

Antibiotica

Een module Nieuwe Scheikunde voor 5 havo

Vanuit de context 'Antibiotica' geeft
deze module aandacht aan het thema
'Synthese'

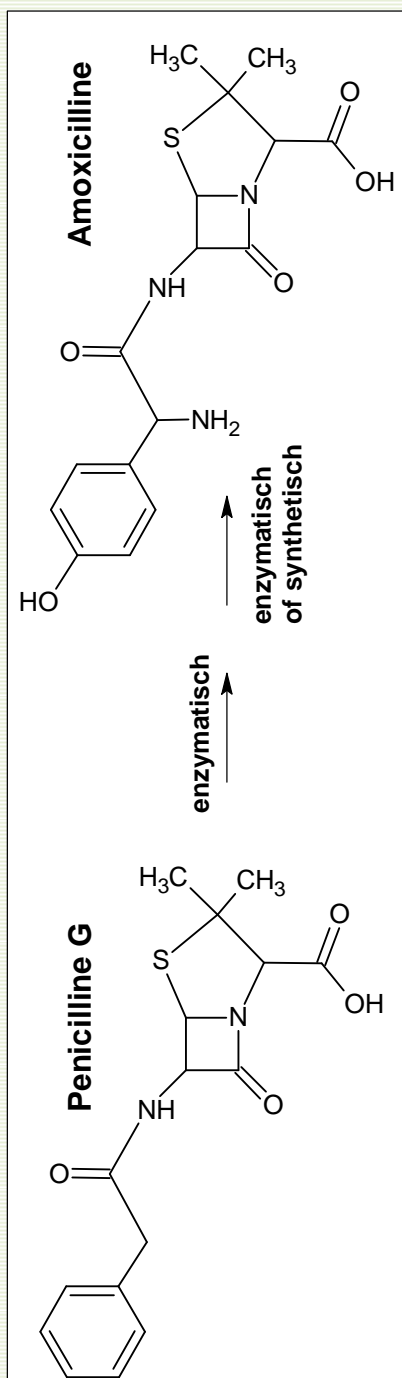
DOCENTENHANDLEIDING

Een samenwerkingsproject van de VNCI en de
stuurgroep Nieuwe Scheikunde

Contact: info@scheikundeinbedrijf.nl

Maureen Velzeboer-Breeman
Remko Schoot-Uiterkamp
Hans Vogelzang
Arne Mast (C3, coach)
Met dank aan:

Thom
van der Does (DSM Delft)
Chris Oostenbrink (VU Amsterdam)



Inhoudsopgave

Docentenhandleiding

Voorwoord	i
Korte beschrijving van de inhoud van de module	i
Schematisch overzicht van de module	ii
Kenniskaarten	iii
Beschrijving van de lessen	iii
Welke domeinen en concepten komen in de module 'Antibiotica' aan de orde?	vii
Benodigde voorkennis	ix
TOA-tips	xi
Antwoorden op de vragen	xv
Voorbeeldproefwerkopgaven	xvi

Leerlingenmateriaal

Voorwoord	1	
Voorkennis	2	
Inhoudsopgave	4	
Les 1	Introductie onderwerp	
	Introductie contextvragen	5
Les 2	Ontdekking antibiotica	8
Les 3	Werking antibiotica	12
Les 4	Peptidebindingen en penicilline	18
Les 5	Antibiotica en de industrie	23
Les 6	Enzymen: functie en werking	27
Les 7 t/m 9	Eigen onderzoek	32
Les 10	Terugblik	37
	Beantwoorden contextvragen	
	Vooruitblik: synthetische biologie	
Kenniskaarten		39

(de paginanummering hoort bij de leerlingentekst en is *alleen* correct als de antwoorden op de vragen *niet* worden afgedrukt)

Disclaimer:

De rechten van dit lesmateriaal (uiteraard niet van de gebruikte bronnen) berusten bij de VNCI te Den Haag. Het materiaal mag voor onderwijsdoeleinden vrij worden gebruikt. Voor andere doeleinden dient u contact op te nemen met Stichting C3 (info@c3.nl)

Uiteraard is de module met veel zorg tot stand gekomen. De VNCI aanvaardt echter geen aansprakelijkheid voor schade die eventueel ontstaan is bij het uitvoeren van deze module.

VNCI, Den Haag augustus 2009

Voorwoord

In het kader van het project VNCI & Nieuwe Scheikunde worden acht verschillende Nieuwe Scheikunde-modules ontwikkeld. Al deze modules geven aandacht aan processen die plaatsvinden in de chemische industrie en aan het werken in de chemie.

Voor 5 havo is gekozen voor de thema's 'Groene Chemie' en 'Synthese'.

De module 'Synthese' is geschreven vanuit de context 'Antibiotica'. Om de context zo realistisch mogelijk te maken is er intensief contact geweest met medewerkers van DSM Delft en de Vrije Universiteit. De module is in het schooljaar 2008/2009 getest. In augustus 2009 is de feedback van de scholen verwerkt.

De module krijgt een plek in de groene leerlijn (havo) van het Examenexperiment Nieuwe Scheikunde. De module kan het best gegeven worden in de periode september/november. De module "Groene chemie" kan goed voorafgaand aan de module "Antibiotica" gegeven worden.

We schatten in dat de module in 10 à 11 lessen uitgevoerd kan worden. De module bestaat uit leerlingenmateriaal en docentmateriaal. De testversie wordt digitaal opgeleverd en is eenvoudig op papier af te drukken. Op de website <http://www.scheikundeinbedrijf.nl> zijn alle moduleteksten en de daarin genoemde links terug te vinden. De module bevat verdiepingmateriaal en is daarmee ook geschikt voor 5 vwo.

Korte beschrijving van de inhoud van de module

Allereerst activeren we de voorkennis op het gebied van antibiotica en introduceren we de contextvragen:

Wordt het antibioticum van de toekomst gemaakt door de mens of door een micro-organisme?

En: hoe kunnen leerlingen uit 5 havo een bijdrage leveren aan de ontwikkeling van een antibioticum?

Vervolgens laten we leerlingen op een simpele manier bacteriën opkweken. Het effect van antibiotica op bacteriegroei komt aan de orde. In het verloop van de module zoomen we steeds verder in op de moleculaire achtergronden. We bespreken de moleculaire bouw van de bacteriecelwand. Op een vereenvoudigde manier laten we zien hoe penicilline aangrijpt op de bacteriecelwand.

Bacteriecelwanden zijn opgebouwd uit gemodificeerde koolhydraatketens die onderling verbonden zijn door kleine stukjes eiwit. Daarom wordt in de module ook beknopt aandacht gegeven aan koolhydraten. Aminozuren en eiwitten - en de daarbij horende peptidebinding - worden uitvoeriger besproken.

In ons lichaam vinden duizenden reacties plaats onder milde omstandigheden. De ene keer worden moleculaire bouwstenen onderling gekoppeld. Bijvoorbeeld bij de vorming van een eiwit. Een volgende keer worden grote moleculen in kleinere eenheden geknipt. Steeds zijn daarbij enzymen betrokken. Daarom besteden we in de module aandacht aan de functie en werking van enzymen.

In de industrie gaat men steeds vaker over op enzymatische omzettingen om moleculen om te zetten of om moleculen te knippen. Leerlingen voeren de laatste syntheses stap uit van de omzetting van penicilline G in amoxicilline. Het aardige hiervan is dat de tussenproducten (PAA en 6-APA) niet werken als antibioticum, maar amoxicilline wel.

We gaan in op de vraag waarom men in de industrie steeds vaker overstapt op enzymatische omzettingen. En we gaan in op de vraag hoe men in de industrie aan enzymen komt om *syntheses* te doen.

Hier komt het eigen onderzoek van de leerlingen in beeld. We ondernemen samen met de leerlingen een speurtocht naar nieuwe enzymen. We maken daarbij uiteraard gebruik van de natuurwetenschappelijke methode. Samen met medewerkers van DSM en de VU zijn we op zoek gegaan naar een aantal 'huis-tuin-en-keuken-enzymen'. Om een zo groot mogelijke kans op succes te hebben gaan we op zoek naar een 'fosfatase'. Fosfatases splitsen een fosfaat-groep van een organisch molecuul af. Voor deze omzetting bestaat een eenvoudige testreactie. De fosfatase kan bijvoorbeeld vrij gemakkelijk gevonden worden in fruit.

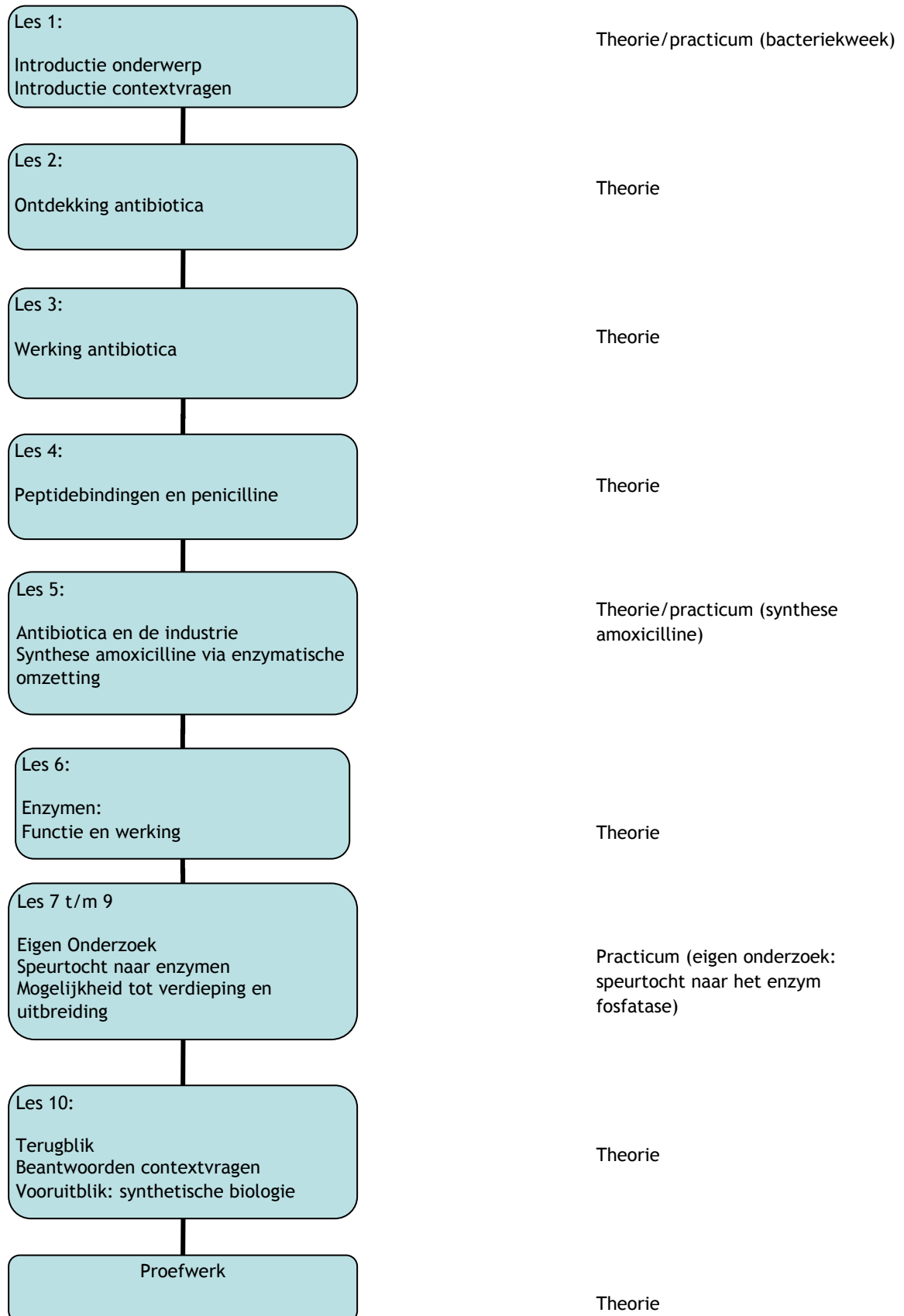
Dit is het spannendste gedeelte van de module! (Trouwens ook tijdens het ontwikkelen van de module).

In de afsluitende les kijken we terug op het onderzoek. Ook kijken we vooruit. We gaan daarbij in op één van de nieuwste ontwikkelingen binnen de natuurwetenschap: de 'synthetische biologie'.

Tot slot formuleren de leerlingen hun antwoord op de contextvragen.

Schematisch overzicht van de module

Soort les:



Kenniskaarten: wat zijn het?

De lastigste leerstofonderdelen zijn apart beschreven in zogenaamde kenniskaarten. Een leerling die de inhoud van de kenniskaarten leert moet in staat zijn om het proefwerk over de modulestof te maken. Kenniskaarten zijn dus bedoeld als ondersteuning van het modulemateriaal. Er zijn kenniskaarten beschikbaar over:

Kenniskaart	soort informatie	hoort bij les
1. Micro-organismen	voorkennis, leerstof	1 en 3
2. Antibiotica	leerstof	1 en 2
3. Penicilline	leerstof	2 en 3
4. Onderzoek, hoe doe je dat?	leerstof	2 en 7 t/m 9
5. Structuurformules	voorkennis, leerstof	4
6. Naamgeving organische chemie	voorkennis, leerstof	4
7. Eigenschappen van alkanolen, alkaanzuren, alkaanaminen en aminozuren.	leerstof	4
8. Condensatiereacties	leerstof	4
9. Enzymen	leerstof	3 en 6
10. Reactiesnelheid	leerstof	6
11. Responsible Care	informatie	1 t/m 6


Beschrijving van de lessen

Les 1: In deze les halen we de voorkennis op. Leerlingen moeten een mindmap ontwerpen.

- Een eenvoudige - maar zeer goede - introductie over antibiotica vinden de leerlingen in een programma van Klokhuis uit augustus 2006. Dit programma duurt 14'23'' en is in te korten door de 'toneelstukjes' die tussendoor worden gespeeld over te slaan.

<http://www.hetklokhuis.nl/kijk/klokhuisvsgids/content.cfm?datum=1155337200>

- Biobits: een video met een prima inleiding op antibiotica. Te bestellen via <http://www.schooltv.nl>. Of kijk even in de videotheek van uw biologiecollega.

Voor alle links geldt dat ze gecontroleerd zijn op 3 augustus 2009. Vragen waarbij Internet nodig is zijn voorzien van het volgende teken: 

De contextvragen komen aan de orde. Aan het eind van de module moeten leerlingen antwoord kunnen geven op: Wordt het antibioticum van de toekomst gemaakt door de mens of door een micro-organisme? En: Hoe kunnen leerlingen uit 5 havo een bijdrage leveren aan de ontwikkeling van een antibioticum? De leerlingen doen een practicum waarbij ze het effect van antibiotica op de groei van bacteriën onderzoeken. Aan het einde van les 2 bestuderen de leerlingen de resultaten van het practicum. Tips voor TOA's zijn apart beschreven in de paragraaf TOA-tips, zie blz xi.

Les 2: De ontdekking en ontwikkeling van antibiotica komen aan de orde. De Natuurwetenschappelijke methode wordt beknopt besproken. Ook gaan we voor het eerst in op de structuurformules van de belangrijkste antibiotica, namelijk penicilline G en daarvan afgeleid amoxicilline. Leerlingen beantwoorden vragen naar aanleiding van een aantal bronnen. Ze kunnen gebruik maken van de bronnen op <http://www.scheikundeinbedrijf.nl>. Het staat natuurlijk vrij om eigen bronnen te gebruiken. De volgende bronnen zijn zeer geschikt.

- Chemische Feitelijkheid editie 52 nr 234 maart 2007
- Natuur & Techniek, 1995, jaargang 63, afl. 6.
- Natuurwetenschap en Techniek nummer 2 (2007)
- Natuurwetenschap en Techniek nummer 9 (2003)

- Les 3:** De werking van antibiotica staat centraal. We zoomen steeds verder in. We starten met een schematisch overzicht van de bouw van een bacteriecelwand. Uiteindelijk komen we uit bij de moleculaire bouwstenen, zoals aminozuren. De werking van penicilline komt op een vereenvoudigde wijze aan de orde. Leerlingen zullen de theorie als pittig ervaren. Door de stapsgewijze aanpak denken we dat ze zich de theorie eigen kunnen maken. Wilt u precies weten hoe het zit kijk dan eens bij: <http://www.scq.ubc.ca/prescription-antibiotics-how-exactly-do-these-drugs-work/>
Bij deze les geven we een verdiepingmogelijkheid. Via Chris Oostenbrink van de VU hebben we de beschikking gekregen over fraaie plaatjes van de interactie tussen penicilline en een enzym dat een rol speelt in de opbouw van de bacteriecelwand. (dr. Chris Oostenbrink: <http://www.few.vu.nl/~oostnbrk/>).
In C₂W 21 nov 2008 staat een artikel over antibiotica gebruik bij varkens. We geven de leerlingen nog de suggestie om een bezoek te brengen aan <http://fold.it>. Op deze site staan games waarmee de gunstigste 3-dimensionale structuur van eiwitten benaderd kan worden. Elke gamer kan - na enige oefening - een bijdrage leveren aan serieus wetenschappelijk onderzoek. In de module werken we dit verder niet uit. Een artikel over fold-it staat in Natuurwetenschap en Techniek nummer 3 (2009)
- Les 4:** De vorming van eiwitten vanuit aminozuren wordt besproken.
Aminozuren, eiwitten en peptidebinding komen aan de orde. Ook gaan we in op de hydrolyse van eiwitten. Steeds weer komen we terug op de context. Hoe zit het met de eiwitbrug in de celwand van een bacterie? Hoe kan het dat penicillinemoleculen kapot gaan voordat ze hun werk gedaan hebben? Steeds geldt dat we de werkelijkheid zo nauwkeurig mogelijk volgen. Omdat de moleculaire werkelijkheid vaak toch nog weer complexer is hebben we vereenvoudigingen toegepast.
- Les 5:** Centraal staat de synthese van Amoxicilline zoals DSM die uitvoert. Ook is er aandacht voor het verschil tussen organische syntheses en enzymatische omzettingen. Leerlingen voeren zelf de laatste, enzymatische, stap uit van de omzetting van penicilline G naar Amoxicilline. Chemicaliën, zoals (6-APA en HPGM), zijn beschikbaar. Stuur - op tijd(!) - een mail naar: info@scheikundeinbedrijf.nl U ontvangt dan z.s.m. informatie over de manier waarop de beginstoffen te verkrijgen zijn. Let op: ook voor het onderzoek dat de leerlingen tijdens de lessen 7 t/m 9 doen zijn chemicaliën beschikbaar. Als er nog tijd over is dan kunnen de leerlingen de bacterieremmende werking van Amoxicilline, 6-APA en HPGM onderzoeken.
Een vraag die onze aandacht verder nog gehad heeft is waarom amoxicilline nu stabiel in de maag is dan penicilline. Het antwoord - van dr. Jeroen Codée van de Universiteit Leiden - is niet opgenomen in de leerlingentekst... Voor docenten is het wellicht wel interessant. Codée schreef:
“Wat betreft de zuurlabiliteit (want daar gaat het waarschijnlijk om als het om afbraak in de maag gaat), is Penicilline G labiel tov amoxicilline. Waarschijnlijk wordt het PenG (en andere penicilines) afgebroken door het openen van de labiele lactamring. Deze is labiel zoals je weet en misschien ook wel uitlegt omdat het een vierkant is. Verder is stabilisatie van de peptide band (het amide) moeilijk omdat resonantie in deze starre structuur moeilijker is (d.w.z. de resonantiestructuur waarbij het lactam N electronen doneert aan de lactam C=O). Het betreft dus een labiele peptide band, die onder zure condities geopend kan worden. Amoxicilline is waarschijnlijk stabiel omdat het nog een animogroep heeft in zijn structuur (in de tyrosine eenheid, de lactamringen zijn identiek natuurlijk). Dit interne amine is de meest basische functie in het molecuul en zal dus in zuur milieu het eerst geprotoneerd worden, met een positieve lading in het molecuul tot gevolg. Dit heeft dan weer een effect op de basekarakter van het molecuul, namelijk dat protonering (van de lactam N, wat moet leiden tot ringopening) moeilijker is, omdat het nou eenmaal moeilijker is om een molecuul te protoneren dat al positief geladen is. Amoxicilline heeft dus een "bufferende" amino groep.”
- Les 6:** De functie en werking van enzymen wordt uitgediept. Reactie-energie, activeringsenergie en het effect van een enzym komen aan de orde. In de module Scooter is al aandacht gegeven aan 'actief complex'. Daarop kan eventueel worden teruggegrepen. Er is aandacht voor de vraag hoe bedrijven aan enzymen komen. En hoe ze oplossingen testen op enzymactiviteit.
In deze les krijgen de leerlingen een aantal voorbeelden van enzymreacties, o.a. een peptidase, een protease en een fosfatase. Prachtig achtergrondmateriaal over enzymen is te vinden op: <http://www.vib.be/InfoEdu/NL/Educatief+materiaal/>. Op deze site staan uitstekend leesbare brochures, bijvoorbeeld: “Enzymen: in je lijf en in je leven.”

Les 7 t/m les 9: In deze lessenserie gaan leerlingen zelf op zoek naar een enzymbron met hopelijk(!) daarin een werkzame fosfatase. In verband met dit eigen onderzoek komen we terug op de Natuurwetenschappelijke methode, die in les 2 ook al aan de orde kwam. Leerlingen onderzoeken hun enzymbron met behulp van een testreactie. Ook hiervoor geldt dat de benodigde chemicaliën beschikbaar zijn. Stuur een mail naar: info@scheikundeinbedrijf.nl.

Leerlingen zullen zelf moeten plannen. En: de uitkomst is onzeker...

Bewust laten we de leerlingen op zoek gaan naar een fosfatase. Er is een goede kans dat leerlingen dit enzym aantreffen in fruit of in groente. De testreactie geeft een heel duidelijke kleurverandering van kleurloos naar geel. Het kleurloze p-nitrofenylfosfaat wordt omgezet in het gele p-nitrofenol.

Waar het enzym fosfatase in de cel voor gebruikt wordt is nog niet helemaal bekend, maar het speelt waarschijnlijk een rol bij het produceren van vrije fosfaatgroepen zodat de cel die makkelijk op kan nemen. Losse fosfaat-ionen zijn ook een belangrijke regelfactor in micro-organismen bij de productie van antibiotica. (zie: Journal of Bacteriology, August 2004, p. 5197-5201, Vol. 186, No. 16)

Het artikel dat als bron is gebruikt voor het experiment is te vinden op de site:

<http://www.jbc.org/cgi/reprint/167/1/57.pdf>

Een andere optie is om 'phosphatase' en 'citrus' in een zoekmachine in te voeren. De bovenstaande link was bij ons de eerste hit (JBC, 1946, Citrus Fruit Phosphatase, Bernard Axelrod).

De bronnen die in het artikel gebruikt worden zijn het vruchtvlees en (**verschillende lagen van**) de schil van grapefruits en sinaasappelen. Uit onze tests is gebleken dat met name de schil van een grapefruit een uitstekende bron van fosfatase is.

Andere opties die waarschijnlijk gevonden worden door leerlingen: garnaal (*Pandalus borealis*), kalfdarm (slachtafval dus bij voorkeur niet gebruiken) of lever. Andere citrusvruchten zoals limoen en citroen zouden ook goede bronnen kunnen zijn.

In de (positieve) test die wij hebben gebruikt hebben we de volgende monsters getest:

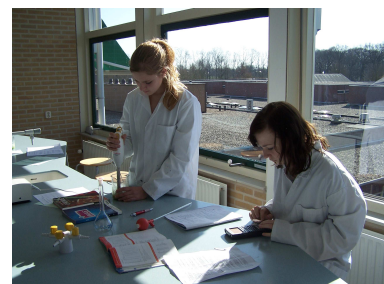
- Eén (roze) grapefruitschil + 100 mL acetaatbuffer in een blender en daarna de suspensie gefiltreerd.
- Eén (roze) grapefruitvrucht + 25 mL acetaatbuffer in een blender en daarna de suspensie gefiltreerd.
- Eén (hand)sinaasappelvrucht + 25 mL acetaatbuffer in een blender en daarna de suspensie gefiltreerd.
- Van elk monster werd ook een blanco gemengd (zoals hieronder) met buffer, maar dan zonder aanwezigheid van de testverbinding.
- Een algemene blanco van alleen de testverbinding + buffer.

Van de filtraten werd steeds 2 mL gemengd met 5 mL teststock. Na 15 minuten was er al een duidelijk meetbaar effect als 0,5 mL van het mengsel werd toegevoegd aan de 20 mL carbonaatbuffer. De meting gebeurde in een UV-spectrofotometer bij 440 nm. De resultaten waren als volgt:

Bron	Absorptie bij 440 nm			
	15 min	Blanco (15 min)	180 min	Blanco (180 min)
Grapefruitschil (GS / GS ₀)	0,08	0,05	0,13	0,04
Grapefruitvrucht (GV / GV ₀)	0,06	0,05	0,09	0,04
Sinaasappelvrucht (SV / SV ₀)	0,04	0,02	0,05	0,02
Blanco algemeen	0,00		0,00	

Wellicht wilt u met 5 havo niet werken met de UV-spectrofotometer. Dit in verband met de geringe beschikbaarheid van apparatuur of tijd. Dan volstaat een **kwalitatieve meting**. De verschillen tussen blanco's en de fruitsappen waren ook duidelijk met het blote oog waar te nemen.

In de testfase van de module is deze opdracht o.a. uitgevoerd tijdens een projectdag. Na een introductie over het doen van onderzoek en de wijze van verslaglegging hebben leerlingen tussen 9.30u en 14.00u hun onderzoek uitgevoerd en een verslag geschreven. Ze hadden zelf fruit en groenten meegenomen. Daarbij zaten o.a. kokosnoten (die nog fosfatase bleken te bevatten ook)! Op school waren nog extra groenten en fruit aanwezig. Leerlingen hadden zelf ook mixers bij zich. Dat was nodig omdat er 75 leerlingen tegelijkertijd het onderzoek uitvoerden. Op school waren te weinig blenders



voorhanden. Leerlingen vonden het onderzoek heel goed te doen en tegelijkertijd heel spannend omdat ze heel benieuwd waren of hun fruit/groente fosfatase bevatte. Over eigenaarschap gesproken! In 5 VWO diende deze 'onderzoeksprojectdag' meteen ook als start voor het profielwerkstuk.



Les 7 t/m les 9 verdieping:

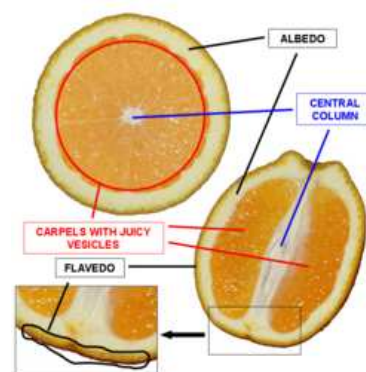
Door op regelmatige tijden monsters te nemen kan ook de snelheid van omzetting gemeten worden als maat voor de (kinetische) activiteit van het fosfatase.

Voor de enthousiaste leerling is het ook mogelijk om in verschillende delen van citrusvruchten naar een zo groot mogelijk fosfatase activiteit op zoek te gaan. In het artikel van Axelrod wordt gesproken over flavedo, albedo, sap en zaadjes. Het is nog best een uitdaging om uit die verschillende onderdelen van bijvoorbeeld een grapefruit 'sap' te produceren.

De flavedo (dus het buitenste randje van de schil) zou de meeste fosfataseactiviteit moeten geven.

Uitpersen in een kaasdoek met wat buffer kan een goede manier zijn om 'sap' uit een bron te persen. Een blender kan een andere optie zijn.

Bron plaatje: <http://en.wikipedia.org/?title=Endocarp#Endocarp>



Les 7 t/m les 9 verdieping vervolg:

5 vwo leerlingen zouden ook zelf aan de buffer-oplossingen kunnen rekenen:

Acetaatbuffer pH 5,0 / 0,033 M / 1L

$$K_z = [\text{Ac}^-][\text{H}_3\text{O}^+] / [\text{HAc}] = 1,8 \cdot 10^{-5} \rightarrow \text{pH } 5,0 \rightarrow [\text{Ac}^-] / [\text{HAc}] = 1,8$$

$\text{NaAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O} = 136,08 \text{ g/mol}$

Dichtheid ijsazijn = 1,0492 g/ml en molmassa: 60,05 g/mol

$1,8 \cdot 0,033 = 0,0594 \text{ mol NaAc} = 8,08 \text{ gram NaAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

$1,0 \cdot 0,033 = 0,033 \text{ mol HAC} = 1,98 \text{ gram} = 1,89 \text{ mL ijsazijn}$

Samen mengen en aanvullen tot 1L met demi-water

Carbonaatbuffer pH 10,0 / 0,17 M / 0,2 L

$$K_b = [\text{HCO}_3^-][\text{OH}^-] / [\text{CO}_3^{2-}] = 2,1 \cdot 10^{-4} \rightarrow \text{pH } 10,0 \rightarrow [\text{HCO}_3^-] / [\text{CO}_3^{2-}] = 2,1$$

$\text{NaHCO}_3 = 84,01 \text{ g/mol}$

$\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O} = 286,14 \text{ g/mol}$

$2,1 \cdot 0,17 \cdot 0,2 = 0,0714 \text{ mol NaHCO}_3 = 6,00 \text{ gram NaHCO}_3$

$1,0 \cdot 0,17 \cdot 0,2 = 0,034 \text{ mol Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O} = 9,73 \text{ gram NaHCO}_3$

Samen mengen en aanvullen tot 0,2 L met demi-water

Er kan ook voor gekozen worden om leerlingen zelf aan de p-nitrofenylfosfaat oplossing te laten rekenen:

$1,98 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ dinatrium paranitrofenylfosfaat in acetaatbuffer van pH 5,0

Molmassa = $\text{C}_6\text{H}_4\text{PNO}_6\text{Na}_2 = 263,052 \text{ g/mol}$

Oplossing van 0,729 g/L = 73 mg in 100 mL

Les 10: In laatste les komen de contextvragen terug.

