



# STEM-project:

## Fotosynthesesnelheid bepalen met algenballetjes

### Werkbundel



Naam:

Klas :



## Doelen

### Vaardigheden als team

- Leerlingen kunnen samenwerken als team.
- Het team kan afspraken maken en deze nakomen.
- Binnen het team durven leerlingen elkaar aanspreken en bijsturen wanneer nodig.
- De teamleden evalueren elkaar.
- Het team kan brainstormen en over de resultaten reflecteren.

### Individuele vaardigheden

- Een leerling kan een eigen stappenplan opstellen over het onderzoek.
- Een leerling ontwikkelt en hanteert de juiste labovaardigheden voor het uitvoeren van een experiment.
- Een leerling kan nauwkeurig en veilig werken.
- Een leerling leert gegevens verwerken en resultaten van experimenten op een wetenschappelijke manier neer te schrijven.

## 'A perfect storm'



Tijdens een teamproject zijn er verschillende momenten waarop je de koppen bij elkaar kunt steken om een idee uit te werken of tot een mogelijke oplossing te komen. Hiervoor is een brainstorm geschikt (zie bijhorend icoontje).

Om een brainstorm te doen slagen is het belangrijk je aan de vier onderstaande regels te houden:

- Elk idee is goed. Hoe meer en hoe wilder de ideeën, hoe beter. Er bestaan geen slechte ideeën in een brainstorm.
- Een idee is van iedereen. Een goed idee komt vaak voort uit samenwerking. Bouw verder op de ideeën van anderen.
- Geen 'Ja, maar'. Oordeel op het moment zelf niet over ideeën. Laat beperkingen voorlopig achterwege. Uit een onrealistisch idee komt in een latere fase misschien een haalbaar concept.
- Om de beurt. Geef om de beurt een antwoord. Dit verplicht je antwoorden te geven en zo komt er input vanuit het hele team.



©Pixar



## INLEIDING

*Goed begonnen is half gewonnen*



Bekijk een [fragment](#) uit WALL-E (Pixar, 2008). Het robotje WALL-E perst afval samen op een verlaten aarde. De mens is jaren eerder gevlucht omdat de planeet onleefbaar was geworden door het vele afval. Op een dag treft hij een levend plantje aan. Dat toont hij aan de robot EVE wanneer zij komt speuren naar tekenen van leven op aarde. De aanwezigheid van de plant betekent dat er weer leven mogelijk is op aarde!



©Pixar

Dit is stof tot nadenken.



Waarom betekent het voorkomen van planten dat de aarde terug bewoonbaar is voor de mens?



3 min





Wat hebben planten zelf nodig om te kunnen groeien?





3 min



 Is er ook leven mogelijk op aarde zonder planten?

  
3 min

 Aan welke vereisten moet een planeet voldoen om leven mogelijk te maken?

  
3 min



©Pixar



## FASE 1 – Informeren

*If it isn't on Google, it doesn't exist (J. Wales)*



Dit trimester gaan we de **snelheid van fotosynthese meten bij algen**. Algen of wieren is een informele verzamelnaam voor een grote, diverse groep organismen. Wat de groep gemeen heeft, is dat ze aan fotosynthese doen. Er zijn reusachtige meercellige soorten zoals reuzenkelp (*Macrocystis pyrifera*) maar ook vele eencellige microscopisch kleine soorten. Voor deze laatste heb je dus een microscoop nodig om ze te zien.



Reuzenkelp. ©NOAA.

Voor dit experiment gebruiken we een eencellige algensoort. We starten vanuit een ent: een kleine hoeveelheid van de soort die we gaan opkweken. Deze ent kunnen we bestellen bij de 'Belgian Co-ordinated Collections of Micro-organisms'. We kijken even in een [filmpje](#) hoe zij te werk gaan.

We kiezen voor een ent van het genus *Desmodesmus*: een eencellig groenwier, een zoetwaterorganisme dat kleine kolonies vormt van twee tot vier cellen. Stekels die de buitenste cellen vormen, beschermen de kolonie tegen grazers (dierlijk plankton).

Ook *Tetrademus* leent zich prima voor deze experimenten.



Wanneer we voldoende grote aantallen hebben, maken we *algenballetjes* om vervolgens in een experimentele set-up de fotosynthesesnelheid te meten. Dit doen we indirect door de zuurtegraad van de oplossing te bepalen. De bepaling van de pH gebeurt op verschillende manieren (die je eveneens kunt vergelijken):

- met indicatoroplossingen en een colorimeter
- met een pH-meter

Je komt gaandeweg te weten wat dit allemaal precies inhoudt!



©Pixar



Bereid het project voor door zaken op te zoeken op internet. Deze informatie kan je later gebruiken om de inleiding van je verslag te schrijven. Schrijf hieronder de **bronnen** (websites) op die je raadpleegt en de informatie die je hierop gevonden hebt. Doe dit op zo'n manier dat je ze later makkelijk kan terugvinden. We starten met het opstellen van de algenkweek van *Desmodesmus*. Je kan dus een antwoord zoeken op o.a. volgende vragen: **Wat is *Desmodesmus*? Hoe zijn de cellen van dit algengeslacht opgebouwd? Wat hebben deze algen nodig om te groeien? Welk materiaal heb je nodig voor een algenkweek? ...**



©Pixar



## FASE 2 – Voorbereiden (experimentopzet)

*Failing to prepare is preparing to fail (J. Wooden)*



Het project start met het opzetten van een kweek van een eencellige algensoort van het genus *Desmodesmus*. We kunnen hieraan een groei-experiment koppelen. In deze kweek kunnen we een aantal variabelen onderzoeken:

- licht (golflengte, aantal uren belichting, intensiteit)
- beluchting
- temperatuur
- voedingsstof (type, concentratie)

Om op een gecontroleerde manier algen te laten groeien, is het nodig een omgeving te creëren waarbij we de parameters die invloed hebben op het groeiproces kunnen meten en regelen. Dit wordt onze *groeibox*.



