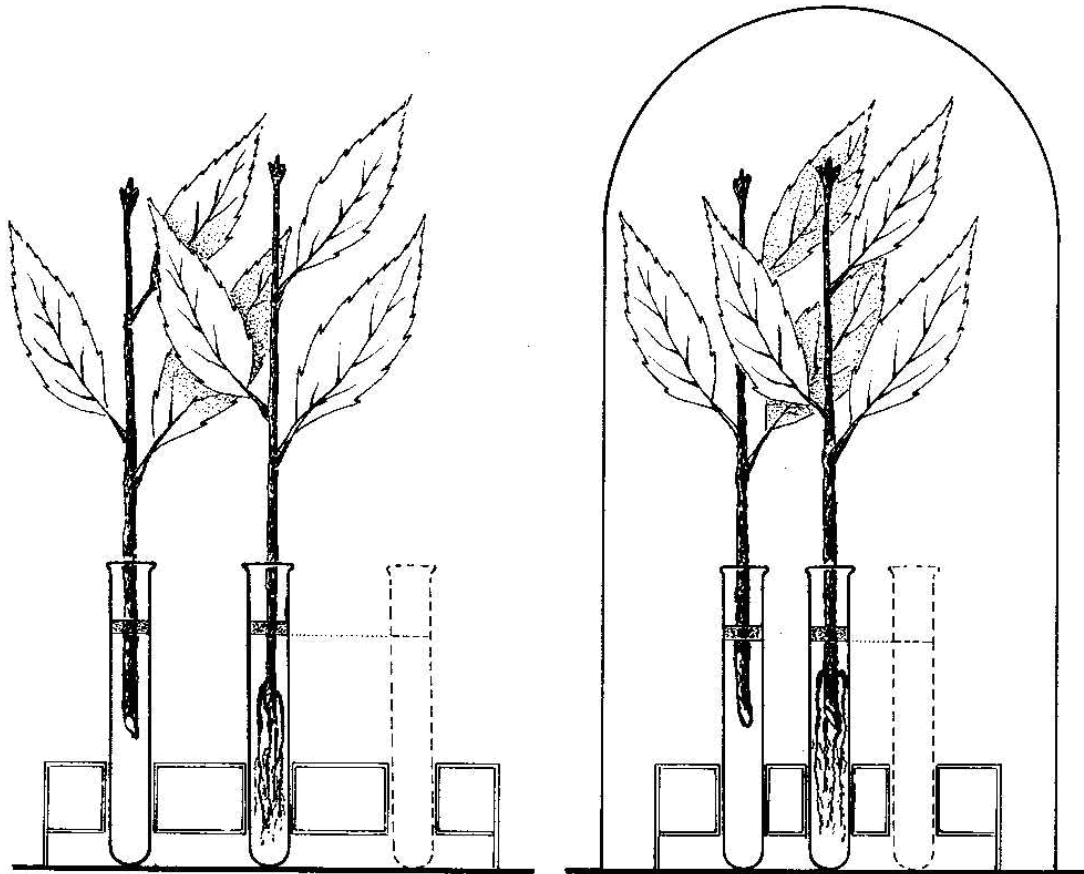
- twee bewortelde en twee onbewortelde stekken van planten met bladeren zonder dikke cuticula zoals Vlijtig Liesje (*Impatiens sultani* Hook.), siernetel (*Colens blumei* Benth.), *Tradescantia*, *Pelargonium* of Chinese roos (*Hibiscus rosasinensis* L.).
- reageerbuizen, reageerbuisrek, erlenmeyer, maatcilinders, glazen stolp, glazen plaat.
- vet, slaolie.

**Vorbereiding:**

- het bewortelen van stekken lukt het best, indien men er voor zorgt dat van de stengels minstens enkele knoppen onder water blijven. Het bladoppervlak van de stekken kan men beperken tot enkele bladeren. Gunstige milieufactoren zijn kamertemperatuur (20-22 °C), een hoge relatieve luchtvochtigheid (80-90%) en een lichte standplaats zonder direct zonlicht.

**Uitvoering:**

- vul een aantal reageerbuizen (erlenmeyers of maatcilinders), met een bekende hoeveelheid water. Zet er bewortelde en niet-bewortelde stekken in en breng enkele druppels olie op het wateroppervlak. Indien men geen olie op het wateroppervlak brengt is een blancoproef zonder stek nodig (figuur 13).



Figuur 13. Proefopstelling voor het meten van de wateropname bij planten in relatie tot de verdamping.

- plaats deze buizen op een plaats met matige of geringe belichting.
- zet een reageerbuis met een bewortelde stek en een reageerbuis met een niet bewortelde stek (met eventueel de blanco) bij elkaar op een lichte plaats. Het wateroppervlak afdekken met olie of een blancoproef zonder stek toevoegen.
- doe hetzelfde met een andere bewortelde of onbewortelde stek, maar zet deze onder een glazen stolp en op dezelfde lichte plaats (figuur 13).

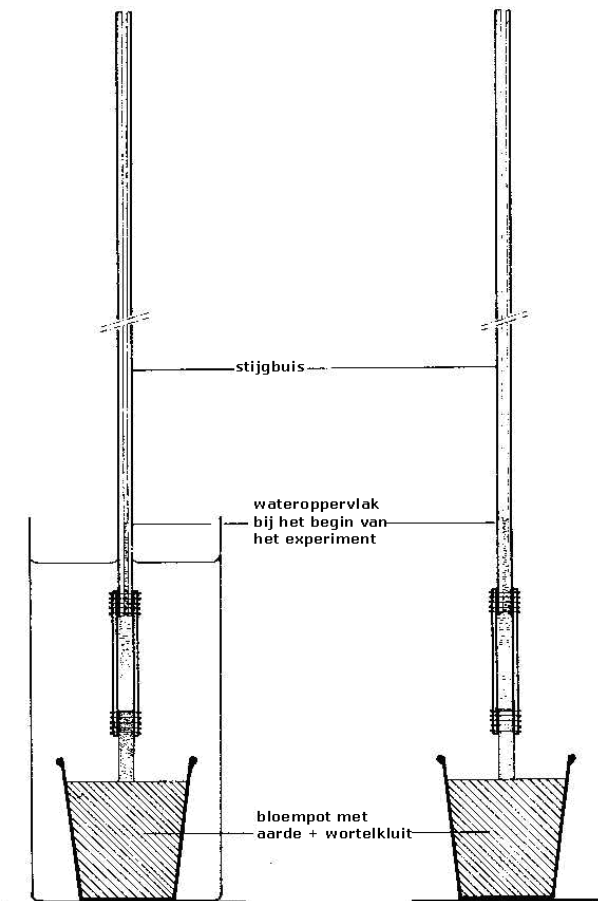
**Opdracht en vragen:**

1. Meet na een week hoeveel water uit de verschillende reageerbuizen verdwenen is. Verklaar de verschillen.
2. Kunnen alle planten assimileren?
3. Bestaat er een kwantitatieve relatie tussen de hoeveelheid verdwenen water en de te meten bladoppervlakten?

T-10 Worteldruk

**Benodigheden:**

- Fuchsia spec. met een ronde stengel boven de wortel of een goed ontwikkeld Vlijtig Liesje (impatiens sultani Hook.) met een ronde stengel.
- glazen buis van 40 cm lang, uitwendige diameter 8 mm, wanddikte 1 mm.



Figuur 14. Proefopstelling voor het aantonen van de worteldruk: natte en droge opstelling.

- 5 cm rubberslang met een binnendiameter die goed om de stengel en om de glazen buis past.
- statief.
- glycerine.
- bak met water.
- bindgaren.

#### **Uitvoering:**

- snijd onder water de stengel van de plant ongeveer 5 cm boven de aarde af.
- schuif onder water het stukje rubberslang een flink stuk over de stengel heen.
- bevestig boven in het rubberslangetje de glazen buis. Klem deze buis zo in het statief dat hij verticaal staat, zonder spanning uit te oefenen op de slang.
- omwikkel de aansluiting met de stengel en met de buis met het bindgaren, zodat een luchtdichte afsluiting is verzekerd.
- zet het geheel in een bak met water van kamertemperatuur, waarvan het wateroppervlak vlak boven de verbinding rubberslang-glazen buis staat.
- giet in de glazen buis zoveel water — zonder luchtbelletjes — dat dit enkele cm boven het vloeistofoppervlak staat (figuur 14 links).
- markeer het niveau met viltstift, of bevestig er een stuk mm-papier achter waarop het niveau aangegeven kan worden. Als het vloeistofniveau na enkele uren is gedaald, is er ergens een lek. Controleer de aansluitingen.

N.B. Indien de stijging erg langzaam gaat en de wortels erg lang onder water moeten blijven, kan men beter een 'droge' opstelling maken. Hiertoe hevelt men alle water uit de bak. Wel moet men regelmatig water geven (figuur 14 rechts).

**Opdrachten:**

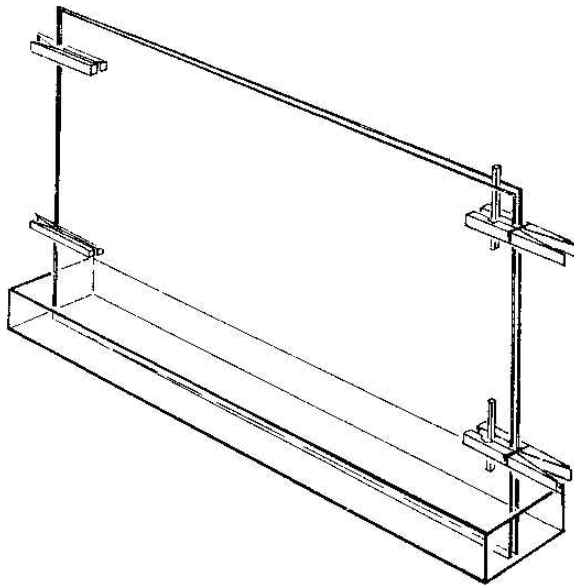
1. Meet de stijging van het vloeistofniveau in de buis regelmatig, bijvoorbeeld na de aanvang van de proef ieder uur.
2. Verwerk de gevonden waarden in een diagram.

**T-11 Capillaire opstijging**

Een van de oorzaken waardoor water in de plant vervoerd wordt is de capillaire opstijging. Deze wordt veroorzaakt doordat de adhesie (aantrekkingskracht tussen moleculen van twee verschillende stoffen) groter is dan de cohesie (aantrekkingskracht tussen moleculen van dezelfde stof). Hoe nauwer de ruimte is waarin deze krachten kunnen werken, hoe hoger de opstijging.

**Benodigheden:**

- twee glasplaten (ongeveer 20x30 mm); het verdient aanbeveling spiegelglas te gebruiken.
- statief met klemmen.
- twee lucifers (zonder kop) of houten tandenstokers.
- vier wasknijpers.
- 50 ml inkt.
- langwerpige smalle bak, waarin de glasplaten met hun grootste afmeting passen (zie figuur 15).



Figuur 15. Proefopstelling voor capillaire opstijging in relatie tot de afmeting van de ruimte.

**Uitvoering:**

- klem de twee, goed schoongemaakte (ontvetten!), glasplaten met behulp van wasknijpers aan een kant tegen elkaar en aan de andere kant met lucifers ertussen. De ruimte tussen de ruiten heeft nu een variabele breedte van ongeveer nul tot ongeveer 2 mm. Zet de glasplaten met een statief vast.
- plaats het geheel in de langwerpige bak met een laagje inkt op de bodem.

**Opdrachten vraag:**

1. Maak een tekening van het verloop van de meniscus tussen de ruiten.
2. Verklaar waarom de meniscus veelal geen vloeiende parabool vormt.

## T-12 Transport in de stengel

### a.

In dit experiment wordt de invloed nagegaan van het verdampingsoppervlak (bladeren met huidmondjes) op het transport van water door de houtvaten.

#### Benodigheden:

- goed ontwikkelde plant van balsemien (*Impatiens sultani* Hook.).
- 15 ml 0,2% safranine-oplossing.
- reageerbuis, reageerbuisrek.

#### Uitvoering:

- zet een kort afgesneden plant of goed bebladerde tak van een balsemien in een reageerbuis met een oplossing van 0,2% safranine of een andere niet giftige kleurstofoplossing.
- behandel de bladeren op de volgende vier manieren, nadat men de stengel met bladeren denkbeeldig in vier sectoren verdeeld heeft.
- smeer 2 bladeren aan één kant van de stengel (sector 1) aan de onderzijde en 2 bladeren aan de tegenovergestelde kant van de stengel (sector 3) aan de bovenzijde in met vaseline.
- verwijder de bladschijf van 2 bladeren (laat de hoofdnerf intact) aan één kant van de stengel (sector 2) en laat de andere bladeren onbeschadigd (sector 4).

#### Opdrachten:

3. Vervolg het opstijgen van de kleurstof na 10, 20, 30 minuten, na 1 uur en na 2 uur. Meet de stijghoogten van de gekleurde oplossing in de vaatbundels.
4. Verklaar de waargenomen verschijnselen.

### b.

Doordat bloemen en bladeren water verdampen wordt via de stengel water aangezogen. Indien men dit water kleurt kan men in een dwarscoupe van de stengel de hiermede gekleurde houtvaten terug vinden. Als de plant doorzichtige stengels heeft (Vlijtig-Liesje) kan men zonder meer de weg vervolgen die de kleurstofoplossing neemt. Bij een plant met witte bloemen ziet men na verloop van tijd de bloembladeren van kleur veranderen. Planten met zachte bladeren geven sneller resultaat dan planten met bladeren met een dikke cuticula

Als men de kleurstof tot in de bloembladeren wil laten doordringen, moet men de stengel of bloemsteel niet te lang laten.

#### Benodigheden:

- witte anjer (*Dianthus caryophyllus* L. X *Dianthus chinensis* L), witte tulp (*Tulipa gesneriana* L), witte of gele iris (*Iris pumila* L. of *I. florentina* L. of *I. pseudacorus* L.), Vlijtig Liesje (*Impatiens sultani* Hook.), witte zuidwindlelie (*Ixia aristata* Ker-Gawl).
- verschillende sterk gekleurde ecoline-oplossingen: blauw, rood, groen, en paars (een deel ecoline op 2 à 3 delen water).  
of 0,1 % eosine-oplossing.  
of 1% oplossingen van gifvrije bloemenkleurstoffen: acid magenta (rood) brillantblue FCF (blauw), Aastrazine (geel).

**Uitvoering:**

- snijd onder water een bloemsteel in de lengte in drie segmenten.
- buig de segmenten uiteen en plaats ieder in een reageerbuis met een andere kleurstofoplossing.
- bundel de reageerbuizen met behulp van elastiek.
- wikkel natte watten om het gedeelte van de gespleten stengel dat boven de buizen met kleurstof uitsteekt om uitdrogen te voorkomen, of zet het geheel in een plastic zak die voorzichtig om de bloemstengel wordt dicht gebonden.
- wacht tot de bloembladeren verschillende kleuren krijgen (na ongeveer een uur).

**Opdracht:**

3. Maak na afloop van de proef een coupe van het deel van de stengel dat niet gespleten is. De houtvaten hebben verschillende kleuren afhankelijk van hun ligging in de stengel.

**c.**

Men kan als eenvoudige uitvoering een takje van het Vlijtig Liesje in een kleurstofoplossing zetten.

**Opdracht:**

4. Meet ieder half uur de vorderingen van de kleurstof en zet de gevonden waarden in een diagram.

## T-13 Transport in het floeem

De producten van het assimilatieproces in de bladeren blijven daar niet: ze worden afgevoerd. Ze worden door de zeefvaten getransporteerd naar de weefsels waar het reservevoedsel wordt opgeslagen: stengels, wortels, zaadlobben, knollen, bollen en wortelstokken. Dit is een continu-transport en een energieverbruikend proces dat in vergelijking met andere processen (assimilatie, aanvoer van anorganische stoffen) langzamer verloopt, maar minder afhankelijk is van abiotische factoren. Onder bepaalde omstandigheden kan deze trage afvoer remmend werken op de assimilatieprocessen.

### a. Aantonen van zetmeel in de bladeren

**Benodigheden:**

- jonge bonenplanten. Tijdsduur benodigd voor het opkweken: minstens 2 maanden. Indien deze niet tijdig zijn gekweekt kan men gebruik maken van andere planten, waarvan het blad een dunne cuticula heeft of van soorten kamerplanten die in de winter nog wel kunnen assimileren; cineraria (*Cineraria multiflora*), Chrysant (*Chrysanthemum indicum* L.), garnalenplant (*Beloperone guttata*), kattestaart (*Acalypha hispida*), vingerplant (*Fatsia japonica* {Thunb.}Dene et Planch. ), Franse geranium (*Pelargonium grandiflorum* (Andr.) Willd.).
- twee bekerglazen.
- waterbad.
- elektrisch kookplaatje.
- 100 ml ethanol 80-96%.
- jood-kaliumjodide.

**Vorbereiding:**

- men bereidt joodkaliumjodide door 600 mg kaliumjodide (KI) op te lossen in 20 ml gedestilleerd water. Daarna voegt men 300 mg joodkristallen (I<sub>2</sub>) toe en vult de oplossing aan tot 100 ml.
- men gebruikt warme ethanol. Verwarmen in waterbad met bijna kokend water.

**Uitvoering:**

- zet een bebladerde plant gedurende één dag in het volle licht en verwijder 's middags of 's avonds, voordat het gaat schemeren, één of twee bladeren.
- verwijder de volgende ochtend vóór het volle daglicht weer één of twee bladeren.
- dood de weefsels van het blad door het met behulp van een pincet in kokend water te dompelen of even op te koken.
- breng het blad over in warme ethanol en extraheer het bladgroen door zacht te spoelen.
- verwijder de alcohol uit de nu vrijwel kleurloze bladeren door kort onderdompelen of spoelen in warm water.
- breng de bladeren in een oplossing van joodkaliumjodide.

**b. Aantonen van zetmeel na transport door zeefvaten****Benodigdheden:**

- houtige gewassen, bijvoorbeeld kamerplanten met bladeren waarvan de cuticula niet te dik is: Chinese roos (*Hibiscus rosa-sinensis* L.), kamerklimop (*X Fatshedera lizei* Guillaum.), kamerlinde (*Sparmannia africana* L.).
- twee bekeerglazen.
- waterbad.
- electrisch kookplaatje.
- 100 ml ethanol 80-96%.
- joodkaliumjodide (zie onder a).

**Uitvoering:**

- maak 's middags halverwege een tak van een plant, die een dag (of enige uren) in het volle licht heeft gestaan, twee ringwonden tot op het cambium (hout niet beschadigen), dicht bij elkaar zodat men de bast hier tussen voorzichtig kan wegplukken.
- zet de plant nu geruime tijd (maximaal één dag) in het donker.
- behandel de bladeren boven en onder de ringwond volgens de methode onder a genoemd.

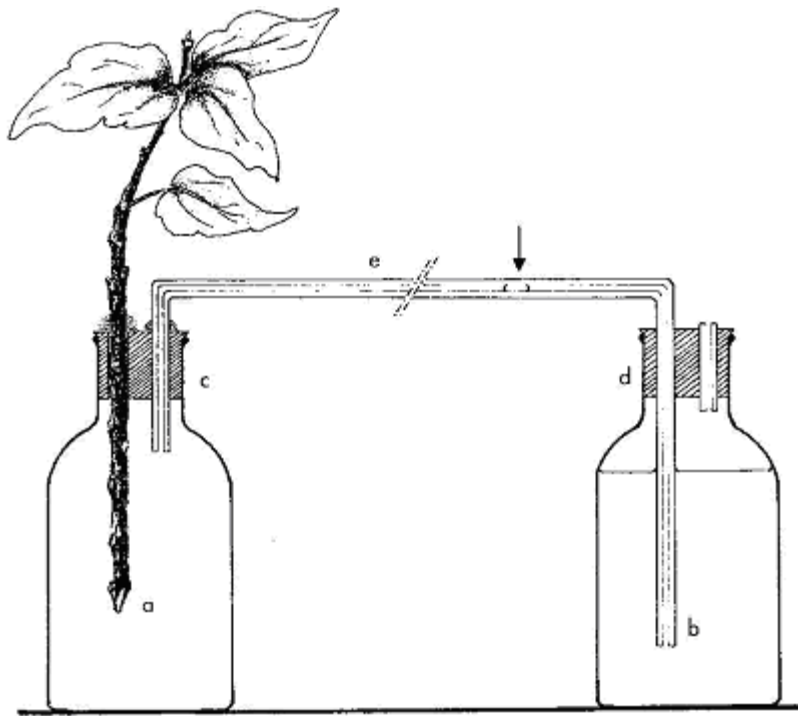
**Opdracht en vragen:**

1. Wat neemt men waar bij de behandelde bladeren en wat kan men concluderen?
2. Neem ter controle van b enkele bladeren van een niet-verwonde tak.
3. Welke bladeren bezitten zetmeel?
4. Is de afwezigheid van zetmeel in bepaalde bladeren te verklaren?

**T-14 Zuigkracht van bladeren (potetometer)****a.**

Met behulp van de in figuur 16 afgebeelde potetometer kan men, uit de snelheid waarmee de luchtbel zich verplaatst, de verdamping van het water door de bladeren bepalen.





Figuur 16. Proefopstelling voor het meten van de zuigkracht van bladeren: de potetometer.

#### Benodigheden:

- bebladerde tak met ronde stengel, liefst met grote bladeren van een houtig gewas: Japanse liguster (*Ligustrum ovalifolium* Hassk.), olijfwilg (*Elaeagnus pungens* Thbg.), Californische cypres (*Chamaecyparis lawsoniana* Parl).
- twee wijdmondse flessen.
- dubbel doorboorde rubberstoppen.
- 50 cm glazen capillaire buis met een binnendiameter van 2 mm.
- plasticine, siliconenrubber of kranevet.
- meetlatje of millimeterpapier.

#### Uitvoering (zie figuur 16):

- snij van de te onderzoeken plant onder water een flink stuk stengel met bladeren af.
- steek het nog natte takeinde door één van de doorboringen van een rubberstop en houdt het uiteinde goed vochtig.
- vul een fles geheel en de andere voor drie kwart met leidingwater.
- steek het gebogen capillair door de doorboringen van de stoppen.
- plaats de stoppen zeer voorzichtig op de flessen zodanig dat de tak met bladeren op de geheel gevulde fles komt. In de geheel gevulde fles mag zich geen luchtbel onder de stop bevinden. Men kan dit voorkomen door deze stop enigszins schuin op de fles te plaatsen.
- voorzie alle aansluitingen van plasticine, siliconenrubber of kranevet.
- breng een luchtbel in het capillair door op de stop met tak te drukken terwijl het capillair in de andere fles boven de vloeistof wordt gehouden.
- verminder de druk op de stop: een beetje lucht wordt nu in het capillair gezogen.
- plaats nu de stop op de niet geheel gevulde fles, zó dat het capillair onder water uitmond.
- plaats achter het capillair de meetlat of voorzie deze van millimeterpapier.

**Opdrachten:**

1. Meet iedere vijf minuten de verplaatsing van de luchtbel (of iedere minuut indien de omgeving een sterke verdamping veroorzaakt).  
Zet de gevonden waarden in een diagram.
2. Meet de diameter van de capillaire buis (dit kan men proefondervindelijk bepalen), de snelheid van de verplaatsing van de luchtbel en de bladoppervlakte. Deze oppervlakte kan men bepalen door de bladeren na te tekenen op ruitjespapier. Of men weegt aan het einde van de proef: de volledige tak met bladeren, de onbebladerde tak en enkele bladeren als gemiddelde van de totale partij. Van deze laatste bladeren berekent men het bladoppervlak. Met deze vier gegevens is het totale bladoppervlak te berekenen.
3. Kwantificeer deze gegevens met betrekking tot de hoeveelheid verdamping per bladoppervlak per tijdseenheid onder verschillende omstandigheden (ten aanzien van licht, temperatuur en relatief vochtgehalte van de lucht).

**b.**

Eenvoudiger uitvoering van de potetometer.

**Benodigheden:**

- goed ontwikkelde bonenplant met 4 tot 5 bladeren.
- 1 ml maatpipet.
- rubber aquariumslang, T-stuk voor aquariumslangverbinding, slangklem en statief.
- platte bak.

**Uitvoering:**

- monteer op de uitloopopening van de maatpipet een klein stukje rubberslang.
- monteer op het andere uiteinde van deze rubberslang het T-stuk zodanig dat de staande been van de T haaks op de maatpipet staat.
- monteer op het andere einde van het T-stuk — dus in het verlengde van de maatpipet — een stukje rubberslang en voorzie dit stukje met de slangklem.
- snij de stengel van de bonenplant door, daar waar de diameter van de stengel overeenkomt met de diameter van de rubberslang.
- voorzie het staande been van het T-stuk van een stukje rubberslang.
- steek de afgesneden stengel met bladeren in dit stukje rubberslang en zorg ervoor dat dit goed klem zit.
- open de slangklem en zuig de pipet vol water, sluit de slangklem.
- monteer het geheel in de klem van het statief, zodanig dat de pipet horizontaal is en de plant naar boven gericht is.
- wacht 10 minuten en breng dan met de vinger een druppel water in de opzuigopening van de maatpipet.

**Opmerking:**

Mocht de hier beschreven uitvoering moeilijk gaan, monteer de opstelling dan in de platte bak onder water.

**Opdracht en vragen:**

1. Meet de verplaatsing van de vloeistofkolom in de maatpipet iedere vijf minuten.
2. Zet de gevonden waarden in een diagram.
3. Kwantificeer deze gegevens met betrekking tot het bladoppervlak eventueel bij verschillende omstandigheden.
4. Waarom brengt men een druppel water aan in de opzuigopening?
5. Waarom dient deze proefopstelling te staan in een omgeving met constante temperatuur?

## T-15 Ademhalingssystemen bij dieren

Ten aanzien van de term ademhaling zijn verschillende interpretaties mogelijk. Gedurende lange tijd werd met ademhaling bedoeld: de werking van ademhalingsorganen waarmee zuurstof kon worden opgenomen en koolzuurgas en waterdamp afgegeven. Met de opkomst van de biochemie werd inzicht verkregen in de processen die zich in de cel afspelen, waarbij de opgenomen zuurstof nodig is en het af te geven koolzuurgas en waterdamp worden gevormd. De term ademhaling kreeg toen een andere betekenis; dikwijls spreekt men over celademhaling, waarmee dan bedoeld wordt: die chemische reacties waaruit het organisme zijn energie betreft (de dissimilatie). Terwille van de duidelijkheid wordt hieronder aangegeven welke begripsinhouden de term ademhaling kan hebben.

1. Het verversen van lucht in de longen of tracheeën en van water om de kieuwen (in- en uitademen). Bij niet in het water levende dieren kan men hier over ventilatie spreken.
2. Het uitwisselen van gassen tussen lucht in de longen of tracheeën en de lichaamsvloeistof, alsmede tussen water en de lichaamsvloeistof. Men kan hier over gaswisseling spreken.
3. Het uitwisselen van gassen tussen de cellen en hun omgeving. Ook hier is de term gaswisseling op zijn plaats.
4. De biochemische processen in de levende cellen waarbij energie vrijkomt door aan organische (voedings)stoffen waterstof te onttrekken, waarbij koolzuurgas overblijft. De waterstof wordt gebonden aan een waterstof acceptor. De meeste organismen gebruiken daarvoor zuurstof zodat er water wordt gevormd (aërobe dissimilatie). In een aantal gevallen wordt een andere waterstof acceptor gebruikt (anaërobe dissimilatie) zodat er een ander eindproduct ontstaat (bijvoorbeeld melkzuur in de spier). Het verdient de voorkeur hier over celademhaling of dissimilatie te spreken en de term (langzame) verbranding niet meer te gebruiken, hoewel deze begrippen elkaar niet geheel dekken (zie T-38).

N.B. Ook bij planten treedt gaswisseling op, bijvoorbeeld zoals de koolzuurgas- en zuurstofuitwisseling tussen bladeren en hun omgeving. In de cellen van planten treedt ook celademhaling op.

In de zuurstofhuishouding van een organisme spelen de volgende aspecten een rol:

- a. de zuurstofbehoefte van het organisme.
- b. het zuurstofgehalte van het milieu (de zuurstofspanning).
- c. de beperkingen bij de passage van de zuurstof moleculen door het oppervlak van het organisme.
- d. het inwendige transport van de zuurstof naar de cellen.
- e. het verloop van de celademhaling.

Van ieder aspect worden de terzake doende factoren hierna uitgebreider behandeld.

### **I. De zuurstof behoefte van het organisme**

#### **A. Ontwikkelingsniveau:**

Hoe complexer een organisme is gebouwd, hoe meer zuurstof-eisende processen in bepaalde cellen (zenuwcellen, dwarsgestreepte spiervezels) voorkomen.

### **B. Lichaamstemperatuur:**

Het handhaven van een constante lichaamstemperatuur, welke hoger is dan die van de omgeving, vergt een intensievere celademhaling dan die der poikilotherme organismen.

### **C. Levenswijze:**

Sommige organismen bezetten een 'niche' waarin zij zich slechts door een grote mate van beweeglijkheid (zwaluwen, valken) kunnen handhaven. Hier tegenover staat de geringe beweeglijkheid, zoals die voorkomt bij zeevormen.

### **D. Afmetingen:**

De lichaamsafmetingen bepalen het totale aantal cellen in het organisme. (Zie echter ook III-B).

## **II. Het zuurstofgehalte van het milieu en de mate waarin deze zuurstof voor het organisme beschikbaar is**

### **A.**

Terwijl 1 l buitenlucht (bij 1 atm. luchtdruk en 20 °C) 210 ml zuurstof bevat, kan 1 l water (bij 1 atm. luchtdruk en 20 °C) hoogstens 6,4 ml opgeloste zuurstof bevatten.

### **B.**

Zeer uiteenlopend in water en lucht zijn de diffusiesnelheden. Uit berekeningen is komen vast te staan dat een zuurstofmolecuul zich in lucht circa 300.000 maal sneller verplaatst dan in water en circa 1.000.000 maal sneller dan in (waterig) levend weefsel.

## **III. De beperkingen bij de passage van de zuurstofmoleculen door het oppervlak van het organisme**

### **A.**

Vele lagere dieren (eencelligen, platwormen, regenwormen) leven op plaatsen waar uitdroging niet of nauwelijks kan plaatsvinden (water, vochtige aarde). Hun huid zal dun blijven en vormt voor naar binnen diffunderende zuurstofmoleculen nauwelijks een barrière.

Voor op het land levende organismen is uitdroging een reëel gevaar. Dit wordt ondervangen door de aanwezigheid van min of meer afsluitende stoffen in de huid, zoals chitine (insecten), kalkverbindingen (kreeftachtigen) en hoorn (zoogdieren). Behalve watermoleculen worden ook andere moleculen tegengehouden. Het gevolg is dat de huid als (primitief ademhalingsorgaan bij landdieren nagenoeg heeft afgedaan.

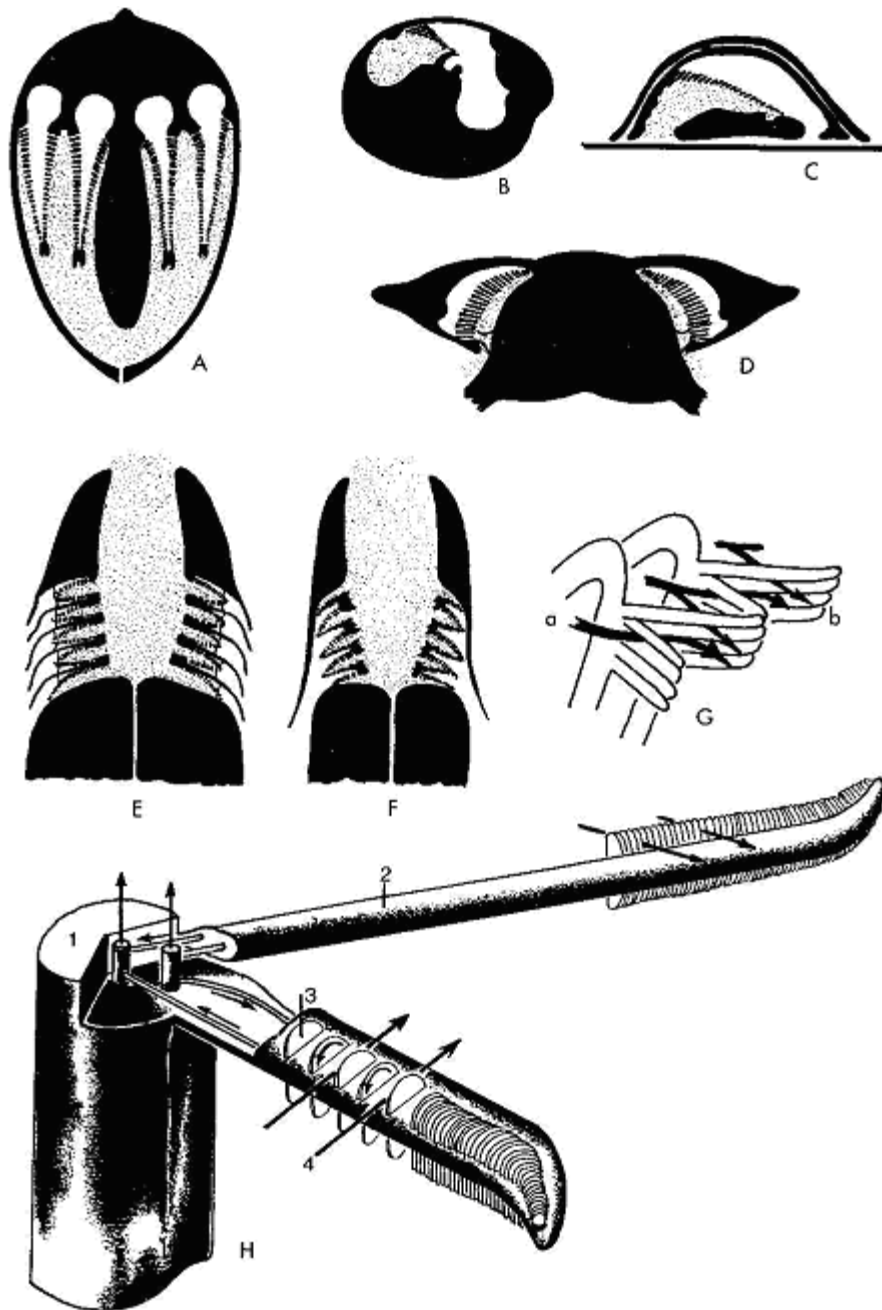
Een regenworm neemt de benodigde zuurstof voor 100% op door de huid, een mens slechts voor 0,5%.

### **B.**

Ook een volledig voor zuurstofmoleculen permeabele huid kan als ademhalingsorgaan tekort schieten. Bij het groter worden der organismen neemt de zuurstof-consumerende inhoud van het organisme toe met de derde macht, terwijl het zuurstof-doorlatende oppervlak slechts kwadratisch toeneemt. In de loop van de evolutie is de tendens tot vergroting duidelijk waarneembaar.

### **Opdracht:**

1. Bereken en vergelijk inhoud en oppervlakte van een kubus met een ribbe van 1 cm met die met een ribbe van 10 cm.



Figuur 17. Ademhalingsystemen I.

Kieuwen. Dwarse doorsnede van A. mossel, B. slak, C. pantoffelblad, D. krab, E. haai en F. beenvis. Gestippeld: inademingsruimte, wit: uitademingsruimte. G. Twee kieuwbogen met vier rijen filamenten. Het water stroomt volgens de zwarte pijlen vanuit de mondholte (a) naar buiten (b). H. Een gedeelte van een kieuwboog met twee filamenten. Een deel van de kieuwplaatjes op de filamenten is getekend. Aangegeven is de richting van de bloed- en waterstroom. 1 = kieuwboog, 2 = filament, 3 = kieuwplaatje, 4 = waterstroom, de overige pijlen geven de bloedstroom aan. Bij de partikeleeters zijn de goten voor het transport van het verzamelde voedsel getekend. Bij A onderaan iedere kieuwhelft en bij C rechts onder de kieuw (n. Hazelhoff 1938 en Van Dam 1838).

Uit de onder I en III-A en B genoemde factoren volgt, dat voor alle hoger ontwikkelde op het land levende organismen, alsmede voor vele waterorganismen (zie onder andere VI B en C) de huid voor de gaswisseling ontoereikend is. Bij deze organismen treft men gespecialiseerde ademhalingsorganen aan. Ongeacht het type waartoe zij behoren zijn dit altijd voor zuurstof en kooldioxide doorlaatbare oppervlaktevergrotingen van de huid. De grenslaag tussen het organisme en de buitenwereld is in het ademhalingsorgaan meestal slechts één cellaag dik en heet ademhalingsepitheel. De verschillende typen ademhalingsorganen zijn:

**a.** Kieuwen bij waterdieren.

De oppervlaktevergroting is uitwendig. Er is immers geen gevaar voor uitdroging.

De opwaartse druk van het water geeft de kieuw altijd de vorm met het grootste oppervlak. Zo heeft een snoek van 650 gram een kieuwoppervlak van 810 cm<sup>2</sup>.

De constructie van de kieuwen is zeer efficiënt. Metingen van het zuurstofgehalte van het water voor en na passage door de kieuwen van vissen geven een utilisatie van 80%, dat wil zeggen dat van iedere 10 ml opgeloste zuurstof 8 ml opgenomen wordt.

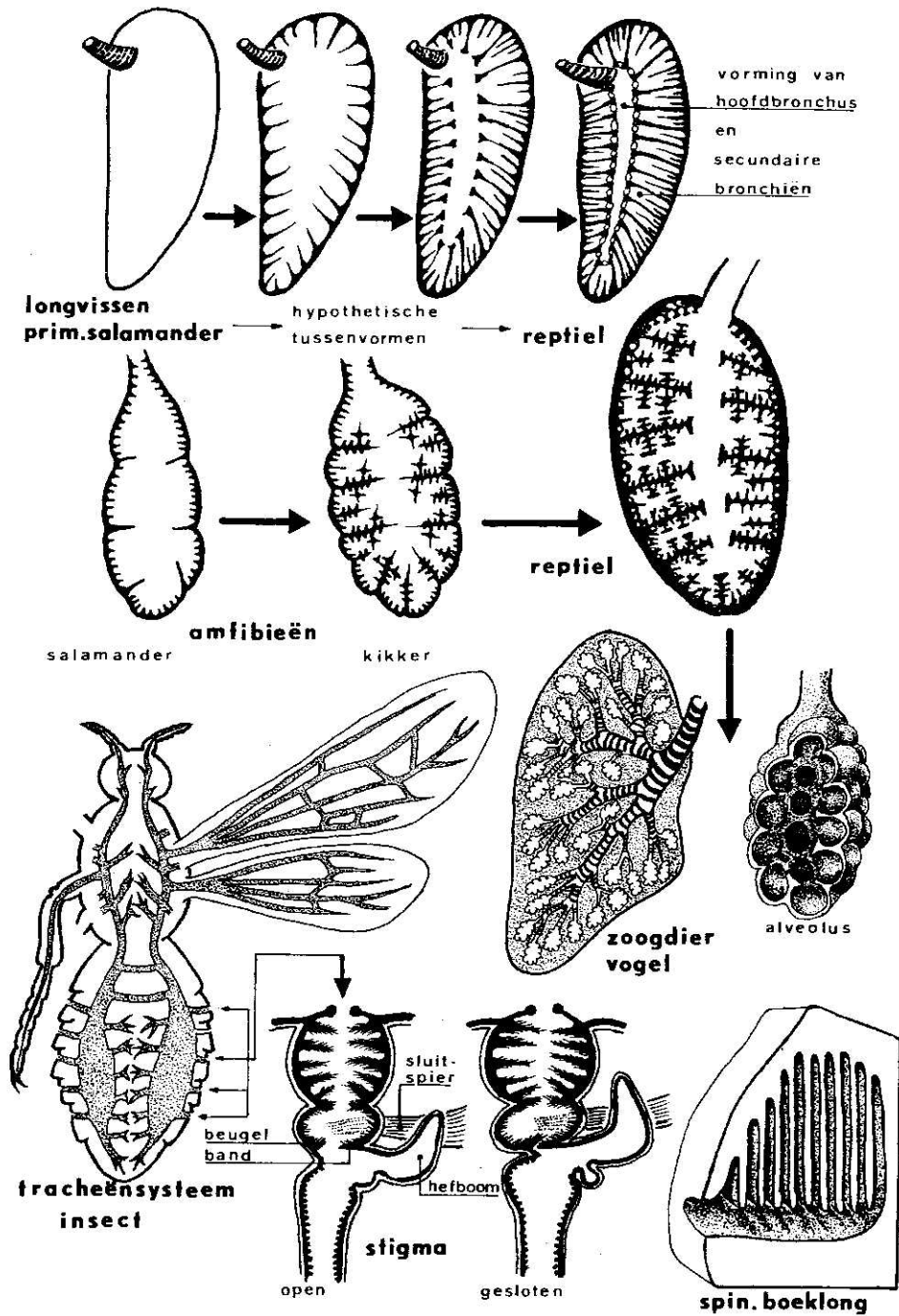
Op de kieuwbogen staan twee rijen filamenten. De toppen van de achterste rij filamenten van een kieuwboog rusten tegen de toppen van de voorste rij filamenten van de daarachter liggende kieuwboog (figuur 17, E, F en G). De filamenten zijn voorzien van lamellen of kieuwplaatjes, waar het bloed in haarvaten stroomt. Op deze wijze ontstaat een gesloten systeem voorzien van zeer veel kleine openingen, die gelegen zijn tussen de kieuwplaatjes. Al het zuurstofrijke water, dat door de kieuwen gaat, stroomt daardoor langs de kieuwplaatjes (figuur 17 H). De kieuw is — alleen bij levende vissen — een nauwmazige zeef. De hoge utilisatie wordt eveneens bereikt door het tegenstroomprincipe: het bloed in de kieuwplaatjes stroomt ten opzichte van het zuurstofrijke water langs deze kieuwplaatjes in tegengestelde richting (figuur 17 H).