Verder kijken we nog even vooruit. Welke ontwikkelingen zijn te verwachten? Daarbij stippen we één van de nieuwste ontwikkelingen aan: de synthetische biologie.

In het Chemisch2Weekblad (12 juli 2008) staat een fraai achtergrondartikel over synthetische biologie.

Welke domeinen en concepten komen in de module 'Antibiotica' aan de orde?

De verwijzingen (zoals A1.1) zijn afkomstig uit de Syllabus Examenprogramma Nieuwe Scheikunde (werkversie dec. 2007). In blauw steeds een korte toelichting vanuit het moduleschrijversteam.

A: Algemene vaardigheden

A1.1: Informatievaardigheden

de kandidaat kan doelgericht informatie zoeken, beoordelen, selecteren en verwerken. De leerlingen ontwikkelen deze vaardigheid tijdens deze module verder. Er is een inleidende 'instapopdracht' waarmee leerlingen voorkennis activeren. Ook krijgen de leerlingen een aantal inzichtvragen die de relevantie van het onderwerp duidelijk maken. Later in de module moeten leerlingen info zoeken, wegen, en beoordelen.

A1.4: Studie en beroep

De kandidaat kan toepassingen en effecten van vakkennis en vaardigheden in verschillende studie- en beroepssituaties herkennen en benoemen en een verband leggen tussen de praktijk van deze studies en beroepen en de eigen kennis, vaardigheden en belangstelling. Antibiotica wordt in opdracht van de VNCI ontwikkeld. Er is een interview opgenomen met een medewerker van DSM.

A2.1 Onderzoek

De kandidaat kan een vraagstelling in een geselecteerde context analyseren, gebruik makend van relevante begrippen en theorie, vertalen in een vakspecifiek onderzoek, dat onderzoek uitvoeren, en uit de onderzoeksresultaten conclusies trekken. Leerlingen gaan zelf op zoek naar enzymen in huis, tuin en keukenstoffen. Net zoals dat in de industrie gedaan wordt! Het gevonden enzym is dan hopelijk geschikt voor een (organische) omzetting. We doen voorstellen zodat leerlingen een zo groot mogelijke kans op succes hebben. (Bij het ontwikkelen kregen we hulp van DSM).

A2.3 Modelvorming

De kandidaat kan een realistische contextsituatie analyseren, inperken tot een hanteerbaar probleem, vertalen naar een model, modeluitkomsten genereren en interpreteren en het model toetsen en beoordelen. De leerlingen moeten keuzes maken. Welke stoffen onderzoek ik op de aanwezigheid van enzymen? Wat wordt mijn onderzoeksvraag? Wat is mijn hypothese? Hoe interpreteer ik mijn uitkomsten? Wat is de uitkomst van mijn onderzoeksvraag?

A2.5 Waarderen en oordelen

De kandidaat kan een beargumenteerd oordeel over een situatie in de natuur of een technische toepassing geven, en daarin onderscheid maken tussen wetenschappelijke argumenten en persoonlijke uitgangspunten. In de moduletekst komt één van de nieuwste onderzoeksvelden aan de orde: 'synthetische biologie'. Kort komt daarbij de volgende vraag aan de orde: "kunnen we het (leven) maken?" De huidige stand van de wetenschap komt beknopt aan de orde. Ook zal worden gewezen op de invloed van persoonlijke uitgangspunten.

A2.7 Kennisvorming

De kandidaat kan weergeven hoe natuurwetenschappelijke kennis ontstaat, welke vragen natuurwetenschappelijke onderzoekers kunnen stellen en hoe ze aan betrouwbare antwoorden komen. In dit verband geven we aandacht aan de ontdekking en ontwikkeling van antibiotica. We laten zien hoe de ontdekking en opschaling van antibiotica tot stand kwam. Een mooi voorbeeld van 'fortune favours the prepared mind' bij de eerste ontdekking door Fleming. Daar volgden toen grote inspanningen van wetenschap en industrie op om snel voldoende opschaling voor elkaar te krijgen. Bij de interpretatie van het eigen onderzoek proberen we de leerlingen te laten reflecteren op de betrouwbaarheid van hun eigen onderzoeksresultaten.

A3.1 Risicoinventarisatie en veilig werken

De kandidaat kan een risico inventarisatie opstellen, experimenten veilig uitvoeren met gebruik van stoffen, instrumenten en organismen en de risico-inventarisatie evalueren. In de module komen veiligheidsaspecten van het werken met micro-organismen, organische verbindingen en enzymen aan de orde.

B: Onderzoeksmethoden en -technieken

Subdomein B1 Stoffen aantonen

De leerling kan in eigen experimenteel onderzoek met behulp van reacties de aanwezigheid van bepaalde stoffen aantonen.

[Leerlingen maken bij hun eigen onderzoek gebruik van een testreactie om enzymactiviteit te meten.](#)

Subdomein B5 Data verzamelen en verwerken

De kandidaat kan voor eenvoudige probleemstellingen een werkplan opstellen en resultaten van bepalingen voor kwantitatief en kwantitatief onderzoek verwerken en interpreteren. [In de Antibiotica-module wordt naar de kwalitatieve kant van onderzoeksgegevens gekeken. Bij de onderzoekslessen wordt een verdiepingsvoorstel gedaan. Leerlingen worden uitgedaagd om een kwantitatief onderzoek te doen.](#)

C: Onderzoeksmethoden en -technieken

Subdomein C2 Microstructuren

De kandidaat kan de samenstelling van atomen, ionen en moleculen beschrijven en in moleculen van bepaalde stoffen kenmerkende aspecten herkennen.

[We bespreken en/of herhalen de karakteristieke groepen van carboxzuren, esters, aminen, aminozuren en eiwitten \(peptidebinding\).](#)

Subdomein C3 Relatie microstructuur en eigenschappen

De kandidaat kan in gegeven voorbeelden van microstructuren enkele structuurkenmerken herkennen en beredeneren welke eigenschappen daarmee samenhangen.

[Leerlingen moeten karakteristieke groepen herkennen in verschillende antibiotica, zoals penicilline. Maar ook in een bacteriecelwand. \(Deze contexten komen stap voor stap aan de orde...!\)](#)

Subdomein C4 Bindingen vormen en verbreken

De kandidaat kan in gegeven voorbeelden van reacties op microniveau aangeven welke bindingen worden gevormd en verbroken.

[Bijvoorbeeld bij de synthese en afbraak van eiwitten en esters.](#)

Subdomein C6 Reactiesnelheid en evenwichten

De kandidaat kan verklaren hoe de reactiesnelheid en de ligging van het evenwicht kunnen worden beïnvloed.

[De invloed van een enzym \(als katalysator\) komt aan de orde. De andere reactiesnelheidsfactoren \(temperatuur, concentratie, verdelingsgraad en soort stof\) komen in een kenniskaart aan de orde. Evenwichten komen niet aan de orde.](#)

D: Synthesen

Subdomein D1 Grootschalige productie van stoffen

De leerling kan het productieproces van enkele maatschappelijk of economisch relevante stoffen uit de eigen omgeving toelichten en daarbij moleculaire kennis toepassen.

[Het gaat in de module dan over de productie van penicillines.](#)

Subdomein D2 Stoffen scheiden en zuiveren

De kandidaat kan enkele veel voorkomende scheidings- en zuiveringstechnieken op laboratoriumschaal toepassen.

[Extraheren van enzymen uit bijvoorbeeld fruit en/of groente. En verder filtreren.](#)

Subdomein D3 Synthese volgens voorschrift

De leerling kan een eenvoudige synthese volgens voorschrift op laboratoriumschaal uitvoeren, passende scheidingstechnieken toepassen en voorstellen doen voor verbetering van het rendement.

[Leerlingen synthetiseren amoxicilline.](#)

E: Chemie van het leven

Subdomein E2 Preventie

De leerling kan zowel in eigen onderzoek als in toepassingen van de chemie het risico van stoffen en reacties voor de lucht-, en waterkwaliteit analyseren en daaruit afleiden welke maatregelen moeten worden getroffen bij het werken met deze stoffen.

Het zal dan vooral gaan om de risico's van micro-organismen. Aan de orde komen: mogelijk effect op (menselijk) leven. Zijdelings komen aan bod: effect op lucht- en waterkwaliteit.

Subdomein E3 Industriële productie van stoffen

De kandidaat kan moleculaire kennis over stofwisselingsreacties in levende organismen toepassen bij de industriële productie van stoffen voor maatschappelijke doeleinden. Ook hier richt de module de aandacht op het antibioticum penicilline.

Benodigde voorkennis

Hiervoor is gebruik gemaakt van de syllabus Nieuwe Scheikunde havo en vwo Werkversie specificatie Centraal Examen (december 2007).

Uit domein A: Vaardigheden:

De leerling:

1. heeft ervaring opgedaan met het zoeken van informatie en het beoordelen daarvan.
2. heeft ervaring opgedaan met het opstellen van een onderzoeksvraag
3. kent de veiligheidsregels die gelden bij practica en weet deze regels toe te passen
4. kan het symbool geven van de volgende elementen als de naam is gegeven en omgekeerd: waterstof, koolstof, stikstof, zuurstof, fluor, natrium, magnesium, aluminium, fosfor, zwavel, chloor, kalium, calcium, ijzer, nikkel, koper, zink, broom, zilver, jood, barium, platina, goud, lood.
5. kent de covalenties van H, C, N, O en S.
6. kan de volgende begrippen hanteren:
 - atoommassa
 - molecuulmassa
 - ionmassa
 - chemische hoeveelheid stof: eenheid mol
 - molaire massa
 - massapercentage in mengsels en verbindingen
 - concentratie
 - molariteit in mol L⁻¹
 - verdunningsfactor
 - pH en pOH
 - molverhouding bij reacties
 - massaverhouding bij reacties
 - overmaat
 - ondermaat.
7. kan een chemisch proces weergeven met een reactievergelijking met toestandsaanduidingen.

Uit domein B: Data verzamelen verwerken

De leerling kan:

8. voor eenvoudige probleemstellingen een werkplan opstellen.
9. met behulp van een oplosbaarheidstabel de aanwezigheid van bepaalde ionsoorten aantonen door middel van neerslagreacties.
10. uit gegevens over de kleuren van zuur-base indicatoren afbakenen tussen welke grenzen de pH van een oplossing ligt

Uit domein C: Structuren en reacties

De leerling kan:

11. aangeven hoe de lading van een deeltje samenhangt met de bouw van het desbetreffende deeltje:
 - protonen;
 - neutronen;
 - elektronen;
 - atomen;
 - ionen: enkelvoudig en samengesteld;
 - moleculen.
12. uit een structuurformule de molecuulformule afleiden.
13. aangeven wat wordt verstaan onder structuurisomeren.
14. in moleculen van koolstofverbindingen kenmerkende structuren herkennen:
 - vertakte en onvertakte koolstofketens;
 - enkele binding;
 - dubbele binding;
 - OH groep, alcoholen;
 - COOH groep, carbonzuren;
 - NH₂ groep;
15. van bepaalde koolstofverbindingen, waarvan de moleculen maximaal 6 koolstofatomen in de hoofdketen hebben, de structuurformule geven als de systematische naam volgens IUPAC gegeven is:

- alkanen;
 - alkenen;
 - halogeen-alkanen;
 - alkanolen;
 - alkaanzuren;
 - alkaanaminen;
 - methylgroep;
 - ethylgroep;
 - hydroxygroep;
 - aminogroep.
16. het type binding tussen de elementaire bouwstenen van een stof in verband brengen met de hoogte van kook- en smeltpunt:
- ionbinding;
 - vanderwaalsbinding of molecuulbinding;
 - waterstofbrug.
17. aangeven dat ionen en bepaalde moleculen watermoleculen kunnen binden en dat dit proces omkeerbaar is:
- waterstofbruggen;
18. uitleggen waarom bepaalde stoffen gezien hun microstructuur al dan niet mengen of oplossen:
- hydrofoob/hydrofiel.
19. aangeven welke soorten deeltjes kenmerkend zijn voor de volgende soorten oplossingen:
- zure oplossingen;
 - basische oplossingen.
20. aangeven welke van volgende bindingstypen aanwezig zijn bij metalen, zouten en moleculaire stoffen:
- metaalbinding;
 - ionbinding;
 - atoombinding of covalente binding: gemeenschappelijk elektronenpaar;
 - enkelvoudige en meervoudige bindingen;
 - polaire atoombinding: O-H en N-H;
 - dipoolmolecuul: H₂O en NH₃;
 - vanderwaalsbinding of molecuulbinding;
 - waterstofbrug: NH, OH.

Uit domein D: Synthesen

De leerling kan:

21. een aantal scheidings- en zuiveringsmethoden noemen en toelichten voor welk type mengsel de desbetreffende methode kan worden toegepast:
- extraheren/extractie;
 - adsorberen/adsorptie;
 - destilleren: de begrippen destillaat en residu;
 - filtreren: de begrippen filtraat en residu;
 - centrifugeren;
 - bezinken;
 - indampen;
 - chromatografie.
22. aangeven op welke principes de genoemde scheidings- en zuiveringsmethoden berusten.

Uit domein E: Chemie van het leven is geen voorkennis vereist.

Uit domein F: Materialen is geen voorkennis vereist.

Uit domein G: Duurzame ontwikkeling is geen voorkennis vereist.

Overzicht van relaties/mogelijkheden van de module Antibiotica

De module Antibiotica bestrijkt de lesstof van de volgende leerboeken. We hebben gebruik gemaakt van de inhoudsopgaven van de boeken of van de websites van onderstaande methoden.

In de module staan ook onderdelen die nieuw zijn: Bijv. een synthese en een onderdeel over Synthetische Biologie. Zie ook het overzicht dat gemaakt is door Frans Carelsen van het SLO.

Leerboek Pulsar-Chemie (havo bovenbouw)

Hoofdstuk 3.5
Hoofdstuk 6.2
Hoofdstuk 10.2; 10.4
Hoofdstuk 11.1; 11.2
Hoofdstuk 12.4

Leerboek Curie (havo informatieboek)

Hoofdstuk 2.5
Hoofdstuk 5.3
Hoofdstuk 7.1; 7.2; 7.3
Hoofdstuk 9.2; 9.3; 9.4a
Hoofdstuk 10.2
Hoofdstuk 12.3

Leerboek Pulsar-Chemie (5 vwo)

Hoofdstuk 3.6
Hoofdstuk 3.7
Hoofdstuk 6.3
Hoofdstuk 8.1
Hoofdstuk 10.1; 10.2
Hoofdstuk 12.1; 12.2a; 12.3; 12.4; 12.5
Hoofdstuk 14 (behalve 14.2)
Hoofdstuk 18.3
Hoofdstuk 18.4

Leerboek Curie (VWO informatieboek 1, 2a, 2b)

Hoofdstuk 2, 7
Hoofdstuk 9.3
Hoofdstuk 9.4
Hoofdstuk 9.5
Hoofdstuk 10.2
Hoofdstuk 12.3
Hoofdstuk 14.1
(Hoofdstuk 15.4)

Leerboek Chemie Overal (havo deel 1)

Hoofdstuk 2.5
Hoofdstuk 5.2; 5.3; 5.6

Leerboek Chemie Overal (havo deel 2)

Hoofdstuk 8.2; 8.3; 8.6
Hoofdstuk 9.4

Leerboek Chemie Overal (vwo deel 1)

Hoofdstuk 5.2; 5.3
Hoofdstuk 7.2; 7.3

Leerboek Chemie Overal (vwo deel 2+3)

Hoofdstuk 15.6

TOA-tips

In de module komen een aantal experimenten voor. De benodigdheden staan in dit onderdeel.

Les 1: opkweken van bacteriën

Doel van de proef: effect van antibiotica op bacteriegroei nagaan.

Benodigdheden:

- per tweetal drie petrischalen met gesteriliseerde Agar-Agar. Gebruik nutriënt-Agar d.w.z. met bouillon bereid
- viltstift
- öse; dat is een klein metalen oogje waarmee je makkelijk vloeistoffen op de voedingsbodem kunt aanbrengen.
- antibioticum-oplossing
- reageerbuizen
- verschillende soorten water: zwembadwater; sloot- of aquariumwater; kraanwater. Evt. regenwater.
- kleine, ronde filtreerpapierjes. Deze zijn makkelijk te maken met behulp van een perforator.

Veilig werken is bij deze proef belangrijk. Naast de normale regels als draag een labjas en lang haar in een staart moet er nadrukkelijk aandacht zijn voor besmetting door bacteriën. Besmetting moet voorkomen worden. Dus beslist niet eten en drinken. Goed handen wassen: vooraf en na afloop. Evt. labtafel ontsmetten met alcohol. Houd de petrischalen met bacteriën zoveel mogelijk gesloten. Er is een eenvoudig filmpje beschikbaar. Dat filmpje is op te vragen via info@scheikundeinbedrijf.nl. Het filmpje komt ook op de website. Check: <http://www.scheikundeinbedrijf.nl>.

Agar-Agar en een antibiotica-oplossing zijn meestal wel te krijgen via een biologie-collega. Wij haalden de antibiotica-oplossing bij een apotheek. Tijdens de test is gebruik gemaakt van een amoxicilline-oplossing. Voor de verdiepingsopdracht is het handig om een aantal bacteriedodende vloeistoffen klaar te zetten waaruit de leerlingen kunnen kiezen. Te denken valt aan: wasbenzine, een zoutzuuroplossing e.d. Goede bacteriebronnen: onderkant van schoenen; toetsenbord pc; toilet;

Les 5: omzetting van penicilline in amoxicilline

Doel van de proef: amoxicilline maken uit HPGM en 6-APA

Benodigdheden:

- Afsluitbare reageerbuis van ca. 50 mL
- 0,74 gram 6-APA
- 0,69 gram HPGM
- Demi water
- Enzymoplossing

Methode:

- **Zorg voor een blanco: iemand - liefst natuurlijk iedereen(!) - in de klas voert de proef twee keer uit. Eén keer mét enzymoplossing en één keer zonder.**
1. Weeg nauwkeurig 0,74 g 6-APA en 0,69 g HPGM af en breng ze samen in een de reageerbuis. (voor een lesuur van 50 minuten raden we aan om het afwegen een les van tevoren te doen). Dit zijn twee witte poeders. De massa's die afgewogen moeten worden zijn klein. Om die af te wegen is een vrij nauwkeurige weegschaal nodig, waar de meeste scholen er niet meer dan één bezitten. Het afwegen door een hele klas kost dan veel tijd. Het verdient dus de voorkeur om de stoffen een les eerder of centraal van tevoren af te wegen.
 2. Voeg 20 mL demi water toe en suspendeer de twee stoffen door ca. 1 minuut goed te schudden. Het geheel wordt troebel en wit. De losse stoffen 6-APA en HPGM lossen niet goed op in water en leveren een witte suspensie.
 3. Voeg nu 4 mL enzymoplossing toe. Dit brengt de reactie op gang.
 4. Houd je hand om de reageerbuis (om licht te verwarmen) en schud regelmatig tot je de oplossing helder ziet worden. Dit duurt 5-15 minuten. Je weet nu dat de reactie gaande is. Amoxicilline lost beter op dan de beginstoffen. Tijdens het verloop van de reactie reageert genoeg van de beginstoffen weg, zodat een oplossing ontstaat. Dit proces duurt even. De temperatuurverhoging door het omsluiten van de reageerbuis met de hand levert zeker 10 minuten tijdswinst. In de tussentijd kunnen de leerlingen naar een stukje theorie luisteren.

5. Blijf daarna verder schudden tot de inhoud van de reageerbuis melkachtig wit wordt. Dit duurt 10-20 minuten.
Tip: zodra de inhoud van je buis troebel is geworden kun je met een pipetje 1 mL van de inhoud bij klasgenoten in de buis spuiten. Daarmee versnel je de troebeling.
Als er genoeg amoxicilline is gevormd, ontstaat er weer een verzadigde oplossing en uiteindelijk een suspensie van amoxicilline. Dit proces duurt langer dan het oplossen (ook hier versnelt de verwarming met de hand het proces) en kan dus weer een moment zijn om tussendoor iets anders te bespreken of om wat opgaven te maken/bespreken. Het ontstaan van de troebeling is vrij plotseling en vrij dramatisch en zal dus weer voor afleiding zorgen. Het overbrengen van een beetje suspensie naar een buis die nog troebel moet worden versnelt de troebeling omdat de suspensie kristallisatiekernen levert.
6. De witte stof die nu is ontstaan is amoxicilline.
De omzetting is niet 100% maar voldoende voor het komende experiment.
Zowel de beginstoffen als de gesynthetiseerde amoxicilline zijn in principe veilig om door de kraan te spoelen. Het is niet de bedoeling dat de suspensie ingedampt wordt: in poedervorm kunnen de stoffen een schadelijke werking op de longen hebben.
Vanuit milieuoogpunt verdient het de aanbeveling om de inhoud van de synthesebuis in te zamelen en bij het organisch afval te voegen. Het gaat maar om relatief heel kleine hoeveelheden, maar het is ons inziens een slecht voorbeeld voor de leerlingen om antibiotica zomaar op het riool te lozen.

Experiment: Antibacteriële werking van je product

Doel(en) van de proef:

1. uitzoeken of je syntheseproduct (= amoxicilline) daadwerkelijk bacteriegroei kan remmen.
2. Eventueel: uitzoeken of 6-APA en HPGM bacteriegroei kunnen remmen.

Benodigdheden:

- De zelfgemaakte suspensie van amoxicilline uit de voorgaande proef
 - Per tweetal één (of drie) petrischalen met gesteriliseerde Agar-Agar
 - Viltstift
 - Yakult
- Dit is een mooie bron van melkzuur bacteriën (die kwetsbaar zijn voor amoxicilline).
- Kleine, ronde filtreerpapertjes (vergelijkbaar met de proef uit les 1)
 - (Suspensie van 6-APA in water)
De TOA maakt van tevoren een oplossing van 0,74 g 6-APA in 20 mL demiwater (eventueel meer voor een grote klas). Goed schudden voor gebruik.
 - (Suspensie van HPGM in water)
De TOA maakt van tevoren een oplossing van 0,69g 6-APA in 20 mL demiwater (eventueel meer voor een grote klas). Goed schudden voor gebruik.

Methode:

- Het verdient de aanbeveling om deze proef van tevoren uit te testen. Uit onze tests is gebleken dat Yakult uitstrijken op agar niet zoveel zin heeft. Wat beter werkt is om de agar na het steriliseren af te laten koelen en om, voordat het stolt, een scheut Yakult door de agar te mengen (het is ook mogelijk om na het stollen de agar weer op te smelten en dan de Yakult er doorheen te mengen).
Wat dit proces lastig maakt is de smalle temperatuursmarge voor toevoegen van de Yakult. De Yakult moet toegevoegd worden als de agar tussen de 48-50°C. Boven die temperatuur overleven de bacteriën niet, eronder stolt de agar.
- Voor het effect van de proef kan het aardig zijn om het synthese mengsel van de vorige proef 10x te verdunnen alvorens het op de plaat aan te brengen. Dit zorgt voor een mooi 'halo' effect. Als de onverdunde oplossing op de Yakult-agar wordt aangebracht, groeit er niets op.
Referentie monsters van 6-APA/HPGM en enzym+water geven veel minder remming van bacteriegroei. Een referentie zonder remming is natuurlijk ook een mooie controle.
- Schrijf met een viltstift de naam van jou en je partner onder op de petrischaal met agar-agar. En vermeld welke stof je erop gaat aanbrengen als je ook de proef met 6-APA en HPGM doet.
 - Zet de brander aan. Open de petrischaal naast de brander. Zorg dus dat de Agar-Agar niet boven de brander komt. De warme luchtstroom voorkomt besmetting vanuit de lucht.
 - Giet over iedere petrischaal met Agar-Agar een scheutje Yakult uit zodat er een heel dun laagje vloeistof over de Agar ligt. Zorg dat je niet teveel op de open plaat ademt en sluit de schaal tot je een gedrenkt filtreerpapertje erop kunt aanbrengen.
 - Drenk een filtreerpapertje in de amoxicilline suspensie en leg dit in het midden van een petrischaal met Yakult
 - (Doe hetzelfde voor 6-APA en HPGM)
 - Leg de petrischaal (petrischalen) in een stoof bij 37°C
 - **Bekijk het resultaat tijdens de volgende les.**

Les 7 t/m 9: de speurtocht naar enzymen

Het onderzoek vergt een heldere organisatie.

- Hoeveel tijd mogen de leerlingen aan het onderzoek besteden? Drie lessen? Of meer?
- Er is tijd te winnen door leerlingen informatiebron(nen) aan te reiken in plaats van leerlingen zelf te laten zoeken.
- Er is tijd te winnen door materialen - zoals bufferoplossingen - voor leerlingen klaar te zetten.

Het onderzoek valt uiteen in een aantal onderdelen:

- A. Het bepalen van een geschikte bron voor het enzym fosfatase.
- B. Het winnen van het enzym uit de gekozen bron
- C. Het uitvoeren van een testreactie om na te gaan of de bron het enzym fosfatase bevat
- D. (Eventueel: een verdiepingsonderzoek. Hoe snel werkt het enzym fosfatase?)

A. Bron bepalen

Het artikel dat is gebruikt voor het ontwerpen van het experiment is te vinden op de site:

<http://www.jbc.org/cgi/reprint/167/1/57.pdf>

Een andere optie is om 'phosphatase' en 'citrus' in een zoekmachine in te voeren. De bovenstaande link was bij ons de eerste hit (JBC, 1946, Citrus Fruit Phosphatase, Bernard Axelrod).

Bronnen die wij gevonden hebben zijn: vruchten als grapefruit, sinaasappel. Maar ook tarwe.

Bij het zoeken van een geschikte bron moet verder gedacht worden aan:

1. Beschikbaarheid van de bron
2. Prijs van de bron
3. Houdbaarheid van de bron
4. Kun je het enzym makkelijk uit de bron halen? En: Bevat de bron veel van het enzym?

B. Enzym uit de bron halen

Een goede blender in het lokaal is voorwaarde. Staafmixers voldoen natuurlijk ook.

Verder zijn de volgende aandachtspunten van belang:

1. Enzymen zijn kwetsbaar. Bewaar ze dus het liefst zo kort mogelijk. Elke dag dat je langer wacht gaat een deel van de activiteit verloren.
2. Enzymen kunnen slecht tegen temperatuur en een afwijkende zuurgraad. Bewaar het enzym dus gekoeld. Over de pH waarbij jullie de testreactie gaan uitvoeren lezen jullie verderop.
3. Enzymen werken normaal gesproken in de cel van een levend wezen. Dat betekent dus dat ze meestal in oplossing werken. Een 'sap' is dus meestal een goede bron van enzymen. Als er te weinig 'sap' in de bron aanwezig is dan kan verdund worden met gedestilleerd water.

C. De testreactie

Als alles goed gegaan is hebben dan beschikken de leerlingen nu over een gekoelde 'sap' met daarin hopelijk het enzym fosfatase. Een klein beetje van het sap gaat gebruikt worden voor de testreactie.

Tijdens de testreactie verwijdert het enzym fosfatase de fosfaatgroep van het kleurloze dinatrium-p-nitrofenylfosfaat. Daarbij ontstaat p-nitrofenol. Deze stof is geel. Als het enzym fosfatase aanwezig is dan is de kleurverandering heel duidelijk zichtbaar. Informatie over de beschikbaarheid van dinatrium-p-nitrofenylfosfaat is te verkrijgen via info@scheikundeinbedrijf.nl.

De testreactie wordt uitgevoerd bij 37 °C. Daarvoor is een warmwaterbad met die temperatuur nodig. Om tijd te winnen is het te overwegen om dit warmwaterbad klaar te zetten. Dat geldt ook voor de bufferoplossingen die nodig zijn. We raden dit ten eerste aan.

Materiaal voor de testreactie

stoffen

natriumacetaat trihydraat ($\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)	ca. 8,1 gram
ijsazijn (zuiver azijnzuur = CH_3COOH)	ca. 1,9 mL
demi-water	
dinatrium-p-nitrofenylfosfaat	ca. 73 mg
(te koop bij Sigma Aldrich: 45 euro voor 1 g, and voor 177.50 euro voor 5 g. De oplossing die gebruikt wordt is 1.0 g/l, en van die oplossing voor elke proef 5 ml. Dus voor 40 stockoplossingen is 0.2 g nodig.	
natriumcarbonaatdecahydraat ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)	ca. 9,7 gram
natriumwaterstofcarbonaat (NaHCO_3)	ca. 6 gram
pH indicatorpapier	

andere materialen (o.a. glaswerk)

waterbad (37°C)

maatkolf 1L, 100 mL en 200 mL

voldoende reageerbuisen en erlenmeyers/bekerglazen

pipet waarmee 0,5 tot 2,5 mL (of 5 mL) is af te meten

(Evt. UV-VIS spectrofotometer (filter 440 nm) + cuvetten)

Methode voor de testreactie

Denk aan de normale veiligheidsmaatregelen! Witte jas, bril enz.!

1. Zet het waterbad op 37°C en laat het op temperatuur komen. (Waarschijnlijk staat dit al klaar in het lokaal).
2. Maak een acetaat buffer van pH 5,0. Waarschijnlijk staat deze bufferoplossing voor jullie klaar. (een buffer is een oplossing waarvan de zuurgraad vrij constant blijft. Dit is belangrijk om het enzym actief te houden). Doe dit als volgt:
 - Weeg 8,1 g natriumacetaat trihydraat af
 - Breng dit over in een maatkolf van 1L
 - Meet 1,9 mL ijsazijn af en voeg dit toe aan de maatkolf. Doe dit samen met de TOA of docent. Ijsazijn is gevaarlijk.
 - Vul de maatkolf met demi-water aan tot 1L
 - Meet met een pH papiertje de zuurgraad. Deze zou pH 5 moeten zijn.
 - Dit is ruim voldoende voor het experiment. Je kunt dit ook met een ander groepje delen. Met meer verdund azijnzuur kun je ook een kleinere hoeveelheid buffer maken. Je hebt voor een normaal experiment ca. 125 mL buffer nodig.
3. Maak een carbonaat buffer van pH 10,0. Waarschijnlijk staat deze bufferoplossing al klaar. (bij hoge pH wordt het enzym uitgezet en krijgt p-nitrofenol zijn gele kleur)
 - Weeg 9,7 g natriumcarbonaat decahydraat (kristalsoda) af
 - Breng dit over in een maatkolf van 200 mL
 - Weeg 6 g natriumwaterstofcarbonaat (zuiveringszout) af en doe dit ook in de maatkolf
 - Vul de maatkolf met demi-water aan tot 200 mL
 - Meet met een pH papiertje de zuurgraad. Deze zou pH 10 moeten zijn.
 - Dit is genoeg buffer voor 10 metingen. Heb je meer nodig, dan zul je meer buffer moeten maken.
4. Maak een standaardoplossing van het dinatrium-p-nitrofenylfosfaat
 - Weeg op een nauwkeurige balans 73 mg dinatrium-p-nitrofenylfosfaat af
 - Breng dit over in een maatkolf van 100 mL
 - Vul de maatkolf aan tot 100 mL met demi-water
 - De oplossing zou kleurloos moeten zijn!
5. Maak een algemene blanco
 - Meng in een reageerbuis 5 mL standaardoplossing met 2 mL acetaatbuffer
6. Maak enzymoplossing(en)
 - Meng per bron in een reageerbuis 5 mL standaardopl. met 2 mL van je enzym 'sap'
7. Maak 'sap' blanco
 - Meng per bron in een reageerbuis 5 mL acetaatbuffer met 2 mL van je enzym 'sap'

Zorg dat je je reageerbuisen voorzien hebt van een sticker of dat je met viltstift duidelijk hebt aangegeven wat er in zit!

