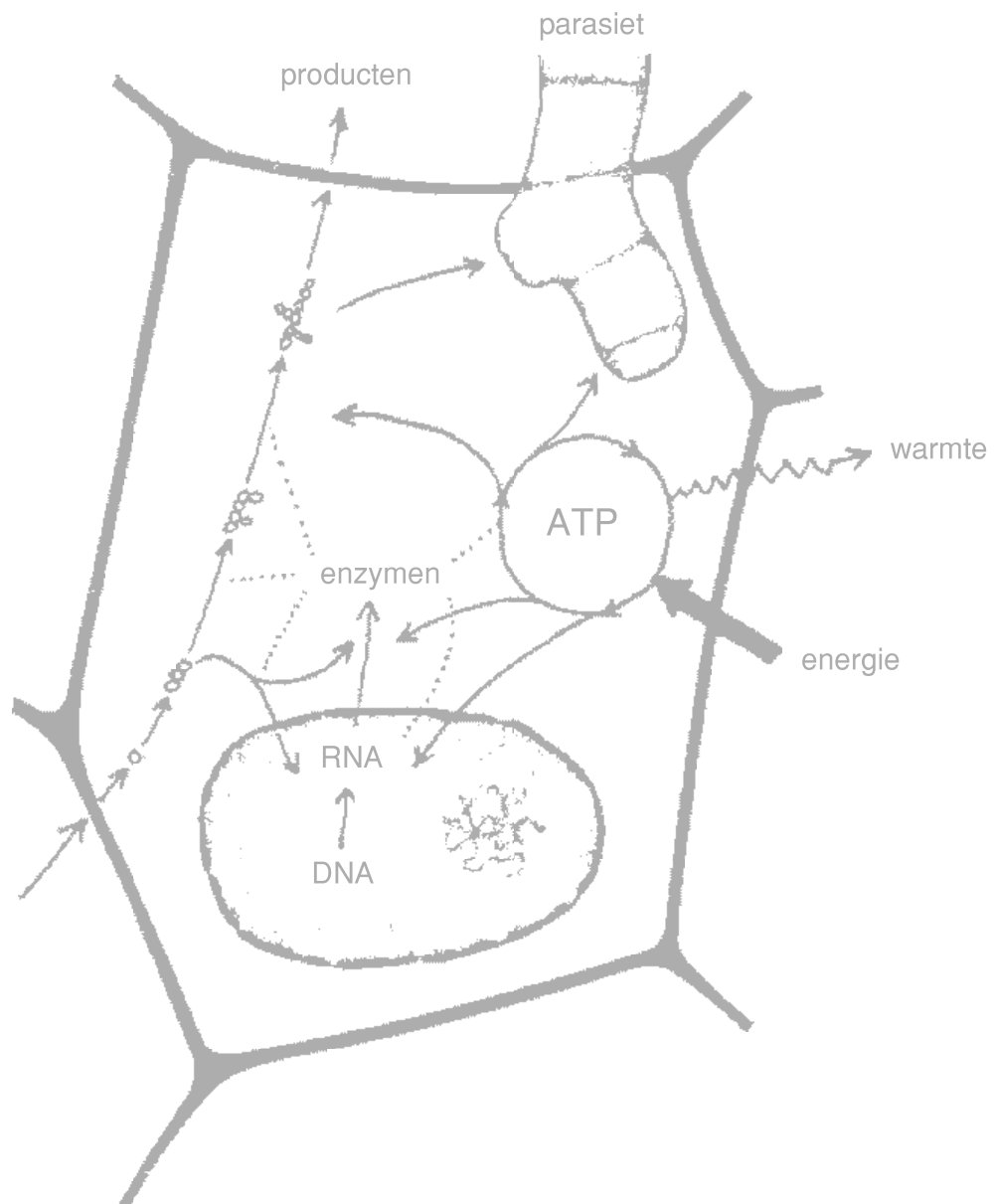


werkboek Biologie deel II

Propedeuse Laboratoriumtechniek



Arthur Rep
januari 1997

Inhoud

Voorwoord	3
1 Inleiding in het metabolisme.	5
1.1 Alle organismen vertonen stofwisseling	5
1.2 Cellen maken gebruik van energie uit de omgeving	6
1.3 Enige grondprincipes van de thermodynamica	6
1.4 Cellen produceren entropie om hun structuur te handhaven	8
1.5 Energieveranderingen bij processen	9
1.6 Berekening van de vrije energieverandering van een reactie.	10
1.7 Osmotische energie	12
1.8 Redoxpotentiaal en elektronentransportketens.	13
1.9 De ΔG° van gekoppelde reacties mogen opgeteld worden.	14
1.10 De fundamentele rol van ATP in biologische systemen.	14
1.11 ATP is niet de enige hoog energetische fosfaatverbinding.	16
1.12 Samenvatting	16
1.12 Vragen	29
2 Fotosynthese	22
2.1 Vragen en opdrachten	22
3 Plantenfysiologie	25
3.1 Vragen en opdrachten	
4 Dissimilatie	27
4.1 Inleiding	27
4.2 Zetmeel en glycogeen	28
4.3 Glycolyse	28
4.4 Aërobe en anaërobe omzetting van pyruvaat	31
4.5 De citroenzuurcyclus	33
4.6 De ademhalingsketen	34
4.7 Afbraak van andere stoffen dan glucose	37
4.8 Samenvatting	41
4.9 Vragen en opdrachten	44
5 Microbiologie	47
5.1 Inleiding	47
5.2 Bouw der bacteriën	49
5.3 Groei	51
5.4 Bacterie-metabolisme	56
5.5 Classificatie van bacteriën	60
5.6 Samenvatting	62
5.7 Vragen en opdrachten	67
Geraadpleegde literatuur	71
Index	82



Voorwoord

Inleiding

Na de kennismaking met de biologie in de eerste studiekeerperiode gaan we in dit tweede deel dieper in op enkele belangrijke levensverrichtingen van levende organismen. Alle organismen, van klein tot groot, zien zich geplaagd voor twee essentiële problemen:

- Hoe kom ik aan energie en voedingsstoffen om in leven te blijven?
- Hoe stel ik mijn eigenschappen veilig voor de toekomst?

Levende organismen zijn opgebouwd uit levenloze moleculen. Wanneer deze moleculen worden geïsoleerd en afzonderlijk bestudeerd, gedragen ze zich in alle opzichten volgens de wetten van de chemie en de fysica, die ook gelden voor alle levenloze materie. Toch vertonen levende organismen eigenschappen die niet aangetroffen worden in de levenloze materie, waarvan de essentie wordt weergegeven door de hierboven opgeworpen vragen. Deze bijzondere eigenschappen van de levende materie vormen het onderwerp van onderzoek in de celfysiologie en biochemie, het thema van deze cursus.

Beide vragen zijn, vooral als men die in kader van de huidige maatschappelijke ontwikkelingen plaatst, uiterst actueel.

De energieschaarste en de milieuverontreiniging staan momenteel sterk in de belangstelling en vooral in Nederland is een groeiend besef aan het ontstaan dat we veel zuiniger en schoner moeten omspringen met de natuurlijke bronnen van onze welvaart.

De wijze waarop organismen met energie omspringen zal als een rode draad door deze cursus lopen. Het is verbazendwekkend en leerzaam te zien welke energiebronnen ze allemaal kunnen benutten en hoe efficiënt ze ermee omgaan. Wat de tweede vraag betreft: elk organisme streeft ernaar zich vermenigvuldigen en daarmee zijn pakket erfelijke informatie te vereeuwigen. Door natuurlijke selectie blijven alleen die individuen over die over het - op die plaats en dát moment - meest geschikte pakket beschikken. De mens is altijd bezig geweest levende organismen voor zijn eigen bestwil aan te wenden. Hij eet ze op, laat ze allerlei nuttig werk doen - van paardekracht tot yoghurtcultuur -, maakt er kleren van en stelt alles in het werk om die nuttige organismen te verbeteren. Ging men vroeger te werk om door middel van kruisingen te selecteren op gunstige eigenschappen, tegenwoordig bedient men zich ook van moleculair-biologische technieken om erfelijke eigenschappen van het ene naar het andere organisme over te brengen. Ook hier is sprake van een levendige maatschappelijke discussie hoever men daarmee mag gaan.

Het lesmateriaal

Om op zinnige wijze over de inleiding genoemde problemen te kunnen meedenken dien je jezelf een hoeveelheid theoretische kennis eigen te maken. In deze cursus worden de vereiste basisprincipes - die soms niet zo eenvoudig zijn - behandeld.

Leidraad voor de studie is het boek *Biology* van Campbell, 4^e editie, aangevuld met dit werkboek.

De te bestuderen leerstof zal worden vermeld in de uitgereikte studiewijzer.



Ter ondersteuning van het studeren zijn in dit werkboek samenvattingen en vragen opgenomen, die op de werkcolleges worden besproken. Om het verband te leggen tussen alle biologische begrippen wordt je uitgenodigd om hier en daar 'concept maps' samen te stellen.

Ter maatschappelijke gedachtevorming en als discussiemateriaal zijn bovendien bij elk hoofdstuk actuele krante- en tijdschriftartikelen opgenomen.

Omdat het materiaal van Campbell nog maar kort in gebruik is, zal deze uitgave mank gaan aan tal van onvolkomenheden. Ik nodig jullie uit om commentaar te leveren en zodoende bij te dragen aan een betere uitgave voor toekomstige studenten.

Arthur Rep
Wageningen, januari 1997.



1 Inleiding in het metabolisme

Bij Campbell hoofdstuk 6

1.1 Alle organismen vertonen stofwisseling

Levende cellen en organismen moeten voortdurend kunnen beschikken over voedsel waar zij de bouwstoffen en de energie uithalen om zichzelf in stand te houden, te vernieuwen en te vermenigvuldigen. De gegevens in onderstaande tabel 1.1 geven een indruk waartoe een *Escherichia coli* bacterie in staat moet zijn om zich in twintig minuten te vermenigvuldigen van één tot twee bacteriën.

Tabel 1.1 Het biosynthesevermogen van een bacteriecel.

Component	% van het droog-gewicht	mol.gewicht (ruwe schatting)	aantal moleculen per cel	aantal moleculen dat per seconde wordt gesynthe-tiseerd	aantal moleculen ATP nodig per seconde voor de synthese	percentage van de totale biosynthese-energie nodig voor synthese
DNA	5	2.10^9	1	0.00083	6 000	2.5
RNA	10	1.10^6	15 000	13	75 000	3.1
eiwit	70	6.10^4	1 700 000	1 400	2 120 000	88.0
lipiden	10	1.10^3	15 000 000	12 500	87 500	3.7
polysacchariden	5	2.10^5	39 000	32	65 000	2.7

Een *E. coli* cel heeft afmetingen $1 \times 1 \times 3 \mu\text{m}^3$, een volume van $2.25 \mu\text{m}^3$, een versgewicht van 10×10^{-13} gram en een drooggewicht van 2.5×10^{-13} gram. In de tabel wordt uitgegaan van een generatietijd van 20 minuten voor *E. coli* bacteriën. Er vindt een fantastische synthese-activiteit plaats waarvoor veel energie (in de vorm van ATP) nodig is. Voor plantecellen en dierlijke cellen geldt hetzelfde, al delen die zich niet in twintig minuten. Daarbij komt dat cellen en organismen aanzienlijke hoeveelheden energie nodig hebben voor beweging, prikkelgeleiding en het in stand houden van chemische gradiënten over membranen. Een zich rustig houdend volwassen mens verbruikt in een etmaal 40 kg ATP om in zijn energiebehoefte te voorzien. De vragen die dan gesteld kunnen worden zijn:

- (1) Hoe krijgen cellen de beschikking over de energie die zij nodig hebben voor hun voortbestaan en reproductie?
- (2) Hoe synthetiseren cellen de bouwstenen voor hun macromoleculen en hoe worden deze macromoleculen (nucleïne-zuren, eiwitten, polysacchariden en lipiden) daaruit opgebouwd?
- (3) Wat is de drijvende kracht voor al deze processen?

metabolisme

Deze processen worden uitgevoerd door een geïntegreerd netwerk van chemische reacties, dat stofwisseling of metabolisme wordt genoemd (zie Biochemical Pathways, Boehringer Mannheim). De cel voert allerlei stoffen door dit netwerk met behulp van enzymen, die elk van de stappen in het labrynth van reacties selectief versnellen. Tijdens het metabolisme wordt de ene energievorm omgezet in de andere: conversie.

conversie



Op het eerste gezicht lijkt het cellulaire metabolisme een hopeloos gecompliceerde zaak, haast ondoenlijk voor studenten om te bestuderen. Bij nadere beschouwing blijkt er een zekere moleculaire logica aan dit patroon ten grondslag te liggen. Een belangrijke doelstelling van het vak celfysiologie is dan ook deze logica te herkennen. Met een aantal principes hebben we al kennis gemaakt:

- (1) Ondanks de grote verscheidenheid zijn biologische macromoleculen op een eenvoudige manier opgebouwd uit maar enkele bouwstenen.
- (2) Alle levende organismen gebruiken dezelfde bouwstenen en blijken dus van een gemeenschappelijke voorouder af te stammen.
- (3) De identiteit van een organisme ligt besloten in de volgorde van de bouwstenen in de nucleïnezuren.

In dit hoofdstuk zullen we daar nog enkele principes aan toevoegen die te maken hebben met de energievoorziening van de cel en de drijfveer van processen zoals groei en reproductie.

1.2 Cellen maken gebruik van energie uit de omgeving

kinetische energie

potentiële energie

vrije energie

De wetten van de thermodynamica die gelden voor alle chemische en fysische processen zijn natuurlijk ook van toepassing op processen die in levende cellen plaatsvinden. Voor hun groei en voortbestaan is energie nodig. Uit de natuurkunde zijn we reeds bekend met de begrippen kinetische energie, waarbij materie in beweging is. Hierbij kunnen we denken aan stromend water, elektronen die door een draad lopen, samentrekking van spieren, maar ook aan wamte, waarbij moleculen tegen elkaar botsen. Anderzijds kennen we potentiële energie, waarbij materie in rust het vermogen heeft arbeid te leveren: water achter een dam, een elektrische batterij, en, speciaal voor belang in de biologie, chemische energie die ligt opgeslagen in moleculen als glucose. Levende organismen absorberen uit hun omgeving een vorm van energie die ze kunnen benutten bij de gelijkblijvende druk en temperatuur waaronder ze leven. Deze vorm van energie wordt vrije energie genoemd en kan bestaan uit (kinetische) lichtenergie of (potentiële) chemische energie. In dit opzicht verschillen organismen van de meeste door de mens geconstrueerde machines die arbeid verrichten op basis van druk- of temperatuurverschillen.

1.3 Enige grondprincipes van de thermodynamica

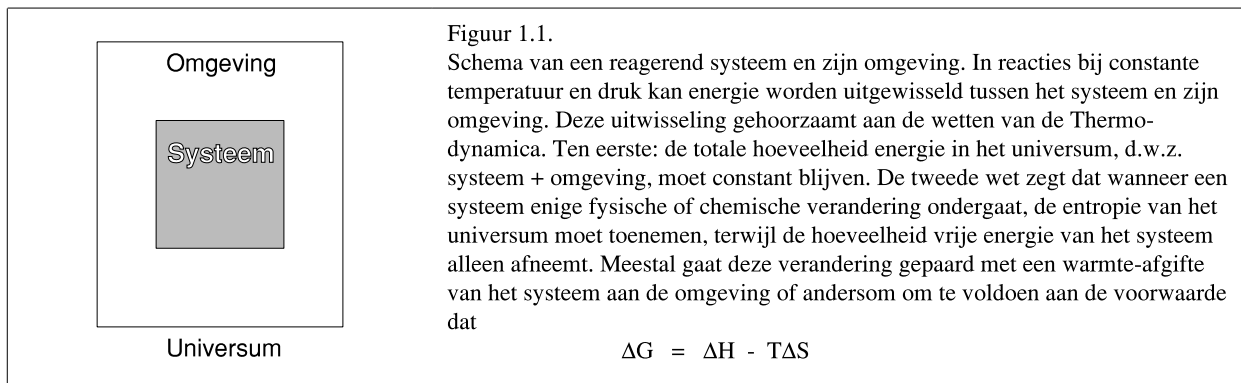
*systeem
omgeving
universum*

rendement

Machines zijn concreet voor te stellen apparaten die verschillende vormen van energie in elkaar kunnen omzetten. We hebben al enige moeite om een levende cel als een machine op te vatten. Nog abstracter wordt het als we enkel naar een chemische reactie kijken. Daarom zullen we ons onderwerp van studie in het vervolg 'het systeem' noemen. De rest van de fysieke wereld wordt dan 'omgeving' en het totaal 'universum'. Soms kun je een systeem isoleren van zijn omgeving (een gesloten systeem) bijvoorbeeld door er voor te zorgen dat er geen druk- of temperatuuruitwisseling kan optreden. In de biologie hebben we echter te maken met open systemen waarbij energie kan worden uitgewisseld met de omgeving (zie figuur 1.1).

Het is een ervaringsfeit dat bij de omzetting van verschillende vormen van energie het rendement nooit 100% is. In vele gevallen blijft dit zelfs onder de

30%. Nauwkeurige metingen hebben echter uitgewezen dat energie niet verloren gaat maar wordt omgezet in een voor het systeem in kwestie onbruikbare vorm, bijvoorbeeld warmte die aan de omgeving wordt afgestaan.



eerste hoofdwet

Het gegeven dat energie niet zomaar verdwijnt wordt uitgedrukt in de volgende natuurwet, de zg. **eerste hoofdwet van de thermodynamica**.

Bij elk chemisch of fysisch proces blijft de totale hoeveelheid energie in het universum constant.

tweede hoofdwet

Voor het systeem kan energie verloren gaan: een open systeem wisselt energie uit met de omgeving. Maar in het 'universum' kan energie niet geschapen of vernietigd worden. Deze wet zegt dus iets over de hoeveelheid energie, maar niets over de richting waarin processen verlopen. De vraag is waarom een glas met kokend water afkoelt of waarom een organisme na afsterven desintegreert wordt niet beantwoord. Dit is onderwerp van de **tweede hoofdwet**:

*Elk chemisch of fysisch proces verloopt in een dusdanige richting dat bruikbare energie wordt omgezet in een onbruikbare 'ongeordende' vorm, die **entropie** wordt genoemd.*

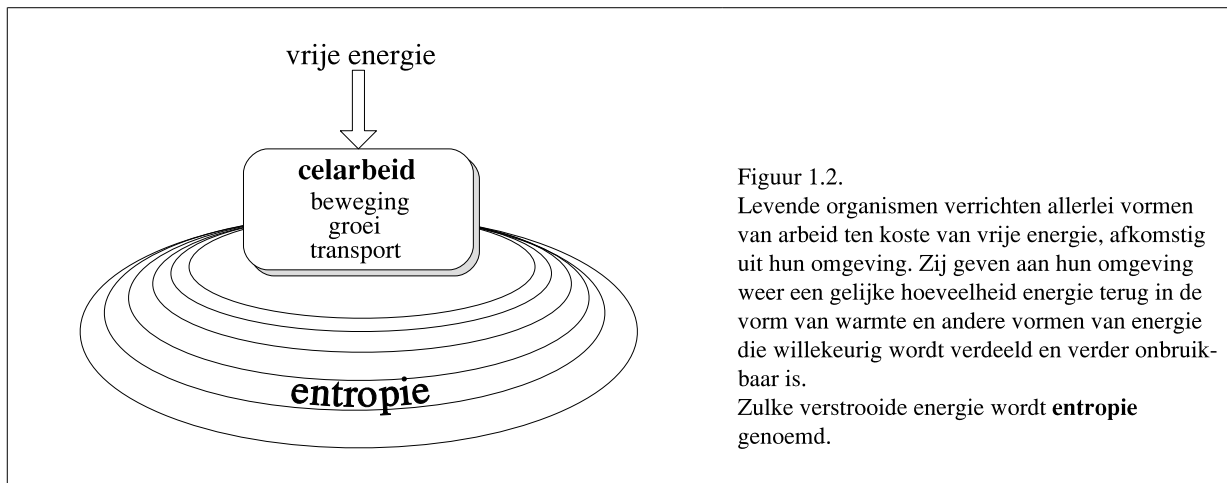
entropie

Het proces gaat door totdat een evenwichtssituatie is bereikt waarbij de hoeveelheid entropie die gevormd is in het universum (dus niet het systeem alleen) de maximale waarde heeft bereikt, die onder de gegeven omstandigheden haalbaar is. Entropie is een abstract begrip en niet zo eenvoudig te definiëren. Vaak wordt volstaan met te zeggen dat entropie een maat is voor de wanorde. Deze wanorde kan echter diverse verschijningsvormen bezitten.

1.4 Cellen produceren entropie om hun structuur te handhaven

Levende systemen zijn sterk geordend; zij bezitten een lage entropie. Bij het omzetten van voedsel neemt hun entropie niet toe, integendeel. Voedselmoleculen worden geïncorporeerd in geordende structuren van de cel. Daarom zal tijdens de levensverrichtingen van de cel of het organisme de entropie van de omgeving toenemen. Levende organismen handhaven hun interne ordening door voedselmoleculen (of zonlicht) met een relatief lage entropie uit de omgeving te absorberen en daarvoor in de plaats onbruikbare vormen van energie, namelijk gasvormige kleine moleculen met een hoge entropie (CO₂ en H₂O) en warmte af te staan. Benadrukt moet worden dat de productie van

entropie voor levende systemen een uiterst belangrijke bezigheid is. Het voorziet in de drijvende kracht van en geeft richting aan alle levensprocessen. Levende organismen produceren voortdurend entropie om hun geordende structuren te handhaven. (Zie fig. 1.2).

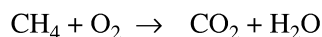


1.5 Energieveranderingen bij processen

We zijn in het algemeen niet zo geïnteresseerd in de absolute waarden van de energie in systemen. Deze zijn trouwens ook moeilijk te bepalen. Bij (bio)chemische reacties is het belangrijker *verschillen* in de warmte-inhoud, de entropie en de vrije energie, bij constante druk en temperatuur te kunnen bepalen.

Warmte-inhoud of enthalpie

Wanneer bij een chemische reactie producten ontstaan is de hoeveelheid energie die wordt opgenomen of afgestaan gelijk aan het verschil tussen de hoeveelheid energie die vrijkomt bij het vormen van de bindingen en de energie die nodig is om ze te verbreken. We kunnen zo de energie-verandering berekenen bij de verbranding van aardgas:



De boekhouding voor bindingsenergieën ziet er als volgt uit:

Bindingen verbroken (energie geabsorbeerd)

4 C-H	4 x 99 = 396 kcal/mol
2 O=O	2 x 118 = <u>236</u> kcal/mol
	632 kcal/mol

Bindingen gevormd (energie vrijgekomen)

2 C=O	2 x 174 = 348 kcal/mol
4 O-H	4 x 111 = <u>444</u> kcal/mol
	792 kcal/mol

Netto vrijgekomen 160 kcal/mol

warmte-inhoud

De netto energie die bij een reactie wordt gebruikt of vrijkomt wordt de warmte-inhoud van die reactie genoemd, of enthalpie, en wordt aangeduid met



enthalpie het symbool ΔH ('delta H', waarin Δ staat voor een verandering). Enthalpie is de totale potentiële energie van een molecuul. Voor de reactie tussen methaan en zuurstof bedraagt $\Delta H = -160$ kcal/mol. ΔH kan zowel positief als negatief zijn. Als tijdens de reactie warmte afgestaan wordt aan de omgeving is het teken van ΔH negatief (warmte gaat voor het systeem verloren). Als het systeem warmte uit de omgeving absorbeert is ΔH positief. Een reactie die warmte afgeeft wordt ook wel exotherm genoemd, één die warmte opneemt endotherm.

exotherm
endotherm

Entropie

Een spontaan proces is een proces dat verloopt zonder hulp van buitenaf. Water stroomt spontaan naar beneden. Andersom kan alleen met behulp van een machine. Water achter een stuwdam heeft de neiging naar beneden te vallen, dus energie af te staan. Hetzelfde geldt voor chemische reacties. Energierijke chemische systemen reageren zodanig dat hun energie wordt verlaagd. Op het eerste gezicht lijkt de enthalpie een goed criterium om te zeggen of een reactie al dan niet spontaan zal verlopen. In de praktijk zijn er echter processen die spontaan verlopen en waarbij de temperatuur *daalt!* Er moet dus nog een andere factor zijn die bepaalt of een reactie al dan niet spontaan verloopt. Dat is de entropie, de tendens naar wanorde, aangeduid met het symbool S. De entropieverandering tijdens een proces is

entropie

$$\Delta S = S_{\text{eindtoestand}} - S_{\text{begintoestand}}$$

Een positieve ΔS leidt tot grotere wanorde en draagt dus bij aan een vergroting van de spontaniteit van een reactie.

Vrije energie

De grootte die de enthalpie en entropie in een systeem combineert wordt de vrije energie genoemd. Hiervoor geldt het volgende verband:

vrije energie

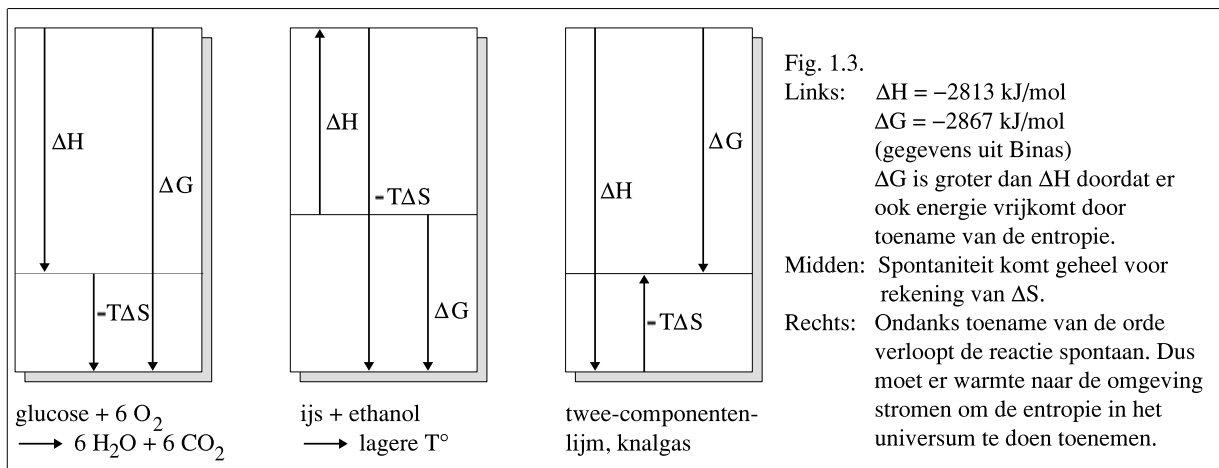
$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Hierin is ΔG de verandering in vrije energie van het systeem, ΔH de verandering in de warmte-inhoud of enthalpie van het systeem, T de absolute temperatuur en ΔS de verandering in de entropie van het universum. We hebben in de vorige paragraaf gezien dat bij het verloop van een spontane reactie de entropie toeneemt totdat bij evenwicht een maximum waarde is bereikt. ΔS heeft daarom in bovenstaande formule een negatief teken. Het streven naar een toename van de entropie van het universum tijdens het verloop van een reactie kan daarom vervangen worden door een afname in de vrije energie van het systeem. De reactie gaat door totdat evenwicht is bereikt waarbij $\Delta G = 0$. We komen zo tot een belangrijke regel:

Een reactie kan alleen spontaan verlopen als ΔG negatief is.

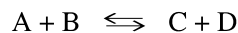
exergoon Een spontaan verlopende reactie wordt exergoon genoemd.
endergoon Als ΔG positief is, loopt de reactie spontaan in de tegenovergestelde richting en wordt endergoon genoemd. Er is toevoer van vrije energie nodig om de reactie de andere kant op te drijven. Tot nu toe is gesproken over een toename van de entropie van het universum tijdens een proces. In het systeem zelf kan de entropie toenemen of afnemen (als ΔG maar negatief is).

In figuur 1.3 worden enkele voorbeelden gegeven van energie-veranderingen.



1.6 Berekening van de vrije energieverandering van een reactie

De waarde van ΔG van een (bio)chemische reactie geeft de neiging aan die de reactie heeft om in een bepaalde richting te gaan en de vrije energie die daarbij zal vrijkomen. Voor een evenwichtsreactie



is:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \cdot \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

waarin R de gasconstante en T de absolute temperatuur is en [A], [B], [C] en [D] de molaire concentraties van de stoffen, die bij de reactie betrokken zijn. ΔG° is de vrije-energieverandering onder standaardomstandigheden, dat is wanneer alle stoffen die bij de reactie betrokken zijn, A, B, C en D, aanwezig zijn in een 1.0 M concentratie en bij 25 °C. Voor biochemische reacties is verder als standaardomstandigheden gekozen dat de reactie in water plaatsvindt en bij pH 7.0 omdat dit de situatie in een cel het meest benadert. De vergelijking wordt dan:

$$\Delta G' = \Delta G^{\circ'} + RT \cdot \ln \frac{[C][D]}{[A][B]} \quad \text{formule 1.1}$$

Voor een specifieke reactie geldt dat $\Delta G'$ afhangt van de **aard** van de verbindingen (uitgedrukt in de term $\Delta G^{\circ'}$) en van de **concentratie** van die verbindingen. H⁺ en H₂O-concentraties zijn verwerkt in de waarde van $\Delta G^{\circ'}$.

Evenwicht

Omdat bij evenwicht geen energieverandering meer optreedt, geldt dat $\Delta G'$ gelijk is aan 0, zodat geschreven kan worden:

$$\Delta G^{\circ'} = -RT \cdot \ln \frac{[C]_e [D]_e}{[A]_e [B]_e} \quad \text{formule 1.2}$$

We kunnen de standaard vrije-energieverandering dus berekenen wanneer we de concentraties in de evenwichtstoestand bepalen.

In tabel 1.3 zijn de waarden van $\Delta G^{\circ'}$ weergegeven voor een aantal belangrijke biochemische reacties. Nu is de evenwichtsconstante onder standaardomstandigheden, K_{eq} , gedefinieerd als:

evenwichts-constante



$$K_{eq} = \ln \frac{[C]_e [D]_e}{[A]_e [B]_e}$$

en dus kan geschreven worden:

$$\Delta G^{\circ} = -RT \cdot \ln K_{eq}$$

ΔG° kan dus uit de evenwichtsconstante K_{eq} berekend worden.

We kunnen nu zien dat, indien:

$K_{eq} < 1$, dan $G^{\circ} > 0$, de reactie is endergoon

$K_{eq} > 1$, dan $G^{\circ} < 0$, de reactie is exergoon

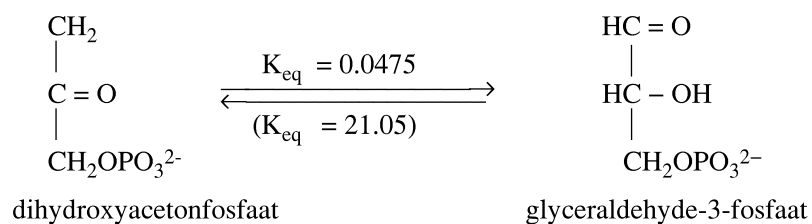
Geen evenwicht

De waarde van G° zegt niet of een reactie in een bepaald geval zal kunnen verlopen of niet. Dat wordt bepaald door $\Delta G'$. En of $\Delta G' < 0$, of $\Delta G' > 0$, en of $\Delta G' = \Delta G^{\circ}$ hangt af van de concentratie van de stoffen, die aan de reactie deelnemen.

