Made available by Hasselt University Library in https://documentserver.uhasselt.be

De fotosynthese anders bekeken

Peer-reviewed author version

GUEDENS, Wanda; REYGEL, Patrick & ASPERGES, Michel (2012) De fotosynthese anders bekeken. In: VeLeWe Nieuwsbrief, 2012 (31-03-2012).

Handle: http://hdl.handle.net/1942/13695

De fotosynthese anders *bekeken*

Wanda Guedens, Patrick Reygel en Michel Asperges/Universiteit Hasselt, België

Fotosynthese-experimenten in het secundair onderwijs bleven tot nog toe beperkt tot het afdekken van Pelargoniumbladeren met aluminiumfolie en het 'bellenexperiment' met waterpest (*Elodea canadensis)*[1]. Het practicum 'Microscopische waarnemingen van de fotosynthese' laat echter toe de vorming van zuurstofgas en zetmeel op microscopische schaal te zien en bovendien wordt de kennis over (bio)chemie en biologie hierbij op een zeer hoog niveau van integreren gebracht.

De insteek zoals in dit artikel beschreven is geschikt voor leerlingen van de derde graad: VWO (vernieuwde tweede fase domein D1) en HAVO (vernieuwde tweede fase domein D2) in Nederland[2] en voor TSO (techniek-wetenschappen), ASO (wetenschappen) in Vlaanderen of studenten hoger onderwijs.

Hoe kan je in een onderzoekend practicum licht laten schijnen op fotosynthese?

Er zijn twee probleemstellingen.

- Maken waterplanten via fotosynthese suikers en later zetmeel aan?
- Is fotosyntheseactiviteit microscopisch waar te nemen?

Materiaal[3,4,5]

- Een lichtmicroscoop per twee leerlingen met vergrotingen 10 x 20 en 10 x 40
- Lugol-oplossing
- Gedenatureerde ethanol
- 1% $KHCO_3$-oplossing of $NaHCO_3$-oplossing
- Verwarmingsplaten (geen bunsenbranders)
- Lichtbron van ongeveer 100 Watt of LED alternatief
- Waterpestplantjes die vooraf in het donker op kamertemperatuur (20°C) bewaard werden; hierdoor zal het fotosyntheseproces sneller verlopen.
- Bekerglazen 250 mL (2), 500 mL (1)
- Draag- en dekglaasjes
- Erlenmeyer 250 mL met ijswater
- Scheermesjes
- Pincetten type 'horlogemakerspincet'

Opmerking: begin op tijd met de voorbereiding van deze praktische les want de zuurstofproductie en de zetmeelvorming kunnen soms op zich laten wachten.

Voorbeelden uit de onderwijspraktijk

Experiment 1

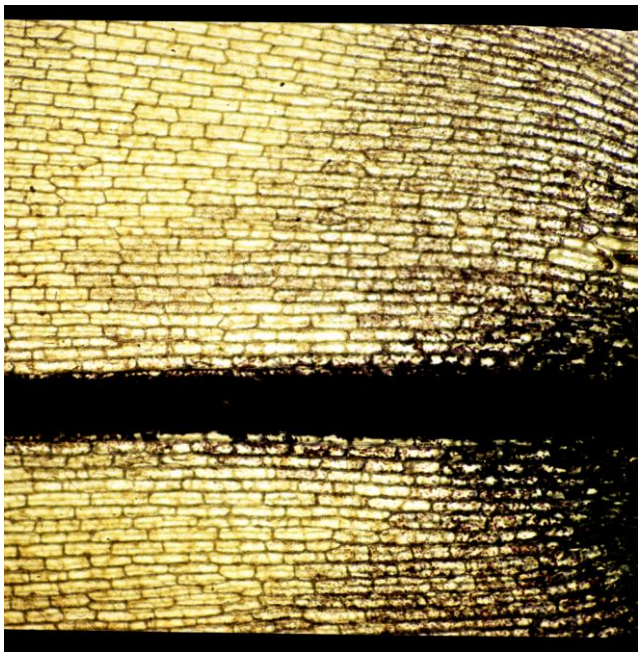
Van drie in het donker bewaarde frisse planten snijd je de toppen af (ongeveer 10 cm). Deze dompel je in water met 1% $KHCO_3$-oplossing om meer CO_2 productie te krijgen.