8. Zet de reageerbuisen in het waterbad van 37°C. Start de stopwatch.
9. Zet kleine erlenmeyers (of bekeerglaasjes) klaar met 20 mL carbonaatbuffer
10. Neem na 15 minuten per reageerbuis een monster van 0,5 mL en voeg dat toe aan een erlenmeyer met carbonaat. Als er fosfataseactiviteit is geweest dan is het monster geel geworden.
11. Vergelijk de 'sap' monsters met de blanco's.
12. (In overleg met je leraar: meet de absorptie van ieder monster in een UV-VIS spectrofotometer bij 440 nm. Gebruik de acetaatbuffer als referentie. Dit geeft een maat voor de geelkleuring en dus voor de enzymactiviteit.)
13. Vergelijken van resultaten.

D. Verdieping

- Voer de proef uit zoals hierboven beschreven maar zorg dat er meteen voldoende erlenmeyers met carbonaat-buffer klaar staan om snel metingen te kunnen verwerken. Zorg ook voor een stopwatch.
- Start de tijdmeting zodra de enzymoplossing toegevoegd is aan de standaardoplossing met p-nitrofenylfosfaat.
- Neem om de twee minuten een sample van 0,5 mL van het enzym/standaardoplossing mengsel en voeg die zo snel mogelijk toe aan een erlenmeyer met 20 mL carbonaatbuffer. Dit stopt de reactie.

De hoge pH van de carbonaat buffer inactiveert het enzym en zorgt dat p-nitrofenol goed geel wordt. De geteste oplossingen die gemaakt zijn met oa. grapefruitschil gaven na 15 minuten al een duidelijk meetbaar resultaat. Voor minder actieve oplossingen kan het beter zijn om de tijd tussen de samples langer te maken.

- Na 16 minuten zijn er 8 monsters genomen.
- Meet van elke erlenmeyer de absorptie in een UV-VIS meter met een filter van 440 nm. Noteer van alle monsters de absorptie. Breng hiervoor steeds 1 mL oplossing over naar een schone cuvet. Een filter in de buurt van 440 nm laat de grootste absorptie zien.
- Verwerk de gegevens in een grafiek en trek een vloeiende lijn door de punten.
- Het tweetal waarbij de toename van absorptie het snelste is (de meest steile lijn in de grafiek) heeft de meest actieve fosfatase oplossing te pakken.

Desgewenst kan van tevoren een ijklijn van p-nitrofenol in carbonaatbuffer gemaakt worden. Het verdient de voorkeur om dit door de TOA te laten doen omdat het maken van een ijklijn veel tijd kost. p-Nitrofenol is ook een irriterende stof (<http://www.cdc.gov/niosh/ipcsndut/ndut0066.html>). Het voordeel is wel dat een ijklijn in de jaren daarna gewoon opnieuw gebruikt kan worden. Zo kan werkelijk kwantitatief bepaald worden hoe snel de fosfatase oplossing werkt. Er zou desgewenst ook een uitstap naar de wet van Lambert-Beer gemaakt kunnen worden. Het 'meest actieve fosfatase' kan twee dingen betekenen: de oplossing bevat het snelste/meest effectieve fosfatase en/of de oplossing bevat de meest fosfatase.

Antwoorden op de vragen

In de leerlingentekst staat een hele serie vragen. De antwoorden op de vragen staan ook in de leerlingentekst. U kunt de leerlingentekst in dit document namelijk op twee manieren zichtbaar maken.

1. Met antwoorden.

U moet dan het icoontje ¶ aanzetten. U vindt dit teken in de werkbalk bovenaan in Word. Vlakbij het icoontje om iets *vet* of *cursief* te maken. Met het teken ¶ maakt u verborgen tekst zichtbaar.

2. Zonder antwoorden.

Zet het icoontje ¶ uit. De antwoorden zijn niet langer zichtbaar.


Als u de leerlingenteksten MET antwoorden wilt printen ga dan naar het menu 'afdrukken'. Kies 'opties' (links onderaan). Zet een vinkje bij 'inclusief: verborgen tekst'.

Wellicht ten overvloede. Wilt u de tekst zonder antwoorden printen zorg dan dat er geen vinkje staat bij: 'inclusief: verborgen tekst'.

Voorbeeldproefwerkopgaven

Hier vindt u een compleet proefwerk inclusief beoordelingsmodel. Ook hier geldt dat de antwoorden in de tekst verwerkt zijn. Met het icoontje ¶ zijn ze zichtbaar te maken.

Met dit proefwerk zijn 32 punten te verdienen.
Het maximum aantal punten is bij elke vraag vermeld.

1. In maar liefst 70% van alle infectiegevallen schrijven artsen het antibioticum Amoxicilline voor.
 - a. Noteer twee voordelen van dit antibioticum. (2p)
 - b. Een leerling is al geruime tijd verkouden. Hij vraagt de huisarts om een Amoxicillinekuur. Leg uit of de huisarts een Amoxicilline zal voorschrijven. (2p)
2. Een leerling besmet een Agar-Agar plaat met precies vier bacteriën. De plaat staat 24 uur in een stoof met een temperatuur van 37 °C. Een stoof is een klein oventje. Elke bacterie deelt zich precies elke drie uur.
 - a. Hoeveel bacteriën zijn er dan na 24 uur? (2p)
 - b. De leerling herhaalt het experiment. Alleen heeft de stoof nu een temperatuur van 47 °C. De leerling beweert dat hij dan in een kortere tijd dezelfde hoeveelheid bacteriën heeft. Bij een hogere temperatuur is de reactiesnelheid groter. De bacteriën delen dan sneller. In plaats van 24 uur zet hij de Agar-Agar plaat met bacteriën slechts 12 uur in de stoof. Tot zijn verbazing vindt hij helemaal geen bacteriën. Geef een verklaring. (2p)
3. De Natuurwetenschappelijke methode kwam aan de orde. In beknopt schema:
Waarneming → **Hypothese** → **Onderzoeksvraag** → **Experiment** → **Theorie**
(of probleem) 

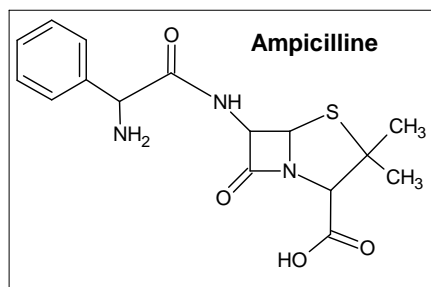
Lees onderstaande tekst over een natuurwetenschappelijk onderzoek. Neem de nummers die in de tekst staan over op je antwoordenblad. De nummers staan vóór het tekstfragment. Noteer bij elk nummer de juiste fase van de Natuurwetenschappelijke methode. (3p)

Bron: <http://www.betavak.nl/methode.htm>

“Charles Darwin en Hugo de Vries hielden zich bezig met het “gedrag” van planten. Wat zij zich afvroegen was: (1) Hoe kunnen ranken van klimplanten zich om een steun heen slingeren? De Vries dacht dat dat kwam (2) doordat de buitenkant van een klimrank harder groeit dan de binnenkant. Zo zou de rank vanzelf krom worden. Darwin testte dat door (3) inktstipjes op een klimrank te zetten en op gezette tijden de onderlinge afstand tussen de stipjes te meten. Zo bleek dat de (4) buitenkant en de binnenkant van een klimrank even hard groeiden. (5) Het idee van De Vries klopte dus niet. Na veel nadenken kwam deze op de volgende oplossing: (6) Wellicht is de celdruk van de plantencellen aan de buitenkant van de rank wel groter dan aan de binnenkant. Hij testte dat door (7) kromme klimranken in een zoutoplossing te leggen, waardoor cellen water afstaan. (8) De klimranken werden recht. Hieruit concludeerde De Vries dat (9) de beweging van klimranken bepaald wordt door drukverschillen tussen de cellen aan de binnen- en buitenkant van een klimrank.”

4. Ampicilline is antibioticum dat veel lijkt op penicilline en amoxicilline. Hiernaast staat de structuurformule.

- Geef de molecuulformule van ampicilline. (2p)
- Bereken de molecuulmassa van ampicilline. (1p)



5. Alle enzymen hebben een naam gekregen die eindigt op 'ase'. Een fosfatase is een enzym dat fosfaatgroepen van een molecuul kan afsplitsen. Een β -lactamase laat het 'vierkant' van een antibioticum zoals ampicilline reageren met water. Met vierkant wordt de β -lactamgroep bedoeld.
- Geef de reactievergelijking van ampicilline met water. Ga ervan uit dat het enzym β -lactamase alleen de β -lactamgroep laat reageren. Gebruik structuurformules. (4p)
 - Ampicilline kan redelijk goed oplossen in water. Geef daarvoor een verklaring. Omcirkel in de structuurformule die je bij de vorige opgave hebt getekend welke groepen dat zijn. (2p)
6. Aminozuren hebben een drieletterige afkorting. Ala betekent bijvoorbeeld alanine. Iemand heeft de beschikking over het tripeptide Gly-Glu-Gln.
- Wat zijn de namen van de gebruikte aminozuren? (1p)
 - Geef de reactievergelijking in structuurformules voor de vorming van: Gly-Glu-Gln. (3p)
7. Penicilline kan bacteriegroei remmen. Beschrijf de werking van penicilline. (3p)
8. Enzymen zijn belangrijk voor heel veel processen. In het menselijk lichaam maar ook in industriële processen. Welke eigenschappen van enzymen maken hen zo belangrijk? (2p)
9. Bedrijven zijn steeds bezig met het ontwikkelen van nieuwe enzymen die bijvoorbeeld te gebruiken zijn voor de productie van (nieuwe) antibiotica
- Hoe komt men momenteel aan nieuwe enzymen? Beschrijf twee manieren. (2p)
 - Welke verwachtingen zijn er voor de toekomst? Hoe denkt men dan nieuwe micro-organismen en nieuwe enzymen te maken? (1p)

Antibiotica

Een module Nieuwe Scheikunde voor 5 havo

Vanuit de context 'Antibiotica' geeft
deze module aandacht aan het thema
'Synthese'

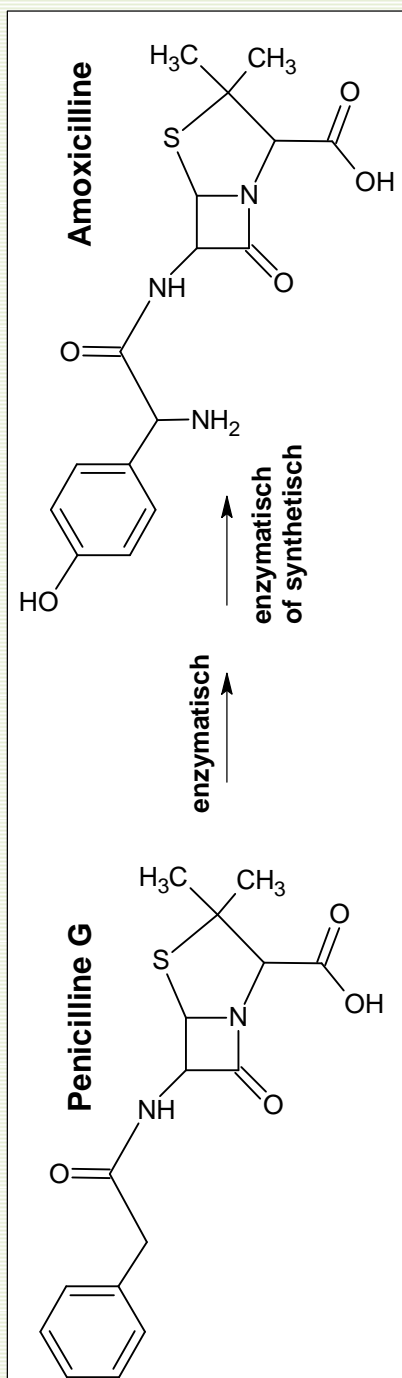
LEERLINGENMATERIAAL

Een samenwerkingsproject van de VNCl en de
stuurgroep Nieuwe Scheikunde

Contact: info@scheikundeinbedrijf.nl

Maureen Velzeboer-Breeman
Remko Schoot-Uiterkamp
Hans Vogelzang
Arne Mast (C3, coach)

Met dank aan Thom van der Does (DSM Delft)
Chris Oostenbrink (VU Amsterdam)



Voorwoord voor de leerlingen

Voorwoord voor de leerlingen

De module Antibiotica is geschreven voor de 5^e klas Havo.

Naast het lesmateriaal dat je nu in handen hebt bestaat er ook een website:

<http://www.scheikundeinbedrijf.nl>. Daar vind je de lesteksten en eventueel ook extra aanvullend materiaal.

De opbouw van de module is als volgt.

De lessen 1 en 2 vormen de inleiding op het moduleonderwerp. Ook krijg je informatie over de zogenaamde contextvragen. Deze vragen staat centraal tijdens het werken aan de module. Aan het eind van les 10 moet je in staat zijn om een antwoord op de contextvragen te geven.

In de lessen 3 t/m 6 verdiepen we ons in de moleculen die met Antibiotica te maken hebben.

Daarna ga je zelf onderzoek doen. Geen kookboekpractica maar echt nieuw onderzoek dat nog niet eerder is uitgevoerd. We denken dat je daar wel drie lessen aan moet besteden (les 7 t/m les 9).

In de laatste les 10 beantwoorden we niet alleen de contextvragen. We kijken ook terug op de module en we kijken vooruit. Op welke manier zal de wetenschap zich gaan ontwikkelen?

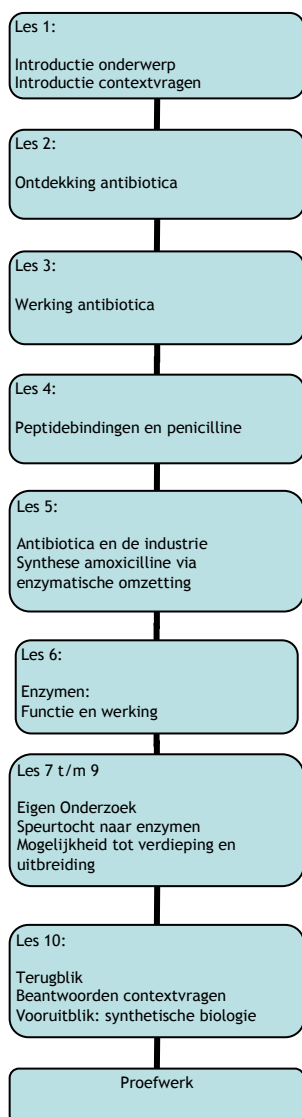
De schrijvers gaan ervan uit dat je een aantal onderwerpen uit voorgaande klassen onthouden hebt.

Voor het gemak hebben we een lijst gemaakt. Je vindt deze lijst op de volgende bladzijde en natuurlijk ook op de website. Neem deze lijst door. Wat je niet (meer) weet kun je opzoeken in voorgaande modules.

Of je vraagt je docent.

Sommige leerstofonderdelen zijn best pittig. Daarom hebben we kenniskaarten gemaakt. Deze kenniskaarten kun je gebruiken als extra hulp bij het maken van vragen en bij het voorbereiden van het proefwerk.

Schematisch ziet de opbouw van de module er als volgt uit:



Kenniskaart	soort informatie	hoort bij les
1. Micro-organismen	voorkennis, leerstof	1 en 3
2. Antibiotica	leerstof	1 en 2
3. Penicilline	leerstof	2 en 3
4. Onderzoek, hoe doe je dat?	leerstof	2 en 7 t/m 9
5. Structuurformules	voorkennis, leerstof	4
6. Naamgeving organische chemie	voorkennis, leerstof	4
7. Eigenschappen van alkanolen, alkaanzuren, alkaanaminen en aminozuren.	leerstof	4
8. Condensatiereacties	leerstof	4
9. Enzymen	leerstof	3 en 6
10. Reactiesnelheid	leerstof	6
11. Responsible Care	informatie	1 t/m 6

Benodigde voorkennis

Hiervoor is gebruik gemaakt van de syllabus Nieuwe Scheikunde havo en vwo Werkversie specificatie Centraal Examen (december 2007).

Uit domein A: Vaardigheden:

De leerling:

1. heeft ervaring opgedaan met het zoeken van informatie en het beoordelen daarvan.
2. heeft ervaring opgedaan met het opstellen van een onderzoeksvraag
3. kent de veiligheidsregels die gelden bij practica en weet deze regels toe te passen
4. kan het symbool geven van de volgende elementen als de naam is gegeven en omgekeerd: waterstof, koolstof, stikstof, zuurstof, fluor, natrium, magnesium, aluminium, fosfor, zwavel, chloor, kalium, calcium, ijzer, nikkel, koper, zink, broom, zilver, jood, barium, platina, goud, lood.
5. kent de covalenties van H, C, N, O en S.
6. kan de volgende begrippen hanteren:
 - atoommassa
 - molecuulmassa
 - ionmassa
 - chemische hoeveelheid stof: eenheid mol
 - molaire massa
 - massapercentage in mengsels en verbindingen
 - concentratie
 - molariteit in mol L⁻¹
 - verdunningsfactor
 - pH en pOH
 - molverhouding bij reacties
 - massaverhouding bij reacties
 - overmaat
 - ondermaat.
7. kan een chemisch proces weergeven met een reactievergelijking met toestandsaanduidingen.

Uit domein B: Data verzamelen verwerken

De leerling kan:

8. voor eenvoudige probleemstellingen een werkplan opstellen.
9. met behulp van een oplosbaarheidstabel de aanwezigheid van bepaalde ionsoorten aantonen door middel van neerslagreacties.
10. uit gegevens over de kleuren van zuur-base indicatoren afbakenen tussen welke grenzen de pH van een oplossing ligt

Uit domein C: Structuren en reacties

De leerling kan:

11. aangeven hoe de lading van een deeltje samenhangt met de bouw van het desbetreffende deeltje:
 - protonen;
 - neutronen;
 - elektronen;
 - atomen;
 - ionen: enkelvoudig en samengesteld;
 - moleculen.
12. uit een structuurformule de molecuulformule afleiden.
13. aangeven wat wordt verstaan onder structuurisomeren.
14. in moleculen van koolstofverbindingen kenmerkende structuren herkennen:
 - vertakte en onvertakte koolstofketens;
 - enkele binding;
 - dubbele binding;
 - OH groep, alcoholen;
 - COOH groep, carbonzuren;
 - NH₂ groep;
15. van bepaalde koolstofverbindingen, waarvan de moleculen maximaal 6 koolstofatomen in de hoofdketen hebben, de structuurformule geven als de systematische naam volgens IUPAC gegeven is:
 - alkanen;
 - alkenen;
 - halogeen-alkanen;
 - alkanolen;
 - alkaanzuren;
 - alkaanaminen;
 - methylgroep;
 - ethylgroep;
 - hydroxygroep;
 - aminogroep.

16. het type binding tussen de elementaire bouwstenen van een stof in verband brengen met de hoogte van kook- en smeltpunt:
 - ionbinding;
 - vanderwaalsbinding of molecuulbinding;
 - waterstofbrug.
17. aangeven dat ionen en bepaalde moleculen watermoleculen kunnen binden en dat dit proces omkeerbaar is:
 - waterstofbruggen;
18. uitleggen waarom bepaalde stoffen gezien hun microstructuur al dan niet mengen of oplossen:
 - hydrofoob/hydrofiel.
19. aangeven welke soorten deeltjes kenmerkend zijn voor de volgende soorten oplossingen:
 - zure oplossingen;
 - basische oplossingen.

20. aangeven welke van volgende bindingstypen aanwezig zijn bij metalen, zouten en moleculaire stoffen:
 - metaalbinding;
 - ionbinding;
 - atoombinding of covalente binding: gemeenschappelijk elektronenpaar;
 - enkelvoudige en meervoudige bindingen;
 - polaire atoombinding: O-H en N-H;
 - dipoolmolecuul: H₂O en NH₃;
 - vanderwaalsbinding of molecuulbinding;
 - waterstofbrug: NH, OH.

Uit domein D: Synthesen

De leerling kan:

21. een aantal scheidings- en zuiveringsmethoden noemen en toelichten voor welk type mengsel de desbetreffende methode kan worden toegepast:
 - extraheren/extractie;
 - adsorberen/adsorptie;
 - destilleren: de begrippen destillaat en residu;
 - filtreren: de begrippen filtraat en residu;
 - centrifugeren;
 - bezinken;
 - indampen;
 - chromatografie.
22. aangeven op welke principes de genoemde scheidings- en zuiveringsmethoden berusten.

Uit domein E: Chemie van het leven is geen voorkennis vereist.

Uit domein F: Materialen is geen voorkennis vereist.

Uit domein G: Duurzame ontwikkeling is geen voorkennis vereist.

Inhoudsopgave

Inhoudsopgave

Voorwoord		1
Voorkennis		2
Inhoudsopgave		4
Les 1	Introductie onderwerp Introductie contextvragen	5
Les 2	Ontdekking antibiotica	8
Les 3	Werking antibiotica	12
Les 4	Peptidebindingen en penicilline	18
Les 5	Antibiotica en de industrie	23
Les 6	Enzymen: functie en werking	27
Les 7 t/m 9	Eigen onderzoek	32
Les 10	Terugblik Beantwoorden contextvragen Vooruitblik: synthetische biologie	37
Kenniskaarten		39

(de paginanummering hoort bij de leerlingentekst en is *alleen* correct als de antwoorden op de vragen *niet* worden afgedrukt)

Inleiding

Een antibioticakuur bij een longontsteking.

Genetisch aangepaste planten die zelf een schimmelwerend antibioticum afscheiden.

Bacteriën die resistentie ontwikkelen voor bepaalde antibiotica-soorten.

Iedereen weet wel wat van antibiotica.

Maar hoe werkt een antibioticum nu eigenlijk? Kun je zelf een antibioticum maken? Wat is het gevaar als bacteriën resistent worden voor bepaalde antibiotica? Bestaan er verschillende antibiotica? Hoe maak je een antibioticum? Welke bedrijven produceren in Nederland antibiotica? Hoe ziet de ruimtelijke structuur van het bekendste antibioticum, penicilline, eruit?

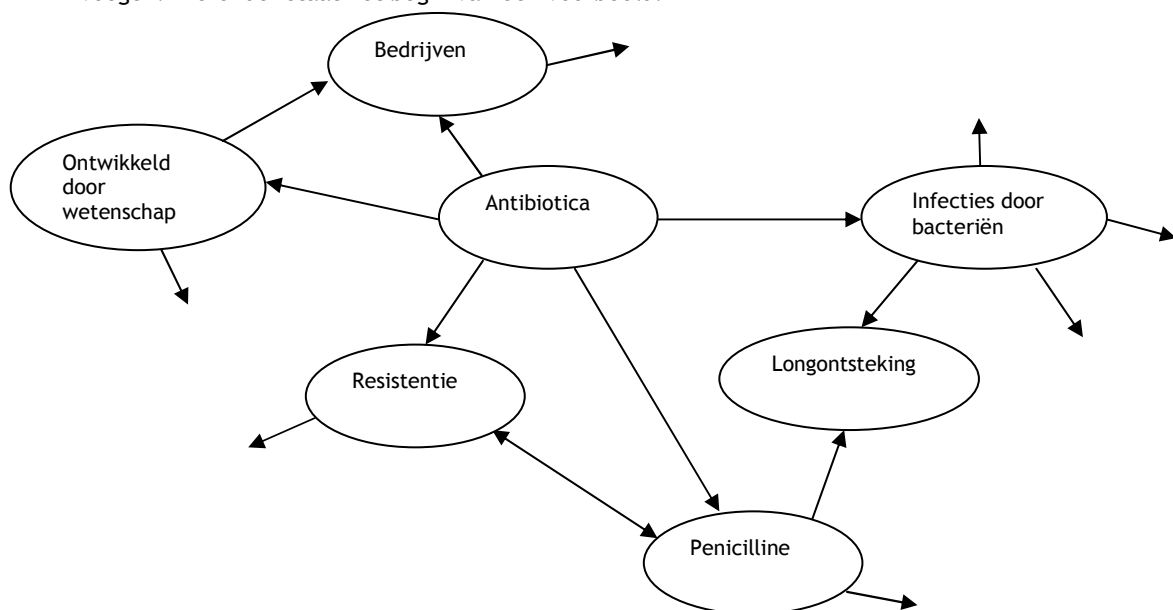
In deze module ga je op zoek naar de antwoorden. Je bestudeert informatie. Je doet proefjes met bacteriën. Je leert hoe penicillinemoleculen ervoor zorgen dat bacteriën doodgaan. Je maakt zelf een antibioticum. Je doet ook onderzoek dat nog niet eerder gedaan is!

Je kunt uiteindelijk de volgende vragen beantwoorden:

**Wordt het antibioticum van de toekomst gemaakt door de mens of door een micro-organisme?
en:
Hoe kunnen leerlingen uit 5 havo een bijdrage leveren aan de ontwikkeling van een antibioticum?**

Opdracht

1. Maak een begrippenweb waarin je zoveel mogelijk begrippen opneemt die volgens jou met antibiotica te maken hebben. Zet je begrippenweb ruim op. Je hebt dan nog ruimte om later informatie toe te voegen. Hieronder staat het begin van een voorbeeld.



☞ Als je merkt dat je nauwelijks een uitbreiding bij het begrippenweb kunt geven bekijk dan dit eenvoudige maar zeer duidelijke filmpje via Internet:

<http://www.hetklokhuis.nl/kijk/klokhuisvsgids/content.cfm?datum=1155337200>.

2. Vergelijk je eigen begrippenweb met het begrippenweb van een klasgenoot en vul je eigen begrippenweb aan.
3. ☞ Antibiotica hebben grote voordelen. Er zijn ook nadelen. Maak twee kolommen. In de eerste kolom noteer je voordelen van antibiotica. In de tweede kolom noteer je nadelen. Maak eventueel gebruik van de volgende bronnen:
 - a. http://www.microbiologie.info/de_werking_van_antibiotica.htm
 - b. http://www.nos.nl/nosjournaal/artikelen/2006/4/30/300406_bacterien.html
 - c. [http://zembla.vara.nl/Dossier-Gezondheidszorg.1967.0.html?tx_ttnews\[backPid\]=1966&tx_ttnews\[tt_news\]=795&cHash=f95533ed](http://zembla.vara.nl/Dossier-Gezondheidszorg.1967.0.html?tx_ttnews[backPid]=1966&tx_ttnews[tt_news]=795&cHash=f95533ed)

Effect antibiotica op bacteriegroei

Overall om ons heen zijn bacteriën. Veel van hen zijn nuttig voor ons. Zo zijn er bacteriestammen die melk omzetten in yoghurt of kwark. Dat doen ze door suikers om te zetten in melkzuur. Ditzelfde melkzuur kan ook gebruikt worden om biologisch afbreekbare plastics te maken, zoals polymelkzuur.

Veel bacteriën zijn voor ons zelfs van levensbelang. Ze regelen voor een belangrijk deel onze spijsvertering. Een gemiddeld menselijk lichaam bevat maar liefst 1 kg bacteriën! (Bron:

<http://www.nieuwsbank.nl/inp/2004/09/23/F156.htm>)

Maar bacteriën kunnen ook heel schadelijk zijn. In je mond zorgen melkzuurbacteriën voor tandbederf. Bacteriën kunnen ook hele vervelende ziektes veroorzaken zoals lepra, tuberculose en longontsteking. Ze zijn de belangrijkste oorzaak van wondinfecties. Daarom is het belangrijk dat we ze kunnen bestrijden.

Een antibioticum is een stof die bacteriegroei remt. In het volgende practicum breng je bacteriën aan op een geschikte voedingsbodem van Agar-Agar. De bacteriën groeien op de voedingsbodem en gaan zichzelf vermenigvuldigen. Sommige bacteriën komen in contact met de stof antibioticum. Andere bacteriën niet. Jij onderzoekt de invloed van het antibioticum.

Practicum effect antibiotica op bacteriegroei

Benodigdheden:

- petrischalen met gesteriliseerde Agar-Agar.
- viltstift
- öse; dat is een klein metalen oogje waarmee je makkelijk vloeistoffen op de voedingsbodem kunt aanbrengen.
- antibiotica-oplossing
- verschillende soorten water: zwembadwater; slootwater; kraanwater.

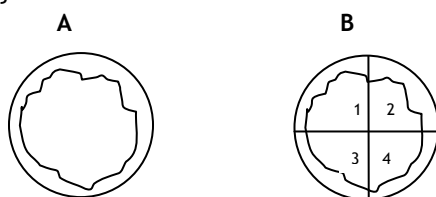
Werkwijze

Let op: er bestaan nuttige bacteriën en schadelijke bacteriën. Veilig werken is dus heel belangrijk. Zorg ervoor dat je jezelf niet besmet. Eten en drinken zijn bij dit practicum beslist niet toegestaan.