Verder is het belangrijk om je te realiseren dat we niets gezegd hebben over het mechanisme van de reactie. Het maakt voor de waarde van $\Delta G'$ niets uit of glucose wordt verbrand tot CO_2 en H_2O in een calorimeter of via een ingewikkeld stelsel van enzymatische reacties in de cel. Verder zegt de waarde van $\Delta G'$ niets over de snelheid van reacties. Zoals we later zullen zien wordt dat bepaald door de activeringsenergie-barrière.

Hoe werkt dat nu in een concreet geval?

Laten we als voorbeeld nemen de isomerisatie van dihydroxyaceton-fosfaat tot glyceraldehyde-3-fosfaat, een reactie die in de glycolyse voorkomt:



$$K_{eq} = 0.0475, \text{pH} = 7.0, t = 25^\circ\text{C}$$

De standaard vrije-energieverandering ΔG° bij het naar rechts verlopen van deze reactie kan dan uitgerekend worden ($R = 8.3 \times 10^{-3} \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{graad}^{-1}$; $T = 298 \text{ K}$):

$$\begin{aligned} \Delta G^{\circ} &= -RT \cdot \ln K_{eq} (= -RT \cdot 2.303 \log K_{eq}), \text{ dus} \\ \Delta G^{\circ} &= -8.3 \cdot 10^{-3} \times 298 \times \ln 0.0475 = +7.5 \text{ kJ/mol} \end{aligned}$$

Als nu de beginconcentraties van dihydroxyacetonfosfaat 2.10^{-4} M is en de beginconcentratie van glyceraldehyde-3-fosfaat 3.10^{-6} M , dan is $\Delta G'$:

$$\Delta G' = \Delta G^{\circ} + RT \cdot \ln \frac{[\text{glyceraldehyde-3-fosfaat}]}{[\text{dihydroxyacetonfosfaat}]}$$

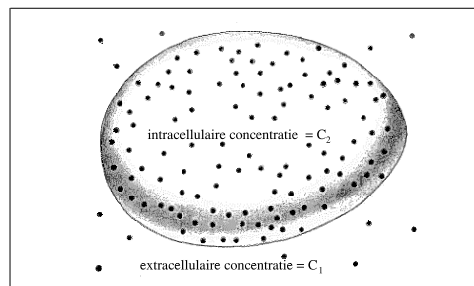
$$\Delta G' = 7.5 + 8.3 \cdot 10^{-3} \times 298 \times \ln \frac{3 \cdot 10^{-6}}{2 \cdot 10^{-4}}$$

$$\Delta G' = -2.9 \text{ kJ/mol}$$

en kan de reactie dus in de richting van links naar rechts verlopen. Het zal duidelijk zijn dat bij een andere verhouding van de beginconcentraties $\Delta G'$ ook positief kan zijn. Dan zou de reactie dus in tegenovergestelde richting kunnen verlopen. Of de reactie met meetbare snelheid plaatsvindt, blijkt echter uit deze berekening niet. Dit wordt namelijk bepaald door de activeringsenergie. Met behulp van een enzym kan de activeringsenergie verlaagd worden, zodat de reactie snel kan verlopen. In welke richting de reactie dan verloopt wordt bepaald door de waarde van $\Delta G'$.

1.7 Osmotische energie

Veel arbeid in cellen wordt verricht om concentraties van de verschillende opgeloste stoffen te regelen. In onderstaande figuur is een cel weergegeven met een interne concentratie opgeloste stof die 10× zo hoog is als daarbuiten.



We gaan weer uit van de formule 1.1 maar passen die voor de gelegenheid als volgt aan:

$$\Delta G' = \Delta G^{\circ'} + RT \cdot \ln \frac{[C_2]}{[C_1]}$$

Wanneer er evenwicht is, dan zijn C_2 en C_1 gelijk aan elkaar en is $\Delta G'=0$. Formule 1.2 wordt dan

$$\Delta G^{\circ'} = -RT \ln 1$$

De $\Delta G^{\circ'}$ -waarde van een osmotisch proces is dus gelijk aan 0. De $\Delta G'$ -waarde hangt dus uitsluitend af van de concentraties C_1 en C_2 en is dus gelijk aan

$$\Delta G' = RT \cdot \ln \frac{[C_2]}{[C_1]}$$

In het voorbeeld is de interne concentratie opgeloste stof 10× zo hoog is als buiten de cel. Om dit te bereiken moet je dus

$$\Delta G' = RT \cdot \ln \frac{[C_2]}{[C_1]} = 8,3 \cdot 10^{-3} \cdot 298 \cdot \ln 10 = + 5,7 \text{ kJ/mol}$$

investeren.

1.8 Redoxpotentiaal en elektronentransportketens

<i>redoxpotentiaal</i>	Met het begrip redoxpotentiaal wordt uitgedrukt wat de ‘elektronendruk’ dan wel ‘elektronenaffiniteit’ van een verbinding is in vergelijking tot waterstof. Anders gezegd, met de redoxpotentiaal wordt kwantitatief uitgedrukt of een stof aan een andere verbinding elektronen zal afstaan of juist zal opnemen. De geoxideerde en gereduceerde toestand van een verbinding vormen het zogenaamde redoxkoppel. In tabel 1.4 is een reeks redoxkoppels gegeven.
<i>redoxkoppel</i>	

Tabel 1.4. Standaard oxidatie-reductie potentialen van een aantal redoxkoppels. Alle reacties hebben betrekking op de overdracht van twee elektronen bij een pH van 7.0 en een temperatuur van 25 tot 30 °C.

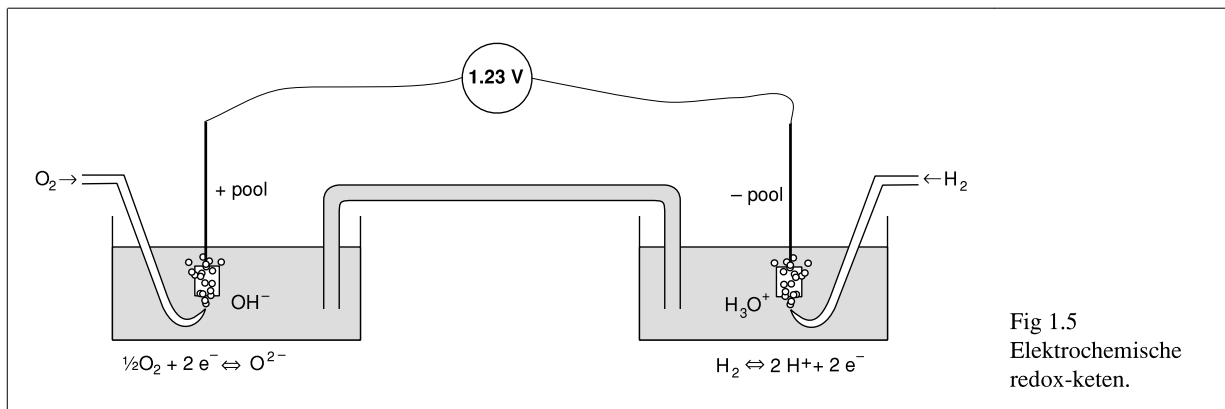
$\text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+ + 2\text{e} \rightleftharpoons \text{SO}_3^{2-} + 2\text{H}_2\text{O}$	-0.45
$2\text{H}^+ + 2\text{e} \rightleftharpoons \text{H}_2$	-0.42
$\text{a-ketoglutaraat} + \text{CO}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e} \rightleftharpoons \text{isocitraat}$	-0.38
$\text{NAD(P)}^+ + 2\text{H}^+ + 2\text{e} \rightleftharpoons \text{NAD(P)H} + \text{H}^+$	-0.32
$\text{S} + 2\text{H}^+ + 2\text{e} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{S}$	-0.27
$\text{pyruvaat} + 2\text{H}^+ + 2\text{e} \rightleftharpoons \text{lactaat}$	-0.19
$\text{oxaalacetaat} + 2\text{H}^+ + 2\text{e} \rightleftharpoons \text{malaat}$	-0.17
$\text{fumaraat} + 2\text{H}^+ + 2\text{e} \rightleftharpoons \text{succinaat}$	-0.03
$2 \text{cytochroom } b_{\text{ox}} + 2\text{e} \rightleftharpoons 2 \text{cytochroom } b_{\text{red}}$	+0.03
$\text{ubiquinon} + 2\text{H}^+ + 2\text{e} \rightleftharpoons \text{ubiquinol}$	+0.10
$2 \text{cytochroom } c_{\text{ox}} + 2\text{e} \rightleftharpoons 2 \text{cytochroom } c_{\text{red}}$	+0.27
$2 \text{cytochroom } a_{\text{ox}} + 2\text{e} \rightleftharpoons 2 \text{cytochroom } a_{\text{red}}$	+0.29
$\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e} \rightleftharpoons \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	+0.42*
$2 \text{dichloorbenzeen} + 2\text{H}^+ + 2\text{e} \rightleftharpoons 2 \text{monochloorbenzeen}$	+0.50*
$2 \text{Fe}^{3+} + 2\text{e} \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$	+0.77*
$\frac{1}{2} \text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}$	+0.82

* is geen onderdeel van de ademhalingsketen, maar wordt door sommige bacteriën gebruikt als elektronenacceptor

Een aantal van de weergegeven redoxkoppels is betrokken bij de ademhaling. De betrokken enzymcomplexen ‘oscilleren’ tussen de geoxydeerde en gereduceerde toestand.

De redoxpotentiaal van een koppel wordt uitgedrukt in Volts (V), t.o.v. een platina-elektrode, omspoeld met H_2 (pH = 0) bij 25 °C. De potentiaal van dit halfelement is 0 (de normaalpotentiaal). De zich als waterstofelektrode gedragende H_2 (geadsorbeerd aan het platina) heeft evenveel neiging op te lossen als te adsorberen. Bij een pH = 7 (25 °C) heeft deze waterstofelektrode een redoxpotentiaal ($E = -0.42 \text{ V}$) ten opzichte van de normaalelektrode. Aangezien in de fysiologie een pH = 7 veel relevanter is dan een pH = 0 worden redoxpotentialen steeds uitgedrukt als standaardredoxpotentiaal (E'_0). In figuur 1.5 is weergegeven wat het potentiaalverschil is tussen een waterstofelement en een zuurstofelement.

Zuurstof (sterke oxydator) heeft grote affiniteit voor elektronen. Waterstof staat ze gemakkelijk(-er) af. Het potentiaalverschil bedraagt 1.23 V. De elektronen zullen dus van waterstof naar zuurstof overspringen en verliezen daarbij energie.



De 'knaalgasreactie' (oxidatie van H₂ door O₂) is een exergoon proces; met behulp van het gegeven potentiaalverschil kan ΔG° worden bepaald volgens:

$$\Delta G^{\circ} = -n \cdot F \cdot \Delta E^{\circ}_0, \text{ waarin:}$$

n is aantal overgedragen elektronen

F is constante van Faraday ($9.65 \cdot 10^4$ J/V of $2.31 \cdot 10^4$ cal/V)

De oxidatie van H₂ door O₂ levert dus 237 kJ/mol op.

1.9 De ΔG° van gekoppelde reacties mogen opgeteld worden

De totale vrij energieverandering van een serie reacties is gelijk aan de som van de vrije energieveranderingen van de afzonderlijke reacties mits de reacties een gemeenschappelijk intermediair bezitten. Bijvoorbeeld:



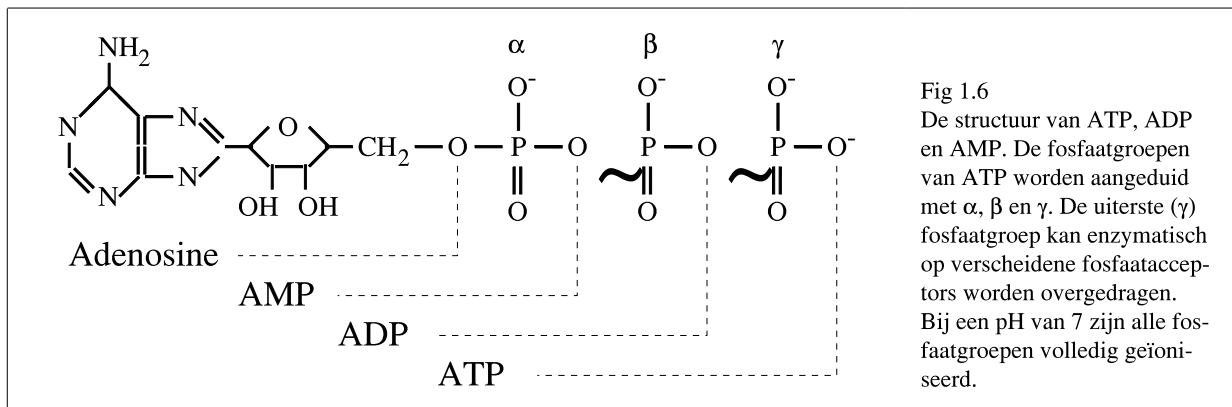
Onder standaardomstandigheden kan A vrijwel niet omgezet worden in B en C, omdat ΔG° positief is. De reactie $B \rightarrow D$ is thermodynamisch wél mogelijk. Onder standaardomstandigheden kan A nu wel omgezet worden in C en D, omdat de som-reactie onder standaardomstandigheden een negatieve ΔG° heeft. Een thermodynamisch ongunstige reactie kan dus toch plaatsvinden indien die gekoppeld is aan een thermodynamisch gunstige reactie. De ongunstige reactie wordt dan aangedreven door de thermodynamisch gunstige reactie. Dit is erg belangrijk in de cel, waar tal van *gekoppelde reacties* voorkomen.

1.10 De fundamentele rol van ATP in biologische systemen

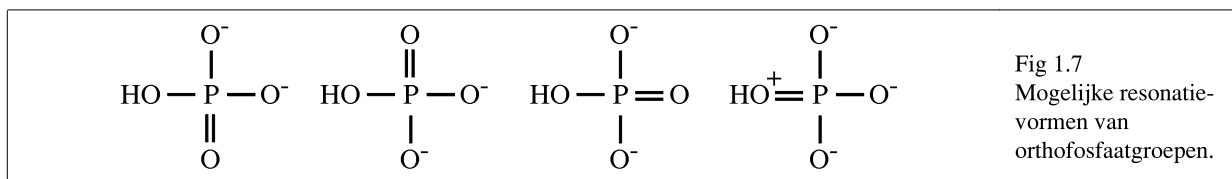
Om levend te kunnen blijven, moet aan biologische systemen voortdurend vrije energie worden toegevoerd: voor de synthese van macro- en andere biomoleculen uit eenvoudige laagmoleculaire verbindingen, voor het verrichten van mechanische arbeid bij spierfuncties en andere cellulaire bewegingen, voor het actieve transport van moleculen en ionen. De vrije energie die nodig is voor deze processen die een levend organisme in een toestand houden die *ver verwijderd is van evenwicht*, is afkomstig uit de omgeving van het organisme. *Chemotrofen* krijgen die energie door oxidatie

van voedingsstoffen, *fototrofen* krijgen die energie van licht. De vrije energie afkomstig van licht of van de oxidatie van voedingsstoffen wordt voor een deel omgezet in een speciale vorm voordat die energie gebruikt kan worden voor biosynthese, beweging en actief transport. Die speciale drager van vrije energie is adenosinetrifosfaat (ATP) (zie figuur 1.6).

adenosinetrifosfaat



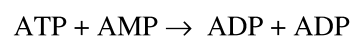
ATP is een energierijk molecuul, omdat het trifosfaat-gedeelte van het molecuul twee fosfo-anhydride bindingen bevat. Er is een sterke elektrostatische repulsie, die ten dele wordt opgeheven bij hydrolyse. Verder zijn de resonantiemogelijkheden in een anhydride beperkt ten opzichte van die in de hydrolyseproducten (figuur 1.7).



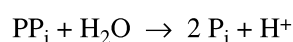
Er komt daarom een grote hoeveelheid vrije energie beschikbaar als ATP gehydrolyseerd wordt tot *adenosinedifosfaat* (ADP) en *orthofosfaat* (P_i) of wanneer ATP gehydrolyseerd wordt tot *adenosinemonofosfaat* (AMP) en *pyrofosfaat* (PP_i). Wij zullen hier voor de standaard vrije energieverandering $\Delta G^{\circ'}$ voor deze reacties een waarde gebruiken van -30.5 kJ/mol. Onder de omstandigheden, zoals die in de cel voorkomen, is de feitelijke verandering van de vrije energie, $\Delta G'$, in deze hydrolysereacties, vaak veel hoger en bedraagt dan ongeveer -50 kJ/mol.



ATP, ADP en AMP kunnen in elkaar omgezet worden m.b.v. het enzym *adenylaatkinase* dat de reactie katalyseert:



Pyrofosfaat (PP_i) kan zelf ook worden gehydrolyseerd waardoor extra hoeveelheid energie vrij komt van 33.4 kJ/mol.



Veel biochemische routes zijn in de praktijk irreversibel omdat het pyrofosfaat, benodigd voor de omgekeerde reactie zeer snel wordt afgebroken.

De vrije energie die beschikbaar komt bij de hydrolyse van ATP wordt gebruikt voor processen, waarvoor vrije energie nodig is zoals de biosynthese, voortbeweging en het actief transport (figuur 1.8).

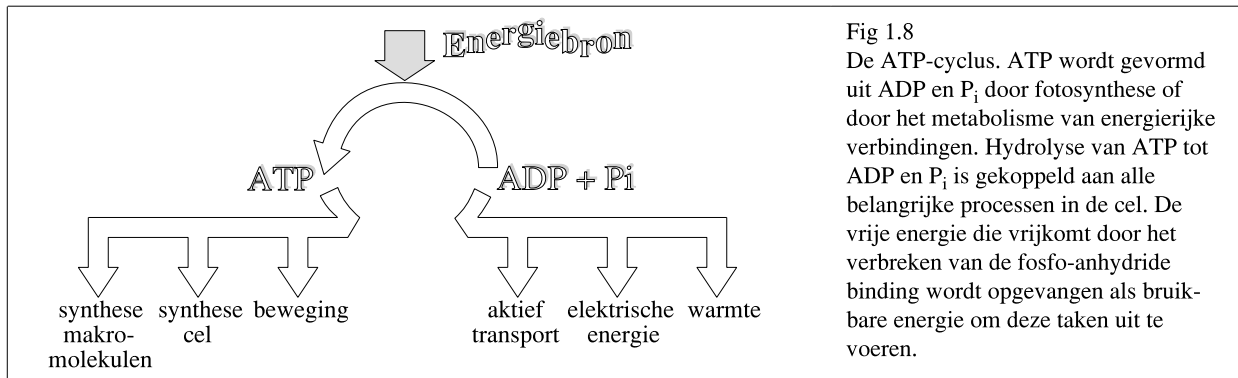


Fig 1.8
De ATP-cyclus. ATP wordt gevormd uit ADP en P_i door fotosynthese of door het metabolisme van energierijke verbindingen. Hydrolyse van ATP tot ADP en P_i is gekoppeld aan alle belangrijke processen in de cel. De vrije energie die vrijkomt door het verbreken van de fosfo-anhydride binding wordt opgevangen als bruikbare energie om deze taken uit te voeren.

1.11 ATP is niet de enige hoogenergetische fosfaatverbinding

Tabel 1.5. Vrije energieën van de hydrolyse van een aantal gefosforyleerde verbindingen.

Verbinding	ΔG° (kcal/mol)
fosfoenolpyruvaat	-14.8
acetylfosfaat	-10.3
creatinefosfaat	-10.3
pyrofosfaat	-8.0
ATP (\rightarrow ADP)	-7.3
glucose-1-fosfaat	-5.0
glucose-6-fosfaat	-3.3

In cellen komen ook andere fosfaatverbindingen voor, waaruit bij hydrolyse vrije energie beschikbaar komen. Deze verbindingen worden bijvoorbeeld bij de afbraak van voedselmoleculen gevormd en bevatten op deze manier een deel van de vrije energie van deze moleculen in een makkelijk overdraagbare vorm (zie tabel 1.5). *Fosfocreatine* of *creatinefosfaat* is de reserve-energiebron in de spier.

1.12 Samenvatting

- Metabolisme is de som van alle reacties in een cel. Al deze reacties hebben tot doel de materiële en energetische bronnen van de cel optimaal te benutten. Cellen en organismen hebben aanzienlijke hoeveelheden energie (in de vorm van ATP) nodig voor beweging, prikkelgeleiding en het in stand houden van chemische gradiënten over membranen en opbouw van macromoleculen.
- Levende cellen zijn chemische fabrieken die functioneren bij constante temperatuur en druk.
- Bij elk chemisch of fysisch proces blijft de totale hoeveelheid energie in het universum constant. (Eerste hoofdwet van de thermodynamica).
- Elk chemisch of fysisch proces verloopt in een dusdanige richting dat bruikbare energie wordt omgezet in een onbruikbare "ongeordende" vorm, die entropie S wordt genoemd. (Tweede hoofdwet van de thermodynamica).
- Levende organismen zijn open systemen die hun ingewikkelde maar geordende structuur scheppen en onderhouden ten koste van vrije energie die ze onttrekken aan de omgeving en waaraan ze minder bruikbare vormen van energie teruggeven.



- Enthalpie of warmte-inhoud H is de potentiële energie van een chemische verbinding en wordt bepaald door de bindingsenergieën van alle chemische bindingen in het molecuul. Een reactie met $\Delta H < 0$ wordt exotherm genoemd, een reactie met $\Delta H > 0$ endotherm.
- Spontane of exergone reacties verlopen als $\Delta G (= \Delta H - T\Delta S) < 0$.
- Voor een specifieke reactie geldt dat $\Delta G'$ afhangt van de aard van de verbindingen (uitgedrukt in de term $\Delta G^{\circ'}$) en van de concentratie van die verbindingen.

$$\Delta G' = \Delta G^{\circ'} + RT \cdot \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

- De evenwichts-constante, K_{eq} , is gedefinieerd als:

$$K_{eq} = \ln \frac{[C]_e [D]_e}{[A]_e [B]_e}$$

en dus kan geschreven worden:

$$\Delta G^{\circ'} = -RT \cdot \ln K_{eq}$$

$\Delta G^{\circ'}$ kan dus uit de evenwichtsconstante K_{eq} berekend worden.

- Een reactie is spontaan of exergoon als $K_{eq} > 1$
- De energieverandering in osmotische processen kan worden berekend met de formule:

$$\Delta G' = RT \cdot \ln \frac{[laag]}{[hoog]}$$

- De standaardredoxpotentiaal E'_0 van een redoxkoppel geeft de mate van elektronenaffiniteit aan. Elektronen springen spontaan van redoxkoppels met een lage (negatieve) potentiaal naar koppels met een hoge (positieve). Met behulp van het potentiaalverschil tussen beide redoxkoppels kan $\Delta G^{\circ'}$ worden bepaald volgens:

$$\Delta G^{\circ'} = -n \cdot F \cdot \Delta E'_0$$

- De $\Delta G^{\circ'}$ van gekoppelde reacties mogen opgeteld worden.
- De speciale drager van vrije energie is adenosinetrifosfaat (ATP). De ATP-ADP cyclus is de fundamentele manier waarop in biologische systemen energie wordt overgedragen.
- ATP is niet de enige hoog energetische fosfaatverbinding.

Tabel 1.7. Samenvatting van enkele thermodynamische termen

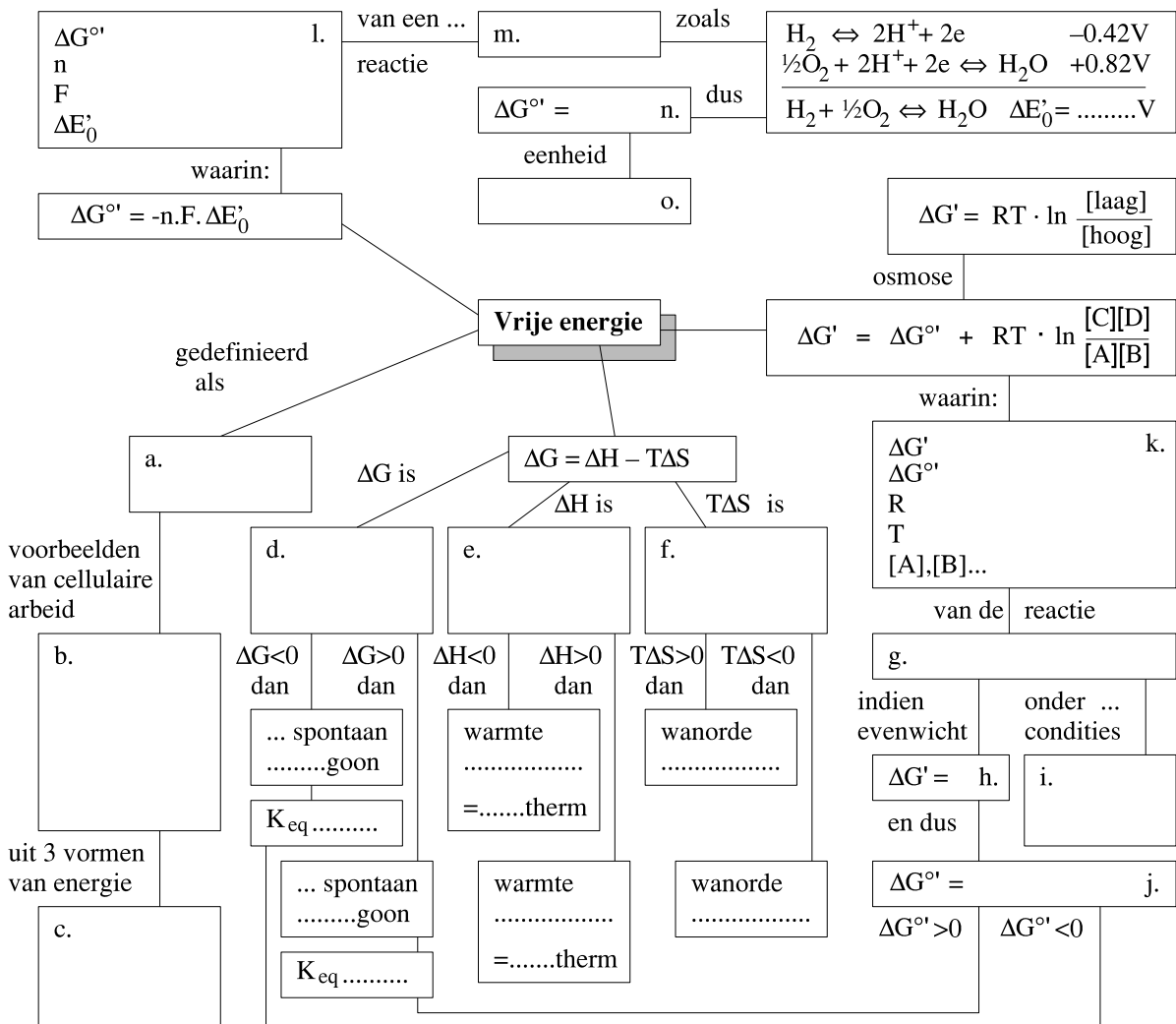
S	Entropie: een maat voor de mate van wanorde in een systeem
ΔS	Verandering in entropie: $\Delta S = S_{producten} - S_{reactanten}$
H	Enthalpie of warmte-inhoud: een maat voor de energie in chemische bindingen
ΔH	Verandering in enthalpie: $\Delta H = H_{producten} - H_{reactanten}$
G	Vrije energie: $G = H - TS$
ΔG	Verandering in vrije energie: $\Delta G = G_{producten} - G_{reactanten} = \Delta H - T\Delta S$
$\Delta G^{\circ'}$	Waarde van ΔG onder standaardomstandigheden: 298 K (25°C), 1 bar, pH 7.0 en reactanten 1 M
K_{eq}	Evenwichtsconstante: $K_{eq} = e^{\Delta G^{\circ'}/RT}$
E	Elektrische redoxpotentiaal
ΔE	Verandering in redoxpotentiaal in een reactie: $\Delta G = -n \cdot F \cdot \Delta E$
E'_0	Waarde van E onder standaardomstandigheden: 298 K (25°C), 1 bar, pH 7.0 en reactanten 1 M

Het artikel op de volgende bladzijde is afkomstig uit de Volkskrant van 17 augustus 1991.



1.12 Vragen

- 1 In de productie van welke stof steekt een bacteriecel de meeste energie?
- 2 Welk molecuul is voor de energieoverdracht in de cel verantwoordelijk?
- 3 Welke kenmerken tref je bij alle levende organismen aan?
- 4 Welke energievormen worden door levende organismen gebruikt?
- 5 Hoe komt het dat een bepaalde hoeveelheid energie niet onbeperkt kan worden doorgegeven van organisme op organisme?
- 6 Leg uit dat auto's in feite op zonneënergie rijden.
- 7 Op welke manier kan een organisme zijn onstabiele complexiteit handhaven?
- 8 Wat betekent het als bij een reactie de ΔH -160 kJ/mol bedraagt?
- 9 Verklaar dat de entropie toeneemt bij de verbranding van glucose.
- 10 Hoe verklaar je de temperatuurverlaging als je ethanol of keuzenzout bij (smeltend) ijs voegt? (Vergelijk het pekelen van bevroren wegen).
- 11 Beschouw het bebroeden van een ei in een broedstoof. Het eiwit en de dooier bestaan uitei witten, koolhydraten en vetten. Als het ei bevrucht is, zal het ei zich ontwikkelen van een enkele cel tot een complex organisme. Bediscussieer dit proces met betrekking tot de entropie-veranderingen in het systeem, de omgeving en het universum. Definieer hiervoor eerst systeem en omgeving.
- 12 Vul de volgende 'concept map' in:





- 13 De ΔG° voor de hydrolyse van ATP in ADP en P_i is -30.5 kJ/mol.
 - a. Wat is de evenwichtsconstante voor deze reactie?
 - b. Is de reactie in evenwicht in de cel?
 - c. Bereken de $\Delta G'$ als $[ATP]/[ADP]=10$ en $[P_i]$ is respectievelijk 10^{-4} M, 10^{-3} M en 10^{-2} M.
- 14 Hoe negatiever de ΔG -waarde van een reactie, hoe sneller die verloopt. Juist of onjuist?
- 15 Een bierbrouwer
- 16 Gegeven de reactie $NADH + H^+ + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow NAD^+ + H_2O$
 - a. Hoeveel kJ levert de reactie op? Ga bij deze berekening uit van de redox-potentialen.
 - b. Welke reactant wordt geoxideerd in deze reactie?
- 17 Waardoor komt bij de hydrolyse van ATP zoveel energie vrij?
- 18 Hoeveel kJ levert de hydrolyse van ATP in AMP en $2P_i$?
- 19 Hoeveel energie is nodig voor de productie van 1 kg varkensvlees?
- 20 Wat heeft het artikel "*Minder vlees eten is goed voor het milieu*" te maken met het hoofdstuk "*Thermodynamica*"?