$$KHCO_3 \rightarrow K^+ + HCO_3^-$$

$$HCO_3^- + H^+ \rightleftharpoons CO_2 + H_2O$$

Zet de plantjes bij de lichtbron. Bij gebrek aan zonlicht kun je ze in de straal van een diaprojector zetten. Buislampen kunnen ook als lichtbron fungeren als je er veel hebt en ze dicht (20 cm) tegen de planten zet. Gloeilampen (100 Watt) geven te veel warmte af. Led lampen 'day light', te vinden in aquariumwinkels, zijn ook bruikbaar. Water van ongeveer 25°C is optimaal om fotosyntheseactiviteit te genereren.
Na een uur zullen de planten duidelijk gasbellen afgeven en kun je aan het practicum beginnen. Zet twee bekers, één met 100 mL water en één met 100 mL gedenatureerde ethanol, beiden opgewarmd tot kookpunt, in een warmwaterbad. Zet op de beker met kokende ethanol een erlenmeyer met ijswater om de verdampende ethanol te recupereren.
Neem één of twee belichte plantentoppen en gooi ze even in kokend water. De planten worden slap en sterven af. Daarna breng je ze in de opgewarmde ethanol. De waterplanten verliezen hun bladgroenpigmenten en ontkleuren. Maak een microscopisch preparaat van een stukje ontkleurd blad in Lugol. Bekijk het preparaat (vergroting 10 x 20).

Waarneming
Je ziet zwarte tot donkerpaarse korrels in de bladcellen (figuur 1). Naar analogie met vroegere waarnemingen (bv. met aardappelzetmeel) mag je besluiten dat waterpestbladeren zetmeel opbouwen na belichting.



Figuur 1. 10 x 4 De hoofdnerf en de bladvoet rechts bevatten zetmeelkorrels.
Foto:Michel Asperges

Doceermoment
Reactie van zetmeel met Lugol:

$$KI(aq) + I_2(s) \rightarrow KI_3(aq)$$
of
$$I^-(aq) + I_2(s) \rightarrow I_3^-(aq)$$

Zetmeel bestaat uit de polysachariden amylose en amylopectine (zie verder). Het amylose in zetmeel vormt met dijood een complex met een blauwzwarte kleur. Het dijoodmolecule zet zich vast in de kern van het amylose. Dijood is apolair en lost niet goed op in water. Door het dijood op te lossen in een KI-oplossing wordt er een lineair trijodide-ion complex gevormd dat wel oplost in water.
Het KI_3-reagens is een zetmeelindicator.. Als er geen amylose aanwezig is blijft de oplossing oranje of geel. Is er wel amylose aanwezig dan verschijnt de blauwzwarte kleur.

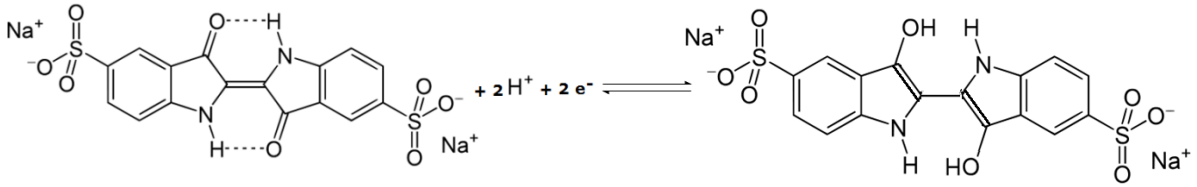
Experiment 2

Dit experiment toont aan dat waterpestplanten zuurstof produceren tijdens de fotosynthese. Dit is geen microscopische oefening maar zal als voorbereiding op experiment 3 een duidelijker beeld geven aan de leerlingen. Je kan dit experiment als een illustratieve demonstratie uitvoeren, zo win je tijd!