Met behulp van spieren kunnen de filamenten bewogen worden waardoor de toppen van elkaar gaan. Tegelijkertijd stuwt de vis dan een sterke waterstroom door de 'geopende' zeef door middel van een krachtige beweging van de bek en het wijd openen van de kieuwdeksels. De vis 'hoest' op deze wijze het in de zeef verzamelde vuil naar buiten. Bij andere lagere diergroepen is de scheiding tussen de inademings- en uitademingsruimte eveneens volledig.

Kreeftachtigen ventileren de inademingsruimte met behulp van gespecialiseerde kaakpoten (figuur 17 D en Biothema 2 pagina 90). Door de beweging van de kaakpoten om te keren lozen zij het verzamelde vuil.

Slakken en mossels zijn uitgerust met trilhaarsystemen in de mazen van de kieuwen, die het water voortstuwen (figuur 17 A, B en C). Een overdruk in de uitademingsruimte zorgt er voor dat het verbruikte water ver wordt weggestuwd en niet opnieuw het dier binnenkomt. De trilharen verzamelen het uitgezeefde vuil, dat ingekapseld in slijm door een gootsysteem naar de mond gebracht wordt: partikeleeters (figuur 17 A en C en Biothema 2 pagina 100). Hierdoor stroomt er een grote hoeveelheid water door deze kieuwen om aan voldoende voedsel te komen. De doorstroming van het bloed in de weefselspleten in de kieuw is gering. Hierdoor ontstaat een lage utilisatie: bij mossels 7%. Bovendien ontbreekt bij deze dieren het tegenstroomprincipe.

**b.** Tracheeën bij landdieren, met name insecten (ook bij landdieren die later in het water zijn gaan leven, zie VI-C). De oppervlakte-vergroting is inwendig. Het heeft de vorm van een vertakt buizenstelsel, dat de zuurstof tot diep in het insect brengt. De toegang tot iedere trachee is een opening die meteen kringspier en/of haren afsluitbaar is: het stigma. De voordelen zijn, dat hierdoor het uitdrogen en beschadigen van het ademhalingsepitheel sterk vermindert en dat de trachee de zuurstof in gasvormige toestand (hoogste diffusiesnelheid, zie II-B) bij het verbruikend orgaan brengt (zie figuur 18). Het einde van de trachee is gevuld met



Figuur 18. Ademhalingssystemen II. Longen en tracheeën.  
 Boven; de ontwikkeling (of evolutie) van de long toont een steeds groter worden van het inwendige oppervlak beschikbaar voor de gaswisseling.  
 Links onder: tracheënsysteem van een insect en stigmata voorzien van een stoffilter in geopende en gesloten toestand (n. Janet).  
 Rechts onder: de boeklong van een spin.

lichaamsvloeistof, zodat het laatste deel van de 'weg' een diffusiesnelheid heeft van een oplossing.

**c.** Boeklongen bij spinnen. De zuurstof passeert het ademhalingsepitheel dat in evenwijdige bladvormige plooien hangt.

Zo dringt het in de lichaamsvloeistof door (figuur 18).

**d.** Longen bij alle lucht ademende Vertebraten en enkele Evertebraten (long-slakken). In tegenstelling tot de tracheeën hebben longen geen directe transportfunctie.

De inwendige oppervlaktevergroting bereikt hoge waarden door een gekamerde opbouw, welke afhankelijk van de behoefte van de soort zeer sterk kan zijn doorgevoerd (figuur 18). De kleinste kamertjes zijn de alveoli (longblaasjes) met (bij de mens) een diameter van 0,2 mm. Het vochtige ademhalingsepitheel vormt de wand van circa 750 miljoen alveoli en heeft een totale oppervlakte van ongeveer 200 m<sup>2</sup> (de menselijke huid is 1,5 m<sup>2</sup>!). Ieder longblaasje is omgeven door een netwerk van bloedvaatjes.

De totale oppervlakte van deze capillairen bedraagt ongeveer 300 m<sup>2</sup>.

**e.** Ventilatie. Door het optreden van diffusie zal het abrupte verschil in zuurstofspanning tussen de 'buiten' en de 'binnenzijde' van een ademhalingsepitheel na enige tijd hebben plaatsgemaakt voor een geleidelijk op (of af-)lopende gradiënt.

De beide, aan weerszijden van het epitheel gelegen, grenslagen hebben dan een nagenoeg even hoge zuurstofspanning. De diffusie van zuurstof door het epitheel komt nu vrijwel tot stilstand. De organismen waarbij dit tot zuurstofgebrek leidt (waterdieren, landdieren met diepliggende ademhalingsorganen) herstellen door ventilatie het voor de diffusie zo belangrijke spanningsverschil. Ventilatie betekent dus het door mechanische arbeid vervangen van de zuurstofarme grenslaag vlak tegen de 'buitenzijde' van het ademhalingsepitheel door vers zuurstofrijk water of lucht. Soms voldoet het simpel rondzwemmen (*Daphnia*, *Paramecium*) of het maken van wapperende bewegingen (*Tubifex*); vaker zijn pompbewegingen nodig (insecten, vertebraten).

Het is duidelijk dat 'luchtademers' voor hun ventilatie veel minder spierarbeid hoeven te verrichten dan 'waterademers'. Het verdrinken van longademers berust op het onvermogen van de tussenribspieren om een voldoende hoeveelheid water uit hun longen te persen.

Bij de mens wordt ongeveer 500 ml in- en uitgeademd (in rust); dit is circa 16% van het longvolume. Bij bijvoorbeeld walvissen kan dit oplopen tot meer dan 90%.

#### **IV. Het inwendige transport van de zuurstof naar de cellen**

Bij zeer kleine organismen is iedere cel voor zuurstofmoleculen gemakkelijk bereikbaar (zie III-B).

Terwijl tracheeën tamelijk verspreid over het lichaam voorkomen zijn kieuwen en longen compacte, geïsoleerd liggende organen. Zij kunnen veraf gelegen cellen slechts bereiken door hun koppeling aan het bloedvaatstelsel. De capillairen hiervan liggen in groten getale vlak tegen de binnenzijde van het ademhalingsepitheel. Tussen het ademhalings-epitheel en het epitheel van de haarvaten bevindt zich de lichaamsvloeistof als overdrachtsmedium. De voordelen hiervan zijn:

1. Samen met de ventilatie leidt de bloedsomloop ertoe dat het voor de diffusie zo belangrijke maximale spanningsverschil tussen de zuurstof (en het kooldioxide) aan binnen- en buitenzijde van het epitheel blijft bestaan. Naar binnen gediffundeerde zuurstofmoleculen worden direct afgevoerd. Nieuwe kooldioxide-moleculen worden aangevoerd.
2. De diffusie is voor het gastransport op lange trajecten uitgeschakeld. Er kan nu gericht (door bloedvaten) en snel (door de mechanische voortstuwing) transport plaatsvinden.



Bloedplasma is als oplosmiddel voor gassen nogal ongeschikt. Door de aanwezigheid van vele andere opgeloste moleculen en zijn soms hoge temperatuur (bijvoorbeeld 37 °C!) kan het slechts 4,5 ml zuurstof per l bevatten (zuiver water bij 37 °C ± 7 ml/l en bij 15 °C ± 10 ml/l).

Het zuurstofopnemend vermogen van het bloed wordt sterk vergroot, wanneer het plasma stoffen bevat die bij hoge zuurstofspanning zuurstof binden en deze bij lagere zuurstofspanning loslaten. Omdat deze stoffen meestal gekleurd zijn, noemt men ze bloedpigmenten. Bekende bloedpigmenten zijn: hemoglobine Hb, lichtrood in zuurstof dragende toestand, donkerrood in de aanwezigheid van kooldioxide, moleculaire massa 68.000, aanwezig bij vrijwel alle diergroepen met een bloedvaatstelsel) en hemocyanine (Hcy, blauw in zuurstof dragende toestand, kleurloos of bruin in de aanwezigheid van kooldioxide, moleculaire massa 5.000.000, bij inktvissen, kreeften, krabben, longslakken en schorpioenen). Het Hcy is altijd vrij in het bloedplasma opgelost. Het Hb komt bij de gewervelde dieren altijd binnen (rode) bloedcellen (erythrocyten) voor. Het voordeel hiervan is onder meer dat de viscositeit van het bloedplasma laag blijft. Bij de ongewervelde dieren is het Hb, indien aanwezig, meestal in het bloedplasma opgelost.

N.B. Bij veel vertebraten treft men in het spierweefsel een hemoglobine aan met een moleculaire massa van ongeveer een kwart van dat van het bloed-Hb.

Dit spierhemoglobine of myoglobine kan van belang zijn bij het vormen van een zuurstofvoorraad in het spierweefsel. (De functie van het myoglobine is nog niet geheel zeker vastgesteld).

Ieder Hb-molecuul bevat vier haem-groepen, die ieder één Fe-atoom dragen, terwijl aan ieder Fe-atoom 1 molecuul zuurstof los gebonden kan worden. Chemisch gezien is deze zuurstofbinding een oxidatie; de valentie van het Fe verandert namelijk niet. Men duidt deze binding aan met de term oxygenatie. De vier onoplosbare haemgroepen worden door koppeling aan het eiwit globine in water oplosbaar. Wanneer menselijk Hb volledig met zuurstof is verzadigd — dat wil zeggen dat aan ieder molecuul haem-Fe één molecuul zuurstof gebonden is — bevat het bloed 200 ml zuurstof per l. (Vergelijk met het maximale zuurstofgehalte van het plasma; in het plasma van 1 liter bloed is 4,5 ml zuurstof opgelost.) Het Hb vertoont een sterke affiniteit voor zuurstof en een zwakkere voor kooldioxide. Vanwege de hoge zuurstofspanning in de alveolaire lucht zal in de long (of kieuw) een groot gedeelte van het Hb overgaan in HbO<sub>2</sub> (oxyhemoglobine). In de weefsels verliest het HbO<sub>2</sub> de zuurstof voornamelijk door twee oorzaken:

- A.** de lage zuurstofspanning in het weefsel brengt een diffusie van zuurstof naar de cellen op gang.
- B.** HbO<sub>2</sub> staat zuurstof af bij lagere pH. Deze lagere pH is in het weefsel inderdaad aanwezig. Het daar geproduceerde kooldioxide is hier namelijk opgehoopt in de vorm van het vrij zwakke koolzuur H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Dit 'verdringen' van de zuurstof uit het HbO<sub>2</sub> door kooldioxide heet het BOHR-effect.
- C.** Ook verhoging van de temperatuur bevordert de afgifte van zuurstof. Dit is vooral in het spierweefsel het geval.

Het globine van het Hb kan in het weefsel een geringe hoeveelheid kooldioxide binden en later afgeven in het ademhalingsorgaan. Het draagt zo bij tot een verhoogde afvoer van het in de cellen gevormde kooldioxide. Het grootste gedeelte van het kooldioxide wordt als HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> door het bloedplasma getransporteerd.

## **V. De celademhaling**

Hierover vindt men informatie in T-38.

## VI. Samenvatting en enkele bijzondere aanpassingen

De ademhalingsfysiologie heeft aan het licht gebracht dat het voorkomen van bepaalde ademhalingsystemen tamelijk onafhankelijk is van de systematische plaats der diersoorten. De hierboven besproken factoren vormen — op allerlei wijzen gecombineerd en stuk voor stuk zwakker of sterker aanwezig — een eindeloze reeks van mogelijkheden waarop organismen in hun zuurstof behoefte te en hun kooldioxideafgifte voorzien.

Enkele bijzondere aanpassingen:

### A. Vogels:

Uit iedere long lopen ongeveer vijf luchtzakken tussen spieren en organen.

Door spierbewegingen in de rest van het lichaam (bijvoorbeeld vliegen!) worden deze luchtzakken beurtelings samengeknepen en geopend, zodat de lucht in de long circuleert en niet van stroomrichting wisselt zoals dat bij de zoogdieren het geval is. De zware vliegspieren roepen naarmate zij harder werken een krachtiger ventilatie op.

### B. Walvissen:

De ademhaling van de diep (en lang) duikende soorten van deze zoogdieren is aan hun levenswijze aangepast door:

- Kleine longen (gemakkelijker duiken) en zeer veel myoglobine (voorraad!) in het spierweefsel. Na krachtig ademen bevatten deze respectievelijk 9% en 41% van de opgenomen zuurstof (bij de mens respectievelijk 34% en 13%).
- De ventilatie wordt niet — zoals bij landzoogdieren — gestimuleerd door een verhoogd kooldioxidegehalte van het bloed. Dit zou onder water fataal zijn.
- De oxidatie in de cellen verloopt (behalve in de hersenen) tot de vorming van melkzuur. Hierbij komt wel energie vrij maar wordt geen zuurstof verbruikt (zie T-38). De verdere oxidatie wordt uitgesteld tot aan de oppervlakte, waarbij dan per ventilatiebeweging 90% van de longinhoud wordt ververst! (bij de mens na duiken ongeveer 75%, normaal 15%). Dit mechanisme stelt walvissen in staat tweemaal zo lang onder water te blijven als te verwachten zou zijn bij een volledige oxidatie.

### C. Fysische kieuw:

Enkele lucht ademende geleedpotigen (insecten, spinnen) zijn gedurende de evolutie secundair waterdieren geworden, waarbij zij — door de ondoorlaatbaarheid van hun chitinehuid — hun tracheeën (of boeklongen) moesten blijven benutten. De onder water verbruikte zuurstof wordt uit het water aangevuld. Een beperkende factor hierbij is het geringe oppervlak waardoor de zuurstof uit het water de trachee kan binnen diffunderen, namelijk de doorsnede van de stigmata! Dit diffusieoppervlak wordt sterk vergroot, door van het wateroppervlak een luchtbel mee te nemen en deze boven de stigmata vast te houden (bijvoorbeeld met haren). Het voor diffusie beschikbare oppervlak is nu namelijk het oppervlak van de bel, die men daarom fysische kieuw noemt. Men heeft gemeten dat de zuurstof opname uit het water door de waterwantsen *Notonecta* en *Corixa* met bel vijf tot acht maal zo groot is als zonder gasbel. De watertor *Hydrous* kan zonder bel 15 minuten en met bel 6 uur in goed doorlucht water onder blijven. Door verbruik van zuurstof uit de bel en diffusie van stikstof uit de bel, wordt deze steeds kleiner, waardoor de kieuwwerking afneemt. Het kooldioxide, die door het organisme aan de gasbel wordt afgestaan, lost op in het omringende water en neemt daardoor geen deel meer aan het gasmengsel.

Wanneer men boven goed doorlucht water zuiver stikstof brengt en men laat de waterwants *Corixa* hieruit zijn bel met stikstof vullen in plaats van met atmosferische lucht, dan blijft het dier onder water in leven doordat het uit het

water zuurstof in de bel kan opnemen. De veel gehoorde bewering dat de luchtbel bij waterinsecten uitsluitend een 'zuurstofvoorraad' is, is hiermee weerlegd.

**Vragen:**

2. Hoeveel liter bloed, zonder rode bloedcellen en dus zonder Hb, zou een mens moeten hebben om — bij gelijkblijvende zuurstofbehoefte — toch in deze behoefte te kunnen voorzien?
3. Welke consequenties zou dit voor de lichaamsbouw hebben?
4. Zijn de kieuwen van een vis ook uitwendig? Licht het antwoord toe.
5. De ademfrequentie van pasgeboren baby's is 62/min., van een volwassene 25/min. Hoe is dit te rijmen met de voordelen die kleinere organismen bij hun ademhaling zouden hebben boven grote organismen?

T-16 De mossel (*Mytilus edulis* L.)

**Benodigheden:**

- levende mosselen of uit de diepvries.  
De helft van het aantal mosselen wordt gedurende 10 minuten gekookt.
- prepareerbakken, scalpels, sondes en scharen.
- 3% keukenzoutoplossing.
- karmijnpoeder.
- 1N zoutzuur (= 3,4% HCl).

**Uitvoering:**

Iedere leerling krijgt een verse mossel en een gekookte mossel.

**a. Uitwendig** (figuur 19).

De schelp (2) bestaat uit twee kleppen, die met een elastische slotband (1) aan elkaar bevestigd zijn. Met in elkaar passende richels en gleuven kunnen de beide kleppen scharnierend in het slot bewegen. Als het dier levend is kan het met twee spieren de schelpen sluiten. Een dode mossel 'gaapt' doordat de elastische slotband de kleppen open trekt. De schelpen bestaan uit calciumwaterstofcarbonaat (= calciumbicarbonaat =  $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ ), dat aan de buitenkant bedekt is door een hoornachtig laagje conchine (29). Het calciumwaterstofcarbonaat is in water oplosbaar, het hoornachtig laagje sluit het calciumwaterstofcarbonaat van het water af. Het binnenvlak van de klep bestaat uit parelmoer, dat door de gehele oppervlakte van de mantel gevormd wordt. Dit parelmoer is opgebouwd uit zeer dunne laagjes calciumcarbonaat ( $\text{CaCO}_3$ ). De parelmoerkleuren ontstaan door interferentie van het in de kalklaagjes gebroken en teruggekaatste licht. De sterk gebogen kant van de schelp is de rugzijde van het dier met de slotband. De vlakke of zwak holle kant is de buikzijde. De spitse punt is de voorkant, de ronde punt is de achterkant. De zoetwatermossels (*Anodonta spec.* en *Unio spec.*) steken voor de helft met de spitsere zijde in het zand. De bolle achterkant komt boven het zand uit.

**Opdrachten en vragen:**

1. Teken het zijaanzicht van de schelp en geef de groeiringen aan.
2. Wat is de functie van de umbo?
3. Wat is de functie van de mantelrand?
4. Bekijk een dwarsdoorsnede van de schelp en de mantel met de microscoop.

**b.** Inwendig (figuur 19).

- neem de gekookte mossel. Snij aan één kant de sluitspieren los van de schelp, door met een mes achteraan langs de schelp te steken. Zoek de hieronder genoemde onderdelen op.

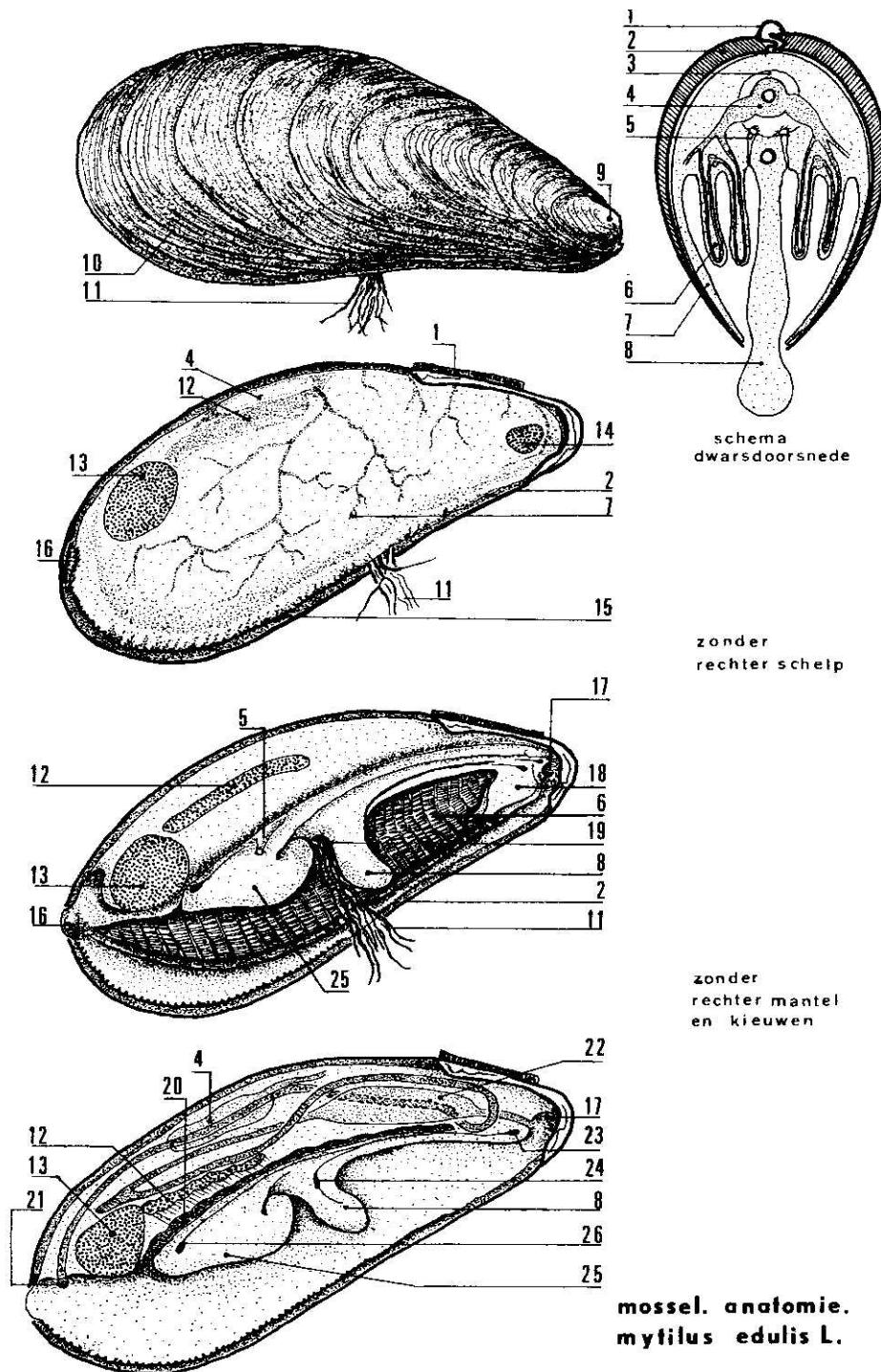
Het dier is opgeborgen in een dorsale huidplooi, de mantel (7). De mantelranden (15) zijn aan de (ronde) achterkant van het dier gedeeltelijk met elkaar vergroeid, zodat daar een opening gevormd wordt: de uitstroomopening (16), waardoor het verbruikte water en de uitwerpselen naar buiten komen. Binnen de mantel liggen twee aan twee de kieuwen (6). Binnen de kieuwparen ligt aan de (spitse) voorkant de mond met de vier aanhangsels: mondlappen (18). Verder naar achteren ligt de bruinachtig-paarse voet (8), waarmee de mossel zich kan verplaatsen. Nog verder naar achteren ligt een verhoging: de byssusklier (19) met daaraan de byssus of baard (11). Met deze uit een eiwitachtige substantie bestaande byssusdraden kan de mossel zich aan een vaste ondergrond vasthechten. De baarddraden kunnen met spieren strak getrokken worden, Deze zijn als schuin lopende lichte banden in het lichaam te vinden. Er zijn twee sluitspieren: een grote aan de ronde achterkant (13) en een kleine aan de spitse voorkant (14). De grote achterste sluitspier is soms in twee delen verdeeld. Aan de binnenkant van de kleppen is de plaats te zien waar de spieren vastgehecht waren. De plaats van deze indrukken en de vorm van de mantellijn zijn kenmerkend voor een bepaalde soort en worden benut bij de systematische indeling. Het zenuwstelsel bevat drie ganglia (zenuwknopen): één bij het mondgedeelte (23), één bij de achterkant (26) en één bij de voet (24). De ganglia zijn slechts zeer moeilijk te vinden. De kieuwen (6) dienen voor de ademhaling én voor het vangen van voedsel. Zij dragen trilharen die voor de waterstroming zorgen en die het voedsel naar de mondopening (17) vervoeren.

- neem nu de verse mosselen. Snijd met een mes voorzichtig de achterste sluitspier los. Beweeg hiertoe het mes vlak langs de schelp zodat de mantel en andere delen zo weinig mogelijk beschadigd worden.
- trek de twee kleppen ongeveer 1 cm van elkaar. In het geopende doosje is nu de mantel, tegen de kleppen aan liggend, te zien, evenals de doorgesneden sluitspier, de uitstroom-opening, de voet, de baard, de lichtbruine kieuwplaten, de mondlappen en de ingewandszak (25).
- zorg dat het dier niet uitdroogt. Nat houden met de 3% NaCl-oplossing.
- teken de ligging van de organen.
- toon de tastgevoeligheid van de zintuigpapillen in de mantelrand aan.
- toon met enkele korreltjes karmijnpoeder op de kieuw aan hoe de richting van het voedseltransport op de kieuw geschiedt. Bekijk dit met de loep.
- maak van de rand van een kieuw een microscopisch preparaat door een stukje van enkele mm<sup>2</sup> in een druppel 3% NaCl-oplossing te leggen. Bekijk de trilhaarbewegingen onder de microscoop.
- doe in een reageerbuis met 1 N HCl-oplossing enkele stukjes schelp.  
Aan welke kant van de schelp is er gasontwikkeling te zien? Verklaar dit.

N.B. Alle gebruikte gereedschappen goed afspoelen met leidingwater en daarna afdrogen.

**Vragen:**

- 5.** Waarom komt de zoetwatermossel met de stompe achterkant boven het zand?
- 6.** Hoe verplaatst de mossel zich met zijn voet?
- 7.** Wat is de functie van de bloedvaten in de mantel?
- 8.** Waarom loopt het darmkanaal door het hart?



Figuur 19. *Mytilus edulis* L. Mossel.

Anatomie. 1 = slotband; 2 = schelp; 3 = hartzakje; 4 = hart; 5 = nieropening; 6 = kieuwen; 7 = mantel met bloedvaten; 8 = voet; 9 = umbo; 10 = groeiringen; 11 = byssusdraden (baard); 12 = spier voor de voet; 13 = achterste sluitspier; 14 = voorste sluitspier; 15 = mantelrand met zintuigpapillen; 16 = uitstroomopening (sipho); 17 = mondopening; 18 = rechter mondlappen; 19 = byssus- of baardklier; 20 = nier; 21 = anus; 22 = maag; 23 = hersenganglion; 24 = voetganglion; 25 = ingewandszak met gonaden; 26 = ingewandsganglion; 27 = darmkanaal; 28 = slot; 29 = conchine.

## T-17 Adembewegingen bij vissen

### **Benodigdheden:**

- kleine aquariumbak
- 1 goudvis, karper, voorn of een andere traag zwemmende (tropische) vis.
- Pasteurse pipet.
- Oost-Indische inkt.
- koppen van verse makrelen of schelvis.  
Enkele koppen in de vriesruimte van een koelkast invriezen.
- figuurzaag of andere kleine scherpe zaag, eventueel scherp gekarteld broodmes.

### **Uitvoering:** (met niet meer dan 3-4 personen tegelijk uit te voeren)

- breng in een klein aquariumbakje een goudvis, voorn of een andere vis waarbij de adembewegingen goed te zien zijn. De temperatuur van het water moet optimaal zijn voor de betreffende vissoort.
- bestudeer welke organen (mond, operculum (= kieuwdeksel), kieuwdekselrand, mondbodem, etc.) in beweging zijn en in welke volgorde zij bewegen.
- laat de vis even tot rust komen en tracht met behulp van een Pasteurse pipet een druppel Oost-Indische inkt vlak voor de bek van de vis in het water te brengen. Bij zeer langzaam bewegen lukt dit vooral bij de goudvis vrij gemakkelijk. Trek uit de baan van de Oost-Indische inkt een conclusie ten aanzien van de stroomrichting van het water tijdens de adembewegingen.
- van de kop van een verse makreel of schelvis wordt het operculum verwijderd. Bestudeer het zijaanzicht van de kieuwen.
- een bevroren kop wordt in de lengterichting van de kop middendoor gezaagd; de zaagsnede loodrecht op het dorsoventrale vlak en ongeveer midden tussen buik en rug. Het zagen vindt plaats vanaf de mond en zonder hard in de kop te knijpen. Bestudeer het aldus verkregen bovenaanzicht van kieuwen, kieuwbogen en kieuwholte (zie figuur 17).

### **Opdracht:**

Breng de verkregen gegevens met elkaar in verband en reconstrueer nauwkeurig wat er tijdens de adembeweging van een vis gebeurt.

## T-18 Frequentie van de adembewegingen bij vissen

### **a. De invloed van het zuurstof- en het kooldioxidegehalte van het water. Methode 1**

#### **Benodigdheden:**

- goudvis, voorn, zeelt, grondel of kleine snoek.
- glazen of perspex cilinder van  $\pm 20$  cm lengte en  $\pm 25$  cm binnendiameter afsluitbaar met:
  - twee doorboorde stoppen.
- 20 liter zuurstofrijk water (zie voorbereiding).
- 1 liter zuurstofarm water (zie voorbereiding).
- 1 liter  $\text{HCO}_3^-$  ionen bevattend water (zie voorbereiding).
- glazen buisjes, rubberslang, slangklemmen volgens Hoffmann, pH-papier.
- 3 of meer grote bakken.
- statief.

### Vorbereiding:

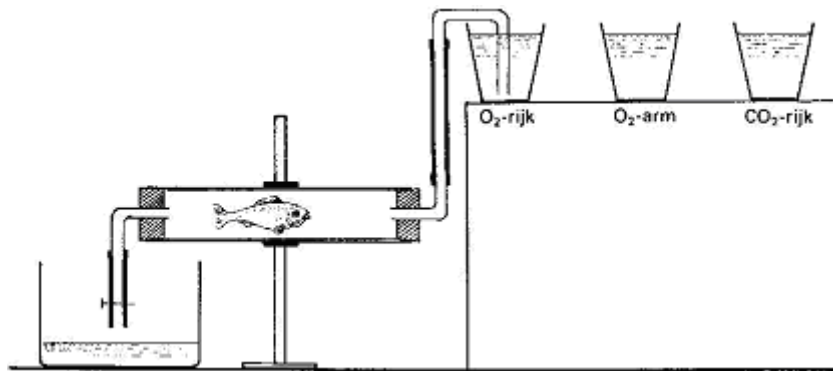
Zuurstofrijk water verkrijgt men door water gedurende een halve dag via een aquariumsteentje te doorluchten.

Zuurstofarm water verkrijgt men door water dat enige tijd gekookt heeft zonder roeren of schudden te laten afkoelen.

Kooldioxiderijk water kan men zeer eenvoudig maken door aan leidingwater voorzichtig vers spuitwater toe te voegen. Het doorleiden van  $\text{CO}_2$  uit een gascilinder is alleen correct als men de hiermee gepaard gaande zeer sterke afkoeling van het aquariumwater zonder verlies van  $\text{CO}_2$  ongedaan weet te maken. Kooldioxide werkt verdovend.

Men kan experimenteren met verschillende concentraties kooldioxide: 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4% en 0,5%. Los daartoe respectievelijk 1 gram, 2 gram, 3 gram, 4 gram en 5 gram vers  $\text{NaHCO}_3$  op per liter water. Meet van alle oplossingen de zuurgraad.

De te gebruiken oplossingen dienen alle dezelfde kamertemperatuur te bezitten.



Figuur 20. Proefopstelling voor het meten van de ademfrequentie bij vissen in afhankelijkheid van verschillende milieufactoren.

### Uitvoering:

- maak een proefopstelling zoals aangegeven is in figuur 20 en laat zoveel zuurstofrijk water door de cilinder stromen (driemaal het volume van de cilinder) dat men kan aannemen dat deze geheel gevuld is met het te onderzoeken water. Het water stroomt weg door te knijpen met de slangklem.
- meet driemaal gedurende een halve minuut de bewegingen van de mond of de kieuwdeksels.
- noteer de resultaten in tabel 2 en reken het gemiddelde uit.
- laat vervolgens zuurstofarm water door de cilinder stromen zoals aangegeven is bij zuurstofrijk water.
- meet driemaal gedurende een halve minuut de bewegingen van de mond of de kieuwdeksels.
- noteer de resultaten in de tabel en reken het gemiddelde uit.
- laat vervolgens wederom zuurstofrijk water door de cilinder stromen zoals hierboven aangegeven is.
- meet de bewegingen van de mond of de kieuwdeksels: als de 'ademfrequentie' weer normaal is, laat dan
- natriumbicarbonaat bevattend water door de cilinder stromen. De  $\text{HCO}_3^-$  ionen kunnen via de kieuwen in het bloed van de vis doordringen.
- meet driemaal gedurende een halve minuut de bewegingen van de mond of de kieuwdeksels.
- noteer de resultaten in de tabel en reken het gemiddelde uit.

**Vragen:**

1. Welke invloed heeft de verlaging van de zuurstofconcentratie op de adembewegingen?
  2. Welke invloed heeft de verhoging van de  $\text{HCO}_3^-$  ionenconcentratie op de adembewegingen?
- vul de benodigde voorraadbakken met de verschillende bicarbonaatoplossingen.
  - laat de bicarbonaatoplossingen van verschillende concentratie achtereenvolgens door de cilinder stromen en tel voor iedere concentratie de bewegingen van de mond of de kieuwdeksels driemaal gedurende een halve minuut.
  - noteer de resultaten in tabel 2 en reken het gemiddelde uit.
  - laat na iedere concentratie bicarbonaat zuurstofrijk water doorstromen.
  - geef de gemiddelde resultaten in een diagram weer.

**Vraag:**

3. Wat is de invloed van stijgende  $\text{HCO}_3^-$  ionenconcentraties op de ademfrequentie?

**Tabel 2**

MILIEU	meting 1	meting 2	meting 3	gem.
ZUURSTOFRIJK				
ZUURSTOFARM				
0,1% $\text{NaHCO}_3$				
0,2% $\text{NaHCO}_3$				
0,3% $\text{NaHCO}_3$				
0,4% $\text{NaHCO}_3$				
0,5% $\text{NaHCO}_3$				

**b. De invloed van het zuurstof- en het kooldioxidegehalte van het water.  
Methode 2****Benodigheden:**

- goudvis, karpers, voorn, zeelt, grondel of kleine snoek.
- leidingwater, kooldioxiderijk water, zuurstofarm water.
- twee aquaria.
- melkfles.
- gaasweefsel, elastiek, ijzerdraad.

**Vorbereiding:**

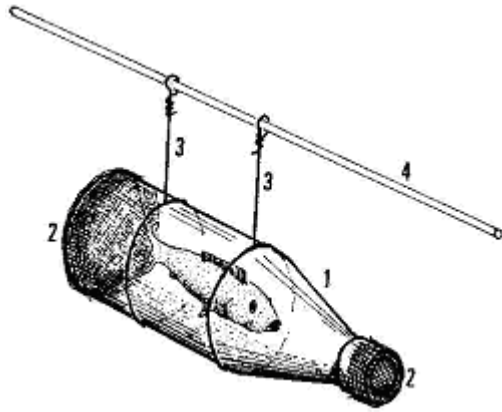
Voor het overbrengen van de vis van de ene aquariumbak naar de andere wordt een 'kooi' vervaardigd zoals in figuur 21 aangegeven.

Voor zuurstofrijk, zuurstofarm en kooldioxiderijk water, zie onder a.

**Uitvoering:**

- in een met leidingwater gevulde aquariumbak brengt men de vis, waarbij de adembewegingen goed te zien zijn en bepaalt het aantal adembewegingen per tijdseenheid.
- de vis wordt overgebracht in een bak met kooldioxiderijk water en men bepaalt wederom het aantal adembewegingen per tijdseenheid.





Figuur 21. Een 'kooi' voor het onderzoeken van de adembewegingen van een vis en voor het transporteren van deze vis van de ene omgeving naar de andere.

- breng de vis terug in de eerste bak met leidingwater totdat de frequentie van de adembewegingen weer ongeveer gelijk is aan de eerste meting.
- de vis wordt overgebracht in een bak met zuurstofarm water en men bepaalt het aantal adembewegingen per tijdseenheid.

**Vraag:**

4. Wat kunt U uit de gevonden waarden concluderen omtrent de prikkel waar de vis op reageert?

**c. De invloed van de temperatuur**

**Uitvoering:**

- in een met water van 10 °C gevulde aquariumbak brengt men een vis en bepaalt het aantal ventilatiebewegingen per minuut.
- herhaal deze waarnemingen twee of meermalen. Bepaal het gemiddelde.
- vervang het water voorzichtig door water van 12 °C door toevoeging van warm water. Bepaal de ventilatiebewegingen per minuut.
- herhaal deze waarnemingen twee of meermalen. Bepaal het gemiddelde.
- ga hier mee door, door telkens het water 2 °C in temperatuur te verhogen. Maximaal tot 24 °C.
- maak dezelfde waarnemingen maar nu bij dalende temperatuur.

**Opdracht:**

5. Zet in een diagram de gemiddelde ventilatiebewegingen uit tegen de temperatuur (Biothema 1 figuur 3A).

T-19 Bouwen werking van zoogdierlongen

**Benodigdheden:**

- longen van rund, varken of andere zoogdieren, te betrekken van een slachthuis. Deze longen dienen zo mogelijk nog paarsgewijs aan de luchtpijp vast te zitten. Ze dienen vochtig vervoerd en bewaard te worden, bijvoorbeeld in een plastic zak. Op het practicum moeten ze zo vers mogelijk zijn.
- prepareerbakken, scalpels, sondes en scharen.
- fysiologische zoutoplossing = 0,9% keukenzoutoplossing.
- voorwerpglasjes met een uitholling.
- eventueel diepvrieskist of groot vriesvak in een koelkast (long invriezen).

**Uitvoering:**

- ontdoe — indien nodig — de longen van de pleurae (borstvlies en longvlies), zodat het sponsachtige weefsel aan alle zijden zichtbaar is. Houd hierbij de buitenzijde van de long steeds vochtig met een fysiologische zoutoplossing.
- bestudeer en teken de uitwendige opbouw van de longen.
- imiteer de inademingstoestand van de longen door lucht in de long te blazen met behulp van een stuk fietsband dat luchtdicht om de trachea bevestigd wordt (vasthouden of met behulp van elastiek).
- snij, met behulp van twee scherpe scalpels, een stukje longweefsel van, enkele mm<sup>2</sup> los zonder het plat te drukken. Breng het, gelegen op het lemmet van een der scalpels, over in een druppel fysiologische zoutoplossing. Bestudeer dit stukje met een loep (ook in tegenlicht), eventueel met een microscoop (op een objectglas met een ingeslepen holte).

Men kan een long enkele uren in de diepvries leggen en op het practicum doorzagen, bijvoorbeeld met een gekarteld broodmes (demonstratie). Bestudeer het inwendige verloop der bronchi door deze te sonderen.

**Vragen:**

1. Zijn beide longen van een paar even groot? Verklaar.
2. Is het opblazen van een long een exacte imitatie van een inademing? Verklaar.
3. Wat is de functie van het (hier verwijderde) borstvlies (pleura parietalis)?
4. Hoe ontstaat onderdruk tussen de pleurae en welke functie heeft die onderdruk?

**T-20 Ademhaling bij de mens:**

meting vitale capaciteit en normaal ademvolume

**a. Vitale capaciteit**

De vitale capaciteit is de hoeveelheid lucht die wij door ventilatie maximaal kunnen verplaatsen. De grootte van de vitale capaciteit hangt af van de leeftijd, de grootte, de lichaamsbouw en het geslacht van de proefpersoon. Door training kan de vitale capaciteit worden vergroot.

**Benodigheden:**

- een glazen luchtpompklok, inhoud ongeveer 10 liter.
- een grote aquariumbak.
- een rechte kraan met ingeslepen massieve plug.
- een waterstraalluchtpomp (met terugslagventiel).
- enkele meters rubberslang, fluoresceïne, klosjes of statief.
- een L-vormige glazen buis, minimale doorsnede 8 mm.

**Vorbereiding:**

De glazen, van een hals en mond voorziene, klok wordt aan de buitenkant voorzien van een schaalverdeling in halve liters, oplopend vanaf de hals van de klok naar beneden. De klok wordt geplaatst in de aquariumbak met water waaraan, terwille van de zichtbaarheid, de kleurstof is toegevoegd. Het water in de klok en in de bak moet communicerend blijven. Men plaatst hiertoe de klok op de klosjes of hangt deze op in het statief. De klok wordt afgesloten met een doorboorde stop, waarin zich de buis van de rechte kraan bevindt. De andere zijde van de kraan verbindt men via een slang met een waterstraalluchtpomp, of krijgt

alleen een los stuk slang. De klok wordt met behulp van de waterstraalpomp of met de mond (dit laatste gaat sneller) volgezogen met water, waarna de kraan gesloten wordt. Vervolgens wordt de L-vormige (glazen) buis met het korte been onder de klok gebracht. Aan het lange been brengt men de rubberslang aan.

### **Uitvoering**

- men ademt zo diep mogelijk in.
- hierna ademt men — via het lange been van de L-vormige buis — in één keer zo diep mogelijk uit.
- lees op de schaalverdeling het volume van de uitgeademde lucht af.  
De gevonden waarde is de vitale capaciteit.

### **Opdracht:**

1. Ga de afhankelijkheid van de vitale capaciteit van de leeftijd, de grootte en de lichaamsbouw na door de vitale capaciteit bij diverse personen te bepalen.

### **b. Normaal ademvolume**

Dezelfde opstelling kan ook gebruikt worden om het normale ademvolume te bepalen.

### **Opdracht:**

2. Bepaal door — normaal, rustig ademend — een bekend aantal keren alleen de uitgeademde lucht in de klok te blazen, het totaalvolume en bereken door deling het gemiddelde ademvolume.

## T-21 Nabootsing middenrif ademhaling

### **Benodigheden:**

- een Y-vormige glazen buis (zie figuur 21).
- een glazen luchtpompklok, inhoud ongeveer 5 liter.
- doorboorde kurk of stop.
- twee luchtballonnetjes, garen.
- een aquariumbak.

### **Vorbereiding:**

Aan de vork van een Y-vormige glazen buis — voorstellende de trachea en de hoofdbronchi — worden luchtdicht twee luchtballonnetjes — voorstellende de longen — bevestigd. De aansluiting met garen omwikkelen.

Een doorboorde stop wordt op een glazen klok geplaatst en de Y-vormige buis vervolgens van onderen af in de luchtpompklok luchtdicht in de opening van de stop bevestigd.

Regel de hoogte van de 'longen' in de klok.