MC-vragen

- 1 Katabole and anabole pathways zijn vaak gekoppeld in de cel omdat
 - a. de intermediären van een katabole route vaak worden gebruikt in een anabole route.
 - b. beide routes dezelfde enzymen gebruiken.
 - c. de vrije energie verkregen in de ene route wordt gebruikt om de andere uit te voeren.
 - d. de activeringsenergie van de katabole route gebruikt kan worden in de andere route.
 - e. hun enzymen worden gereguleerd door dezelfde activators en inhibitors.
- 2 Wanneer glucose wordt omgezet in CO_2 en H_2O treden de volgende veranderingen op in enthalpie, entropie en vrije energie

	ΔH	ΔS	ΔG
a.	<0	<0	<0
b.	<0	>0	<0
c.	<0	>0	>0
d.	>0	>0	>0
e.	>0	<0	>0
3. Wanneer uit aminozuren eiwitten worden gevormd, dan treden de volgende veranderingen op in enthalpie, entropie en vrije energie

	ΔH	ΔS	ΔG
a.	<0	<0	<0
b.	<0	>0	<0
c.	<0	>0	>0
d.	>0	>0	>0
e.	>0	<0	>0
4. Een negatieve ΔG betekent dat
 - a. een hoeveelheid energie G beschikbaar is voor werk
 - b. de reactie spontaan is



- c. de reactanten meer vrije energie hebben dan de producten
 - d. de reactie exergoon is
 - e. a,b,c en d zijn alle juist
5. Volgens de eerste hoofdwet van de thermodynamica
- a. staat regeneratie iedere actie een een gelijke en tegenovergestelde reactie
 - b. resulteert iedere energieoverdracht in een toename van de wanorde of entropie
 - c. is de totale hoeveelheid energie in het heelal constant
 - d. neemt bij het veranderen van de ene energievorm in de andere de wanorde toe
 - e. wordt potentiële energie omgezet in kinetische energie, welke uiteindelijk geheel in warmte wordt omgezet.
6. Bij evenwicht
- a. zijn geen enzymen in actie
 - b. $\Delta G = 0$
 - c. zijn de heen- en terugreactie gestopt
 - d. hebben de reactanten en producten gelijke H-waarden
 - e. is een reactie niet meer spontaan

Vul in:

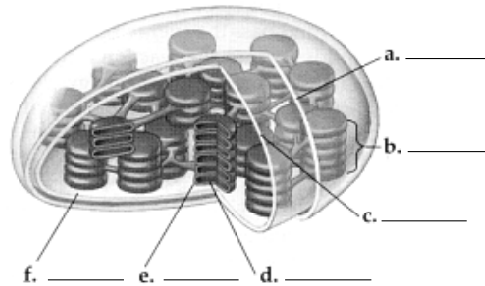
1. _____ is het geheel aan chemische processen in een organisme.
2. _____ routes hebben energie nodig om moleculen aan elkaar te plakken.
3. _____ zijn meer reactieve moleculen die gecreëerd zijn door de overdracht van een fosfaatgroep van ATP.
4. _____ zegt dat bij elke energieoverdracht een deel van de bruikbare in onbruikbare energie wordt omgezet.
5. _____ zijn reacties waarbij elektronen van het ene molecuul op het andere worden overgedragen.

2 Fotosynthese

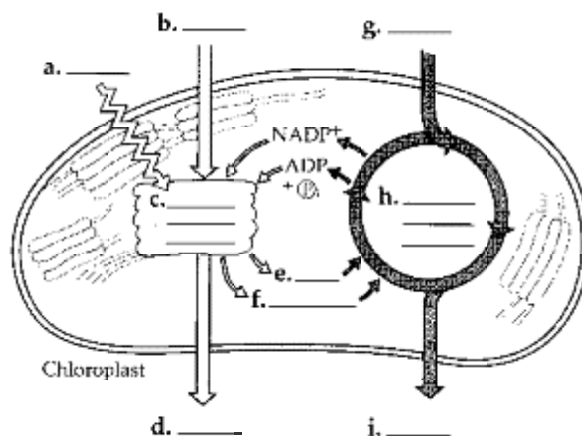
Bij Campbell hoofdstuk 10

2.1 Vragen en opdrachten

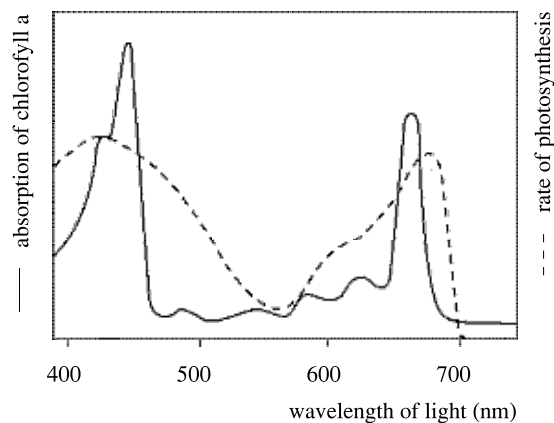
1 Label de aangegeven delen in dit diagram van een chloroplast.



2 Vul de lege posities in van dit schema van de fotosynthese in een chloroplast.

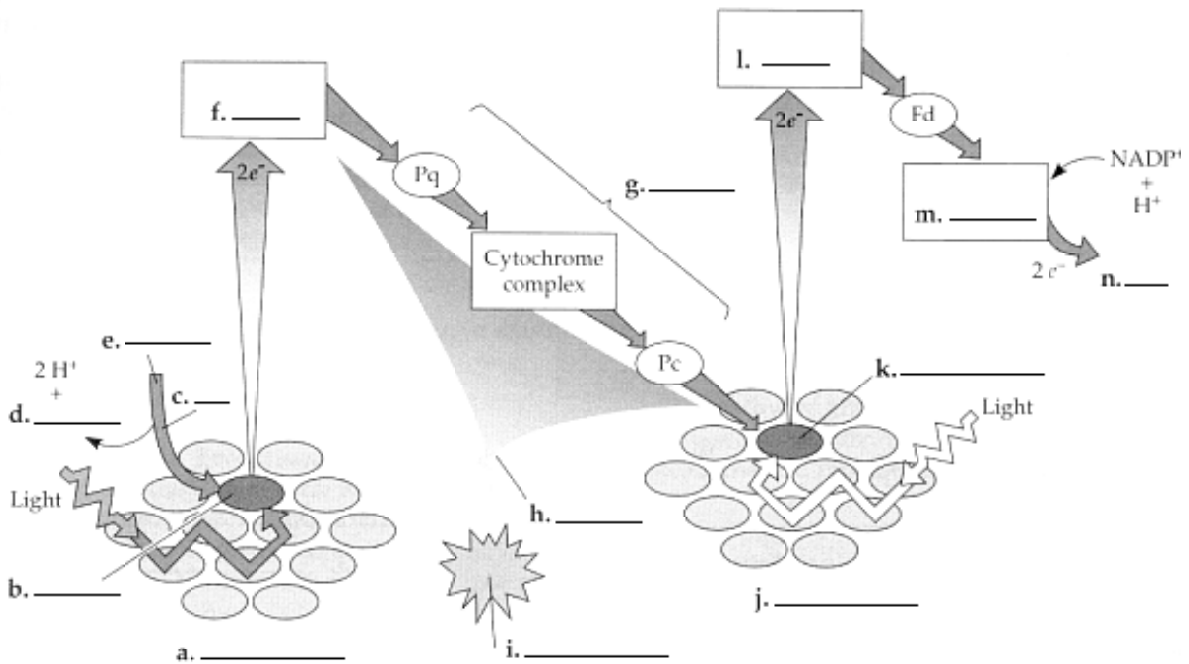


3 Geef in de onderstaande grafieken absorptie- en actiespectrum aan. Waarop berust het verschil tussen beide?



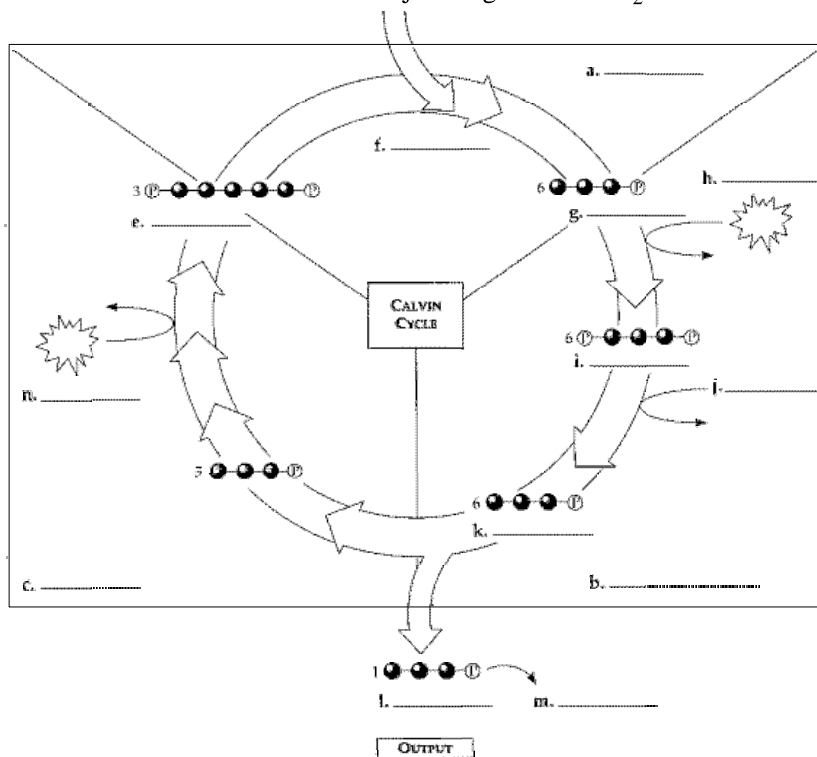
Absorption and action spectra for photosynthesis

- 4 Hoeveel groter is het fotosynthetisch rendement van een foton blauw licht (500 nm) ten opzichte van een foton van rood licht (750 nm)?
- 5 Noem de verschillen tussen P700, P680 en gewoon chlorofyl *a* die zich in een antennecomplex kunnen bevinden.
- 6 Vul de stappen in bij het onderstaande schema van de non-cyclische elektronenflow.
Omcirkel de producten die uiteindelijk de chemische energie en het reducerend vermogen leveren voor de Calvin-cyclus.
Geef bij de redoxkoppels de redoxpotentialen aan. Zie §1.8.



- 7 Welke route volgen de elektronen van P700 gedurende non-cyclisch elektronentransport?
- 8 Idem gedurende cyclisch elektronentransport?
- 9 Waarom ontstaat er geen O₂ gedurende cyclisch elektronentransport?
- 10 Wordt water geoxideerd of gereduceerd in de lichtreactie?
- 11 In het licht ontstaat over het thylakoidmembraan een protonengradiënt van 3 pH-eenheden.
 - a. aan welke zijde is de pH het laagst?
 - b. hoeveel energie komt vrij wanneer 1 mol protonen over deze gradiënt terugvalt? Zie §1.7.
 - c. welke drie factoren dragen bij aan dit grote verschil in H⁺-concentratie tussen het thylakoidcompartiment en het stroma?

- 12 Benoem de drie fasen (a...c) en de belangrijkste moleculen (d...n) in het onderstaande schema van de Calvin-cyclus.
Hoeveel elektronen zijn nodig om één CO₂-molecuul te reduceren?



- 13 Welke mogelijke verklaring is er voor fotorespiratie, een proces dat kan leiden tot wel 50% verlies van de door de Calvin-cyclus gefixeerde koolstof?
- 14 Waar treft men bij C₄-planten de Calvin-cyclus aan?
- 15 Waarom kunnen C₄-planten efficiënt fotosynthetiseren onder droge, warme omstandigheden terwijl C₃-planten dan voornamelijk fotorespireren?
- 16 Welke truc passen CAM-planten toe om fotorespiratie te omzeilen?
- 17 Wat verstaat men onder het compensatiepunt? Wat is de beperkende factor wanneer de fotosynthese zich afspeelt rond dit punt?
- 18 Waarin verschillen zon- en schaduwbladeren van elkaar?
- 19 Maak nu zelf een tekening waarin je de elektronenflow door beide fotosystemen, chemiosmose, de overdracht van ATP en NADPH naar de Calvin-cyclus en de productie van G3P (PGAL) duidelijk maakt. Bespreek je schema met enkele medestudenten en probeer door het combineren van verschillende presentaties een samenvatting van dit hoofdstuk te geven.

3 Plantenfysiologie

Bij Campbell hoofdstuk 31, 32 en 33

3.1 Vragen en opdrachten

- 1 a. Een verwelkte plantencel heeft een waterpotentiaal van -0.6 MPa. Vul de volgende vergelijking in

$$\begin{array}{r} \Psi_P = \\ +\Psi_S = \\ \hline \Psi = \end{array}$$

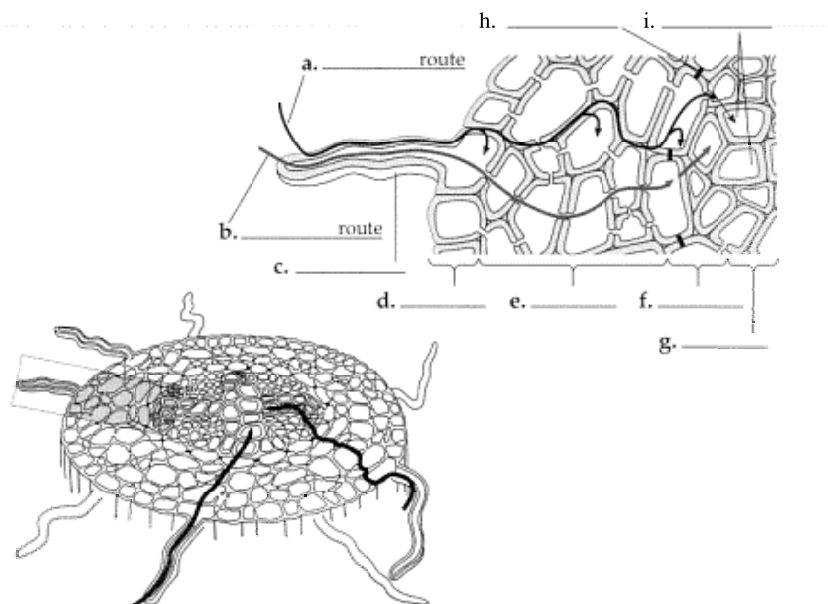
- b. De cel wordt nu geplaatst in gedestilleerd water. Wat gebeurt er met de waterpotentiaal van deze cel? Vul de vergelijking in nadat de cel in het water is geplaatst en evenwicht is bereikt

$$\begin{array}{r} \Psi_P = \\ +\Psi_S = \\ \hline \Psi = \end{array}$$

- c. Wat zou er met de cel gebeuren wanneer deze cel wordt geplaatst in een oplossing met een waterpotentiaal van -0.8 MPa? Vul de vergelijking in nadat evenwicht is bereikt

$$\begin{array}{r} \Psi_P = \\ +\Psi_S = \\ \hline \Psi = \end{array}$$

- 2 Benoem de verschillende onderdelen van onderstaande figuur (a en b hebben betrekking op transportroutes, c-i op structuren).



- 3 Hoe kunnen wortels van oeverplanten actief mineralen opnemen uit anaërobe modder?
 4 Een plant die onder optimale omstandigheden is opgekweekt krijgt op een



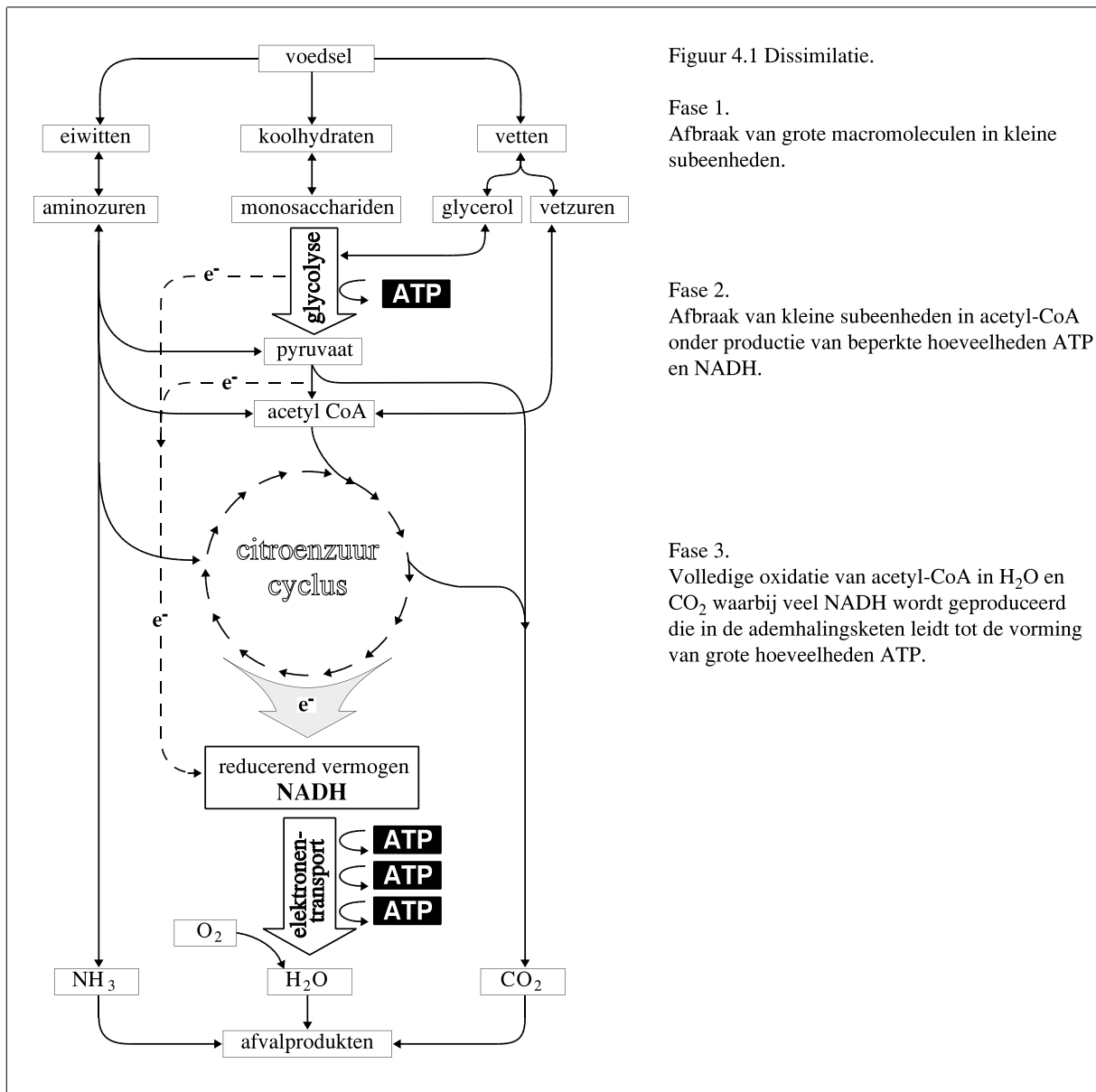
- gegeven moment geen stikstof meer aangeboden. In welk deel van de plant zul je hiervan de eerste symptomen aantreffen?
- 5 Dezelfde vraag maar dan voor calcium.
 - 6 Geef de betekenis van de volgende begrippen voor het lange-afstandstransport van water door de plant.
 - a. Transpiratie
 - b. Cohesie
 - c. Adhesie
 - d. Celdruk of -spanning
 - 7 Welke drie factoren dragen bij aan het openen van de huidmondjes bij het aanbreken van de dag.
 - a.
 - b.
 - c.
 - 8 In het blad vinden twee belangrijke processen plaats, fotosynthese en transpiratie. In welk opzicht betekent dit strijdige belangen?
 - 9 Leg hoe een wortelknol zowel suiker-sink als suiker-source kan zijn.
 - 10 Beschrijf de manier waarop verschillende opgeloste stoffen het plasmamembraan kunnen passeren bij planten.
 - 11 Bladluizen (aphids) scheiden zoete stof af waar vooral mieren dol op zijn. Bij spint en thripsen (ook zuigende arthropoden) zien we dit verschijnsel niet. In hoeverre zou dit kunnen samenhangen met de voedingswijze van deze dieren? Met andere woorden: van welk plantendeel zouden ze leven?
 - 12 Bij sommige grote zeeieren met speciale hechtorganen op grote diepte (wel 50 m) treft men een floeem-achtig weefsel aan, geen xyleem. Kun je beredeneren waarom selektiedruk wel heeft geleid tot ontwikkeling van een floeem, maar niet tot een xyleem?
 - 13 Welke transportbaan zal het verst in het groeipunt van de stengel functioneel zijn?
 - 14 Zowel xyleemsap als floeemsap bewegen zich in grote hoeveelheden door een vaatplant. Noem de overeenkomsten en verschillen tussen beide transportmechanismen.
 - 15 Maak een schema van een plant waarin opname en transport van mineralen, gas, water en suikers is weergegeven. Geef bij elk proces aan wat de drijvende kracht erachter is (ATP of entropieverhoging).
Bespreek je schema met enkele medestudenten en probeer door het combineren van verschillende presentaties een samenvatting van dit hoofdstuk te geven.

4 Dissimilatie

Vervangt Campbell hoofdstuk 9

4.1 Inleiding

Onderstaande figuur 4.1 geeft een overzicht van de *dissimilatie* bij een dierlijk organisme.



Figuur 4.1 Dissimilatie.

- Fase 1.
Afbraak van grote macromoleculen in kleine subeenheden.
- Fase 2.
Afbraak van kleine subeenheden in acetyl-CoA onder productie van beperkte hoeveelheden ATP en NADH.
- Fase 3.
Volledige oxidatie van acetyl-CoA in H₂O en CO₂ waarbij veel NADH wordt geproduceerd die in de ademhalingsketen leidt tot de vorming van grote hoeveelheden ATP.

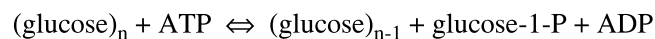
- 1 In fase 1 worden de macromoleculen in het maagdarmkanaal, lever en onderhuids vetweefsel afgebroken tot hun bouwstenen: aminozuren, monosacchariden, vetzuren en glycerol. Deze basismoleculen kunnen in principe door elke cel worden gebruikt voor het opwekken van energie.
- 2 Fase 2 speelt zich hoofdzakelijk af in het *cytoplasma* van de cel. Daar worden aminozuren, suikers, glycerol en vetzuren afgebroken tot acetylcoënzym-A of

- omgezet in een citroenzuurcyclus-intermediair (zie fase 3).
- 3 Fase 3 van de afbraak van voedsel speelt zich af in de *mitochondriën*. In deze fase wordt het zogenaamde geactiveerde acetaat, een acetaat-groep gekoppeld aan coënzym A (*acetylcoënzym-A*), stapsgewijs gesplitst. Dit gebeurt in de *citroenzuurcyclus*. In de citroenzuurcyclus worden de elektronen van de acetylgroep overgedragen op NAD⁺ en FAD, onder vorming van NADH en FADH₂ en worden de koolstofatomen geoxideerd tot CO₂. De hiervoor benodigde zuurstofatomen zijn afkomstig van H₂O. De in de citroenzuurcyclus aldus verkregen H-atomen (elektronen gebonden aan NAD⁺) worden via de *ademhalingsketen* geoxideerd met behulp van O₂ tot H₂O. In deze gecontroleerde verbranding wordt energie vastgelegd in de vorm van ATP: *oxidatieve fosforylering*.

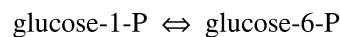
Samenvattend kan gesteld worden dat de honderden verschillende macromoleculen volgens een gelijksoortig principe worden afgebroken. De afbraak van de eiwitten, koolhydraten en vetten levert een aantal kleinere moleculen op. Dit zijn de 20 aminozuren, enkele pentosen en hexosen, glycerol en vetzuren. De verdere afbraak leidt tot de vorming van acetyl-coënzym A. Het acetyl-coënzym A wordt in de citroenzuurcyclus en de ademhalingsketen verbrand tot CO₂ en H₂O onder vorming van ATP. De overzichtsposter “Biochemical Pathways” van Boehringer, Mannheim, geeft uitgebreide informatie over alle biochemische reacties met structuurformules, enzymen en co-factoren.

4.2 Zetmeel en glycogeen

Zetmeel en glycogeen worden gehydrolyseerd tot eenvoudige suikers (zie figuur 4.2).



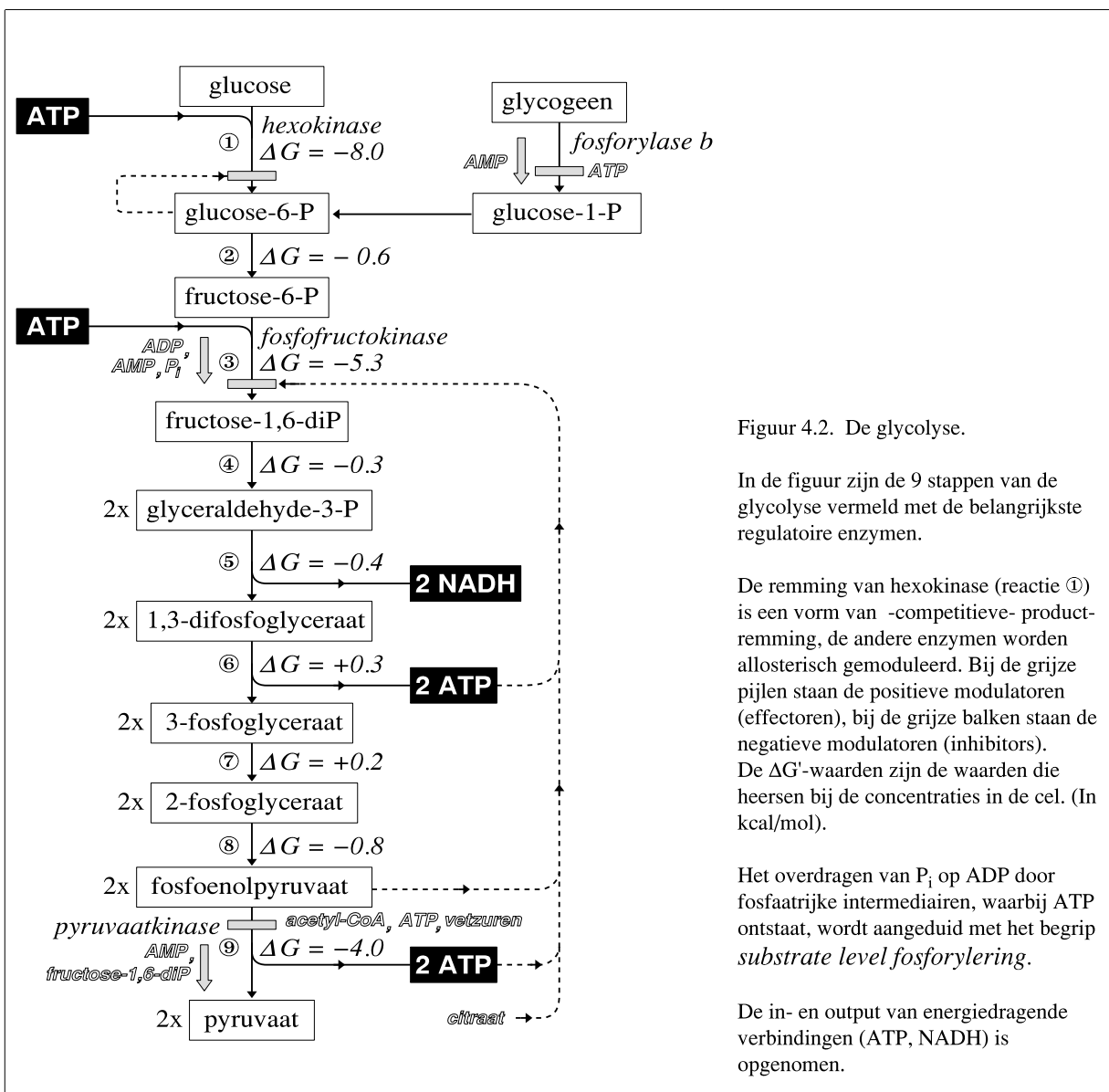
De reactie wordt gekatalyseerd door het enzym *fosforylase*. Dit enzym begint aan het niet-reducerende uiteinde van de polysaccharide-keten en hydrolyseert de 1→4 α -binding. (1→6 α -bindingen wordt gehydrolyseerd onder invloed van amylo-(1-6)-glucosidase).



Deze reactie wordt gekatalyseerd door *fosfoglucomutase*. Het product is een intermediair van de glycolyse. Glycogeen wordt via dezelfde weg gehydrolyseerd tot glucose-6-fosfaat.

4.3 Glycolyse

De *glycolyse* is een naam voor de stofwisselingsroute waarin het glucose-molecuul in negen reacties anaëroob wordt afgebroken tot *pyruvaat* (*pyrodruivenzuur*). Zie figuur 4.2. De enzymen die deze reacties katalyseren bevinden zich in het cytoplasma. In de glycolyse-reacties wordt vrije energie die vrijkomt bij de omzetting van glucose in pyruvaat door de cel in een bruikbare vorm vastgelegd (NADH en ATP). De glycolyse is een universele centrale stofwisselingsroute en treedt dus zowel in planten, dieren als microorganismen (m.o.) op. In sommige m.o. verschillen enkele reacties van de glycolyse van die in zoogdieren. De netto-reactie van de glycolyse ziet er als volgt uit:



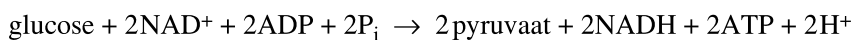
Figuur 4.2. De glycolyse.

In de figuur zijn de 9 stappen van de glycolyse vermeld met de belangrijkste regulatoire enzymen.

De remming van hexokinase (reactie ①) is een vorm van -competitieve- productremming, de andere enzymen worden allosterisch gemoduleerd. Bij de grijze pijlen staan de positieve modulatoren (effectoren), bij de grijze balken staan de negatieve modulatoren (inhibitors). De ΔG'-waarden zijn de waarden die heersen bij de concentraties in de cel. (In kcal/mol).

Het overdragen van P_i op ADP door fosfaatrijke intermediairen, waarbij ATP ontstaat, wordt aangeduid met het begrip *substrate level fosforylering*.

De in- en output van energiedragende verbindingen (ATP, NADH) is opgenomen.



Alle intermediairen in de glycolyse zijn gefosforyleerde stoffen. De fosfaatgroepen hebben drie functies:

- 1 Elk intermediair heeft een negatief geladen deel, waardoor de moleculen niet door het membraan diffunderen.
- 2 De fosfaatgroep dient als bindings- en herkenningsgroep bij de vorming van enzym-substraat complexen.
- 3 Het conserveren van energie: fosfoesters zijn energierijke verbindingen.

Regulatie van de flux van koolstof door de glycolyse.

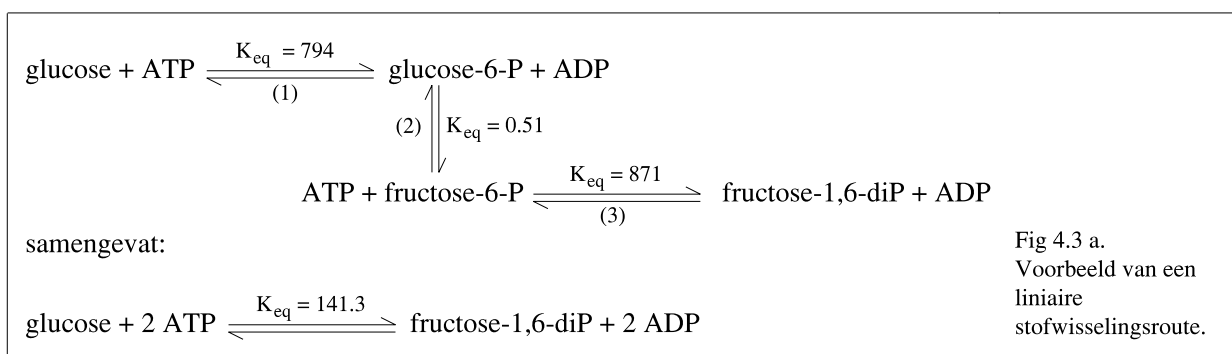
Omdat de glycolyse een centrale rol speelt in de stofwisselingsroutes die koolhydraten afbreken voor de productie van energie en omdat afbraakproducten van glucose belangrijke metabolieten zijn in andere metabole routes (ondermeer voor biosynthese reacties) is het duidelijk dat de enzymen van de glycolyse niet alleen gevoelig dienen te zijn voor metabolieten uit de

koolhydraat-stofwisseling, maar ook voor metabolieten uit andere stofwisselingsroutes. De regulatie van de glycolyse vindt plaats door de activiteiten van drie enzymen te beïnvloeden. Zie figuur 4.2.