Materiaal:
- Waterpestplanten vooraf 24 u in het donker op kamertemperatuur
- Lichtbron
- 3 brede gasbuizen met rubberstop
- Reageerbuisrekje
- Spatel
- Scherp mesje
- Aluminiumfolie
- 500 ml $NaHCO_3$-oplossing 5 % (kamertemperatuur) (of spuitwater/water verhouding 1/1)
- 1% indigokarmijn in water
- $Na_2S_2O_4$ in poeder

Doceermoment

Indigokarmijn is een zuurstofindicator die geschikt is voor het aantonen van de zuurstofproductie door waterorganismen. Er is een sterk kleurcontrast tussen de geoxideerde vorm (blauw) en de gereduceerde vorm (geel).



blauw geel

Door toevoeging van natriumdithioniet wordt het water zuurstofvrij. Natriumdithioniet ($Na_2S_2O_4$) reduceert zuurstofgas in het water, indigokarmijn komt voor in zijn gereduceerde vorm (geel).
Waterpest produceert zuurstofgas, indigokarmijn komt voor in zijn geoxideerde vorm (blauw).

$$2\ S_2O_4^{2-} + 2\ H_2O + O_2 \rightleftharpoons 4\ HSO_3^-$$

Uitvoering referentie-experiment

Vul een brede gasbuis voor ¾ met water. Voeg met een spatel een weinig indigokarmijnpoeder toe en schud. Er ontstaat een blauwe oplossing. Onttrek de zuurstof aan de oplossing door toevoegen van zeer weinig natriumdithioniet in poedervorm. Door de buis met je handpalm af te sluiten en herhaaldelijk langzaam te kantelen zal de blauwe oplossing geel tot geelgroen worden. Lukt het niet onmiddellijk voeg dan opnieuw $Na_2S_2O_4$ toe. Als de gele oplossing gedeeltelijk wordt overgegoten in een andere gasbuis en goed wordt geschud komt ze terug in contact met de lucht (rijk aan O_2) en merk je dat de blauwe kleur opnieuw verschijnt (opletten voor overdosering van natriumdithioniet!).

Uitvoering experiment met waterpestplanten

- Vul 3 gasbuizen tot aan de rand met $NaHCO_3$-oplossing.
- Voeg aan elke gasbuis enkele druppels indigokarmijn toe tot het water blauw verkleurt.
- Voeg aan elke gasbuis vervolgens een mespuntje $Na_2S_2O_4$ toe en meng langzaam tot alle zuurstof gebonden wordt met $Na_2S_2O_4$. Het water wordt nu geelgroen.
- Gasbuis 1 fungeert als blanco, er wordt niets aan toegevoegd.
- In gasbuizen 2 en 3 steek je een stukje waterpest met de vers afgesneden steel naar boven en volledig ondergedompeld.
- Sluit de drie gasbuizen af met een rubberstop.
- Omwikkel gasbuis 3 met aluminiumfolie.
- Plaats alle gasbuizen naast elkaar gedurende 15 minuten voor een lichtbron.

Waarnemingen

In de blanco gasbuis ontstaat een blauwe kleur bovenaan het vloeistofoppervlak. Dit is normaal want dit oppervlak staat rechtstreeks in verbinding met de lucht. De gasbuis omwikkeld met aluminiumfolie en dus volledig verduisterd, verkleurt niet blauw. Er werd geen zuurstof vrijgegeven door de waterpestplant die in het donker niet aan fotosynthese doet. Alleen in de gasbuis die voldoende licht kreeg is er terug een blauwe verkleuring (soms lichtblauw).

Besluit

Waterpest als waterplant is een goede ‘zuurstofplant’.