Bedenk een opstelling waarmee we verschillende variabelen kunnen testen. De opstelling (groeibox) moet geschikt zijn om verschillende variabelen (die je zelf kiest) te onderzoeken.



15 min





Nu krijg je te horen hoe we te werk zullen gaan, hoe we ons groei-experiment zullen opstellen!

Als de groeibox klaar is, kan je een *ent* algen in je fles doen om ze verder te laten groeien. We willen dan de algen kunnen opvolgen.

### Overzicht groei-experiment

*Hier komt een schets van de opstelling van jullie groeibox.*

*Benodigde materialen om bovengenoemde te testen variabelen:*

*(1) golflengte van het licht:*

*Een flexibele LED-strip. Dit laat toe om de kleur van het licht te kiezen. Je kan deze aan de binnenkant van het deksel van de groeibox kleven. Sommige modellen laten programmatie toe zodat je verschillende kleuren op dezelfde strip kan gebruiken.*

*(2) aantal uren belichting:*

*Een timer voor het stopcontact. Dit schakelt het licht automatisch uit na x aantal uur.*

*(3) intensiteit van het licht:*

*Dezelfde flexibele LED-strip. Hierop kan je de lichtintensiteit instellen. Let op om bij de opstart van een algencultuur de intensiteit niet te hard te zetten! Anders gaan de chloroplasten kapot.*

*(4) beluchting*

*Een aquariumpomp met verschillende uitgangen plus accessoires om luchtslangen aan te sluiten. Zo kan je met één aquariumpomp verschillende flessen met algencultuur beluchten.*

*(5) type voedingsstof*

*Bij het bestellen van een algencultuur bij BCCM, krijg je 1 liter medium. Verder kan je zelf ook medium maken (zie verder) en nutriënten kopen in een tuincentrum (drie types).*

*(6) concentratie voedingsstof*

*Je kan een standaardconcentratie van elk type voedingsstof kiezen. Deze concentratie kan je bv. halveren en verdubbelen.*



## FASE 1 – Informeren

*If you haven't found it yet, keep looking (S. Jobs)*



Tijd voor wat extra informatie: verwerk de infofiches. Maak de bijhorende opdrachten.

*Terwijl de algen groeien, kunnen leerlingen deze infofiches verwerken. Deze informatie zullen ze verder in het project nodig hebben. Je kan steeds verwijzen naar de infofiches wanneer dit opgefrist moet worden. Leerlingen kunnen dit individueel verwerken (in klas of als huiswerk), of in groepjes. In het laatste geval leggen ze de info dan aan elkaar uit.*

### Infofiche 'Wat zijn planten?'

Vroeger verdeelden we planten onder volgens gebruiksdoeleinden: planten met eetbare zaden, giftige planten, geneeskrachtige planten enz. Vanaf het midden van de 18<sup>e</sup> eeuw gebruikte men uitwendige kenmerken (morfologische kenmerken) om planten onder te verdelen. Nu weten we dat die uiterlijke kenmerken niet voldoende zijn om tot een juiste classificatie te komen. Vandaag de dag houden we dan ook rekening met genetische kenmerken (DNA, erfelijk materiaal).

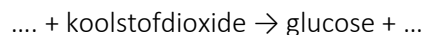
Welke organismen nu precies tot de planten behoren, hangt af van welke definitie je gebruikt. Enkel landplanten? Of ook kranswieren, groenwieren en roodwieren?

Algemeen behoren organismen tot de planten als ze voldoen aan volgende kenmerken:

- meercellig zijn,
- opgebouwd zijn uit cellen met een celkern (eukaryote cellen),
- rond hun cel met celmembraan ook nog een celwand met cellulose hebben,
- aan fotosynthese doen m.b.v. bladgroenkorrels (chloroplasten) die het pigment chlorofyl bevatten,
- zetmeel aanmaken om energie op te slaan.

Gaan al deze kenmerken op voor de algen, *Desmodesmus*, waar wij mee werken? Welke niet?

Groenwieren zoals *Desmodesmus* hebben ook geen transportsysteem (vasculair systeem, vaatbundels) voor water en voedingsstoffen zoals landplanten. Ze zijn dus wel wat verschillend maar ze hebben ook veel gemeenschappelijk met landplanten. Zo doen ze bv. aan fotosynthese om glucose (suiker) aan te maken. Een deel van de fotosynthesereactie zie je hieronder.



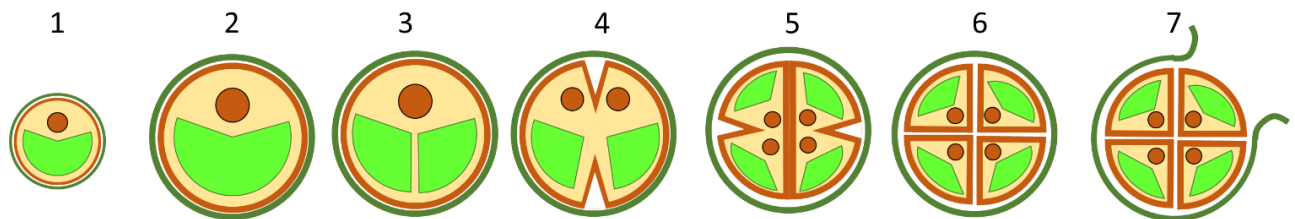
Welk van volgende zou de reactie vervolledigen? Duid het juiste antwoord aan.