- 1 De productie van de hoeveelheid glucose-6-fosfaat wordt gereguleerd door het enzym *hexokinase*. Wanneer er teveel glucose-6-fosfaat in de cel komt (reactie ①, figuur 4.2), is dit een teken dat het niet snel genoeg gebruikt wordt. Het enzym hexokinase dat glucose omzet in glucose-6-fosfaat herkent dit doordat een hoge glucose-6-fosfaat-concentratie de activiteit van hexokinase remt. Dit type remming noemt men productremming. In levercellen is naast hexokinase nog een ander enzym dat dezelfde reactie katalyseert. Dit enzym heet *glucokinase* maar dit enzym wordt niet geremd door hoge concentraties glucose-6-fosfaat.
- 2 Het enzym *fosfofructokinase* dat reactie ③ (figuur 4.2) katalyseert, is een belangrijk enzym in de regulatie van de flux van koolstof door de glycolyse. Het is een gecompliceerd allosteer gereguleerd enzym dat beïnvloed wordt door talrijke stimulerende en remmende moleculen. Bovendien verschillen de allosterische eigenschappen nog per type cel. Algemeen kan worden gesteld dat fosfofructokinase geremd wordt als de concentratie ATP hoog genoeg wordt en het enzym wordt gestimuleerd als de AMP-concentratie hoog wordt.
- 3 Het enzym *pyruvaatkinase* (reactie ⑨, figuur 4.2) is ook een allosteer enzym. Wanneer de ATP-concentratie in het cytoplasma van de cel hoog is, heeft het enzym nauwelijks affiniteit voor *fosfoenolpyruvaat* en daarom is de activiteit van het enzym dan ook laag. Naast de beïnvloeding door ATP wordt pyruvaatkinase ook sterk geremd door acetylcoënzym-A en vetzuren die bestaan uit meer dan 10 koolstofatomen. Wanneer de concentratie van deze moleculen relatief hoog is in het cytoplasma van de cel, is dit een aanwijzing dat er voldoende brandstoffen zijn voor de citroenzuurcyclus en dan is het niet noodzakelijk koolhydraten af te breken voor het opwekken van energie in de citroenzuurcyclus via oxidatie van acetylcoënzym-A.

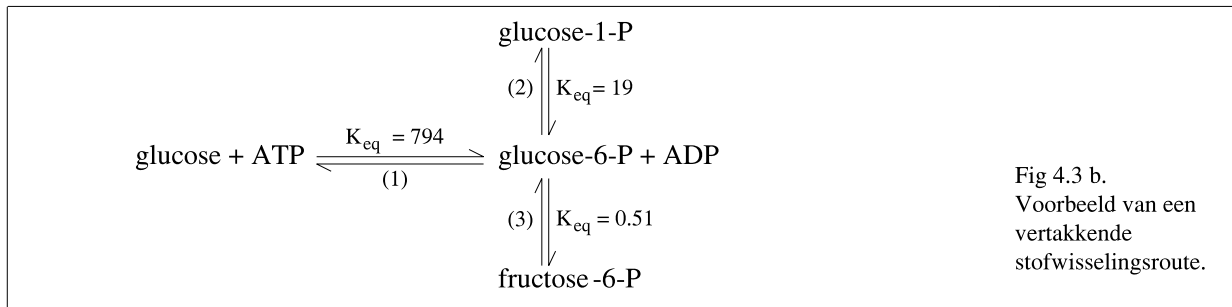
Merk tenslotte op dat de regulatie vooral daar plaats vindt waar de omzettingen een sterk exergoon karakter hebben (de $\Delta G'$ -waarden zijn sterk negatief, zie figuur 4.2). Dat is ook wel nodig, omdat er anders spontaan teveel intermediären als glucose-6-fosfaat, fructose-1,6-difosfaat en pyruvaat zouden ontstaan.

In figuur 4.3 is weergegeven op welke wijze de ligging van het evenwicht betrokken is bij regulatie. Deze reacties zijn onderdeel van de *glycolyse* en glycogeensynthese (fig.4.3 a en b).

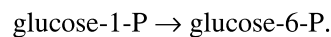


Ook al is in fig.4.3a het evenwicht van reactie (2) naar links (boven) gelegen toch zal de tweede reactie verlopen bij aanbod van glucose en ATP door de

twee exergone reacties 1 en 3.



In fig.4.3b bepaalt het chemisch evenwicht tot op zekere hoogte in welke hoeveelheid glucose-6-fosfaat wordt omgezet in de verschillende alternatieven. Voor goed begrip is van belang, dat $K_{eq} = 19$ (reactie 2) gelezen moet worden als de **exergone** omzetting:



Deze reactie is ‘meer exergoon’ dan de reactie fructose-6P → glucose-6P. ($G^\circ = -1.7$ resp. -0.4 kJ/mol). Dus geldt dat bij hoog glucoseaanbod (en weinig verbruik via fructose-6P → ademhaling) vooral glucose-1-P gevormd zal worden, hetgeen een bouwsteen is voor glycogeen (reserve).

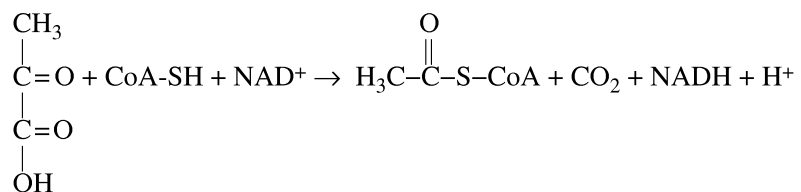
4.4 Aërobe en anaërobe omzetting van pyruvaat

Het eindproduct van de glycolyse, *pyruvaat*, kan via drie routes verder worden gemetaboliseerd:

- 1 Wanneer in een cel voldoende zuurstof aanwezig is en er behoefte is aan energie, dan wordt pyruvaat in de mitochondriën afgebroken via de citroenzuurcyclus en de ademhalingsketen (geoxideerd tot CO_2 en H_2O).
- 2 Wanneer er in de cel - bijvoorbeeld een sterk samentrekkende skeletspiercel - niet voldoende zuurstof aanwezig is om pyruvaat te oxideren via de citroenzuurcyclus en de ademhalingsketen, dan wordt pyruvaat met behulp van NADH gereduceerd tot lactaat (melkzuur). Hierbij wordt NADH geoxideerd tot NAD^+ . Onder deze omstandigheden kunnen de glycolyse-reacties doorgaan en wordt er ATP gevormd voor spierarbeid. Het gevormde lactaat wordt door de skeletspier aan het bloed afgestaan.
- 3 In sommige m.o., waaronder bakkersgist, wordt pyruvaat onder zuurstofarme omstandigheden omgezet in ethanol en CO_2 . Deze glycolyse gevolgd door ethanol-vorming noemt men alcoholische gisting of -fermentatie.

Aërobe omzetting

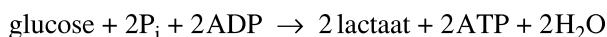
Onder aërobe omstandigheden worden pyruvaat en NADH in de mitochondriën verder geoxideerd. Allereerst wordt pyruvaat door het *pyruvaatdehydrogenase* enzym-complex verder geoxideerd volgens de onderstaande reactie:



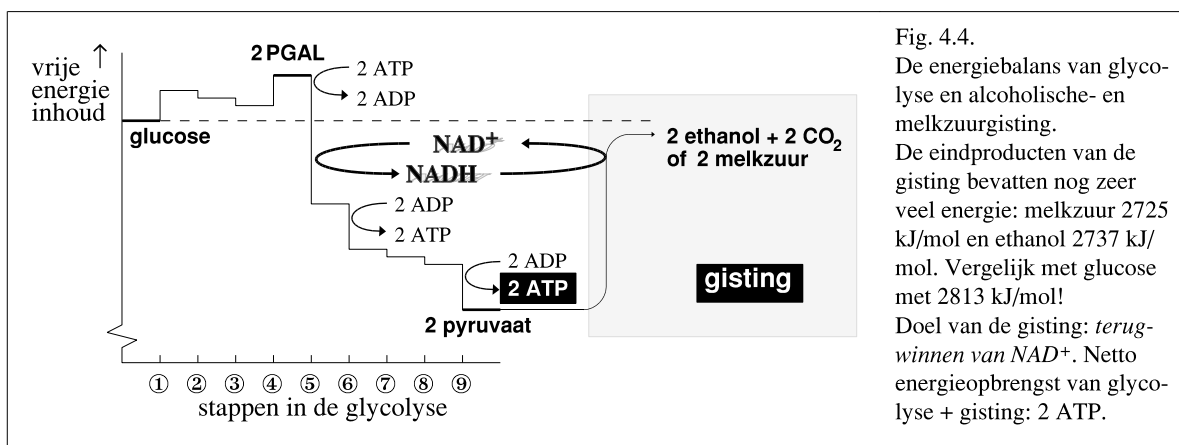
Acetyl-coënzym-A wordt in de citroenzuurcyclus en de ademhalingsketen volledig verbrand. De energie-productie van dit proces zal in de volgende paragrafen worden behandeld. Het NADH dat in de glycolyse is gevormd bij de omzetting van glucose in pyruvaat moet weer worden geoxideerd tot NAD⁺, anders stopt de afbraak van glucose. De reductie-equivalenten (elektronen) aanwezig in NADH reageren in de mitochondriën met zuurstof tot H₂O, waarbij NAD⁺ wordt teruggevormd. Dit proces zal alleen dan verlopen als de toevoer van zuurstof naar de cel groter is dan de productie van NADH.

Melkzuurgisting

Onder anaërobe omstandigheden, zoals in skeletspieren bij zware inspanning, is de toevoer van zuurstof minder dan de productie van NADH in de glycolyse-reacties. Er is dan te weinig zuurstof voor de oxidatie van NADH en de volledige verbranding van pyruvaat in de mitochondriën. Onder deze omstandigheden wordt in de skeletspier NADH geoxideerd door pyruvaat: *melkzuurgisting*. Het enzym *lactaat-dehydrogenase* katalyseert deze reactie. De somreactie van de anaërobe glycolyse is dan:



Door de oxidatie van NADH door pyruvaat is de cel in staat met een hoge snelheid glycolyse, dus ATP-productie, te bedrijven onder anaërobe omstandigheden.



Alcoholische gisting

De derde manier waarop de glycolyse vervolgd kan worden, is de *alcoholische fermentatie* of *gisting*. Dit proces komt voor in sommige m.o., waaronder bakkersgist. De somreactie van de alcoholische fermentatie is:



Rendement van fermentaties

In figuur 4.4 is de energiebalans van glycolyse en melkzuurgisting weergegeven. Het energie-rendement van fermentatie is laag: volledige verbranding van glucose levert 2813 kJ/mol, fermentatie slechts 2 ATP met een energie-inhoud van ca. 60 kJ/mol, een rendement dus van $60/2813 = 2.1\%$!

4.5 De citroenzuurcyclus

Inleiding.

De afbraakproducten van glucose via de reacties van de glycolyse, lactaat of ethanol, bevatten nog steeds een grote hoeveelheid energie, die bij verdere oxidatie benut zou kunnen worden. Toen in de evolutie als gevolg van de fotosynthese-activiteit van de *cyanobacteriën* moleculaire zuurstof beschikbaar kwam, is hierop ingespeeld. Er heeft zich een aëroob milieu ontwikkeld dat de organische brandstofmoleculen volledig verbrandt tot CO₂ en H₂O.

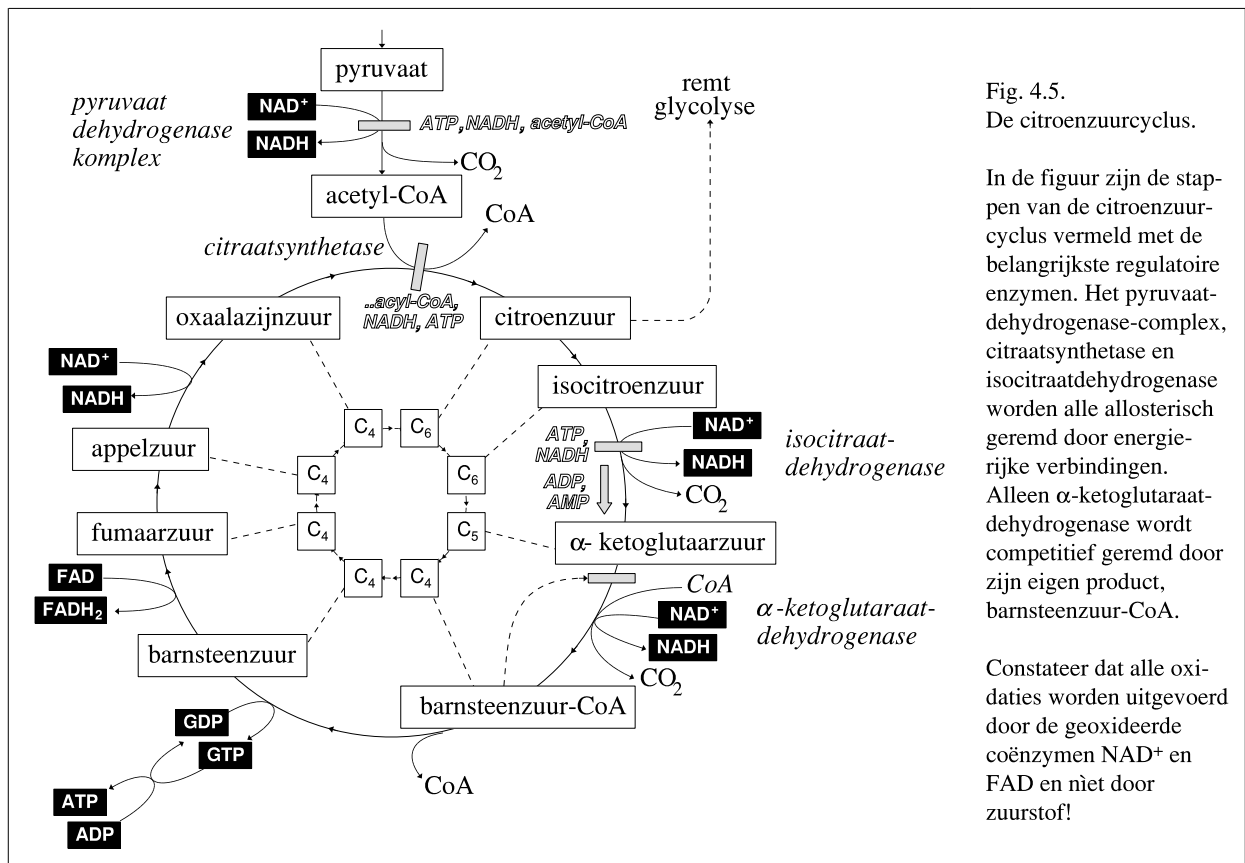


Fig. 4.5. De citroenzuurcyclus.

In de figuur zijn de stappen van de citroenzuurcyclus vermeld met de belangrijkste regulatoire enzymen. Het pyruvaatdehydrogenase-complex, citraatsynthetase en isocitraatdehydrogenase worden alle allosterisch geremd door energierijke verbindingen. Alleen α-ketoglutaatdehydrogenase wordt competitief geremd door zijn eigen product, barnsteenzuur-CoA.

Constaateer dat alle oxidaties worden uitgevoerd door de geoxideerde coënzymen NAD⁺ en FAD en niet door zuurstof!

In de omschakeling van een anaëroob naar een aëroob metabolisme speelt de *citroenzuurcyclus* of *Krebs cyclus* naast de oxidatieve fosforylering een centrale rol. In de reacties van de citroenzuurcyclus worden acetylgroepen geoxideerd tot CO₂ en H₂O. De acetylgroepen zijn afkomstig van koolhydraten, vetten of amino-zuren. Zie figuur 4.5.

Merk opdat de oxidaties van de C–C- en C–H-verbindingen tot CO₂ niet direct met moleculaire zuurstof (O₂) uitgevoerd worden, maar indirect door NAD⁺ en FAD. De benodigde zuurstof voor de vorming van CO₂ wordt geleverd door H₂O. Dit gebeurt niet direct in de décarboxyleringsreacties zelf, maar indirect via inbouw van H₂O in de verschillende citroenzuurcyclus-intermediären die niet zelf gedécarboxyleerd worden. Décarboxylering en citroenzuurcyclus zijn beide gelokaliseerd in de mitochondriën van de eukaryote cel.

Regulatie van de citroenzuurcyclus-activiteit

Omdat de activiteit vande citroenzuurcyclus afgestemd moet zijn op een groot



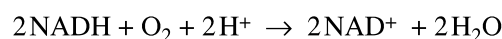
aantal stofwisselingsroutes, is het vanzelfsprekend dat de regulatie van de activiteit van de enzymen van de cyclus ingewikkeld zal zijn.

- 1 De invoer van acetylcoënzym-A in de citroenzuurcyclus wordt gereguleerd door het enzym *pyruvaat-dehydrogenase-complex*. In figuur 4.5 is aangegeven dat ATP, NADH en acetylcoënzym A de activiteit van het pyruvaat-dehydrogenase-complex remmen. Dit zijn de signaalmoleculen die aangeven dat er voldoende energie in het mitochondrium aanwezig is en dat de productie ervan op dit moment niet nodig is.
- 2 In de meeste cellen is de concentratie van *oxaloacetaat* de snelheidsbepalende factor voor de activiteit van de cyclus (zie figuur 4.5). De concentratie van oxaloacetaat bepaalt namelijk onder de meeste cellulaire condities de activiteit van *citraatsynthetase*. Dit is het enzym dat oxaloacetaat en *acetylcoënzym-A* omzet in citraat en coënzym A. Zoals aangegeven in figuur 4.5 wordt citraatsynthetase ook nog geremd door *succinylcoënzym-A*, NADH, acetylcoënzym-A en vetzuurcoënzym-A-moleculen. Al deze moleculen geven aan dat er voldoende energie aanwezig is in het mitochondrium en dat de productie van NADH in de citroenzuurcyclus dus niet noodzakelijk is op dat moment.
- 3 Voorts stimuleert ADP het enzym *isocitraat-dehydrogenase* en wordt het *α-ketoglutaraat-dehydrogenase* geremd zijn door zijn product succinylcoënzym-A. Onder normale omstandigheden is de snelheid van de glycolyse afgestemd op die van de citroenzuurcyclus. Dat wil zeggen dat er slechts zoveel glucose wordt afgebroken tot pyruvaat als nodig is om voldoende acetylcoënzym-A te leveren als brandstof voor de citroenzuurcyclus. Naast remming door NADH en ATP welke gemeenschappelijke componenten zijn in beide stofwisselingsroutes, remt citraat ook nog *fosfofructokinase*, het belangrijkste enzym wat betreft de regulatie van de snelheid van de glycolyse.

4.6 De ademhalingsketen

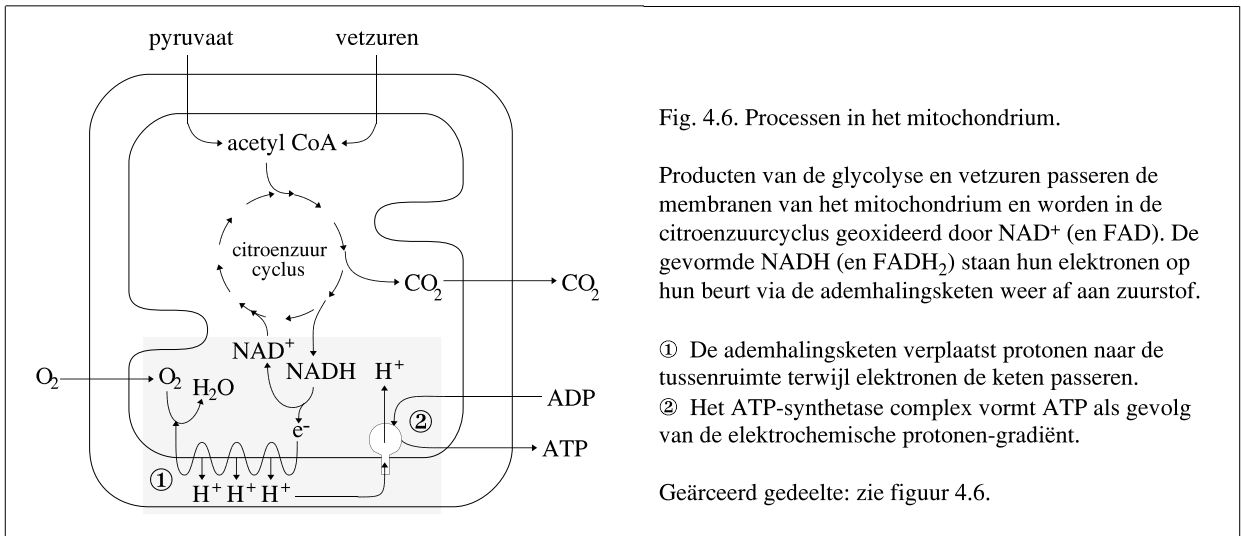
oxidatieve fosforylering

Zoals in de vorige paragraaf behandeld, worden in de citroenzuurcyclus acetylgroepen indirect geoxideerd. De koolstofatomen worden aan zuurstof gekoppeld waarbij zuurstof afkomstig is van water. De reductie-equivalenten (elektronen of een hydride) aanwezig in de C–H-bindingen van de actylgroep worden gebruikt om NADH en FADH₂ te vormen. Elektronen, afkomstig van van NADH en FADH₂, doorlopen een serie reacties waarbij ze uiteindelijk reageren met moleculaire zuurstof en protonen, waardoor H₂O ontstaat. Tijdens dit proces komt energie vrij die gebruikt wordt om ADP te fosforyleren tot ATP. De oxidatie/reductie-reacties en de synthese van ATP worden met één term, de oxidatieve fosforylering, aangeduid. De enzymen en elektronen-overdrachtseiwitten betrokken bij het zojuist geschetste elektronen-overdrachtsproces vormen tezamen de zogenaamde *ademhalingsketen*. Het doel van dit proces is de energie die vrijkomt bij de oxidatie van NADH en FADH₂ zo volledig mogelijk om te zetten in ATP. De ademhalingsketen is geheel ingebed in het *mitochondriale binnenmembraan*. De overall reactie:

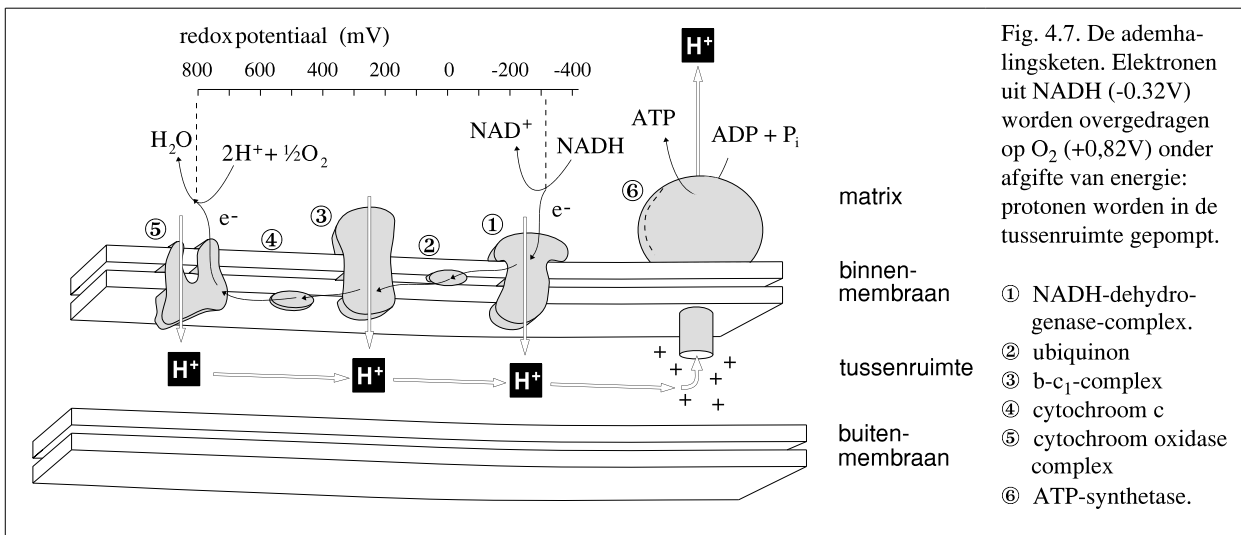


wordt uitgevoerd in kleine stapjes. Het proces werkt globaal als volgt: van NADH worden twee elektronen en een proton verwijderd. De elektronen doorlopen de ademhalingsketen en de protonen worden buiten het mitochondrium gebracht. Pas in de laatste reactie van de ademhalingsketen reageren de protonen weer met de elektronen. Bij het doorlopen van elektronen door de ademhalingsketen komt energie vrij die gebruikt wordt om ATP te

synthetiseren. Zie figuur 4.6.



De verschillende redoxcomponenten van de ademhalingsketen hebben verschillende standaard-redoxpotentialen (zie figuur 4.7 en tabel 4.1).



De elektronen gaan van de redoxcomponent met lagere potentiaal naar die met een hogere potentiaal. Zie ook §1.7. In tabel 4.1 is weergegeven welke de standaard-redoxpotentialen zijn van de verschillende redoxkoppels in de

Tabel 4.1. Standaard redox-potentialen van een aantal redoxkoppels in de ademhalingsketen. Bovendien zijn de potentiaalverschillen en energie-equivalenten vermeld.

Component	E_0' (V)	$\Delta E_0'$ (V)	$-\Delta G^{\circ}$ (kJ/mol)
NADH	-0.32		
flavoproteïne	-0.08	0.24	46.4
cytochroom b	+0.03	0.11	21.2
cytochroom c	+0.27	0.24	46.4
cytochroom a	+0.29	0.02	3.8
zuurstof	+0.82	0.53	102.5



ademhalingsketen, en welke de potentiaalsprongen zijn, dus hoe exergoon de diverse stappen zijn. Neem nota van het feit, dat op grond van redoxpotentialen de volgorde van de redoxkoppels (wie reduceert wie) te herleiden is. Een gedeelte van de energie wordt gebruikt om protonen te verplaatsen over het mitochondriale binnenmembraan, dus vanuit de matrix-ruimte naar de ruimte tussen het mitochondriale binnen- en buitenmembraan. Door de ongelijke verdeling van protonen aan weerskanten van het mitochondriale binnenmembraan ontstaat er een terugdrijvende kracht van protonen - de 'proton motive force' - die gebruikt wordt door een in het membraan gelegen enzym om uit ADP en P_i ATP te maken. Dit enzym heet *ATP-synthetase*. Het zojuist geschetste proces waarbij elektrontransport gekoppeld wordt aan ATP-synthese noemt men tezamen *oxidatieve fosforylering*.

proton motive force

Het rendement van de ademhaling

Als we het hele proces van glycolyse, décarboxylering, citroenzuurcyclus en ademhalingsketen bestuderen in termen van energie-opbrengst dan kunnen het totaalproces samenvatten in figuur 4.8.

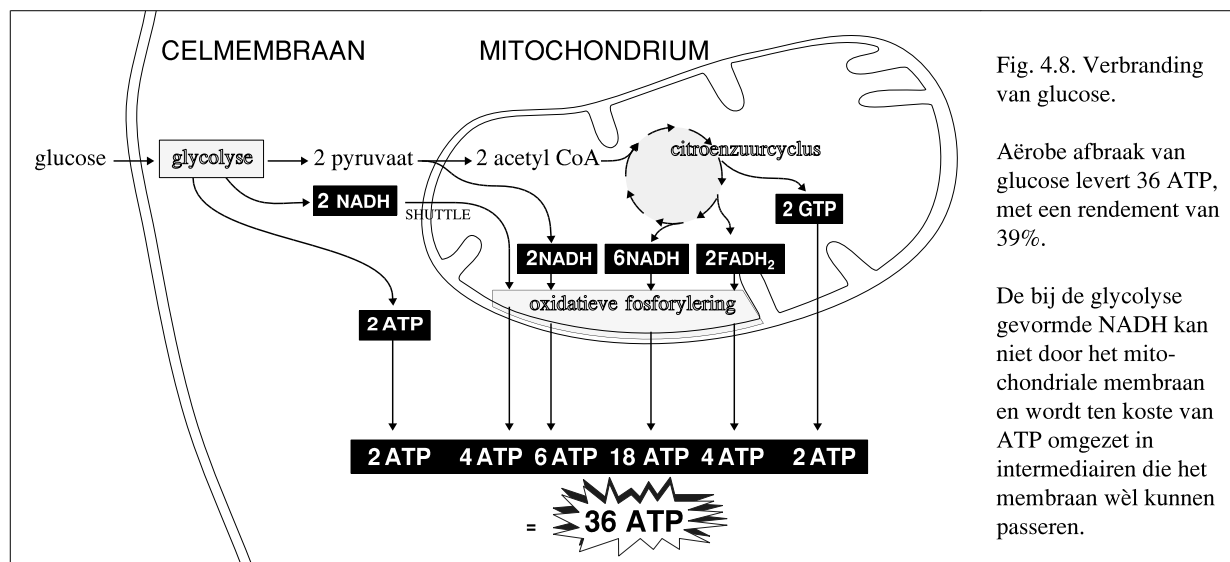


Fig. 4.8. Verbranding van glucose.

Aërobe afbraak van glucose levert 36 ATP, met een rendement van 39%.

De bij de glycolyse gevormde NADH kan niet door het mitochondriale membraan en wordt ten koste van ATP omgezet in intermediairen die het membraan wél kunnen passeren.

Volledige verbranding van glucose levert 2813 kJ/mol op. In onderstaande tabel 4.2 staan de opbrengsten van de verschillende deelprocessen.

Tabel 4.2 De energieopbrengst in ATP van de deelprocessen bij volledige verbranding.