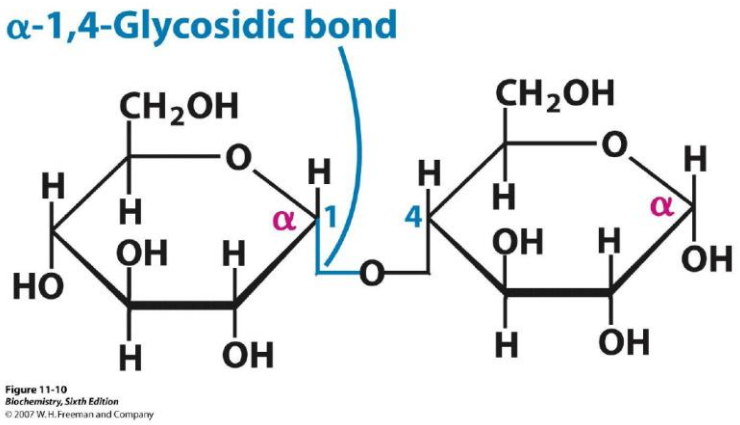
Experiment 3
Pluk enkele kleine blaadjes af van de overgebleven belichte plantentoppen. Snijd van een blad het onderste 1/3de dwars op de hoofdnerf af en maak er een microscopisch preparaat van. Observeer na een tijdje (15 à 20 minuten) de plaats waar je de hoofdnerf dwars doorgesneden hebt. Teken je waarnemingen. Gasbellen zie je met een microscoop steeds zwart omrand.
Voeg nu een druppel Lugol toe aan je preparaat en zuig het teveel aan vocht weg. Bekijk bij vergroting 10 x 20.

Waarnemingen

- In het eerste deel van experiment 3 zie je gasbellen ontsnappen aan de dwars doorgesneden hoofdnerf. De hoofdnerf kleurt zwart wat wijst op gasbellen (figuur 4). Uit vroegere waarnemingen van het bellenexperiment met indigokarmijn weet je dat de waterpestplantjes zuurstofbellen produceren. Nu zie je exact waar deze bellen ontsnappen.
- In het tweede deel van experiment 3 zie je, na kleuring met Lugol, dat de cellen die het dichtst tegen de hoofdnerf liggen de meeste zetmeelkorrels bevatten (figuur 5). Meer naar de buitenzijde van het blad en hoger naar de top vind je minder zetmeelkorrels (figuur 6).
- Het zou kunnen dat je de bladgroenkorrels in de cellen van de hoofdnerf of de langgerekte cellen tegen de hoofdnerf ziet bewegen. Dit is uiteraard te wijten aan plasmastromingen die bladgroenkorrels meesleuren.

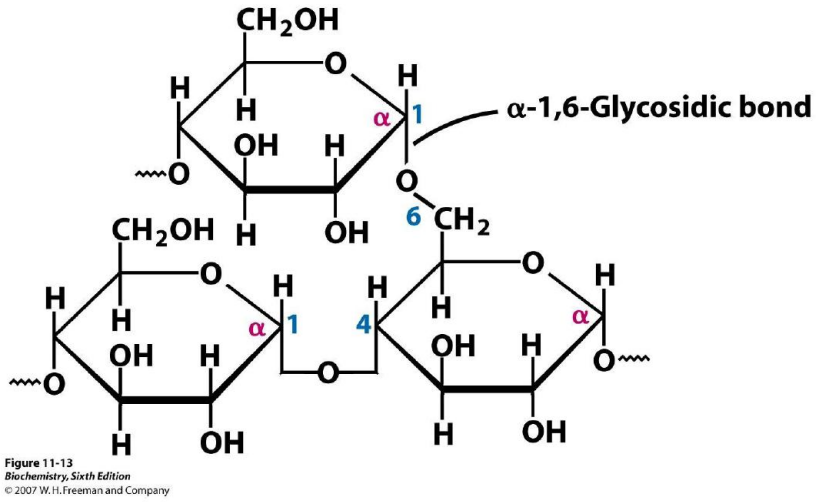
Doceermoment
Fotosynthese resulteert niet rechtstreeks in zetmeelvorming; er ontstaan wel suikers zoals glucose en/of fructose. Deze monosacchariden worden later aan elkaar geschakeld tot zetmeel, een polysacharide.
Zetmeel bestaat uit de polysachariden amylose en amylopectine:

Amylose (oplosbaar zetmeel; 10-20%) = lange, onvertakte keten van D-glucopyranose eenheden (60-300) verbonden via α (1→4) glycosidische bindingen (figuur 2).