	Reagentia	Reactieproduct
A	water	chlorofyl
B	chlorofyl	zuurstofgas
C	water	zuurstofgas
D	zuurstofgas	water

### Infofiche 'Groei van algen'

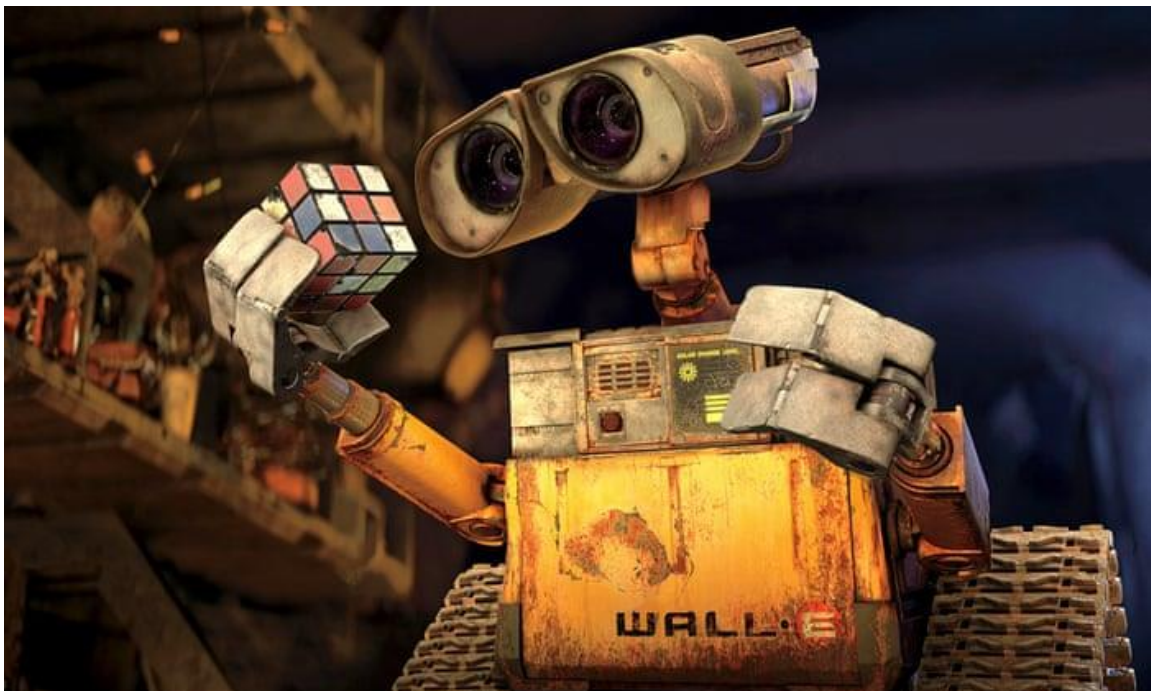
Algen zijn eencellige of meercellige organismen die in het water leven en geen bladeren, wortels of bloemen hebben. Ze gebruiken licht als energiebron om aan *fotosynthese* te doen. Hierbij zetten ze koolstofdioxide (CO<sub>2</sub>) en water (H<sub>2</sub>O) om in energierijke suikers en zuurstofgas (O<sub>2</sub>). Dat zuurstofgas is een bijproduct.

Voor de aangroei van een algenpopulatie moet er *celdeling* optreden. Eén moedercel splitst hierbij in twee of meer dochtercellen. Bij de algen waar wij mee werken, gaat het om vier dochtercellen. Mits voldoende licht en voedingsstoffen duurt zo'n cyclus 22 uur.



Celcyclus van *Chlorella*. ©Safi et al. 2014

1. Moedercel
2. Groei van de moedercel
3. Deling van de chloroplast – het *organel* waarmee een cel aan *fotosynthese* doet
4. Splitsing van de celkern (die het genetisch materiaal van een cel bevat) en begin van de eigenlijke celdeling
5. Deling van de chloroplasten
6. Splitsing van de celkernen en tweede celdeling
7. Rijpende dochtercellen die uit de celwand van de moedercel zullen breken



©Pixar

Je start door toevoegen van 1 ml van een algencultuur. Werk even wiskundig uit hoe zo'n populatie toeneemt bij een celcyclus van 22 uur. Doe vervolgens hetzelfde voor een celcyclus van 11 uur. Geeft dit een groot verschil na 11 dagen?

*Celcyclus van 22 uur*

Wanneer je weet dat er 8 algen in een druppel (0,01 ml) zitten, komt dit overeen met  $x$  algen in een **startcultuur** van 1 ml: 800

Na 22 uur

Na 44 uur

Na 66 uur

Na 88 uur

Na 110 uur

Na 132 uur

Na 154 uur

Na 176 uur

Na 198 uur

Na 220 uur

Na 242 uur

Na 264 uur

*Celcyclus van 11 uur*

Wanneer je weet dat er 8 algen in een druppel (0,01 ml) zitten, komt dit overeen met  $x$  algen in een **startcultuur** van 1 ml: 800

Na 11 uur

Na 22 uur

Na 33 uur

Na 44 uur

Na 55 uur

Na 66 uur

Na 77 uur

Na 88 uur

Na 99 uur

Na 110 uur

Na 121 uur

Na 132 uur

Na 143 uur

Na 154 uur

Na 165 uur

Na 176 uur

Na 187 uur

Na 198 uur

Na 209 uur

Na 220 uur

Na 231 uur

Na 242 uur

Na 253 uur

Na 264 uur

We plotten deze data in Excel en maken er een grafiek van. Deze knip je uit en plak je hieronder.

*Figuur 1. Theoretische groeicurve van een startercultuur algen van 1 ml bij een celcyclus van 11 uur of 22 uur.*

We merken dat de algen *exponentieel* groeien. Zoek op en leg uit wat dit betekent:

Geef een aantal redenen voor een verschil in duur van één celcyclus van twee starterculturen.