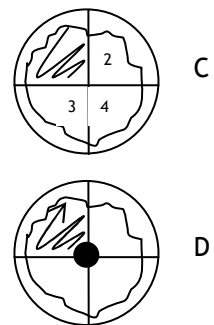
Op <http://www.scheikundeinbedrijf.nl> staat een klein filmpje (2 minuten) met voorbeelden over hoe besmettingen kunnen ontstaan.

In gesteriliseerde petrischalen is een voedingsbodem van Agar-Agar aanwezig (zie plaatje A).

- Zet met een viltstift aan de onderkant(!) van de petrischaal een kruis. Er ontstaan nu vier vakjes die je nummert van 1 t/m 4 (plaatje B). Zet vervolgens een kruis op de tweede petrischaal en nummer de vakjes daar van 5 t/m 8.



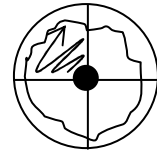
- Zet de brander aan. Open de petrischaal naast de brander. Zorg dus dat de Agar-Agar plaat niet boven de brander komt. De warme luchtstroom voorkomt besmetting vanuit de lucht.
- Gloei een öse uit. Met de öse breng je in vakje 1 slootwater aan; in vakje 2 zwembadwater; in vakje 3 kraanwater en in vakje 4 een vloeistof naar keuze. Denk eraan dat je iedere keer de öse steriliseert voordat een volgende vloeistof wordt aangebracht. Werk steeds vanuit centrum van de plaat naar de buitenrand (zie plaatje C).
- Maak de tweede petrischaal - met de nummers 5 t/m 8 - op dezelfde wijze klaar. Leg daarna in het midden een klein, rond filtreerpapierje neer dat gedrenkt was in een antibioticaoplossing (D). Zet de petrischalen gedurende 24 uur weg in een stoof met een temperatuur van 37 °C.



Bekijk het resultaat tijdens de volgende les. Dan maak je ook de vragen over de uitkomsten van het experiment.

Verdieping

- Bereid een derde petrischaal op dezelfde wijze, maar leg nu in het midden een klein filtreerpapier neer (net als D). Het kleine ronde filtreerpapier is deze keer gedrenkt in een vloeistof naar keuze. Kies een vloeistof waarvan je vermoedt dat die remmend werkt op de bacteriegroei.
Maak een keuze uit de vloeistoffen die bij jullie op school beschikbaar zijn.
Overleg met de docent of de TOA.



Vragen

4. Wat verwacht je te zien in de acht (of twaalf) verschillende vakjes? Waarom? Maak een schets van het resultaat dat je verwacht.
5. Waarom werk je met de öse van binnen naar buiten?
6. Waarom werk je bij bacteriegroei-experimenten vaak bij een temperatuur van 37 °C?
7. Een Agar-Agar plaat wordt besmet met precies één bacterie. De bacterie deelt zich precies elke twee uur.
 - a. Hoeveel bacteriën zijn er dan na 24 uur?
 - b. Geef ook een wiskundige uitdrukking. Noem het aantal begin bacteriën b , de tijd in uren t ; de verdubbelingstijd d , de groeifactor g en het uiteindelijke aantal bacteriën a .
8. Welk antibioticum hebben jullie gebruikt?

Vraag 9 en 10 maak je alleen als je ook het verdieping practicum gedaan hebt.

9. Werken de stoffen die jij en de klasgenoten hebben gebruikt als antibioticum? Zo ja, welke werkt als beste?
10. Worden deze stoffen ook door ziekenhuizen gebruikt? Waarom wel of waarom juist niet?

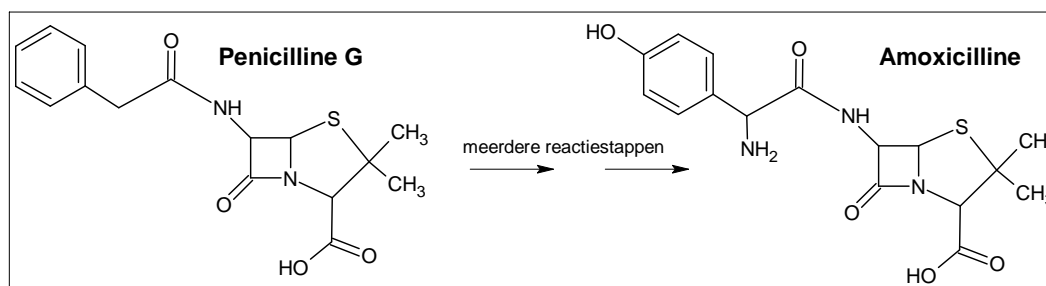
Hoe komen we tegenwoordig aan antibiotica?

Grote farmaceutische bedrijven produceren antibiotica. Ze gebruiken daarvoor vaak micro-organismen. Voorbeelden van micro-organismen zijn gisten, schimmels en bacteriën.

De micro-organismen groeien op een voedingsbodem. Ze zetten voedingsstoffen om in één of meer nieuwe stoffen die voor hen nuttig zijn. Zo'n nieuwe stof kan een antibioticum zijn. Micro-organismen maken antibiotica om zichzelf te verdedigen. Andere micro-organismen die hen aanvallen of met hen concurreren zijn vaak niet bestand tegen de antibiotica. Ze gaan dood.

Niet alle antibiotica zijn bruikbaar in de mens. Sommige zijn te giftig. Het lichaam breekt andere antibiotica weer te snel af. Wetenschappers proberen antibiotica zo veilig en effectief mogelijk te maken.

Een voorbeeld is de omzetting van penicilline G in amoxicilline. Penicilline G is één van de eerste en meest bekende antibiotica. Amoxicilline is het meest voorgeschreven antibioticum ter wereld.



Vragen

- Bekijk de structuren van penicilline G en amoxicilline. Omcirkel de verschillen.
- In de structuur van penicilline G zijn lang niet alle koolstof- en waterstofatomen getekend.
 - Teken de volledige structuurformule van penicilline G. Als je dit vraagstuk niet kunt maken bestudeer dan eerst de kenniskaart: Structuurformules.
 - Bepaal de molecuulformule en bereken vervolgens de molecuulformule van penicilline G.

Artsen schrijven penicilline G voor bij hersenvliesontsteking, longontsteking en andere bacteriële infecties. Patiënten krijgen het medicijn meestal via een infuus. Soms injecteert de arts het medicijn in een grote spier zoals de heupspier. Inname van de mond kan niet omdat penicilline G in de maag wordt afgebroken door maagsap.

Amoxicilline heeft vrijwel dezelfde werking als penicilline G. Grote verschil met penicilline G is dat het wel via de mond ingenomen kan worden. Bijvoorbeeld in de vorm van een tablet of een drankje.

Amoxicilline is het meest voorgeschreven antibioticum ter wereld.

De omzetting van penicilline G in amoxicilline noem je een **organisch chemische synthese**. Scheikundigen laten penicilline G reageren met andere stoffen. Na een aantal reacties ontstaat dan uiteindelijk amoxicilline. Als je penicilline G met andere geschikte stoffen laat reageren dan ontstaat een ander antibioticum.

Medewerkers van onderzoeksafdelingen van grote bedrijven en wetenschappers van universiteiten ontwerpen deze reacties. Eerst voeren ze dit soort reacties uit in het klein, met een paar gram stof. Later testen ze deze reacties op grotere schaal. Veel medewerkers hebben een HLO-opleiding gevolgd. Anderen hebben een scheikundige studie gedaan aan een universiteit. Later in deze module gaan jullie zelf een organisch chemische synthese doen!

Op <http://www.scheikundeinbedrijf.nl> komt een filmpje te staan met een interview met een DSM-medewerker. Zo krijg je een duidelijk beeld van de werkzaamheden in een laboratorium.

Ontdekking

Ruim 130 jaar geleden, in 1877, toonde Louis Pasteur aan dat een micro-organisme door een ander micro-organisme gedood kan worden. Hij voegde wat bacteriën toe aan urine waarin wat miltvuurbacteriën zaten. De miltvuurbacteriën groeiden niet verder. Miltvuur of antrax veroorzaakt een ernstige vorm van longontsteking die vaak dodelijk is.

In 1928 - meer dan 80 jaar geleden - vond Alexander Fleming dat een schimmel uit de *Penicillium* familie in staat was om bacteriegroei te stoppen. De bacteriekolonies van de *Penicillium* familie hebben de vorm van penselen. Vandaar de naam. Fleming bedacht een hypothese, een mogelijke verklaring. Die hypothese onderzocht hij door proeven te doen.

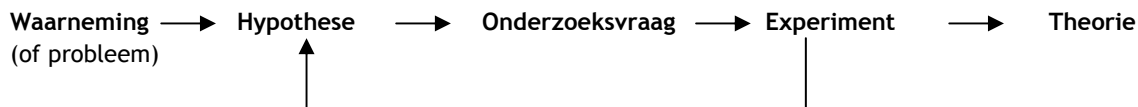
Zijn hypothese luidde: de schimmel produceert een stofje, een antibioticum. Het antibioticum zorgt ervoor dat de bacterie niet verder groeit. Antibioticum betekent "tegen het leven" (van bacteriën). Fleming deed proeven met het antibioticum. Hij keek door een microscoop en zag dat de bacteriegroei afnam. De vorming van nieuwe bacteriecelwanden begon wel maar stopte al snel. De celwanden waren lek. De celinhoud liep uit de bacterie. De bacterie stopte met groeien. De hypothese was bruikbaar! Fleming kon een nieuwe theorie opstellen. Het leeglopen van de bacterie noemde hij lysisen. Dat betekent kapotgaan of ontleden.

Die nieuwe theorie zou hij als volgt hebben kunnen opschrijven:

De onderzochte schimmel produceert een bacteriegroeiremmend stofje, een antibioticum. In aanwezigheid van dit stofje groeien bacteriën niet verder. De bacteriën lysisen, ontleden.

Een experiment bevestigt lang niet altijd de hypothese. Je zult dan een nieuwe hypothese moeten opstellen! Pas als de proeven de hypothese bevestigen kan een nieuwe theorie opgesteld worden.

In schema:



Vragen

13. Fleming introduceerde het begrip *lysis*, ontleding. In de scheikunde komen we vaker ontledingen tegen. Bijvoorbeeld *fotolyse*, een ontleding van een stof onder invloed van licht.
 - a. Noem tenminste 2 andere vormen van ontleding zoals we die in de scheikunde gebruiken.
 - b. Wat bedoelde Fleming met 'ontleden'?
 - c. Wat bedoelen scheikundigen tegenwoordig met 'ontleden'?
14. Fleming gebruikte voor zijn onderzoek de natuurwetenschappelijke methode. Nog steeds wordt deze methode gebruikt. Meestal gaat het niet zo simpel zoals hierboven is weergegeven. Een experiment geeft soms een onverwachte uitkomst waardoor een nieuwe hypothese opgesteld moet worden. Fleming stelde een hypothese op bij zijn waarneming. Hij bedacht daarna een experiment, een proef om zijn hypothese te toetsen. Stel dat je medewerker van Fleming bent. Beschrijf een proef waarmee je de hypothese van Fleming kunt testen.

Fleming gaat door

Fleming ging door met zijn onderzoek. Hij filtreerde de stoffen die de bacterie uitscheidde. Zelfs als hij het filtraat 800 keer verdunde dan bleef het filtraat in staat om bacteriën te doden! Bovendien waren er geen giftige bijeffecten in mensen en dieren. Fleming wist alleen niet wat de werkzame stof uit de schimmel was. Vanaf 1938 deden Howard Florey en Ernst Chain daaraan onderzoek. Zij wisten - na keihard werken - het stofje te isoleren en te zuiveren. Dat stofje kennen wij nu als het antibioticum penicilline G. Het stofje bleek erg kwetsbaar. Het werd snel afgebroken. Ook konden ze er maar weinig van isoleren. De eerste patiënt, een politieagent die zich gesneden had bij het scheren en een infectie had, werd wel beter maar overleed toch doordat de penicilline G opraaakte. Uiteindelijk wisten ze voldoende stof te maken om een jongen van 15 jaar te genezen die bij een operatie een infectie had opgelopen.

Inmiddels was de Tweede Wereldoorlog uitgebroken. Daarom kreeg men het in Engeland niet voor elkaar om op industriële schaal penicilline te maken. Florey en Chain vertrokken naar de Verenigde Staten. Daar pakte men het probleem van opschaling groots aan. Honderden wetenschappers, de overheid en farmaceutische bedrijven

zochten naar methoden om snel grote hoeveelheden penicilline te maken. Tegen het einde van 1943 kregen ze het al voor elkaar om zoveel penicilline G te maken dat vele duizenden gewonde soldaten en burgers geholpen konden worden. In 1945 ontvingen Fleming, Florey en Chain de Nobelprijs voor hun werk aan penicilline G. Vanaf nu noemen we penicilline G in deze module gewoon penicilline.

De ruimtelijke structuur van penicilline was nog niet bekend. In 1946 bepaalden chemici de ruimtelijke structuur. Nu konden de scheikundigen verder werken aan een organisch chemische syntheseroute voor penicilline. Zij dachten dat het dan sneller en goedkoper zou worden om de kwetsbare penicilline te maken. In 1957 hadden zij een geschikte syntheseroute gevonden. Nu waren er twee verschillende methoden om penicilline te maken. Een methode waarbij micro-organismen penicilline produceerden en een organisch chemische syntheseroute.

Vragen

15. Waarom werkten veel scheikundigen aan een organisch chemische syntheseroute voor penicilline? Micro-organismen waren toch al in staat om penicilline te maken?
16. Als een bedrijf een nieuw antibioticum wil maken dan bestaan daarvoor twee verschillende ontwikkelmethoden. Via micro-organismen of via een organisch chemische syntheseroute. Bedenk van beide methoden een voordeel en een nadeel.

Groot goed maar ook kwetsbaar

De levensverwachting van mannen is in Nederland sinds 1950 met ongeveer 7 jaar toegenomen. Rond 1950 hadden mannen een levensverwachting van iets meer dan 70 jaar. In 2005 was dit toegenomen tot ruim 77 jaar. Voor vrouwen geldt een nog sterkere toename. In 1950 gold voor hen een verwachting van ongeveer 72 jaar. In 2005 was dit opgelopen tot ruim 81 jaar.

In het Romeinse Rijk was de levensverwachting slechts 22 jaar. In de Middeleeuwen 25 jaar. Rond 1900 was de levensverwachting ongeveer 44 jaar.

Verbeterde hygiënische omstandigheden speelden vanaf 1900 een grote rol. In en na de Tweede Wereldoorlog zijn veel levens gered door het inzetten van penicilline.

Zo hebben antibiotica ontegenzeggelijk invloed gehad op de levensverwachting van mensen. Nog steeds kan onze samenleving niet zonder antibiotica. Hardnekkige infecties kunnen alleen bestreden worden met antibiotica.

In Nederland zijn artsen terughoudend met het voorschrijven van antibiotica. In Frankrijk schreven artsen in 2006 per patiënt ongeveer 2 keer zoveel antibiotica voor. Daarnaast worden antibiotica op grote schaal gebruikt in de veesector om groei te bevorderen.

Er zijn twee redenen waarom antibiotica niet zomaar ingezet moeten worden. De eerste reden is dat sommige mensen een allergische reactie op o.a. penicilline krijgen. Een aantal mensen krijgt vlekjes op de huid. Anderen krijgen huiduitslag. Dit is lastig maar niet gevaarlijk.

Heel af en toe krijgen mensen last van benauwdheid, galbulten of een (anafylactische) shock. Het lichaam maakt dan antistoffen aan tegen de toegediende penicilline. De persoon krijgt het benauwd; heeft vaak een lage bloeddruk en kan flauwvallen of bewusteloos raken.

Gelukkig komt deze allergische reactie op penicilline vrijwel niet voor. Als het wel gebeurt dan moet onmiddellijk contact gezocht worden met een arts.

De tweede reden om terughoudend te zijn met het toedienen van penicilline zit in het aanpassingsvermogen van bacteriën. Bacteriën kunnen zich aanpassen. Ze zijn dan niet langer gevoelig voor het antibioticum. De bacterie blijft groeien. De bacterie is resistent geworden. Omdat bacteriën zich heel snel delen heb je binnen de kortste keren heel veel van deze resistente bacteriën.

Om deze aangepaste bacterie te bestrijden is dan een ander antibioticum nodig. Het is niet zeker of dat antibioticum bestaat...

Toekomst

Bedrijven investeren nog steeds heel veel in antibiotica. Ze hebben veel gesleuteld aan penicilline om antibiotica te ontwikkelen die stabiel zijn en makkelijker toegediend kunnen worden. Ze passen bestaande micro-organismen aan zodat deze sneller en/of efficiënter antibiotica produceren. Ze proberen zelfs micro-organismen te maken die nieuwe antibiotica produceren. Eén van de manieren om antibiotica efficiënter en goedkoper te maken is het inzetten van enzymen. Bedrijven zoeken naar geschikte enzymen in de natuur om gewenste omzettingen voor elkaar te krijgen. Bij deze zoektocht gaan jullie helpen.

Vragen

Maak gebruik van de bronnen op <http://www.scheikundeinbedrijf.nl> of zoek via 'google' en beantwoord de volgende vragen.

Voeg - voor jou nieuwe - informatie toe aan het begrippenweb dat je eerder maakte.

17. Waarom zag men in de vorige eeuw antibiotica als wondermiddel?
18. Hoe ontdekte Fleming de bijzondere eigenschappen van het antibioticum penicilline?
19. Wat was de rol van Chain en Florey bij de ontwikkeling van penicilline?
20. Hoe kwam het onderzoek naar antibiotica in een stroomversnelling?
21. Zoek via <http://www.3dchem.com/molecules.asp?ID=250> de 3-dimensionale bouw van het penicilline G molecuul op. Vergelijk deze met de 2-dimensionale tekening zoals je die in de lestekst hebt gevonden. Welke structuur is het overzichtelijkst? Waarvoor zal de andere structuur gebruikt worden?
22. Amoxicilline is in de mens een effectiever antibioticum dan penicilline. Dat komt omdat penicilline beter oplost in water en daardoor sneller weer uit het lichaam verdwijnt. Waarom lost penicilline beter in water op dan amoxicilline? (= verdiepingsvraag)
23. Werken antibiotica ook tegen influenza (het virus dat griep veroorzaakt)?
24. Wat zijn de structuurformule en de molecuulformule van het antibioticum dat jullie tijdens de vorige les gebruikten?
25. Wat is nu eigenlijk resistentie en waarom is dat zo'n probleem?
26. Resistentie en de MRSA-bacterie worden vaak in één adem genoemd.
 - a. Waarom?
 - b. MRSA wordt ook wel de ziekenhuisbacterie genoemd. Wat is daarvan de reden?
 - c. Verdieping: Zembla heeft een documentaire gemaakt over MRSA in varkensstallen. Welke boodschap willen de makers aan de kijkers meegeven? Zie: http://zembla.vara.nl/Dossier-Gezondheidszorg.1967.0.html?&tx_ttnews%5Btt_news%5D=795&tx_ttnews%5BbackPid%5D=1966&cHash=ba64e4d0ba
27. Beschrijf zo nauwkeurig mogelijk de verschillen en overeenkomsten tussen bacteriën en virussen.
28. In de praktijk blijkt dat artsen in Nederland terughoudend zijn met het toedienen van antibiotica aan mensen. Bij dieren is men wat minder terughoudend.
 - a. Waarom krijgen dieren antibiotica toegediend?
 - b. Is het wenselijk dat dieren veel antibiotica toegediend krijgen?
29. Welke informatie moet je nog toevoegen aan je begrippenweb?

Bekijken effect antibiotica op bacteriegroei.

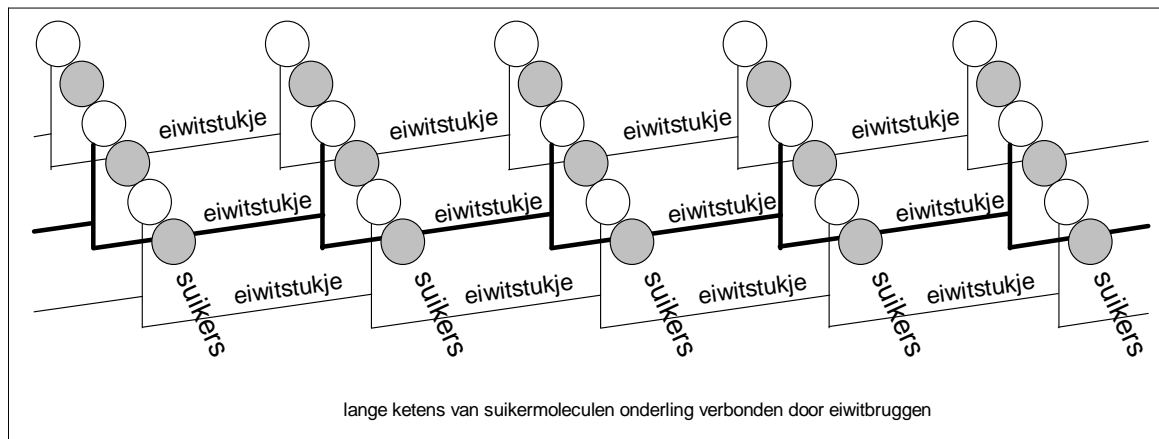
30. De vorige les deed je een practicum. Daarover gaan de volgende vragen. Pak de petrischalen met bacteriegroei er bij. Bacteriegroei is te zien doordat er witte en/of gele stipjes op de voedingsplaat gekomen zijn. Dit zijn bacteriekolonies.
 - a. Teken het resultaat. Kijk nauwkeurig naar de verschillen tussen de petrischaal met antibiotica en de petrischaal zonder antibiotica.
 - b. Is er verschil tussen zwembadwater en slootwater? Is er verschil tussen de petrischalen met en zonder antibiotica? Geef een verklaring voor de gevonden verschillen.
 - c. (Verdieping) Heeft de zelfgekozen stof ook een bacterieremmend effect gehad?
 - d. Kloppen de uitkomsten met je eigen verwachtingen? Je mag ook zeggen: waren je hypothesen bruikbaar?

Werking van antibiotica

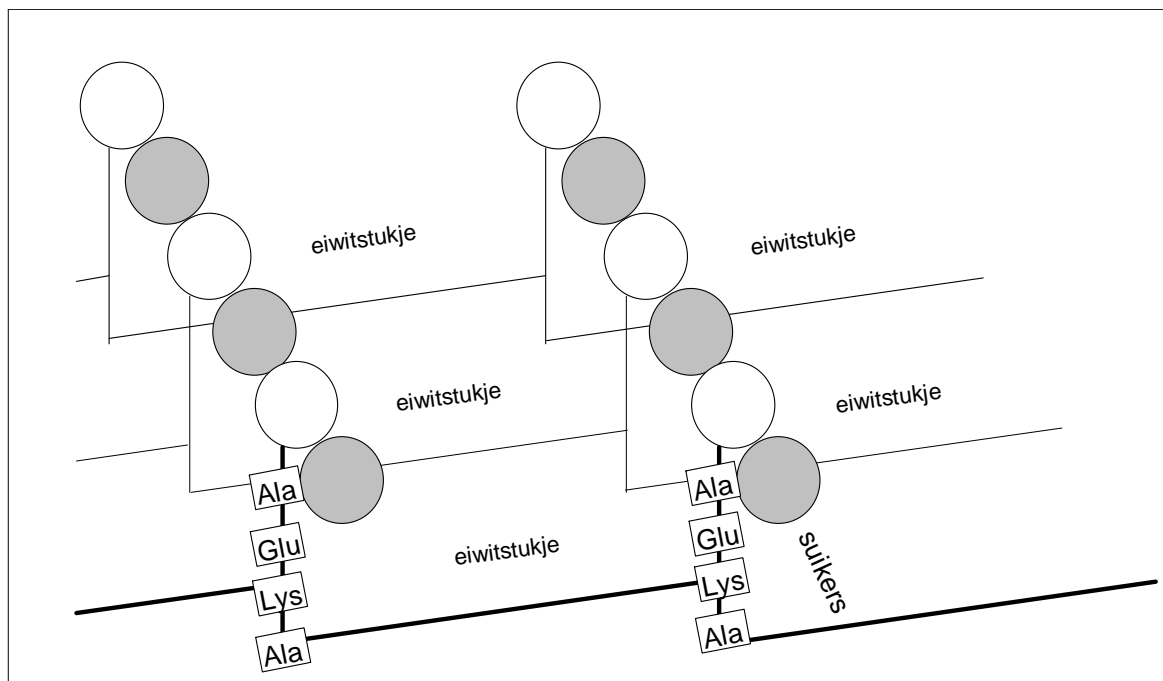
Antibiotica zijn in staat om de groei van bacteriën te remmen.

Het antibioticum penicilline zorgt ervoor dat de bacterie geen stevige celwand meer kan bouwen. De bacterie kan zich niet verder vermenigvuldigen. De nieuwe bacteriën lopen als het ware leeg. Ze ploffen uit elkaar, ze lyses. Zie voor een filmpje: (<http://www.cellsalive.com/pen.htm>)

De celwand van een bacterie (*Escherichia coli*) is opgebouwd uit lange ketens. De twee verschillende bouwstenen voor deze ketens zijn moleculen die lijken op suikermoleculen. In de figuur hieronder zijn ze weergegeven met witte en grijze bolletjes. Deze lange ketens worden onderling met elkaar verbonden door kleine stukjes eiwit. Er ontstaan eiwitbruggen tussen de suikerketens. Deze koppeling gebeurt niet zomaar. De bacterie heeft een enzym dat ervoor zorgt dat de kleine stukjes eiwit reageren met de lange ketens van suikermoleculen. Enzymen zijn zelf ook weer eiwitten.



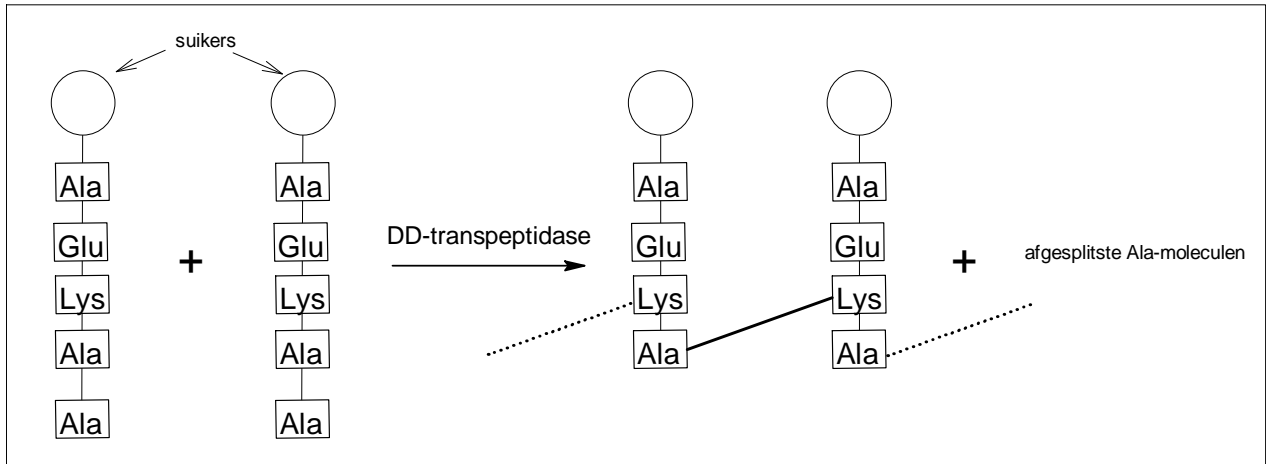
De eiwitbruggen bestaan uit aminozuren. Alle aminozuren hebben een afkorting. Een gedeelte van de eiwitbrug kun je opschrijven als Ala-Glu-Lys-Ala. De afkorting voor alanine is Ala. Glutaminezuur heeft als afkorting Glu. Lysine wordt afgekort door Lys. Zie tabel 67C in BINAS.



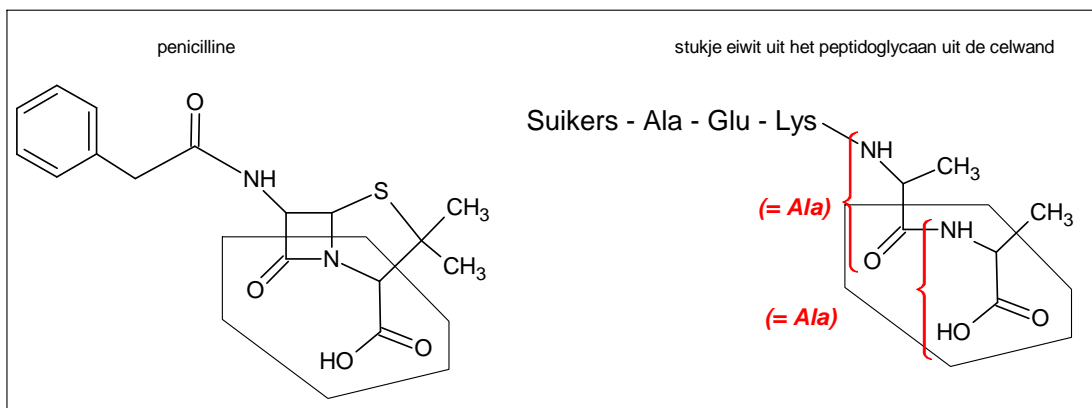
Het hele netwerk van al deze suikerketens en al deze verbindende stukjes eiwit wordt peptidoglycaan genoemd.

Het inbouwen van het stukje eiwit wordt gedaan door een enzym. De naam van het enzym is DD-transpeptidase. Een enzym is een stof die ervoor zorgt dat een heel specifieke reactie bij een lage temperatuur kan plaatsvinden. Het enzym doet mee in de reactie maar verandert zelf niet. Het enzym kan dus opnieuw gebruikt worden om andere moleculen om te zetten. Later in deze module gaan we verder in op de eigenschappen van enzymen.