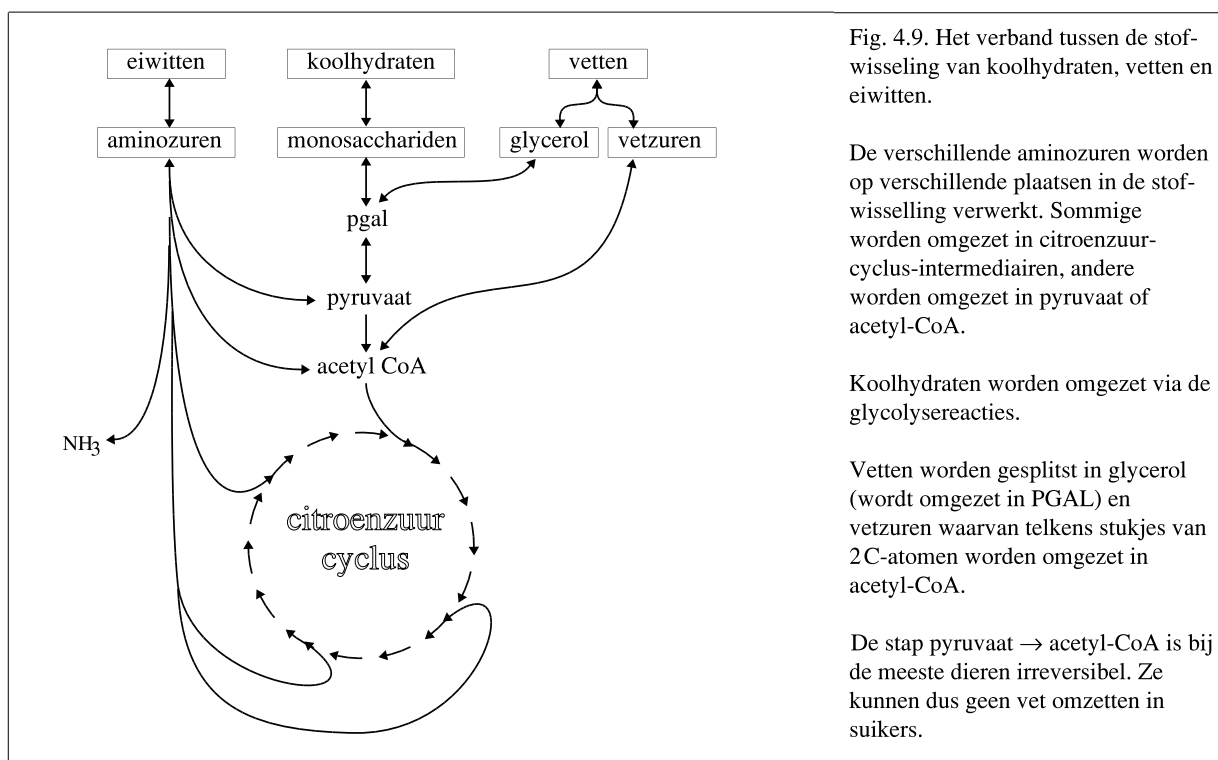
Proces	levert direct	na verwerking	mechanisme
glycolyse	2 ATP	2 ATP	substrate level
	2 NADH	4 ATP	oxidatief, moet naar mitochondrium
décarboxylering	2 NADH	6 ATP	oxidatief
	6 NADH	18 ATP	oxidatief
citraenzuurcyclus	2 FADH ₂	4 ATP	oxidatief
	2 GTP	2 ATP	substrate level
totaal		36 ATP	

Nadat de elektronen van glucose zijn overgedragen op NAD⁺ en FAD, bevatten de gereduceerde coënzymen en A(G)TP nog het grootste gedeelte van de chemische energie: 10 NADH $\hat{=}$ 2180, 2 FADH₂ $\hat{=}$ 394 en 4 ATP $\hat{=}$ 122 kJ/mol, samen 2696 kJ/mol, 96% van de oorspronkelijke energieinhoud. Grote warmteverliezen treden op bij de omzetting in ATP. De totale opbrengst

bedraagt 36 ATP per mol glucose, met een energie-inhoud van $36 \times 30.5 = 1098$ kJ/mol. Het uiteindelijke rendement bedraagt dus $1098/2813 = 39\%$, voorwaar geen slecht resultaat, als je het vergelijkt met het rendement van een benzinemotor dat hooguit 30% bedraagt!

4.7 Afbraak van andere stoffen dan glucose

Een normaal dieet bestaat uit koolhydraten, vetten en eiwitten. Koolhydraten dragen voor 40-50% bij aan onze dagelijkse energiebehoefte. Gemiddeld is zo'n 30-40% van de energiebehoefte afkomstig uit vetten. Ze bevatten relatief



weinig zuurstof en leveren dus meer energie bij verbranding: de ATP-opbrengst per gram vet is ruim twee keer zo hoog als per gram suiker. Eiwitten dekken ongeveer 10-15% van de energiebehoefte. In figuur 4.9 is het verband tussen de stofwisseling van de verschillende voedingsbestanddelen weergegeven.

Let op de centrale rol die acetyl-CoA en de citroenzuurcyclus spelen: ze zijn onmisbaar voor de hele energie-huishouding van de cel. In de citroenzuurcyclus worden afbraak (dissimilatie) en opbouw (assimilatie) van vetten, aminozuren en tal van andere stoffen aan elkaar gekoppeld.

Monosacchariden en glycogeen

Ook andere monosacchariden dan glucose kunnen via de glycolyse worden afgebroken. *Hexosen* kunnen in de glycolyse geleid worden nadat ze door specifieke reacties zijn omgezet in een van de gefosforyleerde intermediären *glucosefosfaat* of *fructose-difosfaat*. *Pentosen* echter, moeten eerst worden omgezet in hexosen.

Wanneer glucose wordt afgebroken tot pyrodruivenzuur, ontstaan netto twee moleculen ATP per molecuul glucose. De afbraak van glycogeen tot pyrodruivenzuur daartentegen levert netto drie moleculen ATP per glucose-eenheid. Dit verschil wordt veroorzaakt doordat voor de activatie van een glucose-eenheid van glycogeen slechts één molecuul ATP nodig is.

Vetzuren

Wanneer weefsels vet nodig hebben, wordt dit door de vetcellen afgegeven. Deze behoefte aan vet ontstaat reeds ongeveer twaalf uur na een maaltijd. In het vetweefsel worden de opgeslagen triglyceriden dan eerst afgebroken tot vetzuren en glycerol. De vetzuren worden vervolgens via het bloed naar de desbetreffende weefsels vervoerd en opgenomen door de cellen. In het cytosol worden ze met behulp van ATP geactiveerd door binding aan coënzym A.

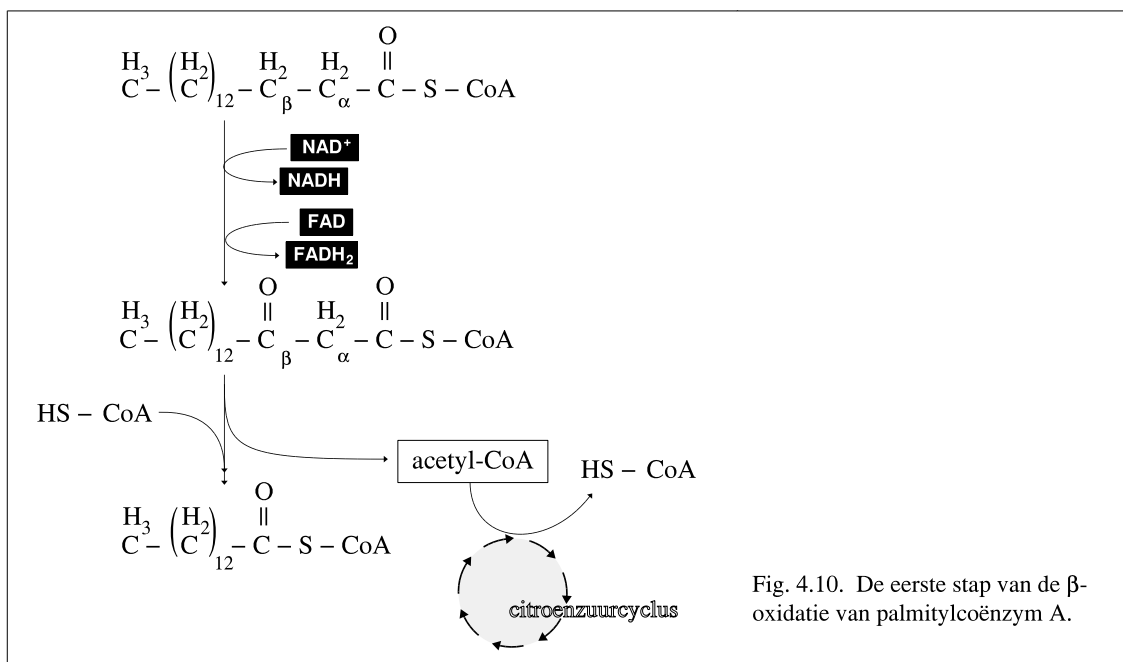


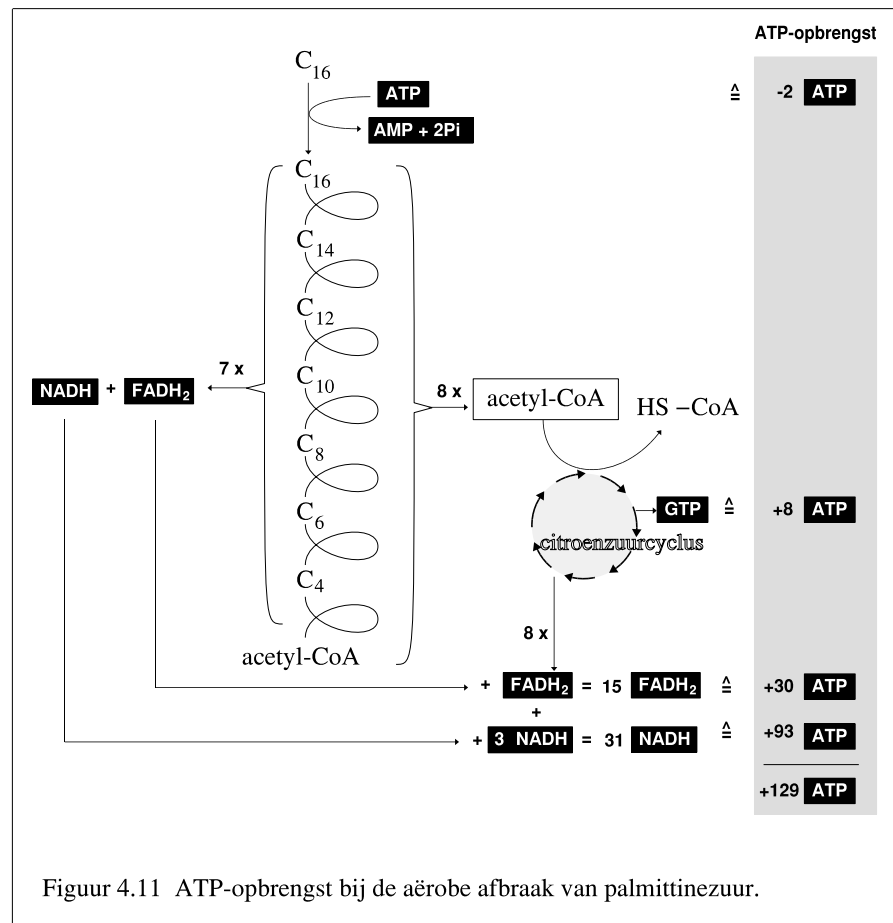
Fig. 4.10. De eerste stap van de β-oxidatie van palmitylcoënzym A.

β-oxidatie

Een verbinding van een vetzuur met coënzym A wordt een *acylcoënzym A* genoemd. De moleculen acylcoënzym A worden vervolgens naar de matrix van de mitochondriën vervoerd. In de matrix worden deze verbindingen afgebroken door β-oxidatie (figuur 4.10). Bij dit proces wordt het β-koolstofatoom (het tweede vanaf de carboxylgroep), in een aantal stappen tot een nieuwe carboxylgroep geoxideerd. Vervolgens wordt een fragment bestaande uit twee koolstofatomen afgesplitst. Dit fragment is acetyl-CoA (een acylcoënzym A waarbij het vetzuur azijnzuur is). Door β-oxidatie is er een acylcoënzym A ontstaan dat twee koolstofatomen minder bevat dan het oorspronkelijke acylcoënzym A. Bovendien wordt hierbij één molecuul NADH en één molecuul FADH_2 gevormd. Het verkorte acylcoënzym A kan nog een aantal malen een β-oxidatie ondergaan, afhankelijk van de lengte van de koolstofketen.

In figuur 4.11 is schematisch de volledige afbraak weergegeven van een molecuul palmitinezuur, een C_{16} -verbinding ($\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH}$). Hierbij worden 131 moleculen ATP gevormd. Voor de activatie worden twee energierijke fosfaatbindingen gesplitst ($\text{ATP} \rightarrow \text{AMP} + 2\text{P}_i$). Dit komt overeen met een energieverbruik van twee moleculen ATP. De netto-opbrengst bij de volledige

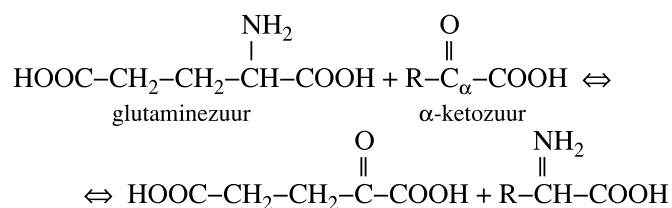
afbraak van één mol palmitinezuur bedraagt 129 mol ATP, dus $129 \times 30.5 \text{ kJ} = 3935 \text{ kJ}$. De energie-inhoud van één mol palmitinezuur bedraagt 9800 kJ. Het rendement is dus in dit geval ongeveer $3935/9800 \times 100\% = 40\%$.



Aminozuren

transaminering

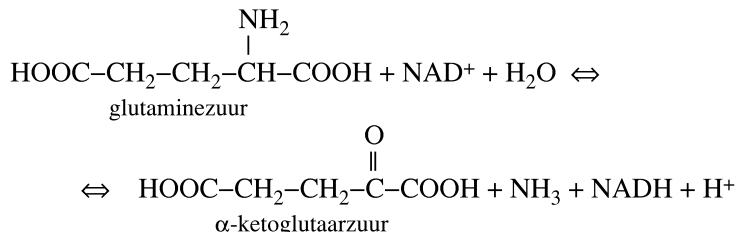
De afbraak van aminozuren kan op verschillende manieren plaatsvinden. Belangrijk hierbij zijn de transaminering en de oxidatieve desaminering. Bij een transamineringsreactie wordt de aminogroep van een aminozuur overgedragen op een α -ketozuur. Het oorspronkelijke aminozuur wordt daarbij omgezet in een α -ketozuur. Hoewel alle aminozuren transaminering kunnen ondergaan, zijn vooral de transamineringsreacties waarbij glutaminezuur en asparaginezuur betrokken zijn, van belang. Deze reacties leveren namelijk als eindproduct α -ketoglutaarzuur, resp. *oxaalazijnzuur*, metaboliëten van de citroenzuurcyclus. Deze aminozuren kunnen dus via deze intermediären worden afgebroken. In onderstaande reactievergelijking wordt de omzetting van *glutaminezuur* tot α -ketoglutaarzuur weergegeven:



oxidatieve desaminering

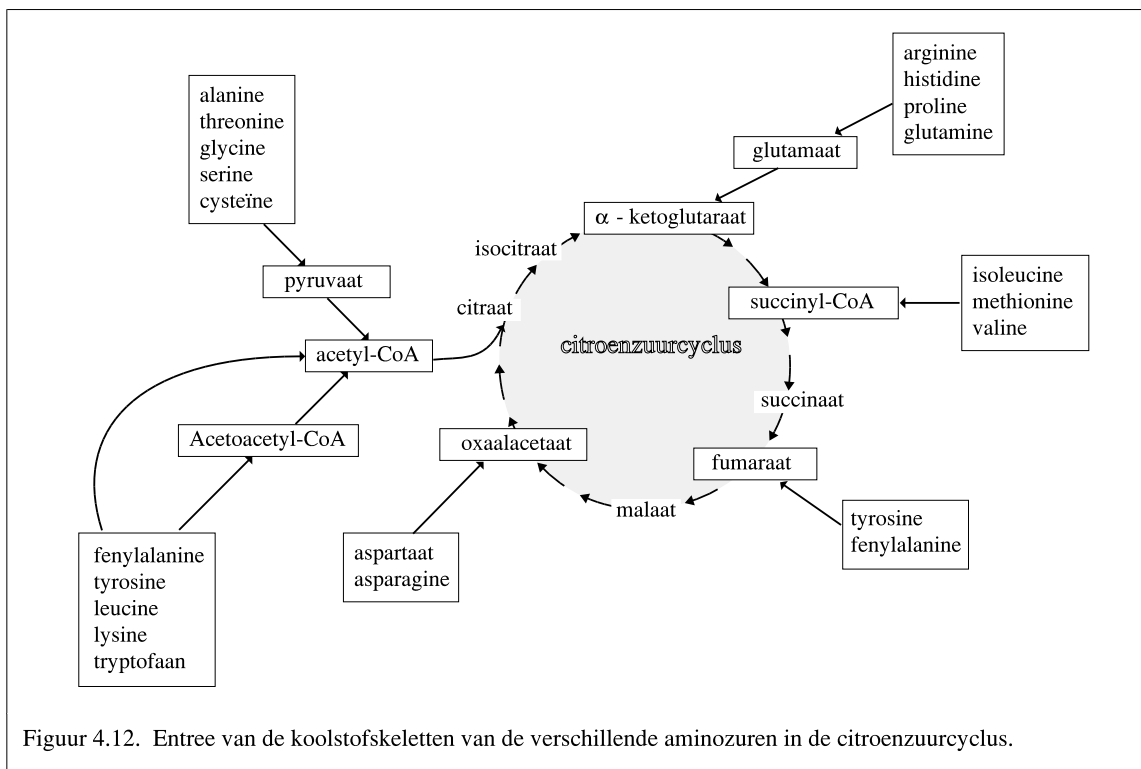
α -ketoglutaarzuur

Een andere manier om de aminogroep van een aminozuur te verwijderen is de oxidatieve desaminering. Hierbij wordt het aminozuur eveneens omgezet in een α -ketozuur:



De *ammoniak* (NH_3) die bij deze reactie vrijkomt, kan in andere reacties gebruikt worden, maar kan ook als zodanig worden uitgescheiden (bij vissen), maar ook als *urinezuur* (bijvoorbeeld bij sprinkhanen) of in de vorm van *ureum* (bijvoorbeeld bij de mens).

Behalve deze twee processen, kan een aantal aminozuren de citroenzuurcyclus doorlopen doordat een deel van hun koolstofskelet wordt omgezet in acetyl-coënzym A. Andere aminozuren kunnen worden omgezet in *pyrodruivenzuur*. Zie figuur 4.12.



Respiratoir quotiënt

Om vast te stellen welke voedingsbron wordt aangewend voor de energievoorziening wordt in een afgesloten ruimte de respiratoir quotiënt bepaald.

$$\text{RQ} = \frac{\text{ontwikkelde CO}_2}{\text{opgenomen O}_2}$$

Voor glucose volgt uit de reactievergelijking $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 \rightarrow 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$



dat de $RQ = 6 : 6 = 1$.

Voor een vet als stearinezuur ($C_{18}H_{36}O_2 + 26 O_2 \rightarrow 18 CO_2 + 18 H_2O$) bedraagt de $RQ = 18 : 26 = 0,7$.

In de praktijk zullen organismen zelden slechts één verbinding oxideren en zal de RQ liggen tussen deze uitersten (bij de mens gemiddeld 0,85).

4.8 Samenvatting

- ☐ De afbraak of dissimilatie van voedsel geschiedt in drie fasen:

Fase 1. Afbraak van grote macromoleculen in kleine subeenheden in het maag-darmstelsel, lever en onderhuids vetweefsel.

Fase 2. Afbraak van kleine subeenheden in acetylcoënzym-A, hoofdzakelijk in het cytoplasma van de cellen, onder productie van beperkte hoeveelheden ATP en NADH.

Fase 3. Volledige oxidatie van acetyl-CoA in H_2O en CO_2 in de mitochondriën, waarbij veel NADH wordt geproduceerd die in de ademhalingsketen leidt tot de vorming van grote hoeveelheden ATP.
- ☐ De *glycolyse* is een naam voor de stofwisselingsroute waarin het glucosemolecuul in negen reacties anaëroob wordt afgebroken tot pyruvaat (pyrodrivenzuur). Zie figuur 4.2.

De regulatie van de glycolyse vindt plaats door de activiteiten van drie enzymen te beïnvloeden (reacties ①, ③ en ⑨).

Regulatie vindt vooral daar plaats waar de omzettingen een sterk exergoon karakter hebben.
- ☐ Het eindproduct van de glycolyse, pyruvaat, kan via drie routes verder worden gemetaboliseerd:

 - Aëroob: via de citroenzuurcyclus en de ademhalingsketen wordt het geoxideerd tot CO_2 en H_2O .
 - Anaëroob: het wordt met behulp van NADH gereduceerd tot lactaat (melkzuur) of tot ethanol en CO_2 .
- ☐ Doel van de gisting is het terugwinnen van NAD^+ om de glycolyse gaande te houden. Netto energieopbrengst van glycolyse + gisting: 2 ATP. Het totale rendement is laag: 2%. De eindproducten van de gisting bevatten nog zeer veel energie: melkzuur 2725 kJ/mol en ethanol 2737 kJ/mol terwijl het oorspronkelijke glucose 2813 kJ/mol bevat!
- ☐ De citroenzuurcyclus zet pyruvaat via acetylcoënzym-A om in CO_2 en H_2O . De energierijke elektronen uit pyruvaat worden overgedragen op de coënzymen NAD^+ en FAD, die daarbij worden gereduceerd tot NADH en $FADH_2$, en zo opgeslagen voor de ATP-synthese met behulp van de ademhalingsketen.

Regulatie van de snelheid van afbraak van acetyl-CoA geschiedt op drie plaatsen waar energierijke verbindingen enzymreacties remmen. Zie fig. 4.4.
- ☐ Elektronen, afkomstig van van NADH en $FADH_2$, doorlopen de ademhalingsketen waarbij ze uiteindelijk reageren met moleculaire zuurstof en protonen, waardoor H_2O ontstaat. Zie tabel 4.1 en figuur 4.5 en 4.6. Tijdens dit proces komt energie vrij die gebruikt wordt om protonen door het binnenmembraan



van het mitochondrium in de tussenruimte te pompen, waardoor een elektrochemische gradiënt ontstaat. Met behulp van ATP-synthetase in het binnenmembraan wordt ADP gefosforyleerd tot ATP. De oxidatie/reductie-reacties en de synthese van ATP worden met één term, de oxidatieve fosforylering, aangeduid.

- De totale opbrengst van glycolyse, decarboxylering, citroenzuurcyclus en ademhalingsketen bedraagt 36 ATP per mol glucose, met een energie-inhoud van $36 \times 30.5 = 1098$ kJ/mol. Het uiteindelijke rendement bedraagt circa 39%.
- Koolhydraten, vetten en eiwitten worden, na afbraak tot kleinere bouwstenen, alle omgezet via de citroenzuurcyclus. De meeste aminozuren, en alle vetzuren en suikers worden via acetyl-CoA omgezet. Acetyl-CoA en de citroenzuurcyclus nemen in het metabolisme van de cel een centrale plaats in. Monosacchariden gaan de glycolyse in als hexosen. Glycogeen is voordeliger als brandstof omdat voor de activering van de glucose-eenheden minder ATP nodig is als voor monosacchariden. Vetten worden door middel van β -oxidatie telkens twee C-atomen korter gemaakt, die als acetylcoënzym A de citroenzuurcyclus ingaan. Aminozuren kunnen door middel van de processen transaminering en oxidatieve desaminering worden omgewerkt tot een α -ketozuur dat in de citroenzuurcyclus verder wordt verwerkt. Door meting van het respiratoir quotiënt kan men een indruk krijgen van de samenstelling van het verbrande voedsel.

Onderstaand citaat is overgenomen uit het artikel: Alcoholisme. Metabolisme van een verslaving. (Natuur en Techniek 54, 11 (1986): 842-851.)

Metabolisme van een verslaving

Of en hoe iemand tot alcoholist wordt, is afhankelijk van een groot aantal factoren. Het is enigszins genetisch vastgelegd in het vermogen van het

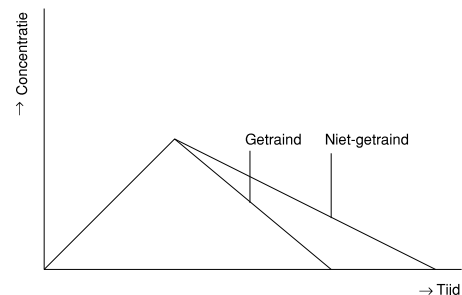
lichaam zich aan te passen aan overmatig gebruik, maar er spelen ook sociale factoren mee, bijvoorbeeld de leeftijd waarop men voor het eerst gaat drinken en de alcoholconsumptie die de ouders als normaal beschouwen.

Psychologisch van belang is het feit dat alcohol een stof is die een 'beloning' geeft, waardoor alcoholconsumptie in tijden van stress of andere bijzondere psychische toestanden ondersteuning biedt.

Opname en verbranding

Als we hier praten over alcohol, dan bedoelen we eigenlijk één bepaalde soort: ethanol. Dat is een organische vloeistof die zeer goed oplost in water. Alcohol is niet alleen een roesmiddel, het is ook voedsel: ons lichaam kan er energie uit putten en de afbraakprodukten in lichaamseigen stoffen omzetten. Door de mond opgenomen alcohol wordt al in de maag opgenomen en aan de bloedbaan afgegeven. Dit proces gaat in de dunne darm nog intensief verder. Bij een lege maag komt het grootste deel van de alcohol binnen 20 minuten in de bloedbaan terecht. Bij een volle maag duurt dat proces langer, soms uren. Daardoor kan een bloedproef op een politiebureau nog wel eens hoger uitvallen, dan de een half uur eerder afgelegde ademtest. Vanuit het bloed diffundeert alcohol over het hele waterige milieu van het lichaam. Omdat de bloed-hersenbarrière, die de hersenen tegen het binnendringen van vreemde stoffen beschermt, doorlaatbaar is voor alcohol, komt deze ook in de hersenen terecht. Zodra alcohol in het bloed gaat circuleren begint het verbrandingsproces in de lever. Daar wordt het door het enzym alcoholdehydrogenase omgezet in aceetaldehyde (ethanal) dat op zijn beurt door aceetaldehydedehydrogenase wordt omgezet in acetylcoënzym-A, een normaal tussenprodukt van de stofwisseling. Hoeveel alcohol de lever per etmaal kan verwerken hangt af van de mate waarin deze enzymen aanwezig zijn. Een niet-getrainde drinker kan zo'n 180 gram alcoholhoudende drank (18 glazen) in 24 uur verwerken, ofwel driekwart glas per uur. Bij normaal gebruik van enkele glazen per uur kan de afbraak de opname al niet meer bijhouden en stijgt het bloedalcoholgehalte. Dat is ook de reden dat we drinken, immers daardoor kan het roeseffect in de hersenen ontstaan.

Door de activiteit van de afbrekende enzymen is het alcoholpercentage in het bloed nooit gedurende langere tijd constant. Het stijgt vrij snel bij inname, maar daalt daarna gelijkmatig (zie fig. 1). In het stijgende deel van de curve ervaren we de effecten van de alcohol als plezierig. Bij dezelfde concentraties in het dalende deel voelen we ons vaak veel minder prettig. Niet-getrainde drinkers hebben hier minder last van omdat de daling bij hen veel geleidelijker verloopt.

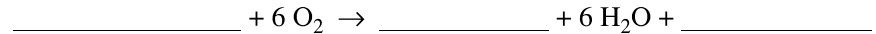


Wanneer iemand steeds meer gaat drinken past de lever zich aan de alcoholconcentraties aan, door een tot dan latent aanwezig enzymstelsel, het oxydatieve systeem, te activeren. Enerzijds beschermt dit tegen alcoholvergiftiging, maar van de andere kant leidt dit ertoe dat de aangevoerde alcohol sneller geëlimineerd wordt. De curve van figuur 1 zal steeds sneller dalen. De drinker voelt nu wel het onaangename effect daarvan en zal de neiging hebben dit op te heffen door nog een glas te nemen. Dit is het eerste mechanisme waardoor verhoging van het alcoholgebruik zichzelf versterkt. Zijn de extra enzymsystemen eenmaal ontwikkeld, dan blijven ze meestal het hele volwassen leven bestaan.



4.9 Vragen en opdrachten

- 1 Wat wordt verstaan onder metabolisme, anabolisme en katabolisme? Welke processen zijn endergoon en exergoon?
- 2 Geef synoniemen voor katabolisme en anabolisme.
- 3 Vul de somreactie voor de cellulaire ademhaling aan:



- 4 Waarom wordt glucose niet direct in een reactie met zuurstof tot CO_2 en H_2O verbrand?
- 5 Vul de juiste termen in:



reductor

oxidator

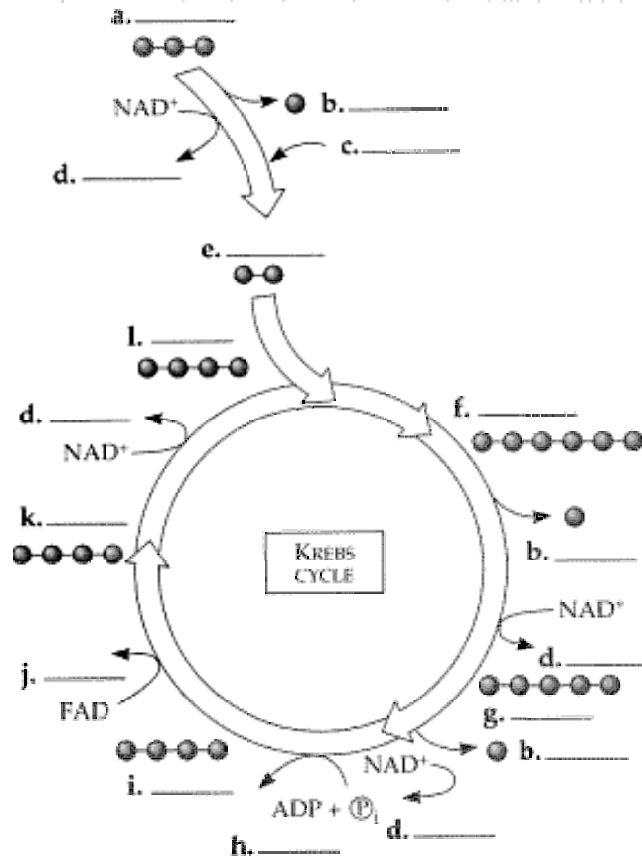
..... wordt gereduceerd

..... wordt geoxideerd

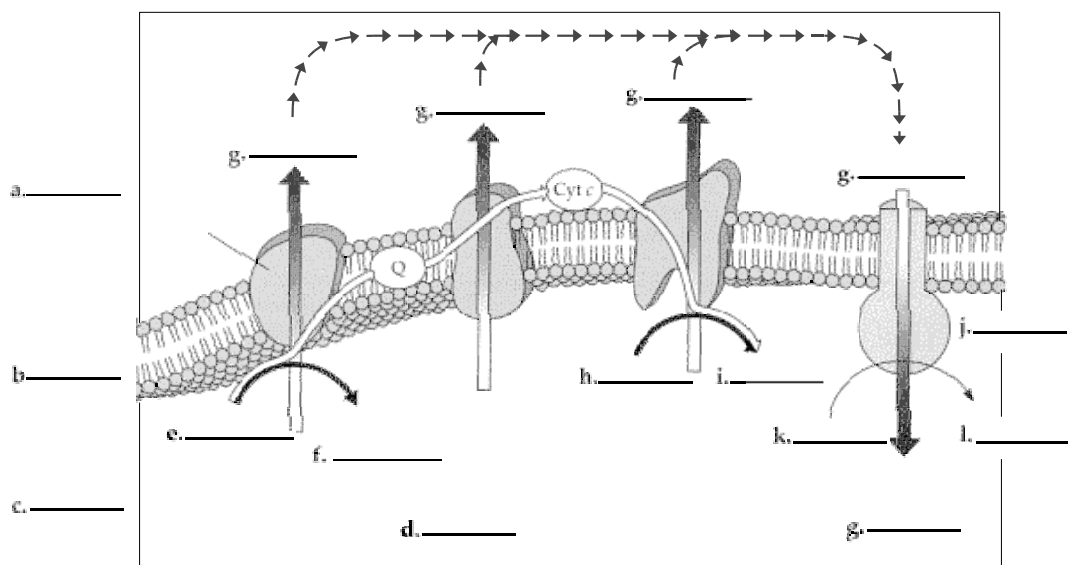
- 6 Waarom wordt van pyruvaat in plaats van pyrodruivenzuur gesproken?
- 7 In de eerste twee stappen wordt glucose gefosforyleerd. Wat betekent dit? Wat kun je zeggen over het vrije energie-nivo van fructose-1,6-difosfaat?
- 8 Waarom is de glycolyse in principe anaëroob?
- 9 Leg uit dat de fosforylering van glucose een exergoon proces is. Hoe wordt deze omzetting gereguleerd en hoe noemt men dit type regulatie?
- 10 Het enzym fosfofructokinase is een allosterisch enzym. Geef de + en - modulatoren.
- 11 Welke zijn de modulatoren van pyruvaatkinase?
- 12 De glycolyse treedt op in de mitochondriën. Juist of onjuist?
- 13 Op welke wijzen kan pyruvaat verder worden afgebroken en onder welke omstandigheden gebeurt dit?
- 14 Leg uit dat pyruvaat bij fermentatie wordt gereduceerd.
- 15 Fermentatie treedt op in de mitochondriën. Juist of onjuist?
- 16 Noem enkele voorbeelden van economisch belangrijke fermentaties.
- 17 Welke rol speelt O_2 in de aërobe verwerking van glucose?
- 18 Wat gebeurt er met acetyl-CoA in de citroenzuurcyclus?
- 19 De invoer van acetyl-CoA wordt gereguleerd door citraatsynthetase. Dit enzym wordt geremd dooracyl-CoA en ADP. Juist of onjuist?
- 20 Geef het aantal omlopen ter verwerking van 1 mol saccharose (sucrose) en geef in mol de producten per omloop weer.
- 21 Gegeven is een oplossing waarin zich alle enzymen van de citroenzuurcyclus bevinden en tezamen 1 mmol intermediären van de cyclus. Wanneer aan dit mengsel 1 mol citraat wordt toegevoegd, zal dit dan volledig worden omgezet in CO_2 ?