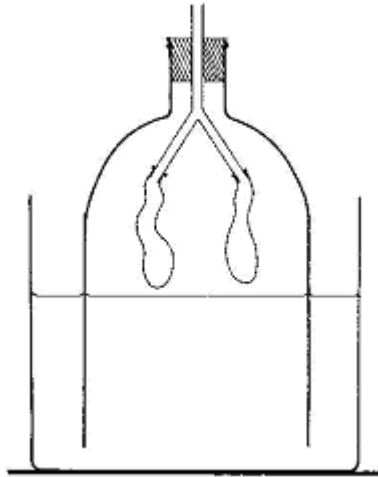
De klok wordt nu met stop en ballonnen in een aquariumbak met water geplaatst.

Het wateroppervlak onder in de klok stelt hierbij het middenrif voor.

Wanneer het water binnen en buiten de klok op gelijke hoogte staat sluit men de stop op de klok (figuur 22).

### **Opdracht:**

Verklaar de vormverandering die men aan de ballonnen waarneemt wanneer men de klok verticaal op en neer beweegt.



Figuur 22. Model voor de werking van het middenrif en de interpleurale druk bij de ademhaling.

## T-22 Transportsystemen bij dieren

### A. De noodzakelijkheid van transportsystemen

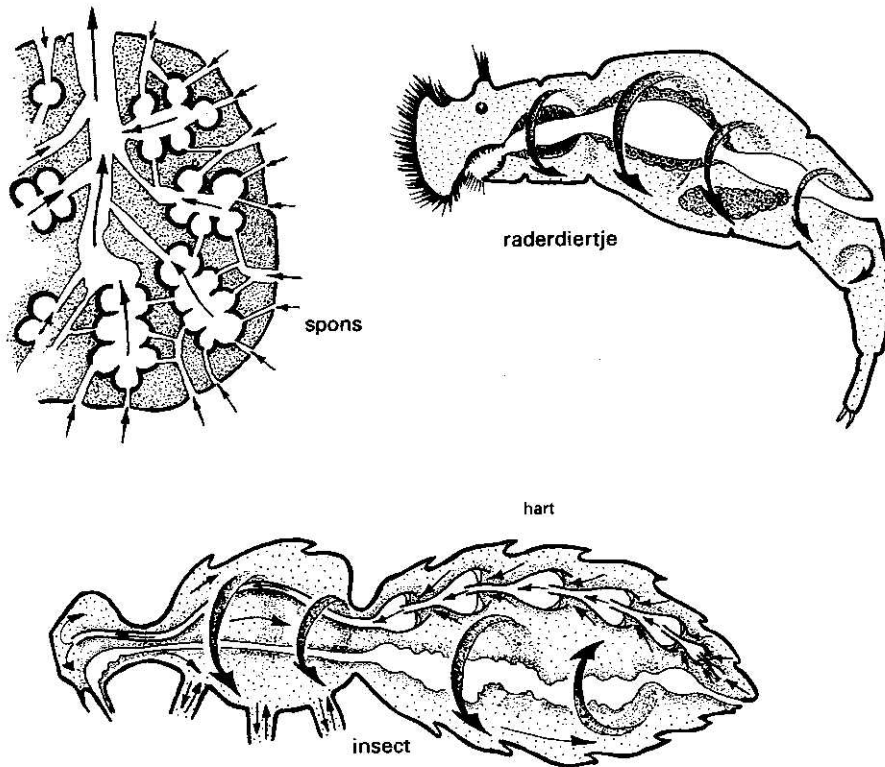
Teneinde in leven te blijven moet ieder deel van een dier op de juiste manier en op voldoende wijze voorzien kunnen worden van voedsel en zuurstof en moet dit deel tegelijkertijd zijn afbraakproducten kunnen kwijtraken. Alle voornoemde stoffen zijn oplosbaar in water. Zij kunnen in kleine dieren — zoals in Protozoa — door middel van diffusie worden verplaatst. Door de evolutie echter ontstonden dieren met een toenemende grootte en complexiteit. In deze dieren was diffusie niet meer toereikend. Het is een te langzaam verlopend proces. Gedurende de evolutie werd het dus noodzakelijk andere transportsystemen te ontwikkelen. Bij het eenvoudigste transportsysteem is er sprake van circulatie van het externe waterige medium. Dit wordt bij sponsen en holtedieren door kanalen getransporteerd, zodat het voedsel en de zuurstof die het medium bevat ieder deel van het lichaam kunnen bereiken (figuur 23). Platwormen en raderdiertjes maken gebruik van hun lichaamsvloeistof als transportmedium. De vloeistof wordt getransporteerd door contracties van de lichaamswand (figuur 23).

Insecten hebben een open bloedvatstelsel, waarbij ter voortstuwing wel een hart aanwezig is, doch het bloed de organen vrij omspoelt (figuur 23). De gewervelde dieren zijn in het bezit van een bloedvatstelsel voor het transport van stoffen.

### B. Het bloedvatstelsel

Bloedvatstelsels of transportsystemen worden gekenmerkt door:

1. een transportmedium, dat opgeloste stoffen bevat: het bloed;
2. een pomp, die voor de circulatie zorg draagt: het hart;
3. kleppen in de vaten, waardoor de bloedstroom in één richting verloopt;
4. bloedvaten, waardoor het bloed van en naar het hart stroomt;
5. uitwisseling van stoffen tussen weefselcellen en bloedvloeistof;
6. regulatie van de bloedtoevoer en afvoer afhankelijk van de wisselende behoefte van de weefsels;
7. het voorkomen van verlies van het transportmedium.



Figuur 23. Transportsystemen. Bij de spons circuleert het water door de kanalen en passeert de trilhaarkamers. Bij het raderdierkje circuleert de lichaamsvloeistof door de lichaamsholte. Bij het insect komt aan de rugzijde een 'hart' voor en is het bloedvatstelsel open: het bloed circuleert door de lichaamsholte.

### C. Open en gesloten systemen

De enige directe functie van het circulatiesysteem is de aan- en afvoer van stoffen naar de cellen overall in "het organisme. Hart, bloedvaten, kleppen en dergelijke zijn hierbij slechts hulpmiddelen.

In open systemen vloeit het bloed vrij langs alle cellen, zodat de aangevoerde stoffen direct via de celmembraan de cel in en ook de afbraakproducten direct uit de cel kunnen diffunderen.

Open systemen kan men aantreffen bij geleedpotigen en vele weekdieren. Het aan de rugzijde gelegen hart bij de geleedpotigen pompt het bloed door slagaders in de lichaamsholte waarin alle organen gelegen zijn. Daarna keert het terug naar een grote pericardiale holte, een holte die het hart omgeeft. Hieruit komt het vervolgens in het hart door gepaarde zijdelingse openingen, de ostia die voorzien zijn van kleppen (figuur 23). Bij de ringwormen, de inktvissen en de gewervelden, stroomt het bloed in een gesloten systeem. Er is bij een dergelijk systeem een veel hogere bloeddruk mogelijk. De weefsels zijn omgeven door weefselvloeistof (lymfe). De in het bloed opgeloste stoffen bereiken deze weefselvloeistof via de wanden van de haarvaten. Onder invloed van de bloeddruk wordt namelijk het bloedplasma door de wanden van de haarvaten geperst. Indien de juiste concentratieverhoudingen aanwezig zijn tussen weefsel vloeistof en celinhoud, diffunderen vervolgens de opgeloste stoffen vanuit de weefselvloeistof in de cellen en omgekeerd.

## **D. Enkelvoudige en dubbele omlopen**

Het hart van een vis ontvangt zuurstofarm bloed uit de weefsels. Door de contracties van de hartspier wordt het bloed naar de kieuwen gestuwd, waar het zuurstof opneemt en kooldioxide afgeeft. Nu stroomt het zuurstofrijke bloed rechtstreeks naar de weefsels. De druk waarmee het bloed het hart verlaat is de drijvende kracht voor de bloedstroom via de kieuwen naar de weefsels. Door het haarvatenstelsel van de kieuwen wordt deze kracht aanzienlijk verminderd. De stroomsnelheid van het zuurstofrijke bloed in de vis is daardoor vrij gering. Bij amfibieën en reptielen is deze situatie verbeterd. Het deel van de bloedsomloop, dat voor de gaswisseling zorgt is een apart en nevenstaand onderdeel van het circuit geworden.

Bij vogels en zoogdieren passeert het bloed het hart twee keer per complete omloop, daarom gebruikt men de term: dubbele omloop. Het hart is door het zogenaamde septum verdeeld in een linker en rechter deel. In het embryo staan deze beide helften met elkaar in verbinding, maar bij de geboorte wordt deze opening afgesloten.

Bij de mens bevond deze opening zich in de scheidingswand van beide boezems. De linkerzijde van het hart ontvangt altijd zuurstofrijk bloed en pompt dit naar de weefsels via slagaders. Zuurstofarm bloed bereikt de rechterzijde van het hart via aders. Dit zuurstofarme bloed wordt naar de longen gepompt vanuit de rechterzijde via de longslagaders en het komt, voorzien van zuurstof, via de longaders in de linkerzijde van het hart.

## **E. De noodzaak van een dubbele omloop**

Dieren met een minder intensieve stofwisseling zoals vele vissen, hebben een minder sterke bloedcirculatie nodig dan dieren met een intensieve stofwisseling, als gevolg van hun hogere — en constante — lichaamstemperatuur. Er is bij deze laatste groep dieren vraag naar meer zuurstof en meer voedingsstoffen in de weefsels. Een hogere bloeddruk zou een methode zijn geweest om aan de grotere vraag naar zuurstof en meer voedingsstoffen te voldoen. In een enkelvoudige bloedsomloop zou het gevolg dan zijn dat de bloedvloeistof door de hogere druk door de wanden van de haarvaten van de longen naar buiten wordt geperst. De enige oplossing was de ontwikkeling van een dubbel systeem, waarbij het bloed dat naar de longen, gaat een lagere druk heeft dan het bloed dat naar de weefsels gaat. Bij de mens is de bloeddruk in de longslagader ongeveer  $\frac{1}{5}$  van de druk in de aorta. Hoewel de rechterkamer het bloed onder een lagere druk wegpompt dan de linkerkamer, wordt toch door de beide kamers per slag dezelfde hoeveelheid bloed verplaatst,

## **F. De circulatie**

Gedurende 70 jaren wordt door het hart van een mens ongeveer  $227 \times 10^6$  liter bloed gepompt. In rust is dit 340 liter per uur en bij sterke inspanning 1364 liter bloed per uur. De stotende stroom bloed die het hart verlaat wordt opgevangen door elastische slagaders die daardoor het bloed gelijkmatiger laten stromen. Indien de bloedcirculatie stagneert treden er vrijwel onmiddellijk beschadigingen van de weefsels op.

Vier seconden stagnatie van de toevoer naar de hersenen zijn voldoende om ons duizelig te laten worden, zeven seconden geven bewusteloosheid tot schijndood, terwijl een periode van 9 minuten zonder zuurstof dodelijk is voor de hersencellen (apoplexie = beroerte).

De hartspier zelf ontvangt zuurstof via de kransslagaders: de coronairvaten. Indien een bloedstolsel één der coronair-vaten afsluit, sterft het daarbij behorende deel van de hartspier binnen een half uur (hartinfarct). Is het een belangrijk coronairvat dan treedt hartstilstand of hartverlamming op hetgeen vrijwel onmiddellijk de dood tot gevolg heeft. Een hartaanval kan vele vormen aannemen, van onregelmatige hartslag, hartblok (onderbreking van de ritmische samentrekkingen met een vertraging van de hartslag tot 20 per minuut) tot hartstilstand.

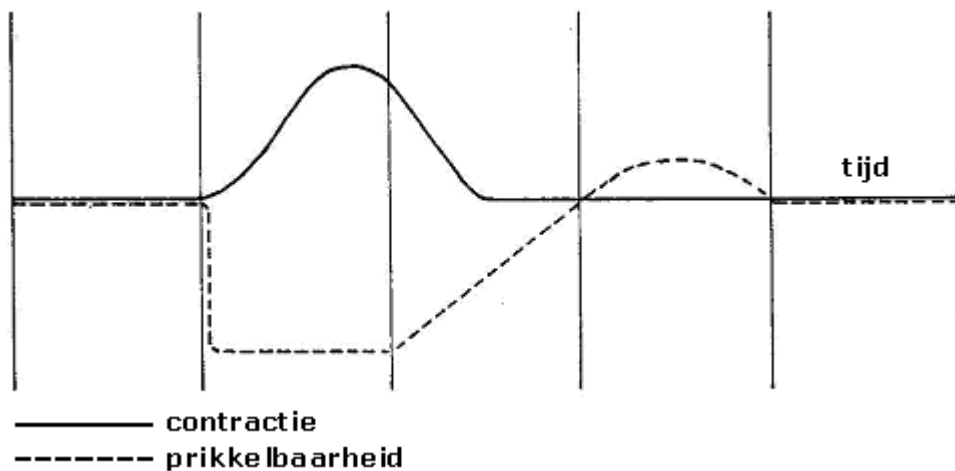
## G. Het hart

### a. Het hartspierweefsel

Het hart is opgebouwd uit dwarsgestreepte spiervezels (ze vormen syncytia). De korte vezels zijn aan de uiteinden met elkaar verbonden en hebben eveneens onderling ook nog dwarsverbindingen. Hierdoor is er sprake van een continu netwerk dat geschikt is voor de geleiding van impulsen van vezel naar vezel! Tussen deze spiervezels bevinden zich bloedvaten en bindweefsel.

Indien het spierweefsel contraheert en daarna ontspant moet het weer op de oorspronkelijke lengte worden teruggebracht. Bij skeletspieren gebeurt dit door zogenaamde antagonisten = spieren die de oorspronkelijke toestand herstellen (voorbeeld: biceps t.o.v. triceps). Een gecontraheerde spier wordt dus gestrekt door de contractie van de antagonist. Dergelijke antagonisten zijn niet in de hartspier aanwezig. Hier worden de bindweefselfibrillen door contractie van de hartspier gedeformeerd. Direct na het ontspannen nemen deze bindweefselfibrillen hun oorspronkelijke vorm weer in, waardoor de hartspierweefsels worden gestrekt. Hartspierweefsel kan nog krachtiger worden gestrekt door de coronair-vaten te vullen met bloed.

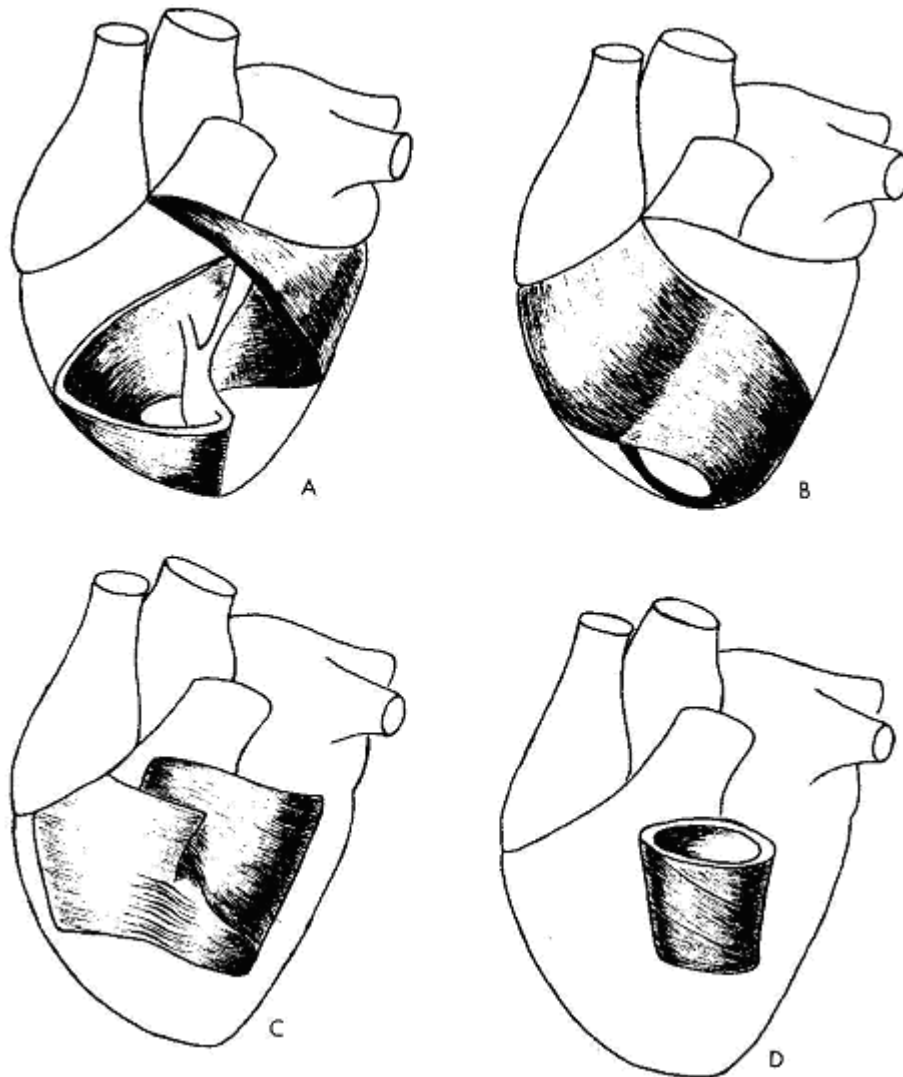
Na iedere contractie is een spier gedurende korte tijd niet opnieuw prikkelbaar (absoluut refractaire periode); gevolgd door een korte periode waarin alleen een relatief sterke prikkel tot een nieuwe contractie kan leiden (relatief refractaire periode). De refractaire periode van hartspierweefsel is vrij lang en duurt vrijwel even lang als de periode van contractie en ontspanning (figuur 24). Als gevolg van het bestaan van een lange refractaire periode is er tussen 2 contracties altijd een rustperiode, zodat de hartspier niet vermoeid kan raken.



Figuur 24. Diagram van de relatie tussen de prikkelgevoeligheid en de contractie van de hartspier in de tijd. a = normale prikkelbaarheid; b = absoluut refractaire periode: de hartspier is niet prikkelbaar; c = relatief refractaire periode: de hartspier is alleen prikkelbaar door sterke prikkel; d = verhoogde prikkelbaarheid.

### b. Ligging van de spiervezels

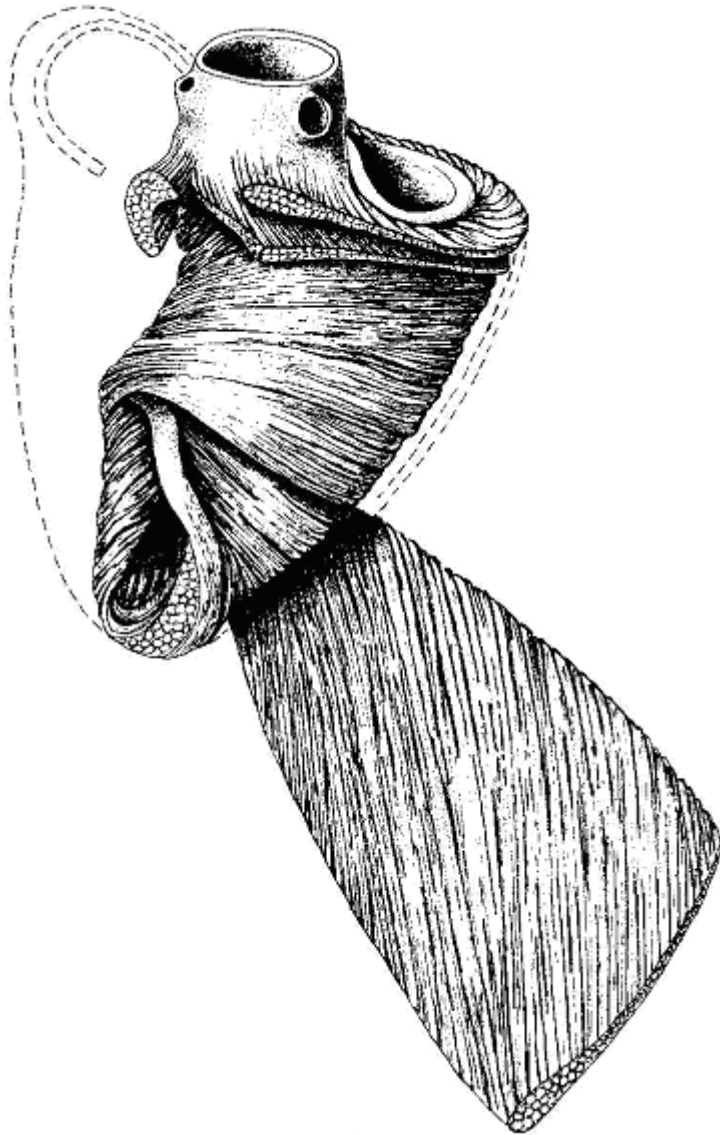
Vanuit de ventrikels of kamers wordt het bloed weggepompt. De hartspier maakt een soort wringende beweging, doordat de hartspiervezels in een spiraalvorm liggen. Er zijn 4 groepen spiervezels. Twee ervan (figuur 25 A en B) zijn tegengesteld gewonden spiralen rond de beide ventrikels. De derde groep (figuur 25 C) ligt eveneens rond de beide ventrikels en ligt onder de eerste twee, terwijl de vierde groep (figuur 25 D) alleen de linkerventrikel omgeeft.



Figuur 25. Het hart. De vier spiergroepen rond de kamers. A en B: twee spiergroepen zijn tegengesteld gewonden spiralen rond de beide kamers. C: de derde spiergroep ligt eveneens rond de beide kamers en onder de twee vorige. D: de vierde spiergroep ligt alleen rond de linker kamer.



De linkerkamer moet bloed naar alle delen van het lichaam pompen. De wand van deze kamer is dan ook ongeveer drie keer zo dik dan de wand van de rechterkamer die het bloed naar de longen pompt (figuur 26). Het slagvolume van beide kamers is gelijk, echter is de druk in de rechterkamer (20 mm Hg) slechts een vijfde van de druk in de linker kamer (100 mm Hg). Door de ligging van de vier hartspiervezelgroepen wordt het bloed als het ware uit het hart gewrongen, op vrijwel dezelfde manier als men een doek uitwringt.



Figuur 26. Het hart. De rangschikking van de spiervezels in een spiraal in de wand van de linker kamer van het hart van de mens. Aanhechting van deze spiervezels aan het ringvormige bindweefsel (rechts boven). Ze lopen in de buitenste laag van de kamerwand, vormen een kruin onder aan de hartpunt, gaan verder in de binnenste laag van de kamerwand en zijn dan weer aangehecht aan de bindweefselring (n. Mall 1911).

### **c. Eigenschappen van hartspierweefsel**

1. Het bestaat uit korte, dwarsgestreepte spiervezels (of syncytia).
2. De spiervezels zijn aaneengevoegd tot een netwerk.
3. Door dit netwerk is snelle impulsgeleiding en samentrekking mogelijk.
4. Er is een goede bloedvoorziening via de coronairvaten.
5. Bindweefsel-fibrillen hebben gedurende de ontspanning een antagonistische werking ten opzichte van het hartspierweefsel.
6. Hoe groter de uitrekking van de spiervezels, hoe sterker de contractie.
7. In het syncytium van een spiervezel zijn zeer veel mitochondriën aanwezig in verband met de intensieve celademhaling.
8. De refractaire periode is lang en overlapt de contractie-periode en de periode van ontspanning.
9. Er is een rustperiode tussen twee contracties.
10. Vermoeidheid treedt niet op.
11. De contracties volgen elkaar ritmisch op, waardoor het bloed in golven wordt weggepompt.
12. De spiervezels zijn in vier spiraalvormige groepen gerangschikt.
13. Het bloed wordt weggeperst door contractie in een soort wring-beweging.

### **d. De hartslag**

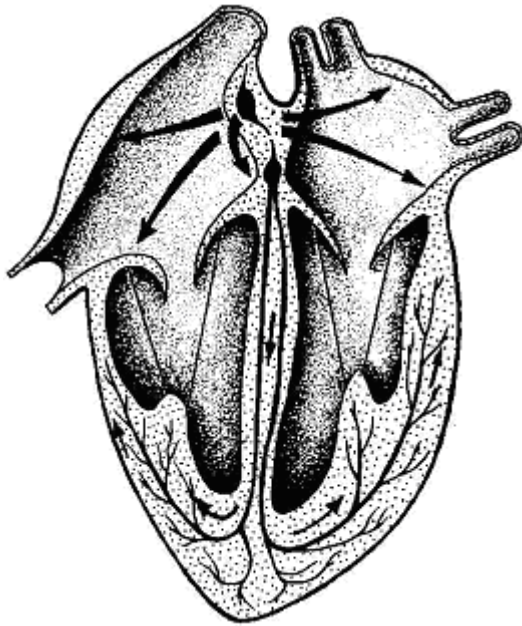
Indien de nerveuze verbindingen met de hartspier worden verbroken blijft de hartspier zich autonoom samentrekken. Hieruit volgt dat het opwekken van impulsen voor de contracties van de hartspier een eigenschap van de hartspier zelf moet zijn.

Uit experimenten met de harten van kikkers en schildpadden is gebleken dat bij deze dieren in de sinus venosus (= holte of verwijd bloedvat waarin de holle aders uitmonden, gelegen voor de rechterboezem) de plaats is gelegen waar deze impulsen ontstaan. Bij vogels en zoogdieren ontbreekt de sinus venosus, hoewel deze wel embryonaal wordt aangelegd. Wat er in het volwassen dier nog van aanwezig is wordt de sinusknop genoemd. Deze ligt vlak onder de opening van de bovenste holle ader in het rechter atrium. Wederom is uit experimenten gebleken dat bij deze dieren hier de oorzaak voor de actiegolf ligt.

### **e. De actie- of impuls golf (figuur 27).**

Geleiding van nerveuze impulsen vindt in het hart niet via zenuwweefsel plaats, maar via het hartspierweefsel zelf. Hartspierweefsel dat speciaal voor het ontstaan en het voortgeleiden van de actiegolf is aangepast noemt men nodaal weefsel. De sinusknop bestaat uit nodaal weefsel.

De actiegolf verspreidt zich vanuit de sinusknop door de wand van de beide boezems via de spiervezels van die wand en bereikt bij de basis van de rechterboezem, waar zich in de tussenwand boven de bindweefselring een tweede knop van nodaal weefsel bevindt; de atrio-ventriculaire knop of knop van Aschoff-Tawara. Van deze knop loopt een bundel zeer lange spiervezels (bundel van His) naar beneden, die zich splitst in een tweetal takken, per ventrikel één. Van deze bundel wordt de actiegolf via speciale spiervezels (de vezels van Purkinje) door de wanden van de beide kamers geleid. Atria en ventrikels zijn van elkaar gescheiden door een laag bindweefsel: de bindweefselring (anulus fibrosus), waardoor de actiegolf van de spiervezels van de atria niet kan overgaan op de spiervezels van de ventrikels. Daardoor kan deze actiegolf alleen via de bundel van His en de vezels van Purkinje de ventrikels bereiken (figuur 27).



Figuur 27. Impulsgeleiding in het hart. Actie van de sinusknoop gevolgd door actie van de knoop van Aschoff-Tawara via de bundel van Hiss en de vezels van Purkinje.

Wanneer er een actiegolf in het zoogdierhart ontstaat en wordt verspreid gebeurt er het volgende:

- de actiegolf ontstaat spontaan in het nodaal weefsel van de rechterboezemwand (de sinusknoop) en wordt via het spierweefsel over de beide atria verspreid;
- de spiervezels van de beide atria contraheren als de actiegolf ze heeft bereikt;
- via de spiervezels van de atria bereikt de actiegolf de atrio-ventriculaire knoop, waar een korte vertraging optreedt voordat de impuls golf verder wordt voortgeleid;
- door deze korte pauze is een gedeeltelijk samenvallen van de contracties van atria en ventrikels uitgesloten;
- via de bundel van His loopt de impuls golf in de beide ventrikels naar de hartpunt door twee bundels spiervezels die in de scheidingswand: het septum (= spiergedeelte tussen de ventrikels in) liggen;
- te beginnen bij de hartpunt wordt de impuls golf door de vezels van Purkinje overgebracht op de spiervezels van de beide kamers, die contraheren als de actiegolf ze heeft bereikt;
- de actiegolven gaan vervolgens via de buitenzijde van de ventrikels en via het septum naar boven en eindigen in de spiervezels van de ventrikels die aan de bindweefselring of anulus fibrosus zijn aangehecht.

#### **f. Systole en diastole (samentrekking en ontspanning)**

De spiervezels van iedere kamer trekken samen als de actiegolf ze heeft bereikt. Zo'n contractie noemt men een systole. Na de contractie ontspannen de spiervezels van de ventrikels. Dit stadium noemt men een diastole. Aan de systole van de kamers gaat altijd een systole van de boezems vooraf.

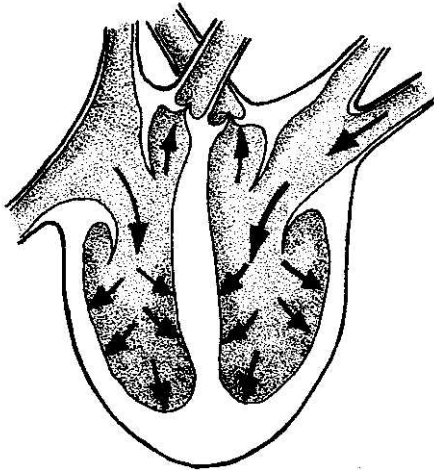
De contractiefase gevolgd door de verslappingsfase noemt men één hartcyclus.

Deze omvat de gebeurtenissen die beginnen bij de systole van de boezems en eindigen juist voor de volgende systole van de boezems (zie figuur 34).

### g. De hartcyclus bij de mens

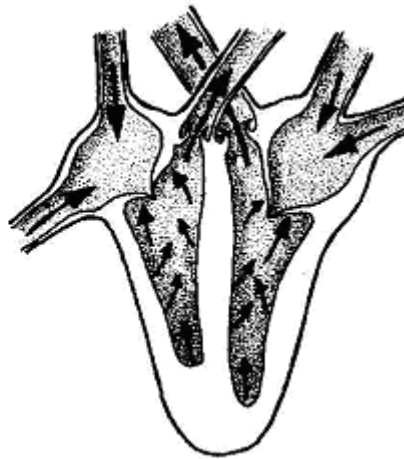
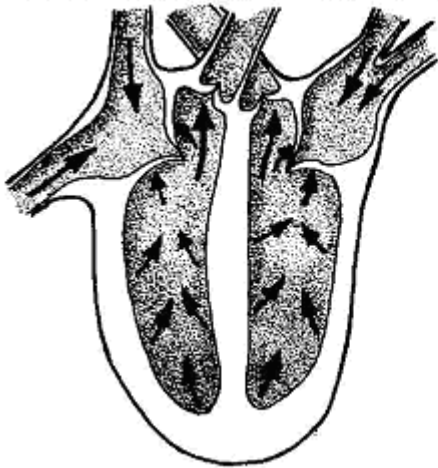
De hartcyclus kan men in de volgende fasen verdelen (zie figuur 28 t/m 34):

1. Contractie van de atria of boezem (figuur 28 en figuur 34). Aangezet door de actiegolf, die in de sinusknop is ontstaan, contraheren de spiervezels van de twee atria, waardoor het bloed in de twee ventrikels wordt geperst. Deze contractie duurt ca. 0,1 seconde en schijnt geen erg belangrijke rol te spelen in de hart-actie. De spiervezels van de ventrikels worden door de vulling van het binnenstromende bloed door de contractie van de atria gestrekt. De wanden van de atria zijn erg dun in vergelijking met de wanden van de ventrikels en zij dragen daardoor weinig bij tot de bloeddruk. Er is geen duidelijke afname in de efficiëntie van de circulatie als de atria niet goed functioneren.



Figuur 28. De hartcyclus. Contractie van de atria.

2. Contractie van de ventrikels of kamers (figuur 29, 30 en 34). Tijdens de contractie van de atria bereikt de actiegolf de atrio-ventriculaire knoop en doordat de golf hier kort wordt opgehouden kunnen de contracties van boezems en kamers niet samenvallen. Via de bundel van His wordt de actiegolf aan weerszijden van het septum naar de hartpunt geleid en verspreidt zich van daar uit via de vezels van Purkinje over de ventrikelspiers. Zowel langs de buitenzijde van het hart als in het septum gaat de golf weer omhoog, zodat het gedeelte dat het dichtst bij de grote slagaders is gelegen het laatste deel van de ventrikels is dat zich samentrekt. Bij de aanvang van deze contractie zijn de twee-slippige hartkleppen (tussen rechterboezem en rechterkamer) en de drie-slippige hartkleppen (tussen linkerboezem en linkerkamer) nog open en de halve-maanvormige kleppen (aan de ingang van de slagaders) gesloten. De eerste toename van de druk in de kamers duwt de hartkleppen dicht (eerste harttoon). De kamers zijn nu geheel gesloten en de spiervezels gaan zich samentrekken. Doordat bloed niet samendrukbaar is blijft aanvankelijk het volume van de ventrikels ongewijzigd, maar neemt de druk in de ventrikels tengevolge van de contractie van de spiervezels toe (figuur 29; figuur 34 tussen 1 en 2). Deze isovolumetrische contractie duurt ca. 0,04 seconde. Zodra de druk in de kamers groter wordt dan de druk in de aorta respectievelijk de longslagader worden de halve-maanvormige kleppen aan hun ingang open gedrukt. De spiervezels van de kamers trekken zich nu verder samen en er

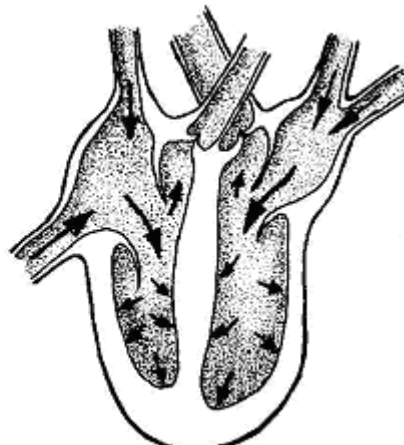
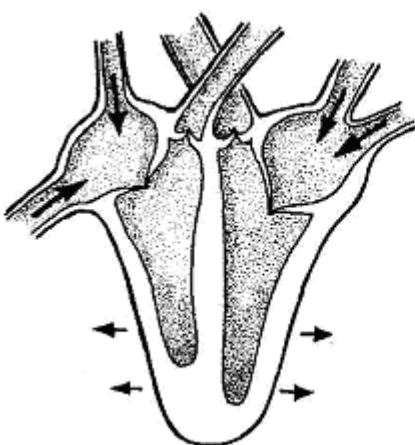


Figuur 29. De hartcyclus. Contractie van de kamers; isovolumetrische fase.

Figuur 30. De hartcyclus. Contractie van de kamers: uitdrijvingsfase.

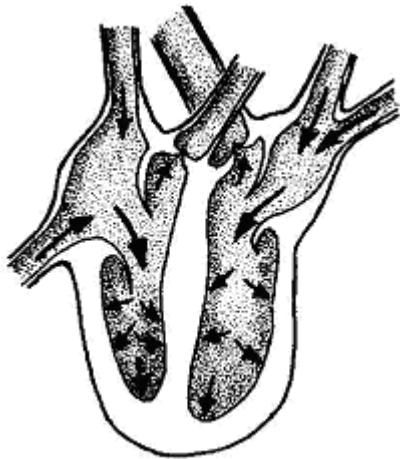
wordt bloed in de slagaders geperst, waardoor daar zowel als in de kamers de druk stijgt (figuur 30; figuur 34 tussen 2 en 3). Het bloed stroomt gedurende ca. 0,26 seconden uit de kamers, die zich nooit geheel kunnen leeg persen (figuur 34 tussen 2 en 5). Nog tijdens de contractie van de spiervezels van de kamers neemt de druk in de slagaders zowel als in de kamers weer af, doordat er meer bloed uit de slagaders wegstroomt dan er vanuit de kamers wordt aangevoerd (figuur 34 tussen 3 en 4). Tenslotte ontspannen de spiervezels van de kamers, waardoor de druk in de kamers verder afneemt (figuur 34 tussen 4 en 5). Zodra, als gevolg van de verslapping van de ventrikelspier, de druk in de kamers is gedaald beneden die van de aorta en de longslagader vullen zich de halve-maanvormige kleppen met bloed en worden ze gesloten (figuur 34 lijn 5) (tweede harttoon). Zowel tijdens de isovolumetrische contractiefase als tijdens de uitdrijvingsfase is er bloed van de aders in de atria gestroomd, waardoor daar de druk geleidelijk is gestegen (figuur 34 tussen 2 en 5).

3. Isovolumetrische ontspanningsfase (figuur 31 en 34). De kamers zijn afgesloten. De kleppen tussen atria en ventrikels zijn gesloten doordat de druk in de kamer, die tijdens de contractie is ontstaan, dan nog hoger is dan de druk in de boezems. Ze blijven gesloten totdat de druk van het bloed in de kamers door



Figuur 31. De hartcyclus. Ontspanning van de kamers: isovolumetrische ontspanningsfase.

Figuur 32. De hartcyclus, Snelle bloedopname door de kamers.



Figuur 33. De hartcyclus. Overgangsfase.

ontspanning van de kamerspier lager is geworden dan de druk in de boezems. De halve-maanvormige kleppen zijn gesloten doordat de druk in de grote slagaders hoger is dan de afnemende druk in de kamers. De naam van deze fase is ontleend aan het verschijnsel dat het volume van de ventrikels tijdens deze fase niet verandert. De samengetrokken spiervezels van de ventrikels ontspannen nu, maar ze kunnen niet tot hun volle lengte strekken zonder hulp; bindweefselfibrillen werken hier strekkend op de spiervezels. Bij een hartslagfrequentie van 75 per minuut duurt deze fase 0,07 seconde. Zowel de atria als de ventrikels zijn in de ontspanningsfase. Ook gedurende deze fase stroomt er bloed uit de aders inde atria.

4. Snelle bloedopname door de kamers (figuur 32 en 34). Zonder contractie van spiervezels kan de druk in de atria de druk in de holle aders (5 mm Hg) niet overschrijden. Het drukverschil tussen de atria en de ventrikels wordt groter doordat door het groter worden van de kamerruimte de druk daar lager wordt. Er ontstaat aldus een soort zuigwerking vanuit de kamers. Zodra de druk in de boezems groter is dan de druk in de kamers worden de hartkleppen open gedrukt en het bloed kan snel in de kamers stromen, waardoor de druk in de boezems plotseling sterk daalt. Dit stadium duurt 0,11 seconden.
5. Overgangsfase (figuur 33 en 34). Bij 75 slagen per minuut duurt dit stadium 0,22 seconde. Er komt weinig bloed het hart binnen, dat vanuit de aders kan doorstromen naar de kamers. Naarmate de hartslagfrequentie toeneemt duurt dit stadium korter. Behalve van de zuigwerking van de ventrikels is de toevoer van bloed in fase 3, 4 en 5 ook afhankelijk van de druk die wordt opgewekt door de ventrikelcontracties; het hart vult zichzelf doordat zijn eigen contracties het bloed door het gehele lichaam terug naar het hart stuwten.

Fase in cyclus	tijd in sec.	Atria	Ventrikels	Hartkleppen	Halve maanv. kleppen
Systole atria	0,10	Systole	Diastole	open	gesloten
Systole ventrikels isovolumetrische fase	0,04	Diastole	Systole	gesloten	gesloten
Systole ventrikels uitdrijvingsfase	0,26	Diastole	Systole	gesloten	open
Isovolumetrische uitdrijvingsfase	0,07	Diastole	Diastole	gesloten	gesloten
Snelle bloedopname door de ventrikels	0,11	Diastole	Diastole	open	gesloten
Overgangsfase	0,22	Diastole	Diastole	open	gesloten

## **h. Overzicht van de gebeurtenissen tijdens de hartcyclus:**

(de tijd in seconden geldt voor een hartfrequentie van 75 per minuut)

	fase in cyclus	tijd in sec.	atria	ventrikels	hart-kleppen	halve-maan-vormige kleppen
1.	systole atria	0,10	systole	diastole	open	gesloten
2.	systole ventrikels isovolumetrische fase	0,04	diastole	systole	gesloten	gesloten
3.	systole ventrikels uitdrijvingsfase	0,26	diastole	systole	gesloten	open
4.	isovolumetrische ontspanningsfase	0,07	diastole	diastole	gesloten	gesloten
5.	snelle bloedopname door de kamers	0,11	diastole	diastole	open	gesloten
6.	overgangsfase	0,22	diastole	diastole	open	gesloten

Zoals uit het overzicht van de gebeurtenissen tijdens de hartcyclus blijkt duurt een hartcyclus bij een frequentie van 75 hartslagen per minuut 0,8 seconden. De systole van de ventrikels neemt daarvan een groot gedeelte in beslag, namelijk 0,3 seconden. De tijd dat de atria en ventrikels tegelijk in diastole zijn is de rustperiode van het hart en bedraagt 0,4 seconden.

## **i. De hartgeluiden**

Het sluiten van de hartkleppen veroorzaakt een geluid dat met behulp van een stethoscoop kan worden gehoord. Gedurende iedere hartslag zijn twee geluiden te onderscheiden: een dof geluid wanneer de hartkleppen zich sluiten aan het begin van de ventriculaire systole en een helder geluid wanneer de halve-maanvormige kleppen zich sluiten aan het einde van deze systole.