Het enzym DD-transpeptidase koppelt twee eiwitstukjes (Ala-Glu-Lys-Ala-Ala) aan elkaar. Tijdens de reactie splitst de laatste Ala af. De reactievergelijking kan dus zo genoteerd worden:

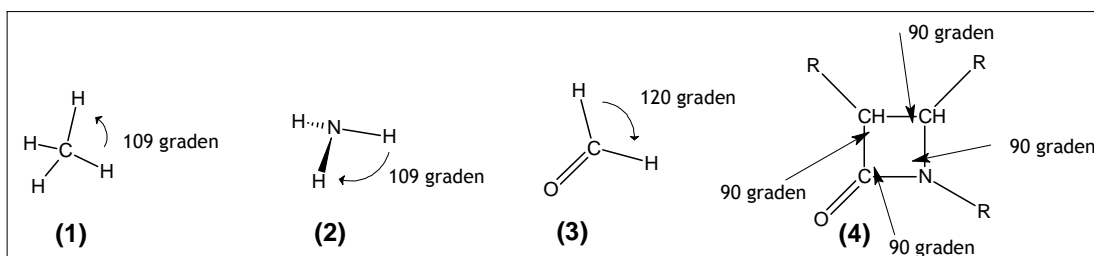


Het bijzondere is nu dat het enzym in de bacterie géén onderscheid kan maken tussen de structuur van penicilline en het kleine stukje eiwit (= Ala-Glu-Lys-Ala-Ala). Dat komt doordat een klein gedeelte van het penicilline- en een klein gedeelte van het eiwit uit het peptidoglycaan heel sterk op elkaar lijken.



Het enzym bindt zelfs beter met penicilline dan met het kleine stukje eiwit! Het enzym kan dus niet meer gebruikt worden om nieuwe celwanden te bouwen. De bacterie kan niet verder groeien. De overgebleven cellen - die nog steeds schadelijk zijn - moeten nog wel gedood worden door de gastheer zelf.

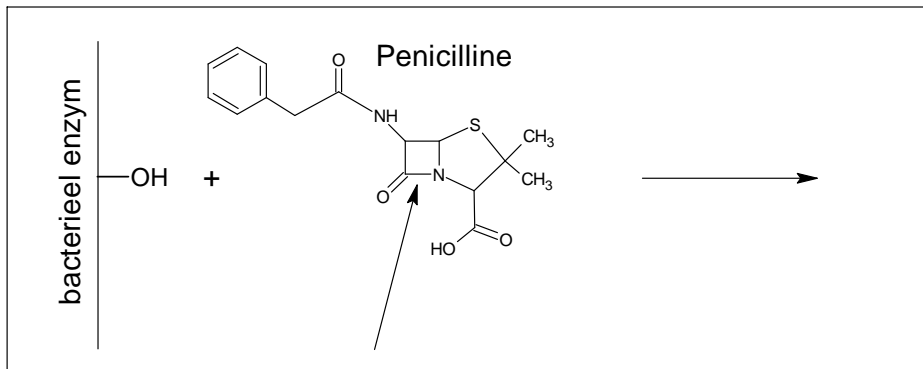
In het penicillinmolecuul zijn verschillende groepen te onderscheiden. Bijvoorbeeld een zeshoek en een vierkant. Zo'n vierkant is bijzonder. Moleculen met een vierkant in de structuur komen nauwelijks voor in de natuur. Scheikundigen kunnen moleculen met een vierkant maken via een organisch chemische synthese. Dat is in de praktijk vaak moeilijk. Dat komt door de hoeken in een vierkant van 90°. Hoeken van 90° zijn in koolstofverbindingen ongunstig. Enkelvoudig gebonden koolstofatomen en stikstofatomen hebben voorkeur voor hoeken van ongeveer 109° ((1) en (2)). Een koolstofatoom met daaraan een tweevoudige binding heeft een voorkeurshoek van 120° ((3)). Door de hoeken van 90° ontstaat er ringspanning in het penicillinmolecuul ((4)). Je kunt dat zien in de tekening hieronder. Het penicillinmolecuul is nu slechts gedeeltelijk weergegeven.



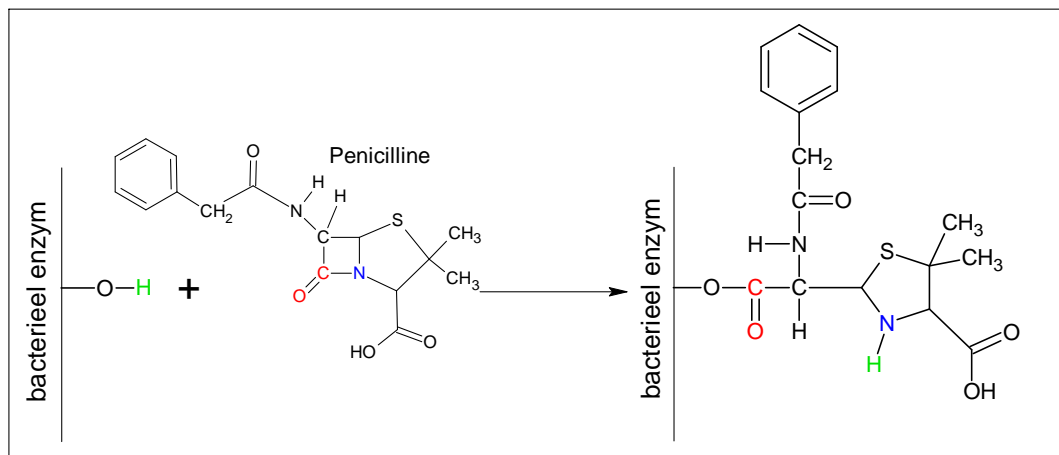
De ringspanning in het vierkant is verantwoordelijk voor de antibioticumeigenschap van penicilline. Eerst zorgt het ervoor dat het enzym van de bacterie 'denkt' te maken te hebben met een gedeelte van de eiwitbrug uit peptidoglycaan. Het enzym 'vergist' zich. In plaats van te binden aan peptidoglycaan bindt het enzym met een penicillinemolecuul. Hoe dat gaat staat in het volgende stukje.

Penicilline koppelt aan enzym

Als het penicillinemolecuul en het enzym elkaar gevonden hebben dan vindt er een reactie plaats. Het penicillinemolecuul reageert met een OH-groep van het enzym. Deze reactie verloopt zo goed omdat tijdens de reactie het vierkant openspringt. Dat gebeurt tussen het N-atoom en het C-atoom dat gebonden is aan het O-atoom.



Het vierkant verdwijnt. De vijfhoek blijft intact. Het penicillinemolecuul bindt op de volgende manier aan het enzym:



Het enzym heeft de OH-groep van het bacteriële enzym nodig tijdens het vormen van stevige celwanden. De OH-groep is niet meer aanwezig door de reactie met penicilline. Het enzym kan zijn werk niet meer doen. Er ontstaan geen nieuwe sterke celwanden meer. De bacterie lyseert.

Andere methoden

Het antibioticum penicilline zorgt ervoor dat bacteriën geen nieuwe celwanden kunnen maken. Penicilline werkt alleen bij groeiende bacteriën. Andere antibiotica remmen de eiwitsynthese in de bacterie. Weer andere beschadigen de celwand. Nog weer andere zorgen ervoor dat de stofwisselingsprocessen in de bacterie niet meer goed verlopen.

De meeste antibiotica zijn werkzaam op procaryote cellen. Dat zijn cellen waaruit bacteriën zijn opgebouwd. Eukaryote cellen, onder andere menselijke cellen, verschillen enorm van procaryote cellen en worden gelukkig niet door antibiotica beïnvloed. Menselijke cellen hebben een **celmembraan** en geen **celwand**. Mensen hebben dus het celwandvormende enzym niet. Penicilline kan dus de groei van menselijke cellen niet remmen.

Wil je meer weten over het verschil tussen celmembraan en celwand:

http://www.bioanw.nl/transport%20cel/bouw_en_functie_celwand_en_celmembraan.html

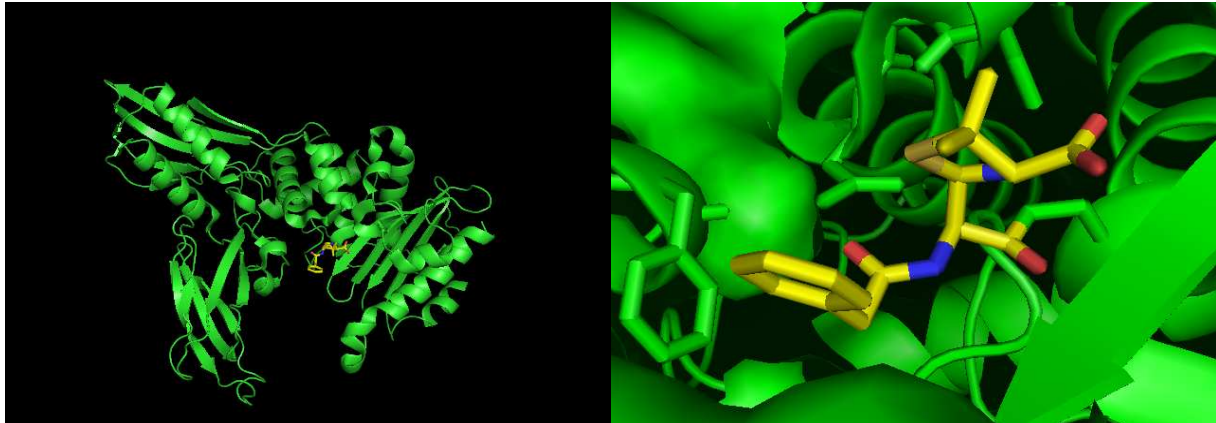
Voor virussen is het nog moeilijker om een selectief remmende stof te vinden. Virussen maken o.a. gebruik van het stofwisselingsstelsel van de gastheer. Rem je het virus dan rem je ook de stofwisseling van de gastheer...

Meer weten? http://www.microbiologie.info/bouw_van_een_virus.htm.

Verdieping: ruimtelijke structuren in de computer

Penicilline houdt het enzym dat zorgt voor de versterking van de celwand voor de gek. De bacterie kan niet meer vermenigvuldigen. Wetenschappers zijn in staat om plaatjes te maken van de binding tussen het enzym en penicilline. Chris Oostenbrink van de Vrije Universiteit in Amsterdam maakt zulke plaatjes met behulp van de computer.

In het eerste plaatje is de structuur van het complete enzym te zien. Dat zijn die groene slierten. Kijk eens in je BINAS, tabel 67c2. De 'wikkels' die je ziet zijn α -helices en de 'slierten in een vlak' zijn



plaatstructuren. Dit zijn allebei belangrijke structuurelementen van enzymen. Ze geven stevigheid aan het enzym en zorgen ervoor dat andere moleculen het enzym herkennen. Om het overzichtelijk te houden zijn alleen slierten weergegeven. In werkelijkheid zijn het natuurlijk allemaal koolstof-, waterstof-, stikstof- en zuurstofatomen die aan elkaar gekoppeld zitten.

In het midden zit een geel molecuul met rode uiteinden en blauwe tussenstukjes. Dat is het penicillinmolecuul.

Het enzym uit de bacterie is dus een groot molecuul. De groene slierten die allemaal aan elkaar vastzitten bestaan uit aminozuren die aan elkaar gekoppeld zijn.

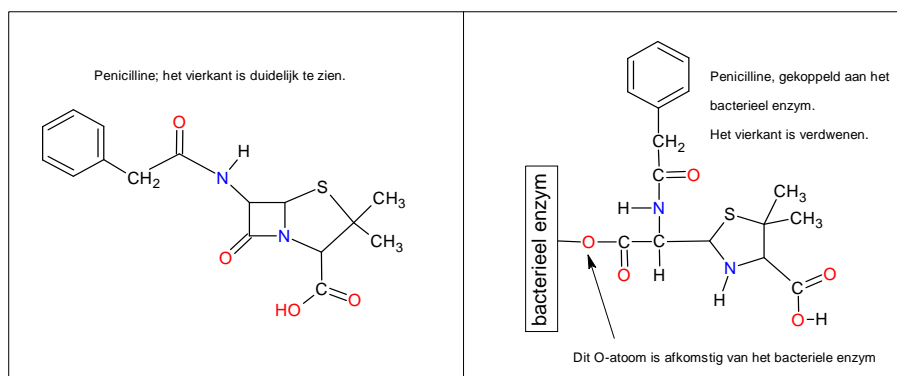
Dit grote molecuul heeft een holte, ook wel het actieve centrum genoemd. In het actieve centrum vindt de reactie plaats. Alleen de stof die moet reageren past in het actieve centrum. Die stof ondergaat een reactie. Er ontstaan nieuwe stoffen. De nieuwe stoffen vertrekken weer uit het actieve centrum.

Bijzonder is dat het penicillinmolecuul ook precies in dit actieve centrum past... Er is één belangrijk verschil. Het penicillinmolecuul blijft in het actieve centrum vastzitten. Het gaat er niet meer uit. Het penicillinmolecuul reageert zelfs met het enzym.

In het tweede plaatje is het penicillinmolecuul veel beter te zien. De rode stokjes zijn zuurstofatomen. De blauwe stokjes zijn stikstofatomen. Duidelijk is de zesring te herkennen. De waterstofatomen zijn weggelaten om het geheel overzichtelijk te houden. Het vierkant uit het penicillinmolecuul is niet meer terug te vinden. Dat klopt! Het penicillinmolecuul heeft gereageerd en is nu vastgekoppeld aan het enzym. Het enzym kan niet meer helpen bij het bouwen van nieuwe bacteriecelwanden. De bacteriegroei stopt.

Hieronder staan twee plaatjes. Eén van penicilline en één van penicilline dat gereageerd heeft met het enzym uit de bacterie. Ook hier zie je heel duidelijk dat het vierkant in penicilline verdwenen is.

Op www.scheikundeinbedrijf.nl zijn nog meer plaatjes te vinden van de koppeling tussen het enzym en penicilline.



Ruimtelijke structuren in je eigen (!) computer

De computer is een heel bruikbaar instrument om te onderzoeken welke moleculen wel in het actieve centrum passen en welke moleculen niet. Zo kunnen van achter de pc moleculen ontworpen worden die bruikbaar zijn als antibioticum. Daar is nog wel heel veel rekenkracht en rekestijd voor nodig. En daarna moet het ontworpen molecuul nog gemaakt worden. Vaak zijn daar ingewikkelde organische syntheses voor nodig.

Van heel veel grote moleculen, zoals eiwitten, zijn de molecuulformule en structuurformule inmiddels wel bekend. Aan de 3-dimensionale bouw moet vaak nog gerekend worden. Daarvoor zijn rekenprogramma's beschikbaar.

Een paar slimme gamedesigners hebben een spel bedacht waarmee de beste 3-dimensionale vorm van een molecuul gevonden kan worden. Iedere gamer kan zo meedoen aan echt onderzoek!

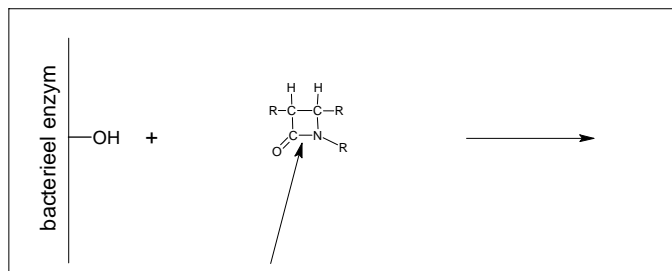
Hoe werkt het?

Op <http://fold.it> kun je een account aanmaken. Je kunt vervolgens games spelen. Eerst alleen om ervaring op te doen met de 3-dimensionale structuren. Je leert welke ruimtelijke structuren gunstig zijn. Zo moet je ervoor zorgen dat de verschillende groepen in een molecuul zo ver mogelijk bij elkaar vandaan staan. Ze hebben dan geen 'last' van elkaar. Scheikundigen zeggen: er is dan weinig sterische hindering. Een artikel over fold-it staat in Natuurwetenschap en Techniek nummer 3 (2009).

Al vrij snel kun je meedoen aan echt onderzoek! Je gaat dan op zoek naar de meest gunstige ruimtelijke structuur voor een molecuul! Natuurlijk draait het in een game om 'fun'. Toch leuk om te weten dat wetenschappers de resultaten die bereikt zijn door de gamers gebruiken! In de module gaan we verder niet op de mogelijkheden van <http://fold.it>. Ook is het geen leerstof voor de toets. We zijn wel heel benieuwd naar jouw ervaringen (info@scheikundeinbedrijf.nl).

Vragen

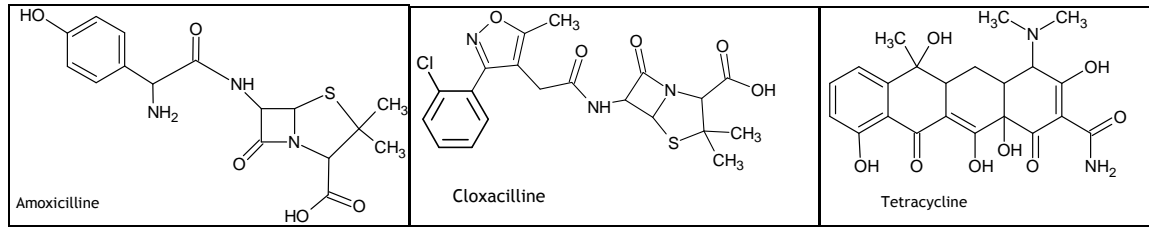
31. Waarom is het zo moeilijk om een geschikt antibioticum te maken?
32. Leg uit waarom een antibioticumkuur helemaal afgemaakt moet worden?
33. Bouw een model van een cyclopropaan-, een cyclobutaan- en een cyclopentaanmolecuul.
 - a. Hoe groot zijn de hoeken in achtereenvolgens een cyclopropaan-(C₃H₆), cyclobutaan-(C₄H₈) en cyclopentaanmolecuul (C₅H₁₀)?
 - b. Welk molecuul heeft de grootste ringspanning? Leg je antwoord uit
34. Bouw het molecuulmodel voor ethaan, etheen en ethyn (C₂H₂).
 - a. Welke hoeken kun je in dit molecuul vinden?
 - b. Heeft één van deze moleculen ringspanning? Zo ja, welke dan?
35. Bouw een molecuulmodel voor penicilline. Dat mag je sterk vereenvoudigen. Als het 'vierkant' uit het molecuul maar duidelijk zichtbaar is. Bouw ook een sterk vereenvoudigd model van het bacterieel enzym na.



- a. Het H-atoom van het bacteriële enzym laat los en koppelt aan een atoom uit het penicilline molecuul. Aan welk atoom koppelt dit H-atoom?
 - b. Verdieping: penicilline kan bacteriegroei remmen. Waarom kunnen niet alle andere moleculen dat ook?
36. Er bestaan veel verschillende antibiotica. Voorbeelden zijn Amoxicilline, Cloxacilline en Tetracycline. De structuurformules staan hieronder. Bekijk de structuurformules nauwkeurig. Welk antibioticum of welke antibiotica zullen net zoals penicilline reageren met het bacteriële enzym dat de celwand versterkt? Leg uit.

Werking Antibiotica

les 3

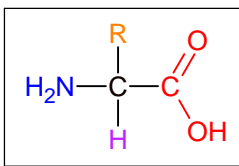


Aminozuren

Kleine stukjes eiwit kunnen de celwand van een bacterie sterker maken. Eiwitten zijn opgebouwd uit aminozuren.

In de natuur komen ongeveer 100 verschillende aminozuren voor. Daarvan worden er 20 gebruikt voor de bouw van eiwitten. Eiwitten zijn belangrijk. Sommige zorgen ervoor dat specifieke chemische reacties kunnen verlopen onder milde omstandigheden. Met milde omstandigheden worden een niet zo hoge temperatuur en druk bedoeld. De reacties om DNA te maken of om vet te verteren verlopen anders niet bij lichaamstemperatuur. Eiwitten die ervoor zorgen dat reacties bij milde omstandigheden plaatsvinden noem je enzymen. Weer andere eiwitten zorgen voor transport van stoffen in, uit en binnen de cel. Ook sommige antibiotica bevatten aminozuurbouwstenen.

De 20 aminozuren die gebruikt worden voor het bouwen van eiwitten bestaat uit een **koolstofatoom** met daaraan een **waterstofatoom**, een **aminogroep**, een **carbonzuurgroep** en een **restgroep**.

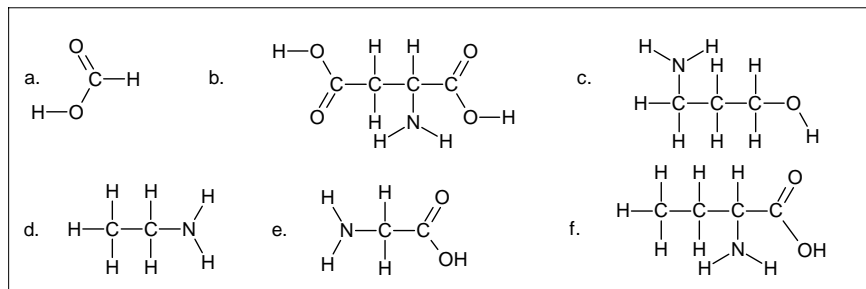


Aminozuren verschillen alleen in de restgroep, R. Als de restgroep een H-atoom is dan heet het aminozuur glycine, afgekort Gly. De officiële systematische naam is aminoethaanzuur. Als de restgroep bestaat uit een methylgroep dan gaat het om Alanine (Ala). De structuurformules en namen van de andere aminozuren kun je vinden in Binastabel 67c1.

Als je de naamgeving van aminen en carbonzuren vergeten bent zoek dan kenniskaart 'Naamgeving' op.

Vragen

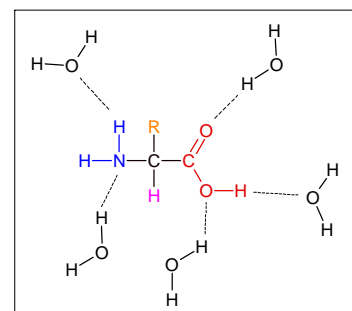
37. Voor de bouw van eiwitten bestaan 20 verschillende aminozuren. Hun namen en structuren lijken op elkaar.
 - a. Wat is de systematische naam van alanine?
 - b. Wat is de systematische naam van threonine?
 - c. Wat is de molecuulformule van lysine?
 - d. Wat is de structuurformule van glutaminezuur?
 - e. Wat is de systematische naam van Glu?
38. Geef de systematische namen van de volgende structuurformules (maak eventueel gebruik van Binas):



Aminozuren in water

Als het aminozuur in water wordt opgelost dan maken de aminogroep en de carbonzuurgroep waterstofbruggen met het water.

Niet alle aminozuren lossen even goed op in water. De oplosbaarheid hangt af van de zijgroep. Als de zijgroep geen waterstofbruggen kan vormen dan mengt de zijgroep niet goed met water. Zo'n zijgroep is dan apolair. De oplosbaarheid van dat aminozuur is dan kleiner dan van een aminozuur dat met zijn zijgroep wel waterstofbruggen kan vormen.



Peptidebindingen en penicilline

les 4

Vragen

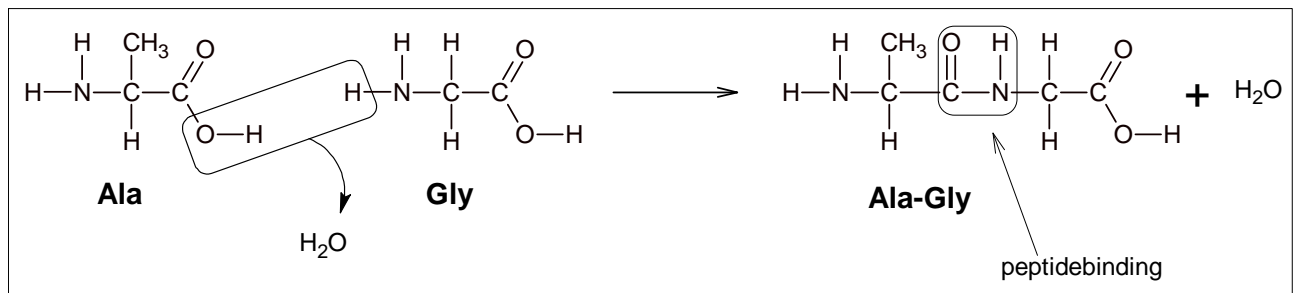
39. Zoek de structuurformules van isoleucine en serine op. Teken deze structuren en voorspel welk aminozuur het beste kan oplossen in water. Leg uit.
40. Zoek de structuurformule van penicilline op. Omcirkel de groep(en) in het molecuul die waterstofbruggen kan/kunnen vormen. Het S-atoom mag je buiten beschouwing laten.
41. Voorspel of penicilline kan oplossen in water.

Aminozuren kunnen reageren met aminozuren

De aminogroep van een aminozuur kan reageren met de carbonzuurgroep van een ander aminozuur. Bij deze reactie splitst water af en wordt een peptidebinding gevormd. Zo ontstaan lange ketens van aan elkaar gekoppelde aminozuren. De lange keten wordt eiwit genoemd. De volgorde van de aminozuren ligt voor ieder eiwit vast in het DNA van een organisme. Hierover leer je meer in een andere module en/of in de biologieles.

Een eiwit bestaat uit heel veel aminozuren die aan elkaar gekoppeld zijn. Om overzicht te houden is ervoor gekozen om te werken met afkortingen. In de figuur hieronder hebben alanine en glycine met elkaar gereageerd. Het product heet een dipeptide omdat er twee aminozuren gekoppeld zijn. Het dipeptide krijgt de afkorting Ala-Gly.

Als er drie aminozuren aan elkaar gekoppeld zijn dan heet dat een tripeptide. Vier gekoppelde aminozuren heten een tetrapeptide.



Vragen

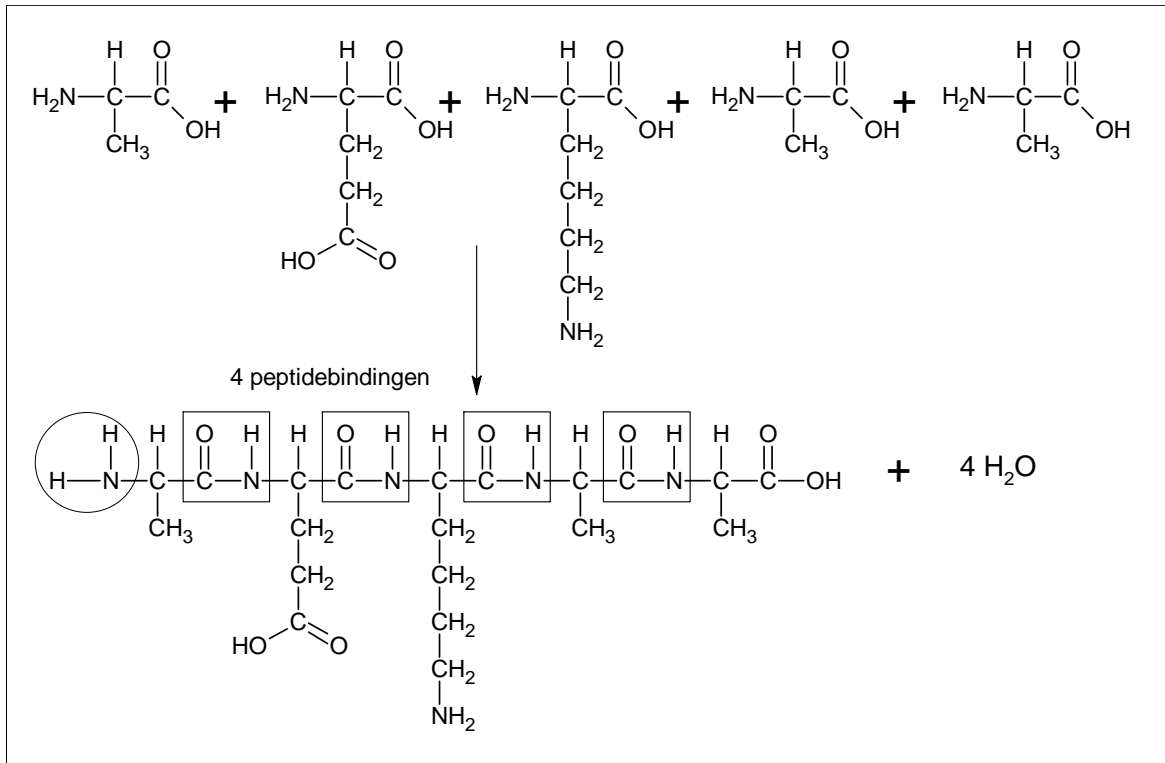
42. Leg uit dat Ala-Gly en Gly-Ala verschillende moleculen zijn.
43. Hoeveel verschillende dipeptiden kun je maken als je de beschikking hebt over alle 20 aminozuursoorten die gebruikt worden om eiwitten te bouwen?
44. Geef de reactievergelijking voor de reactie waarbij het dipeptide Val-Met ontstaat (valine + methionine). Teken de structuurformules helemaal uit! Begin met valine en noteer de aminogroep aan de linkerkant van het molecuul.

Peptidebindingen en penicilline

les 4

Peptidebindingen in de bacteriewand

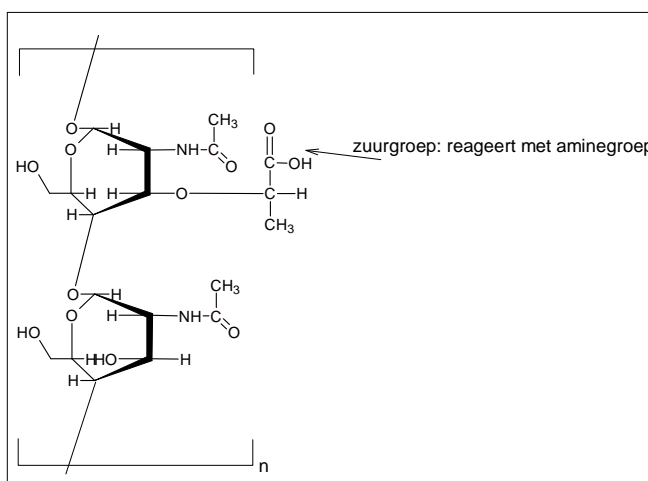
Om de celwand van de bacterie te verstevigen maakt de cel eiwitbruggen. Deze eiwitbruggen zijn opgebouwd uit gekoppelde aminozuren. Een bouwsteen voor die brug bestaat uit Ala-Glu-Lys-Ala-Ala. In structuurformules ziet de reactie tussen de vijf aminozuren er zo uit:



Als vijf aminozuren reageren dan heet dat een pentapeptide. Het ontstane pentapeptide heeft nog steeds vrije aminogroepen en vrije zuurgroepen. De vrije aminogroep die omcirkeld is, reageert met een lange suikerketen uit de celwand. Er is dan een pentapeptide vastgekoppeld aan de suikerketen. Daarna vinden nog meer reacties plaats. Uiteindelijk ontstaan de eiwitbruggen tussen de suikerketens. Voor deze reacties heeft de bacterie een enzym nodig.