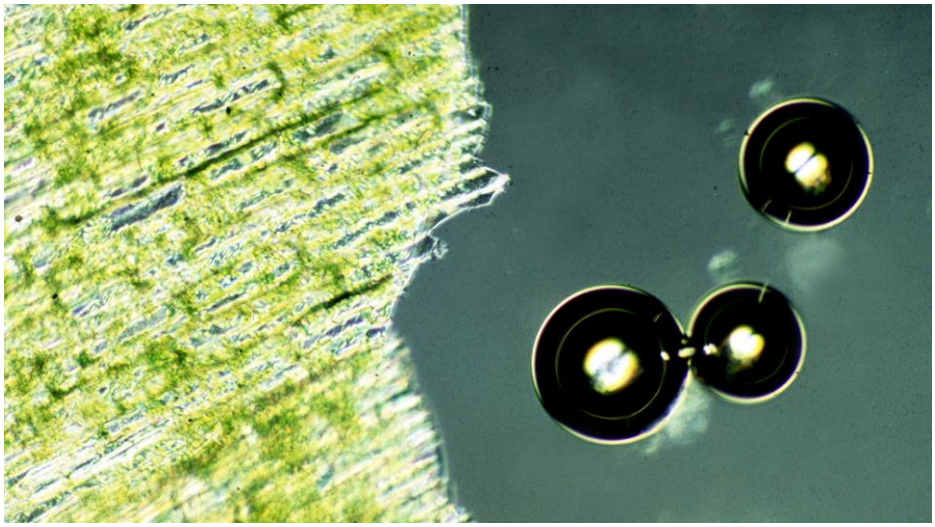


Figuur 2. D-glucopyranose eenheden verbonden via α (1→4) glycosidische bindingen in Amylose[6]

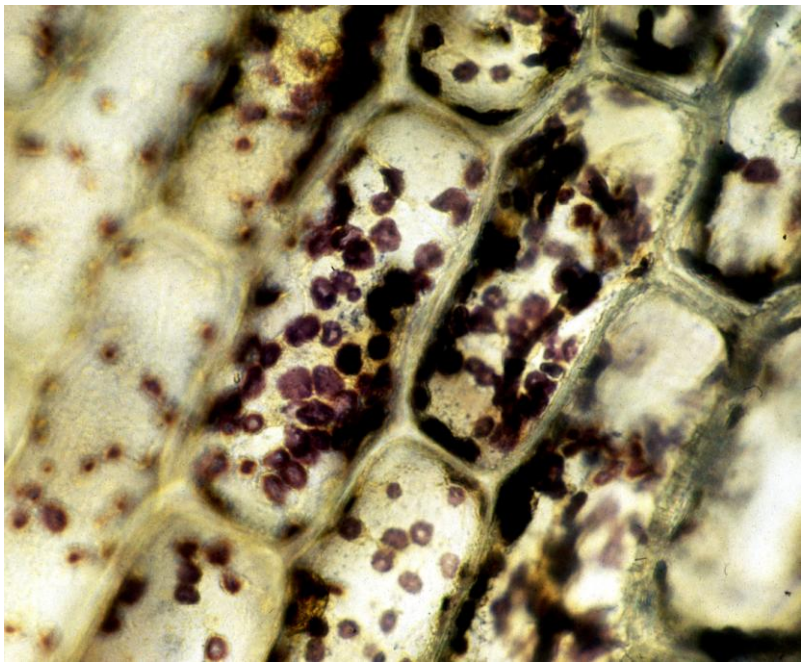
Amylopectine (80-90%) = vertakte keten van D-glucopyranose eenheden (300-6000), hoofdketen via α (1→4) glycosidische bindingen waaraan kortere ketens via α (1→6) glycosidische bindingen gebonden zijn (± om de 30-glucose eenheden) (figuur 3).