## **j. Het electrocardiogram**

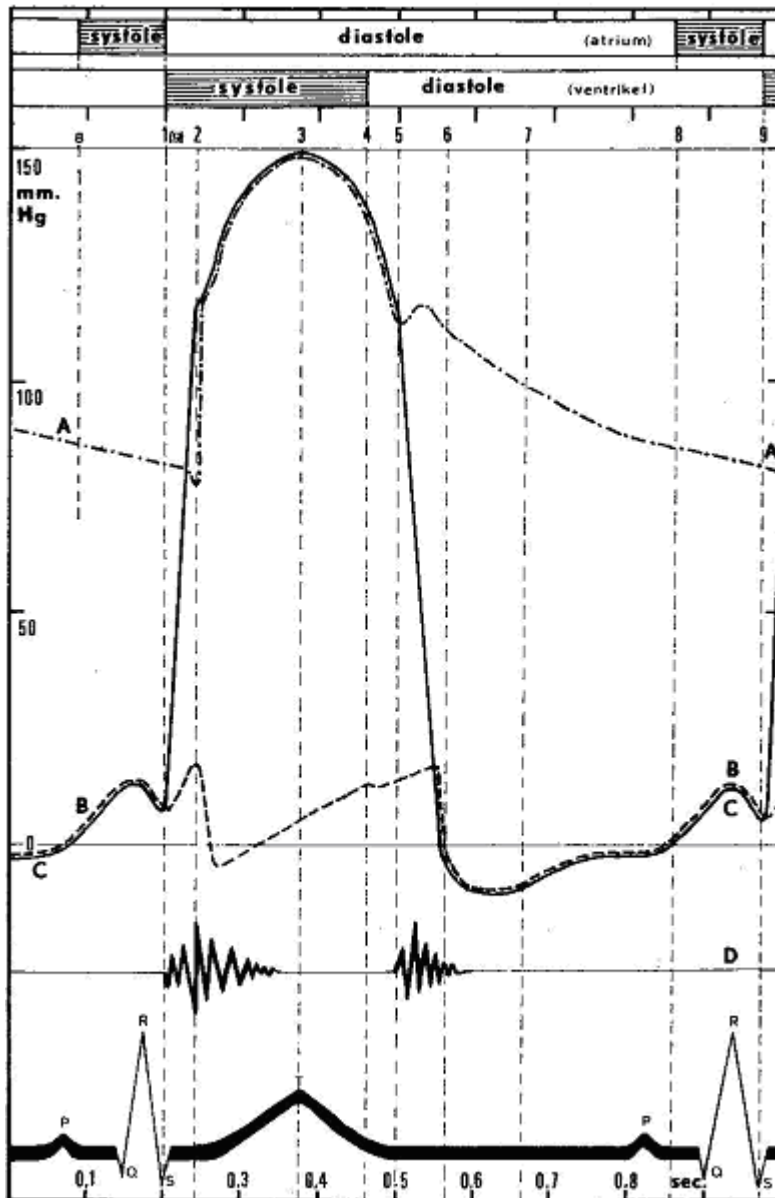
Bij niet-gecontraheerde spiervezels is er een spanningsverschil van ongeveer -80 mV tussen de binnenkant en de buitenkant van de cel. Vlak voor de contractie treedt er een ompoling op. Tussen de binnenkant en de buitenkant ontstaat nu een spanningsverschil van +30 mV. Tegelijkertijd heeft er een contractie van de spiervezel plaats. Daarna herstelt de spiervezel het oorspronkelijke spanningsverschil (-80 mV) weer.

Deze wijzigingen in het spanningsverschil tussen binnenkant en buitenkant van de spiervezel noemt men actiepotentiaal.

De actiepotentialen van de hartspiervezels kunnen met een galvanometer gemeten worden door elektroden op de huid te plaatsen. De weergave van de actiepotentialen van het hartspierweefsel vormt een electrocardiogram (ECG): zie figuur 34.

De letters in dit ECG hebben de volgende betekenis:

- P Komt overeen met de spreiding van de actiegolf over de atria ; deze positieve uitslag gaat vooraf aan de systole van de atria.
- P—Q Tijd die de actiegolf nodig heeft om de atria-ventriculaire-knoop en de bundel van His te doorlopen,
- QRS De actiegolf verspreidt zich over de spiervezels van de ventrikels; ook hier gaat deze uitslag vooraf aan de ventriculaire systole.
- T Positieve uitslag die optreedt als gevolg van het herstellen van het potentiaalverschil tussen binnen- en buitenzijde van de spiervezels van de ventrikels!



Figuur 34. Diagram van de werking van het hart.

Boven: tijdsverdeling van de verschillende fasen van de hartcyclus bij een hartfrequentie van 80 per minuut. Atriumsystole: 0,1 sec. Ventrikelsystole: 0,26 sec. hartpauze (4-8): 0,39 sec.

ventrikeldiastole: 0,49 sec. en atriumdiastole: 0,65 sec. Totale duur van een cyclus: 0,75 sec.

Verloop van de druk in mm Hg. A. drukcurve in de aorta, B. drukcurve in de linker ventrikel, C. drukcurve in het linker atrium. 1 - 2 isovolumetrische ventrikelcontractie, 2-5 uitdrijvingsfase, waarbij 2-3 maximale uitdrijvingsfase is waarin de druk stijgt en 3-5 verminderde uitdrijvingsfase is waarin de druk daalt, 4 einde van de ventrikelcontractie, 5-6 isovolumetrische ontspanningsfase, 6-7 snelle bloedopname door de ventrikel, 7-8 overgangsfase en 8-9 atriumcontractie.

D- Harttonen. Eerste harttoon: sluiting van de hartkleppen en tweede harttoon: sluiting van de halve-maanvormige kleppen.

Onder: Elektrocardiogram (ECG). P-top: actiegolf over de spiervezels van het atrium. PQ-tijd: vertragingstijd in de atrioventriculaire knoop. QRS-complex: actiegolf over de spiervezels van de ventrikels. T-top: herstel van het potentiaalverschil van -80 mV tussen de binnen- en buitenkant van de spiervezels van de ventrikels.



## H. De bloedvaten

Bij iedere hartslag pompen de twee ventrikels vrijwel gelijktijdig bloed in de slagaders, waarbij telkens de druk in de slagaders toeneemt. De schokgolf die hierdoor in het bloedvat ontstaat verplaatst zich met een snelheid van 7 meter per seconde en heeft hetzelfde ritme als de hartslag.

De schokgolf verplaatst zich sneller dan het bloed. De stroomsnelheid is ongeveer 300 mm per seconde in de aorta en 0,5 mm per seconde in de haarvaten.

Deze stroomsnelheid wordt beïnvloed door de contracties van de hartspier. Ze neemt toe bij iedere ventriculaire systole en neemt af gedurende de diastole tussen de hartslagen. Het bloed stroomt echter door, hoezeer de stroomsnelheid ook fluctueert.

### a. De aorta

Dit bloedvat heeft een zeer dikke wand en een relatief kleine doorsnede.

De wand bestaat uit een laag van gladde spiercellen, elastische bindweefselfibrillen, zenuwvezels en een binnenste bekleding van deklaagcellen, het endotheel.

Door de dikke wand is de aorta aangepast aan de hoge bloeddruk waaraan het bloedvat wordt blootgesteld. Wanneer de linkerkamer zich samentrekt en het bloed in de aorta wordt geperst zet de elastische wand van de aorta uit. Ontspant de wand van de linkerkamer zich en wordt de bloeddruk lager dan nemen de elastische vezels van de aortawand hun oorspronkelijke vorm weer in. Door dit elastisch meeveren zorgt de aorta er aldus voor dat het bloed ook blijft stromen tussen twee hartslagen in.

### b. Slagaders (arteriën)

De zijtakken van de aorta hebben ook dikke elastische wanden en ze spelen dezelfde rol als de aorta bij het in stand houden van de bloedstroom. De kleinere slagaders, die de organen van bloed voorzien, hebben een minder elastische wand met meer gladde spiercellen. De kleinste slagaders noemt men arteriolen. Ze hebben evenals de grotere slagaders een relatief dikke wand en een kleine opening. De gladde spiercellen liggen spiraalsgewijs in de wand van de arteriolen. Door contractie van deze spiercellen is de bloedstroom te regelen.

### c. Haarvaten (capillairen)

Vanuit de arteriolen stroomt het bloed in bloedvaten met zeer dunne wanden, waarin hier en daar spiercellen liggen. Aan het begin van ieder haarvatstelsel zit een ring gladde spiercellen die fungeert als sluitspier, waarmee de hoeveelheid bloed die de haarvaten binnentreedt wordt geregeld. Er vindt een nauwkeurige verdeling van het bloed over de weefsels plaats. De weinig actieve weefsels krijgen minder bloed. De snelheid van de bloedstroom in de capillairen is laag (0,5 mm per seconde), waardoor een goede uitwisseling van stoffen met de omgevende weefselvloeistof mogelijk is.

De stroomsnelheid in de grotere bloedvaten loopt hierdoor niet te sterk op, hoewel ze daar nog altijd 300 mm per seconde is. De wanden van de haarvaten zijn slechts één cellaag dik en bestaan uit het endotheel. Deze dunne wanden zijn doorlaatbaar voor bloedplasma, uitgezonderd de erin aanwezige eiwitmoleculen.

### d. Aders (venen)

De overgang van een haarvat naar een venula (een kleine ader) is geleidelijk. Deze kleine aders hebben gladde spiervezels in hun wanden; ze verenigen zich tot aders, die veel dunnere wanden hebben dan slagaders. In de wanden van de aders zijn minder spiercellen en elastische bindweefselfibrillen en meer niet-elastische collagene vezels aanwezig dan in de wand van de slagaders. Het van het hart af vloeien van bloed in de aders wordt voorkomen doordat zich in

de aders kleppen bevinden. Men kan deze zakvormige kleppen vooral aantreffen in de aders in de ledematen. Ze ontbreken in de aders in de borstkas. Contracties van spieren die in de onmiddellijke nabijheid van een ader liggen of waar aders doorheen lopen, bevorderen de bloedstroming in de ader.

## **I. De nerveuze controle van de circulatie**

De aan- en afvoer van bloed moet worden geregeld afhankelijk van de behoefte in de weefsels. Reflectorisch wordt dan de hartslagfrequentie door het zenuwstelsel geregeld. Veranderingen in de bloeddruk worden waargenomen door receptoren in de wand van de aorta en de sinus caroticus (een verwijding in de halsslagaders). Zij zenden impulsen via sensibele neuronen naar het centrale zenuwstelsel. Het centrale zenuwstelsel innerveert de sinusknop door middel van twee motorische zenuwen. De éne zenuw is een vertakking van de nervus vagus (vertragend), de ander is een zenuw van het sympatisch systeem (versnellend). Het hart zal dus sneller gaan kloppen als het via de sympatische zenuw impulsen ontvangt en langzamer als het via de parasympatische nervus vagus impulsen ontvangt. In het verlengde merg liggen de bijbehorende centra die de hartslagfrequentie regelen: een remmend en een stimulerend centrum.

Bij spieractiviteit is er meer bloed in de spieren nodig. Deze verandering wordt vanuit het stimulerende centrum in het verlengde merg geregeld. De in de spieren aanwezige receptoren zenden namelijk impulsen naar dit centrum, waardoor dit via de stimulerende zenuw het hart aanzet tot meer slagen per minuut. Ook de perifere circulatie wordt geregeld vanuit de centra in het verlengde merg. Door de spanning van de spiercellen in de wand van de arteriolen te veranderen is een grotere of geringere doorbloeding van organen mogelijk. De controle van de doorbloeding van de haarvaten schijnt langs chemische weg plaats te vinden. De spanning in de kringspier aan het begin van de haarvaten staat onder invloed van het kooldioxide-gehalte en van de melkzuurconcentratie via de pH van het bloed.

## **T-23 Bloedstroming in vaten**

Amfibieën en vissen bezitten vrij grote en makkelijk waar te nemen bloedlichaampjes. In dunne huidzomen is de bloedstroom zichtbaar.

### **Benodigheden:**

- Guppies (*Lebistes reticulatus* L.), liefst kleine individuen van ongeveer 8 mm.
- bekerglas 200 ml.
- horlogeglas voorzien van dekglas.
- druppelpipet.
- watten.
- microscoop.
- diethylether of urethaan (carbamideethylether 1,5%).
- cederolie.

### **A. Haarvaten**

#### **Uitvoering:**

- a. - plaats de vis in 15 ml water waarin 10-15 druppels diethylether of urethaan gedaan worden. De vis is na enkele minuten verdoofd.
  - pak het verdoofde visje in vochtige watten in en laat de staart vrij.
  - leg het verpakte visje in een horlogeglas.
  - leg om uitdrogen te voorkomen hierop een dekglas.
  - bekijk met geringe vergroting de zoom van de staartvin.

- tel gedurende twee minuten de pulserende bewegingen van de bloedlichaampjes.
- laat het visje vrij in het aquarium waar het zich snel herstelt van de verdoving.
- b.** - wrijf de nagelriem in met wat cederolie; hierdoor wordt de huid doorzichtig.
- bekijk de nagelriem onder de microscoop bij zeer sterk opvallend licht.

## **B. Kleppen in de aders van de onderarm**

### **Uitvoering:**

- bind vlak boven de elleboog een doek strak om de arm; hierdoor zullen de aders wel en de slagaders niet worden afgebonden.
- na enkele ogenblikken zijn de aders door het toestromende bloed opgezwollen.
- wrijf met een wijsvinger over een duidelijk zichtbare ader in de richting van de elleboog en daarna in de richting van de hand.

### **Opdracht en vraag:**

- 1.** In welke richting moet men wrijven om de kleppen in de aders duidelijk te zien?
- 2.** Geef hiervoor een verklaring.

## T-24 De bouw van het zoogdierhart (anatomiepracticum)

### **Vorbereiding:**

- maak gebruik van verse harten van kalf, schaap of varken. De bases van de belangrijkste bloedvaten moeten er nog aanzitten.
- zonodig kunnen de harten enkele dagen in de koelkast worden bewaard.
- indien gebruik wordt gemaakt van het hart van een nuchter dier dan zijn er nog twee foetale kenmerken: de open ductus Botalli en de doorboring van het septum atriorum (foramen ovale).

### **Uitvoering:**

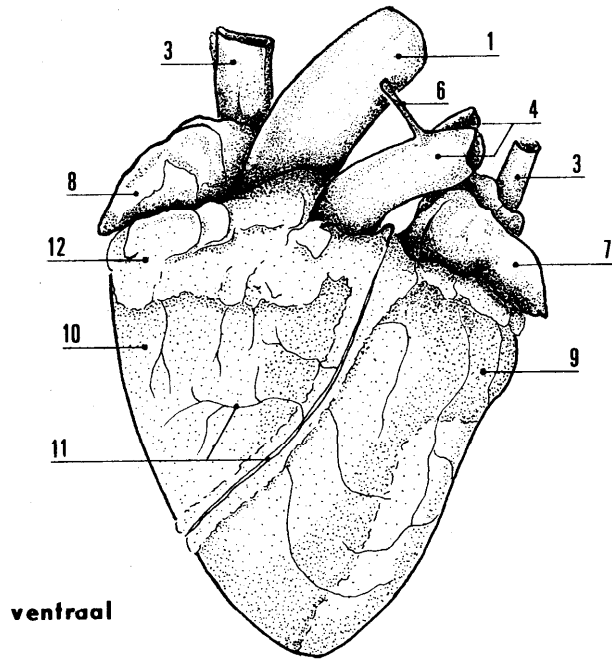
#### **a. Buitenzijde**

- open het hartzakje vanaf de hartpunt en sla het naar voren om, door het met een pincet op te lichten en door te knippen.
- stel met behulp van figuur 35 en 36 de volgende onderdelen vast: ventrale en dorsale kant, linker en rechter atrium, linker en rechter ventrikel, aorta, longslagaders, longaders, holle aders, kransslagader, ductus Botalli (indien aanwezig), hartpunt (apex).
- maak een tekening van de ventrale en een van de dorsale kant gezien en geef aan waar er zich vet bevindt.
- geef in de tekeningen duidelijk het verloop van de coronaire vaten aan.
- voorzie de onderdelen van het hart in de tekeningen van namen.

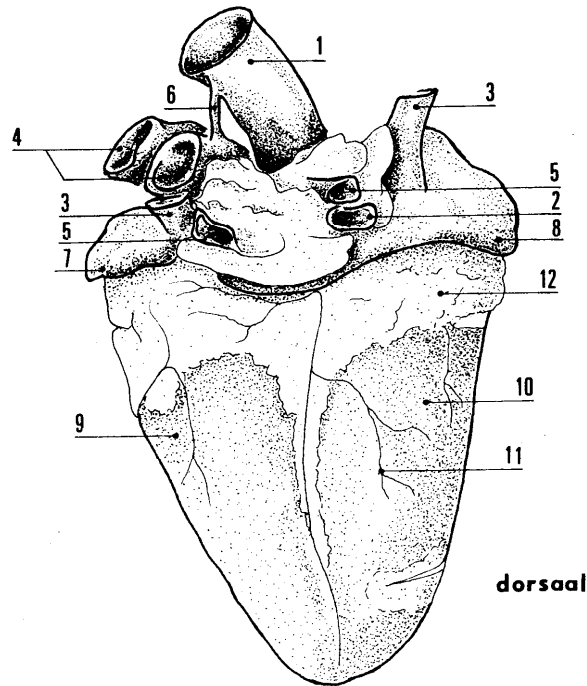
#### **b. Binnenzijde**

- leg het hart op de rechterkant, zodat de linker ventrikel boven ligt.
- snijd nu het hart met behulp van een scalpel of scheermes open langs een lijn die loopt door de basis van de aorta naar de apex.
- leg de voorzijde (ventrale helft) aan de linkerhand en de achterzijde (dorsale helft) aan de rechterhand met de binnenkant naar boven.

**HART 1**  
kalf, normaal



ventraal



dorsaal

- 1 aorta
- 2 onderste holle ader
- 3 bovenste holle ader
- 4 longslagader
- 5 longader
- 6 d.Botalli
- 7 linker boezem
- 8 rechter boezem
- 9 linker kamer
- 10 rechter kamer
- 11 kransslagader: vaten
- 12 vet

Figuur 35. Hart van een runderkalf (*Bos taurus* L. juv.) gezien vanaf de linkerzijde en vanaf de rugzijde. 1 = aorta; 2 = onderste holle ader; 3 = bovenste holle ader; 4 = longslagader; 5 = longader; 6 = ductus Botalli; 7 = linker boezem; 8 = rechter boezem; 9 = linker kamer; 10 = rechter kamer; 11 = kransslagader en bijbehorende vaten; 12 = vet

- stel nu met behulp van figuur 35 en 36 de volgende onderdelen vast: holle aders, aorta, atria, ventrikels, hartkleppen (twee-slippige en drie-slippige).
- let op het grootte-verschil van de atria en ventrikels en op het verschil in dikte van de wanden.

#### **c. Dorsale helft**

- stel de ligging van de openingen van drie bloedvaten in het atrium vast. Met behulp van een sonde kan worden nagegaan hoe deze vaten lopen. Let op waar de sonde uit het atrium komt en vergelijk met figuur 36. Aldus is vast te stellen met welk bloedvat men te maken heeft.
- bestudeer de ligging van de twee-slippige en drie-slippige hartkleppen (valvulae bicuspidalis en tricuspidalis) en de strekkoordjes (chordae tendineae; pezen die het doorslaan van de kleppen naar de boezem toe verhinderen).
- ga, door te sonderen, na waar de openingen van de longaders zich bevinden.
- maak een tekening van de dorsale helft en geef hierin aan: linker en rechter atrium, linker en rechter ventrikel, aorta, longaders, holle aders, hartkleppen (valvulae bicuspidalis en tricuspidalis), septum.

#### **d. Ventrale helft**

- ga, door van buitenaf te sonderen, na waar de openingen van de longaders zich bevinden.
- snijd de rechter ventrikel open aan de basis van de longslagader en bestudeer hier de ligging van de halve-maanvormige kleppen (hoeveel?).
- bestudeer de halve-maanvormige kleppen aan de basis van de aorta (hoeveel?).
- steek de sonde door de wand van het linker coronair vat, van buiten af, en ga na waar dit bloedvat ontspringt.
- maak een tekening van de ventrale helft en geef hierin aan: linker en rechter atrium, linker en rechter ventrikel, aorta, longslagaders, hartkleppen, septum.

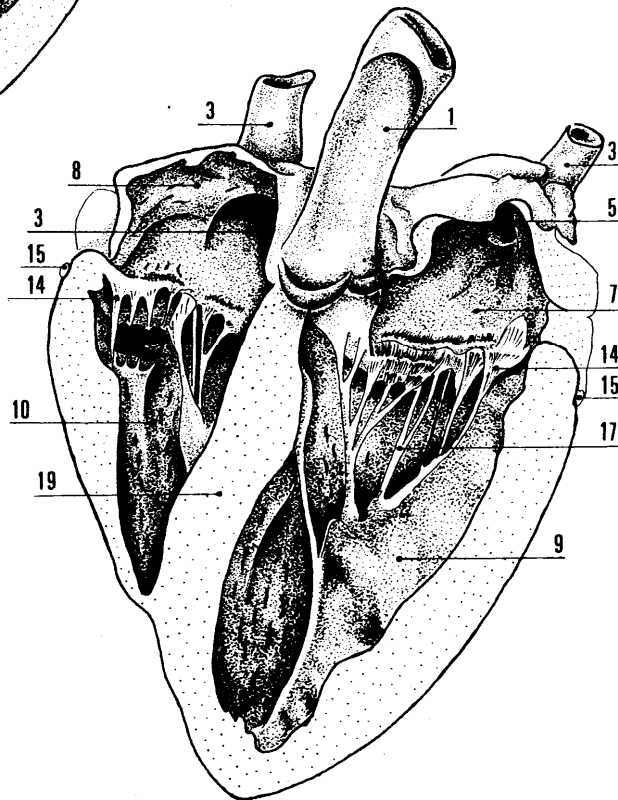
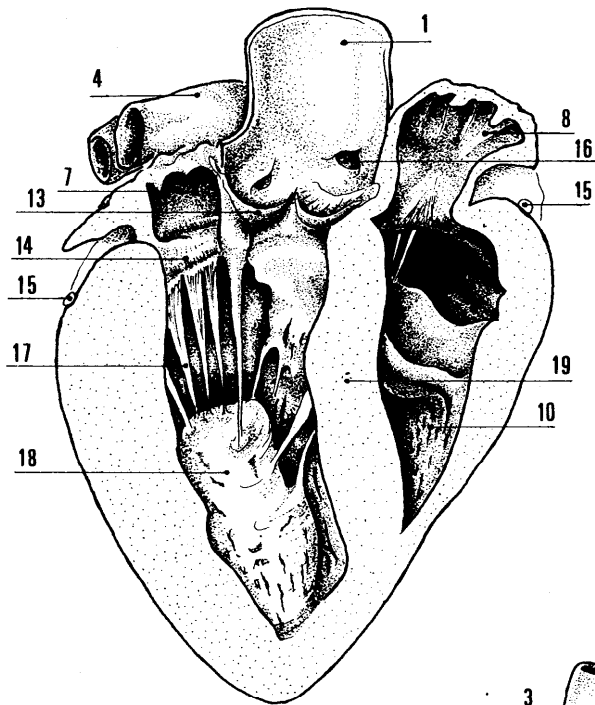
#### **Vragen:**

1. Welke functie hebben de coronair vaten?
2. Waardoor heeft vers hartweefsel een helder rode kleur?
3. Waarom is de wand van de ventrikels verschillend van dikte?
4. Welke functie hebben de valvulae bicuspidalis, de valvulae tricuspidalis, de chordae tendineae en de halve-maanvormige kleppen?
5. Indien het foramen ovale zich niet sluit, welke gevolgen heeft dit dan voor de efficiëntie van het circulatiesysteem?

## **T-25 Hartslagfrequentie voor en na een inspanning**

Omdat het meten van de hartslag aan de pols enige vaardigheid vereist, kan voor deze metingen beter de hartslag gemeten worden aan de halsslagaders. Hiertoe worden duim en wijsvinger van een hand aan weerszijden van het strottenhoofd gelegd. Indien een erg hoge hartfrequentie gemeten wordt kan dit veroorzaakt worden door het feit dat één hartslag op deze plaats soms als twee snel op elkaar volgende golven gevoeld wordt. In dit geval moet het gemeten aantal door twee gedeeld worden. De meting kan het beste klassikaal gebeuren. Vaak levert een meting korte tijd na een inspanning lagere waarden op dan een meting direct na deze inspanning. Door de inspanning is niet alleen de hartfrequentie, maar ook het slagvolume van het hart vergroot. Hierdoor kan het hart na de inspanning met een kleiner aantal hartslagen volstaan om een zelfde, of zelfs om een grotere hoeveelheid bloed te verplaatsen. Getrainde sportlieden

**HART 2**  
kalf, geopend



- 13 halvemaa. kleppen
- 14 atrio-ventr. kleppen
- 15 kransslagader
- 16 opening, idem
- 17 peesv. strengen
- 18 papillaire spier
- 19 scheidingswand

figuur 36. Hart van een runderkalf (*Bos taurus* L. juv.) geopend. 1 = aorta; 2 = onderste holle ader; 3 = bovenste holle ader; 4 = longslagader; 5 = longader; 6 = ductus Botalli; 7 = linker boezem; 8 = rechter boezem; 9 = linker kamer; 10 = rechter kamer; 11 = kransslagader en bijbehorende vaten; 12 = vet; 13 = halve-maanvormige kleppen; 14 = atrio-ventriculaire kleppen; 15 = kransslagader; 16 = opening van kransslagader; 17 = peesvormige strengen; 18 = papillaire spier; 19 = scheidingswand tussen de kamers.

verplaatsen grote hoeveelheden bloed met een hart dat langzaam klopt, maar een groot slagvolume heeft. Dit heeft soms een overdreven hartvergroting tot gevolg, het zogenaamde sporthart. De wielrenner Fausto Coppi had tijdens de beklimming van bergen als de Aubisque een hartfrequentie van 45 slagen per minuut.

**Benodigheden:**

- horloge of stopwatch.
- geluidsband met harttonen.

**Uitvoering:**

**a. Meting van de hartslag in rust.**

- de leerling zoekt bij zichzelf de halsslagaders.
- de docent geeft een sein, waarna de leerling de hartslagen begint te tellen.
- na een halve minuut volgt een tweede sein.
- de leerling schrijft het getelde aantal hartslagen op en vermenigvuldigt dit aantal met twee. Dit geeft een minder nauwkeurige telling per minuut, maar heeft het voordeel dat er alleen **even** getallen als frequentie gevonden worden, hetgeen de verwerking van de gegevens versnelt.
- in tabel 3 worden de resultaten van de hele klas (even getallen van ± 50 tot ± 160) opgeschreven door de getallen af te roepen, waarbij de leerlingen die het genoemde aantal gemeten hebben hun arm opsteken. Eventueel de gegevens van ♂♂ en ♀♀ gescheiden noteren.

**Opdracht:**

1. Reken de gemiddelde hartfrequentie in rust uit.

**Tabel 3**

HARTSLAGEN PER MINUUT	Aantal proefpersonen					
	in rust		na activiteit		5 minuten later	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
50 tot 60						
60 tot 70						
70 tot 80						
80 tot 90						
90 tot 100						
100 tot 110						
110 tot 120						
120 tot 130						
130 tot 140						
140 tot 150						
150 tot 160						
160 tot 170						
gemiddelde						

### **b. Meting van de hartfrequentie na inspanning**

- de leerlingen maken 20 diepe kniebuigingen.
- direct daarna geeft de docent een sein, waarna de leerling de hartslagen begint te tellen op de halsslagaders.
- na een halve minuut volgt een tweede sein.
- de leerling schrijft het getelde aantal hartslagen op en vermenigvuldigt dit aantal met twee.
- de resultaten van de gehele klas worden in de tabel (van  $\pm 50$  tot  $\pm 160$ ) verwerkt. Eventueel de gegevens van ♂♂ en ♀♀ gescheiden noteren.

#### **Opdracht:**

- 2.** Reken de gemiddelde hartfrequentie direct na inspanning uit.

### **c. Meting van de hartfrequentie korte tijd na een inspanning**

- meet 5 minuten na het maken van de diepe kniebuigingen weer de hartfrequentie gedurende een halve minuut.
- de leerling schrijft het getelde aantal hartslagen op en vermenigvuldigt dit aantal met twee.
- de resultaten van de gehele klas worden in de tabel (van  $\pm 50$  tot  $\pm 160$ ) verwerkt. Eventueel de gegevens van ♂♂ en ♀♀ gescheiden noteren.

#### **Opdracht:**

- 3.** Reken de gemiddelde hartfrequentie korte tijd na een inspanning uit.

### **d. Bandje met harttonen**

Bij deze tekst behoort een bandje met hartgeluiden. Het programma bestaat uit drie onderdelen: een algemene informatie, afwijkende hartgeluiden en opnamen waaraan de hartfrequentie onder verschillende omstandigheden kunnen worden vastgesteld.

#### *1. Algemene informatie:*

achtereenvolgens zijn de harttonen opgenomen van

- a. volwassen man na traplopen
- b. dezelfde man 1 minuut later
- c. 37-jarige man in rust
- d. 2-jarig meisje, nerveus
- e. 5 dagen oude baby
- f. kind vlak voor de geboorte

met gewone microfoon opgenomen  
met gevoelige microfoon opgenomen

N.B. De eerste harttoon wordt veroorzaakt door het sluiten van de hartkleppen en ten dele als gevolg van spiercontractie. De tweede harttoon wordt veroorzaakt door het sluiten van de halve-maanvormige kleppen in het begin van de aorta en de longslagader. Ten behoeve van de leerlingen (waarvoor dit bandje gemaakt is) werd de eerste harttoon in de gesproken tekst aangeduid als contractie van de boezems (voorkamers) en de tweede harttoon als afkomstig van de contractie van de kamers.

#### *2. Afwijkende hartgeluiden:*

- a. verdubbeling eerste harttoon
- b. verdubbeling tweede harttoon

N.B. Het is wellicht beter om de afwijkende hartgeluiden niet te laten horen aan leerlingen in het begin van hun puberteit, aangezien het niet abnormaal is als ze in die periode een onregelmatige hartslag hebben.



**Tabel 4**

Omschrijving	Aantal slagen v.h. hart	Aantal seconden	Aantal slagen per minuut
Trappen lopen		30	
Idem na 1 minuut		20	
37-jarige man		20	
12-jarig meisje		15	
5 dagen oude baby		10	
Voor de geboorte		15	
Moeder	21	15	84

**Tabel 5**

Temperatuur in graden C	DAPHNIA Nr.	Aantal slagen per minuut
0	1	
0	2	
0	3	
0	4	
0	5	
	gemiddeld	
10	1	
10	2	
10	3	
10	4	
10	5	
	gemiddeld	
20	1	
20	2	
20	3	
20	4	
20	5	
	gemiddeld	
30	1	
30	2	
30	3	
30	4	
30	5	
	gemiddeld	
40	1	
40	2	
40	3	
40	4	
40	5	
	gemiddeld	
50	1	
50	2	
50	3	
50	4	
50	5	
	gemiddeld	

### 3. Tellen van hartfrequenties:

In verband met afwijkingen in de snelheid die bij bandrecorders kunnen optreden zijn in tabel 4 de tijden al ingevuld. Tussen de verschillende opnamen is steeds een pauze ingelast van ongeveer 30 seconden om de telling in de tabel op te nemen.

#### **Opdrachten:**

4. Vergelijk de hartfrequentie van baby tot en met 37-jarige man en verklaar de verschillen.
5. Verklaar het verschil in hartfrequentie tussen de man in rust en de aanstaande moeder.
6. Verklaar het verschil in hartfrequentie tussen het ongeboren kind en de baby van 5 dagen oud.

## T-26 De invloed van de temperatuur op de hartslagfrequentie bij daphnia's

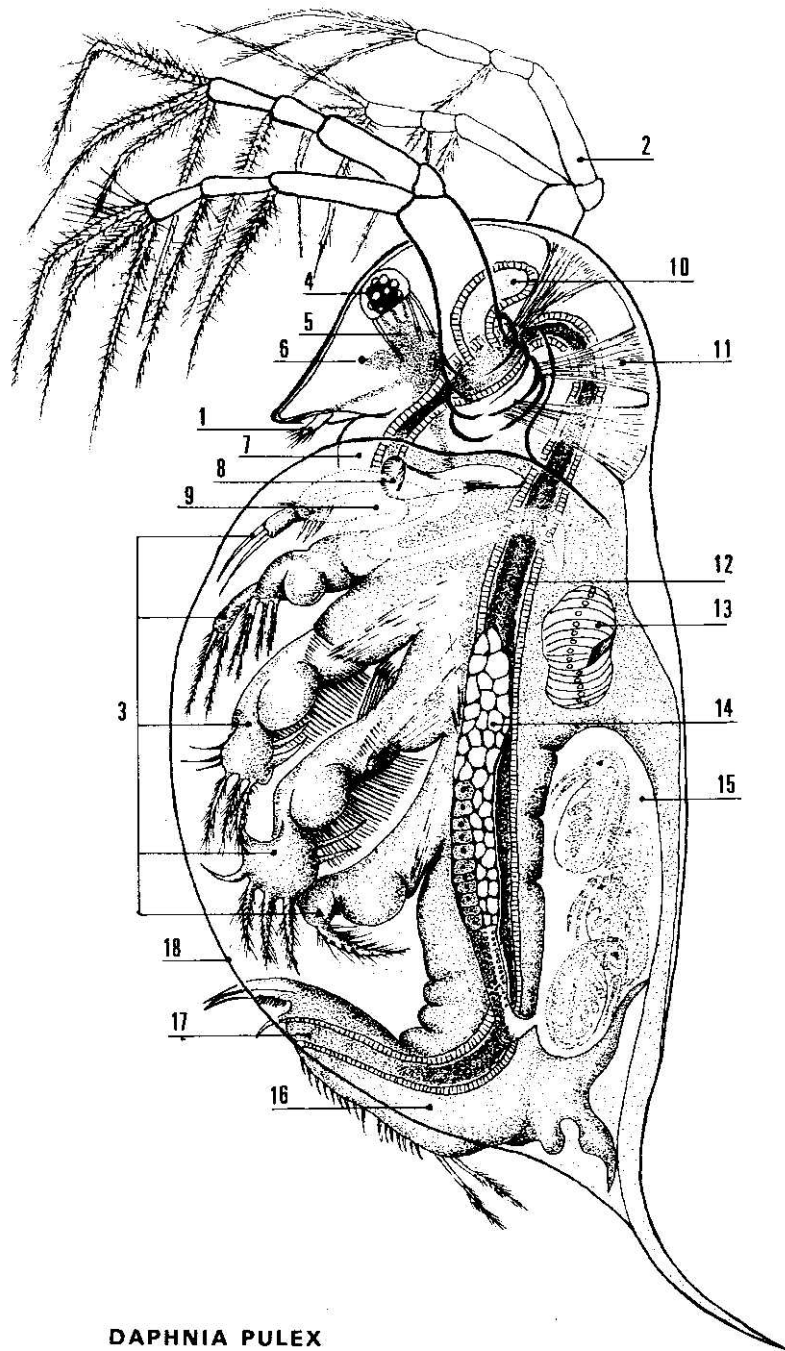
Milieufactoren kunnen de fysiologische processen in organismen beïnvloeden. De wijze waarop verschillende individuen van één soort op deze milieufactoren reageren is verschillend en afhankelijk van het individu.

#### **Benodigheden:**

- daphnia's
- 6 bekerglazen en 6 thermometers
- objectglazen
- microscoop
- stopwatch
- waterbad
- koelkast en ijsblokjes
- millimeterpapier

#### **Voorbereiding:**

- in zes bekerglazen worden in ieder een aantal daphnia's gebracht.
- het water in de bekerglazen wordt nu op de volgende temperaturen gebracht, nadat in ieder bekeerglas een thermometer is geplaatst:
  - bekerglas 1 op 0 °C (ijsblokjes erin),
  - bekerglas 2 op 10 °C (koelkast of buitentemperatuur);
  - bekerglas 3 op 20 °C (kamertemperatuur);
  - bekerglas 4 op 30 °C (waterbad);
  - bekerglas 5 op 40 °C (waterbad);
  - bekerglas 6 op 50 °C (waterbad).
- voordat tot tellen van de hartslag wordt overgegaan dienen de daphnia's tenminste 10-15 minuten in het water met de opgegeven temperatuur te zijn geweest.



**DAPHNIA PULEX**

Figuur 37. watervlo *Daphnia pulex* L. 1 = eerste antenne; 2 = tweede antenne; 3 = eerste tot en met vijfde paar borstpoten voorzien van filterkammen; 4 = samengesteld oog; 5 = hersenzenuwknoop; 6 = pigmentvlek, het oog van het naupliusstadium; 7 = bovenlip met mond; 8 = bovenkaak; 9 = onderkaakklier; 10 = maagblindzak (gepaard); 11 = spieren voor antenne; 12 = darm; 13 = hart met ostia; 14 = ovarium; 15 = broedruimte met embryonen; 16 = achterlijf; 17 = anale opening 18 = schaal.

**Uitvoering:**

- plaats gedurende enkele minuten een objectglas in het bekerglas waaruit de daphnia's zullen worden genomen waarvan de hartslagfrequentie zal worden vastgesteld (figuur 37). leg op het op temperatuur gebrachte objectglas een druppel water, waarin zich een daphnia bevindt uit het bekerglas met de gewenste temperatuur.
- bekijk nu het hart van de daphnia met een microscoop met niet te sterke vergroting en tel direct nadat het objectglas op de microscooptafel is gelegd gedurende 15 seconden het aantal hartslagen.
- vermenigvuldig met 4, teneinde het aantal slagen per minuut te krijgen.
- herhaal de waarneming met 4 andere daphnia's.

**Opdrachten en vragen:**

1. Bereken het gemiddelde aantal hartslagen per minuut bij iedere gegeven temperatuur.
2. Leg de verkregen gegevens vast in tabel 5.
3. Verwerk de verkregen waarden in een diagram.
4. Is de hartslagfrequentie sterk afhankelijk van het individu.
5. Hoe groot is het verschil per temperatuur per groep van vijf Daphnia's?
6. Bij welke temperatuur is de hartslagfrequentie het langzaamst?
7. Bij welke temperatuur is de hartslagfrequentie het hoogst?
8. Is er sprake van een optimum-temperatuur voor de hartslagfrequentie?
9. Om welke redenen zou het waardevol zijn het experiment enkele keren te herhalen met één daphnia per temperatuurtraject van 0°–50 °C?

**T-27 De invloed van farmaca op de hartslagfrequentie van daphnia**

Er is een groot aantal stoffen bekend die een stimulerende of rustgevende (tranquillizers) werking hebben. Van enkele van deze stoffen wordt de invloed op de hartslagfrequentie nagegaan.

**Benodigdheden:**

- daphnia's (figuur 37)
  - groot bekerglas
  - 8 erlenmeyers van 100 ml
  - dekglazen
  - microscoop
  - Pasteurse pipet
  - stopwatch
  - filtreerpapier
  - ethanol 5%
  - coca cola
  - spuitwater
  - koffie-extract
  - thee-extract
  - aspirine
  - chlorpromazine en dexedrinesulfaat (alleen op dokters-recept verkrijgbaar).
- Betracht de uiterste voorzichtigheid met deze stoffen en de oplossingen hiervan.

**Vorbereiding:**

- in een bekerglas met water van  $\pm 20^\circ \text{C}$  wordt een aantal daphnia's gebracht.
- in enkele erlenmeyers worden de volgende oplossingen gedaan:
  - erlenmeyer 1 bevat 75 mg chlorpromazine (tranquillizer) per 100 ml aqua dest.;
  - erlenmeyer 2 bevat 1 tablet dexedrine (amfetamine) sulfaat per 15 ml aqua dest.;
  - erlenmeyer 3 bevat 5% ethanoloplossing;
  - erlenmeyer 4 bevat coca cola (zonder  $\text{CO}_2$ );
  - erlenmeyer 5 bevat koffie;
  - erlenmeyer 6 bevat thee;
  - erlenmeyer 7 bevat aspirineoplossing;
  - erlenmeyer 8 bevat spuitwater (met  $\text{CO}_2$ ).

N.B. Indien de oplossingen te sterk zijn en de daphnia's worden gedood, verdun dan tot een bruikbare oplossing is verkregen.

**Uitvoering:****a.**

- breng op een objectglas een druppel water met daarin een daphnia uit het bekerglas en tel gedurende 15 seconden de hartslagfrequentie (= blanco-proef).
- zuig het water rondom de daphnia met een filtreerpapiertje snel weg en breng met een Pasteurse pipet direct een druppel uit erlenmeyer 1 bij de daphnia.
- neem goed waar wat er met de hartslagfrequentie gebeurt en tel na enige tijd weer de hartslagfrequentie gedurende vijftien seconden.
- door met 4 te vermenigvuldigen kan de frequentie per minuut worden bepaald.
- herhaal de vorige handelingen met nog twee andere daphnia's.

**b.**

- herhaal de handelingen onder **a** met de oplossingen uit de erlenmeyers 2 tot en met 8.

**Opdracht en vragen:**

1. Leg de verkregen gegevens vast in tabel 6.
2. Welk effect hadden de respectievelijke oplossingen op de hartslagfrequentie?
3. Wat is steeds de blanco-proef?
4. Hoe zou men van daphnia gebruik kunnen maken om de concentratie van tranquillizers en stimulantia te testen?

**Tabel 6**

DAPHNIA Nr.	Slagen/minuut in water	Slagen/minuut in oplossing 1
1		
2		
3		
gemiddeld		

## T-28 Voorbereidingen voor het bloedpracticum

Het uitvoeren van een bloedpracticum eist veel arbeidsintensieve voorbereidingen die hierna genoemd worden.