Vragen

45. De suikerketens bestaan uit aan elkaar gekoppelde zesringen. Een heel klein stukje van de suikerketen is getekend in het plaatje hieronder. Aan de suikerketen zitten zuurgroepen. Deze zuurgroepen kunnen reageren met de omcirkelde, vrije aminogroep uit de eiwitbrug.



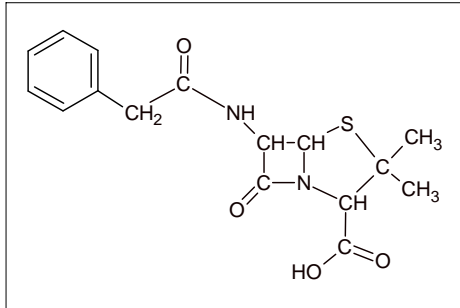
De NH_2 -groep van het pentapeptide reageert met de COOH -groep in het suikermolecuul. Welk molecuul splitst bij deze reactie af?

46. Teken de structuurformule voor het tripeptide: Leu-Arg-Gln.

Peptidebindingen en penicilline

les 4

47. Hoeveel peptidebindingen zitten er in Leu-Arg-Gln?
48. In de suikerketen is bij elke zesring een peptidebinding te onderscheiden. Omcirkel deze 'peptidebinding'.
49. In de structuurformule van penicilline is een peptidebinding te herkennen. Omcirkel deze groep.

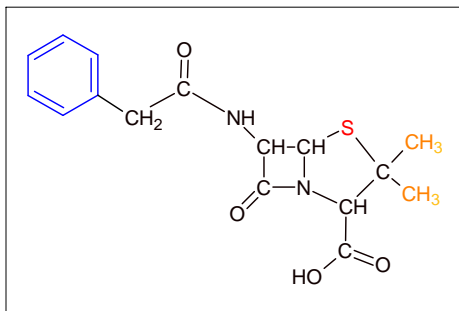


Peptidebindingen en penicilline

De peptidebinding is een karakteristieke groep die in aminozuren voorkomt. Ook in het penicillinemolecuul komt deze karakteristieke groep voor.



Naast de peptidebinding zijn er in het penicillinemolecuul nog andere karakteristieke groepen te onderscheiden.

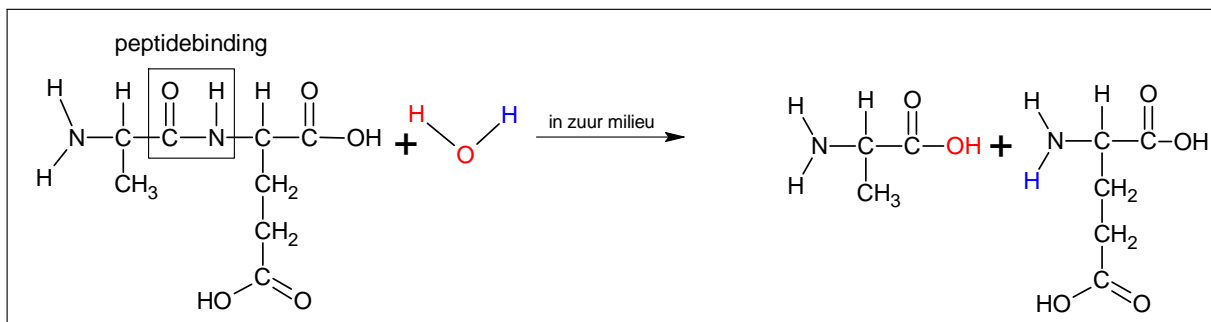


Bijvoorbeeld: twee methylgroepen, een benzeengroep en een zwavelatoom.

Het zwavelatoom zit in een vijfkring. Als je nauwkeurig kijkt zijn er twee ringen te onderscheiden: een vijfhoek en een vierkant. De ring die bestaat uit vier atomen heeft veel meer 'ringspanning' dan de vijfhoek. Het vierkant heeft een speciale naam: β -lactamring. Door de 'ringspanning' springt het vierkant makkelijk open.

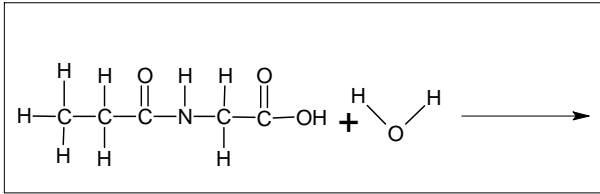
Er bestaan enzymen die de binding tussen C=O en N in het vierkant kapot kunnen maken. Deze enzymen heten β -lactamases. Een bacterie kan deze enzymen na verloop van tijd zelf maken omdat het al enzymen heeft die erg op β -lactamases lijken. Zo'n β -lactamase maakt de penicillinemoleculen kapot. De bacterie kan dan nog wel zijn celwand versterken. We zeggen dan dat de bacterie resistent is geworden tegen penicilline.

Penicilline kan niet in de vorm van een tablet of drankje worden ingenomen. Maagsap bevat stoffen die penicillinemoleculen stukmaakt. Tijdens dit proces reageren de peptidebindingen van penicilline met water. Dit proces wordt hydrolyse genoemd. Hieronder staat een voorbeeld van een hydrolyse van een peptidebinding.

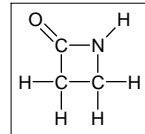


Vragen

50. Geef de reactievergelijking voor de hydrolyse van:
Gebruik structuurformules.



51. Geef de reactievergelijking in structuurformules voor de volledige hydrolyse van: Ser-Ala-Lys.
52. Geef de reactievergelijking in structuurformules voor de hydrolyse van:
53. Bestudeer de structuur van het penicillinemolecuul nog eens. Voorspel welke karakteristieke groep(en) van penicilline heel erg reactief zal/zullen zijn.
54. Neem bij deze opgave aan dat er in het vierkant een peptidebinding zit.
- a. Waarom is dat eigenlijk niet helemaal waar?
b. Het penicillinemolecuul heeft in deze opgave dus twee peptidebindingen. Beide bindingen worden gehydrolyseerd. Geef de reactievergelijking in structuurformules voor de hydrolyse van een penicillinemolecuul.



Samenvatting

Penicilline voorkomt dat bacteriën een stevige celwand bouwen. De bacterie bevat een enzym dat ervoor zorgt dat kleine stukjes eiwit extra stevigheid aan de celwand geven. Penicilline bindt aan het enzym. Het enzym stopt dan met zijn werk. De bacteriën lyseren.

Penicilline kan op meerdere manieren geïnactiveerd worden.

- Door hydrolyse van de penicilline in de maag.
- Doordat de bacteriën het enzym β -lactamase gaat maken. Dit enzym zorgt ervoor dat de β -lactamgroep (het 'vierkant') in het penicillinemolecuul kapot gaat. Het penicillinemolecuul kan dan niet meer reageren met het bacterieel enzym dat nodig is voor het maken van de bacteriecelwand.

Synthese van antibiotica

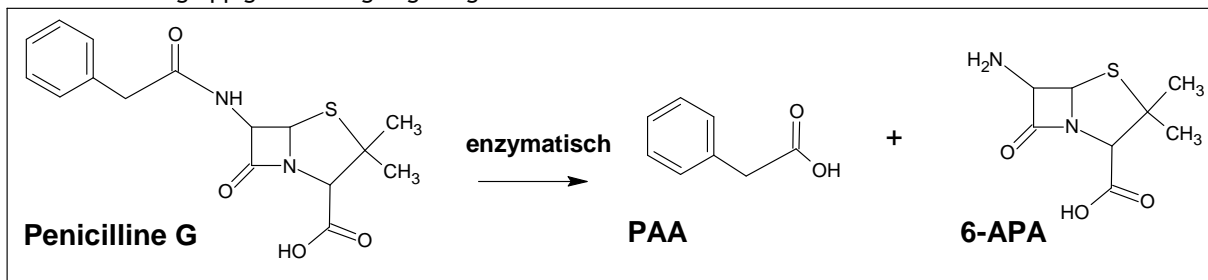
Antibiotica worden geproduceerd door farmaceutische bedrijven. Deze bedrijven maken vaak deel uit van grote concerns die heel veel verschillende stoffen produceren. Zo maakt DSM niet alleen antibiotica maar ook heel veel fijnchemicaliën voor biotechnologische en high-tech producten. Ook produceert men grondstoffen voor verf en basischemicaliën zoals ammoniak. (www.dsm.com).

DSM is wereldwijd de grootste producent van penicilline G. Ze produceren meer dan 5000 ton per jaar. In 2007 is productie overgeplaatst naar China.

Penicilline G - of gewoon penicilline - heeft nadelen. Het is redelijk goed oplosbaar in water en kan dus makkelijk uitgescheiden worden door de nieren. Als penicilline in de maag terechtkomt dan gaat het kapot door maagsap. Dat proces heet hydrolyse. Penicilline toedienen gaat dan ook via een infuus. Bacteriën raken behoorlijk snel resistent tegen penicilline. Deze nadelen kunnen omzeild worden door penicilline om te zetten in amoxicilline. Amoxicilline is minder goed oplosbaar in water en is beter bestand tegen het zure milieu in de maag. Groot voordeel van amoxicilline is dan ook dat het als drankje of tablet ingenomen kan worden. Geen wonder dat maar liefst zeven van de tien antibioticakuren van amoxicilline zijn.

DSM maakt amoxicilline uit penicilline G. DSM doet dat in twee stappen:

Stap 1: Penicilline G wordt met behulp van een speciaal enzym omgezet in twee kleinere moleculen. Deze stoffen hebben grappige afkortingen gekregen: 6-APA en PAA.



Vroeger deed DSM de omzetting van penicilline G naar 6-APA via een organische synthese. Tegenwoordig dus via een enzymatisch proces. DSM is daarmee uniek in de wereld. Grote voordeel van het enzymatische proces is het rendement. Vrijwel alle penicilline G wordt door het enzym omgezet in 6-APA.

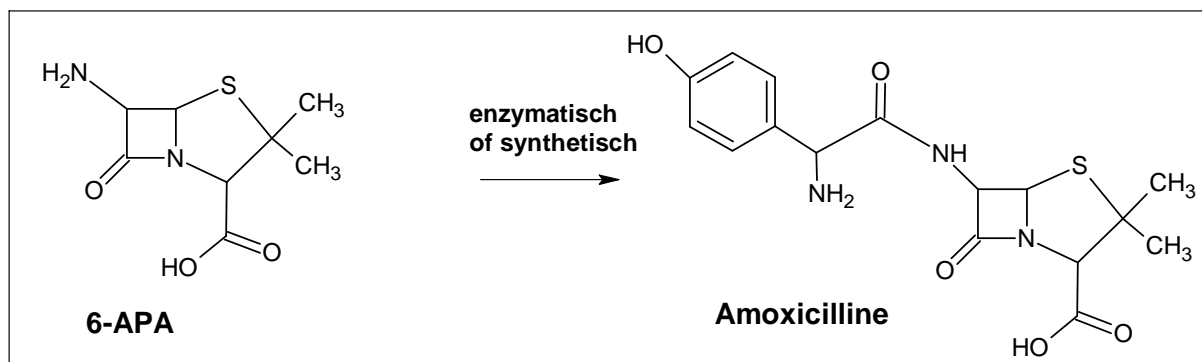
De organische syntheseroute levert een minder hoog rendement.

Een hoger rendement betekent dat er minder afvalstoffen zijn. Dat scheelt in de productiekosten en het ontziet het milieu. Het enzymatische proces levert DSM dus een concurrentievoordeel op. De enzymen die DSM gebruikt zijn gemaakt door genetisch gemodificeerde micro-organismen.

Vragen

55. Bij de enzymatische omzetting van penicilline G is nog één ander molecuul nodig om PAA en 6-APA te maken.
- Welk molecuul is dat? Leg uit.
 - PAA is Engels voor phenylacetic acid. Leid uit de structuurformule van PAA af wat de Nederlandse, systematische naam voor PAA is.

Stap 2: 6-APA wordt met behulp van een ander enzym omgezet in amoxicilline.



DSM doet deze tweede stap wereldwijd voor 20% via een organische synthese. De andere 80 % gaan via een enzymatisch proces. Zo kunnen ze beide processen steeds goed vergelijken. Het enzymatische proces levert ook in de tweede stap een hoger rendement dan de organische synthese. Dit proces heeft dus de toekomst.

6-APA is ook de bouwsteen voor andere antibiotica zoals Ampicilline. Amoxicilline en Ampicilline verschillen slechts in één OH-groep. Amoxicilline heeft wel een OH-groep aan de benzeenring. Ampicilline mist deze OH-groep. Nadeel van Ampicilline is dat het vaker een allergische reactie oproept dan Amoxicilline.

Vragen

56. Bij de omzetting van 6-APA in amoxicilline is nog een ander molecuul nodig. Geef de structuurformule van het molecuul dat met 6-APA reageert tot amoxicilline. DSM gebruikt voor dit molecuul de afkorting HPGM.
57. Waarom zal DSM de organische synthetische route voor amoxicilline (nog) niet helemaal afgeschaft hebben?
58. 6-APA kan omgezet worden in Ampicilline.
 - a. Geef de structuurformule van de stof die met 6-APA tot Ampicilline reageert.
 - b. Wat is de systematische naam van deze stof?

Synthese van het antibioticum amoxicilline

Doel van de proef: amoxicilline maken uit HPGM en 6-APA

Benodigdheden:

- Afsluitbare reageerbuis van ca. 50 mL
- 0,74 gram 6-APA
- 0,69 gram HPGM
- Demi water
- Enzymoplossing

Methode:

Zorg voor een blanco: iemand - liefst natuurlijk iedereen(!) - in de klas voert de proef twee keer uit. Eén keer mét enzymoplossing en één keer zonder.

- Weeg nauwkeurig 0,74 g 6-APA en 0,69 g HPGM af en breng ze samen in een de reageerbuis. *(voor een lesuur van 50 minuten raden we aan om het afwegen een les van tevoren te doen)*
- Voeg 20 mL demi water toe en suspendeer de twee stoffen door ca. 1 minuut goed te schudden. Het geheel wordt troebel en wit.
- Voeg nu 4 mL enzymoplossing toe.
- Houd je hand om de reageerbuis (om licht te verwarmen) en schud regelmatig tot je de oplossing helder ziet worden. Dit duurt 5-15 minuten. Je weet nu dat de reactie gaande is.
- Blijf daarna verder schudden tot de inhoud van de reageerbuis melkachtig wit wordt. Dit duurt 10-20 minuten.
- **Tip:** zodra de inhoud van je buis troebel is geworden kun je met een pipetje 1 mL van de inhoud bij klasgenoten in de buis spuiten. Daarmee versnel je de troebeling.
- De witte stof die nu is ontstaan is amoxicilline.

Experiment: Antibacteriële werking van je product

Doel(en) van de proef:

- uitzoeken of je syntheseproduct (= amoxicilline) daadwerkelijk bacteriegroei kan remmen.
- Eventueel: uitzoeken of 6-APA en HPGM bacteriegroei kunnen remmen.

Benodigdheden:

- De zelfgemaakte suspensie van amoxicilline uit de voorgaande proef
- Per tweetal één (of drie) petrischalen met gesteriliseerde Agar-Agar
- Viltstift
- Een scheutje Yakult
- Kleine, ronde filtreerpapierjes (vergelijkbaar met de proef uit les 1)
- (Suspensie van 6-APA in water)
- (Suspensie van HPGM in water)

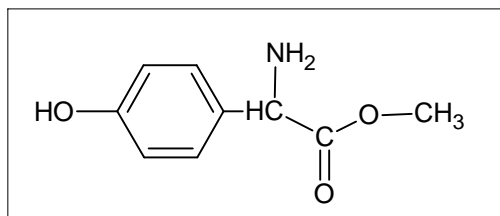
Methode:

- Schrijf met een viltstift de naam van jou en je partner onder op de petrischaal met agar-agar. En vermeld welke stof je erop gaat aanbrengen als je ook de proef met 6-APA en HPGM doet.
- Zet de brander aan. Open de petrischaal naast de brander. Zorg dus dat de agar-agar niet boven de brander komt. De warme luchtstroom voorkomt besmetting vanuit de lucht.
- Giet over iedere petrischaal met agar-agar een scheutje Yakult uit zodat er een heel dun laagje vloeistof over de agar ligt. Zorg dat je niet teveel op de open plaat ademt en sluit de schaal tot je een gedrenkt filtreerpapierje erop kunt aanbrengen.
- Drenk een filtreerpapierje in de amoxicilline suspensie en leg dit in het midden van een petrischaal met Yakult
- (Doe hetzelfde voor 6-APA en HPGM)
- Leg de petrischaal (petrischalen) in een stoof bij 37°C
- **Bekijk het resultaat tijdens de volgende les.**

Verwerkingsvragen bij practicum

Tijdens of na de proef beantwoorden jullie de volgende vragen. Gebruik bijvoorbeeld de wachttijd bij de proef voor het maken van de vragen.

59. Geef de volledige structuurformule van 6-APA (ook alle C- en H-atomen tekenen)
60. De structuurformule van HPGM is:



Zoals je ziet is dit een ester. Welk alcohol (naam geven) splitst af bij hydrolyse?

61. Geef de molecuulformule van HPGM en bereken de molecuulmassa.
62. Bij de reactie van 6-APA en HPGM ontstaat naast amoxicilline nog een stof. Geef de structuurformule van deze stof.
63. Stel dat bij een reactie de bus koud wordt (voelbaar als je de hand erom houdt; het gaat nu niet om de door jullie uitgevoerde reactie), is dan de reactie endotherm of exotherm?
64. 6-APA en HPGM reageren in de molverhouding 1 :1.
- Bereken het aantal mol HPGM door jullie gebruikt.
 - Bereken het aantal mol 6-APA door jullie gebruikt. De Mw van 6-APA is 216,3.
 - Er is een (kleine) overmaat van één van beide stoffen. Welke?
65. De structuur van amoxicilline bevat een vierkantje. Dat vierkantje speelt een rol bij de blokkering van een enzym? Welke rol?
66. Wat is de functie van een enzym (in het algemeen)? Zie ook les 6.
67. Hoe heet het enzym dat geblokkeerd wordt door amoxicilline?

Enzymen en reactiesnelheid

In de afgelopen lessen werd duidelijk dat enzym een belangrijke rol spelen in veel processen. Enzymen zorgen voor een snel verloop van reacties bij een gunstige temperatuur en druk.

Vraag

68. Geef twee voorbeelden uit de afgelopen lessen waarbij enzymen een belangrijke rol speelden.

Er bestaan veel meer enzymen dan we tot nu toe besproken hebben.

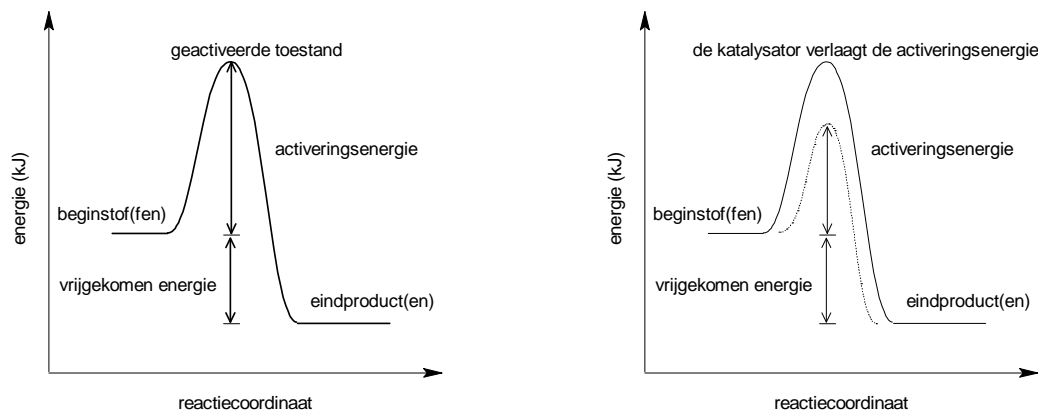
In jouw lichaam vinden op dit moment duizenden reacties plaats. Je transporteert zuurstof door je lichaam, je verbrandt voedingsstoffen, je voert afvalstoffen af. Je weert aanvallen van bacteriën en virussen af. Je maakt nieuwe lichaamcellen. Je groeit. Al deze reacties moeten op het goede moment plaatsvinden en in de goede verhoudingen. Al deze processen verlopen bij de lage temperatuur van 37 °C.

Dat kan alleen maar doordat er in ons lichaam biokatalysatoren of enzymen aanwezig zijn. Een katalysator is een deeltje dat gebruikt wordt bij een reactie. Bijzonder is dat het niet verbruikt wordt. Het deeltje kan dus steeds weer opnieuw worden ingezet.

Elke reactie moet opgestart worden. De energie die nodig is voor het opstarten van de reactie is de activeringsenergie. De beginstoffen komen dan in de geactiveerde toestand. Van daaruit reageren ze verder naar de eindproducten. Als daarbij energie afgegeven wordt aan de omgeving dan is dat een exotherme reactie. De temperatuur van de omgeving neemt toe.

De katalysator verlaagt de activeringsenergie. Daardoor verloopt de reactie makkelijker. Er verandert niets aan de beginstoffen, aan de eindproducten en aan de hoeveelheid energie die vrijkomt.

Energiediagrammen



De meeste katalysatoren kunnen maar één reactie versnellen. Dat geldt ook voor de biokatalysatoren of enzymen. Ook zij zijn specifiek en kunnen maar één (soort) reactie laten verlopen en versnellen. Enzymen werken vaak bij hele milde omstandigheden: een lage temperatuur en druk en meestal een milde pH-waarde. Dat betekent meestal ergens tussen de pH =5 en pH = 9.

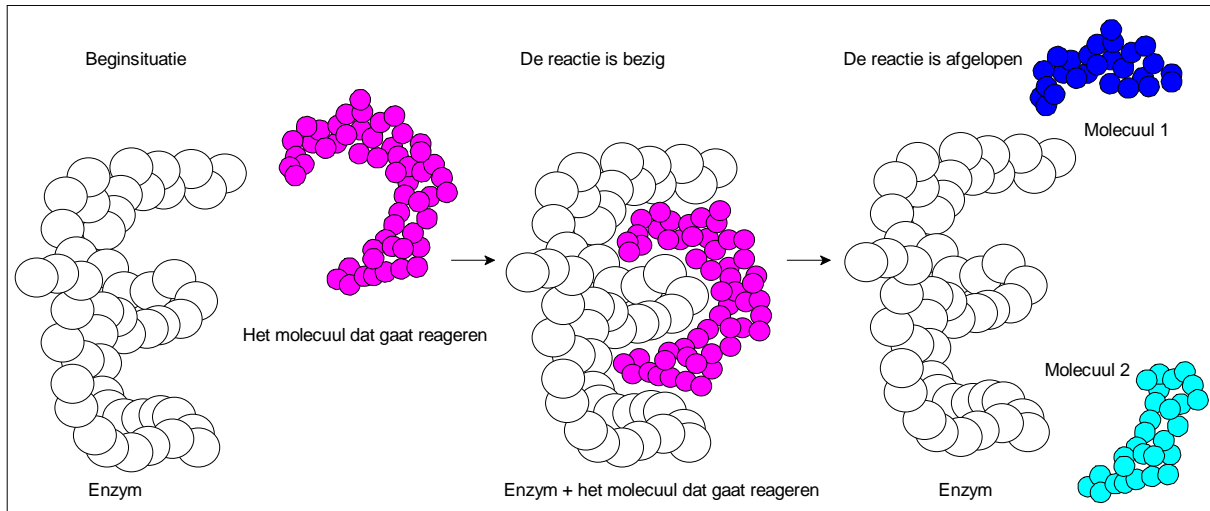
Al die duizenden processen in het menselijk lichaam verlopen door de aanwezigheid van biokatalysatoren, de enzymen. Alleen zo kunnen de reacties in het lichaam verlopen bij de lage temperatuur van 37 °C. Net zoals katalysatoren verlagen enzymen de activeringsenergie van een reactie. Een enzym zorgt ervoor dat de beginstoffen gunstig ten opzichte van elkaar komen te liggen. Ze kunnen daardoor makkelijker contact maken waardoor reacties sneller kunnen verlopen. Per minuut kan één enkele enzymmolecuul wel 500 000 keer een reactie laten verlopen. De conclusie is simpel: zonder enzymen is geen leven mogelijk.

Katalysatoren die ontwikkeld zijn door wetenschappers bevatten meestal een metaalion. Deze deeltjes zijn vaak schadelijk. Enzymen bevatten soms metaalionen. Dat is nog een reden waarom de voorkeur tegenwoordig uitgaat naar enzymen.

Werking enzym

Enzymen zijn dus heel belangrijk.

Enzymmoleculen zijn groot. Ze bevatten een holte. Maar één bepaalde karakteristieke groep past in deze holte. Vergelijk het met een slot en een sleutel. Slechts één sleutel (= molecuul) past op het slot (= enzym). Zodra de sleutel in het slot gegaan is vindt er een verandering plaats. Het molecuul reageert dan bijvoorbeeld tot twee andere moleculen.



Enzymen in de praktijk

Lees het onderstaande artikel en geef antwoord op de bijbehorende vragen.

Bron: NRC webpagina's: <http://www.nrc.nl/W2/Lab/GM/000415.html>

Betere enzymen dan de natuur maakt

Door onze redacteur MARCEL AAN DE BRUGH

GELEEN, 15 APRIL. Jeans bleken, schapehuiden ontvetten of antibiotica maken is met enzymen minder milieuvriendelijk. Een paar grote bedrijven beheersen de enzymenmarkt, zoals DSM. Starters zijn schaars.

Emmo Meijer zet een veiligheidsbril op en loopt het 'groene' laboratorium binnen. „We proberen hier antibiotica te maken op een meer milieuvriendelijke manier”, zegt Meijer, directeur onderzoek en ontwikkeling bij DSM. „Met het antibioticum cefalexine is dat al gelukt. We besparen hierdoor op grondstoffen en afvalkosten.”

Net als DSM hebben veel chemische bedrijven hun productieprocessen de laatste jaren 'vergroend'. Zo wordt bij het ontvetten van schapehuiden - voor de productie van leer - geen gebruik meer gemaakt van het dure en milieubelastende paraffine. Het werk is overgenomen door speciale enzymen, zogeheten lipases. Het proces levert daardoor veel minder milieubelastende afvalstoffen op.

Een ander voorbeeld: het bleken van jeans. Dat gebeurt niet langer onder toevoeging van agressieve zuren en steengruis. In plaats daarvan worden nu speciale enzymen, cellulases, uit bacteriën gebruikt. Deze enzymen verwijderen de indigo-kleurstof en geven de jeans een ruig, versleten uiterlijk. Door het gebruik van enzymen bespaart de jeansfabrikant tijdens het productieproces vele duizenden liters water. Bovendien kan hij nu veel meer variëren in zijn productieproces. Steengruis moet je niet te lang loslaten op je textiel, dan gaat de stof kapot. Maar met enzymen is de stof beter te manipuleren. Een beetje vaal, medium-vaal, extra-vaal. De collectie jeansartikelen groeit.

Door gebruik van enzymen kunnen bedrijven tegemoetkomen aan strengere milieueisen. Jaarlijks wordt voor ongeveer 1,5 miljard dollar aan enzymen verkocht. Dat kan nog flink stijgen, volgens de Organisatie voor Economische Samenwerking en Ontwikkeling. Twee jaar geleden publiceerde de OESO het rapport 'Biotechnologie voor schone industriële producten en processen'. Enzymen hebben nu al toepassingen in onder meer textiel- en leerindustrie, de papier- en pulpindustrie, de voedingsmiddelenindustrie en de fijnchemie.

Meijer noemt enzymen interessant omdat ze chemische reacties versnellen en in alle vormen van leven voorkomen. Voor industrieel gebruik worden ze hoofdzakelijk uit bacteriën, schimmels en planten gehaald. „En daar komt de biotechnologie kijken”, zegt Meijer. „Met DNA-technieken kunnen we de erfelijke informatie voor

een enzym overplaatsen in een bacterie of een schimmel die we hier in onze laboratoria veel gebruiken. Dat organisme gaat vervolgens het gewenste enzym in grote hoeveelheden produceren", aldus Meijer.

In Nederland zijn amper startende biotech-bedrijven die zich op de enzymenmarkt begeven. De wereldmarkt is voor driekwart in handen van DSM en het Deense Novo Nordisk. Het is moeilijk voor een startend bedrijf om op die markt een plek te veroveren. Een van de weinige Nederlandse bedrijven die het waagt is het Leidse Plantzyme, producent van het enzym fytase. Dit wordt toegevoegd aan veevoer. Daardoor zit er minder fosfor in de uitwerpselen van varkens, wat het milieu minder belast.

Voor DSM is biotechnologie sinds de overname van Gist-Brocades in 1998 een belangrijke „tak van sport" geworden, aldus Meijer. Het gistbedrijf uit Delft richtte zich al jaren op de productie van antibiotica, bakkersgist en enzymen voor de voedingsindustrie. Volgens Meijer is meer dan de helft van het onderzoek binnen DSM's cluster Life Sciences Products nu biotechnologisch getint. De uitgaven aan onderzoek en ontwikkeling binnen dit cluster bedroegen vorig jaar 93 miljoen euro, de omzet ruim 1,6 miljard euro.

Een bewijs voor het nut van enzymen is de productie van het antibioticum cefalexine. Een aantal jaren geleden maakte DSM dit antibioticum nog grotendeels via chemische synthese, in elf stappen. Het proces is nu vereenvoudigd. Chemicaliën zijn deels vervangen door enzymen. Het proces kost nu nog maar zes stappen. „Het grondstoffengebruik ligt lager en we hebben nu veel minder afval", zegt Meijer. Dat maakt bijvoorbeeld de kosten van afvalwaterzuivering lager, en daarmee de kostprijs. En dat is weer van belang in een markt die de laatste jaren gekweld wordt door overproductie en lage prijzen.