22 Vul de openstaande plekken in deze Krebs-cyclus in. Sommige letters worden herhaald om aan te geven dat het hier om repeterende stappen gaat.



- 23 Hoeveel mol CO₂ is tot dusverre per mol glucose gevormd? En hoeveel ATP en NADH?
- 24 Op welke wijze is de snelheid van de glycolyse afgestemd op die van de citroenzuurcyclus?
- 25 In welke vorm is chemische energie voornamelijk opgeslagen bij het inzetten van de ademhalingsketen?
- 26 Vul de openstaande plekken in de ademhalingsketen in.





- 27 Welke (3) typen fosforylering zijn je nu bekend?
- 28 Waarom levert niet elk reducerend co-enzym NADH evenveel ATP?
- 29 Welke processen verlopen onder anaërobe omstandigheden niet meer?
- 30 Zoek uit hoeveel energie (in kJ) er vrij komt bij de aërobe verbranding van 1 mol:
 - NADH
 - glucose
 - ethanol
 - melkzuur
- 31 Een student van 80 kg heeft per dag een voedingsbehoefte met een energieinhoud van ca. 10 MJ. Laten we aannemen dat hij bij wijze van experiment alleen glucose verbruikt. Bereken:
 - de hoeveelheid verbrande glucose in kg per kg lichaamsgewicht/dag
 - de hoeveelheid gehydrolyseerd ATP in kg ATP per kg lichaamsgewicht/dagGa ervan uit dat de energiebehoefte louter ATP betreft, laat metabole warmte buiten beschouwing.
- 32 Leg uit dat vetten per gewichtseenheid meer metabole energie bevatten dan koolhydraten.
- 33 Geef het respiratoir quotiënt (RQ) van de metabole verbranding van glucose en van palmitinezuur (Zie Binas, vetzuren).
- 34 Wanneer kan het enzym ATP-synthetase ATP vormen uit ADP, fosfaat en water?
- 35 De E_0' van het redoxkoppel pyruvaat/lactaat is -0.19 V en van NAD^+/NADH is -0.32 V. Is het gezien de verhouding van E_0' -waarden mogelijk elektronen over te dragen van NADH op pyruvaat? Is dit een exergoon of endergoon proces?

5 Microbiologie

Bij Campbell hoofdstuk 25 en 17

5.1 Inleiding

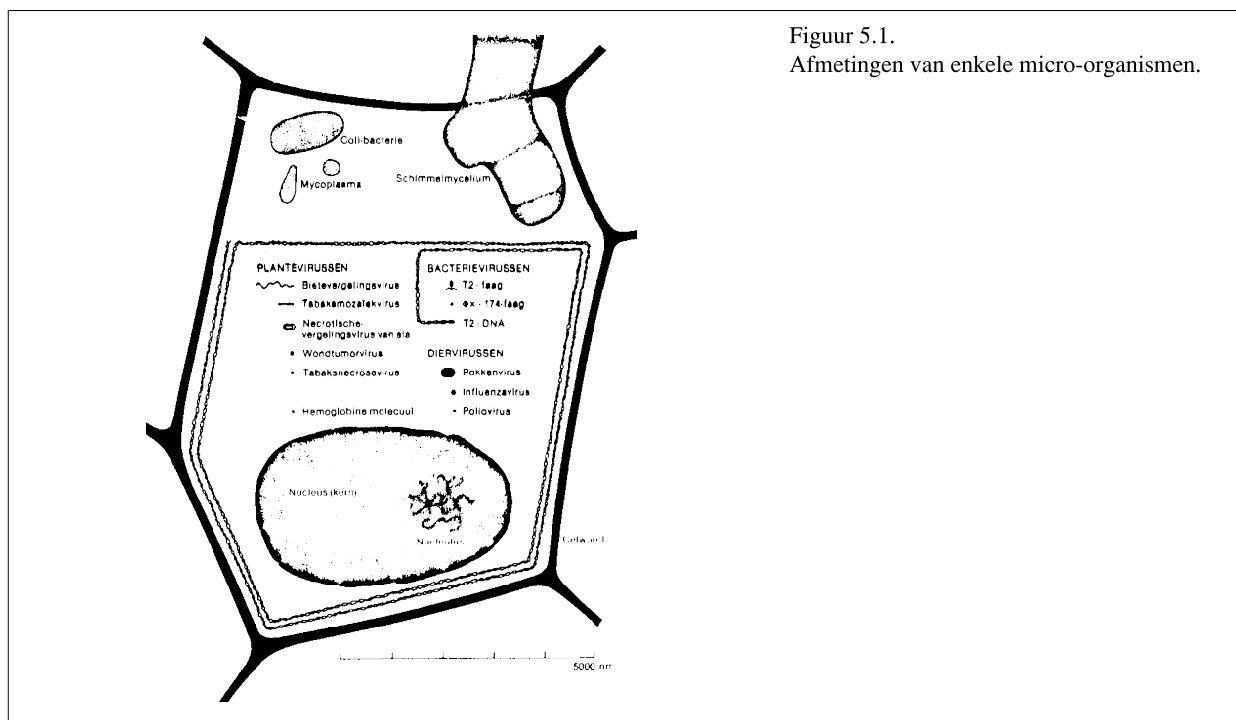
Wat zijn micro-organismen (m.o.)?

Zoals we later zullen zien vormen de m.o. geen systematische eenheid. Wél geldt in strikte zin voor alle m.o. dat zij als alle organismen cellulair zijn en een erfelijke kode bezitten in de vorm van DNA die middels transkriptie en translatie tot uitdrukking komt in de aanmaak van proteïnen. ATP is de energetische pasmunt in de fysiologie en stofwisselingsverschijnselen zijn bij alle vormen aantoonbaar. We zien dus dat de virussen in deze opvatting geen organismen zijn en dus strikt genomen ook niet tot de m.o. gerekend kunnen worden. Om redenen van praktische aard gebeurt dat in het spraakgebruik toch wel en wordt dus ook de virologie als microbiologische discipline beschouwd. In het 5-rijken systeem, zoals dat door Whittaker is geformuleerd, wordt geen Rijk der Micro-organismen onderscheiden, omdat zij geen systematische eenheid vormen. De groep van de *Monera* of *Prokaryoten* is dat wèl.

virussen

prokaryoten en eukaryoten

Whittaker's indeling suggereert dat de prokaryoten lager op de evolutie-ladder staan als de eukaryoten, 'primitiever' zijn, maar gaat dan voorbij aan het feit dat de prokaryoten onderling een veel grotere verscheidenheid vertonen als de eukaryoten. Daarom pleiten verschillende onderzoekers ervoor als taxon van de hoogste orde de pro- en eukaryote groep te onderscheiden. In de moderne literatuur wordt de groep der *Protista* (eukaryote ééncelligen) niet meer als taxon onderscheiden, maar worden de daartoe behorende organismen in de drie resterende taxa ondergebracht.



Figuur 5.1. Afmetingen van enkele micro-organismen.

Is exakt te omschrijven welke organismen nu wél of niet tot de m.o. moeten

worden gerekend? Een voor de hand liggende werkdefinitie is:

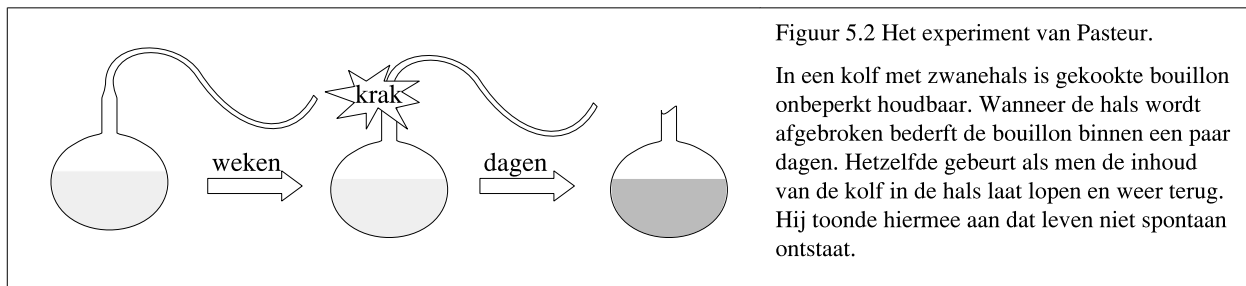
Micro-organismen zijn al die organismen die niet met het blote oog waarneembaar zijn (kleiner dan 0.1 mm).

Nadeel van deze definitie is dat ook veel kleine insecten en wormen tot de m.o. zouden moeten worden gerekend. De grootte van een aantal m.o. en andere organismen en celorganellen is weergegeven in figuur 5.1.

We moeten ons realiseren dat ook verwantschap in wijze van bestuderen (kweekmethodes, aseptisch werken) gevoelsmatig de verzameling van m.o. medebepaalt. Vandaar dat ook de virussen tot de m.o. worden gerekend. Zo ook vinden we in medisch microbiologische literatuur hoofdstukken gewijd aan *parasitologie*, waarbij o.a. wormen aan de orde komen!

De ubiquiteit van micro-organismen

Pasteur toonde in 1861 aan dat bacteriën in de lucht voorkomen en zo media kunnen besmetten. Zie figuur 5.2.



Figuur 5.2 Het experiment van Pasteur.

In een kolf met zwanehals is gekookte bouillon onbeperkt houdbaar. Wanneer de hals wordt afgebroken bederft de bouillon binnen een paar dagen. Hetzelfde gebeurt als men de inhoud van de kolf in de hals laat lopen en weer terug. Hij toonde hiermee aan dat leven niet spontaan ontstaat.

generatio spontanea

Dat was voor die dagen een bijzondere vaststelling omdat men tot dan geloofde in het spontaan ontstaan van leven: "generatio spontanea". Sindsdien is ook steeds duidelijker geworden, dat het verspreidingsgebied van m.o. ongelofelijk groot is. We vinden ze eigenlijk overal op aarde, vegetatief of in "dormant stage" of "quiescence" (in rust door interne resp. externe oorzaken). Recentelijk zijn bacteriën ontdekt die een temperatuuroptimum hebben van ca. 110°C. Deze *Archaeobacteriën* leven in vulkanische gangen in de oceanbodembodem onder hoge druk. Tot voor kort hield men ca. 70-80°C voor de absolute maximumtemperatuur. Voor veel groepen bacteriën vormen extremen in temperatuur, pH (=1 voor sommige zwavelbacteriën!), koolzuur- of zuurstofspanning of zoutgehalte geen problemen, sterker nog, voor sommige soorten zijn zulke extremen een levensvoorwaarde! Grofweg kunnen we zeggen dat m.o. en vooral bacteriën eigenlijk overal voorkomen, gezond dierlijk weefsel en gesteriliseerd materiaal uitgezonderd. Dit wordt ook wel aangeduid met de term *ubiquiteit* (ubique = overal). Mede hierom is men erop beducht via ruimteschepen m.o. de ruimte in en/of uit te brengen.

Microbiologische disciplines

Onder microbiologische disciplines verstaan we de vakgebieden binnen de microbiologie. Het is zinvol te wijzen op de verschillende benamingen van deze disciplines:

- 1 Onderscheiding naar de aard van de onderzochte m.o.:
 - bacteriologie
 - virologie

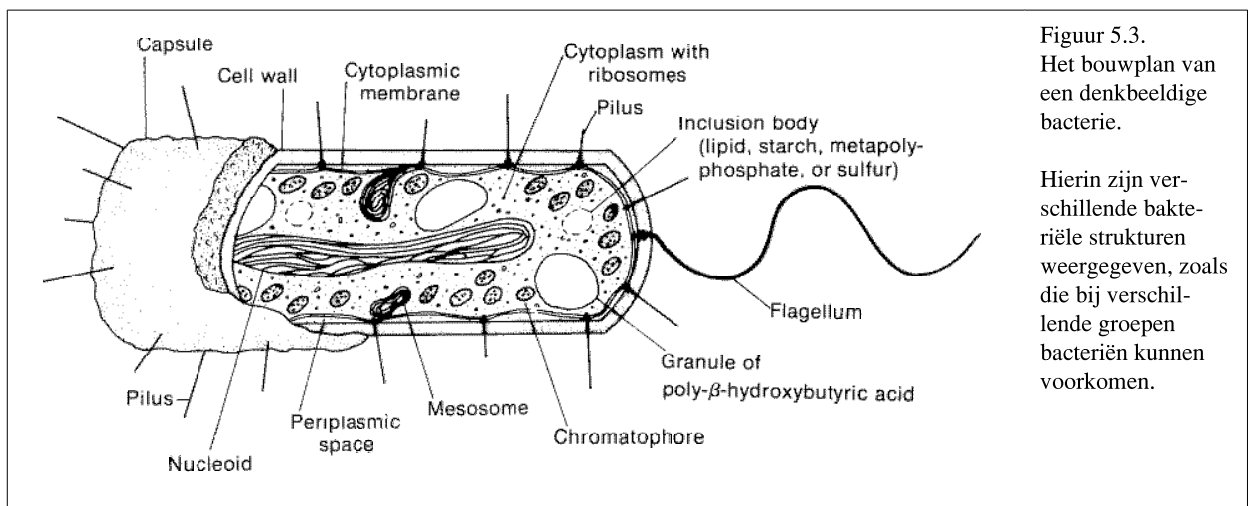
- mycologie (wetenschap die zich met schimmels bezig houdt)
- 2 Onderscheiding naar interessegebied:
 - medische microbiologie en parasitologie
 - microbiële genetica
 - microbiële ecologie
 - microbiële taxonomie
 - microbiologische technologie, biotechnologie
 - levensmiddelenmicrobiologie

5.2 Bouw der bacteriën

Subcellulaire structuren

De groep der Monera (prokaryoten) is bij de inleiding van het kollege Algemene Biologie reeds besproken.

In figuur 5.3 is het bouwplan van een “algemene bacterie” weergegeven.



Figuur 5.3. Het bouwplan van een denkbeeldige bacterie.

Hierin zijn verschillende bacteriële structuren weergegeven, zoals die bij verschillende groepen bacteriën kunnen voorkomen.

De functies van de verschillende celonderdelen zijn dikwijls analoog aan de celorganellen bij eukaryoten. (Zie tabel 5.1). De vergaande compartimentatie zoals bij de eukaryoten blijft echter achterwege.

Tabel 5.1. Eigenschappen van typische bacteriële structuren.

Struktuur	Functie(s)	Chemische samenstelling
Flagellen	Voortbeweging	Proteïne
Pili	Conjugatie, aanhechting aan oppervlakken	Proteïne
Capsule (slijmlaag)	Bescherming tegen uitdroging en fagocytose; voedselreserve; verwijdering afvalstoffen	Meestal polysacchariden, soms eiwitten
Celwand	Vorm en stevigheid bacterie	Peptidoglycan, vaak in combinatie met andere stoffen
Cytoplasma membraan	Selectieve permeabiliteit, transport	Fosfolipiden en eiwitten
Mesosomen	Functie bij reproductie erfelijk materiaal	Fosfolipiden en eiwitten
Ribosomen	Eiwitsynthese	Voornamelijk RNA en wat eiwitten
Insluitlichaampjes, "vakuolen"	Opslag reservevoedsel, drijfvermogen (gasvakuolen), CO ₂ -fixatie (carboxisomen)	Zeer variabel, omgeven door eiwitlaagje
Chromatoforen	Fotosynthese	Eiwit, lipiden, bacteriechlorofyl
Nucleoïde	Gebied met erfelijke informatie	DNA

De celwand

mureïne

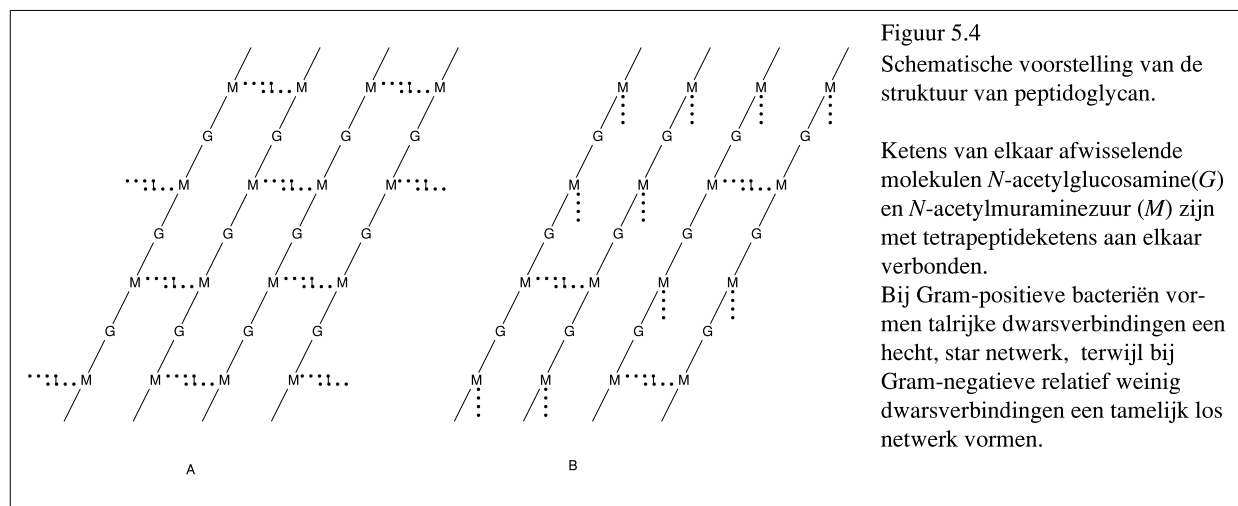
GRAM+ en GRAM-

De celwand van de prokaryoot is bijzonder in die zin, dat deze is opgebouwd uit mureïne, met synoniemen als *peptidoglycan*, *mucopeptiden*, *muco-complex* enzovoort. Alle Monera, behalve de celwandloze *Mycoplasma's* bezitten deze bijzondere stof. Bij bacteriën wordt onderscheid gemaakt tussen GRAM+ en GRAM- vormen. Voor de achtergrond van deze door de Noor Gram ontdekte kleuring wordt verwezen naar de Praktikumhandleiding. Hieronder wordt in tabel 5.2 opgesomd wat de meest in het oog lopende verschillen zijn tussen GRAM+ en GRAM- vormen.

Tabel 5.2 Verschillen tussen GRAM+ en GRAM- vormen bij bacteriën

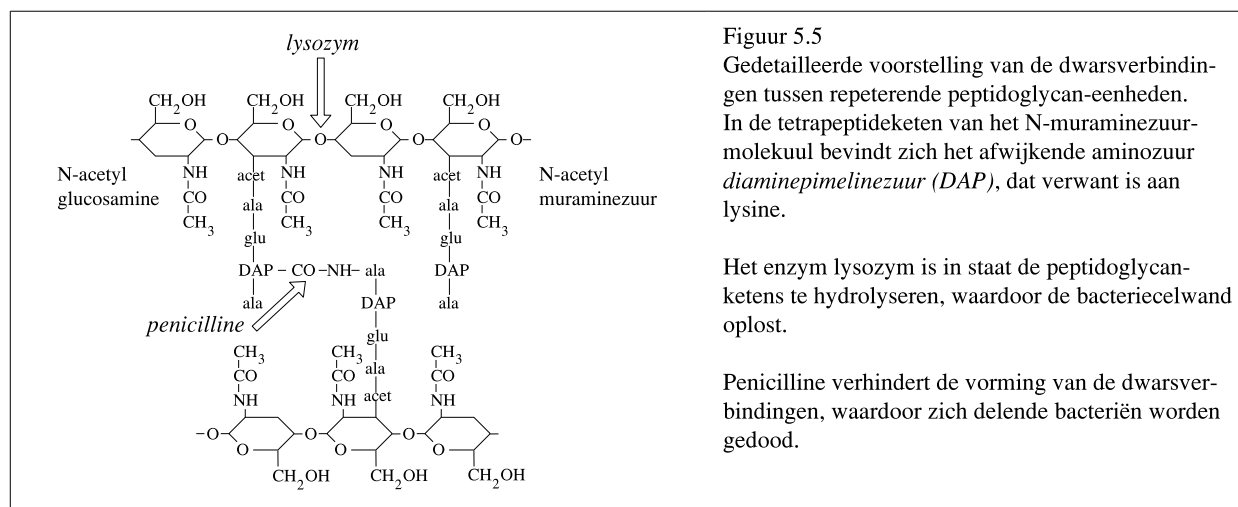
Eigenschappen	GRAM+	GRAM-
Celwand bestanddelen	peptidoglycan en teichoïnezuren	exo-membraan met (fosfo)lipiden, lipoproteïnen en -sacchariden en eiwitten; integriteit afhankelijk van Ca ²⁺ -ionen
% mureïne in celwand	50-80% (20-80 nm dik)	5-15% (2-3 nm dik)
% celwand per cel	20-40%	10-20%
Gevoeligheid plasmolyse	groter (wand zit vast)	kleiner (celwand zit niet vast aan celmembraan)
Gevoeligheid penicilline	groter	minder groot (uitz. Gonococcen, <i>Treponema</i>)
Gevoeligheid lysozym	groter	kleiner; na behandeling met EDTA verbeterd

Figuren 5.4 en 5.5 geven de chemische structuur van de celwandbestanddelen weer.



Figuur 5.4 Schematische voorstelling van de structuur van peptidoglycan.

Ketens van elkaar afwisselende molekulen *N*-acetylglucosamine(*G*) en *N*-acetylmuraminezuur (*M*) zijn met tetrapeptideketens aan elkaar verbonden. Bij Gram-positieve bacteriën vormen talrijke dwarsverbindingen een hecht, star netwerk, terwijl bij Gram-negatieve relatief weinig dwarsverbindingen een tamelijk los netwerk vormen.



Figuur 5.5 Gedetailleerde voorstelling van de dwarsverbindingen tussen repeterende peptidoglycan-eenheden. In de tetrapeptideketen van het *N*-muraminezuur-molekuul bevindt zich het afwijkende aminozuur *diaminepimelinezuur* (*DAP*), dat verwant is aan lysine.

Het enzym lysozym is in staat de peptidoglycan-ketens te hydrolyseren, waardoor de bacteriecelwand oplost.

Penicilline verhindert de vorming van de dwarsverbindingen, waardoor zich delende bacteriën worden gedood.

5.3 Groei

Deling

Exponentiële groei kan als volgt worden uitgewerkt:

$$N = N_0 \cdot 2^n$$

waarin:

N = aantal cellen na n delingen

N_0 = beginaantal cellen

n = aantal delingen

Deze formule kan worden herschreven:

$$\log N = \log N_0 + n \log 2$$

waaruit volgt dat:

$$n = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2}$$

Het aantal delingen per tijdseenheid, v , bedraagt:

$$v = \frac{n}{t} = \frac{\log N - \log N_0}{(t - t_0) \cdot \log 2}$$

generatietijd

En de voor één delingscyclus benodigde tijd (delings- of generatietijd), d :

$$d = \frac{t}{n} = \frac{1}{v}$$

Rekenvoorbeeld:

Vindt in een celsuspensie in 10 uur een vermeerdering plaats van 10^3 tot 10^9 cellen, dan is:

$$v = \frac{\log 10^9 - \log 10^3}{10 \cdot \log 2} = 2$$

dus $d = \frac{1}{2}$ uur = 30 minuten.

Factoren die de groei beïnvloeden*Temperatuur*

temperatuurtraject

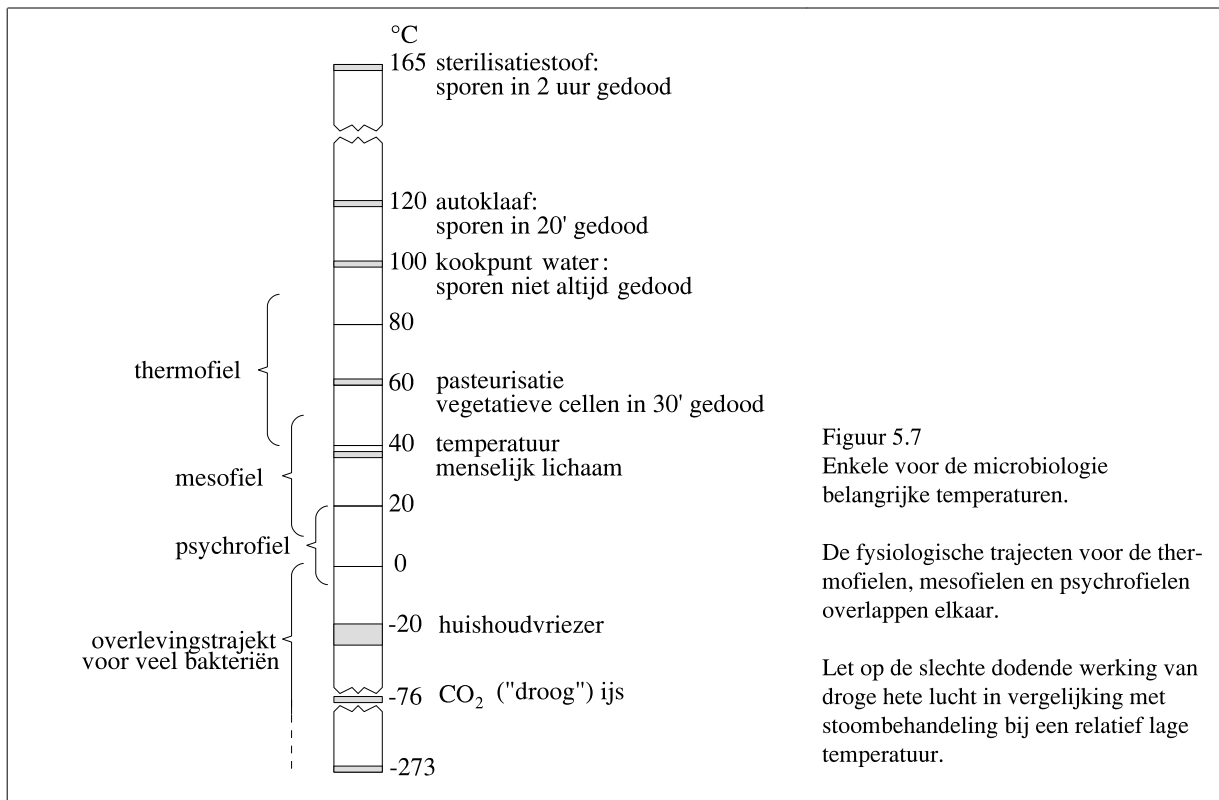
Voor elk organisme kan een temperatuurtraject worden opgesteld met voor dit traject karakteristieke waarden. Binnen dit zogeheten biokinetisch traject wordt een tweetal gebieden onderscheiden:

fysiologisch traject

- 1 De waarden waartussen het organisme in staat is tot functioneren, waarbinnen zich fysiologische processen kunnen afspelen wordt het fysiologisch traject genoemd. Dit traject wordt gekarakteriseerd door de minimum-, optimum- en maximumwaarde van de temperatuur. Afhankelijk van het optimum worden *psychrofiële*, *mesofiële* en *thermofiële* m.o. onderscheiden. Zie figuur 5.7.

overlevingstraject

- 2 Binnen zekere grenzen is buiten het fysiologisch traject overleving mogelijk. Dit overlevingstraject wordt begrensd door de zogeheten letaalgrenzen. De ondergrens van overleven is vaak bijzonder laag. Veel m.o. overleven bevriezing in droog ijs (-76°C) of vloeibare stikstof. De bovengrenzen liggen soms zeer hoog, zeker bij sporevormende bacteriën. Sporen van *Bacillus subtilis* kunnen geruime tijd bij 120°C overleven.



Zuurgraad

De remmende invloed van een sub-optimale pH wordt om te beginnen veroorzaakt door verminderde enzym-activiteit. Proteïnen zijn wat hun ruimtelijke structuur betreft zeer pH-gevoelig. Daarnaast beïnvloedt de pH sterk de dissociatiegraad van de (meestal zwakke) organische basen en zuren. Meestal is de niet-gedissocieerde vorm veel giftiger dan de ionvorm. Azijnzuur bijv. is bij een gegeven pH veel giftiger dan het sterke zwavelzuur. Het is hier niet de pH zelf, maar het zijn de geassocieerde molekulen azijnzuur die de stofwisseling verstoren. Dat geldt ook voor verbindingen als *benzoaat* en *citraat*. Dat is dan ook de reden waarom zulke stoffen in lage concentratie ter conservering aan voedingsmiddelen wordt toegevoegd.

conservering

In een medium zal als gevolg van ophoping van metaboliëten de pH snel kunnen veranderen. Zo veroorzaakt de ophoping van ammonium een stijging, terwijl accumulatie van laktaat bij gisting de pH doet dalen (zuurkool, ensilage). Aan media wordt dan ook vaak een (amfotere) fosfaatbuffer of carbonaatbuffer toegevoegd, die de pH binnen zekere grenzen op peil houdt. Tot slot moet men rekening houden met de invloed van de temperatuur op de pH. Een bij kamertemperatuur bereid medium kan bij inkubatie-temperatuur (bijv. 37°C) zodanig verzuren dat de letaalgrenzen van het m.o. worden overschreden.