### Benodigdheden:

- runderbloed, meestal verkrijgbaar bij het plaatselijke slachthuis
- stopflessen met wijde hals, inhoud 1 of 2 liter
- stopfles met nauwe hals, inhoud 1 liter
- kaliumoxalaat ( $K_2C_2O_4 \cdot H_2O$ ) of natriumoxalaat ( $Na_2C_2O_4$ ) of ammoniumoxalaat ( $(NH_4)_2C_2O_4 \cdot H_2O$ ) of natriumcitraat ( $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ )
- centrifuge met circa 2500 omwentelingen per minuut
- centrifugeerbuisjes
- koelkast
- buretten
- bekeerglazen
- testsera
- vaccinostyles of Jennerpennen

### **a. Onstolbaar maken van het bloed.**

Bloed wordt onstolbaar gemaakt met natriumoxalaat, kaliumoxalaat, ammoniumoxalaat of natriumcitraat (oxalaat- respectievelijk citraatbloed). Voor 1 liter bloed lost men 2 gram kaliumoxalaat (of 1,5 gram natriumoxalaat of 1,5 gram ammoniumoxalaat of 3 gram natriumcitraat op in 200 ml aquadest). Deze oplossing wordt in de fles gedaan en hierin wordt 975 ml **vers** bloed opgevangen. Door schudden vermengt men de kaliumoxalaat-oplossing direct goed met het bloed. In de koelkast bewaard, blijft het oxalaatbloed ongeveer vijf dagen goed.

### **b. Het verkrijgen van bloedplasma.**

Centrifugeer het oxalaatbloed 10 minuten bij circa 2500 omwentelingen per minuut. Laat de centrifuge zelfstandig uitlopen: dus niet plotseling stoppen. Het plasma kan nu worden afgeschonken in de fles met nauwe hals. In de koelkast bewaard, blijft het plasma enige dagen goed.

### **c. Het verkrijgen van serum uit bloed.**

Vang vers bloed (niet onstolbaar maken!) in een groot bekeerglas of stopfles met wijde hals op. Laat het bloed stollen. Zet het bloed weg. Sluit bekeerglas of fles af om verdamping tegen te gaan. Schenk na één dag het serum voorzichtig af. In de koelkast bewaard blijft het serum enige dagen goed.

### **d. Distributie van bloedvloeistoffen.**

De distributie van plasma en serum over de leerlingen kan het beste met behulp van een buret gebeuren.

Schud het oxalaatbloed voor het gebruik goed (bloedbezinking!). Vul de buretten vlak voor het gebruik. Spoel het glaswerk dat voor proeven met bloed, bloedplasma of serum gebruikt is direct goed schoon. Na enige tijd zijn de bloedresten niet of nauwelijks meer uit het glaswerk te verwijderen.

### **e. Testsera voor de bepaling van de bloedgroep**

Te bestellen bij: Centraal Laboratorium van de Bloedtransfusiedienst van het  
Nederlandse Rode Kruis  
Postbus 9190  
Amsterdam - West III

1 flac. anti A 2 ml. vloeibaar

1 flac. anti B 2 ml. vloeibaar

1 flac. anti A + B 2 ml. vloeibaar

Na ontvangst de flacons in de koelkast bewaren.

De houdbaarheidsduur van de vloeibare testsera bedraagt zes maanden na datum van aflevering mits steriel bewaard in koelkast (bij voorkeur in vrieslichaam) of diepvries.

De houdbaarheidsduur van gedroogde sera bedraagt twee jaar.

Gedroogde sera dient men koel en droog te bewaren.

### **f. Vaccinostyles en Jennerpennen**

De vaccinostyles zijn steriel verpakte mesjes die speciaal geschikt zijn voor de bloedafname uit de vingertoppen. Het benodigde aantal is gelijk aan het aantal leerlingen, zodat eenieder zijn eigen vaccinostyle kan gebruiken en uitwisselen voorkomen kan worden. De Jennerpennen zijn niet gesteriliseerd. Men moet ze voor gebruik flamberen in een niet roetende vlam. Beide soorten mesjes zijn verkrijgbaar bij firma's voor medische instrumenten. Vaccinostyle is een microlancet.

T-29 Onderzoek van bloedcellen; het maken van een bloeditstrijkje

### **A. Menselijk bloed**

Voor het onderzoek van de vele vormen bloedcellen moeten deze los van elkaar liggen. Hiertoe wordt een geringe hoeveelheid bloed dun en regelmatig uitgestreken. Na fixeren en kleuren zijn de verschillende soorten bloedcellen van elkaar te onderscheiden.

#### **Benodigheden:**

- vetvrije objectglazen.
- petrischaal en glasstaafjes.
- paperclips.
- Pasteurse pipetten.
- filtreerpapier.
- geslepen objectglas.
- vaccinostyles, één per leerling,
- methanol 100%.
- spiritus.
- kaliumbichromaat-zwavelzuur.
- stamoplossing Giemsa.

### Vorbereiding:

- objectglazen ontvetten in kaliumbichromaat-zwavelzuur.
- vetvrije objectglazen bewaren in spiritus.
- geslepen objectglas maken (figuur 38) door van een objectglas de hoeken af te snijden en de randen rond te slijpen met behulp van carborundum en olie.



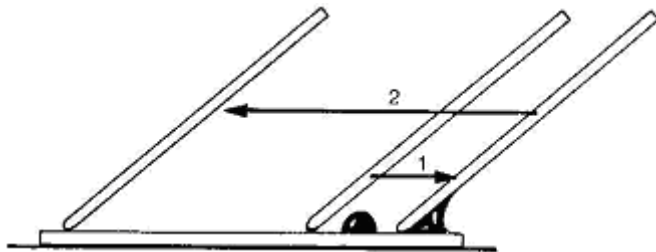
Figuur 38. Geslepen objectglas voor het maken van een bloeduitstrijkje.

- Giemsa-oplossing: 15 druppels stamoplossing toevoegen aan 10 ml gedestilleerd water. Deze oplossing is niet houdbaar, de stamoplossing daarentegen wel voor iedere kleuring moet Giemsa vers worden gemaakt.

*Opmerking:* Iedere leerling krijgt en gebruikt een vaccinostyle, zodat uitwisselen van vaccinostyles niet nodig is. Dit is ter voorkoming van overdracht van een leverziekte veroorzakend virus, ook al heeft de gebruiker van dit mesje deze ziekte nog nooit gehad.

### Uitvoering:

- prik in de top van de ringvinger een gaatje met behulp van de vaccinostyle nadat men het bloed naar de vingertop heeft gestuwd (zie opmerking).
- breng een druppeltje bloed op ongeveer een halve cm van de rechterkant van een vetvrij en droog objectglas.
- plaats een schoon objectglas met geslepen kanten onder een hoek van  $30^\circ$  links naast het druppeltje bloed. Beweeg het objectglas naar rechts tot de druppel bloed in de hoek tussen de objectglazen uitloopt (figuur 39).
- beweeg nu het geslepen objectglas haaks en in een rechte lijn onder dezelfde hoek gelijkmatig naar links (figuur 39). Wanneer de hoeveelheid bloed niet te veel is geweest moet het druppeltje vlak voor de linkerrand van het objectglas 'op' zijn.



Figuur 39. Het maken van een bloeduitstrijkje.

- maak op deze wijze met weinig bloed minstens twee dunne uitstrijkjes.
- leg op een petrischaal twee glasstaafjes op een onderlinge afstand van 6 cm en zet deze vast met paperclips.
- leg de objectglazen met de uitstrijkjes naar beneden dwars over de glasstaven te drogen (ongeveer 3 minuten).
- keer de objectglazen om en leg ze goed horizontaal.



- druppel met Pasteurse pipet methanol 100% op het objectglas zodat het gehele uitstrijkje hiermede bedekt is.
- laat de methanol 3 minuten inwerken.
- giet de methanol af door het objectglas met één hoekpunt op filtreerpapier te plaatsen.
- breng met Pasteurse pipet verse Giemsa-oplossing op het objectglas zodat het gehele uitstrijkje hiermede bedekt is.
- laat de Giemsa-oplossing 20 minuten inwerken.
- giet de kleurstof af door het objectglas met één hoekpunt op filtreerpapier te plaatsen.
- spoel het objectglas voorzichtig af met water door een waterstraal op de achterkant van het objectglas en niet op het preparaat te richten totdat er geen kleurstof meer wordt afgegeven.
- laat het uitstrijkje aan de lucht drogen.

### **Opdrachten en vragen:**

1. Onderzoek het preparaat (zonder dekglas) bij een sterke vergroting.
2. Teken enige vormen van bloedcellen.
3. Zijn alle bloedcellen aan elkaar gelijk en welke functies hebben deze cellen?
4. Zijn alle rode bloedcellen aan elkaar gelijk wat vorm en kleur betreft?  
Hoe kan men dit verklaren?
5. Zijn alle witte bloedcellen aan elkaar gelijk?

#### *Het permanent maken van het bloeduitstrijkje:*

- breng op het droge en gekleurde preparaat een druppel goed vloeibare canadabalsem of Ceadax.
- leg er een stofvrij dekglas op.

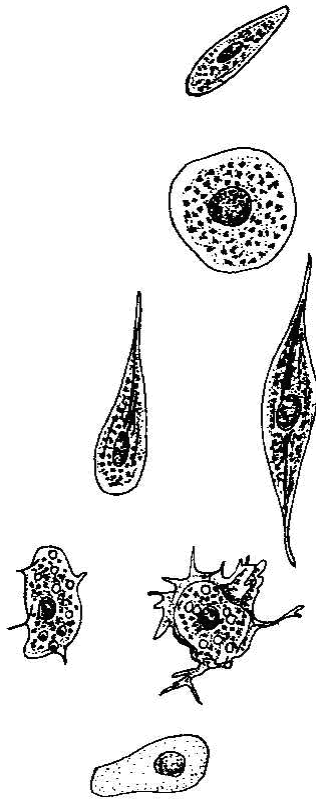
### **B. Hemolymfe (= insectenbloed)**

De samenstelling van de hemolymfe of insectenbloed is slechts ten dele te vergelijken met het bloed van zoogdieren. Zo zijn bijvoorbeeld verschillende eiwitcomponenten van het bloed, zoals de eiwitten die samenhangen met de immuniteit, in de hemolymfe afwezig.

De hemolymfe heeft veelal geen of slechts een zeer geringe functie bij het transport van zuurstof en kooldioxide. Er zijn geen rode bloedcellen of andere zuurstofoverdragende stoffen in de hemolymfe aanwezig. Een uitzondering vindt men bij de roodgekleurde larven van *Chironomus spec.* die het 'erythrocrurine', hemoglobine met een ander eiwitdeel gecombineerd, bezitten. Hierdoor kunnen zij leven in water met een laag zuurstofgehalte.

De functies van de hemolymfe zijn het transport van voedingsstoffen, uitscheidingsproducten, hormonen en de producten van de geslachtsorganen. Tevens werkt deze vloeistof als hydrostatisch skelet, vergelijkbaar met het vloeistofskelet van de wormen. Bij insecten met een dunne cuticula kan de druk van de musculatuur van de romp overgebracht worden op de vloeistof van de lichaamsholte, de hemolymfe. Hierdoor kan een rups zijn poten of zijn monddelen bewegen.

Een andere belangrijke functie van de hemolymfe is het sluiten van wonden en de afweer tegen ziekteverwekkende organismen of giftige stoffen, die het insectenlichaam kunnen binnendringen. Dit kan geschieden door zowel de opgeloste bestanddelen als door de amoëboïde cellen van de hemolymfe. Het bestuderen van deze cellen van de hemolymfe is moeilijk, doordat bij het bloed afnemen van een insect deze cellen direct van vorm gaan veranderen en een stollingsreactie beginnen te vertonen. Dit is alleen te voorkomen door de — hier te gebruiken — poppen van de meeltor zolang te narcotiseren dat de cellen nog niet dood zijn en geen stollingsreacties vertonen.



Figuur 40. Bloedcellen uit de hemolymfe of insectenbloed.  
 1 = ovale coagulocyten; 2 = ronde coagulocyten, 3 = spoelvormige fagocyten; 4 = amoëboïde fagocyten en 5 = platte doorzichtige fagocyten.

Men verdeelt deze bloedcellen (figuur 40) in twee groepen die morfologisch en functioneel verschillend zijn, namelijk:

**a. de coagulocyten.** Dit zijn ongeveer ronde cellen, die de stolling van de hemolymfe veroorzaken. Hiervan zijn twee celtypen te onderscheiden:

1. kleine ovale cellen met een sterk basofiel cytoplasma met eosinofiele granula van mucopolysacchariden en mitochondriën.
2. ronde schijfvormige cellen met een zwak basofiel cytoplasma met eosinofiele granula.

**b. de fagocyten.** Deze cellen kunnen zich door middel van pseudopodiën verplaatsen en fagocyteren partikeltjes. (Biothema deel 2, pag. 83).

Hiervan kan men 3 typen onderscheiden:

1. spoelvormige cellen lengte 12-25  $\mu\text{m}$  met uitsteeksels tot ongeveer 45  $\mu\text{m}$  lang. Het cytoplasma is zwak basofiel en hierin bevinden zich onder andere de volgende organellen: asvormige fibrillen die ter versteviging van de celstructuur dienen, eosinofiele granula, basofiele granula of albumoid-granula die als reserve-eiwitten dienen en mitochondriën.
2. amoëboïde cellen waarvan de afmetingen variëren tussen 10 en 30  $\mu\text{m}$ . In het zwak basofiele cytoplasma zijn zichtbaar: vacuolen, eosinofiele granula, glycogeen-korrels, oliedruppeltjes en gefagocyteerde partikels.
3. platte doorzichtige cellen diameter 15-20  $\mu\text{m}$  met zwak basofiel hyalien cytoplasma.

De spoelvormige fagocyten zijn de enige cellen in de hemolymfe waarvan celdelingen bekend zijn. Waarschijnlijk is dit de celvorm waaruit alle overige bloedcellen kunnen ontstaan. Bij de platte doorzichtige fagocyten gaat het waarschijnlijk om een verouderingsstadium van de amoëboïde cellen in afbraak. Alle celtypen hebben één kern (diameter 2,5-5  $\mu\text{m}$ ) waarin echter geen nucleolus aanwezig is. De mitochondriën zijn slechts elektronenmicroscopisch te onderscheiden van de overige granula. Tot nu toe is er nog geen verschil gevonden tussen de bloedcellen van de beide geslachten.

**Benodigheden:**

- poppen van de meeltor of meelworm (*Tenebrio molitor* L.).
- vloeibare paraffineolie.
- anatomische schaar.
- filtreerpapier.
- glasstaafje met omgebogen uiteinde, gewone Pasteurse pipet.
- Pasteurse pipet met capillair uitgetrokken uiteinde.
- bekerglas.
- ontvette objectglazen.
- objectglas met geslepen rand.
- kleurbankje: petrischaal met vastgeklemd glasstaafjes.
- azuur II.
- azuur II-eosine.
- glycerol.
- methanol.
- tabletten methyleenblauw.
- eosinemengsel,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .
- gedestilleerd water van pH = 7,0.
- Ceadax b en xylol.
- Neutralit indicatorstaafjes.

**Vorbereiding:**

- maak de kleurstofoplossingen volgens Giemsa en May-Grünwald of schaf deze aan.
- maak de bufferoplossing volgens Sörensen.
- meet de pH van de bufferoplossing en het gedestilleerd water.
- verdoof de poppen minstens 5 uren in de dun vloeibare paraffineolie.

**Uitvoering:**

- dep de paraffineolie met behulp van filtreerpapier af van de genarcotiseerde poppen.
- knip het einde van een poot van het derde of laatste paar borstpoten af.
- zuig met het capillair van de Pasteurse pipet via de opening van de afgesneden poot een hoeveelheid lymfe op en breng dit over op het objectglas.  
Men kan ook zachtjes op het lichaam van de pop drukken, zodat er één of enkele druppels hemolymfe uit de opening van de afgesneden poot naar buiten treden en deze hemolymfe aftippen op het objectglas.
- maak nu een bloeduitstrijkje zoals beschreven op pag. 88.
- laat het bloeduitstrijkje minstens 1 minuut goed stofvrij in de petrischaal aan de lucht drogen.
- fixeer en kleur het preparaat door het te bedekken met ongeveer 10 druppels May-Grünwald-oplossing.
- voorkom het verdampen en het opvallen van stofdeeltjes door de petrischaal af te sluiten met de deksel. Laat de kleurstof 3 minuten inwerken.
- voeg daarna zonder de kleurstof af te gieten evenveel druppels gedestilleerd water van pH 7,0 toe en meng dit water met een omgebogen glasstaafje met de May-Grünwald-oplossing.  
Laat de zo verdunde kleurstof nog 4 minuten op de uitstrijk inwerken.
- giet de kleurstofoplossing zoveel mogelijk af en spoel de restanten hiervan niet af.
- verdun in een klein bekerglaasje enkele druppels Giemsa-kleurstof met het tienvoudige aantal druppels fosfaat-buffer van pH 6,5 (volgens Sörensen).  
Dit mengsel 1 : 10 is niet houdbaar en moet direct voor gebruik vers aangemaakt worden.
- bedek het preparaat volledig met de verdunde Giemsa-oplossing en laat de kleurstof 15 minuten inwerken.

- spoel de uitstrijk af met gedestilleerd water van pH 7,0 tot er geen kleurstof meer af komt. Druppel daartoe met een Pasteurse pipet het gedestilleerd water aan de hoge zijde op het wat schuin gehouden objectglas.  
Laat het water over de uitstrijk heen wegvloeien.
- droog het preparaat voorzichtig af door het tussen filtreerpapier te leggen en zachtjes aan te drukken zonder ook maar iets te verschuiven om te vermijden dat men het bloedlaagje los en weg veegt.
- laat de uitstrijk aan de lucht drogen of laat de uitstrijk drogen door iets te verwarmen hoog boven de gasvlam.

### **Opdracht:**

6. Bedek het preparaat met een druppel immersie-vloeistof en onderzoek bij de sterkste vergroting met het olie-immersie objectief het uitstrijkje op de aanwezigheid van cellen.

N.B. Men kan de uitstrijk conserveren; breng daartoe een paar druppels Ceadax — eventueel verdunnen met xylol — en een dekglasje op.

### **C. Recepten:**

#### *Giemsa-kleurstof;*

- 3 gram azuur II-eosine, 0,8 gram azuur II.
- tezamen oplossen in 100 ml glycerol van 60 °C.
- 430 ml methanol toevoegen aan oplossing.
- 24 uur laten staan en filtreren.
- bewaren in donkere fles.

#### *May-Grünwald-kleurstof:*

- methyleenblauw-eosinemengsel in tabletvorm fijn wrijven in mortier.
- oplossen in 100 ml methanol.
- filtreren en bewaren in donkere fles.

#### *Bufferoplossing volgens Sörensen (pH - 6,5)*

- los 11,85 gram kristallen  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  of 9,47 gram watervrije  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  op tot 100 ml met gedestilleerd water (oplossing A).
- los 9,08 gram  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  op tot 100 ml met gedestilleerd water (oplossing B).
- voeg 30 ml van oplossing A toe aan 70 ml van oplossing B.

N.B. Het is over het algemeen aan te bevelen de Giemsa-kleurstof en de May-Grünwald-kleurstof gebruiksklaar te betrekken van de chemicaliënhandel.

## **T-30 Bepaling van de bloedgroepen A, B, AB en O**

Bij dit onderzoek, dat bij kamertemperatuur dient verricht te worden, bepaalt men de antigenen in de rode bloedcellen of erythrocyten met behulp van testsera, die de antistoffen bevatten.

### **Benodigheden:**

- objectglazen.
- Pasteurse pipetten.
- reageerbuizen.
- verbandwatten.

- 3 testsera: anti-A anti-B en anti-A+B (zie T-28)
- vaccinostyles of geflambeerde Jennerpennen (zie T-28)
- ether
- fysiologische zoutoplossing (= 0,9% NaCl)
- velletjes wit papier
- (lucifer-)houtjes

Nogmaals waarschuwing: Teneinde de overdracht van een besmettelijke leverziekte (serum hepatitis) te voorkomen is het noodzakelijk dat iedere leerling een afzonderlijk, nieuw en steriel vaccinostyle gebruikt. Onder geen enkele voorwaarde mag men elkaars instrumenten gebruiken bij het bloed afnemen.

**Uitvoering:**

- leg een objectglas op een velletje wit papier. Verdeel het papier onder het glaasje in drieën door op het papier een vakverdeling te maken. Schrijf onder de vakken 1 anti B of  $\beta$ , 2 anti A of  $\alpha$ , 3 anti A+B of  $\alpha + \beta$ .
- breng met een pipet op het objectglasje achtereenvolgens een druppel testserum anti B in vakje 1, testserum anti A in vakje 2 en testserum anti A+B in vakje 3. Voor ieder testserum gebruikt men een aparte Pasteurse pipet of men druppelt direct uit het flesje testserum. In elk der vakjes één druppel! De drie druppels mogen elkaar niet raken!
- reinig de top van de ringvinger met een watje gedrenkt in ether.
- prik vervolgens in de top van de ringvinger een gaatje met behulp van het vaccinostyle. Het bloed goed opduwen naar de top van de vinger.
- vang enkele druppels bloed op in een reageerbuisje met fysiologische zoutoplossing: 2 druppels bloed in 1 ml zoutoplossing (= 20 druppels).
- het reageerbuisje even licht schudden.
- breng vervolgens bij elk der druppels testserum één druppel uit het mengsel in het reageerbuisje.
- meng testserum en druppel bloed goed met behulp van een houtje. Elk houtje slechts voor één druppel gebruiken en daarna weggooien.
- breng na deze menging het objectglas in een licht schommelende beweging. Pas op dat de druppels niet in elkaar lopen.
- na enkele minuten is te zien in welke druppel er klontering is opgetreden.

### **Opdrachten en vragen:**

1. In welke druppel(s) is klontering opgetreden?
2. Bepaal na 10 minuten welke bloedgroep men heeft.
3. Geef in tabel 7 met een kruisje aan waar klontering zal optreden.
4. Met de gevolgde methode zijn de antigenen in de erythrocyten aangetoond. Op welke andere manier kan men eveneens de bloedgroep bepalen?

**Tabel 7**

Bloedgroep	ANTI a	ANTI A	ANTI A- B
A			
B			
0			
AB			

### **Aanhangsel:**

De hierna volgende tekst is ontleend aan de handleiding die door het centraal laboratorium van de bloedtransfusiedienst van het Nederlandse Rode Kruis bij de levering van testsera wordt meegezonden.

### **a. Bepaling van de bloedgroepen A, B, AB en O**

Het onderzoek wordt verricht door bepaling van de antigenen in de rode bloedcellen (A, B, AB en O) en door bepaling van de bijpassende iso-agglutininen anti-A en/of anti-B in het serum van het te onderzoeken bloedmonster. Overigens komen deze antigenen ook voor bij verschillende diersoorten, planten en bacteriën.

De in het serum voorkomende iso-agglutininen behorende bij de bloedgroep A zijn anti-B of  $\beta$

bloedgroep B zijn anti-A of  $\alpha$

bloedgroep AB heeft geen antistoffen

bloedgroep O zijn anti-A + anti-B ( $\alpha + \beta$ ).

Agglutininen zijn altijd aantoonbaar, behoudens bij pasgeborenen waar zij bijna steeds ontbreken; ze ontwikkelen zich in het eerste levensjaar. Voor een nauwkeurige bepaling zijn zowel de rode bloedcellen als het serum (of plasma) van het te onderzoeken bloedmonster nodig.

### **b. Het afnemen van bloed**

Het bloed wordt afgenomen door middel van een venapunctie en opgevangen in een droge steriele buis. Na stolling wordt het serum van de erythrocyten gescheiden.

Van het bloedstolsel wordt de erythrocytensuspensie bereid.

### **c. Bereiding van de erythrocytensuspensie:**

1. van het te onderzoeken bloedmonster.

Men gebruikt erythrocytensuspensies in een concentratie van ongeveer 10% (2 druppels bloed uit het bloedstolsel worden met een Pasteurse pipet overgebracht in 1 ml fysiologische zoutoplossing (NaCl 0,9%).

2. voor testerythrocyten A en B.

Testerythrocyten A en B moeten afkomstig zijn van personen met een krachtig A- ( $A_1$ ), respectievelijk B antigeen. Deze suspensie wordt bereid door enkele druppels bloed af te nemen door een prik in de vinger of oorlel met een steriele vaccinstyle. Het bloed wordt opgevangen in een buisje met fysiologische zoutoplossing.

Indien men dagelijks testerythrocyten A, en B nodig heeft, is het beter deze te bereiden uit bloed, afgenomen door middel van een venapunctie en opgevangen in een buis met een antistollingsmiddel (bij voorkeur per 10 ml bloed 1,5 ml natriumcitraat glucose-oplossing = 2,7% natriumcitraat met 2,3% glucose), dat — mits steriel bewaard bij een temperatuur van 4-8° C — ongeveer een week bruikbaar is. Het verdient aanbeveling de erythrocytensuspensies voor het gebruik eenmaal uit te wassen in een overmaat van fysiologische zoutoplossing, ter verwijdering van fibrinevezeltjes, die een storende invloed kunnen uitoefenen op het agglutinatieproces. Dit geschiedt door de erythrocytensuspensie gedurende 3 minuten bij 1000 toeren te centrifugeren. Vervolgens verwijdert men de bovenstaande vloeistof en daarna voegt men verse fysiologische zoutoplossing aan het erythrocytensediment toe om het te resuspendieren tot het oorspronkelijke volume.

### **d. Serum**

1. Van het te onderzoeken bloedmonster.

Verse sera veroorzaken soms hemolyse door de aanwezigheid van hemolysinen en hun complement. Het complement wordt geïnactiveerd door het serum gedurende 20 minuten in een waterbad te verwarmen op 56 °C. Daarna onderzoekt men de sera opnieuw op de aanwezigheid van agglutininen.

2. Testsera anti-A, anti-B en anti-A+B worden afgeleverd in flacons van 10 ml (200 bepalingen) en 2 ml (40 bepalingen). Als conserveermiddel is Na-azide ( $N_3Na$ ) toegevoegd.

De testsera worden eveneens verstrekt in lyophil (= in water oplosbaar) gedroogde

vorm in ampullen van 1 ml (20 bepalingen). Voor gebruik wordt de inhoud van de ampul opgelost door toevoeging van 1 ml water (bij voorkeur gedestilleerd steriel water).

### e. Uitvoering van de bepaling

Er zijn twee methoden om de bloedgroepbepaling te verrichten:

1. De objectglasmethode: (zie T-29).  
Deze heeft tot voordeel dat de reacties zeer snel zijn af te lezen.
2. De buisjesmethode: Deze vergt meer tijd, doch heeft het voordeel dat zwakke reacties beter worden herkend.

### f. De objectglasmethode (zie T-29)

De bloedgroepbepaling wordt verricht met behulp van 2 objectglasjes, welke op een witte ondergrond (wit vel papier) geplaatst worden. Dit is een 'dubbele' bepaling omdat men niet alleen de erythrocyten van de proefpersoon onderzoekt op de aanwezigheid van de antigenen A en B maar ook het serum van zijn bloed op de aanwezigheid van de bijpassende iso-agglutininen. De hiervoor benodigde suspensies van de testerythrocyten A en B zijn evenals de testsera afkomstig van het Centraal Laboratorium.

Het eerste objectglas wordt met behulp van een glaspotlood in 3 gelijke delen, het tweede in twee helften verdeeld. Boven de objectglazen schrijft men:

testserum	testserum	testserum	testerythrocyten
anti-B	anti-A	anti-A+B	A <sub>1</sub> B

Aan de linkerzijde wordt de naam van de persoon vermeld van het te onderzoeken bloedmonster. Onder de objectglazen worden de reacties (+ of -) vermeld en aan de rechterzijde het resultaat van het onderzoek (zie tabel 8). Op het tweede objectglas: 1 druppel testerythrocyten A, (links) en 1 druppel testerythrocyten B (rechts). Bij elke druppel testserum op het eerste objectglas wordt nu 1 druppel van de te onderzoeken erythrocytensuspensie gebracht. Op de beide helften van het tweede objectglas komt 1 druppel van het te onderzoeken serum. De verschillende erythrocytensuspensies en sera worden gemengd met 5 afzonderlijke, goed gereinigde roerstaafjes. Na menging wordt het objectglas voorzichtig in aanhoudend schommelende beweging gebracht, zo nodig 1 à 2 minuten. Na 10 minuten worden de reacties macroscopisch afgelezen. Het opstellen van de proef en het aflezen der reacties geschiedt bij kamertemperatuur volgens tabel 8. De agglutinatie der rode bloedlichaampjes wordt aangegeven door +, het niet-geagglutineerd zijn door -, op het onderliggende wit papier (zie tabel 8). De objectglasmethode heeft dus tot voordeel dat de bepalingen zeer snel zijn uit te voeren. In twijfelgevallen is het raadzaam de reacties ook microscopisch te beoordelen. Beter is het de proeven te herhalen met behulp van de buisjesmethode, waarmede ook zeer zwakke agglutinaties kunnen worden herkend.

**Tabel 8**

Onderzoek met testsera			Onderzoek met testerythrocyten		Resultaat
ANTI-B	ANTI-A	ANTI A+B	A <sub>1</sub>	B	
-	+	+	-	+	A ANTI-B
+	-	+	+	-	B ANTI-A
-	-	-	+	+	O ANTI-A+B
+	+	+	-	-	AB ----
Erythrocyten van de te onderzoeken persoon			Serum van de te onderzoeken persoon		

### g. De buisjesmethode

De voor deze methode benodigde agglutinatiebuisjes (45 x 7 mm) worden geplaatst in rekjes of in 50-gaatsblokken.

De proeven worden op overeenkomstige wijze verricht als is aangegeven voor de objectglasmethode. In plaats van een 10%-ige suspensie gebruikt men hier echter een 4% suspensie terwijl de incubatieduur verlengd wordt. Met een Pasteurse pipet worden 1 druppel erythrocytensuspensie en 1 druppel serum samengebracht in een buisje. Men vermengt ze door met de vinger tegen het buisje te tikken. Na een incubatieperiode van 1 uur bij kamertemperatuur worden de reacties microscopisch afgelezen. Dit geschiedt door het sediment op te zuigen met een pipet en vervolgens voorzichtig op een objectglas uit te strijken tot een dunne laag. Onder het microscoop zijn met zwakke vergroting thans de groepjes 3-10 of meer aaneengekitte erythrocyten duidelijk te herkennen. Bij een negatieve reactie zijn de rode bloedcellen gelijkmatig over het gezichtsveld verdeeld en liggen los van elkaar.

Indien de uitkomsten niet overeenkomen met de gegevens van tabel 8, wordt het bloed voor een nader onderzoek ingestuurd naar daartoe aangewezen laboratoria (Centraal Instituut voor Bloedgroepenonderzoek te Amsterdam of Groningen).

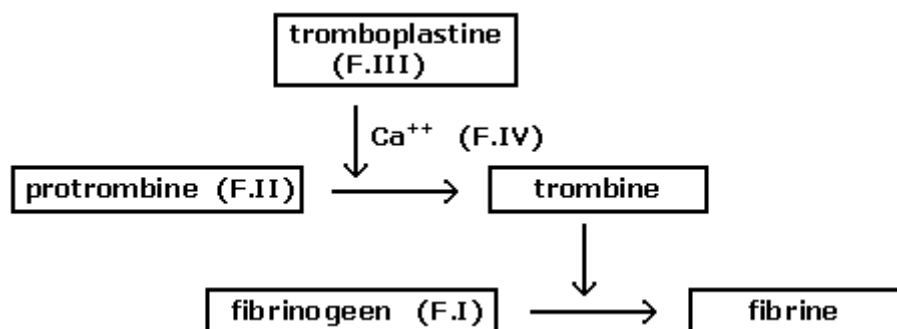
## T-31 Bloedstolling - Theorie

### A. Inleiding

In 1905 werd door Marowitz een theorie opgesteld over het proces van het stollen van bloed.

In de loop der jaren is deze theorie uitgebreid en vervolmaakt. Het stollingschema zoals dat heden ten dage geldt, verschilt in wezen niet van zestig jaar geleden.

Volgens Marowitz kan men tijdens het proces van bloedstollen de vorming van tromboplastine, van trombine en van fibrine onderscheiden:

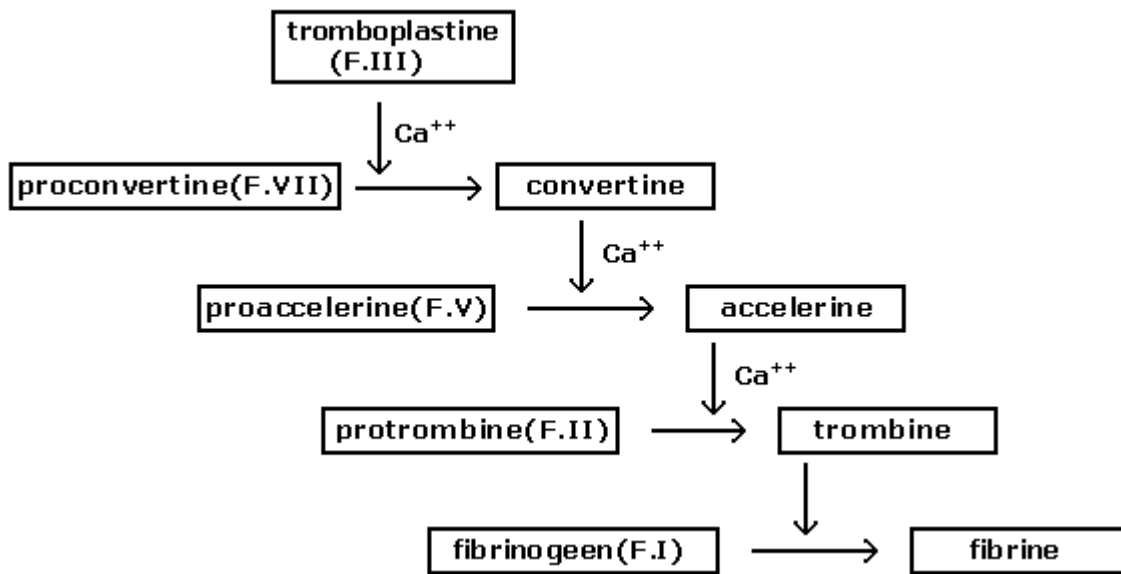


De stollingsfactoren hebben in 1956, volgens een internationale afspraak, een rangnummer gekregen; deze zijn in bovenstaand schema reeds opgenomen.

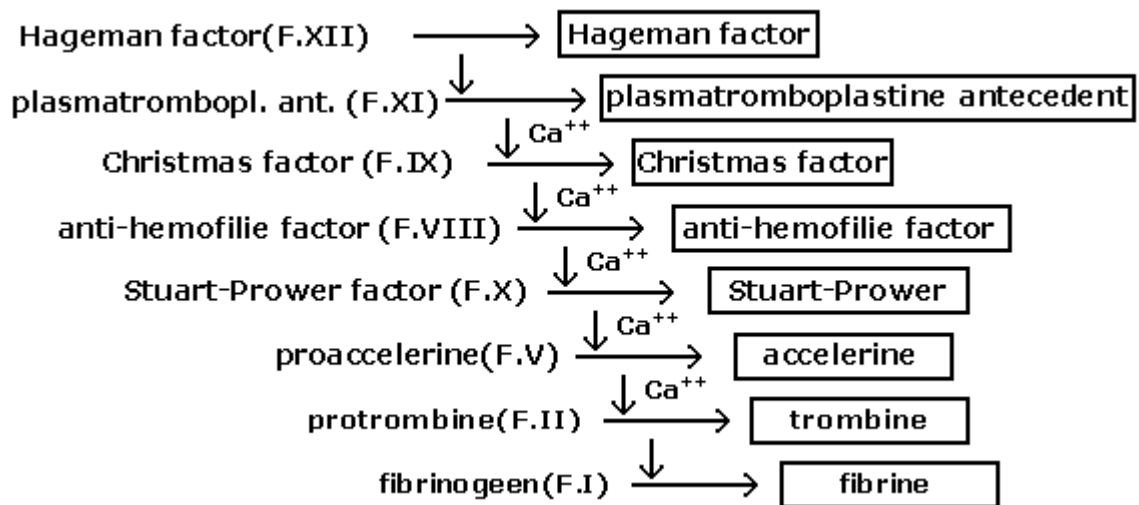
In 1947 en in de jaren daarna zijn nieuwe stollingsfactoren ontdekt, terwijl tevens duidelijk werd dat het op gang komen en het begin van het stollingsproces op twee verschillende wijzen kan geschieden.



- a. Het kan ook zijn dat de stolling zich geheel in het bloed afspeelt zonder dat er van buiten af een actief principe bijkomt, de zogenaamde intrinsieke stolling:



- b. Het kan ook zijn dat de stolling zich geheel in het bloed afspeelt zonder dat er van buiten af een actief principe bijkomt, de zogenaamde intrinsieke stolling.



Het blijkt dat vanaf de activering van de Stuart-Prower factor het intrinsieke en extrinsieke stollingsmechanisme min of meer op gelijke wijze verlopen. Voor de activering van het proaccelerine door de Stuart-Prower factor is de aanwezigheid van een lipoide noodzakelijk, dat in geval van de intrinsieke stolling door de bloedplaatjes wordt geleverd en in geval van de extrinsieke stolling reeds aanwezig is door het lipoid-karakter van het weefseltromboplastine zelf.

## B. Nomenclatuur van de stollingsfactoren

Factor I	=	fibrinogeen profibrine is een (gedeeltelijk gedegradeerde) fractie van het fibrinogeen, die bij 4 °C neerslaat.
Factor II	=	protrombine trombine (= trombase) is het activatieproduct van protrombine.
Factor III	=	tromboplastine = trombokinase protrombinase is het geactiveerde tromboplastine, dat ontstaat nadat tromboplastine gereageerd heeft met Stuart-Prower factor en proaccelerine.
Factor IV	=	geïoniseerd calcium in fysiologische concentratie
Factor V	=	proaccelerine — labiele factor — factor van Owren
Factor VI	=	accelerine — de geactiveerde vorm van proaccelerine
Factor VII	=	proconvertine = autoprotrombine! convertine — de geactiveerde vorm van proconvertine.
Factor VIII	=	antihemofilie factor A = anti-hemofilie globuline = plaatjes co-factor 1
Factor IX	=	Christmas factor = plasma tromboplastine component = antihemofilie factor B = plaatjes co-factor II = autoprotrombine II
Factor X	=	Stuart-Prower factor = autoprotrombine C
Factor XI	=	plasma tromboplastine antecedent = antihemofilie factor C
Factor XII	=	Hageman factor = contact factor
Factor XIII	=	Fibrine Stabiliserende Factor = Duckert's factor = fibrinase
Plasminogeen	=	profibrinolysine = proplasmine plasmine = fibrinolysine = de geactiveerde vorm van plasminogeen

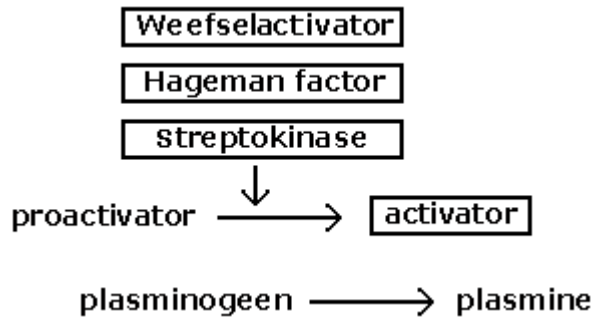
## C. Bloedstelping

De bloedplaatjes spelen een zeer belangrijke rol bij de stolling en bloedstelping. Bij iedere vaatwandbeschadiging en/of bij vrijkomen van ADP worden de bloedplaatjes kleverig en plakken zij aan de wand van het bloedvat en aan elkaar. Onder de invloed van sporen trombine vervloeien de bloedplaatjes tot één massa, waarbij deels geadsorbeerde, deels bloedplaatjes-eigen stollingsfactoren vrijkomen. Er ontstaat aldus een voorlopige vaatafdichting (witte trombus) die later wordt gevolgd door een steviger afsluiting in de vorm van stolling van het bloed in het betreffende vat (rode trombus). Locale omstandigheden bepalen wanneer het ene en wanneer het andere mechanisme overheerst, hoewel beide processen min of meer onafscheidelijk van elkaar zijn. Beide vormen van trombosevorming zijn min of meer aan elkaar gekoppeld, waarbij de plaatjes-trombus gezien moet worden als een voorlopige afdichting en de fibrine-trombus als een meer definitieve stelping. Toch kan men zich indenken dat afsluiting in arteriën vooral door plaatjes-trombus en afsluiting in de venen vooral door een fibrine-trombus wordt veroorzaakt. In de arteriën zal namelijk stolling en afsluiting bij voorkeur optreden op plaatsen waar het endotheel ziek of beschadigd is; in de venen zal stolling bij voorkeur optreden in gebieden waar stase van de bloedstroom voorkomt. Het in circulatie zijn van geactiveerde stollingsfactoren en stilstand van de bloedstroom zijn de factoren die een fibrine-stolsel doen ontstaan, zelfs in een vat waarin het endotheel ter plaatse volledig intact is. Behalve de betekenis die de bloedplaatjes en het stollingsproces hebben voor de dichting van

de vaatwand-onderbrekingen de versteviging van de vaatbeschadiging, hebben zij ook een functie bij het instandhouden van de normale vaatwanddoorlaatbaarheid.

#### D. Fibrinolyse

Na de vorming van fibrine is het stollingsproces niet beëindigd. Het fibrine wordt meer of minder snel afgebroken door een proteolytisch enzym, het plasmine. De afbraak van het fibrine noemt men fibrinolyse:



Het fibrinolytisch systeem blijkt een met de stolling gelijk geschakeld en niet tegengesteld mechanisme, dat de stolling voltooit door het stolsel tenslotte op te ruimen. Bovendien heeft het fibrinolytisch vermogen waarschijnlijk betekenis voor het doorgankelijk blijven van bloedvaten, klierbuizen en lichaamsholten.

#### E. Fibrinevorming

De reacties die optreden in zowel de extrinsieke als de intrinsieke stolling hebben de eindreactie gemeen, namelijk de omzetting van fibrinogeen in fibrine onder invloed van het enzym trombine.

Fibrinogeen is een globuline dat ca. 4% van de totale plasma-eiwitten uitmaakt en in concentratie de andere stollingsfactoren 100-1000 maal overtreft.

Het trombine is een proteolytisch enzym, dat het fibrinogeen ontdoet van haar beschermende ketens, zodat de fibrillaire structuur van het fibrine mogelijk wordt.