Behalve CO<sub>2</sub> en zonlicht hebben algen ook nood aan stikstof (N), fosfor (P) en kalium (K) voor de opbouw van hun weefsels. Dit noemen we *primaire voedingsstoffen*. We voegen dit aan onze algencultuur toe onder de vorm van *medium*.

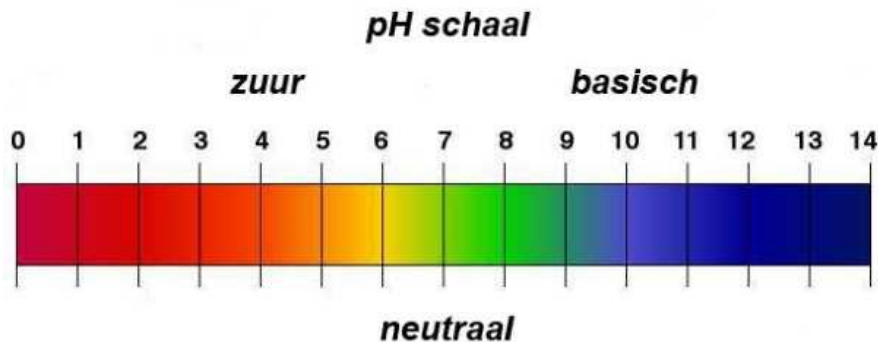
Naast N, P en K zijn nog andere elementen belangrijk voor voeding van algen, zij het in mindere mate. Calcium (Ca), magnesium (Mg), natrium (Na) en zwavel (S) aanzien we als *secundaire voedingselementen*.

Tenslotte hebben algen ook voedingsstoffen in hele kleine hoeveelheden nodig, de zogenaamde *sporenelementen of micronutriënten*, zoals koper (Cu), kobalt (Co), boor (B), ijzer (Fe), mangaan (Mn), seleen (Se), zink (Zn) en molybdeen (Mo). Dit kunnen algen in een algenkweek uit kraantjeswater halen.

### Infociche 'zuurtegraad of pH'

pH is een maat voor de concentratie aan waterstofionen ( $H^+$ ) in een oplossing. De schaal loopt van 0 tot 14 waarbij 7 neutraal is, waarden kleiner dan 7 zuur en waarden groter dan 7 basisch of alkalisch zijn.

Hoe groter de concentratie aan waterstofionen, hoe lager de pH, hoe zuurder de oplossing. Omgekeerd: hoe lager de concentratie aan waterstofionen, hoe hoger de pH en hoe basischer de oplossing.



Stoffen die het zure of basische gedrag van andere stoffen laten zien door op de een of andere manier te veranderen, noemen we *indicatoren*.

Zoek op welke indicatoren zoal bestaan en noteer er hieronder een vijftal:

**Infofiche 'Microscop'**

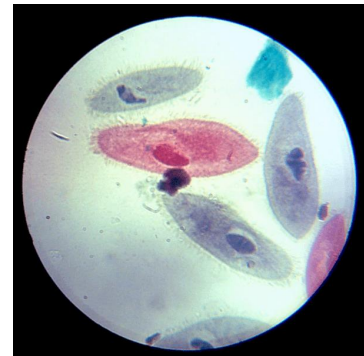
Goed met een microscoop kunnen werken, is uitermate belangrijk bij veel biologisch onderzoek.

De microscoop heeft twee lenzen. Een eerste is het oculair (ooglenzen; vlakbij het oog), de tweede is het objectief (voorwerplens; vlakbij het 'object'). Deze lenzen gebruiken we om het voorwerp vergroot te kunnen zien. De vergroting die je ziet door de microscoop bekom je door de vergrotingsfactor van het oculair te vermenigvuldigen met deze van het objectief. Bekijk een lichtmicroscoop en bereken de vergrotingen die je ermee bekomt.

Vergroting objectief	Vergroting oculair	Totale vergroting

Het beeld hiernaast toont verschillende pantoffeldiertjes (*Paramecium sp.*) bij een vergroting van 1000x. Gegeven is de diameter van het microscopisch veld bij verschillende vergrotingen.

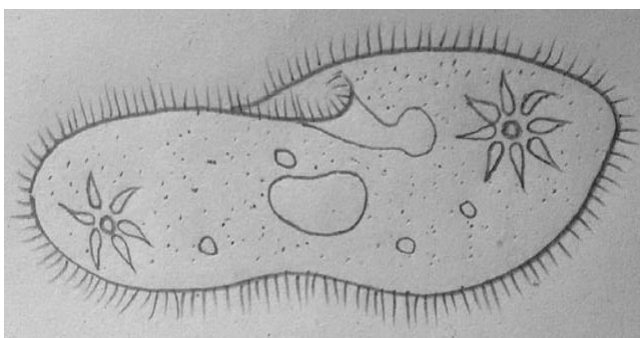
Vergroting	Diameter microscopisch veld
40x	4,5 mm
100x	1,8 mm
400x	0,45 mm of 450 $\mu\text{m}$
1000x	0,18 mm of 180 $\mu\text{m}$



Schat de lengte in van het horizontaal georiënteerde pantoffeldiertje.

©AdaMcVean

Een leerling heeft van het preparaat een tekening gemaakt. Welke informatie ontbreekt op deze microscopietekening?



## Infofiche 'colorimetrie'

Wat zou *colorimetrie* volgens jou kunnen betekenen?