Het kweken van bacteriën

Voor het succesvol isoleren en kweken van bacteriën moeten de milieuomstandigheden zodanig worden gekozen dat ze aansluiten op de behoeften van de te vermeerderen bacteriën. Hierbij spelen niet alleen "nutritional type" en



(an)aërobie een rol, maar ook factoren als temperatuur, licht, osmotische waarde en pH.

Ophopen, isoleren en kweken.

Aangezien m.o. niet als individu te bestuderen zijn, moeten grote aantallen beschikbaar zijn (10^6 - 10^9). Belangrijke stap in microbiologisch onderzoek is dan ook het in cultuur verkrijgen van de soort of stam waarin men is geïnteresseerd en deze ook in kweek te houden.

ophopen

De eerste stap is vaak het zogenaamde ophopen: een zodanig milieu scheppen dat de gewenste bacterie in een mengcultuur of monster zich beter ontwikkelt dan andere en dus in voldoende grote hoeveelheid tot ontwikkeling komt. Chemolithotrofe bacteriën (zoals nitrificeerders) uit een bodemmonster ontwikkelen zich goed op media waarin ammonium en andere anorganische verbindingen aanwezig zijn en weinig of geen organische bestanddelen, waardoor organotrofe organismen zich nauwelijks ontwikkelen.

reincultuur

Vanuit de opgehoopte cultuur kan het m.o. gemakkelijk geïsoleerd worden. Meestal worden m.o. in reincultuur gebracht, hetgeen wil zeggen dat er slechts vertegenwoordigers van één soort aanwezig zijn. Een isolaat is een reincultuur afkomstig van één enkele bacterie (kloon). Mengcultures zijn kweken waarin enkele soorten voorkomen.

isoleren

Het isoleren van m.o. gebeurde in Pasteur's tijd vooral door het maken van verdunningsreeksen, een tijdrovende procedure, die nog welvoor schimmels gebruikt wordt (monospore-culture). Koch introduceerde het *reinstrijken*. Naast beide mechanische technieken is soms ook een selectief medium goed bruikbaar.

Media

In de eerste dagen der microbiologie werd gewerkt met vloeibare media (bouillon en aanverwante extracten). Frau Hesse's uitvinding om agar-agar als voedingsbodem te gebruiken is voor de microbiologie van enorme betekenis geweest. Groot voordeel van deze voedingsbodem is, dat agar transparant, kleurloos en onverteerbaar is voor de meeste m.o. Bijzonder is het hoge smeltpunt en het lage stollingspunt. Bijmenging van nutriënten met de agar levert een enorme verscheidenheid aan media. Naast de vaste media wordt ook nog gewerkt met vloeibare culturen.

1 Empirische en synthetische media.

Empirische media zijn media met proefondervindelijk gebleken geschiktheid zonder dat de exakte samenstelling bekend is. De veel gebruikte bouillon-agar (nutriënt agar) bevat trypton, pepton engistextract, eiwitafgeleide producten (enzymatisch gehydrolyseerde eiwitten) met allerlei peptiden, aminozuren en andere (an-) organische nutriënten. Receptuur en opwerking van de bestanddelen zijn welomschreven, maar het medium is qua samenstelling niet geheelbekend noch gestandariseerd.

Hierteenover staat het *synthetische medium*, waarvan de samenstelling wèl exakt bekend is, omdat het chemisch is gedefinieerd. Duidelijk zal zijn dat synthetische media meestal veel bewerkelijker zijn dan empirische media. Bijvoorbeeld voor de bacterie *Thiobacillus thioxydans* wordt het volgende anorganische medium bereid:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.20 g (N-bron)
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.50 g
KH_2PO_4	3.00 g (buffer en P/K-bron)



CaCl ₂	0.25 g
S	10.00 g (energiebron → SO ₄ ²⁻)
anorg. sporenelementen	0.25 g
aanvullen met aqua dest	1000 ml
C-bron	atmosferische CO ₂

2 Aanpassingen voor anaërobe bacteriën.

Voor het kweken van obligaat anaërobe bacteriën dient of zuurstof uit de omgeving verwijderd te worden of dient een medium met een lage redoxpotentiaal te worden gerealiseerd. Met de redoxpotentiaal wordt de affiniteit van een gereduceerde stof voor elektronen uitgedrukt. In een sterk reducerende omgeving zal zuurstof geen kans krijgen. Voor anaërobe kweek wordt gewerkt met “deeps”, afgesloten met een laagje vet of paraffine. In zogenaamde “schudbuizen” wordt door het ontstaan van een gradiënt van anaëroob-aëroob een selectie gepleegd op basis van de diepte. Geavanceerder technieken zijn anaërobe tanks, waardoor argon of stikstof wordt geleid of waarin middelen reducerende middelen (ascorbinezuur, “gaspack R”) de zuurstof wordt verdreven of weggevangen.

3 Enkele andere media-benamingen.

selectieve media

Selectieve media: media die een samenstelling hebben, waardoor bepaalde (gewenste) soorten zich goed ontwikkelen, terwijl andere soorten benodigde stoffen ontberen. In een aantal gevallen kan men hiermee ook bacteriën identificeren.

electieve media

Electieve media: media, zodanig samengesteld dat verschillen tussen gedijende soorten zichtbaar worden. Zo geeft een riooluitstrijk op een eosine/methyleenblauw-houdend medium met *E.coli* metallic-groene kolonies, terwijl *Enterobacter aerogenes* rose kolonies met een donker centrum geeft.

minimale media

Minimale media: media, dusdanig samengesteld dat aan de minimumeisen van nutriëntenvoorziening is voldaan voor de *prototrofe* (wild-type) stammen van een soort m.o. en dus slechts behoefte hebben aan de voor dat type benodigde C-bron. *Auxotrofe* stammen, die als gevolg van een of meer mutaties voor een of meer organische groeifactoren deficiënt zijn kunnen op zulke media worden aangetoond door er de benodigde supplementen aan toe te voegen.

Bewaren

Is een isolaat of reiculture eenmaal verkregen dan is het vaak gewenst deze verder aan te houden. Het aanhouden van cultures kan middels:

- Overenten (in “*schuine buizen*” of “*slants*”, bij 0-5 °C te bewaren. Anaërobe soorten in “*deeps*”, afgesloten met vet). Bezwaren tegen het aanhouden van cultures op media zijn:
 - gevaar voor infecties
 - gevaar voor te laat overenten waardoor de cultures afsterven
 - ontwikkeling van mutanten; zo kunnen bacteriecultures op bouillon na jaren hun vermogen tot N-assimilatie geheel verliezen omdat er geen selectiedruk is tot behoud van deze eigenschap.
- Diepgevroren bewaren (-20°C): veel verlies bij het invriezen en ontdooien. Bewaring in 14% glycerol bij -20°C geeft minder verlies.
- Drogen: drager (porcelein of zand) bevochtigen met vloeibare culture en aan de lucht laten drogen. Te vergelijken met mummificeren.
- Vriesdrogen (lyofiliseren). Wordt zeer veel toegepast om cultures lange tijd te bewaren of te verzenden, waarna ze op elk gewenst moment “tot leven” gewekt kunnen worden.

Endosporen

Het uitgroeien van een *endospore* tot vegetatieve bacterie verloopt in twee fasen:

aktivatiefase

- 1 De aktivatiefase wordt ingezet na een hitte- of chemische shock en berust kennelijk op een structuurverandering in bepaalde proteïnen (S- en H-bruggen). Kenmerkend voor deze fase is dat één en ander reversibel is.

kiemingsfase

- 2 Anders is het met de kiemingsfase. Deze zet in met *imbibitie* - het opzuigen van water door hydrofiel materiaal - gevolgd door zwellen en fysiologische activiteit. Dit is voor de sporevormer een 'point of no return'. De bacterie is een vegetatieve vorm verwijderd van een volgende spore.

tyndallisatie

Op de irreversibele kiemingsfase berust het steriliseren door middel van tyndallisatie: elke 24 uur wordt het materiaal opgekookt waardoor aanwezige sporen worden geaktiveerd, waarna ze bij een lagere temperatuur gaan kiemen. De vegetatieve bacteriën zijn wél gevoelig voor opkoken. Door herhaald opkoken en laten kiemen worden alle bacteriën gedood.

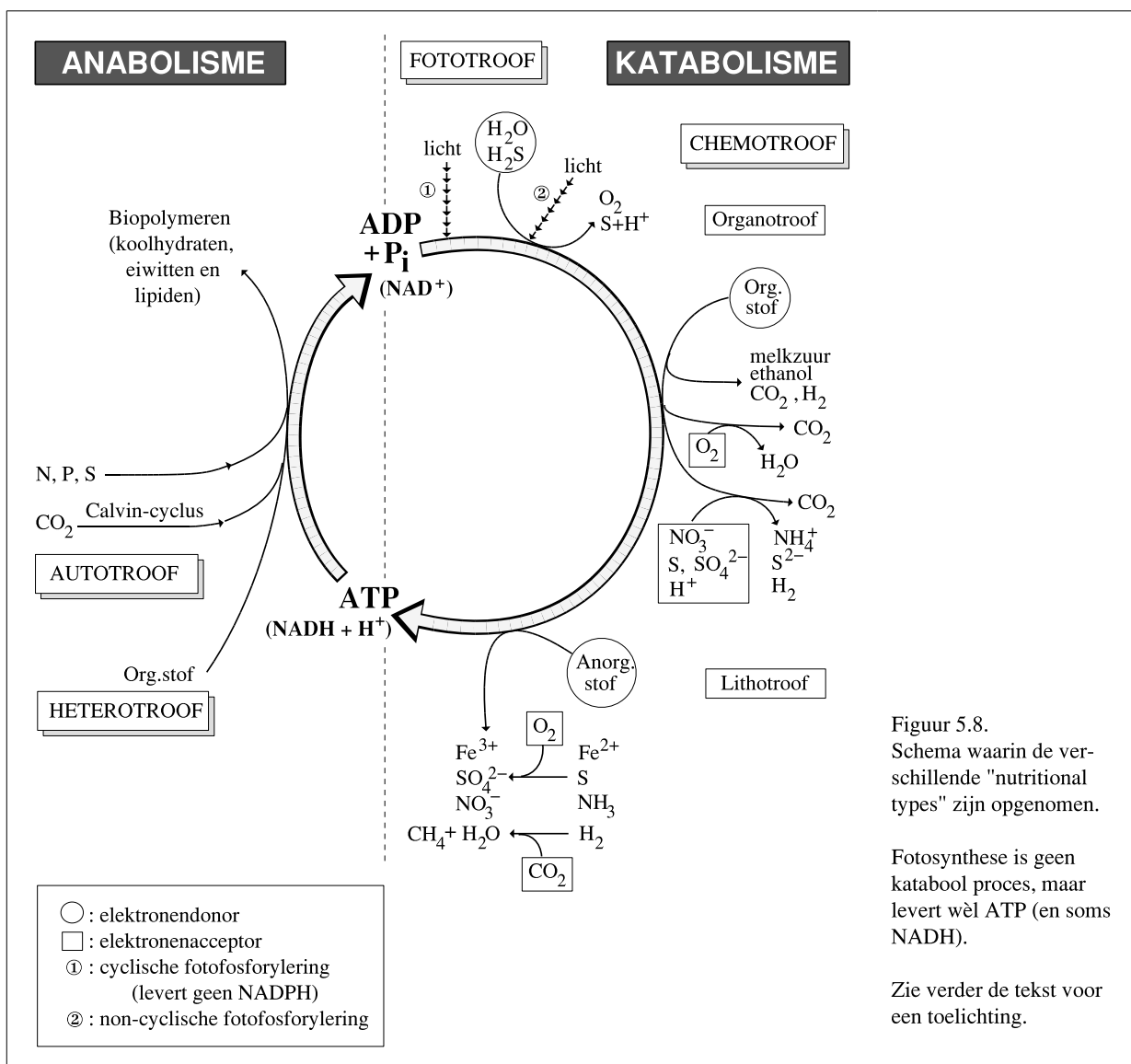
thermorestantie

Door sterke dehydratie (ontwatering) van de sporen wordt het watergehalte teruggebracht tot ca. 15% van het versgewicht (vergelijkbaar met wol). Hierdoor neemt de thermoresistentie enorm toe. Met name sporen van *Bacillus stearothermophilus* worden wel als indicator gebruikt voor al dan niet afdoende sterilisatie.

5.4 Bacterie-metabolisme

Typering van bacteriën in "nutritional types"

Worden energiebron, elektronendonoren en -acceptoren die de organismen benutten hierbij ook nog betrokken, dan ontstaat een aantal zogeheten "nutritional types" ("voedingstypen"). Zie figuur 5.8.



Fototrofe bacteriën

Voor het kweken van obligaat fototrofe bacteriën is licht onmisbaar, hoewel direct zonlicht vermeden moet worden.

In sommige halofiele bacteriën treft men bacteriorhodopsine aan. Het is een vrij klein membraaneiwit dat in staat is o.i.v. licht protonen over het membraan naar buiten te pompen. De ontstane H-gradiënt is de energiebron voor ATP-synthetase.

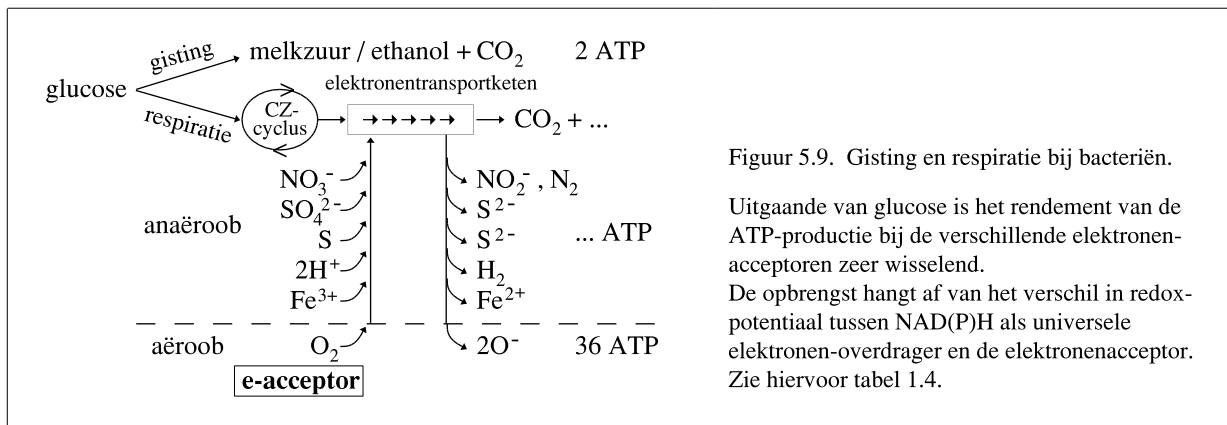
Andere bacteriën, de zwavelpurperbacteriën en de groene zwavelbacteriën, hebben slechts één fotosysteem, te vergelijken met het fotosysteem I in de chloroplast. Ze kunnen hiermee cyclisch fotofosforyleren, maar in de aanwezigheid van H₂S wordt de fotosynthese non-cyclisch. H₂S is in dit geval elektronendonor, NADP⁺ acceptor. Als afvalproduct ontstaat vrije zwavel. Ze leven in zuurstofloos water op een diepte waar onvoldoende licht doordringt voor cyanobacteriën en algen of planten en zorgen daar voor belangrijke omzettingen.

De meest uitgebreide fotosynthese treft men aan bij de cyanobacteriën, die net als chloroplasten - waarvan cyanobacteriën vermoedelijk de voorlopers zijn - met twee fotosystemen in staat zijn het onuitputtelijke water als elektronenbron te gebruiken. Zie verder Campbell p.507.

Chemoheterotrofe of organotrofe bacteriën

De groep van *organotrofe bacteriën* maakt gebruik van de processen gisting en ademhaling om energie te onttrekken aan organische molekulen.

In figuur 5.9 zijn behalve de aërobe ademhaling een aantal anaërobe ademhalings-mogelijkheden genoemd, waarbij als eindoxidator (elektronen-acceptor) niet O₂, maar andere stoffen worden gebruikt.



Figuur 5.9. Gisting en respiratie bij bacteriën.

Uitgaande van glucose is het rendement van de ATP-productie bij de verschillende elektronen-acceptoren zeer wisselend. De opbrengst hangt af van het verschil in redox-potentiaal tussen NAD(P)H als universele elektronen-overdrager en de elektronenacceptor. Zie hiervoor tabel 1.4.

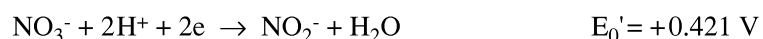
respiratie

De term respiratie (ademhaling) moet in dit verband opnieuw worden gedefinieerd:

Respiratie is een ATP-opwekkend proces, waarin organische of anorganische stoffen (elektronendonoren) worden geoxideerd en anorganische (elektronen-acceptoren) gereduceerd .

Denitrificerende bacteriën

Veel aërobe bacteriën kunnen onder anaërobe omstandigheden nitraat gebruiken in plaats van zuurstof als uiteindelijke elektronenacceptor. Hierbij wordt NO₃⁻ tot NO₂⁻ (*E.coli*) of zelfs tot N₂ gereduceerd (*dissimilaire NO₃-reductie*):



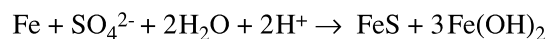
De elektronen worden in dit geval in de ademhalingsketen van NADH rechtstreeks overgedragen op NO₃⁻. De ΔE₀' is in dit geval hoog genoeg om ATP te genereren. Onder anaërobe omstandigheden (overvloedige regenval)

kunnen door nitraatademhaling belangrijke N-verliezen in landbouwgronden optreden. Onder zulke omstandigheden wordt de aanmaak van het benodigde *nitraatreductase* opgewekt (inductie). Wordt de bodem doorlucht, dan verdringt zuurstof nitraat als eindoxidator.

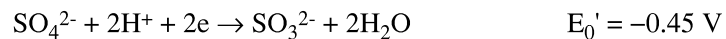
Onder bepaalde omstandigheden treedt door reductie van nitraat ophoping van nitriet op. Nitriet is giftig voor de mens, omdat het Fe^{2+} aan hemoglobine oxydeert, met als gevolg zuurstoftekort, cyanose en in ernstiger gevallen de dood. Krijgt men grotere hoeveelheden nitraat binnen (drinkwater, overbemeste spinazie) dan kan dat leiden tot *nitrietvergiftiging*. Vooral baby's jonger dan een half jaar lopen gevaar, omdat in de maag een te hoge pH heerst, waardoor denitrificerende bacteriën niet gedood worden en nitriet kunnen vormen. Bij ouderen is er minder gevaar voor cyanose omdat bij lagere doses de nitraat al geresorbeerd is voor het de door de darmflora kan worden aangepakt. Wel vormen nitrieten met aromatische amines zogenaamde *nitrosamines*, welke carcinogeen zijn. Oppassen met nitraat dus.

Desulfuriserende of sulfaatreducerende bacteriën

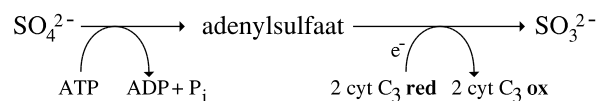
Voor zwavel geldt een vergelijkbaar verhaal. De desulfuricanten vormen enorme hoeveelheden S en H_2S . Vooral *Desulfovibrio sp.* is van economisch belang: deze veroorzaakt de korrosie van ijzer onder anaërobe omstandigheden (pijpleidingen).



De omzetting:



heeft een te lage redoxpotentiaal om elektronen van NADH ($E_0' = -32\text{V}$) te accepteren. Om dit mogelijk te maken moet eerst ATP worden geïnvesteerd:



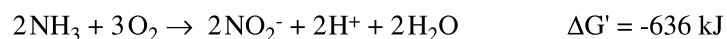
De elektronen kunnen dan vanuit de ademhalingsketen (cytochroom c_3) worden overgedragen op adenylsulfaat, waarbij SO_3^{2-} wordt gevormd.

Chemoautotrofe of lithotrofe bacteriën

De groep van *chemoautotrofe* of *lithotrofe bacteriën* onttrekt energie aan de oxidatie van anorganische stoffen. Ze zijn autotroof en gebruiken dus CO_2 als C-bron. Verschillende stoffen kunnen worden geoxideerd: NH_3 , NO_2^- , H_2S , S, Fe^{2+} en H_2 . Meestal is zuurstof de elektronenacceptor, maar soms ook NO_3^- of zelfs CO_2 .

Nitrificerende bacteriën

De omzetting van NH_3 in NO_2^- en NO_3^- door bacteriën wordt *nitrifikatie* genoemd en speelt een belangrijke rol in de stikstofkringloop op aarde. Het gaat hierbij om twee groepen bacteriën, *Nitrosomonas*, die de omzetting:



verzorgt, en *Nitrobacter*, die de reactie vervolgt met:

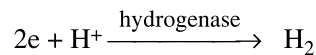


Een van de belangrijkste processen in waterzuiveringsinstallaties is het onschadelijk maken van het giftige NH_3 in rioolwater met behulp van nitrificerende bacteriën.

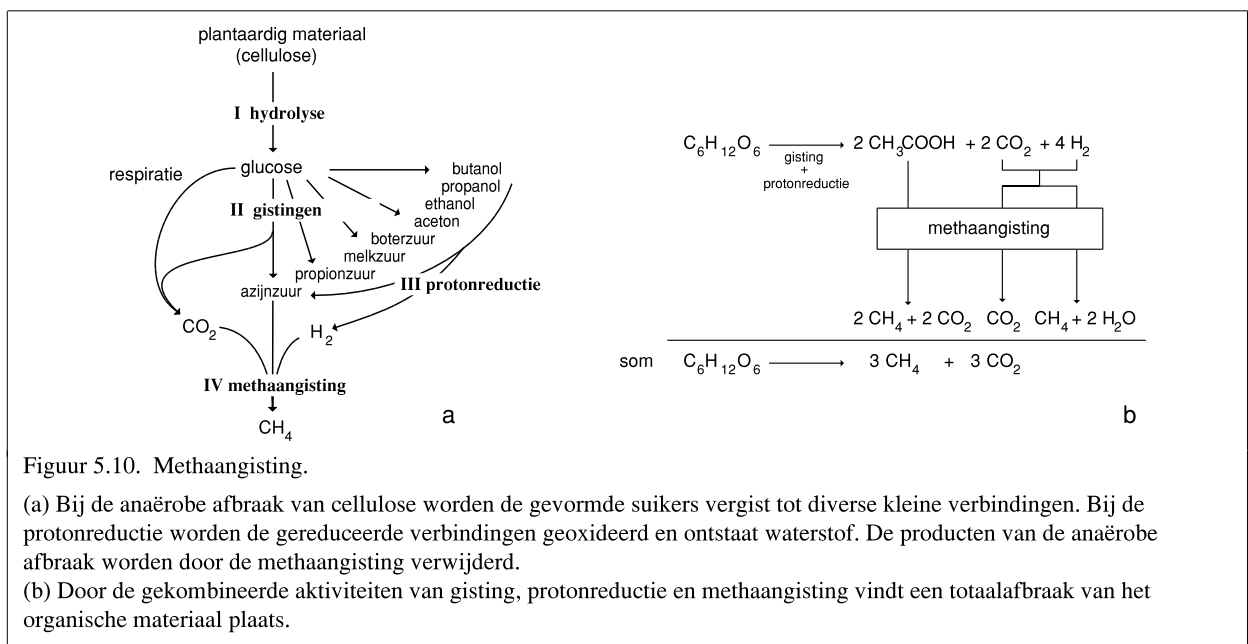
Methaanbacteriën

Onder anaërobe omstandigheden is vaak te weinig nitraat of sulfaat aanwezig om als elektronendonor op te treden. Daardoor rest ter winning van energie gisting, welke leidt tot opeenhoping van vooral organische zuren. Nu is een aantal m.o. in staat deze organische zuren te oxyderen tot vooral azijnzuur en mierzuur (en CO₂). Als oxydator treedt op H⁺, waardoor onder invloed van *hydrogenase* H₂ ontstaat: protonreductie.

protonreductie



Deze *acetogene bacteriën* vormen een belangrijke schakel in de C-kringloop. Hun producten, H₂, CO₂, acetaat en formiaat, zijn het substraat voor de *methanobacteriën*. Deze bijzondere groep is in staat tot de zogenaamde *methaangisting*. Zie figuur 5.10 a en b.

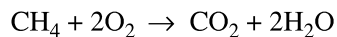


Figuur 5.10. Methaangisting.

(a) Bij de anaërobe afbraak van cellulose worden de gevormde suikers vergist tot diverse kleine verbindingen. Bij de protonreductie worden de gereduceerde verbindingen geoxideerd en ontstaat waterstof. De producten van de anaërobe afbraak worden door de methaangisting verwijderd.

(b) Door de gekombineerde activiteiten van gisting, protonreductie en methaangisting vindt een totaalafbraak van het organische materiaal plaats.

In feite zorgen acetogene en methanobacteriën ervoor dat de aarde niet verwordt tot een verzuurde massa. Zij realiseren een totaalafbraak van organisch materiaal onder anaërobe omstandigheden en vormen de meest gereduceerde vorm van koolstof, namelijk CH₄, methaan (moerasgas, aardgas, biogas). Het methaangas kan door *methaanoxyderende bacteriën* weer geoxydeerd worden:



Alleen methaan in grenslagen met de lucht ontwijkt naar de atmosfeer, waar het onder invloed van ozon en licht uiteindelijk wordt omgezet in CO₂. Het gaat hier om ca. 1 miljard ton per jaar (i.e. de gehele aardgasvoorraad van Nederland!). Waarschijnlijk is de methaangisting voor ca. 10-15 % van de C-kringloop verantwoordelijk.

Waar vindt deze gisting plaats? In ecosystemen waar organisch materiaal voorhanden is onder anaërobe omstandigheden: moeras- en rijstvelden, sedimenten, waterzuiveringsinstallaties, darmstelsel van vooral herkauwers, die per jaar enorme hoeveelheden methaan produceren (ca. 20 % van de wereld-

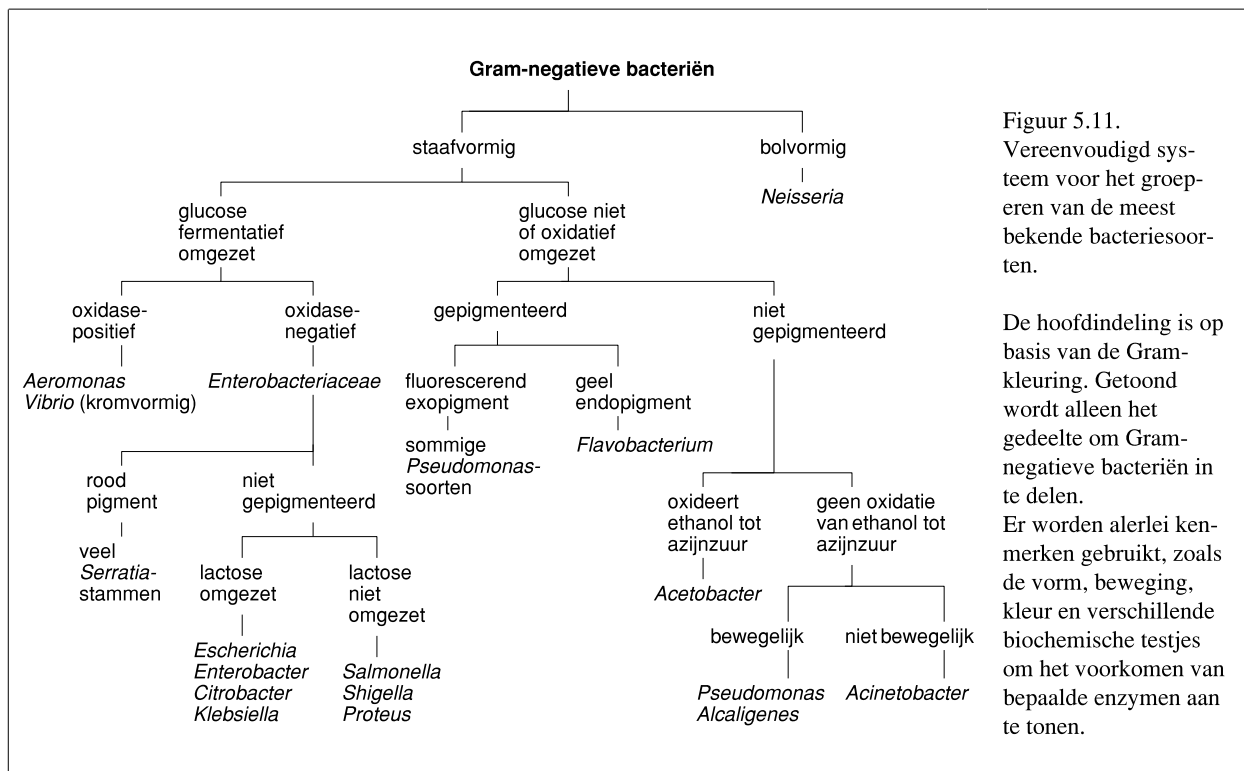


productie).

Tot slot: we spreken steeds van methaangisting. Omdat CO₂ in feite als oxydator optreedt wordt ook wel gesproken van carbonaatademhaling.

5.5 Classificatie van bacteriën

Classificeren van organismen geschiedt altijd met een bepaald doel: wil men een bepaalde ziekteverwekker identificeren en dan heeft men daartoe een hanteerbaar determinatiesysteem nodig. Wil men iets weten over de oorsprong of verwantschap van een bacterie met andere bacteriën dan is men meer geïnteresseerd in een classificatiesysteem dat gebaseerd is op evolutionaire stamboom. Men spreekt dan van *taxonomie*.



Figuur 5.11. Vereenvoudigd systeem voor het groeperen van de meest bekende bacteriesoorten.

De hoofdingeling is op basis van de Gram-kleuring. Getoond wordt alleen het gedeelte om Gram-negatieve bacteriën in te delen. Er worden allerlei kenmerken gebruikt, zoals de vorm, beweging, kleur en verschillende biochemische testjes om het voorkomen van bepaalde enzymen aan te tonen.

Probleem bij het classificeren van zulke kleine organismen als prokaryoten is het geringe houvast dat morfologische structuren bieden. Vandaar dat een hele verscheidenheid aan discriminerende kenmerken wordt gebruikt om bacteriën in taxa onder te brengen. Zie figuur 5.11.

Nieuwe biochemische technieken, waarmee eiwitten en nucleïnezuren kunnen worden geanalyseerd, hebben tot volledig gewijzigde inzichten geleid (zie figuur 5.12).

Als bij andere classificatiesystemen is de naamgeving volgens de zogenaamde *binominale nomenklatuur*.