De fibrinogeen-fibrine omzetting verloopt in drie fasen:

1. proteolyse; het fibrinogeen wordt gesplitst onder invloed van trombine in fibrinemonomeren en fibrinopeptiden.
2. polymerisatie; vorming van polymeren die in de lengterichting een grote heterogeniteit vertonen, doch in dikte vrij constant zijn.
3. stolling: vorming van gestabiliseerd fibrine onder invloed van de fibrine stabiliserende factor (FSF), die door  $\text{Ca}^{++}$  wordt geactiveerd, waarbij de polymeren onderling covalente bindingen vormen.

## T-32 De invloed van $\text{Ca}^{++}$ en temperatuur op de bloedstolling

In het bloedplasma bevindt zich een oplosbaar eiwit: fibrinogeen dat omgezet kan worden in een onoplosbare stof: fibrine. Dit fibrine vormt een netwerk van draden (waartussen de bloedcellen blijven hangen) dat zich na enige tijd samentrekt. De omzetting komt tot stand onder invloed van een enzym: trombine, dat echter in onwerkzame vorm, als protrombine, in het bloed aanwezig is. De activering van protrombine tot trombine vindt plaats onder invloed van een groot aantal samenwerkende stollingsfactoren, zoals: anti-hemofiliefactor A, plaatjesfactoren, trombokinase,  $\text{Ca}^{++}$  ionen en vele andere (zie T-31). Aangezien het proces van de bloedstolling een enzymatisch proces is verloopt dit proces bij een bepaalde temperatuur.

### a. Bepaling optimale hoeveelheid $\text{Ca}^{++}$

#### Benodigheden:

- oxalaatbloed (zie T-28)
- bloedplasma (zie T-28)
- 11 reageerbuizen
- bekerglas met ijsblokjes
- bekerglas met water van 37° C en 60 °C
- waterbad
- 0,5%  $\text{CaCl}_2$ -oplossing

#### Uitvoering:

- plaats zes reageerbuizen in een waterbad van 37° C en breng in ieder afzonderlijk 2 ml oxalaatbloed
- voeg respectievelijk aan
  - buis 1 toe 5 druppels 0,5%  $\text{CaCl}_2$ -oplossing
  - buis 2 toe 10 druppels 0,5%  $\text{CaCl}_2$ -oplossing
  - buis 3 toe 15 druppels 0,5%  $\text{CaCl}_2$ -oplossing
  - buis 4 toe 20 druppels 0,5%  $\text{CaCl}_2$ -oplossing
  - buis 5 toe 25 druppels 0,5%  $\text{CaCl}_2$ -oplossing
  - buis 6 toe 30 druppels 0,5%  $\text{CaCl}_2$ -oplossing
- meng de inhoud door goed te schudden (denk om schuimvorming)

#### Opdracht:

1. Bepaal de tijd die iedere buis afzonderlijk voor de stolling nodig heeft; controleer daartoe voortdurend of het bloed al begint te stollen door telkens de buis even schuin te houden. Niet meer schudden!
- doe vervolgens 2 ml bloedplasma in een reageerbuis, plaats deze buis in het waterbad van 37 °C en voeg het aantal druppels 0,5%  $\text{CaCl}_2$ -oplossing toe dat met oxalaatbloed het snelst stolling gaf.
  - meng goed.

#### Opdracht en vragen:

2. Bepaal de stollingstijd.
3. Wat is oxalaatbloed?
4. Waarom is  $\text{CaCl}_2$  voor de stolling nodig?
5. Welke hoeveelheid  $\text{CaCl}_2$ -oplossing geeft het snelst stolling?
6. Waardoor stolt het bloedplasma?
7. Als er verschil is in stollingstijd tussen bloedplasma en het vergelijkbare buisje met oxalaatbloed, geef hiervoor dan een verklaring.

## b. Invloed van de temperatuur

### **Uitvoering:**

- breng in vier reageerbuizen ieder afzonderlijk 2 ml oxalaatbloed
- behandel de buizen nu als volgt:
  - buis 1 in een bekerglas met ijsblokjes zetten
  - buis 2 wegzetten bij kamertemperatuur
  - buis 3 in een bekerglas met water van 37 °C zetten
  - buis 4 in een bekerglas met water van 60 °C zetten
- voeg na 10 minuten aan iedere buis het aantal druppels 0,5% CaCl<sub>2</sub>-oplossing toe dat bij de vorige proef (T-32a) het snelst stolling gaf.
- meng goed door de buizen regelmatig voorzichtig schuin te houden.

### **Opdrachten:**

8. Bepaal de stollingstijd voor iedere buis afzonderlijk.
9. Geef een verklaring voor de gevonden resultaten.

N.B. Wanneer na 30 minuten het bloed in een of meer buizen nog niet is gestold, plaatst men deze buis of buizen in het waterbad van 37 °C en kijkt of alsnog na enige tijd stolling optreedt.

### **Opdracht:**

10. Geef ook voor deze resultaten een verklaring.

## T-33 Kwalitatieve analyse van bloed

Een van de functies van het bloed is zorg te dragen voor het transport van de stoffen die overal in het lichaam nodig zijn of in het lichaam overbodig zijn geworden en naar de uitscheidingsorganen moeten worden gebracht. Het gaat hier om allerlei stoffen uit de groepen: koolhydraten, eiwitten, lipiden, zouten, en dergelijke. De aanwezigheid van deze stoffen in het bloed kan op niet al te moeilijke manier worden onderzocht.

### **Benodigheden:**

- oxalaatbloed (zie T-28)
- 7 reageerbuizen
- pipetten
- indampschalpje
- Fehling's reagens
- 10% geelbloedloogzout (K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>)-oplossing
- verdund salpeterzuur (HNO<sub>3</sub>)
- oplossing van kaliumthiocyanaat (KCNS)
- 1% kopersulfaat
- 15-20% KOH of 10-15% NaOH
- ninhydrine in 2% aceton
- Hema combisticks (zie T-55)

### **Uitvoering:**

#### **a.**

- vul een centrifugebuisje met 10 ml oxalaatbloed en plaats het in de centrifuge.
- gedurende 10 minuten wordt nu gecentrifugeerd bij 2500 omwentelingen per minuut. Na 10 minuten de centrifuge uit laten lopen (niet plotseling afremmen) en het busje voorzichtig uit de centrifuge nemen.

- meet precies waar de scheiding tussen bloedcellen en bloedplasma ligt.
  - zuig met een pipet voorzichtig de heldere vloeistof af en verdeel deze over 4 reageerbuizen.
- b.**
- giet vervolgens de rode fractie in een indampschaaftje.
  - maak nu eerst de pipet en de centrifugebuis goed schoon: bloedresten zijn later niet meer te verwijderen!
  - zet het indampschaaftje op een driepoot met gaasje boven een brander die niet te fel brandt. Laat de inhoud volledig verkolen.  
Het laatste deel met 'open' vlam verbranden.
  - neem een lege reageerbuis en zet daarop een trechter met filter. Breng de as die door verkoling is verkregen op het filter en overgiet dit met verdund  $\text{HNO}_3$ .
  - verdeel de doorgelopen vloeistof over twee reageerbuizen en test op de aanwezigheid van ijzer met geel-bloedloogzout in de eerste reageerbuis en met kaliumthiocyanaat in de tweede buis. Een blauwe kleur in de eerste reageerbuis en een rode kleur in de tweede wijzen op de aanwezigheid van ijzer.
- c.**
- test de inhoud van de eerste reageerbuis met heldere vloeistof op de aanwezigheid van eiwitten. Eén helft van de inhoud met biureetreactie en de andere helft met de reactie met ninhydrine in 2% aceton. Na toevoegen van ninhydrine verwarmen.
  - verhit de tweede reageerbuis en noteer het resultaat.
  - test de inhoud van de derde reageerbuis op de aanwezigheid van koolhydraten met Fehling's reagens (of Hema combistick, zie T-55).
  - test de inhoud van de vierde reageerbuis op de aanwezigheid van ijzer door er wat geelbloedloogzout aan toe te voegen.  
Een blauw neerslag wijst op de aanwezigheid van  $\text{Fe}^{3+}$  ionen.

**Opdracht:**

Vul met + of - de verkregen gegevens in de onderstaande tabel 9.

**Tabel 9**

	Bloed - lichaamp.	Bloed- vloeistof
Biureetreactie		
Ninhydrine		
Fehling's reagens		
Geelbloedloogzout		
Kaliumthiocyanaat		

**T-34 Eiwitten in bloedplasma en serum**

**Benodigdheden:**

- bloedplasma en serum (zie T-28)
- reageerbuizen
- waterbad
- 66% salpeterzuuroplossing (= 15N  $\text{HNO}_3$ )
- 25% ammonia (= 13N  $\text{N}_4\text{OH}$ )
- 1 % kopersulfaatoplossing ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )
- natriumsulfaat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )
- 15-20% KOH-oplossing (= circa 3N KOH) of  
10-15% NaOH-oplossing (= circa 3N NaOH)

**Uitvoering:****a.**

- voeg aan 3 ml serum een druppel 66%  $\text{HNO}_3$  toe en verwarm voorzichtig. Positieve reactie op eiwit: gele verkleuring.
- voeg enkele druppels 25% ammonia toe. Positieve reactie op eiwitten: gele kleur verandert in oranje (xanthoproteïne reactie).

**b.**

- voeg aan 3 ml serum enkele druppels 15-20% KOH of 10-15% NaOH toe.
- druppel voorzichtig langs de rand van de reageerbuis 1 % kopersulfaatoplossing. Positieve reactie op eiwitten: op het grensvlak van de kopersulfaatoplossing en de te onderzoeken oplossing ontstaat een vuilrode verkleuring (biureetreactie).

**c.**

- doe in een reageerbuis 1 ml bloedplasma en in een andere 1 ml serum.
- plaats de beide buizen in een waterbad met kokend water. Er treedt coagulatie van de plasma- respectievelijk serumeiwitten op.

**d.**

- voeg bij 2 ml bloedplasma zoveel kristallen  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  tot ze niet meer oplossen.
- Bij verzadiging met  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  worden alleen de globulinen en het fibrinogeen uitgezouten; door filtratie kan men een scheiding teweeg brengen tussen de albuminen enerzijds en de globulinen en het fibrinogeen anderzijds.
- plaats een reageerbuis met het filtraat in een waterbad met kokend water. Er treedt coagulatie van de albuminen op.

**e.**

- voer het uitzouten ook met 2 ml serum uit. Zie d.

**Vraag:**

Is er bij het uitzouten verschil tussen bloedplasma en serum?

**T-35 Zuurstof en kooldioxide in het bloed****Benodigdheden:**

- 3 kleine erlenmeyers (inhoud 25 ml)
- oxalaatbloed (zie T-28)
- cilinderfles met kooldioxide

**Uitvoering:**

- breng in drie erlenmeyers ieder afzonderlijk 1 ml oxalaatbloed en 4 ml gedestilleerd water.
- schud één erlenmeyer met de duim op de opening krachtig enige tijd.
- leid door de tweede erlenmeyer voorzichtig kooldioxide.

**Opdracht en vraag:**

1. Vergelijk de kleur van de inhoud van de drie erlenmeyers en verklaar het resultaat.
2. Waarvoor diende de inhoud van de derde erlenmeyer?

- schud de erlenmeyer, waar kooldioxide doorgeleid is nu krachtig, met de duim op de opening, enige tijd.
- leid door de krachtig geschudde andere erlenmeyer voorzichtig kooldioxide door.

**Vraag:**

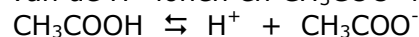
3. Zijn de verkleuringen (en die der processen) omkeerbaar?

## T-36 Buffermengsels

(Zie Biothema deel 2, figuur 121 tot en met 128)

Proeven met enzymen (Biothema deel 2) hebben duidelijk gemaakt dat het noodzakelijk is de pH in een vloeibaar milieu, waarin de enzymatische reactie plaatsvindt, constant te houden. Ook in andere milieus, bijvoorbeeld in het bloed, blijkt dit noodzakelijk te zijn. Willen we zorgen dat de pH in een vloeibaar milieu niet of slechts weinig verandert bij verdunning of bij toevoegen van  $H^+$ -ionen dan wel  $OH^-$ -ionen, dan gebruiken we een buffermengsel, ook kortweg buffer genoemd. De werking van een buffermengsel kan men als volgt verklaren:

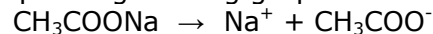
Azijnzuur is een zwak zuur. In water opgelost zijn er dan weinig  $H^+$ -ionen en weinig  $CH_3COO^-$ -ionen in verhouding tot het aantal  $CH_3COOH$ -moleculen. Er bestaat een evenwicht tussen de concentratie van de azijnzuurmoleculen enerzijds en de concentraties van de  $H^+$ -ionen en  $CH_3COO^-$ -ionen anderzijds:



De concentratie van  $H^+$ -ionen is dus afhankelijk van de verhouding tussen de concentratie van de azijnzuurmoleculen en de concentratie van de  $CH_3COO^-$ -ionen.

Nu voegt men Na-acetaat (een zout) aan dit zuur toe.

Dit zout is in oplossing volledig gesplitst in ionen:



De splitsing van het azijnzuur wordt hierdoor teruggedrongen. Dit is het gevolg van de overmaat  $CH_3COO^-$ -ionen afkomstig van het Na-acetaat. De concentratie van het niet gesplitste azijnzuur mag men nu gelijk stellen aan de concentratie van het zuur zelf. Evenzo mag men de concentratie van de  $CH_3COO^-$ -ionen gelijk stellen aan de concentratie van de toegevoegde Na-acetaatmoleculen. Nu is dus de concentratie van de  $H^+$ -ionen afhankelijk van de verhouding tussen de concentratie van de azijnzuur-moleculen en de concentratie van de Na-acetaatmoleculen. Door de hoeveelheden zuur en zout te variëren kan men verschillende  $H^+$ -ionen-concentraties verkrijgen. Bij verdunning van dit buffermengsel blijft de concentratie van de  $H^+$ -ionen praktisch constant; de verhouding tussen de concentratie van het zuur en de concentratie van het zout verandert niet. (Het vaak in aqua dest. voorkomende  $H_2CO_3$  kan van invloed zijn.) Toevoeging van kleine hoeveelheden zuur ( $H^+$ -ionen) of base ( $OH^-$ -ionen), dus toevoegen of wegnemen van  $H^+$ -ionen zal weinig invloed uitoefenen op de pH van de buffer. Buffermengsels kunnen ook gemaakt worden uit een oplossing van een zwakke base en een oplossing van een zout van die base. Met behulp van de volgende proeven is het mogelijk inzicht te verkrijgen in de werking van een buffer.

### Benodigheden:

- bekerglazen
- reageerbuizen
- pipetten
- gedestilleerd water
- universeel indicator met kleurenschaal
- 0,1 N NaOH-oplossing en 0,1 N HCl-oplossing
- 1 M azijnzuuroplossing en 1M natriumacetaatoplossing



**Uitvoering:****a.**

- vul een bekeerglas met 60 ml gedestilleerd water.
  - druppel hierin zoveel van een universele indicator tot de vloeistof duidelijk gekleurd is.
  - verdeel deze oplossing over drie reageerbuisen.
  - voeg aan de eerste buis enige druppels van een verdunde NaOH-oplossing toe.
  - voeg aan de tweede buis enige druppels van een verdunde HCl-oplossing toe.
- De derde buis gebruiken we om de kleuren te vergelijken.

**Opdracht:**

1. Bepaal nu met behulp van de kleurenschaal van de indicator de pH in de reageerbuisen.

**b.**

- vul een bekeerglas met 15 ml azijnzuur en 45 ml natriumacetaatoplossing.
- voeg weer universele indicator toe.
- verdeel de oplossing zodanig over vier reageerbuisen dat alle buizen evenveel bevatten.
- voeg aan de eerste buis enige druppels van de verdunde NaOH-oplossing toe.
- voeg aan de tweede buis evenveel druppels van de verdunde HCl-oplossing toe.
- voeg de inhoud van de derde buis toe aan 200 ml gedestilleerd water in een bekeerglas. Als de intensiteit van de kleur te gering wordt, voegt men nog wat van de indicator toe. Aan de inhoud van de vierde buis voegt men niets toe.

**Opdracht:**

2. Bepaal de pH in de reageerbuisen en in het bekeerglas.

## T-37 Regulatie van de bloedsamenstelling

Voor elk organisme is het van het grootste belang de samenstelling van het inwendige milieu zo constant mogelijk te houden, iedere verandering in het inwendige milieu zal dit evenwicht kunnen verstoren, indien het organisme niet beschikt over een nauwkeurig werkend reguleringsmechanisme (homeostase, Bio-thema deel 5).

Dit geldt ook voor het bloed. Bij zware spierarbeid ontstaat er melkzuur dat in het bloed terecht komt. Hierdoor kan een verschuiving van de pH optreden. Deze zuurgraadverschuiving wordt opgevangen door een reguleringsmechanisme.

**Benodigdheden:**

- kleine bekeerglazen (inhoud 25 ml)
- bloedserum, per experiment 10 ml (zie T-28)
- 0,1 N NaOH-oplossing en 0,1 N HCl-oplossing
- Pasteurse pipetten of injectiespuiten van 5 ml
- pH staafjes met een pH traject van 5,0-10,0; 0,0-6,0 en 7,5-14.

**Uitvoering:****a.**

- breng 5 ml bloedserum in een klein bekeerglas.
- meet de pH van het serum met een pH staafje (pH-traject 5,0-10,0) en laat het staafje in het serum staan.
- breng 5 ml water, dat tevoren met verdund NaOH op dezelfde pH als het serum is gebracht, in een even groot bekeerglas en controleer de pH met een pH staafje (pH-traject 5,0-10,0) en laat ook dit staafje in het bekeerglas staan.
- zuig in een pipet of injectiespuit wat 0,1 N HCl en laat in beide bekeerglasjes één druppel (tevoren oefenen) zoutzuur vallen.
- controleer de pH en noteer het resultaat.
- breng nu in ieder bekeerglas een pH staafje van de serie pH 0,0-6,0.
- probeer de pH van het serum en van het water op 5 te brengen en noteer hoeveel druppels voor serum en hoeveel voor water nodig zijn.
- noteer tenminste één tussenstap (bijvoorbeeld het aantal druppels om pH 6 te bereiken).

**Opdracht:**

1. Verwerk de resultaten in tabel 10.

**Tabel 10**

Aantal druppels HCl	pH serum	pH water

**Tabel 11**

Aantal druppels NaOH	pH serum	pH water

**b.**

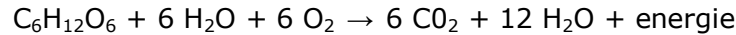
- maak de bekeerglazen goed schoon en droog.
- voer het gehele experiment nog eens uit, maar nu met 0,1 N NaOH.
- stel het resultaat van de toevoeging van 1 druppel NaOH-oplossing vast.
- probeer daarna de pH zowel van het serum als van het water 2 eenheden te laten stijgen. Maak gebruik van pH staafjes van de serie pH 7,5-14.
- noteer ook hiervan tenminste één tussenstap.

**Opdracht en vragen:**

2. Verwerk de resultaten in tabel 11.
3. Welk verschil is er tussen bloedserum en water ten aanzien van het aantal druppels HCl en NaOH dat is toegevoegd?
4. Geef een verklaring van dit verschil.
5. Welke betekenis heeft deze eigenschap van het bloed?
6. Welke andere stof dan die welke in de inleiding is genoemd zou in het lichaam bij opname in de bloedsomloop de pH kunnen veranderen?

## T-38 De celademhaling

Bij de celademhaling wordt door afbraak van organische stoffen energie vrij gemaakt door de cel. De afbraak of dissimilatie van bijvoorbeeld glucose (deze stof wordt het meeste gebruikt bij de dissimilatie) kunnen we als volgt samenvatten:

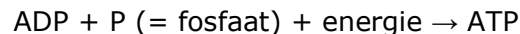


Deze bruto-formule geeft het omgekeerde weer van het fotosyntheseproces: het proces waarbij energie wordt vastgelegd.

Uit deze formule kan men gemakkelijk de gevolgtrekking maken dat de C-atomen uit het glucosemolecuul met zuurstof uit de lucht worden geoxideerd tot  $\text{CO}_2$ , terwijl er dan water overblijft. Deze opvatting is niet juist. Er is namelijk ook een afbraak van glucose waarbij  $\text{CO}_2$  vrij komt in een milieu zonder  $\text{O}_2$  (anaërobe ademhaling).

Onderzoekingen hebben aangetoond dat de afbraak van glucose voor een groot deel bestaat uit het onttrekken van waterstof (dehydrogeneren) aan het glucosemolecuul en het koppelen van deze waterstof aan een waterstofacceptor. Bij de aërobe ademhaling is deze acceptor  $\text{O}_2$ ; bij de anaërobe ademhaling spelen andere H-acceptoren een rol. Het gehele ademhalingsproces is een enzymatisch proces.

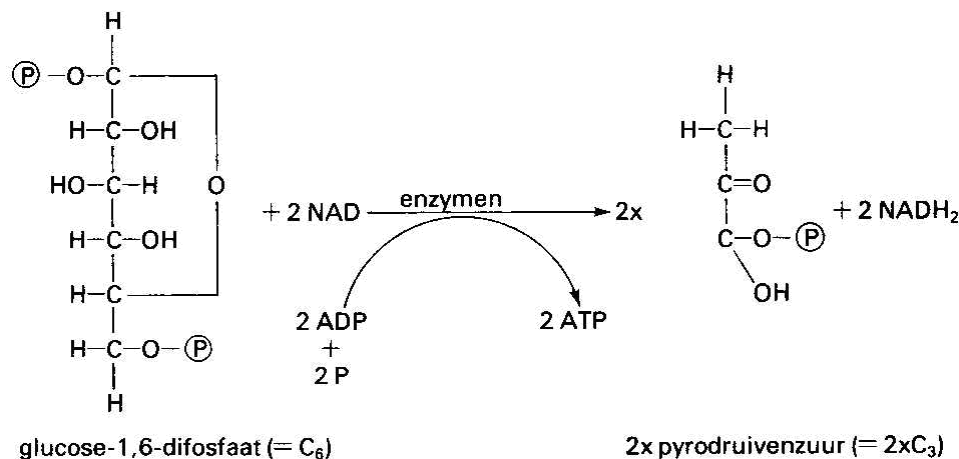
Bij de afbraak van de glucosemoleculen komt chemische bindingsenergie vrij. Deze energie wordt vastgelegd in een zogenaamde energierijke fosfaatbinding. Deze kan zijn energie vrij gemakkelijk weer afstaan, waar dit nodig is. Deze fosfaatbinding zorgt dus als het ware voor het energietransport in de cel. De binding van energie berust op het koppelen van een fosfaatgroep aan een molecuul adenosine-difosfaat (ADP), waardoor adenosine-trifosfaat (ATP) ontstaat. Deze ATP is de universele leverancier van energie in de cel. In formule:



De afbraak van het glucosemolecuul gaat als volgt:

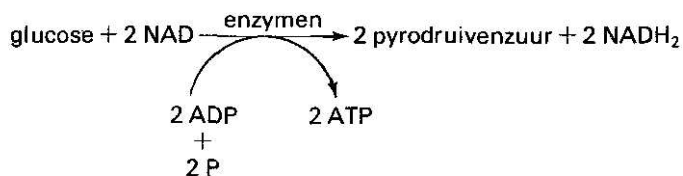
### A. De glucolyse

Het glucosemolecuul dat 6 C-atomen bevat wordt gesplitst in twee 3C-verbindingen:



Het is een proces dat via een aantal tussenstappen verloopt en dat men de glycolyse noemt. Tijdens deze glycolyse wordt 2x fosfaat en water opgenomen. De energie die bij de afbraak tot twee 3C moleculen vrijkomt wordt vastgelegd in 4 moleculen ATP, zodat de netto winst 2 moleculen ATP is.

Tevens worden er bij de omzetting van glucose naar 2x pyrodruivenzuur 4 H atomen onttrokken, door het enzym NAD (= nicotinamide-adenine-dinucleotide met vitamine B<sub>6</sub> (= nicotinezuur) als co-enzym). Doordat het NAD waterstof opneemt wordt het gehydrogeneerd tot NADH<sub>2</sub>, terwijl het substraat wordt gedehydrogeneerd. Samenvattend dus:



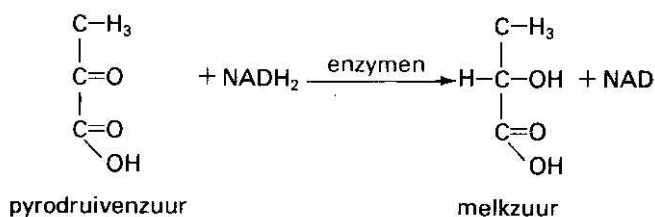
Het dehydrogenase NAD is echter een enzym, dat nu geblokkeerd is (NADH<sub>2</sub>). Er zal dus nog iets mee moeten gebeuren.

## B. De H-acceptor

Er zijn de volgende mogelijkheden:

### a. De waterstof acceptor is in de cel aanwezig.

1. Het pyrodruivenzuur doet dienst als H-acceptor

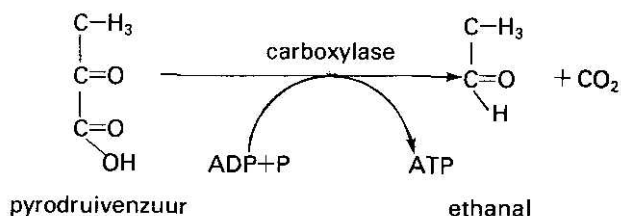


Dit proces verloopt in de spieren bij zware arbeid tijdens de arbeidsfase.

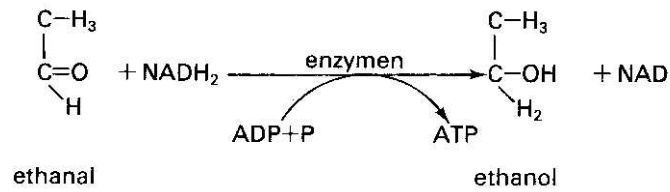
Ook melkzuur-bacteriën kunnen deze reactie laten verlopen, waarbij dus glucose wordt omgezet in melkzuur met als energiewinst 2 moleculen ATP.

Men noemt dit de melkzuurgisting; een anaëroob verlopend proces.

2. Het pyrodruivenzuur splitst onder invloed van het enzym carboxylase een molecuul CO<sub>2</sub> af en gaat over in ethanal



Ethanal doet nu dienst als H-acceptor:



Dit proces, bekend als de alcoholgisting, verloopt onder andere in gistcellen, waarbij dus glucose wordt omgezet in alcohol (ethanol) en kooldioxide. Er zijn nog andere vormen van gisting: boterzuurgisting, azijnzuurgisting, en dergelijke.

### b. De waterstofacceptor wordt van buiten de cel opgenomen.

#### 1. De ademhalingsketen.

Het  $\text{NADH}_2$  geeft de waterstof over aan een ander enzym: het FP (= flavoproteïne met vitamine  $\text{B}_2$  als co-enzym) waardoor  $\text{FPH}_2$  wordt gevormd. Op zijn beurt geeft het  $\text{FPH}_2$  de waterstof weer af aan een volgend dehydrogenase dat ijzer in tweewaardige of driewaardige vorm bevat. Na nog enige tussenstappen wordt de waterstof met behulp van een laatste dehydrogenase overgedragen aan zuurstof, zodat er water wordt gevormd.

Deze overdracht van de H van enzym naar enzym levert energie op, zodat weer ATP wordt gevormd en wel per 1 atoom H  $1\frac{1}{2}$  molecuul ATP. Deze 'overdrachtsreeks' noemt men het cytochroomsysteem of ook wel de ademhalingsketen.

De werking van het cytochroomsysteem berust op een overdracht van elektronen van de waterstof via een aantal enzymen op de zuurstof. De zuurstof wordt hiertoe geactiveerd en gaat over in ion-vorm, waardoor het zich met de eerder gevormde  $2\text{H}^+$  kan verbinden tot water.

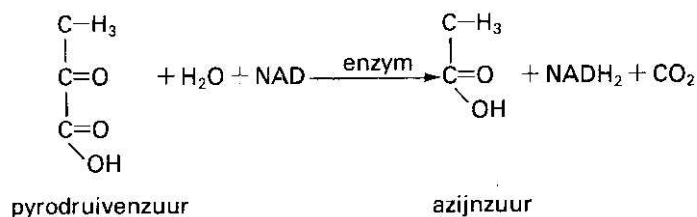
#### 2. In plaats van zuurstof kunnen ook andere stoffen, zoals bijvoorbeeld nitraat en sulfaat dienst doen als waterstofacceptor.

### c. De citroenzuurcyclus

Is er sprake van aërobe ademhaling dan wordt het pyrodruivenzuur nog verder afgebroken, totdat het uiteindelijk geheel is gesplitst in  $\text{CO}_2$  en H. Deze H wordt weer gebonden aan NAD en vervolgens via het cytochroomsysteem overgedragen aan zuurstof, waardoor weer water ontstaat.

Deze afbraak van pyrodruivenzuur verloopt in twee fasen:

#### a. onder opname van water en afgifte van $\text{CO}_2$ en H wordt azijnzuur gevormd:



Dit azijnzuur wordt gekoppeld aan een enzym, waarvan de werkzame groep wordt aangeduid met de naam: co-enzym A. Daar de actieve groep een sulfohydryl is, schrijft men gewoonlijk HS-CoA. Uit de reactie tussen HS-CoA en het azijnzuur ontstaat het acetyl-co-enzym A, ook wel 'actief azijnzuur' genoemd.

- b.** het gevormde actief azijnzuur wordt gekoppeld aan oxaalazijnzuur, waardoor citroenzuur ontstaat. Via een aantal stappen wordt dan weer oxaalazijnzuur teruggevormd, waarbij 8 atomen H en 2 moleculen CO<sub>2</sub> worden afgesplitst. De H atomen worden weer gebonden aan NAD en het oxaalazijnzuur kan weer opnieuw een verbinding aangaan met acetyl-co-enzym A, waardoor de cyclus wordt gesloten. Men noemt deze processen: de citroenzuurcyclus of Krebs-cyclus.

Het NADH<sub>2</sub> gevormd bij **a** en **b** geeft de H via het cytochroomsysteem af aan zuurstof. Aangezien er per 1 molecuul pyrodruivenzuur 10 atomen H worden gevormd, worden er in de ademhalingsketen 15 moleculen ATP gevormd; dat is per 1 molecuul glucose 30 ATP.

#### D. Samenvattend:

Wanneer 1 molecuul glucose aëroob wordt verademd levert dit in totaal 38 moleculen ATP op, te weten:

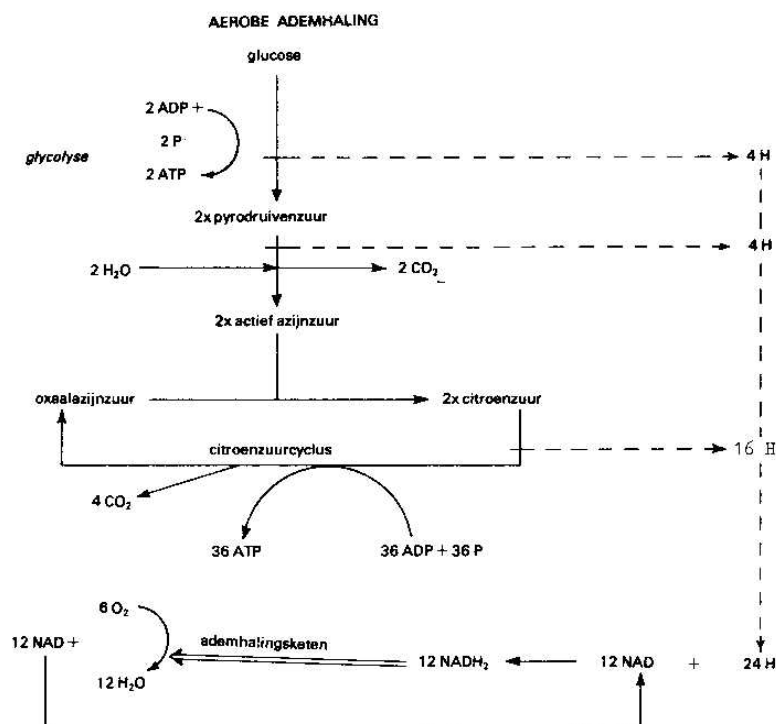
1. bij de glycolyse 2 ATP
2. 4 H-atomen, die bij de glycolyse vrijkomen, leveren in de ademhalingsketen 6 ATP
3. bij de vorming van acetyl-co-enzym A en in de citroenzuurcyclus worden per 1 molecuul glucose 20 H atomen afgesplitst → 30 ATP

De aërobe ademhaling levert dus veel meer ATP (= energie) dan de gisting.

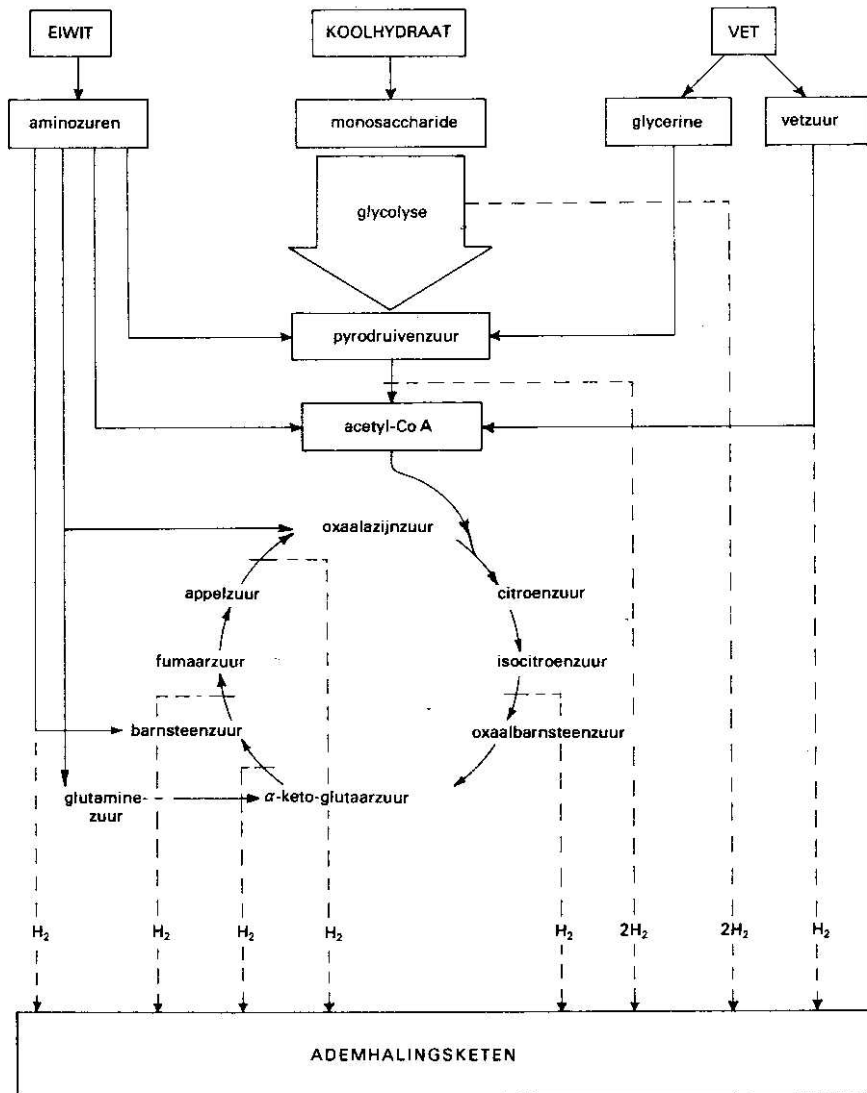
Van de totale energie van 2.820.016 Joule (= 674 Kcal.) die in een molecuul glucose aanwezig is komt 38 X 29.288 Joule = 945.584 Joule (= 226 Kcal.) beschikbaar voor het verrichten van arbeid in de cel; de rest gaat als warmte verloren.

Het nuttig effect is ± 40% (hetgeen zeer gunstig is).

De glycolyse vindt plaats in het cytoplasma. Citroenzuurcyclus en cytochroomsysteem zijn gebonden aan de mitochondria.



OVERZICHT VAN DE ENERGIESTOFWISSELING



## T-39 Overzicht van de voornaamste typen stofwisselingsprocessen

(Zie Biothema deel 2, V-47 pagina 160 en 161).

### I. Energieleverende processen: dissimilatie of katabolisme

#### A. Afbraak van organische stoffen:

a. zonder medewerking van een, van buiten de cel opgenomen, waterstofacceptor (= electronenacceptor):

fermentatie

1. substraat koolhydraten: gisting
2. substraat eiwitten: rotting

A. met medewerking van een, van buiten de cel opgenomen, waterstofacceptor (= electronenacceptor):

1. H-acceptor zuurstof: ademhaling
2. H-acceptor nitraat: nitraatreductie
3. H-acceptor sulfaat: sulfaatreductie
4. H-acceptor koolzuur: methaangisting

**B. Oxidatie van anorganische stoffen** met zuurstof, soms ook met nitraat, bij de chemo-autotrofe bacteriën.

### II. Energievereisende opbouwprocessen: assimilatie of anabolisme

#### A. Opbouw van de celbestanddelen uit eenvoudiger stoffen,

die hetzij bij de dissimilatieprocessen als tussenproducten gevormd zijn, hetzij als zodanig uit het milieu zijn opgenomen, met behulp van de energie geleverd door de onder A genoemde processen.

1. opbouw van zetmeel uit glucose-1-fosfaat
2. opbouw van eiwitten uit aminozuren
3. opbouw van vetten uit acetyl-co-enzym A
4. andere biosyntheseprocessen

#### B. Opbouw van organische stof uit koolzuur: koolzuurassimilatie:

a. de hiervoor benodigde energie wordt geleverd door de processen genoemd onder I.B: chemo-autotrofie = chemosynthese

1. waterstofdonor is water

b. de hiervoor benodigde energie wordt geleverd door lichtabsorptie: fotosynthese

1. waterstofdonor is water: groene planten en algen
2. waterstofdonor is  $H_2S$ : groene en purperbacteriën
  1. en 2.: foto-autotrofie
3. waterstofdonor is een organische stof: sommige purperbacteriën: foto-organo-heterotrofie.

## T-40 Stofwisseling

Cellen verkrijgen hun energie door een trapsgewijze oxidatie van brandstoffen als koolhydraten en vetten. Bij een volledige oxidatie met behulp van zuurstof tot  $CO_2$  en  $H_2O$  spreken we van (cel-)ademhaling. Bij anaërobe organismen, waar geen volledige oxidatie optreedt wordt het proces gisting genoemd. De hogere koolhydraten worden vóór de afbraak door middel van oxidatie, eerst in



kleinere brokstukken gesplitst. Zo wordt zetmeel met behulp van het enzym fosforylase tot glucose-1 -fosfaat afgebroken.

In vitro kan men het proces ook andersom laten verlopen.

### a. De zetmeel synthese in vitro door fosforylase

#### Benodigdheden:

- aardappel
- 6 reageerbuizen
- erlenmeyer
- pipet
- trechter en filtreerpapier
- mixer
- katoenen doek
- glazen plaat
- 0,01 M glucose
- 0,01 M glucose-1-fosfaat
- 0,3 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
- jood-kaliumjodide-oplossing (zie pag. 33)

#### Uitvoering:

- schil een kleine aardappel en snij hem in stukjes.
- maak de stukjes fijn in 25 ml water in een mixer.
- leg de brij midden op een schone katoenen lap en vouw deze dicht.
- wring de vloeistof uit de brij en vang de vloeistof op.
- filtreer door een vouwfilter. Het filtraat bevat het enzym fosforylase; zo nodig aanvullen met aqua dest. tot 15 ml.
- controleer het filtraat op de aanwezigheid van zetmeel.
- pipetteer in:
  - reageerbuis no. 1: 3 ml gedestilleerd water
  - reageerbuis no. 2: 3 ml 0,01 M glucose
  - reageerbuis no. 3: 3 ml 0,01 M glucose-1-fosfaat
  - reageerbuis no. 4: 3 ml 0,01 M glucose + 0,1 ml 0,3 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
  - reageerbuis no. 5: 3 ml 0,01 M glucose-1-fosfaat + 0,1 ml 0,3 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
- voeg aan iedere buis 3 ml van het enzymextract toe en meng de inhoud goed.
- ga elke 3 minuten na of er in een van de buizen zetmeel is gevormd door er een druppel uit te halen en op een schoon glazen of porseleinen plaatje samen te brengen met een druppel jood-kaliumjodide-oplossing.
- noteer de waargenomen kleuren bij de bijbehorende tijden in tabel 12.
- voer de laatste twee handelingen gedurende 21 minuten uit.

**Tabel 12**

Tijd in minuten	Kleur na reactie op zetmeel met $\text{KI}_3$ (joodkaliumjodide)				
	buis 1	buis 2	buis 3	buis 4	buis 5
3					
6					
9					
12					
15					
18					
21					
24					

**Vraag en opdracht:**

1. Wat verstaat men onder 'in vivo' en 'in vitro'?
2. Tracht de resultaten te verklaren.

**b. Saccharose (invertase) uit gist**

Saccharose is een disaccharide dat bestaat uit glucose en fructose. Met Fehlings reagens kan men de omzetting van saccharose in glucose en fructose door invertase controleren. Saccharose reageert negatief bij deze reactie.