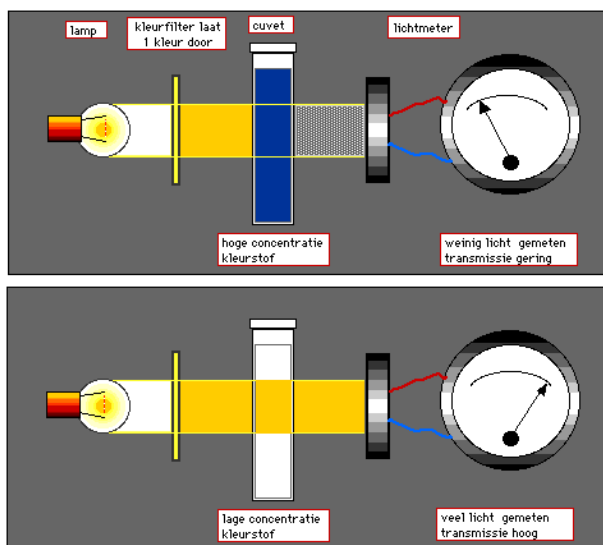
M.b.v. deze techniek kan je de concentratie van een stof bepalen aan de hand van licht. Je analyseert hiertoe de kleurintensiteit van oplossingen. Concreet willen wij de concentratie aan algen meten.

Hoe gaat dat in zijn werk?

Monochromatisch licht (licht dus van één golflengte) van een LED valt door een cuvet met de oplossing (het *monster*). Deze oplossing (en eventueel andere aanwezige stoffen erin) absorbeert het licht gedeeltelijk en een fotodiode neemt de intensiteit van het licht op.

Om de invloed van andere stoffen op het absorptiespectrum te meten, maak je allereerst gebruik van een *blanco*. Deze bevat alle andere stoffen uit het monster, behalve de te onderzoeken stof. Onze blanco bestaat uit een cuvet met gedestilleerd water.

Wat je afleest op de *colorimeter*, is de *extinctie* of *uitdoving* van het licht. Deze is recht evenredig met de concentratie van de te meten stof.

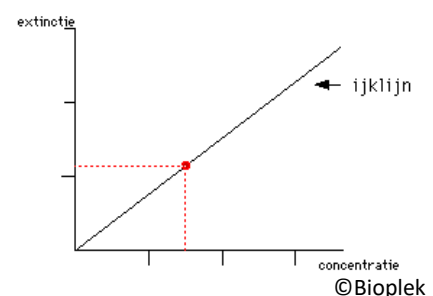


Deze figuur illustreert de werking van de colorimeter. Als het monster weinig licht doorlaat, bevat het monster een hoge concentratie kleurstof (indicatoroplossing).

Als het monster dan weer veel licht doorlaat, bevat het monster een lage concentratie kleurstof.

©Bioplek

Om de kleur van de indicator nauwkeurig te kunnen bepalen, stel je eerst een *ijklijn* op. Hiervoor meet je de extinctie van verschillende *standaardoplossingen*. Dit zijn oplossingen met een bekende pH. In een grafiek zet je de bekende pH-waarden uit tegen de gemeten extincties. Omdat er een recht evenredig verband geldt tussen de extinctie en de pH-waarde mag je een rechte lijn tussen de ijkpunten trekken. Vervolgens kan je na meting van de extinctie van een monster op de grafiek aflezen met welke pH-waarde dit overeen komt.



©Bioplek





## FASE 3 – Uitvoeren (algenweek opvolgen)

*I have not failed. I've just found 10,000 ways that won't work (T. Edison)*



Week na week zie je de flessen (hopelijk) groener worden: dit toont dat het aantal cellen toeneemt. Een meer nauwkeurige manier om de algenweek op te volgen is door middel van *microscopie*.



Je wil onder een microscoop tellen hoeveel algen er per volume in je algenweek zitten. Hoe pak je dit aan? Wat zijn de moeilijkheden?



5 min



©Pixar

Let op: verwar een microscoop niet met een telescoop. Ken jij het verschil?



## FASE 3 – Uitvoeren (microscopie algenkweek)

*Technology should improve your life ... not become your life (B. Cox)*

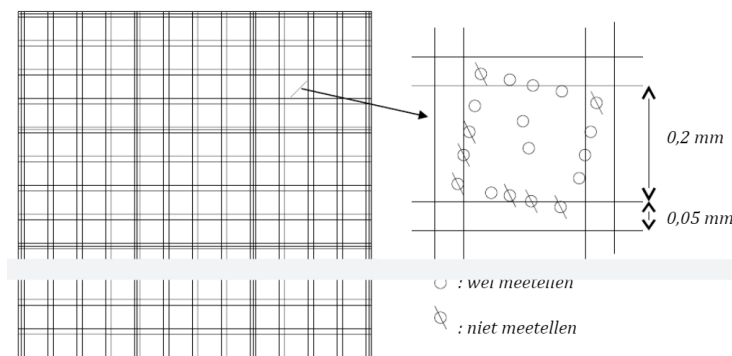


Om te 'tellen' hoeveel algen er in een monster zitten, kunnen we gebruik maken van een *Bürker telkamer*. Dit is een draagglas dat bestaat uit twee compartimenten die links en rechts door een groef begrensd zijn. Naast de groeven zijn er ribben die 0,1 mm hoger zijn dan de compartimenten. Als een dekglasje op deze ribben rust, krijg je eronder een ruimte die je kan vullen met algencultuur. In het draagglas zijn lijnen gekrast volgens een bepaald patroon: telnetten.



Hoe werk je met een telkamer?

- Zuig een kleine hoeveelheid algensuspensie op met een micropipet.
- Plaats de pipet schuin tegen de rand van het dekglasje en laat de suspensie voorzichtig onder het dekglasje lopen. Stop wanneer de telkamer goed gevuld is én voordat de vloeistof in de diepe groeven loopt.
- Tel in een aantal vierkantjes de aanwezige algen. Algen die op of over de rechter- of bovenrand van een vierkantje liggen, tel je mee. Algen op de linker- of onderrand van het vierkantje tel je niet mee.