DSM wil graag marktleider blijven in antibiotica. Deze medicijnen beslaan 11 procent van de totale geneesmiddelenmarkt. De wereldmarkt heeft een omvang van 35 miljard euro en groeit 3 tot 4 procent per jaar. DSM is vooral sterk in de zogeheten beta-lactam antibiotica, die 50 procent van de antibioticamarkt beslaan.

Voor de toepassing van enzymen ziet Meijer talloze mogelijkheden. „Het arsenaal van natuurlijke enzymen is nog lang niet uitgeput." Bovendien, zo zegt hij, is het met moderne technologie mogelijk bestaande enzymen aan te passen. „Er bestaan nu technieken waarmee je de genen voor enzymen kunt shuffelen. Zo kun je stukken DNA aan elkaar plakken die de natuur nog nooit aan elkaar heeft geplakt. Dat levert soms enzymen op die veel beter werken dan hun natuurlijke evenbeeld."

Ondanks de steeds bredere toepassing van enzymen blazen chemische bedrijven hun 'groene' activiteiten niet hoog van de toren. „De gemiddelde consument interesseert zich niet voor enzympjes", meent Meijer. „Bovendien, de consument heeft een niet al te positief beeld van de chemische industrie. Dus moet je zoiets niet overschreeuwen. Dat zou wel eens wantrouwen kunnen wekken."

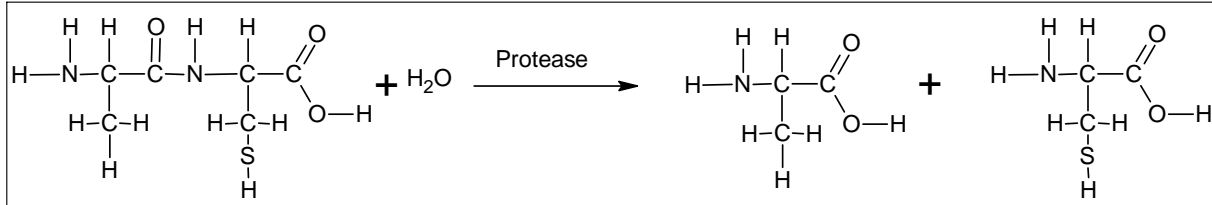
Vragen

69. In het artikel staan voorbeelden van de toepassing van enzymen in de praktijk. Geef drie voorbeelden.
70. Waarom willen bedrijven graag gebruik maken van enzymen?
71. In het artikel wordt een bewijs genoemd voor het nut van enzymen. Bijvoorbeeld voor de productie van het antibioticum cefalexine. Welk bewijs is dat? Noteer de eerste woorden en de laatste woorden van de betreffende alinea.
72. Hoe ziet Emmo Meijer de toekomst van 'enzymen'?

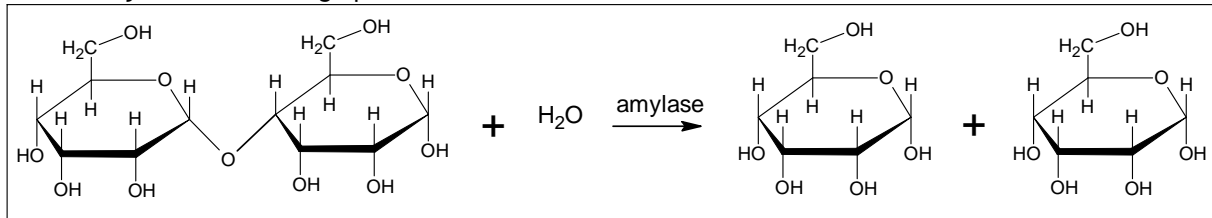
Voorbeelden van reacties met enzymen

Er bestaan dus heel veel verschillende enzymen. De namen van die enzymen eindigen op 'ase'. Een *urease* maakt het makkelijker om ureum te vormen of af te breken. Een *esterase* verlaagt de activeringsenergie om een esterbinding te vormen of te breken. Een *fosfatase* bevordert het afbreken van een fosfaatgroep van een molecuul of het koppelen aan een fosfaatgroep aan een molecuul.

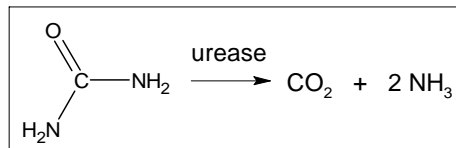
- A. Een stukje eiwit kan gehydrolyseerd worden door het enzym 'protease'. Er ontstaan aminozuren. Hieronder staat een voorbeeld van de hydrolyse van een dipeptide.



- B. Zetmeel (= amylose) kan met het enzym amylase omgezet worden in glucose. Zetmeel bestaat uit heel veel gekoppelde glucosemoleculen. Dit wordt ook wel een polysaccharide genoemd. Het enzym amylase kan glucosemoleculen van het polysaccharide afsplitsen. Amylase zit in speeksel. Hieronder een voorbeeld waarbij een disaccharide gesplitst wordt.



- C. Ureum wordt door het enzym urease omgezet in koolstofdioxide en ammoniak.



Vragen

73. Een protease komt in contact met een stukje eiwit: Ser-Ala-Lys-Gly.
 - a. Wat zijn de namen van de stoffen die dan ontstaan?
 - b. Geef de structuurformules van de ontstane stoffen.
74. Zetmeel is in aanwezigheid van jood (I_2) blauw gekleurd. Als speeksel aan dit mengsel wordt toegevoegd dan ontkleurt de oplossing langzaam. Geef hiervoor een verklaring.
75. De reactievergelijking voor de omzetting van ureum is nog niet compleet. Maak de vergelijking kloppend.
76. Bij een exotherme reactie geven de beginstoffen energie af aan de omgeving. Bij een endotherme reactie nemen de beginstoffen energie op uit de omgeving. Teken het bijbehorende energiediagram.

Hoe komen we aan enzymen?

Bacteriën kunnen enzymen maken. Denk aan het bacteriële enzym dat de celwand van een bacterie versterkt. Ook andere micro-organismen zoals schimmels en gisten zijn in staat om enzymen te produceren.

De micro-organismen groeien op een voedingsbodem. In de industrie gebruikt men daarvoor fermentoren. Dat zijn grote stalen reactoren die ervoor zorgen dat het micro-organismen voldoende voedingsstoffen krijgt. Ze zorgen ook voor de juiste temperatuur. Als er voldoende enzymmateriaal gevormd is dan worden de enzymen uit de fermentoren gehaald en gezuiverd.

Fermentoren variëren behoorlijk in omvang: van tientallen tot duizenden liters.

Zie plaatje hiernaast. Bron:

<http://www.lavallab.com/images/fermentor-production.jpg>

Op school werken we met veel kleinere hoeveelheden. We gebruiken dan meestal petrischalen met daarin een voedingsbodem.

Micro-organismen produceren dus enzymen. Maar ook andere levende wezens zoals dieren en planten doen dat.

In de komende lessen gaan we daarmee aan

de gang. We gaan enzymen uit bijvoorbeeld vruchtensappen halen. De enzymen gaan we testen op fosfatase-activiteit. Dat betekent dat we onderzoeken of het gevonden enzym in staat is om fosfaatgroepen van een molecuul af te splitsen. Daarvoor bestaat een handige testreactie.



Met een klas test je tussen de 10 en 30 verschillende bronnen op de aanwezigheid van het enzym fosfatase. Bedrijven gebruiken tegenwoordig vaak robots. Daarmee kunnen duizenden verschillende bronnen in een korte tijd onderzocht worden. Dit onderzoeksveld heet 'high throughput screening'.

Andere methoden om de reactiesnelheid te vergroten

Enzymen laten reacties razendsnel verlopen. Ze doen dat door de activeringsenergie van de betreffende reactie te verlagen. Er zijn nog andere methoden om de reactiesnelheid te vergroten:

- Verhoog de temperatuur tijdens de reactie.
- Vergroot de concentratie van de stoffen die meedoen in de reactie.
- Vergroot de verdelingsgraad.
- Kies een andere stof die reactiever is. Bijvoorbeeld een stof die onedeler is.

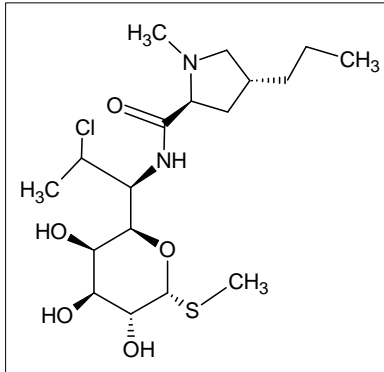
Over al deze methoden is een kenniskaart geschreven. In deze kenniskaart vind je ook *waarom* deze methoden de reactiesnelheid vergroten.

Speurtocht naar nieuwe enzymen

les 7 t/m les 9

Vragen

80. De structuurformule van het antibioticum Clindamycine staat hieronder. De gestippelde en verdikte bindingen zeggen iets over de ruimtelijke bouw van het molecuul clindamycine. Dat is voor ons niet van belang.
- Omcirkel de peptidebinding(en) in het molecuul.
 - Omcirkel welke groepen in het molecuul in aanmerking komen om te reageren met fosfaatgroepen. Hint: Bekijk de reactievergelijking van de testreactie.



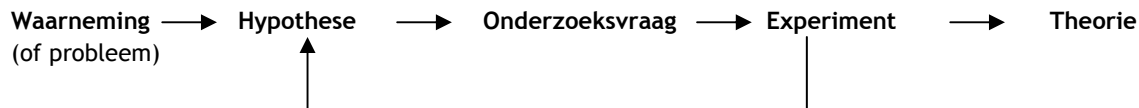
Clindamycine is een antibioticum tegen acné. Aan dit antibioticum worden fosfaatgroepen vastgekoppeld. Het antibioticum wordt vervolgens verwerkt in een gel. Doordat er fosfaatgroepen aan het antibioticum zijn vastgekoppeld wordt het gemakkelijker opgenomen door je huid.

En nu jij!

Het is mooi dat bedrijven speuren naar enzymen maar het is natuurlijk veel spannender om dat zelf te doen. En wie weet spoor jij een fosfatase op dat gebruikt kan worden bij de synthese van een nieuw antibioticum!

Onderzoeksaanpak

Wetenschappers hebben vastgesteld dat er enzymen zijn die fosfaatgroepen van moleculen kunnen afhalen. Ze willen graag meer weten over de eigenschappen van fosfatases. Daarom gaan ze op zoek naar nieuwe fosfatases. Voor de onderzoeksaanpak maken ze - net zoals Fleming - gebruik van de natuurwetenschappelijke methode. Jullie gaan dat ook doen.



Vragen

81. Jullie gaan op zoek naar een fosfatase.
- Welk probleem gaan jullie proberen op te lossen?
 - Welke hypothese stellen jullie op?
 - Wat is jullie onderzoeksvraag? Of: welke onderzoeksvragen hebben jullie?
 - Welke experimenten gaan jullie doen?
 - Hoe kunnen jullie experimenten de bestaande theorie aanvullen?

Aan de gang met je eigen onderzoek

Zorg dat jullie weten hoeveel tijd het onderzoek mag kosten. Zijn dat drie lessen? Of meer? Of juist minder? Zorg dat jullie de antwoorden op de vraag over de natuurwetenschappelijke methode hebben beantwoord en besproken.

Bron bepalen

De bron van het enzym fosfatase mogen jullie zelf bepalen. Er is één belangrijke voorwaarde: de bron moet wel veilig zijn. Alles wat wij als voedsel gebruiken kun je als veilig beschouwen. Let wel op de houdbaarheidsdatum. Fruit en groenten kunnen dus een bron voor fosfatase zijn. Dat betekent ook dat de micro-organismen (bacteriën(!), schimmels en gisten) afvallen. Bedrijven gebruiken wel vaak micro-organismen, maar daardoor is het voor ons juist interessant om ergens anders te gaan zoeken.

Gebruik al je creativiteit om een geschikte bron van fosfatase te vinden. Denk daarbij aan de volgende zaken:

- Beschikbaarheid van de bron
- Prijs van de bron
- Houdbaarheid van de bron
- Kun je het enzym makkelijk uit de bron halen? En: Bevat de bron veel van het enzym?
- Jullie kunnen natuurlijk meerdere bronnen proberen, maar dat gaat wel veel tijd kosten. Het maakt de kans op succes wel groter. (Tip: ook Engelstalige sites bevatten veel nuttige informatie. Denk eraan dat de f klank in het engels vaak geschreven wordt als ph. Fosfatase spel je dan als phosphatase) Loop je vast vraag dan je docent om de link van een artikel met informatie.

Enzym uit de bron halen

Hoe komen jullie aan je bron? En: hoe halen jullie het enzym uit deze bron? Denk hierbij aan de volgende zaken:

- Enzymen zijn kwetsbaar. Bewaar ze dus het liefst zo kort mogelijk. Elke dag dat je langer wacht gaat een deel van de activiteit verloren.
- Enzymen kunnen slecht tegen temperatuur en een afwijkende zuurgraad. Bewaar het enzym dus gekoeld. Over de pH waarbij jullie de testreactie gaan uitvoeren lezen jullie verderop.
- Enzymen werken normaal gesproken in de cel van een levend wezen. Dat betekent dus dat ze meestal in oplossing werken. Een 'sap' is dus meestal een goede bron van enzymen. Moet je nog vocht toevoegen om een 'sap' te maken of bevat de bron zelf al genoeg vocht.
- Welke gereedschappen heb je nodig om een 'sap' van je bron te maken?

De testreactie

Als alles goed gegaan is hebben jullie nu de beschikking over een gekoelde 'sap' met daarin hopelijk het enzym fosfatase. Een klein beetje van het sap gaan jullie gebruiken voor de testreactie.

Vragen

82. Welke kleurverandering verwacht je als er een fosfatase in jullie 'sap' aanwezig is?
83. Stel dat jullie de goede kleurverandering waarnemen. Weet je dan zeker dat er een fosfatase in jullie 'sap' zat?
84. Fosfaationen kunnen een neerslag geven met positieve ionsoorten. Geef de reactievergelijking tussen Ca^{2+} -ionen en fosfaationen.

Materiaal voor de testreactie

stoffen

natriumacetaattrihydraat ($\text{NaCH}_3\text{COO}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$)	ca. 8,1 gram
ijsazijn (zuiver azijnzuur = CH_3COOH)	ca. 1,9 mL
demi-water	
dinatrium-p-nitrofenylfosfaat	ca. 73 mg
natriumcarbonaatdecahydraat ($\text{Na}_2\text{CO}_3\cdot 10\text{H}_2\text{O}$)	ca. 9,7 gram
natriumwaterstofcarbonaat (NaHCO_3)	ca. 6 gram
pH indicatorpapier	

andere materialen (glaswerk)

waterbad (37°C)
maatkolf 1L, 100 mL en 200 mL
voldoende reageerbuisen en erlenmeyers/bekerglazen
pipet waarmee 0,5 tot 2,5 mL (of 5 mL) is af te meten
(Evt. UV-VIS spectrofotometer (filter 440 nm) + cuvetten)

Methode voor de testreactie

Denk aan de normale veiligheidsmaatregelen! Witte jas, bril enz.!

1. Zet het waterbad op 37°C en laat het op temperatuur komen. (Waarschijnlijk staat dit al klaar in het lokaal).
2. Maak een acetaat buffer van pH 5,0. Waarschijnlijk staat deze bufferoplossing voor jullie klaar. (een buffer is een oplossing waarvan de zuurgraad vrij constant blijft. Dit is belangrijk om het enzym actief te houden). Doe dit als volgt:
 - Weeg 8,1 g natriumacetaattrihydraat af
 - Breng dit over in een maatkolf van 1L
 - Meet 1,9 mL ijsazijn af en voeg dit toe aan de maatkolf. Doe dit samen met de TOA of docent. Ijsazijn is gevaarlijk.
 - Vul de maatkolf met demi-water aan tot 1L
 - Meet met een pH papiertje de zuurgraad. Deze zou pH 5 moeten zijn.
 - Dit is ruim voldoende voor het experiment. Je kunt dit ook met een ander groepje delen. Met meer verdund azijnzuur kun je ook een kleinere hoeveelheid buffer maken. Je hebt voor een normaal experiment ca. 125 mL buffer nodig.
3. Maak een carbonaat buffer van pH 10,0. Waarschijnlijk staat deze bufferoplossing al klaar. (bij hoge pH wordt het enzym uitgezet en krijgt p-nitrofenol zijn gele kleur)
 - Weeg 9,7 g natriumcarbonaatdecahydraat (kristalsoda) af
 - Breng dit over in een maatkolf van 200 mL
 - Weeg 6 g natriumwaterstofcarbonaat (zuiveringszout) af en doe dit ook in de maatkolf
 - Vul de maatkolf met demi-water aan tot 200 mL
 - Meet met een pH papiertje de zuurgraad. Deze zou pH 10 moeten zijn.
 - Dit is genoeg buffer voor 10 metingen. Heb je meer nodig, dan zul je meer buffer moeten maken.
4. Maak een standaardoplossing van het dinatrium-p-nitrofenylfosfaat
 - Weeg op een nauwkeurige balans 73 mg dinatrium-p-nitrofenylfosfaat af
 - Breng dit over in een maatkolf van 100 mL
 - Vul de maatkolf aan tot 100 mL met demi-water
 - De oplossing zou kleurloos moeten zijn!
5. Maak een algemene blanco
 - Meng in een reageerbuis 5 mL standaardoplossing met 2 mL acetaatbuffer
6. Maak je enzymoplossing(en)
 - Meng per bron in een reageerbuis 5 mL standaardopl. met 2 mL van je enzym 'sap'
7. Maak je 'sap' blanco
 - Meng per bron in een reageerbuis 5 mL acetaatbuffer met 2 mL van je enzym 'sap'

Speurtocht naar nieuwe enzymen

les 7 t/m les 9

Zorg dat je je reageerbuizen voorzien hebt van een sticker of dat je met viltstift duidelijk hebt aangegeven wat er in zit!

8. Zet de reageerbuizen in het waterbad van 37°C. Start de tijdwaarneming (stopwatch).
9. Zet kleine erlenmeyers (of beerglaasjes) klaar met 20 mL carbonaatbuffer
10. Neem na 15 minuten per reageerbuis een monster van 0,5 mL en voeg dat toe aan een erlenmeyer met carbonaat. Als er fosfataseactiviteit is geweest dan is het monster geel geworden.
11. Vergelijk de 'sap' monsters met de blanco's.
12. (In overleg met je leraar: meet de absorptie van ieder monster in een UV-VIS spectrofotmeter bij 440 nm. Gebruik de acetaatbuffer als referentie. Dit geeft een maat voor de geelkleuring en dus voor de enzymactiviteit.)
13. Vergelijk je resultaten met je klasgenoten.

Vragen

85. Welke conclusie kan uit jullie onderzoek getrokken worden?

Verdieping

- Zoek uit of jullie de meeste actieve fosfatase oplossing van de klas hebben.
- Voer de proef uit zoals hierboven beschreven maar zorg dat en meteen voldoende erlenmeyers met carbonaat-buffer klaar staan om snel metingen te kunnen verwerken. Zorg ook voor een timer.
- Start de tijd als je de enzymoplossing toevoegt aan de standaardoplossing met p-nitrofenylfosfaat.
- Neem om de twee minuten een sample van 0,5 mL van het enzym/standaardoplossing mengsel en voeg die zo snel mogelijk toe aan een erlenmeyer met 20 mL carbonaatbuffer. Dit stopt de reactie.
- Na 16 minuten zijn er 8 monsters genomen.
- Meet van elke erlenmeyer de absorptie in een UV-VIS meter met een filter van 440 nm. Noteer van alle monsters de absorptie. Breng hiervoor steeds 1 mL oplossing over naar een schone cuvet.
- Verwerk de gegevens in een grafiek en trek een vloeiende lijn door de punten.
- Het tweetal waarbij de toename van absorptie het snelste is (de meest steile lijn in de grafiek) heeft de meest actieve fosfatase oplossing te pakken.

Contextvragen

Aan het begin van de module zijn twee vragen gesteld:

**Wordt het antibioticum van de toekomst gemaakt door de mens of door een micro-organisme?
en:
Hoe kunnen leerlingen uit 5 havo een bijdrage leveren aan de ontwikkeling van een antibioticum?**

86. Beantwoord de eerste contextvraag. Noteer argumenten. Bediscussieer met je klasgenoten de genoteerde antwoorden.
87. Kunnen leerlingen uit 5 havo een bijdrage leveren aan de ontwikkeling van een antibioticum? Noteer ook bij deze vraag een aantal argumenten. Bespreek deze met je klasgenoten.

Hoe gaat het verder? Een korte vooruitblik

De penicilline die Alexander Fleming ontdekte werd gemaakt door micro-organismen uit de natuur. Onderzoekers over de hele wereld proberen tegenwoordig met behulp van DNA-technieken micro-organismen te veranderen zodat ze nuttige stoffen - zoals nieuwe enzymen - maken die niet in de natuur voorkomen. Zo kunnen uiteindelijk nieuwe antibiotica ontwikkeld worden. DSM is nu op zoek naar een organisme dat in één keer amoxicilline maakt. Dat is sneller en goedkoper dan de methode die uit twee stappen bestaat en die besproken is in de module.

Vraag

88. Welke redenen voor dit onderzoek kwamen in de module naar voren?

Op lange termijn: de synthetische biologie

Maar de ontwikkelingen gaan door. Het erfelijk materiaal, het DNA, wordt niet alleen veranderd. Het wordt opnieuw ontworpen. Wetenschappers willen nieuw leven ontwerpen en van de grond af opnieuw opbouwen. Deze nieuwste ontwikkeling heet de **synthetische biologie**. Scheikundigen, biologen, ingenieurs en computerdeskundigen werken samen om nieuwe biologische systemen met nieuwe eigenschappen te maken. Toponderzoekers spreken zelfs van een 'technologische revolutie'.

“Ze voorspellen dat kunstmatige bacteriën ingezet kunnen worden voor het maken van schone energie. Dat dure malariamedicijnen veel goedkoper geproduceerd kunnen worden. Maar ook met per e-mail besteld synthetisch DNA een virus bouwen“.

Bron: <http://www.rathenau.nl/downloadfile.asp?ID=1225> September 2007

In Nederland adviseert Het Rathenau Instituut in Den Haag de Tweede Kamer over nieuwe technologische ontwikkelingen. Zij zeggen: “Het zal nog vele jaren duren voordat er een volledig kunstmatige cel gemaakt wordt. Maar met de huidige kennis van erfelijke informatie (genomics) en de ontwikkelingen in de nanotechnologie en de IT ontwikkelt dit vakgebied zich razendsnel.”

Het zal dus nog jaren duren voor nieuwe antibiotica ontwikkeld worden vanuit de synthetische biologie.

Bijzonder is dat er dus in onze tijd weer een heel nieuw vakgebied ontstaat. Een vakgebied met nieuwe wetenschappelijke vragen. Tegelijkertijd een vakgebied dat gevolgen kan hebben voor de samenleving. Zoiets roept vragen op waarover de samenleving verder moet nadenken. Het Rathenau Instituut geeft een paar voorbeelden van die vragen:

1. Zijn de nieuwe stoffen die gemaakt kunnen worden veilig voor mensen?
2. Kunnen deze stoffen misbruikt worden voor bijvoorbeeld terroristische aanvallen?
3. Wie is straks de eigenaar van deze nieuwe stoffen? De overheid, of de onderzoeker, of...?
4. Als je kunstmatige cellen hebt gemaakt dan is dat leven. Moeten mensen wel kunstmatig leven maken?

In deze module gaan we verder niet in op de synthetische biologie. Het vakgebied is daar nog te nieuw voor.

Vraag

89. Kijk nog één keer terug naar het begrippenweb van les 1. Wat kun je nu nog toevoegen?

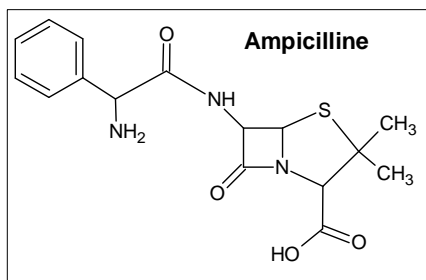
Een oefentoets

De module zit erop. Binnenkort krijg je een toets over de module.

Maak bij de voorbereiding van de toets gebruik van de kenniskaarten. Hierin vind je alle informatie beknopt bij elkaar.

Vragen van de oefentoets

90. Penicilline is lang bekend geweest als een wondermiddel.
- Noteer twee redenen waarom penicilline als wondermiddel bekend stond.
 - Waarom werd penicilline minder populair?
91. Een Agar-Agar plaat wordt besmet met precies twee bacteriën. De bacteriesoort deelt zich precies elk uur.
- Hoeveel bacteriën zijn er dan - theoretisch - na 12 uur?
 - In de praktijk zijn er veel minder bacteriën ontstaan. Geef een mogelijke verklaring.
92. Beschrijf de stappen van de Natuurwetenschappelijke methode.
93. Ampicilline is antibioticum dat veel lijkt op penicilline en amoxicilline. Hieronder staat de structuurformule. Teken de complete structuurformule van ampicilline. Dus met alle C- en H-atomen.



94. Met behulp van een peptidase kan de peptidebinding in ampicilline worden verbroken. Daarbij wordt de β -lactamgroep ongemoeid gelaten. Geef de reactievergelijking in structuurformules.
95. Esters reageren net zoals aminozuren onder afsplitsing van water. De OH-groep van een alkanol en de OH-groep van een zuur reageren met elkaar.
- Geef de reactievergelijking in structuurformules van de reactie van ethanol met propaanzuur. Het product heeft ethylpropanoaat.
 - Enzymen verlagen de activeringsenergie van een reactie. Er bestaan ook andere katalysatoren. De reactie tussen ethanol en propaanzuur wordt gekatalyseerd door H⁺-ionen. De reactie is exotherm. Schets het energiediagram. Noteer duidelijk: ethanol, propaanzuur, ethylpropanoaat, effect katalysator, activeringsenergie en vrijgekomen energie.
 - Boten bevatten vaak onderdelen die van polyester gemaakt zijn. Poly betekent 'veel'. Er zitten dus veel 'estergroepen' in een polyester. Welke grondstof(fen) heb je nodig voor de vorming van een polyester?
96. De celwand van bacteriën bestaat uit peptidoglycaan. Beschrijf globaal uit welke onderdelen peptidoglycaan is opgebouwd.
97. Jullie hebben gewerkt met de eerste versie van de module 'Antibiotica'. Welke tips wil je de schrijvers van de module meegeven? We zijn heel benieuwd! Stuur je ideeën, tips en (type)fouten op naar info@scheikundeinbedrijf.nl.

Kenniskaarten

Kenniskaarten bevatten beknopt de theorie uit de module. Er zijn ook kenniskaarten die een herhaling geven van leerstof die eerder aanbod gekomen is. Tot slot zijn er een aantal kenniskaarten die extra informatie geven.