**Benodigdheden:**

- 20 gram bakkersgist
- drie bekeerglazen
- twee reageerbuizen
- centrifuge
- 2% saccharose-oplossing
- Fehling's reagens
- resorcinol
- 25%HCl-oplossing

**Uitvoering:**

- suspendeer in een bekeerglas ± 20 gram bakkersgist in ± 40 ml gedestilleerd water.
- de suspensie goed roeren en ± 20 minuten laten staan.
- centrifugeer de suspensie gedurende ± 7 minuten (op 3000 toeren).
- giet de bovenstaande vloeistof in een bekeerglas.
- breng in elk van twee reageerbuizen 5 ml extract.
- houd één van de reageerbuizen gedurende 5 minuten in kokend water en koel voorzichtig af.
- voeg aan beide reageerbuizen 10 ml 2% saccharose-oplossing toe.
- schud het mengsel goed en laat het een uur bij kamertemperatuur staan.
- pipetteer 1 ml van de te onderzoeken oplossing in een derde reageerbuis.
- voer op de inhoud van de eerste en de tweede reageerbuis de reactie met Fehling's reagens uit.
- voeg aan 1 ml van de te onderzoeken oplossing in de derde reageerbuis een kleine spatelpunt resorcinol toe en ± 6 druppels 25% HCl.
- verwarm het mengsel gedurende een paar minuten in kokend water.  
Als fructose aanwezig is ziet men een rode verkleuring.

**T-41 Warmte-afgifte bij kiemende erwten****Benodigdheden:**

- erwten of sojabonen
- 2 thermosflessen
- 2 thermometers
- 2 doorboorde kurken
- of i.p.v. thermosflessen calorimeters of in tempex verpakte grote erlenmeyers.

**Vorbereiding:**

- laat de erwten of sojabonen ontkiemen tot de worteltjes ongeveer 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> cm lang zijn.

**Uitvoering:**

1. vul een thermosfles voor twee derde met deze gekiemde erwten.
2. sluit de fles af met een doorboorde kurk, waardoor een thermometer is gestoken. De thermometer mag de erwten niet raken.
3. in een tweede thermosfles wordt alleen een thermometer geplaatst.
4. beide vaten goed afsluiten!
5. lees beide thermometers iedere 15 minuten af.
6. Opdrachten:
7. Plaats de resultaten die aan het einde van de waarnemingsperiode zijn verkregen in een tabel en verwerk deze in een diagram.
8. Geef een verklaring voor de gevonden resultaten.

**T-42 Warmte-afgifte door de menselijke huid**

Nu in het gehele onderwijs de eenheden uit het *Système International d'Unités* (SI) moeten worden gebruikt, moet in plaats van de calorie de joule gebruikt worden; 1 calorie komt overeen met 4,184 J (=joule).

'Een calorie is de hoeveelheid warmte die 1 gram water van 0 °C 1 graad in temperatuur doet stijgen'.

'De verbrandingswarmte van een stof is de hoeveelheid calorieën die bij verbranding van een gram van die stof vrijkomt'.

'1 Kilocalorie = 1000 calorieën (1 kcal. = 1000 cal.)'

**Benodigheden:**

- reageerbuis.
- thermometer.

**Uitvoering:**

- vul een reageerbuis met 10 ml water. Plaats er een thermometer in en bepaal de temperatuur.
- houdt de hand gedurende 5 minuten (precies) om de reageerbuis. Meet daarna opnieuw de temperatuur.

**Vragen:**

1. Hoeveel joule (calorieën) heeft het water in die tijd opgenomen?
2. Wat is de oppervlakte van het water, waardoor de warmte is binnengedrongen (beschouw de reageerbuis als een cilinder)?
3. Wat is dus (!) ongeveer het warmteverlies van de huid per minuut en per cm<sup>2</sup>?
4. Hoeveel joule (calorieën) zou het gehele lichaam (oppervlakte 1,8 m<sup>2</sup>) per dag verliezen, indien het in dezelfde omstandigheden werd gebracht (dus in water van ± 20 °C)?
5. Vergelijk deze waarden met de hoeveelheid warmte die een mens in rust onder normale omstandigheden (dus in lucht) per dag afgeeft: 9623 joules (± 2300 kcal.). Hoe verklaart men het enorme verschil?

- vul een reageerbuis met 10 ml water. Plaats er een thermometer in en bepaal de temperatuur.
- haal de thermometer eruit en houdt deze vlak boven het water.
- houdt de hand gedurende 5 minuten om de reageerbuis.
- bepaal iedere minuut de temperatuur, maar haal na de meting steeds de thermometer uit en houdt deze vlak boven het water. Hierdoor wordt de waterkolom niet door de thermometer verhoogd.

**Vragen:**

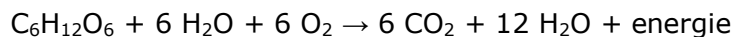
6. In welke minuut wordt de meeste warmte afgegeven?
7. Hoe verklaart men dat?
8. Zou het in verband hiermee verschil maken of het lichaam werd gebracht in: een badkuip 35 °C, een zwembad 20 °C, stromend water 20 °C (c.q. als het lichaam zich door stilstaand water 20 °C bewoog)?
9. Kan men deze gegevens in verband brengen met bepaalde eigenschappen van zee-zoogdieren?

**T-43 Ademhalingsquotiënt of respiratoir-quotiënt: de R.Q.**

Bij de verademing van stoffen door levende organismen wordt O<sub>2</sub> verbruikt en komt CO<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O vrij. De verhouding van de uitgescheiden CO<sub>2</sub> en de opgenomen O<sub>2</sub> wordt ademhalingsquotiënt of respiratoir quotiënt genoemd:

$$RQ = \frac{CO_2}{O_2} = \frac{\text{aantal gevormde moleculen } CO_2}{\text{aantal opgenomen moleculen } O_2}$$

Bij de volledige verademing van één molecuul glucose ontstaan 6 moleculen CO<sub>2</sub> en 12 moleculen H<sub>2</sub>O. Er worden 6 moleculen vrije zuurstof opgenomen die zich verbinden met 24 atomen H tot 12 moleculen H<sub>2</sub>O. De 24 H atomen worden aan het glucosemolecuul tijdens de aërobe celademhaling onttrokken. Het glucose-molecuul dat zelf 12 H atomen bezit neemt hiertoe tijdens dit proces nog eens 12 H atomen uit 6 moleculen water op. De in dit water aanwezige 6 zuurstofatomen en de 6 zuurstofatomen uit het glucosemolecuul leveren samen met de 6 koolstofatomen uit het glucosemolecuul 6 moleculen CO<sub>2</sub>.



In het bovenstaande geval is het RQ dus 1.

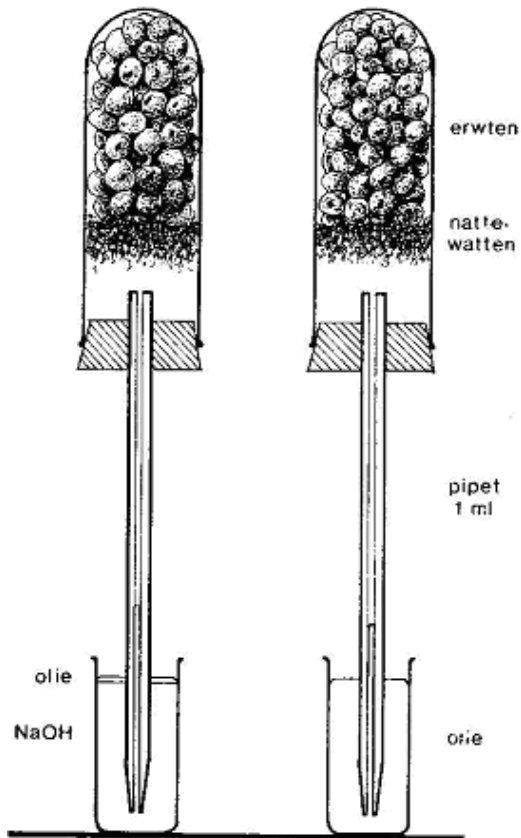
Bij volledige verademing van waterstofrijke substraten, zoals vetten, moet in verhouding meer O<sub>2</sub> worden opgenomen. Het RQ is dan ongeveer 0,7. Worden daarentegen waterstofarme substraten volledig verademd dan wordt het RQ groter dan 1. Indien er naast verademing ook gisting optreedt zal er veel meer CO<sub>2</sub> gevormd worden, terwijl er door de gisting geen O<sub>2</sub> verbruikt wordt. De hierna beschreven proef mag daarom niet te lang duren, omdat de erwten, nadat de O<sub>2</sub> uit de proefopstelling verbruikt is, overgaan tot gisting. Een goed uitgevoerde bepaling van het RQ geeft een beeld van de chemische omzettingen bij de celademhaling.

**Benodigdheden:**

- kiemende erwten.
- twee bekerglazen.
- Twee cuvetten van 50 ml.
- twee pipetten.
- 1N NaOH-oplossing.
- olie.
- watten.
- aluminiumfolie.

**Uitvoering:**

- maak een proefopstelling volgens figuur 41.
- vul de cuvettes ieder met 7 kiemende erwten.
- zet de ene cuvet met pipet in een bekersglas met 1N NaOH-oplossing en giet daarop een dun laagje olie en zet de andere in een bekersglas met olie.



Figuur 41. Proefopstelling voor het bepalen van het ademhalingsquotiënt (RQ)

- om het NaOH-oppervlak te vergroten kan een in NaOH-oplossing gedrenkt plukje glaswol in de cuvet gebracht worden. Dit mag de natte watten of erwten niet raken.
- druk de pipetten iets verder in de cuvet met erwten dan strikt nodig zou zijn en trek ze, terwijl de punt zich in de vloeistof bevindt, zover er uit dat de NaOH-oplossing respectievelijk de olie een stukje in de pipet opstijgt.
- omwikkel beide cuvettes met aluminiumfolie en zet ze in één ruimte.
- wacht enkele minuten en noteer dan voor beide buizen de stand van de vloeistof: dit is de nulstand.
- noteer na 30 minuten en 60 minuten de standen van de vloeistof.

N.B. De juiste waarde van het RQ is niet te berekenen zonder het volume van de gassen in de proefopstelling te weten.

### Opdrachten en vragen:

1. Waarom staan beide cuvettes in één ruimte.
2. Welke conclusie kan men trekken omtrent de chemische aard van het verbrandingssubstraat?
3. In de inleiding zijn drie ademhalingssubstraten genoemd. Welke?
4. Een daarvan heeft men reeds aangetoond in de proef hiervoor. Bedenk nu, met behulp van de kennis die men heeft opgedaan, voor de andere twee substraten gefingeerde eindstanden, die in overeenstemming moeten zijn met de RQ-waarden van die substraten.
5. Waarom brengt men een laagje olie aan op de NaOH-oplossing?
6. Wat is het verband tussen de grootte van het RQ en de hoeveelheid vrijgekomen energie?
7. Hoe houdt men hiermee rekening bij onze voeding tijdens de verschillende seizoenen?

## T-44 Zuurstofverbruik door kiemende erwten

### **Benodigdheden:**

- kiemende erwten of sojabonen.
- twee cilindervormige glazen, inhoud 2 liter.
- twee glazen platen of passende stoppen.

### **Uitvoering;**

- vul een cilindervormig glas (bijvoorbeeld een weckfles van 2 liter) voor een kwart met kiemende erwten of kiemende sojabonen.
- sluit het glas goed af.
- als controle gebruikt men een glas zonder erwten.
- zet beide glazen vóór het lesuur gedurende 24 uur in het donker en houd er nadien een brandende kaars in.

### **Opdracht:**

1. Geef een verklaring voor de waarneming.

## T-45 Zuurstofopname door de mens

### **Benodigdheden:**

- glazen luchtpompklok.
- stop met kraan, zie T-20.
- aquariumblok, zie T-20.
- kaars geplaatst op omgebogen uiteinde van ijzerdraad, waarvan het andere einde door een op de klok passende stop gestoken is.
- stopwatch.

### **Uitvoering:**

#### **a.**

- vul de klok met verse lucht uit het lokaal, door de klok vol te zuigen met water en de kraan open te draaien.
- verwijder de stop met kraan.
- plaats de klok zo diep in het water dat er 5 liter lucht in zit.
- breng de brandende kaars in de klok door de stop op de klok te plaatsen. Doe dit voorzichtig, maar niet te langzaam.

### **Opdracht:**

1. Bepaal met een stopwatch of horloge met secondewijzer hoe lang de kaars blijft branden.

#### **b.**

- plaats de stop met kraan op de klok.
- zuig de klok vol met water en sluit de kraan.
- blaas nu op de wijze zoals in T-20 is aangegeven 5 liter uitademingslucht in de klok. Deze lucht mag slechts de normale tijd in de longen zijn geweest. Zorg er vervolgens voor dat de waterspiegel in de klok precies even hoog staat als er buiten, zodat er na openen geen lucht in of uit gaat.
- verwijder de stop met de kraan en vervang deze door de stop met de brandende kaars.

**Opdracht:**

2. Bepaal hoe lang de kaars nu blijft branden.

c.

- plaats de stop met kraan op de klok.
- zuig de klok vol met water en sluit de kraan.
- blaas nu op de wijze zoals in T-20 is aangegeven 5 liter uitademingslucht in de klok, maar houdt nu de lucht langere tijd (20 à 30 seconden) in de long alvorens uit te ademen.

**Opdrachten:**

3. Bepaal ook nu de brandtijd van de kaars. Het is mogelijk dat de kaars bij het inbrengen in de klok meteen uit gaat. Wanneer namelijk het zuurstofgehalte van de lucht in de klok minder dan 15% is, kan de kaars niet branden.
4. Wat kan men concluderen uit vergelijking van de tijden van branden van de kaars?

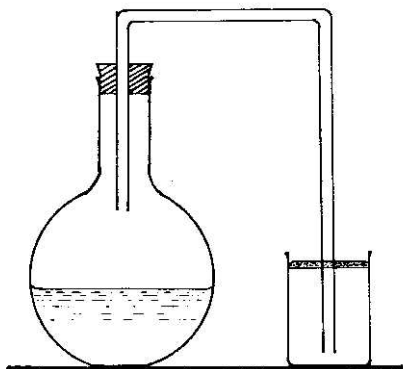
T-46 Vorming van kooldioxide bij gisting of anaërobe ademhaling

**A. Gisting van glucose met behulp van bakkersgist****Benodigdheden:**

- bakkersgist.
- kolf van 1000 ml.
- U-vormig gebogen glazen buis.
- bekeerglas.
- doorboorde kurk.
- 100 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .
- glucose.
- 0,001 N  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -oplossing.
- fenolftaleïne.
- olie.

**Vorbereiding:**

- maak 250 ml 5% gistsuspensie in water.
- maak 250 ml 10% glucose-oplossing.



Figuur 42. Proefopstelling voor het aantonen van kooldioxide, ontstaan ten gevolge van gisting.

**Uitvoering:**

- voeg aan de gistsuspensie 100 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  toe.
- Doe de glucose-oplossing in de kolf en voeg er de gistsuspensie aan toe.
- sluit de kolf met een doorboorde kurk, waarin een gebogen glazen buis, die in een bekerglas met de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -oplossing gezet wordt (figuur 42).
- aan de genoemde  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -oplossing worden enkele druppels fenolftaleïne toegevoegd.
- op de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -oplossing in het bekerglas wordt een laagje olie aangebracht.

**Vragen en opdracht:**

- Wat ziet men in het bekerglas?
- Geef een verklaring.
- Waarvoor moet er een laagje olie aangebracht worden op de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -oplossing?

**B. Ballonnetjesproef****Benodigdheden:**

- bakkersgist.
- 6 reageerbuizen.
- bekerglas.
- waterbad.
- saccharose (= bietsuiker).
- NaCl.
- tabletten vit. C.
- pokon en chrysal.
- 6 ballonnetjes, indien deze nieuw zijn moeten deze eerst even worden opgeblazen.

**Uitvoering:**

- maak een gistsuspensie in water van 40 °C (per 6 buizen is ongeveer 15 gram gist nodig in 75 ml water).
- nummer 6 reageerbuizen 1 tot en met 6.
- Vul de reageerbuizen voor % met gistsuspensie.
- voeg toe aan:
  - buis 1 : 3 gram saccharose (= bietsuiker).
  - buis 2 : 3 gram NaCl.
  - buis 3 : 3 gram saccharose + een fijngemaakt tablet vitamine C.
  - buis 4 : een fijngemaakt tablet vitamine C.
  - buis 5 : 3 gram POKON.
  - buis 6 : 3 gram CHRYSAL
- schud de buizen goed.
- bevestig op iedere buis een ballonnetje.
- plaats de buizen in een bekerglas gevuld met water van 40 °C in een waterbad van 40 °C.

**Opdracht:**

- 5.** Noteer de waarnemingen aan de ballonnetjes en verklaar de verschillende resultaten als men weet dat vitamine C fungeert als co-enzym bij de H-overdracht.



### C. Anaërobe ademhaling bij zaadplanten

#### Benodigdheden:

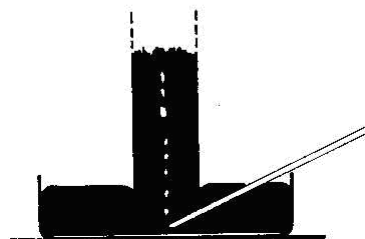
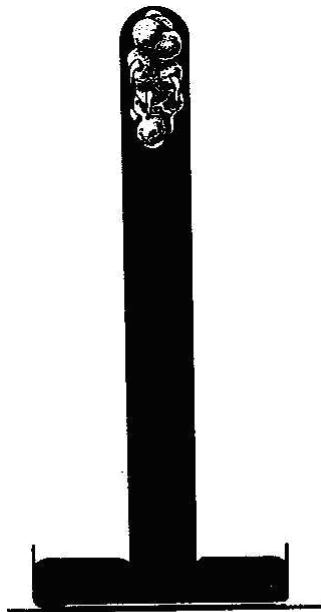
- kiemende erwten (6 stuks).
- reageerbuis.
- lage schaal.
- injectiespuit.
- statief.
- kwik.
- kalkwater.
- ethanol 70%.

#### Vorbereiding:

- laat 6 erwten enige dagen kiemen.
- zet deze proef 48 uur voor het begin van het lesuur in.

#### Uitvoering:

- vul de lage schaal gedeeltelijk en de reageerbuis helemaal met kwik.
- bevestig de reageerbuis omgekeerd in de lage schaal met kwik aan een statief.
- laat  $\pm$  6 erwten, waarvan de zaadhuiden verwijderd zijn, in de reageerbuis opstijgen (figuur 43).
- zet ook een controleproef in met gekookte erwten; erwten voor het inbrengen spoelen met ethanol 70% tegen bacterie-infectie.
- breng met behulp van een injectiespuit wat kalkwater in de reageerbuis (Zie figuur 43).



kalk-  
water

Figuur 43. Proefopstelling voor het aantonen van de anaërobe ademhaling bij erwten.

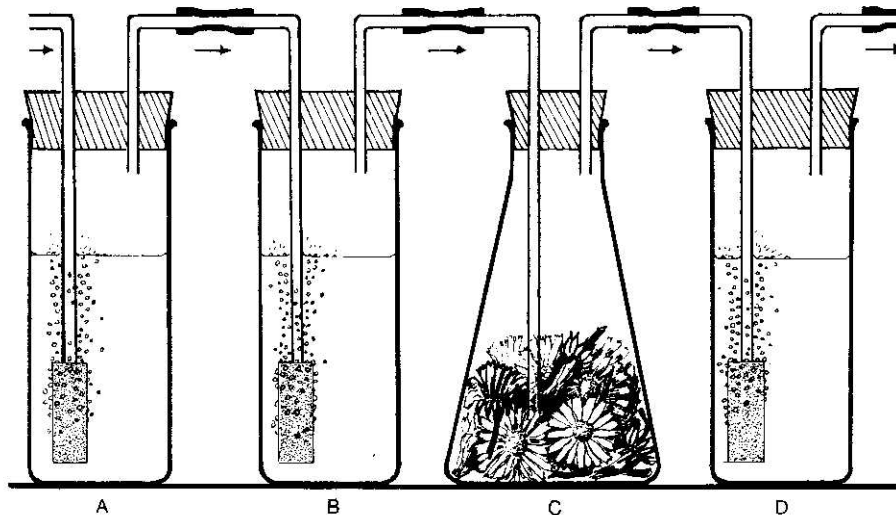
### Vragen en opdrachten:

6. Noteer de waarnemingen en tracht deze te verklaren.
7. Wat neemt men na ongeveer 1 uur waar? Verklaar dit.
8. Verloopt de proef het beste in het licht of in het donker? Verklaar dit.

### T-47 Vorming van kooldioxide bij planten en dieren

#### Benodigdheden:

- kiemende zaden of bloemhoofdjes van composieten of paddestoelen (champignons) of een muis of een aantal meelwormen.
- drie gaswasflessen.
- een wijdmondse erlenmeyer met bijbehorende dubbeldoorboorde stoppen.
- drie U-vormig gebogen glazen buizen met een kort en een lang been.
- twee L-vormig gebogen glazen buizen, waarvan één met een lang been.
- rubberslang.
- zwarte doek.
- 3 bruissteentjes.
- waterstraalpomp en een balans.
- 0,1 N NaOH-oplossing of 0,1 N KOH-oplossing.
- 0,001 N  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -oplossing of 0,001 N  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -oplossing (giftig).
- 0,1% fenolftaleïne in water.



Figuur 44. Proefopstelling voor het aantonen van de ademhaling bij planten.

#### Uitvoering:

##### a. Kwalitatieve bepaling

- maak een proefopstelling zoals in figuur 44 als volgt:
- vul een gaswasfles (A) gedeeltelijk met de NaOH- of de KOH-oplossing.
- vul een gaswasfles (B) gedeeltelijk met de  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -oplossing of de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , waaraan enkele druppels fenolftaleïne zijn toegevoegd.
- breng in de erlenmeyer (C) snel groeiende plantdelen van één soort, of een dier of dieren van één soort.

- bij gebruik van groene plantedelen moet de erlenmeyer (C) in het donker staan (zwarte doek).
- vul een gaswasfles (D) gedeeltelijk met de  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -oplossing of  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -oplossing waaraan enkele druppels fenolftaleïne zijn toegevoegd.
- bevestig in de flessen A, B en D een puimsteentje aan de glazen buis die in de vloeistof steekt.
- aan het laatste huisje in gaswasfles D bevestigt men een waterstraalluchtpomp, die zodanig wordt afgesteld dat een constante, niet te harde luchtstroom door het geheel in stand wordt gehouden.

#### **Vragen:**

1. Wat ziet men na verloop van tijd in gaswasfles D? Geef hiervoor een verklaring.
2. Waarvoor dient gaswasfles A en waarvoor gaswasfles B?

#### **b. Kwantitatieve bepaling**

50 ml 0,001 N  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  bevat 4,3 mg  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  hetgeen equivalent is met 1,1 mg  $\text{CO}_2$ . Met deze hoeveelheid is het mogelijk de tijd te bepalen die de te onderzoeken organismen nodig hebben om 1,1 mg  $\text{CO}_2$  te vormen.

- maak een proefopstelling zoals in figuur 44 is aangegeven en onder **a.** is beschreven met uitzondering van de vulling van de gaswasfles D.
- vul gaswasfles D met 50 ml van de  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -oplossing en voeg enkele druppels fenolftaleïne toe.
- lucht de gaswasfles D eerst goed door om de eerder gevormde kooldioxide uit te drijven.
- sluit vervolgens de gaswasfles D aan.

#### **Opdrachten:**

3. Meet de tijd die nodig is voor de onderzochte organismen om 1,1 mg  $\text{CO}_2$  te vormen.
4. Reken de gevormde kooldioxide om per gram organisme door deze te wegen.
5. Vergelijk verschillende soorten wat hun kooldioxide-productie betreft.

### T-48 De afgifte van kooldioxide via de uitademingslucht bij de mens

#### **Benodigdheden:**

- glazen luchtpompklok, zie T-20.
- glazen buis, doorsnede 8 mm, aan één zijde puntvormig uitgetrokken.
- bruissteentje.
- een bekerglas.
- 150 ml kalkwater (1 gram  $\text{CaO}$  per liter aqua dest.).

#### **Uitvoering:**

##### **a.**

- vul de klok geheel met verse lucht uit het lokaal.
- bevestig aan het vrije uiteinde van de slang, welke vastzit aan de rechte kraan (eventueel de slang losmaken van de waterstraalpomp) het glazen buisje en plaats dit in een bekerglas met 50 ml kalkwater.
- sluit de kraan en breng de lucht in de klok onder druk door de klok zo diep mogelijk in het water te drukken. Open voorzichtig de kraan zodat de lucht door het kalkwater borrelt.

**Vraag:**

1. Is het kooldioxide-gehalte van de lucht uit het lokaal voldoende om een troebeling te laten optreden?

**b.**

- verdrijf de lucht uit de klok door deze vol met water te zuigen en sluit de kraan.
- blaas nu op de in T-20 aangegeven wijze ongeveer 5 liter uitademingslucht in de klok. Deze lucht mag slechts de normale tijd in de longen geweest zijn.
- laat deze lucht zoals boven aangegeven door 50 ml kalkwater borrelen.

**Opdracht:**

2. Meet de tijd die nodig is om in 50 ml kalkwater een troebeling te veroorzaken.

**c.**

- verdrijf de lucht uit de klok door deze vol met water te zuigen en sluit de kraan.
- blaas nu op de in T-20 aangegeven wijze ongeveer 5 liter uitademingslucht in de klok, maar houdt de lucht langere tijd (20 à 30 seconden) in de long alvorens uit te ademen.

**Opdracht:**

3. Meet de tijd die nodig is om in 50 ml kalkwater een troebeling te veroorzaken.

4. Vergelijk de gevonden tijden.

*Opmerking:*

Men dient er wel voor te zorgen dat de lucht in beide experimenten even snel door het kalkwater borrelt, vergelijking is anders niet mogelijk. Door aan het eind van het slangetje een bruissteentje te bevestigen is een gelijkmatiger uitstroming mogelijk.

## T-49 Verdamping bij planten; aantonen van vrijgekomen waterdamp

Het water dat de planten gebruiken voor het transport van stoffen wordt grotendeels verdampt door de bladeren. Deze vrijkomende waterdamp kan men aantonen door deze te laten condenseren.

**Benodigheden:**

- bewortelde stekken van kruipende tradescantia (*Tradescantia fluminensis* Vall.), gestreepte tradescantia (*Zebrina pendula* Schnizl.) of marialint (*Chlorophytum comosum* var. *variegatum*).
- maatcilinder, hoog model, inhoud 100 ml.
- glazen stolp met geslepen rand.
- glasplaat.
- olie.
- glycerine of vaseline.

**Uitvoering:**

- vul de maatcilinder voor een derde met leidingwater.
- plaats enige bewortelde stekken in de maatcilinder.
- vul de hoeveelheid water aan tot 50 ml en dek het vloeistofniveau af met olie.
- plaats maatcilinder met stekken op de glasplaat en zet er de glazen stolp, waarvan de rand ingesmeerd is met vaseline, overheen.

- zet het geheel in de zon of in het licht en in de nabijheid van de verwarming of een andere warmtebron.
- na ongeveer 2 uur kan men duidelijk vaststellen, dat de binnenkant van de klok met fijne waterdruppeltjes beslagen is, terwijl tegelijkertijd het waterniveau in de maatcilinder is gedaald.

#### **Opdrachten en vragen:**

1. Hoe moet men dit experiment voorzien van een blanco proef?
2. Meet het niveau van de vloeistof op verschillende tijdstippen en zet de gevonden waarden in een diagram.
3. Als de verdampingsnelheid gedurende de waarnemingstijd afneemt geef dan hiervoor een verklaring.
4. Waardoor kunnen er in de blanco proef soms ook enkele condensdruppels optreden?

### T-50 De sluitcellen van huidmondjes

(Zie Biothema 2 pag. 49 tot en met 53).

Op de waterhuishouding van planten is de openingstoestand van de huidmondjes van grote invloed. Bij de berk bijvoorbeeld bedraagt de waterhoeveelheid die door de cuticula verdampt slechts 6-8% van de in het totaal verdampte hoeveelheid water.

De openingstoestand van de huidmondjes wordt met behulp van turgor geregeld. (Zie Biothema deel 2).

#### **Benodigheden:**

- planten van siernetel (*Coleus blumei* Beuth.), fuchsia (*Fuchsia spec.*), geranium (*Pelargonium zonale* Ait.), boon (*Phaseolus vulgaris* L.), zonnebloem (*Helianthus annuus* L.) of tabak (*Nicotiana tabacum* L.).
- scheermesjes.
- object- en dekglazen.
- pincet.
- microscoop.
- penseel.
- filtreerpapier en droogstoof.
- 5% NaCl-oplossing.
- 5% kobaltchloride-oplossing.
- benzeen.
- gedestilleerd water.
- wasknijpers of paperclips.

#### **a. De openingstoestand van huidmondjes**

##### **Uitvoering:**

- gebruik een van de genoemde kruidachtige planten die veel water heeft gekregen.
- zet de plant in een pot tenminste gedurende 1 uur in zeer helder licht.
- zet de plant voor een heldere lichtbron en strijk met behulp van een penseel een weinig benzeen op de onderste epidermis van één blad en neem de tijd op tussen het opbrengen van de benzeen en het erin trekken waardoor het blad doorzichtig wordt.
- 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.

**Vraag:**

1. Wat neemt men waar aan het doorzichtige deel van het blad dat blootgesteld is geweest aan het licht en dat in het donker is geweest?

**b. Openen en sluiten van de huidmondjes****Uitvoering:**

- neem een blad van de siernetel, Fuchsia of een andere plant.
- snijd de epidermis van de onderzijde even in en trek er met een pincet een stukje af.
- maak daarvan een preparaat zó dat de onderzijde van het bladdeel 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. Er is vrij veel water nodig om al het zout weg te zuigen.

**Vragen:**

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

**c. Waterverdamping door huidmondjes****Vorbereiding:**

- leg stukjes filtreerpapier in de 1 % kobaltchloride-oplossing.
- haal de filtreerpapiertjes nat uit een oplossing en laat ze in de droogstoof drogen.
- droog kobaltchloride is blauw, vochtig kobaltchloride is rose.
- de blauwe kleur kan telkens hersteld worden door het rose kobaltchloridepapier te drogen.

**Uitvoering:**

- bevestig strookjes blauw kobaltchloridepapier aan de boven- en onderkant van een blad van een kamerplant.
- bedek de papiertjes met twee objectglaasjes en klem deze met wasknijpers of paperclips aan elkaar.
- neem de tijd op die verloopt tussen het tijdstip van bevestigen en het verkleuren van de kobaltchloridepapiertjes.

**Vragen:**

4. Welk van beide papiertjes verkleurt het eerst? Hoe komt dat?
5. Zou het tijdsverschil tussen het verkleuren van het papier onder en boven het blad bij alle planten gelijk zijn? Motiveer het antwoord.

**T-51 Kristallen in bladeren**

In veel gevallen nemen planten meer zouten uit de bodem op dan zij direct nodig hebben. Het teveel aan zouten is in de vorm van kristallen in de vacuolen van cellen terug te vinden.

**Benodigheden:**

- planten van *Vanilla planifolia* L., *bladbegonia* (*Begonia spec.*), *ficus* (*Ficus elastica* L.) en *hyacinth* (*Hyacinth spec.*).
- scheermesjes.
- pincet.
- object- en dekglazen.
- microscoop.
- verdund azijnzuur.

**Uitvoering:****a. Vacuolen van *Vanilla planifolia***

- maak in de bovenkant van een ouder blad met een scheermesje een aantal evenwijdig lopende oppervlakkige sneden.
- trek met een pincet kleine stukjes van de epidermis uit het blad.
- bekijk met sterke vergroting en zoek cellen met kristallen op.
- teken enige cellen met kristallen.
- breng vervolgens wat verdund azijnzuur op het preparaat en ga na of de oxalaatkristallen oplossen.

**b. Vacuolen van *Bladbegonia***

- maak een dunne dwarsdoorsnede door de bladsteel.
- bekijk met sterke vergroting en zoek cellen met kristallen op.
- teken enige cellen met kristallen.
- breng vervolgens wat verdund azijnzuur op het preparaat en ga na of de oxalaatkristallen oplossen.

**c. Vacuolen van *Ficus***

- maak een dwarsdoorsnede door het blad.
- bekijk met sterke vergroting en zoek cellen met kristallen op.
- teken enige cellen met kristallen (*cystolieten*).

**d. Vacuolen van *Hyacinth***

- maak enkele coupes van een schutblaadje.
- bekijk met sterke vergroting en zoek enkele kristallen op.
- Het zijn kristalnaalden van calciumoxalaat, die parallel aan elkaar liggen en bundels vormen.

## T-52 Uitscheiding bij planten

**Benodigheden:**

- stekken van *siernetel* (*Coleus blumei* Beuth.).
- pokon.
- reageerbuizen.
- reageerbuisrek.
- watten.

**Uitvoering:**

- maak zes pokon-oplossingen van verschillende concentratie door per liter achtereenvolgens 1 gram pokon tot 6 gram pokon op te lossen.
- verdeel de verkregen oplossingen over 6 reageerbuizen.
- plaats in iedere reageerbuis een stek van *Coleus* (*rode siernetel*) en zet deze met een wattenprop vast.
- ga na een week na of er zoutkristallen op de bladeren zijn te zien.

**Vragen:**

1. Aan welke kant van de bladeren bevinden zich zoutkristallen? Verklaar dit.
2. Zou deze proef ook lukken met bewortelde stekken? Motiveer het antwoord.
3. Wat zal er met de stekken gebeuren wanneer men te hoge concentraties pokon toepast?
4. Uit welke stoffen is pokon samengesteld?

## T-53 Osmoregulatie

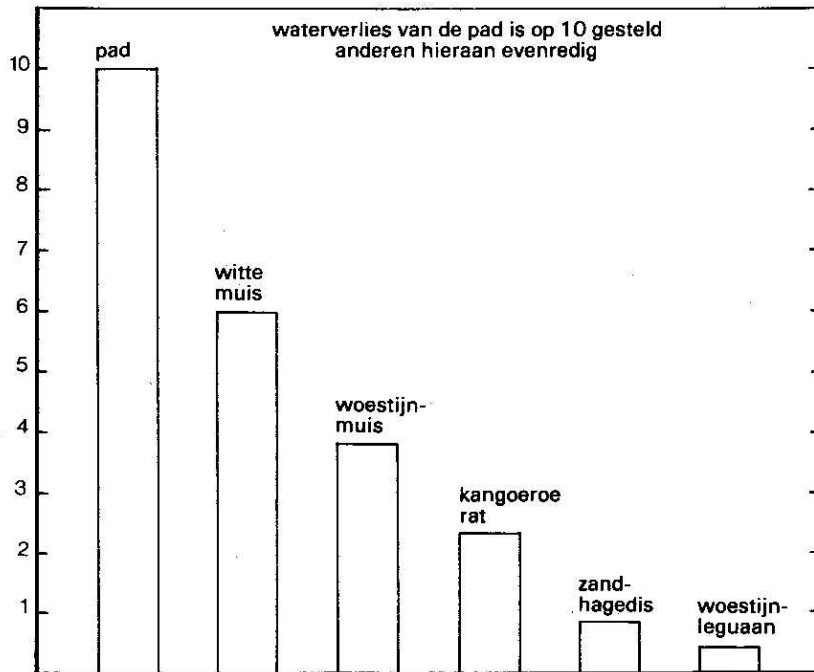
De organismen welke tijdens de evolutie het eerst ontstaan zijn hadden een omgeving met een zeer constante samenstelling namelijk de zee. De ionenconcentraties van de lichaamsvloeistof kwamen zeer waarschijnlijk overeen met de ionenconcentraties van het zeewater. Ook de verhouding waarin de verschillende ionen in de lichaamsvloeistof voorkwamen was waarschijnlijk praktisch gelijk aan de verhouding waarin deze ionen in het zeewater voorkwamen. Deze organismen hadden geen behoefte aan uitscheidingsorganen welke de ionenconcentraties en ionenverhoudingen constant moesten houden, daar een vrije uitwisseling van ionen tussen het inwendig milieu en het uitwendig milieu al tot het gewenste resultaat leidde. Anders werd het, toen de organismen overgingen van de vrije zee naar brak water en naar zoet water. Het uitwendig milieu had daarna een lagere concentratie dan het inwendig milieu hetgeen onder andere leidde tot het osmotisch opnemen van water door het lichaamsoppervlak. Om de osmotische waarde van het inwendig milieu constant te houden moest er een water uitscheidend systeem tot ontwikkeling komen, zoals bijvoorbeeld een kloppende vacuole bij eencelligen. De totale concentratie ionen in de lichaamsvloeistof is tijdens het overgaan van zout naar zoet water lager geworden. Zoetwatervissen hebben een lichaamsvloeistof die isotonisch is met een NaCl-oplossing van 0,9%, terwijl zeewater een zoutconcentratie heeft van 3,2%. De verhouding van de verschillende ionen vertoont bij de meeste dieren een opvallende gelijkenis met de verhouding waarin de betreffende ionen in zeewater voorkomen. (Zie tabel 13.)

**Tabel 13**

		Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
	ZEEWATER	100	2,2	2,2	11,5	118	5,8
<b>C. EVERTEBRATA</b>							
COELENTERATA:	AURELIA	100	2,2	2,1	11,2	122	3,2
ANNELIDA:	ARENICOLA	100	2,2	2,2	11,4	117	5,3
ARTHROPODA:	NEPHROPS	100	1,5	2,7	1,7	100	3,4
	HOMARUS	100	2,1	3,3	1,4	100	-
MOLLUSCA:	MYTILUS	100	2,5	2,5	11,1	117	5,9
ECHINODERMATA:	ECHINUS	100	2,2	2,2	11,3	118	7,7
<b>D. VERTEBRATA</b>							
PISCES:	MYXINE	100	2,1	1,4	4,2	126	1,4
	RAJA	100	3,1	2,4	1,0	100	-
	COREGONUS	100	2,7	1,9	1,2	83	1,6
MAMMALIA:	RATTUS	100	4,3	2,1	1,1	80	-
	CANIS	100	2,9	3,5	1,2	71	1,3



De overgang van zout naar zoet water heeft een grote invloed gehad op de regeling van het osmotisch evenwicht. Het door osmose in het lichaam opgenomen water werd uitgescheiden door sterk verdunde urine te vormen. Het tekort aan ionen werd door de kieuwen actief uit het zoet water aangevuld. Deze mogelijkheid ging verloren bij de overgang van de organismen naar het landleven. Het lichaamsoppervlak werd slecht waterdoorlatend om te sterk waterverlies tegen te gaan (figuur 45)

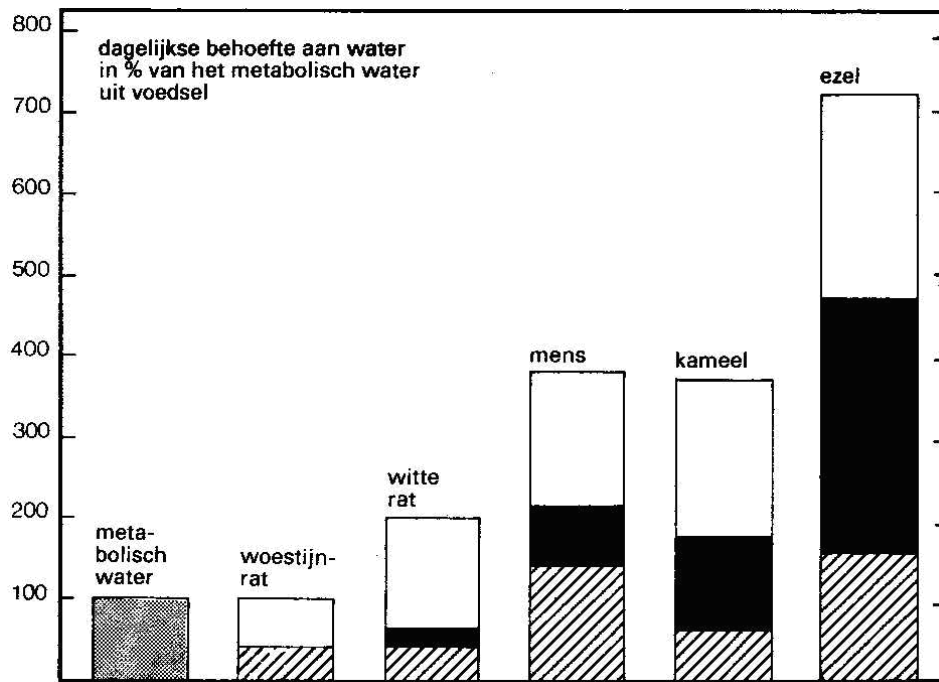


Figuur 45. Diagram van het waterverlies door verdamping bij een aantal dieren van ongeveer gelijke grootte, die in verschillende milieus leven (n. Lockwood).

Als belangrijkste regulatiesystemen bleven beschikbaar: de nier, de longen, het darmoppervlak en de zweetkliertjes. Dit was voldoende voor dieren die met hun voedsel en met hun drinkwater in het totaal een waterhoeveelheid binnen kregen die een lagere ionenconcentratie had dan de concentratie van de lichaamsvloeistof.

Het overtollige water kon gebruikt worden om ionen en andere afvalstoffen zoals ureum af te voeren. Een vaak vergeten 'waterbron' is het water dat tijdens de stofwisseling ontstaat doordat de in het voedsel gebonden waterstof via de ademhalingsketen aan ingeademde zuurstof gebonden wordt (metabolisch water). Dit is voor de woestijnrat zelfs het enige water dat hij gebruikt (figuur 46).