Bepalen van het volume van één telkamer:

Oppervlakte telkamer (mm<sup>2</sup>) =

Diepte telkamer (mm) =

Volume (mm<sup>3</sup> of µl) =

Bereken nu het aantal algen per ml celsuspensie. Hiervoor deel je het aantal getelde algen door het volume (en om het volume te weten vermenigvuldig je het aantal telkamers met het volume van één telkamer). Dit geeft je het aantal algen per microliter: algen/µl

Reken dit vervolgens om naar het aantal algen per milliliter: algen/ml





Noteer het benodigde materiaal voor jullie fotosynthese-experiment. Stel individueel een **stappenplan** op.



©Pixar



Methode



## FASE 3 – Uitvoeren (oplossingen maken)

*All the world is a laboratory to the inquiring mind (M. H. Fischer)*



Omdat de algen zo klein zijn (eencellig en slechts enkele micrometer groot) verpakken we ze in *algenballetjes* om fotosynthese te kunnen meten.

Oplossingen maken

Benodigd materiaal:

- natriumalginaat
- $\text{CaCl}_2$  (calciumchloride)
- spuitfles met gedestilleerd water
- maatkolf (100 ml)
- maatbeker (100 ml)
- horlogeglas
- trechter
- spatel
- balans
- kookplaat

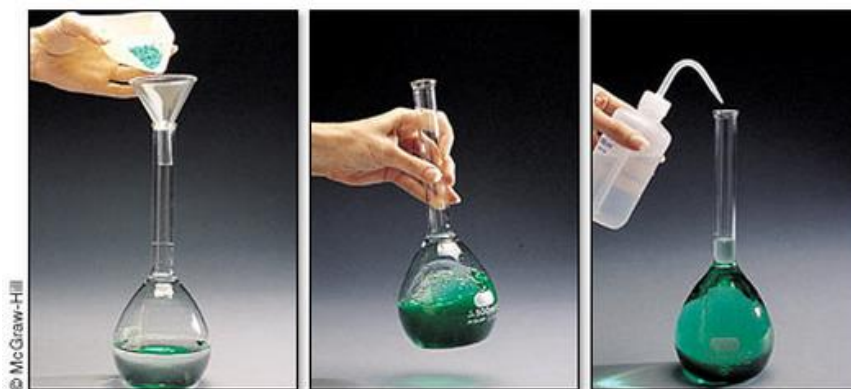
Methode:

We maken een 2% natriumalginaatoplossing in gedestilleerd water (kraantjeswater bevat teveel calciumionen!). Dit betekent dat je 2 g natriumalginaat afweegt en dit aanlegt met water tot 100 ml.

- Weeg op een horlogeglas 2 g natriumalginaat af.
- Doe dit in een maatbeker (normaal maak je een oplossing in een maatkolf maar omwille van de slechte oplosbaarheid is dit moeilijk)
- Leng met water aan tot 100 ml
- Verwarm al roerend (want natriumalginaat is slecht oplosbaar)

We maken een 2% calciumchloride oplossing in water. I.p.v. de oplossing in een maatbeker te maken, gebruiken we een maatkolf. Je brengt de 2 g  $\text{CaCl}_2$  m.b.v. een spatel en trechter in de maatkolf en lengt aan met water tot aan het streepje op de maatkolf. Sluit deze af en schud goed.

De oplossingen kan je bewaren 4°C.





## FASE 3 – Uitvoeren (algen oogsten)

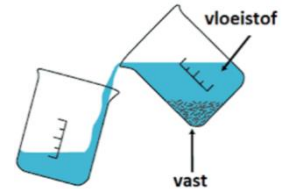
*Nothing in life is to be feared, it is only to be understood (M. Curie)*



Om met de algen aan de slag te gaan, moeten we ze scheiden van het groeimedium. We gaan ze met andere woorden 'oogsten'. Je kan verschillende scheidingstechnieken gebruiken:

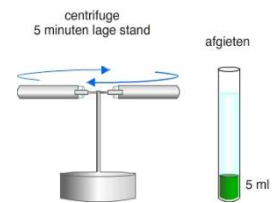
- **Bezinking in combinatie met decanteren**

Wanneer algen groeien in een recipiënt dat doorborreld (met een aquariumpomp) of geschud wordt, blijven ze in suspensie. Wanneer dat doorborrelen met lucht stopt, bezinken de algen. Vervolgens kan je decanteren: je giet de heldere vloeistof (= supernatant) af terwijl de algen op de bodem van de fles blijven liggen.



- **Centrifugatie in combinatie met decanteren**

Centrifugatie is een techniek waarbij buisjes ronddraaien in een centrifuge en stoffen onder invloed van de middelpuntvliedende kracht gescheiden worden. De stof met de grootste massadichtheid (hier: de algen) zal op de bodem van het buisje belanden. Deze techniek gaat sneller dan de algen te laten bezinken.



©Bioplek

Hier: 40 ml algensuspensie 5 minuten op een lage stand centrifugereren. De bovenste laag vloeistof giet je voorzichtig af tot er ongeveer 5 ml overblijft. Dit herhaal je verschillende malen.



©Pixar



## FASE 3 – Uitvoeren (algenballetjes maken)

*All life is an experiment (R. W. Emerson)*



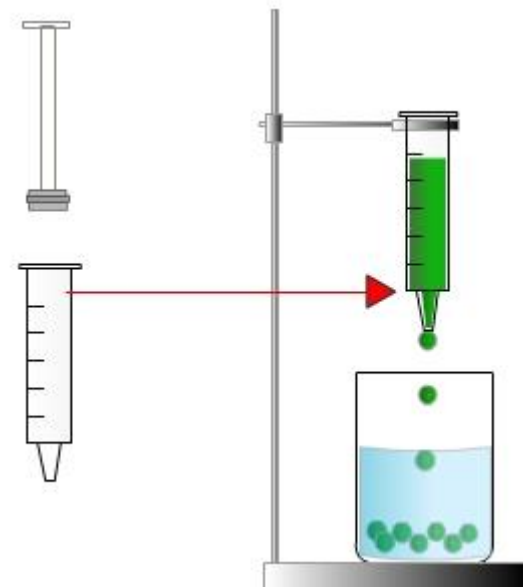
Met de eerder gemaakte natriumalginaat- en de calciumchloride-oplossingen én de geogste algen maken we nu algenballetjes.