In overzicht:

Kenniskaart	soort informatie	hoort bij les
1. Micro-organismen	voorkennis, leerstof	1 en 3
2. Antibiotica	leerstof	1 en 2
3. Penicilline	leerstof	2 en 3
4. Onderzoek, hoe doe je dat?	leerstof	2 en 7 t/m 9
5. Structuurformules	voorkennis, leerstof	4
6. Naamgeving organische chemie	voorkennis, leerstof	4
7. Eigenschappen van alkanolen, alkaanzuren, alkaanaminen en aminozuren.	leerstof	4
8. Condensatiereacties	leerstof	4
9. Enzymen	leerstof	3 en 6
10. Reactiesnelheid	leerstof	6
11. Responsible Care	informatie	1 t/m 6

<p>Kenniskaart 1</p>	<h2>Micro- organismen</h2>
<div data-bbox="220 465 539 728" data-label="Image"> <p>The diagram shows a rod-shaped bacterium with various internal and external structures. Labels include: cytoplasma (the internal fluid), pili (short hair-like structures), DNA (a circular molecule), celwand (the outer cell wall), plasmamembraan (the inner plasma membrane), and flagellen (long, whip-like structures for movement).</p> </div> <p><i>Vergisting van glucose</i></p> $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$ <p>glucose ethanol koolstofdioxide</p>	<p>Bacteriën zijn zeer kleine eencellige organismen zonder kern. Ze worden prokaryote organismen genoemd en kunnen zich door celdeling erg snel voortplanten.</p> <p>Je kunt bacteriën niet met het blote oog zien en je komt ze overal in de natuur tegen. Er leven zelfs miljoenen bacteriën op en in je lichaam. Ze zitten op je huid, in je mond en darmen. Bacteriën kunnen je beschermen tegen schimmels, virussen en andere bacteriën. Sommige bacteriën zijn zelfs van levensbelang omdat ze voor een belangrijk deel onze spijsvertering regelen.</p> <p>Een ander voorbeeld van een nuttige bacterie is de bacteriestam die yoghurt uit melk maakt. De suikers in de melk worden omgezet in melkzuur.</p> <p>Maar bacteriën kunnen ook schadelijk zijn. De melkzuurbacteriën in je mond zorgen voor tandbederf. Bacteriën kunnen ook hele vervelende ziektes veroorzaken zoals blaasontsteking, hersenvliesontsteking, tuberculose en longontsteking. Ook zijn ze de belangrijkste oorzaak van wondinfecties.</p> <p>Het is belangrijk dat we bacteriën kunnen bestrijden bijvoorbeeld met een antibioticum, een stof die bacteriegroei remt.</p> <p>Schimmels Schimmels zijn eukaryote organismen, deze organismen bevatten cellen met een kern (sommige schimmels hebben meerdere kernen). Schimmels hebben een uitwendige voorvertering en een diffuus lichaam, dat bestaat uit schimmeldraden. Schimmels planten zich over het algemeen voort met sporen.</p> <p>Gisten Sommige schimmels zijn eencellig. De eencellige schimmels noemt men gisten. Gisten onderscheiden zich van bacteriën doordat ze een celkern hebben, daarnaast zijn ze ook groter.</p> <p>Een voorbeeld is biergist Ze groeien en vermenigvuldigen zich onder aerobe omstandigheden. Onder anaerobe (geen zuurstof aanwezig) omstandigheden produceren ze ethanol.</p>

Kenniskaart 2	Antibiotica
<p>Er zijn twee redenen waarom antibiotica niet zomaar gebruikt moeten worden.</p> <p>De eerste reden is dat sommige mensen een allergische reactie op penicilline krijgen.</p> <p>De tweede reden om terughoudend te zijn met het toedienen van penicilline zit in het aanpassingsvermogen van bacteriën. Bacteriën kunnen zich aanpassen. De bacterie is dan resistent geworden. Om deze bacterie te bestrijden is dan een ander antibioticum nodig.</p>	<p>Gisten, schimmels en bacteriën zijn micro-organismen die grote farmaceutische bedrijven vaak gebruiken om een antibioticum te produceren. Een antibioticum is een stof die bacteriegroei kan remmen.</p> <p>Micro-organismen kunnen, om zichzelf te verdedigen, voedingsstoffen omzetten in een antibioticum. Andere vijandelijke organismen kunnen niet tegen dat antibioticum en gaan dood. Elk micro-organisme maakt een ander antibioticum en niet alle antibiotica zijn direct bruikbaar voor de mens. Vaak kun je een antibioticum veel effectiever maken door het het werkzame molecuul aan te passen.</p> <p>Bij bijvoorbeeld een longontsteking of een bacteriële infectie schrijven artsen penicilline G, een antibioticum voor. Het antibioticum wordt via een infuus toegediend of ingespoten in een grote spier. Inname via de mond kan niet omdat penicilline G in de maag wordt afgebroken door het maagsap.</p> <p>Penicilline G kan in amoxicilline worden omgezet. Dit antibioticum heeft vrijwel dezelfde werking als penicilline G. Het grote verschil met penicilline G is dat het wel via de mond ingenomen kan worden. Bijvoorbeeld in de vorm van een tablet of een drankje. Amoxicilline is het meest voorgeschreven antibioticum ter wereld.</p> <p>Hardnekkige infecties kunnen alleen bestreden worden met antibiotica. In Nederland zijn artsen terughoudend met het voorschrijven van antibiotica. In Frankrijk schreven artsen in 2006 per patiënt ongeveer 2 keer zoveel antibiotica voor als in Nederland.</p> <p>Virussen kunnen niet bestreden worden met antibiotica. Virussen bestaan niet uit cellen, ze hebben een gastheercel nodig om zich te vermenigvuldigen. Als je met antibiotica de gastheercelen doodt, zou je je eigen cellen moeten doden; het virus blijft in leven.</p>

Kenniskaart 3	Penicilline
<div data-bbox="247 454 582 698" data-label="Image"> </div> <div data-bbox="204 1406 593 1653" data-label="Chemical-Block"> <p style="text-align: center;">Penicilline G</p> </div> <p data-bbox="188 1742 609 1803"><i>Penicilline G heet in de volksmond penicilline.</i></p> <p data-bbox="188 1836 609 1921"><i>In de module gebruiken we de namen penicilline G en penicilline door elkaar.</i></p> <p data-bbox="188 1960 609 2020"><i>Bij DSM noemen ze penicilline G meestal PenG.</i></p> <p data-bbox="188 2056 609 2116"><i>Met penicilline bedoelen wij dus steeds penicilline G.</i></p>	<p data-bbox="641 353 1310 510">In Nederland is de levensverwachting van mannen sinds 1950 met ongeveer 7 jaar toegenomen. De toename is ontstaan doordat vanaf 1900 de hygiënische omstandigheden verbeterden en door de ontdekking van penicilline.</p> <p data-bbox="641 571 746 600">Werking</p> <p data-bbox="641 604 1294 757">Een antibioticum is in staat om de groei van bacteriën te remmen. Penicilline zorgt ervoor dat de bacterie geen stevige celwand meer kan bouwen. De bacterie kan zich niet verder vermenigvuldigen. De nieuwe bacteriën lopen als het ware leeg, ze liseren.</p> <p data-bbox="641 790 1310 1187">De celwand van een bacterie is opgebouwd uit lange ketens, de lange ketens worden onderling verbonden met kleine stukjes eiwit. De celwand wordt steviger. Deze koppeling gebeurt niet zomaar. De bacterie heeft een enzym dat ervoor zorgt dat de kleine stukjes eiwit reageren met de lange ketens. Het enzym in de bacterie kan géén onderscheid maken tussen de structuur van penicilline en het kleine stukje eiwit. Dat komt doordat een klein gedeelte van het penicilline- en het eiwitmolecuul heel sterk op elkaar lijken. De penicilline bindt aan het enzym (in het actieve centrum), waardoor de bacterie geen stevige celwand meer kan bouwen.</p> <p data-bbox="641 1243 1093 1272">Penicilline kan geïnactiveerd worden.</p> <ul data-bbox="737 1276 1294 1579" style="list-style-type: none"> - Door hydrolyse van de penicilline in de maag. - Doordat de bacteriën een enzym gaat maken. Dit enzym zorgt ervoor dat het β-lactamgroep (het vierkant) in het penicillinemolecuul kapot gaat. Het penicillinemolecuul kan dan niet meer reageren met het bacterieel enzym dat nodig is voor het maken van de bacteriecelwand. <p data-bbox="641 1619 778 1648">Toekomst</p> <p data-bbox="641 1653 1294 1769">Bedrijven investeren nog steeds veel in antibiotica. Er is veel gesleuteld aan penicilline om antibiotica te ontwikkelen die stabiel zijn en makkelijker toegediend kunnen worden.</p> <p data-bbox="641 1774 1294 1890">Bestaande micro-organismen worden aangepast zodat deze sneller en/of efficiënter antibiotica produceren. De onderzoekers proberen zelfs micro-organismen te maken die nieuwe antibiotica produceren.</p> <p data-bbox="641 1895 1294 2018">Eén van de manieren om antibiotica efficiënter en goedkoper te produceren is het inzetten van enzymen. Bedrijven zoeken naar geschikte enzymen in de natuur om gewenste omzettingen voor elkaar te krijgen.</p>

Kenniskaart 4

Onderzoek, hoe doe je dat?



Louis Pasteur

In 1877 stierf veel vee door miltvuur (antrax). In de urine van de zieke dieren werden micro-organismen aangetroffen. Pasteur voegde wat bacteriën toe aan de urine en de miltvuursporen groeiden niet verder.

In 1877 toonde **Louis Pasteur** aan dat een micro-organisme door een ander micro-organisme gedood kan worden.

In 1928 vond Alexander Fleming dat een schimmel uit de *Penicillium* familie in staat was om bacteriegroei te stoppen.

Louis Pasteur en Alexander Fleming waren onderzoekers. Ze voerden proeven uit en zochten verklaringen bij hun resultaten.

Fleming bedacht een hypothese, een mogelijke verklaring. Die hypothese onderzocht hij door proeven te doen.

Zijn hypothese luidde: de schimmel produceert een stofje, een antibioticum. Het antibioticum zorgt ervoor dat de bacterie niet verder groeit. Antibioticum betekent "tegen het leven" (van bacteriën). Fleming deed proeven met het antibioticum. Hij keek door een microscoop en zag dat de bacteriegroei afnam. Er ontstonden geen compleet nieuwe celwanden. De nieuwe bacteriecellen liepen leeg voordat ze compleet waren. De hypothese klopte. Fleming kon een nieuwe theorie opstellen.

Die nieuwe theorie zou hij als volgt hebben kunnen opschrijven:

De onderzochte schimmel produceert een bacteriegroeiremmend stofje, een antibioticum. In aanwezigheid van dit stofje groeien bacteriën niet verder. De bacteriën lyseren, ontleden.

Een experiment bevestigt lang niet altijd de hypothese. Je zult dan een nieuwe hypothese moeten opstellen. Pas als de proeven de hypothese bevestigen kan een nieuwe theorie opgesteld worden.

In schema:



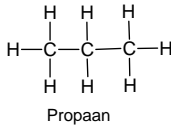
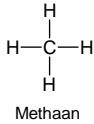
Een natuurwetenschappelijk onderzoek gaat als volgt.

- Je noteert alle waarnemingen
- Je probeert een verklaring voor je waarnemingen te vinden (hypothese opstellen).
- Na het opstellen van de hypothese ontstaat je onderzoeksvraag.
- Met een experiment probeer je na te gaan of hypothese klopt. Je moet goed nadenken over de werkwijze van je experiment, omdat de omgeving je resultaten kan beïnvloeden.
- Als het resultaat van het experiment niet overeenkomt met de hypothese moet je een nieuwe hypothese opstellen (Je krijgt door de resultaten van het experiment nieuwe vragen, zodat je een nieuwe hypothese moet opstellen).

Zo loop je steeds een cyclus door tot de hypothese juist is en dan heb je een nieuwe theorie vastgesteld.

Kenniskaart 5

Structuurformules



BINAS tabel 67

Structuurformules worden gebruikt om een eenvoudige ruimtelijke weergave van een molecuul te geven.

De structuurformule geeft informatie over de bouw van een molecuul, omdat alle atomen met de bindingen tussen die atomen weergegeven worden.

Koolwaterstoffen

Koolwaterstoffen bestaan uit een koolstofskelet. Aan de koolstofatomen kunnen andere niet-metalen aan gebonden worden. De bindingen tussen de atomen zijn atoombindingen.

De atoombindingen worden gevormd door gemeenschappelijke elektronenparen. Een koolstofatoom vormt altijd vier atoombindingen. Een waterstofatoom maakt één atoombinding, een zuurstofatoom en een zwavelatoom vormt twee- en een stikstofatoom drie bindingen. Het aantal atoombindingen dat een atoom kan vormen noem je **covalentie**. De molecuulformule van de eenvoudigste koolwaterstof, methaan is CH_4 . Aan het C-atoom zijn 4 H-atomen gebonden. Controleer in de structuurformules hiernaast of de structuur van propana voldoet aan de covalentieregels.

Om de structuurformule overzichtelijk te houden worden de H-atomen vaak weggelaten uit de tekening.

$$\text{H}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{H}$$

Octaan, C_8H_{18}

$$\text{H}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{H}$$

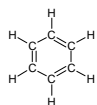
Octaan, C_8H_{18} (overzichtelijker)

$$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$$

Octaan, C_8H_{18}

Je mag de H-atomen weggelaten maar je MOET persé de streepjes aan de C-atomen tekenen. Het volgende voorbeeld is dus fout:

onjuist weergegeven
structuurformule van octaan

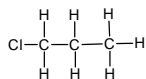


benzeen

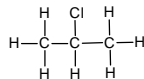

 vereenvoudigd weergegeven
benzeenmolecuul

Aromaten

Koolwaterstoffen die een benzeenring bevatten heten aromaten. Een benzeenring bestaat uit zes koolstofatomen met om en om drie tweevoudige bindingen en drie enkelvoudige bindingen. Voor benzeen is een vereenvoudigde weergave afgesproken.



1-chloorpropana

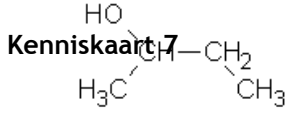
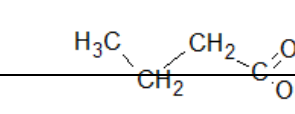
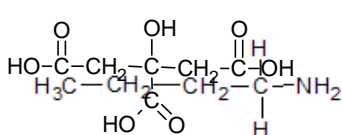
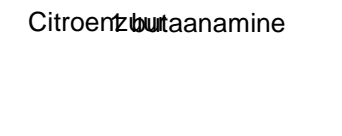
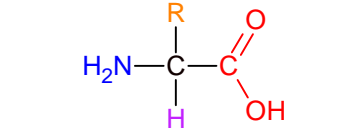
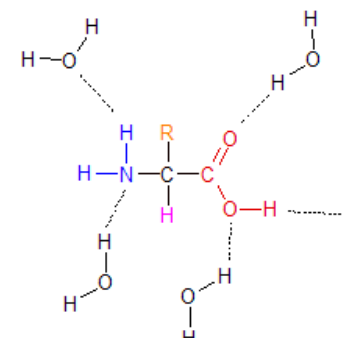



2-chloorpropana

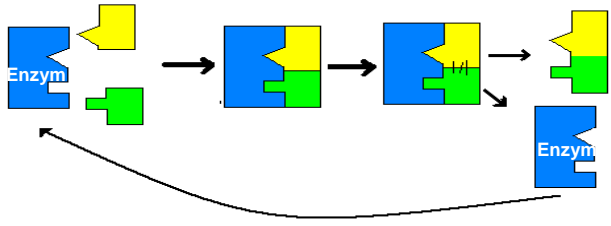
Isomeren

Isomeren zijn stoffen met dezelfde molecuulformule, maar met een verschillende structuurformule. Het zijn verschillende stoffen met andere eigenschappen. Elk isomeer heeft zijn eigen naam. Hiernaast staan de twee isomeren van de (mono)chloorpropanen.

Kenniskaart 6	Naamgeving organische chemie
<p>Meer weten?</p> <ol style="list-style-type: none"> www.iupac.org (international union of pure and applied chemistry) http://www.woc.science.ru.nl/ (woordenboek organische chemie) http://members.tripod.com/~EppE/humor.htm (grappen met organische chemie) <p>Weetjes</p> <ul style="list-style-type: none"> Veel triviale namen van stoffen hebben een aparte oorsprong: <ul style="list-style-type: none"> Ureum: gevonden in urine Hippuurzuur: gevonden in urine van paarden (hippo = paard) Alcohol zoals je het kent van bier en wijn heet officieel ethanol Leuke voor galgje: de officiële naam voor amoxicilline: (2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl) ethanoyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0] heptaan-2-carboxylzuur trihydraat <p>Stamnaam: methaan (=1C), ethaan (=2C), propaan (=3C), butaan (=4C), pentaan (=5C), hexaan (=6C)</p> <p>Telwoorden: 1 = mono (laat je vaak weg), 2 = di, 3 = tri, 4 = tetra, 5 = penta, 6 = hexa</p> <p>Deze kenniskaart mag je niet bij je toets houden, maar in principe staat alles in je BINAS... het is iets meer puzzelen: <u>BINAS 66C en 66D</u></p> <p>Overbodige nummeringen mag je weglaten. (bijv. 1-propaanzuur = propaanzuur) (een zuur-groep kan alleen maar aan een uiteinde zitten, dus de 1- mag in dit geval weg.)</p>	<p>Er zijn koolstofverbindingen met niet alleen maar koolstof- en waterstofatomen. Je kunt waterstofatomen vervangen door andere groep, een karakteristieke groep. Deze groep geeft een koolwaterstof speciale eigenschappen.</p> <p>Om ervoor te zorgen dat iedereen dezelfde naam aan een stof geeft zijn er regels afgesproken. De systematische naamgeving.</p> <ol style="list-style-type: none"> Zoek de langste onvertakte koolstofketen en tel de koolstofatomen. Dit aantal koolstofatomen bepaalt de stamnaam. (Een langste keten met 4 C's heeft dan als stamnaam butaan). Kijk of er dubbele en/of driedubbele bindingen in de structuur zitten. Zij geven een aanpassing aan de stamnaam. <ol style="list-style-type: none"> Dubbele binding -aan uitgang wordt -een (bijv. buteen) Driedubbele binding -aan uitgang wordt -yn (bijv. butyn) Zoek de 'hoofdgroep' op. Dit is de 'belangrijkste' karakteristieke groep. In tabel 66D van je BINAS staat een tabel met namen van karakteristieke groepen. Hoe hoger in de tabel, hoe 'belangrijker' de karakteristieke groep. Sommige 'hoofdgroepen' zorgen ervoor dat de stamnaam een achtervoegsel krijgt. Deze moet je kennen: <ol style="list-style-type: none"> -COOH geeft achtervoegsel -zuur (de C uit COOH telt mee voor de stamnaam) óf carbonzuur (de C uit COOH telt <u>niet</u> mee voor de stamnaam) -OH geeft achtervoegsel -ol (bijv. butanol) -NH₂ geeft achtervoegsel -amine (bijv. butaanamine) Kijk of er nog meer zijgroepen (alles wat niet een -H is!) aan de stamketen zitten. Zet deze allemaal apart in alfabetisch volgorde vóór de (aangepaste) stamnaam. <ol style="list-style-type: none"> Bij een zijgroep die bestaat uit koolstofatomen wordt de naam van deze vertakking bepaald door het aantal koolstofatomen. Dan wordt de -aan uitgang vervangen door -yl (Dus een zijgroep (vertakking) van 2 C's is niet ethaan maar ethyl). Broom, Chloor, Fluor, Jood broom- (bijv. broombutaan) -OH hydroxy- (bijv. hydroxyethaanzuur) -NH₂ amino- (bijv. aminobutanol) Zijn er meerdere vertakkingen van het zelfde soort (bijv. zelfde groep met zelfde aantal C-atomen), dan gebruik je de voorzetsels di (2), tri (3), tetra (4) en penta (5) etc. Iedere groep, ook van dezelfde soort, krijgt een eigen nummer: bijv. 2,2-dimethylbutaan. Tot slot moet je met een nummering de plaatsen van alle karakteristieke groepen aangeven. Zet streepjes tussen ieder nummer en de naam van de verbinding. <ol style="list-style-type: none"> Begin met de hoofdgroep bijv. butaanzuur Dan de dubbele binding(en) bijv. 3-buteenzuur Dan de driedubbele binding(en) bijv. 1-buteen-3-yn Tot slot: andere zijgroepen bijv. 3-fluor-2-methyl-buteen Als er meerdere nummermogelijkheden zijn, kies je de laagste. <ul style="list-style-type: none"> Geef de hoofdgroep (achtervoegsel) het laagst mogelijke nummer (meestal 1) (<i>telling voor de andere zijgroepen ligt dan direct vast</i>) Als er geen achtervoegsel is, geef dan de dubbele (en vervolgens de driedubbele) binding(en) het laagste mogelijke nummer. (<i>de telling voor de andere zijgroepen ligt dan direct vast</i>) Als er alleen andere zijgroepen zijn, kies je de laagste mogelijke nummering (<i>een nummering waar een 1 in zit is altijd het beste, vervolgens een 2, etc.</i>)

<p>Kenniskaart 7</p>  <p>2-butanol</p>  <p>butaanzuur</p>	<h2>Eigenschappen van alkanolen, alkaanzuren, alkaanaminen en aminozuren</h2>
<p>Soms zit de zuurgroep niet aan het begin/eind van de keten. Zie citroenzuur Binas tabel 68B</p>  <p>Citroenzuur</p>  <p>butaanamine</p>  	<p>Alkanolen De karakteristieke groep is -OH. Een alkanol heeft een OH-groep aan het koolstofskelet. Butanol (C₄H₉OH) bestaat uit vier koolstofatomen en één OH-groep. Butanol heeft verschillende isomeren en daarom is een plaats aanduiding van de OH-groep verplicht. Een alkanol heeft geen zure eigenschappen</p> $\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OH} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}^- + \text{H}^+$ <p>De karakteristieke groep is COOH. De zuurgroep zit bijna altijd aan het begin (eind) van de keten. De C van deze groep telt mee voor de stamnaam. Butaanzuur is een</p> $\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{NH}_2 + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{NH}_3^+$ <p>Aminozuren De karakteristieke groep is -NH₂. De naamgeving is de stamnaam met amine. Aminen zijn zwakke basen; ze kunnen een H⁺ ion opnemen.</p> <p>Aminozuren Deze koolwaterstof heeft twee karakteristieke groepen; een amino groep en een carbonzouurgroep. Omdat er twee groepen zijn, verandert de naam amine in amino en komt voor de stamnaam te staan. Aminozuren zijn de bouwstenen van eiwitten. De verschillende aminozuren verschillen alleen in een restgroep R. Niet alle aminozuren lossen even goed op in water. De oplosbaarheid hangt af van de zijgroep. Als de zijgroep geen waterstofbruggen kan vormen dan mengt de zijgroep niet goed met water. Zo'n zijgroep is dan apolair. De oplosbaarheid van dat aminozuur is dan kleiner dan van een aminozuur dat met zijn zijgroep wel waterstofbruggen kan vormen.</p> <p>Waterstofbruggen Waterstofbruggen treden op tussen moleculen die een OH- of een NH-groep bevatten. De OH- en NH- groepen hebben een polaire atoombinding. Het waterstofatoom is een beetje positief het zuurstofatoom een beetje negatief geladen. Het waterstofatoom van het ene molecuul trekt het zuurstofatoom (stikstofatoom) van het andere molecuul aan, er ontstaat een binding, de waterstofbrug. De waterstofbruggen worden aangegeven met stippelijntjes.</p>

<p>Kenniskaart 8</p> $\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{C} \\ \parallel \quad \parallel \\ -\text{N}-\text{C}- \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{O} \end{array}$ <p>peptidebinding</p>  <p>BINAS tabel 67</p> <p>Weetje Esters hebben vaak een lekkere geur (ze ruiken naar bloemen en fruit), terwijl de carbonzuren waar ze uit gemaakt zijn vaak heel erg stinken (butaanzuur ruikt naar bedorven boter).</p>	<h2>Condensatiereacties</h2> <p>Een condensatiereactie is een reactie waarbij water afgesplitst wordt.</p> $\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{C}(=\text{O})-\text{OH} + \text{HO}-\text{CH}_3 \\ \text{ethaanzuur} \quad \text{H}_2\text{O} \quad \text{methanol} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{CH}_3 \\ \text{methylethanoaat} \end{array} + \text{H}_2\text{O}$ <p>Aminozuren hebben twee karakteristieke groepen, een zuurgroep en een aminogroep. De aminogroep van een aminozuur kan reageren met de zuurgroep van een ander aminozuur. Bij deze reactie splitst water af en wordt een peptidebinding gevormd.</p> <p>Hier hebben alanine en glycine met elkaar gereageerd. Het product heet een dipeptide omdat er twee aminozuren gekoppeld zijn. Het dipeptide krijgt de afkorting Ala-Gly. Als er drie aminozuren aan elkaar gekoppeld zijn dan heet dat een tripeptide. Een eiwit bestaat uit heel veel aminozuren die aan elkaar gekoppeld zijn. Het is gebruikelijk om de formules te noteren met de afkortingen van de aminozuren.</p> <p>Hydrolyse De omgekeerde reactie van een condensatiereactie heet een hydrolyse. Tijdens dit proces reageren de peptidebindingen met water. Hieronder staat een voorbeeld van een hydrolyse van een peptidebinding.</p> $\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \quad \\ \text{H}-\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}-\text{H} \\ \quad \quad \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \quad \text{H} \quad \text{O}-\text{H} \\ \text{Ala-Gly} \end{array} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{CH}_3 \\ \quad \\ \text{H}-\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}-\text{H} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{O}-\text{H} \\ \text{Ala} \end{array} + \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \\ \text{H}-\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}-\text{H} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{O}-\text{H} \\ \text{Gly} \end{array}$
<p>Bij de omgekeerde reactie reageert de ester met water; de hydrolyse van de ester.</p>	<p>Een andere condensatiereactie is de reactie tussen een alkanol en een carbonzuur. Bij deze evenwichtsreactie ontstaat een ester en water.</p>

Kenniskaart 9	<h2 style="text-align: center;">Enzymen</h2>
<p>Weetje:</p> <p>Enzymen zijn relatief groot. Voorbeeld: Cellulase, een enzym dat helpt bij het verteren van planten is 58 kD groot (kD = kilodalton = 1000 u). Er bestaan ook enzymen die een paar honderd kD zijn. Penicilline is maar zo'n 300u groot.</p>	<p>In je lichaam vinden duizenden reacties plaats. Je transporteert zuurstof door je lichaam, je verbrandt voedingsstoffen en je voert afvalstoffen af. Je weert aanvallen van bacteriën en virussen af en je maakt nieuwe lichaamcellen. Al deze reacties moeten op het goede moment plaatsvinden en in de goede verhoudingen. Deze processen verlopen bij de lage temperatuur van 37 °C.</p> <p>Dat kan alleen maar doordat er in ons lichaam biokatalysatoren of enzymen aanwezig zijn. Ze zorgen ervoor dat de reacties bij een lagere temperatuur kunnen plaatsvinden. Een katalysator wordt gebruikt bij een reactie, maar niet verbruikt. De katalysator kan dus steeds weer opnieuw worden ingezet.</p> <p>Werking enzym</p> <p>Enzymen zijn dus heel belangrijk. Enzymmoleculen zijn groot. Ze bevatten een holte, de actieve site. Alleen één bepaalde karakteristieke groep past in deze holte. Vergelijk het met een slot en een sleutel. Slechts één sleutel (= substraat) past op het slot (= enzym). Zodra de sleutel in het slot gegaan is vindt er een verandering plaats. De twee substraten reageren dan bijvoorbeeld tot één nieuw molecuul.</p>  <p>Enzymen zijn eiwitten en daardoor gevoelig voor hoge temperaturen en hoge en lage pH. Bij een hoge temperatuur verandert de ruimtelijke structuur van het eiwit en het enzym verliest zijn eigenschappen. De verandering van de ruimtelijke eiwitstructuur wordt denaturatie genoemd.</p> <p>In het lichaam werken de meeste processen het best bij ongeveer 37 °C. Soms verhoogt het lichaam de temperatuur, bijvoorbeeld als iemand door bacteriën ziek geworden is. Het lichaam gaat een heleboel verschillende antistoffen produceren. De productie van de antistoffen moet zo snel mogelijk gebeuren. Het lichaam verhoogt de temperatuur zodat de productie wat sneller verloopt. De patiënt heeft koorts!</p> <p>De temperatuur van het lichaam mag niet te hoog worden. Vanaf ongeveer 41,7 °C gaan de enzymen die nodig zijn voor diverse andere reacties in het lichaam kapot. De enzymen denatureren. Door het toevoegen van een antibioticum, zoals penicilline wordt het lichaam geholpen. Het antibioticum zorgt dat de celwand van de nieuw gevormde bacteriën zwak is, zodat de bacteriën dood gaan. De bacterie kan zich niet meer vermenigvuldigen.</p>

Kenniskaart 10	Reactiesnelheid (M/s of mol/Ls)
<p>Vuistregel is dat een de reactiesnelheid met ongeveer een factor 2 vergroot bij een temperatuurverhoging van 10 graden. Als een bepaalde reactie bij 50 °C 10 minuten duurt, dan verloopt dezelfde reactie bij 60 °C in ongeveer 5 minuten.</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p>De dobbelsteen heeft ribben van 1 cm. Elk vlak heeft dus een oppervlakte van 1 cm². Omdat de dobbelsteen 6 vlakken heeft is de totale oppervlakte 6 cm². Het reactieoppervlak is dus 6 cm². Het reactieoppervlak kan vergroot worden door de dobbelsteen door te snijden. De totale oppervlakte neemt toe. Je mag ook zeggen: de verdelingsgraad is toegenomen. Ineens hebben veel meer moleculen de mogelijkheid om te botsen met moleculen van een andere soort. De reactiesnelheid zal toenemen.</p>	<p>Invloed van de temperatuur</p> <p>Met “het botsende deeltjes model” kan een verklaring gegeven worden voor de invloed van de temperatuur. Door de temperatuur te verhogen gaan de deeltjes sneller bewegen. Ze hebben dan een grotere kans om met elkaar te botsen. Als de deeltjes botsen dan is er ook een grotere kans op een hardere botsing, een effectieve botsing. Daarmee bedoelen we dat de botsende moleculen omgezet worden in nieuwe moleculen. Er heeft een reactie plaatsgevonden.</p> <p>Veel reacties hebben een temperatuuroptimum.</p> <p>Invloed van de concentratie</p> <p>Vergelijk 2 lege kubussen van elk 1 dm³. In de eerste kubus zit 2 mol gas. In de tweede kubus zit 4 mol gas. De concentratie in kubus 1 is 2 mol/dm³. Je mag ook schrijven: 2 mol/L of 2 M. De concentratie in kubus 2 is 4 mol/dm³ of 4 M.</p> <p>De kans dat de moleculen in de tweede kubus met elkaar botsen is groter dan de kans dat de moleculen in de eerste kubus met elkaar botsen. De kans op een effectieve botsing is in kubus 2 dus groter. Hoe hoger de concentratie des te groter de reactiesnelheid.</p> <p>De reactiesnelheid is dus de concentratieverandering per seconde. De eenheid is: M/s of mol/Ls.</p> <p>Invloed van de verdelingsgraad</p> <p>Een reactie kan alleen maar verlopen als de moleculen met elkaar kunnen botsen. Neem in gedachten een dobbelsteen. De dobbelsteen is opgebouwd uit heel veel moleculen. De moleculen in het binnenste van de dobbelsteen kunnen nooit botsen met moleculen van een andere stof. Alleen de moleculen aan het oppervlak van de dobbelsteen kunnen reageren. De reactie zal minder snel verlopen.</p> <p>Invloed van de soort stof</p> <p>De snelheid van een reactie hangt ook af van de soort stof. De snelheid van de reactie van een metaal met zuurstof hangt af van het soort metaal.</p> <p>De werking van antibiotica is ook afhankelijk van de soort bacterie. Meestal zorgt slechts één antibioticum ervoor dat één bepaalde schadelijke bacterie zich niet verder kan vermenigvuldigen.</p>

Kenniskaart 11	<h2>Responsible Care</h2>
 <p>Responsible Care <i>Good Chemistry at Work</i></p>	<p>Het Responsible Care-programma is een wereldwijd initiatief van de chemische industrie. Vele industriële bedrijven hebben onderling vrijwillig een overeenkomst gesloten. In deze overeenkomst geven de bedrijven aan dat ze proberen te zorgen dat ze op een bewuste en verantwoordelijke manier te werken.</p> <p>Er worden verbeteringen doorgevoerd voor veiligere productie, Speciaal wordt er op de gezondheid van de medewerkers en de gevolgen voor het milieu gelet.</p> <p>Ze hopen zo het imago te verbeteren en vertrouwen van het publiek te winnen. Ongeveer 10% van alle investeringen worden besteed aan de bescherming van de natuur en de gezondheid van mens.</p> <p>De Vereniging van de Nederlandse Chemische Industrie (VNCI) propageert het Responsible Care programma en deelt elk jaar een prijs uit aan het best presterende bedrijf. Dit bedrijf moet een vooruitgang hebben geboekt op het gebied van veiligheid, gezondheid en milieu.</p> <p>In 2008 heeft DSM Agro in Geleen deze prijs gewonnen, omdat ze de uitstoot van lachgas (N₂O) tot nul hebben teruggebracht.</p>