Dieren die water drinken met een hogere osmotische waarde dan hun lichaamsvloeistof moesten speciale organen ontwikkelen om het overschot aan zouten, dat met dit water in het lichaam kwam, kwijt te raken. Voorbeelden van dit soort organen vinden we bij de zeevogels, zoals zeemeeuwen en albatrossen en bij zeeschildpadden. Deze dieren hebben zoutklieren bij het oog welke een vocht uit scheiden

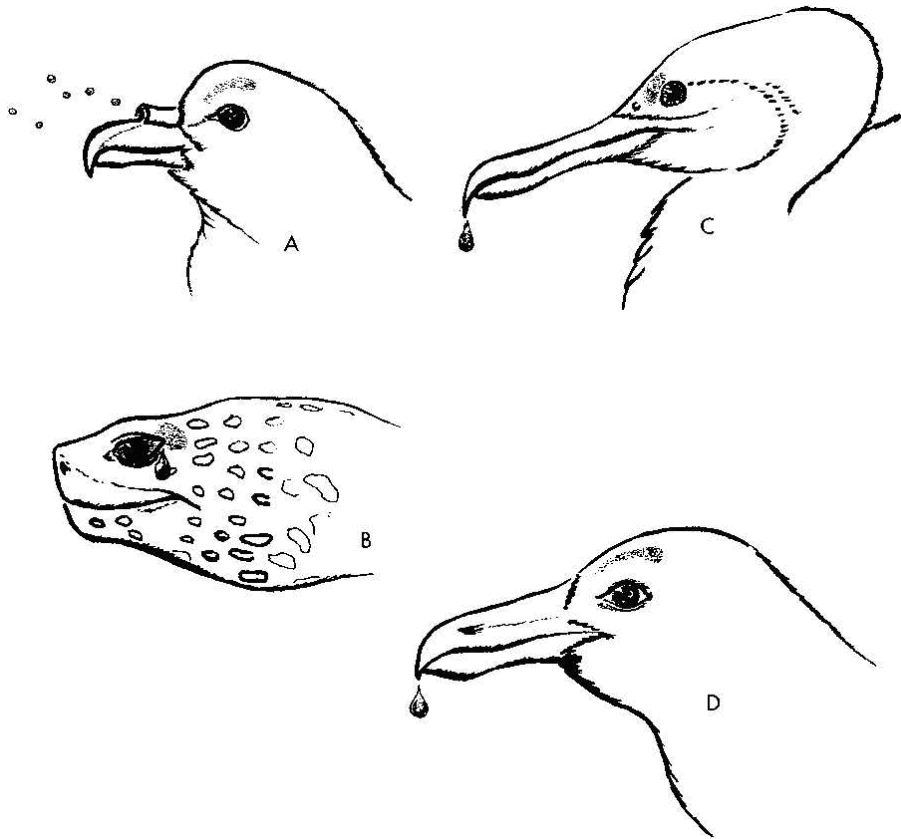


Figuur 46. Diagram van de hoeveelheid water, die nodig is om het verlies door verdamping, urine-excretie en faeces te dekken bij verschillende dieren. Wit: verdamping. Gearceerd; urine. Zwart: faeces (n. Schmidt-Nielsen e.a.).

met een zoutconcentratie van ongeveer 5% (figuur 47). Indien zij zeewater drinken dat een zoutconcentratie van ongeveer 3% heeft wordt het daarin aanwezige zout in een kleinere hoeveelheid water via de zoutklieren uitgescheiden en blijft de rest van het water over voor het verdunnen van het inwendig milieu of voor het uitscheiden van tijdens de stofwisseling ontstane, in water oplosbare, afvalstoffen. Het zal duidelijk zijn dat de hoeveelheid zeewater, die op deze manier bruikbaar gemaakt kan worden, beperkt wordt door de capaciteit van de zoutklieren. Een voordeel voor deze diergroep is het feit dat zij overtollige stikstof-

**Tabel 14**

	$\text{NH}_4^+$ of $\text{NH}_3$	Ureum	Urinezuur
Zeekat	67	1,7	2,1
Karper	60	6,2	0,2
Python	8,7	-	89
Klauwkikker, larve	78	22	-
Klauwkikker, volw.	75	25	-
Groene kikker, volw.	3,2	84	0,4
Kip	3,4	10	87
Hond	2,7	88	0,4
Mens	4,8	86,9	0,65



Figuur 47, De ligging boven, voor of achter het oog van de zoutklieren (gestippeld) bij A. stormvogel, B schildpad, C. aalscholver en D. meeuw. De stormvogel schiet druppels geconcentreerde zoutoplossing weg uit de neusbuis. De schildpad voert zoutdruppels af via de buitenhoek van het oog. De aalscholver heeft een afvoer langs de bovenzijde van de snavel. De meeuw laat de druppels weglopen via de snavelpunt.

verbindingen niet uitscheiden in de vorm van ureum, dat in vrij veel water uitgescheiden moet worden, maar in de vorm van urinezuur waarbij veel minder water nodig is. Dieren die niet zuinig hoeven te zijn met water kunnen het overtollige stikstofdeel van aminozuren als  $\text{NH}_4^+$  in zeer veel water uitscheiden. (Zie tabel 14.)

#### T-54 De kloppende vacuole

Als het inwendige (vloeibare) milieu van levende organismen niet isotonisch is met het uitwendige (vloeibare) milieu hebben die organismen regulatie-mechanismen om het eigen inwendige milieu constant te houden. Deze mechanismen reguleren de hoeveelheid water in het organisme en de ionenconcentraties in dat water. Men noemt dit osmoregulatie. Pantoffeldiertjes bezitten voor dit doel kloppende vacuolen.

### **Vorbereiding: Het kweken van pantoffeldiertjes (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.

Pantoffeldiertjes hebben geen grote zuurstof behoefte. 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 vernietiging 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.

#### **Benodigheden:**

- hooi of dood gras.
- erlenmeyers (1000 ml).
- zoutarme magere melkpoeder (bijvoorbeeld natrinon van Nutricia).
- Oost-Indische inkt.
- Pasteurse pipet.
- object- en dekglazen.
- microscoop.
- 1,5% oplossing van methylcellulose (Methocel van 400 centiPoise).

#### **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.

## **B. De kloppende vacuole**

### **Benodigheden:**

- pantoffeldiertjes.
- methylcellulose.
- voorwerpglazen.
- dekgladen.
- Pasteurse pipet.
- microscoop.
- 1% NaCl-oplossing.
- 2% NaCl-oplossing.

### **Vorbereiding;**

- het kweken van pantoffeldiertjes (zie onder A.).
  - maak methylcellulose door 2 gram methylcellulose te mengen met 45 ml kokend water.
  - laat dit mengsel 20 minuten weken.
  - voeg dan 45 ml koud water toe en roer.
  - laat de oplossing afkoelen tot kamertemperatuur.
- De oplossing moet dan doorzichtig zijn en de viscositeit van honing hebben.

### **Uitvoering:**

- breng op drie voorwerpglazen een ringetje methylcellulose-oplossing zodat het onder het dekglas past.
- breng in het ringetje op voorwerpglas 1 met behulp van een pipet een druppel van de cultuurvloeistof met pantoffeldiertjes.
- kijk, vóór het opbrengen van het dekglas, met een kleine vergroting of er pantoffeldiertjes aanwezig zijn.
- breng in het ringetje op voorwerpglas 2 met behulp van een pipet een druppel van de cultuurvloeistof met pantoffeldiertjes + 1 druppel 1% NaCl-oplossing (het mengsel is dan  $\pm 0,5\%$  NaCl-oplossing).
- breng in het ringetje op voorwerpglas 3 met behulp van een pipet een druppel kweekvloeistof + een druppel 2% NaCl-oplossing (mengsel is dan  $\pm 1\%$  NaCl-oplossing).
- bepaal in ieder preparaat driemaal de pulsatiefrequentie van de kloppende vacuolen, bereken het gemiddelde en vul de gevonden waarden in de tabel 15 in.

**Tabel 15**

meting	Frequentie. pulseren/ minuut		
	water	0,5% NaCl opl.	1 % NaCl opl.
1			
2			
3			
gem.			

**Opdracht en vragen:**

1. Vergelijk nu in de drie preparaten de pulsatiefrequentie van de kloppende vacuolen.
2. Hebben in zee-levende eencelligen in vergelijking met in zoet water levende organismen wel of geen kloppende vacuolen? Motiveer het antwoord.
3. Heeft het zin om bij dit experiment de temperatuur aan te geven?

**T-55 Het aantonen van enkele stoffen in urine**

- A. Op tweeërlei wijzen kunnen stoffen in urine worden aangetoond.  
Met behulp van daartoe in de handel gebrachte teststrookjes.  
Deze teststrookjes worden vooral klinisch gebruikt en geven een mogelijkheid tot semi-kwantitatieve bepalingen.
- B. Met behulp van herkenningsreacties.  
Deze reacties hebben een louter kwalitatieve toepassing.  
Men kan gebruik maken van twee typen teststrookjes:
1. Hema-Combistix (Ames-reagentia; in de handel gebracht door Multi-Pharma N.V., Postbus 4171, Amsterdam). Deze teststrookjes dienen voor het aantonen en semi-kwantitatief bepalen van pH, glucose, eiwit en bloed in urine.
  2. BM-test 4 (In de handel gebracht door Boehringer Mannheim B.V., Postbus 828, Amsterdam). Deze teststrookjes dienen voor het aantonen en semi-kwantitatief bepalen van pH, proteïne, glucose en nitriet in urine.

De gevonden, semi-kwantitatief bepaalde waarden kunnen als volgt geïnterpreteerd worden (Behalve de te bepalen waarden is ook nog de interpretatie van enkele andere stoffen in de urine opgenomen.):

**a. pH**

pH 5, bij herhaald onderzoek verdacht: uraat, respectievelijk urinezuurstenen (bij jicht);  
pH 6 normale urine-pH; pH 7/8 mogelijke urineweg infectie.

**b. proteïne**

Reeds een concentratie van 10 mg/100 ml geeft een duidelijke kleuromslag.  
De eiwitreactie is gevoeliger voor albuminen dan voor globulinen. Positieve reactie wijst op nierbeschadiging of ontsteking van nier en nierbekken of andere nierziektes.

**c. glucose**

Specifieke test voor het aantonen van glucose; mogelijk diabetes mellitus (suikerziekte).

#### **d. nitriet**

Positief: urineweginfectie. Geen verkleuring sluit een urineweginfectie niet uit.

#### **e. bilirubine**

Leverontstekingen en PP avitaminose (tekort aan nicotinezuuramide).  
Afsluitingen van galgangen. Te grote haemolyse.

#### **f. bloed**

Erythrocyten: meestal nierontsteking. Leukocyten: ontstekingsprocessen urinewegen.

#### **g. Ketonen**

Diabetes mellitus.

Aangezien in de meeste gevallen de reacties negatief zullen uitvallen dienen de bepalingen ook uitgevoerd te worden aan andere oplossingen.

### **A. Het met behulp van teststrookjes aantonen en semi-kwantitatief bepalen van de pH en enkele stoffen in urine en andere oplossingen**

#### **Benodigdheden:**

- urine
- een 0,1% suspensie van kippeneiwit.
- een 0,1% glucose-oplossing.
- een 0,001 %  $\text{NO}_2^-$ -oplossing.
- een 0,001 % galsuspensie.
- bloedserum (zie T-28).
- een 0,1% aceton-oplossing.
- Hema-Combistix en/of BM-Test 4.
- reageerbuizen.
- bekerglazen.

#### **Uitvoering:**

##### **a. Hema-Combistix.**

- doop het testeinde van het strookje in verse, goed-gemengde, niet-gecentrifugeerde, urine;
- neem het er onmiddellijk uit.
- tik even met het einde van het strookje tegen de houder om overtollige urine te verwijderen.
- vergelijk het testuiteinde op de aangegeven tijden nauwkeurig met de overeenkomstige kleurenschaal.  
pH en eiwit: kan onmiddellijk worden afgelezen.  
glucose: lees 10 seconden na bevochtiging af  
bloed: lees 30 seconden na bevochtiging af

##### **b. BM-Test 4.**

- teststrook kort ( $\frac{1}{2}$  - 1 seconde) in verse, niet-ingedampde urine dopen. De teststrook kan ook kort in de urinestraal gehouden worden.
- teststrook vergelijken met kleurenschaal.
- pH en proteïne: kunnen direct afgelezen worden  
glucose: kan na 20 seconden afgelezen worden  
nitriet: kan na 30 seconden afgelezen worden

**Opdracht:**

1. Voer dezelfde bepalingen uit bij de andere, onder benodigdheden, genoemde oplossingen.

**B. Het met behulp van herkenningsreacties aantonen van enkele stoffen in de urine en andere oplossingen****Benodigdheden:**

- urine en oplossingen genoemd onder A.
- bekersglazen.
- reageerbuisen.
- trechters.
- uitdampschaaltjes.
- mortier.
- filtreerpapier.
- microscoop.
- norit.
- thymolkristallen.
- aceton.
- geconcentreerd  $\text{HNO}_3$  65% en 96%.
- geconcentreerd  $\text{HCl}$  32%.
- 25%  $\text{NH}_4\text{OH}$ .
- azijnzuur 5%.
- 10% ammoniumoxalaat-oplossing.
- 10% ammoniummolybdaat-oplossing.
- 0,1 N  $\text{AgNO}_3$ -oplossing.
- 10% bariumchloride-oplossing.
- 1 % zetmeeloplossing en  $\text{KI}$ -oplossing.
- lakmoespapier.

**Uitvoering:****a. Verwijdering van reuk- en kleurstoffen.**

- maak norit tabletten fijn in een mortier.
- voeg aan 100 ml urine 1 theelepel ( $\pm 1$  gram) norit toe en schud goed.
- filtreer het norit-poeder na 5 minuten af. Als zeer fijn norit-poeder wordt gebruikt moet meerdere malen worden gefiltreerd.
- verleng de houdbaarheid van het filtraat door enkele kristallen thymol toe te voegen.

**b. Het aantonen van ureum.**

- verwarm een beetje urine in een uitdampschaaltje totdat het meeste water verdampt is. Niet geheel droog laten koken!! Stank!!  
Bij kamertemperatuur vormen zich kristallen.
- extraheer deze kristallen nu met aceton en laat weer uitkristalliseren.
- vergelijk (microscoop) de gevormde kristallen met die van ureum, constateer in elk geval de typische kristalvorm.

**c. Het aantonen van stikstof.**

- verhit ureum droog in een reageerbuis en houdt vervolgens een vochtig rood lakmoespapierje erboven.
- probeer ook de geur vast te stellen. Wat is er gevormd?



**d. Het aantonen van calcium en fosfaat.**

- voeg aan ± 3 ml urine ± 1 ml geconcentreerd ammonia toe en kook.
- filtreer het gevormde neerslag af en los dit op in ± 5 ml azijnzuur 5%.
- verdeel de vloeistof over twee reageerbuisen.
- voeg bij de ene buis 1 ml 10% ammoniumoxalaat-oplossing.  
Wit neerslag wijst op calciumoxalaat.
- voeg bij de andere buis 0,5 ml geconcentreerd HNO<sub>3</sub> en 0,5 ml ammoniummolybdaat-oplossing.
- geel neerslag is fosfaat.
- verwarmen en 5 minuten laten staan.

**e. Het aantonen van chloriden.**

- voeg aan 3 ml urine enkele druppels geconcentreerd HNO<sub>3</sub> toe en 3 ml 0,1 N AgNO<sub>3</sub>-oplossing.
- een wit neerslag is zilverchloride.

**f. Het aantonen van sulfaat.**

- voeg aan 3 ml urine enkele druppels geconcentreerd HCl toe en 2 ml bariumchloride-oplossing 10%.
- wit neerslag of troebeling is bariumsulfaat.

**g. Het aantonen van jood.**

- Eén a twee uur na het innemen van 0,3 gram KI begint de uitscheiding van deze stof door de nieren, die na 36 tot 60 uur beëindigd is.  
Binnen deze periode moet men urine verzamelen.
  - vermeng enkele ml urine met enkele ml 1 % zetmeel-oplossing.
  - giet dit mengsel voorzichtig in een reageerbuis op 1 à 2 ml rokend salpeterzuur (in zuurkast!).
  - op het grensvlak ontstaat bij aanwezigheid van KI in de urine een donkerblauwe ring (nog bij een concentratie van 0,001% KI!), die echter weer verdwijnt.
- N.B. 30 tot 60 minuten na de inname van KI is jood ook in het speeksel aan te tonen.

**Opdracht:**

- 2.** Voer dezelfde bepalingen uit bij de andere oplossingen.

## T-56 Urinezuur in vogel-excrementen

De excrementen van vogels bevatten onverteerde voedselresten en urinezuur. Dieren die veel water tot hun beschikking hebben scheiden hun overtollige stikstofverbindingen in de vorm van NH<sub>3</sub> uit (beenvissen, kikkerlarven). Wordt de beschikbare waterhoeveelheid minder dan wordt stikstof in de vorm van ureum uitgescheiden (zoogdieren, volwassen kikkers). Bij dieren die zuinig moeten zijn met water wordt het stikstofoverschot in de vorm van urinezuur uitgescheiden (vogels en in droge omgeving levende reptielen). Zie tabel 14.

**Benodigdheden:**

- witte delen van vogel-excrementen.
- 10% HNO<sub>3</sub>-oplossing in 10% HH<sub>4</sub>OH-oplossing.

**Vorbereiding:**

- men kan snel vogel-excrementen verzamelen door een vogel, bijvoorbeeld een merel, langzaam te naderen. Men induceert dan de vluchtdrang. Vlak voor het wegvliegen defaeceert de vogel meestal.

**Uitvoering:**

- breng wat vogel-excrement op een objectglas en meng met een gelijke hoeveelheid salpeterzuur 10%.
- verwarm voorzichtig tot een geel-rode kleur ontstaat.
- voeg een druppel van een 10% ammonium-oplossing toe.
- een paars-rode kleur wijst op de aanwezigheid van urinezuur.

## T-57 Organische uitscheidingsproducten

Behalve NaCl en andere anorganische zouten worden door het lichaam ook andere stoffen door de zweetkliertjes uitgescheiden. In het zweet zijn organische stoffen aan te tonen. Uitgeademde lucht bevat naast kooldioxide en waterdamp ook organische stoffen die eveneens zijn aan te tonen.

**Benodigdheden:**

- rubbervinger, plastic handschoen of spermavangers van condoms.
- zeer verdunde oplossing van kaliumpermanganaat (nog net paars).
- reageerbuis.
- klein bekersglas.
- glazen buis.

**Uitvoering:****a. Organische stoffen in zweet.**

- draag gedurende enige tijd een rubbervinger of een afgeknipte vinger van de plastic huishoudhandschoen. Men vangt zodoende in de vinger een kleine hoeveelheid zweet.
- spoel de rubbervinger uit in de verdunde oplossing van kaliumpermanganaat en doe de oplossing in de reageerbuis.
- indien de oplossing bruin wordt wijst dit op de aanwezigheid van organische stoffen in het zweet.

**b. Organische stoffen in uitgeademde lucht.**

- vul de reageerbuis tot  $\frac{2}{3}$  met de verdunde oplossing van kaliumpermanganaat.
- blaas door het buisje lucht in de oplossing in de reageerbuis.
- een verkleuring naar bruin wijst op de aanwezigheid van organische stoffen in de uitgeademde lucht.

## T-58 Begrippenlijst

### A

ademhalingsketen	= cytochroomsysteem = terminale ademhaling deel van het celademhalingsproces waarbij waterstof via een aantal tussenstappen wordt gebonden aan zuurstof tot water onder vorming van energie die in ATP wordt vastgelegd.
adhesie	aantrekking tussen moleculen van verschillende stoffen
ADP	adenosine-di-fosfaat
aëroob	- aërobe ademhaling = proces dat verloopt bij de aanwezigheid van zuurstof - aëroob organisme: een organisme dat voor zijn celademhaling zuurstof gebruikt
agglutinatie	aaneenkleving, samenklontering
agglutinine	een stof die agglutinatie veroorzaakt
actiegolf	verplaatsing van de actiepotentiaal langs een spier- of een zenuwvezel
actief transport	transport waarvoor de energie geleverd wordt door de celademhaling
albumine	colloïdaal in water oplosbaar eiwit
alveolus	(long-)blaasje
amfetamine	kunstmatic bereide stof die het centrale zenuwstelsel stimuleert (pepmiddel - doping) = wekamine
anaëroob	- anaërobe ademhaling = het vrijmaken van energie uit energie-dragende verbindingen zonder dat hierbij zuurstof verbruikt wordt = fermentatie (gisting, rotting) - anaëroob organisme: a. organisme dat alleen in afwezigheid van zuurstof kan leven (= obligaat anaëroob) b. organisme dat zowel in aanwezigheid als in afwezigheid van zuurstof kan leven (facultatief anaëroob)
aorta	grote lichaamsslagader
apex	top; bijvoorbeeld van de long of van het hart
antigeen	een stof die een afweerreactie veroorzaakt
antilichaam	zie antistof
antistof	stof die in het organisme wordt gevormd als reactie op een ingebracht antigeen; het reageert met het antigeen en maakt dit onschadelijk
antitoxine	antistof gevormd tegen giftige stof die door ziekteverwekkende bacteriën is gevormd
arterie	slagader
arteriole	kleine slagader die uitmondt in een haarvatnet
assimilatie	- processen die voeren tot de vorming van organische stoffen uit anorganische stoffen of uit eenvoudigere organische stoffen onder opname van energie - men rekent de opname van de voor de assimilatie benodigde stoffen ook wel tot het assimilatieproces
ATP	adenosine-tri-fosfaat; de binding tussen de tweede en derde fosfaatgroep is energierijk

atrio-ventrikulaire knoop	= knoop van Aschoff-Tawara gedifferentieerd deel van de hartspier, gelegen tussen de boezems en de kamers; deel van het geleidingssysteem van het hart
atrium	voorkamer, (hart-)boezem
<b>B</b>	
bloedplasma	bloedvloeistof zonder bloedcellen, maar met stollingseiwitten
Brownse beweging	het voortdurend in beweging zijn van gesuspendeerde deeltjes veroorzaakt door het aanstoten door de in warmtebeweging zijnde moleculen van het oplosmiddel
buffer	een mengsel van zwakke zuren en basen of hun zouten waarvan na toevoeging van een sterk zuur of een sterke base de pH nauwelijks verandert
<b>C</b>	
cambium	meristeem liggend tussen het floeem en het xyleem bij tweezaadlobbige planten
capillair	klein bloedvat met een één-cellaag dikke wand
celademhaling	de chemische reacties waaruit het organisme zijn energie betreft; deze energie wordt vastgelegd in ATP
centrale cilinder	zie stele
citroenzuurcyclus	= Krebs cyclus deel van de celademhaling waarbij organische stoffen worden afgebroken tot kooldioxide en waterstof
cohesie	aantrekking tussen moleculen van dezelfde stof
collageen	= lijmgevende vezels eiwitbestanddeel uit bindweefselvezels en (kraak-)been
collenchym	weefsel van planten waarvan de celwanden verdikte hoeken bezitten
coronairvat	kransvat, bloedvat dat de hartspier van bloed voorziet
cortex	zie schors
cuticula	laag wasachtige stoffen die afgescheiden wordt door de epidermis
cytochroomstelsel	zie ademhalingsketen
cytoplasma	al het plasma van een cel met uitzondering van de cel-organellen, kern en vacuole(n)
<b>D</b>	
diastole	verwijding van hartgedeelten
dissimilatie	- alle reacties in een cel waarbij energie vrijkomt - celademhaling
<b>E</b>	
endodermis	cellaag rondom de centrale cilinder, binnenste laag van de schors in de wortel
endotheel	het weefsel dat de bloed- en lymfevaten inwendig bekleedt
epidermis	buitenste cellaag van een hogere plant
epitheel	dekweefsel
erythrocyt	het weefsel dat de uitwendige oppervlakte van het lichaam bedekt rood bloedlichaampje

**F**

fagocytose	insluiting van kleine deeltjes door een cel
farmaca	geneesmiddelen
fermentatie	anaërobe dissimilatie = gisting en rotting
fibril	vezel
fibrine	bloedvezelstof; eiwit dat uit fibrinogeen wordt gevormd tijdens de bloedstolling
fibrinogeen	bestanddeel van het bloedplasma dat door thrombine in fibrine kan worden omgezet
fibrinolyse	oplossen, afbreken van het bij de bloedstolling gevormde fibrine
floem	bastweefsel; samengesteld uit zeefvaten (= bastvaten), begeleidende cellen, bastsklerenchym (= bastvezels) en bastparenchym
fysische kieuw	een gasbel rondom de stigmata van sommige onder water levende insecten, die gebruikt wordt om de gaswisseling onder water te verbeteren

**G**

gisting	anaërobe dissimilatie van koolhydraten
globulinen	eiwitten die oplosbaar zijn in een verdunde zoutoplossing, maar niet in water; hiertoe behoren onder andere antilichamen
glomerulus	kluwentje haarvaten gelegen in het kapsel van Bowman in de nier van gewervelde dieren, alwaar de ultrafiltratie plaats vindt
glycolyse	anaërobe afbraak van glucose tot eenvoudiger organische moleculen

**H**

haarvat	zie capillair
hemocyanine	blauwe, koperhoudende, bloedkleurstof
hemofilie	bloederziekte, waarbij een van de stollingsfactoren ontbreekt
hemoglobine	rode, ijzerhoudende, bloedkleurstof
hemolyse	het uit de rode bloedcellen vrijkomen van het hemoglobine
hypertonisch	is een oplossing die ten opzichte van een andere oplossing een hogere osmotische waarde heeft
hypotonisch	is een oplossing die ten opzichte van een andere oplossing een lagere osmotische waarde heeft

**I**

immunitaire reactie	reactie tussen antistoffen en antigenen waardoor de schadelijke werking van de antigenen teniet wordt gedaan
isotonisch	is een oplossing die ten opzichte van een andere oplossing een gelijke osmotische waarde heeft

**L**

leukocyt	wit bloedlichaampje
----------	---------------------

**M**

membraan	dun vlies
meristeem	= deelweefsel laag of groep delende cellen waaruit in planten verschillende weefseltypen ontstaan
mesofyl	het (pallisaden- en spons-)parenchym van een blad
mitochondrium	celorganel waarin de citroenzuurcyclus en de terminale ademhaling plaats vindt

**O**

osmose	diffusie van een oplosmiddel door een semipermeabel membraan; het oplosmiddel diffundeert van de hypotonische naar de hypertotonische oplossing
osmometer	toestel waarmee de osmotische waarde van een oplossing bepaald kan worden
oxidatie	– het afstaan van elektronen door een atoom, ion of molecuul – het binden met zuurstof – het onttrekken van waterstof

**P**

pace-maker	= gangmaker – apparaat dat de contractie-regeling van het hart kan overnemen – sinusknop (functionele naam)
parenchym	weefsel van planten gekenmerkt door dunne celwanden en intercellulaire ruimten = vulweefsel
permeabel	doordringbaar (voor alle stoffen)
pinocytose	insluiten van vloeistofdruppeltjes in een cel
plasma	zie bloedplasma zie protoplasma
plasmalemma	zie plasmamembraan
plasmamembraan	dun vlies rondom het protoplasma en de in het protoplasma gelegen celorganellen, kern en vacuolen; bestaat uit twee lagen eiwit met daartussen een laagje vetachtige stof
primaire urine	vloeistof die zich na ultrafiltratie van het bloed in het kapsel van Bowman bevindt
proteolytisch enzym	enzym dat deelneemt aan de afbraak van eiwitten
prothrombine	niet actief voorstadium van thrombine
protoplasma	letterlijk: het eerst gevormde; cytoplasma + celorganellen + kern (kleine vacuolen worden vaak ook tot het protoplasma gerekend)

**R**

reductie	– het opnemen van elektronen door een atoom, ion of molecuul – het onttrekken van zuurstof – het binden met waterstof
refractaire periode	– absoluut refractaire periode = periode waarin een spier- of zenuwvezel niet op een prikkel reageert – relatief refractaire periode = periode waarin een spier- of zenuwvezel alleen op een sterke prikkel reageert

respiratoir quotiënt	verhouding tussen het uitgeademde volume kooldioxide en het in dezelfde periode verbruikte volume zuurstof
rotting	bacteriële afbraak van eiwitbevattend substraat, die meestal anaëroob verloopt
<b>S</b>	
schors	= cortex weefsel in stengel en wortel tussen epidermis en vaatbundels gelegen
semi-permeabel	'half doorlaatbaar'; membraan dat voor het oplosmiddel doorlaatbaar is
serum	bloed zonder bloedcellen en stollingseiwitten (= bloedwei)
sinusknoop	= knoop van Keith-Flack; deel van de rechterboezem van het hart dat uit speciaal spierweefsel bestaat en van waaruit het ritme van de hartslag wordt geregeld
sinus venosus	een ruimte op de plaats waar de aders het hart bereiken; niet aanwezig bij volwassen vogels en zoogdieren
sklerenchym	weefsel van planten gekenmerkt door sterk verdikte celwanden; inhoud dood
stele	= centrale cilinder; de weefsels die binnen de endodermis zijn gelegen
<b>E.</b> stigma	opening die tracheeën of boeklongen in verbinding stellen met de buitenlucht
stoma	huidmondje
systole	samentrekking van hartgedeelten
<b>T</b>	
terminale ademhaling	zie ademhalingsketen
terugresorptie	actief proces in de lis van Henle, waarbij uit de primaire urine bruikbare stoffen in het bloed worden teruggenomen, waarna urine overblijft
tonoplast	membraan rondom vacuole
toxine	stofwisselingsproducten van bacteriën die als antigenen fungeren
tranquillizer	kalmerend middel dat de activiteit van het centrale zenuwstelsel onderdrukt
trombine	enzym dat fibrinogeen omzet in fibrine
trombocyt	bloedplaatje
tromboplastine	= trombokinase; een enzym dat meewerkt aan de omzetting van protrombine in trombine
trombus	stolsel
tubulus	buisje
turgescient	toestand van cellen of weefsels waarbij zij een zekere stevigheid bezitten en gespannen zijn, doordat de cel water opgenomen heeft; de turgordruk en wanddruk zijn dan in evenwicht: de zuigspanning is nul
turgor	de spanning in een plantencel
turgordruk	de hydrostatische druk op de celwand die wordt veroorzaakt door het in de cel door osmose opgenomen water; is tegengesteld aan en even groot als de wanddruk
<b>U</b>	
ultrafiltratie	proces in het nierkapsel waarbij zeer fijne deeltjes worden tegengehouden

**V**

vene

ventilatie

ventrikel

viscositeit

**W**

wanddruk

worteldruk

**X**

xyleem

**Z**

zuigspanning

ader

het verversen van de zuurstofarme grenslaag aan het buitenoppervlak van de ademhalingsorganen

hartkamer

'stroperigheid' van een vloeistof

druk van de uitgerekte elastische celwand op de cel

de door actieve zoutopname veroorzaakte vloeistofdruk, waardoor de vloeistof in de houtvaten omhoog wordt geperst

houtweefsel; samengesteld uit houtvaten, houtparenchymcellen en sklerenchymcellen

de neiging tot wateropname, veroorzaakt door het verschil tussen de osmotische waarde van een cel en de turgor



## Literatuurlijst

<i>Auteur</i>	<i>Titel</i>
Alberda, Dr. Th. e.a.	De groene aarde
Bracegirdle, B. e.a.	An atlas of plant structure, Volume 1
Kuenen, Dr. D. J. e.a.	Zoölogie
Nultsch, W.	Algemene botanie
Nultsch, W. e.a.	Mikroskopisch botanisches Praktikum für Anfänger
Pfeifer, J. e.a.	De cel
Romer, A. S.	De gewervelde dieren deel 1 en 2

## Register

### A

Acalypha, 39  
Acorus, 29  
acetyl-coenzym A, 110  
actief azijnzuur, 110  
actiegolf, 66, **67**, 139  
ademhaling, middenrif-, 59, **60**  
- bij de mens, 57, 58, 115, 123  
- bij vissen, 54, **55**, **57**  
- bij vogels, 50  
- bij walvissen, 50  
ademhalingsepitheel, 46  
ademhalingsketen, 109, 111, 139  
ademhalingsorgaan, 46  
ademhalingsquotiënt, 116, **117**  
ademhalingsystemen, 43, **45**, **46**, 50  
ader, holle, **76**, **78**  
ADP, 107, 139  
agglutinine, 94, 139  
alcoholgisting, 109  
Allium, 23, 26, 29  
alveolus, **47**, 139  
anabolisme, 112  
anatomie, blad, 33  
- hart, 75, 76, 78  
- stengel, 30  
- wortel, 27  
antigeen, 92, 93, 139  
antistof, 92, 93, 139  
annulusfibrosus, 66  
aorta, 73, **76**, 139  
arterie, 73, 139  
Aschoff-Tawara, Knoop van, 66, **67**  
assimilatie, 112, 139  
ATP, 107, 110, 139  
atrio-ventriculaire knoop, 66, **67**, 140  
atrium, **76**, **78**, 140  
azijnzuur, 109  
- actief, 110

### B

bastparachym, **32**, 33  
bastvaten, 28, 33  
begeleidende cellen, **32**  
Begonia, 30, 127  
Beloperone, 39  
bindweefselring, 66  
blad, anatomie van, 33  
bladkristallen, 126  
bloed, experimenten, 86  
- onstolbaar maken van, 86  
bloedcellen, 49, 87, **90**  
bloedgroep, 87, 92

bloedpigmenten, 49  
bloedplaatjes, 98  
bloedplasma, 49, 86, 102, 140  
bloedsamenstelling, 101, 102, 105  
bloedserum, 86, 102  
bloedsomloop, 62, 74  
- dubbele, 62  
- enkele, 62  
- nerveuze controle van, 74  
bloedstelping, 98  
bloedstolling, 96  
bloedstolling en Ca<sup>++</sup>-ionen, 100  
bloedstolling en temperatuur, 100  
bloeduitstrijkje, 86, **88**  
bloedvaatstelsel, 48, 60, **61**  
- gesloten, 61  
- open, 61  
bloedvaten, 73, 75, **76**  
boeklong, **47**, 48, 50  
boezem, **76**, **78**, 140  
Bohr-effect, 49  
Botalli, ductus, 75, **76**, **78**  
bronchus, **47**, 58  
Brown, Robert, 7  
Brownse beweging, 7, 140  
buffermengsel, 104, 140  
byssusdraden, 52, **53**

### C

cambium, **32**, 140  
capillair, 73, 140  
capillaire opstijging, **37**  
Caspary, bandje van, 28  
celademhaling, 107, 122, 140  
- aërobe, 43, 49, 109, **110**, 116, 139  
- anaërobe, 43, 49, 108, 116,  
**119**, 119, 121, 139  
centrale cilinder, 28  
Chamaecypar, 41  
Chlorophytum, 124  
Chrysanthemum, 39  
Cineraria, 39  
circulatie, 62, 74  
- enkelvoudige, 62  
- dubbele, 62  
- nerveuze controle van, 74  
citroenzuurcyclus, 109, 110, **111**, 140  
Clivia, 29  
Coleus, 30, 34, 125, 127  
coronairvat, **76**, **78**, 140  
cuticula, 38, 140  
cytochromsysteem, 109, 110, 111, 140  
cytoplasmastroming, 26

## D

Daphnia, 81, 82, 84  
Daucus, 30  
deplasmolyse, 19  
Dianthus, 38  
diastole, 67, 72, 140  
diffusie, 7, 7, 8, 9, 10  
– door permeabele wand, 12  
– door semipermeabele wand, 13, 13  
diffusiesnelheid, 7, 8  
dissimilatie, 43, 112, 140

## E

Elaeagnus, 41  
electrocardiogram, 71, 72  
Elodea, 19, 26  
endodermis, 28, 140  
endothel, 73, 98, 140  
epidermis, 33, 140  
erwt, 114, 116, 117, 118, 121  
erythrocyt, 89, 92, 93, 94, 140  
ethanal,  
108 ethanol, 109  
exodermis, 28  
extrinsieke stolling, 97

## F

Fatshedera, 40  
Fatsia, 39  
fibrine, 96, 97, 141  
– vorming van, 99  
fibrinogeen, 96, 97, 141  
fibrinolise, 99, 141  
Fick, wet van, 8  
Ficus, 127  
floem, 28, 32, 33, 141  
floemparenchym, 32  
floemtransport, 39  
foramen ovale, 75  
fosforylase, 113  
Fuchsia, 125  
fysische kieuw, 50, 141

## G

gaswisseling, 43  
gist, 24, 114, 119  
gisting, 108, 109, 112, 119, 141  
glucose, 107, 110  
glycolyse, 107, 110, 111, 141  
grensplasmolyse, 18, 18  
Gynura, 19, 23, 26, 30

## H

haem, 49  
hart, anatomie van, 75, 76, 78  
– impulsgeleiding, 67  
hartcyclus, 68, 68, 69, 72  
hartfrequentie, 77, 81, 84  
hartkleppen, 68, 68, 78  
hartslag, 66  
hartspier, 63, 64, 65  
– contractie van, 63, 68, 68  
– eigenschappen van, 66  
– prikkelbaarheid van, 63  
harttonen, 80  
Helianthus, 125  
hemocyanine, 49, 141  
hemoglobine, 49, 141  
hemolymfe, 89, 90  
Hibiscus, 34, 40  
His, bundel van, 66, 67  
houtparenchym, 33  
houtvaten, 28, 32, 33  
huidmondje, 34, 125  
Hyacint, 127  
hypertonisch, 15, 141  
hypotonisch, 15, 141

## I

Impatiens, 34, 35, 38  
intrinsieke stolling, 97  
invertase, 114  
Iris, 30, 38  
isotonisch, 15, 141  
isovolumetrische contractie, 68, 69, 70  
– ontspanning, 68, 69, 70  
Ixia, 38

## K

kamer, 76, 78  
katabolisme, 112  
kieuw, 45, 46, 52, 129  
– fysische, 50, 141  
kieuwboog, 45, 46  
kieuwdeksel, 46  
kieuwplaatje, 45, 46  
kloppende vacuole, 132, 133  
kooldioxide, 56, 74, 85, 103  
– vorming van, 108, 109, 111, 116, 119, 121, 122, 123  
koolzuurassimilatie, 112  
kransslagader, 76, 78, 140  
Krebs-cyclus, 109, 110, 111, 140

## L

Lebistes, 74  
Lepidium, 28  
leukocyt, 89, 141  
Ligustrum, 41  
longader, **76, 78**  
longen, **47**, 48, 57, 129  
longslagader, 76, 78

## M

mantel, 52  
melkzuur, 74, 108  
melkzuurgisting, 108  
merg, 28  
mitochondrium, 110, 142  
Monstera, 29  
mossel, anatomie van, 51, **53**  
myoglobine, 49  
Mytilus, anatomie van, 51, **53**

## N

NAD, 107, 108  
NADH<sub>2</sub>, 107, 108  
Nicotiana, 125  
nieren, 129  
nodaal weefsel, 66

## O

Oostindische kers, 19  
osmometer, **14**, 15, 142  
osmoregulatie, 128  
osmose, 13, **13**, 142  
– experimenten, 19  
– in organismen, 17  
osmotische druk, **13**, 15  
osmotische waarde, 15, **16, 17, 18**  
overgangsfase, **70**, 70  
oxygenatie, 49  
oxyhemoglobine, 49

## P

pantoffeldiertje, kweek van, 132  
Paramecium, 132  
Pelargonium, 34, 39, 125  
pericykel, 28  
permeabiliteit, 23, 24, 142  
Phaseolus, 125  
plasmalemma, 17, 142  
plasmolyse, 18, **18**  
– experimenten, 23  
– de-, 19  
– grens-, 18, **18**  
potetometer, 40, **41**  
protrombine, 96, 97, 142  
Purkinje, vezels van, 66, **67**  
pyrodruivenzuur, 107, 108, 109

## R

Ranunculus, 29, 30, **31, 32**  
refractaire periode, 63, 66, 142  
respiratoir quotiënt, 116, **117**, 143  
rhizodermis, 28  
Rhoeo, 19  
rotting, 112, 143  
RQ, 116, **117**, 143

## S

saccharase, 114  
saccharose, 114  
schors, 28  
semi-permeabiliteit, 13, 24, 143  
serum, 86, 102, 143  
serumhepatitis, 93  
sinus venosus, 66, 143  
sinusknoop, 66, **67**, 143  
sklerenchymschede, **32**, 33  
sluitcellen, 125  
Sparmannia, 40  
stengel, anatomie van, 30  
stengeltransport, 38  
stigma, **47**, 143  
stippel, 33  
stofwisseling, 112  
stollingsfactoren, 96  
– nomenclatuur van, 97, 98  
systole, 67, **72**, 143

## T

tegenstroomprincipe, 46  
testsera, 87, 95  
tonoplast, 17, 143  
trachee, 46, **47**, 50  
Tradescantia, 34, 124  
transportsystemen, **61**  
trombine, 96, 97, 143  
tromboplastine, 96, 97, 143  
trombus, 98, 143  
Tulipa, 30, 38  
turgescentie, 18, 143  
turgor, 143  
turgordruk, 17, **18**, 143

## U

uitdrijvingsfase, **69**, 70  
uitscheiding, bij planten, 127  
– van organische stoffen, 138  
uitscheidingsorganen, 128, 129  
ureum, 130, 131  
urine, 129, 130  
– samenstelling van, 134  
urinezuur, 130, 131, 137  
– aantonen van, 138

**V**

vaatbundel, 30, **31**, **32**  
vacuole, 17  
kloppende, 132, 133  
vacuolevocht, 17  
Vallisneria, 26  
Vanilla, 127  
vene, 73, 144  
ventilatie, 43, 48, 50, 54, 144  
ventrikel, 64, **64**, 144  
verdamping, 124, 129  
verwelking, 18  
vitale capaciteit, 58

**W**

waterafgifte, 124, 129  
waterhuishouding, 130  
waterpest, 19, 26  
wanddruk, 17, **18**, 144  
warmte, afgifte van, 114, 115  
warmtebeweging, 7, 12

wortel, anatomie van, 27  
worteldruk, 35, **36**, 144  
wortelharen, 28

**X**

xyleem, 28, **32**, 33, 144

**Z**

Zebrina, 124  
zeefvaten, 28, 33, 40  
zetmeel, 39, 40  
zetmeelsynthese, 113  
zoutklieren, 130, **131**  
zuigkracht van blad, 40, **41**  
zuigspanning, 17, **18**, 144  
zuurstof, behoefte aan, 43, 118  
– transport van, 48, 103  
zuurstofbinding, 49, 103  
zuurstofgehalte, 44  
zweetklieren, 129