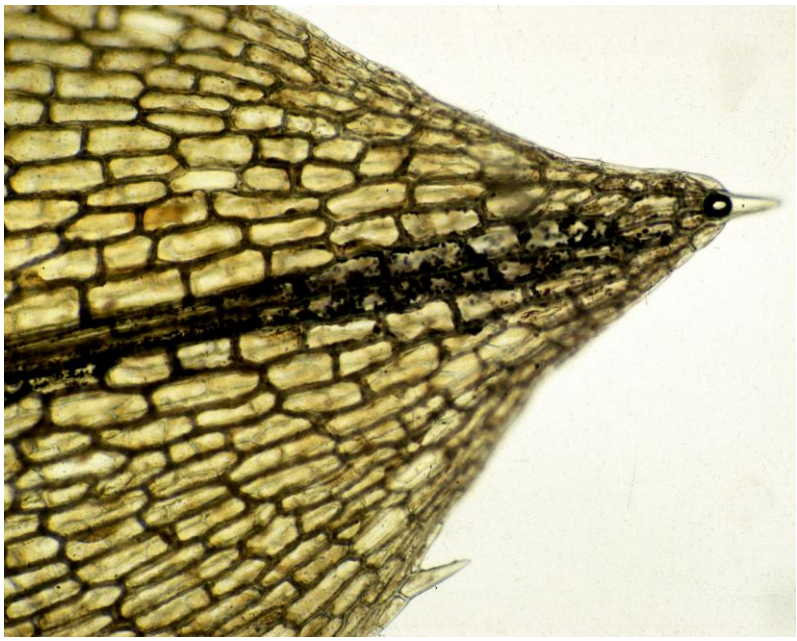
Figuur 3. D-glucopyranose eenheden verbonden via α (1→4) glycosidische bindingen waaraan kortere ketens via α (1→6) glycosidische bindingen gebonden zijn in Amylopectine[6]



Figuur 4. 10 X 4 De gasbellen zijn zuurstofbellen die ontsnappen aan de hoofdnerf. Foto: Michel Asperges.



Figuur 5. 10 X 40 In de cellen met bladgroenkorrels vormen zich zetmeelkorrels die met Lugol paars kleuren. Foto: Michel Asperges.



Figuur 6. 10 X 4 In de bladtop zien we bladgroenhoudende parenchymcellen, alleen rond de hoofdnerf zien we zetmeelkorrels. Foto: Michel Asperges.

Conclusie

Met deze praktijkoefeningen wordt kennis over (bio)chemie en biologie op een zeer hoog niveau van integreren gebracht. In tegenstelling tot leerlingen van het secundair onderwijs die onder begeleiding de oefeningen uitvoeren kunnen studenten die een hogere opleiding volgen, het voorgestelde practicum als een zelfstudiepakket verwerken in de case study 'Fotosynthese'.

Bronnen

1.Deconinck, W. (2004).
Waterpest-trechterproef, een delicate demonstratie in het middelbaar onderwijs.
Jaarboek VOB 2004, pp. 49-59.

2. http://www.bioplek.org/bioplek.html (geraadpleegd december 2011)

3. Asperges, M. e.a., (2002).
Planten en andere niet-dierlijke organismen.
Van In, 2002, pp. 198.

4. Geris, K., Goossens, R. en Vernemmen, P. (2008).
Biologie 5.1 Leerboek
De Boeck Antwerpen, pp. 100

5. Schuermans, G. e.a., (2005).
Bio voor jou, deel 5.
Van In, 2005, pp. 44.

6. Berg, J.M., Tymoczko, J.L. & Stryer, L. (2007). *Biochemistry - Chapter 11*, 6 th edition, W.H.Freeman and Company, New York.

Wanda J. Guedens, hoofddocent (bio)chemie, Universiteit Hasselt, Campus Diepenbeek, Agoralaan - Gebouw D, BE-3590 Diepenbeek, België
wanda.guedens@uhasselt.be, 0032 26 83 24

Patrick Reygel, hoofddocent biologie, Universiteit Hasselt, Campus Diepenbeek, Agoralaan - Gebouw D, BE-3590 Diepenbeek, België
patrick.reygel@uhasselt.be, 0032 11 26 83 36

Michel Asperges, vrijwillig wetenschappelijk medewerker biologie, Universiteit Hasselt, Campus Diepenbeek, Agoralaan - Gebouw D, BE-3590 Diepenbeek, België
michel.asperges@uhasselt.be, 0032 16 78 24 94