Benodigd materiaal:

- algensuspensie
- natriumalginaatoplossing
- $\text{CaCl}_2$ -oplossing
- maatcilinder
- maatbeker (100 ml of groter) (2)
- roerstaaf
- spuit
- statief met klem
- theezeeffje
- glazen potje met deksel

Methode:

- Meet 20 ml natriumalginaatgel af in een maatcilinder.
- Giet dit over in een maatbeker.
- Meet 20 ml algensuspensie af in een maatcilinder.
- Giet dit over in dezelfde maatbeker.
- Roer m.b.v. een roerstaaf.
- Vul een andere maatbeker voor de helft met een 2% calciumchloride-oplossing.
- Verwijder de zuiger uit de spuit en vul de spuit met het groene mengsel (gel met algen).
- Plaats de spuit tussen de klem zoals op de figuur.
- Plaats de maatbeker met de 2% calciumchloride-oplossing onder de spuit en laat het mengsel hierin druppelen. De calciumionen in de oplossing maken een gel van de alginaatmoleculen.
- Draai de maatbeker zachtjes rond zodat de druppels kleine bolletjes vormen.
- Laat de bolletjes 10-15 minuten in de calciumchloride staan.
- Spoel de bolletjes in een theezeeffje met water. Doe ze vervolgens in een glazen potje met deksel (stockage).



©Bioplek

## FASE 3 – Uitvoeren (fotosynthesesnelheid)

*Food is simply sunlight in cold storage (J. H. Kellog)*

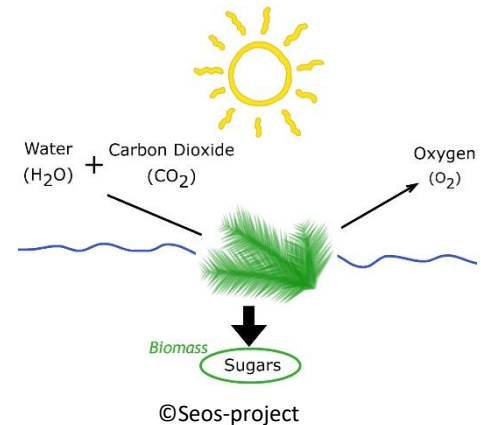


Nu gaan we met de algenballetjes aan de slag en meten we de fotosynthesesnelheid. Dit doen we indirect door de zuurtegraad van de oplossing te bepalen. We kunnen dit op verschillende manieren doen (om te kunnen vergelijken):

- met indicatoroplossingen, via colorimetrie
- met een pH-meter

Waterplanten halen  $\text{CO}_2$  uit het water om aan fotosynthese te doen. Fotosynthesesnelheid is afhankelijk van verschillende factoren die het proces kunnen vertragen wanneer ze niet optimaal zijn. Om de invloed van deze factoren te onderzoeken, kunnen we de fotosynthesesnelheid opvolgen door de zuurtegraad of pH van de oplossing te meten.

Wanneer er een snellere fotosynthese plaatsvindt, zal er minder  $\text{CO}_2$  in het water aanwezig zijn (omdat het opgebruikt is door de algen). Chemisch zorgt dit voor minder  $\text{H}_2\text{CO}_3$  (een zuur), met een lichte pH-stijging tot gevolg. Noteer dit even schematisch hieronder:



De indicator die we gebruiken is gevoelig voor veranderingen in de hoeveelheid  $\text{CO}_2$  in het water. Je kunt die dus gebruiken om na te gaan in welke mate de hoeveelheid  $\text{CO}_2$  in het water door toedoen van algen varieert.

Kleur van de indicator	Betekenis
Oranje-rood	$\text{CO}_2$ in het water is in evenwicht met $\text{CO}_2$ in de lucht.
Geel	Meer $\text{CO}_2$ in het water.
Rood-diep paars	Minder $\text{CO}_2$ in het water (er wordt dus meer aan fotosynthese gedaan).

### *Bedenking:*

*Met deze methode kan je ook het overwicht aan celademhaling aantonen. Als er evenveel fotosynthese plaatsvindt als celademhaling, dan verandert de concentratie aan  $\text{CO}_2$  niet. Is er meer fotosynthese, dan verdwijnt er  $\text{CO}_2$  en stijgt de pH. Is er meer celademhaling, dan stijgt de concentratie aan  $\text{CO}_2$  en daalt de pH.*

## Indicator maken

## Materiaal:

- cresolrood
- thymolblauw
- ethanol 96%
- NaHCO<sub>3</sub> (natriumwaterstofcarbonaat)
- gedestilleerd water
- maatcilinder
- maatbeker 50 ml
- balans
- horlogeglas
- spatel
- waterkoker
- maatkolf 1000 ml
- trechter

## Veiligheid:

*Deze chemicaliën mag je onverdund vanaf de eerste graad gebruiken; enkel cresolrood mag je pas vanaf de tweede graad gebruiken.*

In de COS-brochure (Chemicaliën Op School) kan je nagaan dat onderstaande H- en P-codes betrekking hebben op de chemicaliën waar je in dit practicum mee werkt. Zoek op wat deze betekenen zodat je op een veilige manier het experiment kan uitvoeren. Je hebt hiervoor een computer nodig.