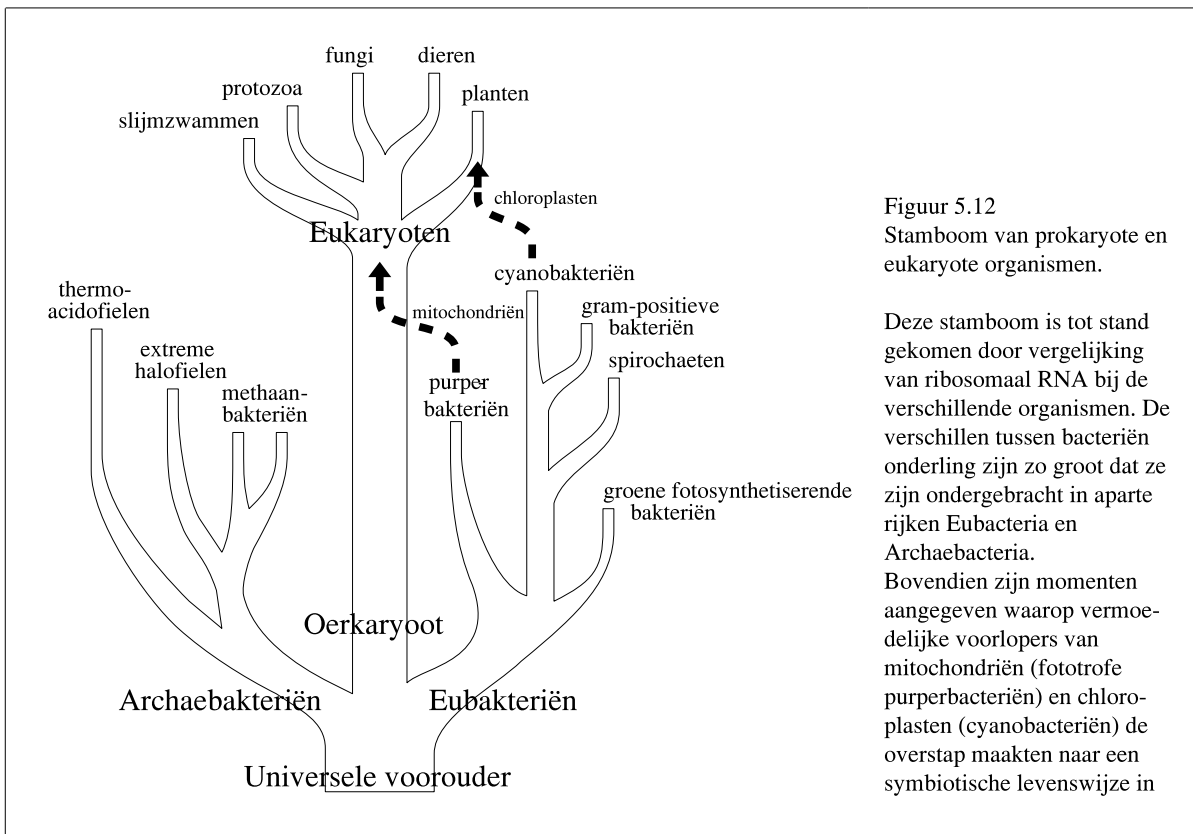
In de microbiologie wordt de begrippen 'stam' en 'isolaat' veel gebruikt.

stam

- 1 Onder een stam wordt verstaan een groep van organismen binnen een soort of variëteit gekenmerkt door een specifieke kwaliteit, bijvoorbeeld productie van een bepaald toxine.

isolaat

- 2 Een isolaat is in strikte zin een kloon, de nakomelingschap van één ouder.



Figuur 5.12
Stamboom van prokaryote en eukaryote organismen.

Deze stamboom is tot stand gekomen door vergelijking van ribosomaal RNA bij de verschillende organismen. De verschillen tussen bacteriën onderling zijn zo groot dat ze zijn ondergebracht in aparte rijken Eubacteria en Archaeobacteria. Bovendien zijn momenten aangegeven waarop vermoedelijke voorlopers van mitochondriën (fototrofe purperbacteriën) en chloroplasten (cyanobacteriën) de overstap maakten naar een symbiotische levenswijze in



5.6 Samenvatting

- M.o. zijn organismen die kleiner zijn dan 0.1 mm en waarop microbiologische technieken van toepassing zijn.
- Pasteur toonde aan dat m.o. via de lucht infecties veroorzaken en dat er dus geen sprake is van "generatio spontanea".
- Gram-positieve bacteriën hebben een dikke celwand van peptidoglycan, hetgeen ze gevoeliger maakt voor penicilline en lysozym dan gram-negatieve bacteriën.
- Uitgaande van de generatietijd van een bacterie kan in een exponentieel groeiende bacteriecultuur het aantal cellen worden bepaald.
- Afhankelijk van het fysiologische traject (het temperatuurbereik waarbinnen een m.o. funktioneert) kunnen psychrofiële, mesofiële en thermofiële m.o. worden onderscheiden. Buiten de letalgrenzen is geen overleving mogelijk.
- Bacteriën zijn sterk pH-gevoelig. Niet-gedissocieerde organische zuren zijn vaak zeer giftig voor bacteriën en worden vaak als conserveermiddel gebruikt.
- Een reinkweek van bacteriën verkrijgt men in het algemeen door achtereenvolgens op te hopen, te isoleren en verder te kweken. Men onderscheidt vloeibare of vaste selectieve, electieve en minimale media.
- Bewaren kan geschieden door overenten, diepvriezen, drogen of vriesdrogen.
- Endosporen kiemen in twee fasen: aktivatiefase (reversibel) en kiemingsfase (irreversibel). Tyndallisatie is een sterilisatiewijze die berust op het doden van gekiemde endosporen door afwisselend te laten kiemen en op te koken. De sporen zelf zijn zeer hittebestendig.
- Het "nutritional type" geeft aan welke energiebron en welke C-bron een bacterie gebruikt. Er zijn:
 - 1 *Fotoautotrofen*, met licht als energiebron en CO₂ als voornaamste C-bron. Dit zijn de meeste fotosynthetische organismen: hogere planten, algen en veel fotosynthetische bacteriën.
 - 2 *Fotoheterotrofen*, met licht als energiebron en een organische verbinding als belangrijkste C-bron. Onder deze categorie vallen enkele purperbacteriën en groene bacteriën.
 - 3 *Chemoautotrofen*, met een chemische energiebron en CO₂ als belangrijkste C-bron. De energie wordt verkregen uit de oxidatie van gereduceerde anorganische verbindingen zoals NH₃, NO₂⁻, H₂ en gereduceerde vormen van zwavel (H₂S, S, S₂O₃²⁻) of Fe²⁺. Hiertoe behoren uitsluitend bacteriën.
 - 4 *Chemoheterotrofen*, met een chemische energiebron en een organische C-bron. Eén en dezelfde organische stof kan tegelijkertijd als C-bron en energiebron dienen. Tot deze categorie behoren alle dieren, protozoa, fungi en de meerderheid der bacteriën.
- Chemoheterotrofe (organotrofe) bacteriën onttrekken hun energie aan de oxidatie van organische molekulen. Als elektronen-acceptor kunnen verschil-



lende stoffen dienen die alle gemeen hebben dat de redox-potentiaal waarbij elektronen-opname plaatsvindt hoger (positiever) is dan die van het redoxkoppel van de elektronendonoren $\text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NAD}^+ + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$. Hoe groter het potentiaalverschil van de elektronenoverdracht, hoe meer energie er vrij komt en hoe meer ATP uiteindelijk wordt gegenereerd.

Belangrijke groepen chemoheterotrofen zijn denitrificerende en sulfaatreducerende bacteriën.

- Respiratie is een ATP-opwekkend proces, waarin organische of anorganische stoffen (elektronendonoren) worden geoxideerd en anorganische (elektronenacceptoren) gereduceerd.
- Chemoautotrofe (lithotrofe) bacteriën onttrekken hun energie aan de oxidatie van anorganische molekulen. Een zeer belangrijke groep is die der nitrificerende bacteriën.
- Acetogene bacteriën zetten (zure) gistingsproducten die onder anaërobe omstandigheden zijn ontstaan middels protonreductie om in kleine organische zuren, CO_2 en H_2 . Deze stoffen worden vervolgens door methanobacteriën omgezet in methaan (CH_4) en water. Samen worden deze bacteriën aangeduid als methaanbacteriën.
- Classifikatie kan op verschillende manieren geschieden, afhankelijk van het beoogde doel. Classifikatie op basis van evolutionaire verwantschap (taxonomie) is sterk in opkomst door toepassing van molekulair biologische technieken. De naamgeving van bacteriën is binomiaal: *Genusnaam* + *soortnaam*. (Kursief of onderstreept).
- Archaeobacteriën verschillen sterk van Eubacteriën door hun bijzondere bouw en enzymsystemen. Ze komen voor in (tegenwoordig) extreme milieu's.
- Eubacteriën worden in een tiental groepen ingedeeld. Een aantal groepen zijn uiterst belangrijk in stofkringlopen, andere verwekken allerlei ziektes en ook de betekenis voor de mens is bij sommige groepen (Actinomyceten) zeer groot door hun vermogen allerlei nuttige stoffen te produceren.
- Voor het vaststellen van de aard van een ziekteverwekker dienen ten allen tijde de "Postulaten van Koch" te worden gehanteerd.

Onderstaand artikel is overgenomen uit Waaij, D.van der, 1989. Bondgenoten. De bacteriën van het darmkanaal. *Natuur en techniek*, 57, 6: 482-491.



Het artikel op de volgende bladzijden is afkomstig uit NRC-Handelsblad van 30 mei 1991



5.7 Vragen en opdrachten.

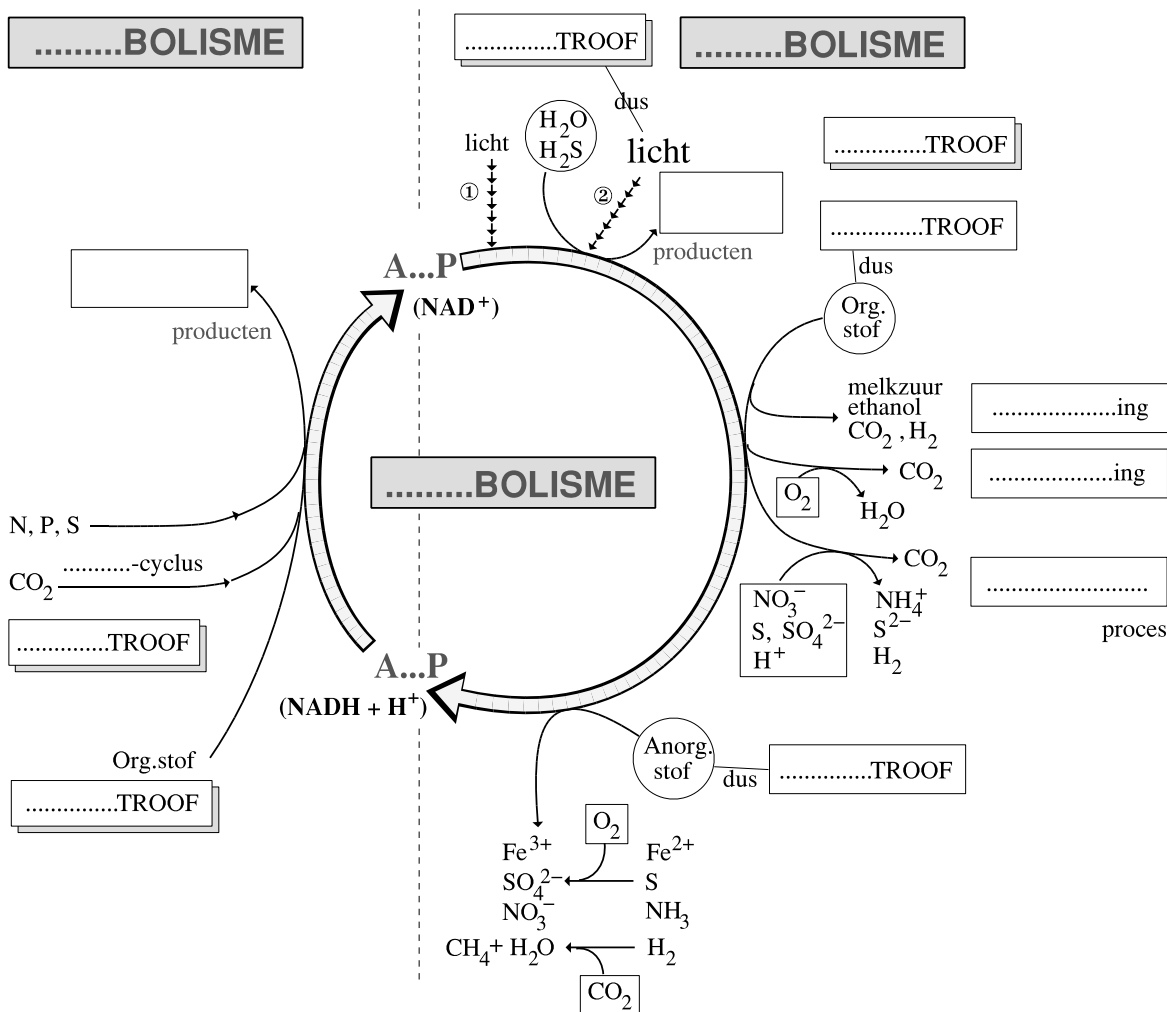
- 1 Wat is het verschil tussen protista en prokaryoten?
- 2 Waarop berust de werking van penicilline? Werkt het even sterk bij Gram+ en Gram- bacteriën?
- 3 Lysozym is een enzym dat de bacteriecelwand afbreekt. Waarom is het effectiever bij Gram+ bacteriën?
- 4 Wat is het verschil met de deling van een chromosoom bij de mitose?
- 5 Gegeven een exponentieel groeiende bacteriecultuur met een dichtheid van 10^4 cel/ml. Na 6 uur is de dichtheid 10^8 cel/ml. Wat is de delingssnelheid ν ? En wat is de generatietijd d ?
- 6 U wilt om 11 uur 's ochtends een uitvoeren met *E. coli* bacteriën met een dichtheid van 10^9 cel/ml. Hierbij gaat u uit van een verse overnachtcultuur met een dichtheid van 10^{10} cel/ml die u in vers, warm medium 100x verdunt. De generatietijd bedraagt 30 minuten. Hoe laat moet u de overnachtcultuur verdunnen?
- 7 Welke fasen in de groei van een discontinue bacteriecultuur worden onderscheiden? Zie practicumhandleiding.
- 8 Tot welk thermotype wordt *E. coli* gerekend?
- 9 Waarom voegt men stoffen als azijnzuur, melkzuur en benzoëzuur toe als conserveermiddel aan voedingsmiddelen?
- 10 Wat is het effect van een hypertoon milieu op Gram+ en Gram- bacteriën?
- 11 Wat verstaat men onder een reincultuur en op welke wijze wordt deze verkregen?
- 12 In welke gevallen gebruikt men empirische en in welke gevallen synthetische media?
- 13 Hoe groeien auxotrofe en prototrofe stammen op minimaal medium?



- 14 Welke structuur zit er in bovenstaande *Bacillus*-cel en wat is de biologische betekenis daarvan?
- 15 Hoe kun je bederfelijke waar steriliseren zonder autoclaaf of snelkookpan?
- 16 Het wildtype *E. coli* kan worden gekweekt op een minimaal medium met suiker en mineralen (Ca, Mg, NO_3^-). Tot welk “nutritional type” behoort *E. coli*?
- 17 Tot welk “nutritional type” behoort een bacterie die NH_3 oxideert tot NO_2 in de aanwezigheid van zuurstof?
- 18 Tot welk “nutritional type” behoort *Thiobacillus thioxydans*?
- 19 In welk opzicht verschillen fototrofe bacteriën van eukaryote chloroplasthoudende cellen en Cyanobacteriën?
- 20 Wat wordt verstaan onder anoxygene fotosynthese en welke stof worden i.p.v. O_2 gevormd?
- 21 Hoeveel mol ATP wordt gewonnen bij de anaërobe gisting van een mol glucose en hoeveel bij aërobe respiratie?
- 22 Hoe hoog is de ΔG° bij de oxidatie van NADH^+ met O_2 als elektronenacceptor? Hoeveel ATP is op deze wijze te genereren?
- 23 Dezelfde als de vorige vraag maar nu met NO_3^- als elektronenacceptor.

Zie bij Metabolisme

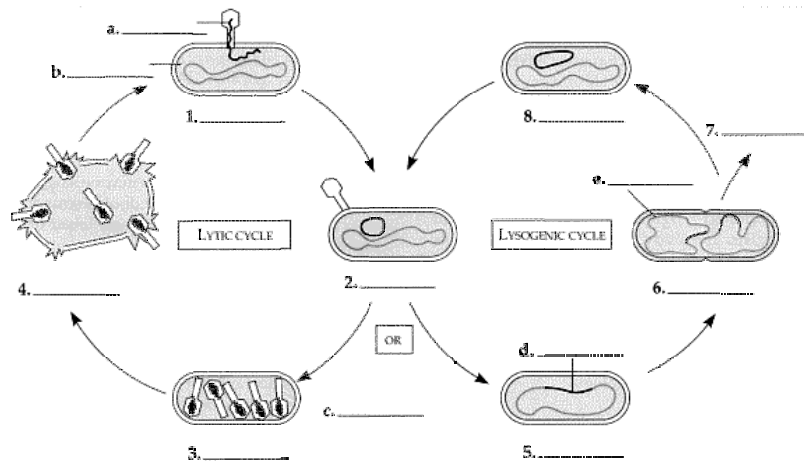
- 24 Waarom zijn nitrificerende bacteriën zo belangrijk in een waterzuiveringsinstallatie? Waarom zou het verboden zijn NH_4^+ op het oppervlaktewater te lozen?
- 25 Welke fasen worden onderscheiden in de anaërobe afbraak van koolhydraten tot CH_4 en CO_2 ? Welke stoffen zijn elektronendonor en welke de acceptor?
- 26 Welke typen bacteriën zullen een verzurende werking op hun omgeving hebben?
- 27 Vul de lege hokjes en de stippelijntjes in. Markeer de e-donoren en e-acceptoren met een eigen kleur. (Natuurlijk uit je hoofd).



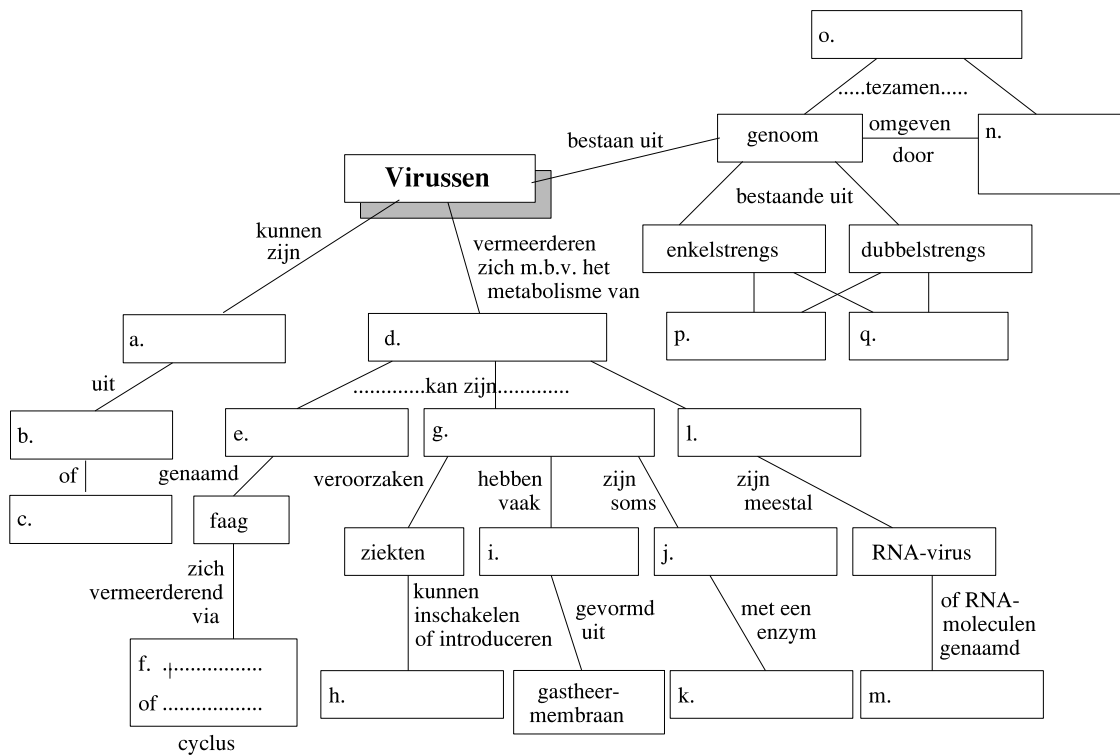
- 28 Welk classificatiesysteem is het beste: dat van figuur 5.11 of dat van 5.12?
- 29 Wat is voor menig bacterioloog aanleiding de groep der prokaryoten als hoogste taxon naast de eukaryoten te plaatsen?
- 30 Wat is het voordeel van anaërobe afvalwaterzuivering met behulp van methaanbacteriën?
- 31 Welke groep van Eubacteria is niet te bestrijden met penicilline?
- 32 Is de hoofdindeling in Gram+ en Gram- bacteriën fylogenetisch verantwoord?
- 33 Welke bacteriën leven in symbiose met hogere planten en voorzien deze van stikstof?
- 34 Welke producten worden op industriële schaal vervaardigd m.b.v. bacteriën?
- 35 Welke geneesmiddelen zijn bacterieproducten?



36 Beschrijf de stadia 1...8 en benoem de structuren a...e in onderstaand schema.



37 Vul de volgende 'concept map' in.



38 Vat de genetische informatiestroom samen bij een retrovirus en noem de daarbij betrokken enzymen.

39 Waarvoor coderen oncogenen?

40 Welk type faag en welk type reproductieve cyclus zul je voornamelijk aantreffen bij transductie?

Bij welk type faag tref je waarschijnlijk gespecialiseerde transductie aan?

41 Vul in:

a _____ de naam voor een bolvormige bacterie



- b _____ regio waarin het prokaryote chromosoom zich bevindt
- c _____ gebruikelijke laboratoriumtechniek om bacteriën te identificeren
- d _____ aanhangsels aan het bacterie-oppervlak voor aanhechting aan het substraat
- e _____ een gerichte beweging als respons op licht of een chemische prikkel
- f _____ 'nutrition type' waarin organische moleculen dienen als energiebron en als koolstofbron
- g _____ resistente cel die extreme omstandigheden kan overleven
- h _____ organisme dat anaëroob moet groeien
- i _____ organismen die dood organisch materiaal afbreken
- j _____ proteïnen die door bacteriën worden uitgescheiden en giftig zijn
- k _____ verdikkingen op wortels waarin stikstofbindende bacteriën huizen
- l _____ groep bacteriën met plantachtige fotosynthese

- 41 Op welke wijze moeten de postulaten van Koch herformuleerd worden om te gelden voor virale ziekteverwekkers?
- 42 Vul onderstaande tabel in met de verschillen tussen eukaryoten en prokaryoten.

eigenschap	prokaryoot	eukaryoot
celvorm		
celgrootte		
celoppervlak		
beweging d.m.v.		
genoom		
interne membranen		
reproductie		
fotosynthese		
ribosomen		
mitochondriën		
recombinatie		

Geraadpleegde literatuur

Hoofdstuk 1

- 1 Alberts B. et al, 1983. Molecular Biology of the Cell. 2nd ed. Garland, New York.
- 2 Campbell, N.A., 1990. Biology. Benjamin/Cummings, Redwood City, USA.
- 3 Jansen, A.I., red., 1977. Binas. Informatieboek VWO-HAVO voor het onderwijs in de natuurwetenschappen. Wolters-Noordhof, Groningen.
- 4 Celfysiologie I. Syllabus A400-602. LUW, Wageningen.
- 5 Metzler, D.E., 1977. Biochemistry. Academic Press, London.
- 6 Holliger, C., A.J.M. Stams and A.J.B. Zehnder, 1989. Anaerobic degradation of recalcitrant compounds. Dept. of Microbiology. LUW, Wageningen.
- 7 Broek, M. van den, 1991. Minder vlees eten is goed voor het milieu. Volkskrant, Wetenschapsbijlage 17 augustus 1991.

Hoofdstuk 2

- 1 Celfysiologie I. Syllabus A400-602. LUW, Wageningen.
- 2 Darnell, J., H. Lodish and D. Baltimore, 1986. Molecular Cell Biology. Scientific American Books, New York.
- 3 Keeton, W.T., 1980. Biological Science. Norton & Co, New York.
- 4 Alberts B. et al, 1983. Molecular Biology of the Cell. 2nd ed. Garland, New York.
- 5 Lelyveld, P.H. van, 1987. In de fabriek. Natuur en Techniek 55, 10: 854-865.

Hoofdstuk 3

- 1 Keeton, W.T., 1980. Biological Science. Norton & Co, New York.
- 2 Biemans, A.L.B.M., A.A.F. Jochems en A.J.A.M.C. Weyers, 1987. Fundamentele Biologie. Bohn, Scheltema en Holkema, Utrecht.

Hoofdstuk 4

- 1 Celfysiologie I. Syllabus A400-602. LUW, Wageningen.
- 2 Michal, G. 1982. Biochemical Pathways. (Poster). Boehringer, Mannheim.
- 3 Celfysiologie I. Syllabus A400-602. LUW, Wageningen.
- 4 Campbell, N.A., 1990. Biology. Benjamin/Cummings, Redwood City, USA.
- 5 Wijn, J.F. de, en W.Th.J.M. Hekkens, Fysiologie van de voeding. Bohn, Scheltema en Holkema, Utrecht.
- 6 Biemans, A.L.B.M., A.A.F. Jochems en A.J.A.M.C. Weyers, 1987. Fundamentele Biologie. Bohn, Scheltema en Holkema, Utrecht.
- 7 Dikkenberg, G.M., 1986. Alcoholisme. Metabolisme van een verslaving. Natuur en Techniek 54, 11: 842-851.

Hoofdstuk 5

- 1 Keeton, W.T., 1980. Biological Science. Norton & Co, New York.
- 2 Bos, L., 1978. Plantevirussen, het isoleren, karakteriseren en groeperen. Natuur en techniek 46, 3: 188-209.
- 3 Stanier, R.Y., E.A. Adelberg and J.L. Ingraham, 1978. General Microbiology. 4th ed. MacMillan Press, London.
- 4 Frobisher, M. et al, 1974. Fundamentals of microbiology. Saunders, Philadelphia.



- 5 Vogels, G.D., 1983. Methaangisting. Laatste stap in de biologische afbraak. *Natuur en techniek*, 51, 11: 822-841.
- 6 Harrewijn, G.A., 1988. *Elementaire microbiologie*. Bohn, Scheltema en Holkema, Utrecht.
- 7 Darnell, J., H. Lodish and D. Baltimore, 1986. *Molecular Cell Biology*. Scientific American Books, New York.
- 8 Campbell, N.A., 1990. *Biology*. Benjamin/Cummings, Redwood City, USA.
- 9 Waaij, D.van der, 1989. Bondgenoten. De bacteriën van het darmkanaal. *Natuur en techniek*, 57, 6: 482-491.
- 10 Köhler, W. 1991. Steeds meer zure zuivel. *NRC-Handelsblad* van 30 mei 1991.

Index

A

α -ketoglutaarzuur	39
α -ketoglutaraat- dehydrogenase	34
α -ketozuur	39
Acetogene bacteriën	59
Acetylcoënzym-A	28
Acetylcoënzym-A	34
Acyloënzym A	38
Ademhalingsketen	28, 34
Adenosinedifosfaat (ADP)	15
Adenosinemonofosfaat (AMP)	15
Adenosinetrifosfaat	15
Adenylaatkinaze	15
Aktivatiefase	55
Alcoholische fermentatie	32
Ammoniak	40
Archaeobacteriën	48
ATP-synthetase	36
Auxotroof	54

B

β -oxidatie	38
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	55
<i>Bacillus subtilis</i>	51
Benzoaat	52
Bewaren	54
Binominale nomenklatuur	60

C

Chemoautotrofe	58
Chemotrofen	14
Citraat	52
Citraatsynthetase	34
Citroenzuurcyclus	28, 33
Conservering	52
Conversie	5
Creatinefosfaat	16
Cyanobacteriën	33
Cytoplasma	27

D

D	20
Deepse	54
Denitrificerende bacteriën	57
<i>Desulfovibrio</i> sp.	58
Desulfuriserende bacteriën	58
ΔG°	10
$\Delta G^{\circ'}$	10
Diaminopimelinezuur (DAP)	50
Dissimilatie	27

Dissimilatoire NO ₃ -reductie	57
Dormant stage	48

E

Eerste hoofdwet	7
Electieve media	54
Empirische media	53
Endergoon	9
Endospore	55
Endotherm	9
<i>Enterobacter aerogenes</i>	54
Enthalpie	9
Entropie	7, 9
<i>Escherichia coli</i>	54
Eukaryoten	47
Evenwichts-constante	10
Exergoon	9
Exotherm	9

F

Fosfocreatine	16
Fosfoenolpyruvaat	30
Fosfofructokinase	30, 34
Fosfoglucomutase	28
Fosforylase	28
Fosfoësters	29
Fototrofen	15
Fructosedifosfaat	37
Fysiologisch traject	51

G

Gekoppelde reacties	14
Generatietijd	51
Generatio spontanea	48
Gisting	32
Glucokinase	30
Glucosefosfaat	37
Glutaminezuur	39
Glycolyse	28, 30, 41
GRAM+ en GRAM-	50

H

Hexokinase	30
Hexosen	37
Hydrogenase	59

I

Imbibitie	55
Isocitraat-dehydrogenase	34
Isolaat	60
Isoleren	53

K

Kiemingsfase	55
Kinetische energie	6
Krebs cyclus	33

L

Lactaat-dehydrogenase	32
Lithotrofe bacteriën	58

M

Media	53
Melkzuurgisting	32
Mesofiel	51
Metabolisme	5
Methaangisting	59
Methaanoxyderende bacteriën	59
Methanobacteriën	59
Minimale media	54
Mitochondriale binnenmembraan	34
Mitochondriën	28
Monera	47
Muco-complex	50
Mucopeptiden	50
Mureïne	50
Mycoplasma's	50

N

Nitraatreductase	58
Nitrietvergiftiging	58
Nitrificerende bacteriën	58
Nitrifikatie	58
<i>Nitrobacter</i>	58
Nitrosamines	58
<i>Nitrosomonas</i>	58

O

Omgeving	6
Ophopen	53
Organotrofe bacteriën	57
Orthofosfaat (P _i)	15
Overlevingstraject	51
Oxaalazijnzuur	39
Oxaloacetaat	34
Oxidatieve desaminering	40
Oxidatieve fosforylering	28, 34, 36

P

Parasitologie	48
Pentosen	37
Peptidoglycan	50

Potentiële energie	6	Ureum	40
Prokaryoten	47	Urinezuur	40
Protista	47		
Proton motive force	36	V	
Protonreductie	59	Virussen	47
Prototrofe	54	Vrije energie	6, 9
Psychrofiel	51		
Pyrodruivenzuur	28	W	
Pyrodruivenzuur	40	Warmte-inhoud	8
Pyrofosfaat (PP _i)	15		
Pyruvaat	28, 31	Z	
Pyruvaat-dehydrogenase-complex	34	Zuurgraad	52
Pyruvaatdehydrogenase	31		
Pyruvaatkinase	30		
Q			
Quiescence	48		
R			
Redoxkoppel	13		
Redoxpotentiaal	13		
Reincultuur	53		
Reinstrijken	53		
Rendement	6		
Respiratie	57		
S			
Schuine buizen	54		
Selectieve media	54		
Slants	54		
Stam	60		
Substrate level fosforylering	29		
Succinylcoënzym-A	34		
Sulfaatreducerende bacteriën	58		
Synthetische medium	53		
Systeem	6		
T			
Taxonomie	60		
Temperatuur	51		
Temperatuurtraject	51		
Thermofiel	51		
Thermoresistentie	55		
Thiobacillus thioxydans	53		
Transaminering	39		
Tweede hoofdwet	7		
Tyndallisatie	55		
U			
Ubiquiteit	48		
Universum	6		