Chemische stof	H- of P-code	Betekenis
cresolrood	H315	<i>Veroorzaakt huidirritatie.</i>
	H319	<i>Veroorzaakt ernstige oogirritatie.</i>
	H335	<i>Kan irritatie van de luchtwegen veroorzaken.</i>
	P261	<i>Inademing van stof/rook/gas/nevel/damp/spuitnevel vermijden.</i>
	P280	<i>Beschermende kledij dragen.</i>
	P305+351+338	<i>Bij contact met de ogen: voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten; contactlenzen verwijderen, indien mogelijk: blijven spoelen.</i>
thymolblauw	H302	<i>Schadelijk bij inslikken.</i>
	P301+312	<i>Na inslikken: bij onwel voelen een antigifcentrum/arts raadplegen.</i>

Zoek ook even het bijhorende GHS-symbool op (GHS = Globally Harmonised System of Classification and Labelling of Chemicals).

Chemische stof	GHS-code	Betekenis
Cresolrood en thymolblauw	GHS07	<i>Schadelijk</i>



Methode:

- Meet 20 ml ethanol af in een maatcilinder.
- Breng dit over in een maatbeker van 50 ml.
- Weeg 0,10 g cresolrood af op een horlogeglas en voeg dit toe aan de maatbeker met ethanol.
- Weeg 0,20 g thymolblauw af en voeg dit toe aan de maatbeker met ethanol.
- Roer tot beide stoffen zijn opgelost in de ethanol.
- Weeg 0,85 g natriumwaterstofcarbonaat af op een horlogeglas. Zet dit even opzij.
- Breng 200 ml kokend gedestilleerd water in een maatkolf van 1000 ml.
- Voeg de natriumwaterstofcarbonaat toe aan het gedestilleerd water m.b.v. een trechter en draai voorzichtig rond tot het opgelost is.
- Voeg de ethanoloplossing (met de kleurstoffen) toe aan de oplossing met natriumwaterstofcarbonaat.
- Vul aan tot 1 l met gekookt gedestilleerd water. De oplossing is diep donkerrood.
- Belucht de indicator om het evenwicht met atmosferische CO<sub>2</sub> te krijgen.

Om de pH nauwkeurig te bepalen aan de hand van de indicatoroplossing, maken we best gebruik van een *referentiestandaard* en een *ijklijn*. De leerkracht biedt verschillende oplossingen met gekende pH aan. Voeg hieraan een vaste hoeveelheid van de zelfgemaakte indicator toe. Bepaal vervolgens met de colorimeter de kleur van elke oplossing.

pH-waarde	7,6	7,8	8,0	8,2	8,4	8,6	8,8	9,0
Gemeten waarde met de colorimeter								

*In de literatuur suggereert men om borax (natriumtetraboraat,  $H_3BO_3$ ) te gebruiken voor de referentiestandaard. We raden dit echter niet aan omdat dit een schadelijk product is en je het slechts in zeer lage concentraties mag gebruiken in het secundair onderwijs (zie COS-brochure). Daarom suggereren we om verschillende natriumhydroxide-oplossingen te maken en hiervan de pH telkens te bepalen. Bovenstaande pH-waarden zijn dus indicatief.*

Stel vervolgens een *ijklijn* op: een grafische voorstelling van een reeks metingen van standaardoplossingen. Om de zuurtegraad van ons onbekend monster (de algenballetjes) te bepalen, kunnen we vergelijken met die kalibratielijn. Je tekent de kalibratielijn op millimeterpapier en kleeft deze hieronder.



©Pixar

## FASE 4 – Resultaten meten

*Nothing exists until it is measured (N. Bohr)*



Vandaag gaan we de pH bepalen van de algenbolletjes m.b.v. de eerder gemaakte indicator en met een pH-meter.

Het kleur meten we met een **colorimeter**. Verschillende kleuren absorberen verschillende golflengten van het licht in verschillende mate. Hier werken we met groen licht (550 nm) omdat de kleuren van de indicator (paars, rood, geel) dit groen licht goed absorberen. De hoeveelheid licht die een oplossing absorbeert of doorlaat is een maat voor de concentratie van die oplossing. Hier lezen we de *extinctie of uitdoving* af op het toestel omdat dit recht evenredig is met de concentratie van de stof. We maken gebruik van een *ijklijn*. De extinctie van meerdere standaardoplossingen bepaalden we eerder.



Materiaal:

- eerder gemaakte indicator
- algenballetjes
- gedestilleerd water
- waterkoker
- maatcilinder
- maatbeker (500 ml)
- kleine glazen potjes met deksel (3)
- colorimeter
- pipet en peer

Methode:

- Omdat de indicator zeer gevoelig is, is het belangrijk eerst alle glaswerk te spoelen met de indicator.
- Voor gebruik moet je de indicator 25x verdunnen met gekookt gedestilleerd water: 1 deel indicator, 25 delen gedestilleerd water. Je voegt dus 10 ml indicator met een maatcilinder toe aan een maatbeker en lengt aan met 250 ml gedestilleerd water.
- Voeg met een pipet en peer eenzelfde kleine hoeveelheid indicator toe aan elk potje (2 ml).
- Meet de extinctie van de indicatoroplossing met behulp van de colorimeter. Noteer dit op de volgende pagina.
- Voeg aan elk potje een gelijke hoeveelheid algenballetjes (bv. 15) toe en sluit het potje.
- Plaats de potjes in het licht (lamp) en laat de potjes staan tot een kleurverandering waarneembaar is. Meet vervolgens de extinctie van elke oplossing met de colorimeter. Noteer de waarde in de tabel.
- Bepaal de pH-waarde met behulp van de kalibratielijn en vul aan in de tabel.
- Meet van elk monster ook de pH met een pH-meter. Vul aan in de tabel.









## FASE 6 – Verslag schrijven

*Write what should not be forgotten (I. Allende)*



In een wetenschappelijk verslag komen volgende onderdelen:

- titel
- inleiding
- materiaal en methode
- resultaten
- discussie
- referentielijst



©Pixar