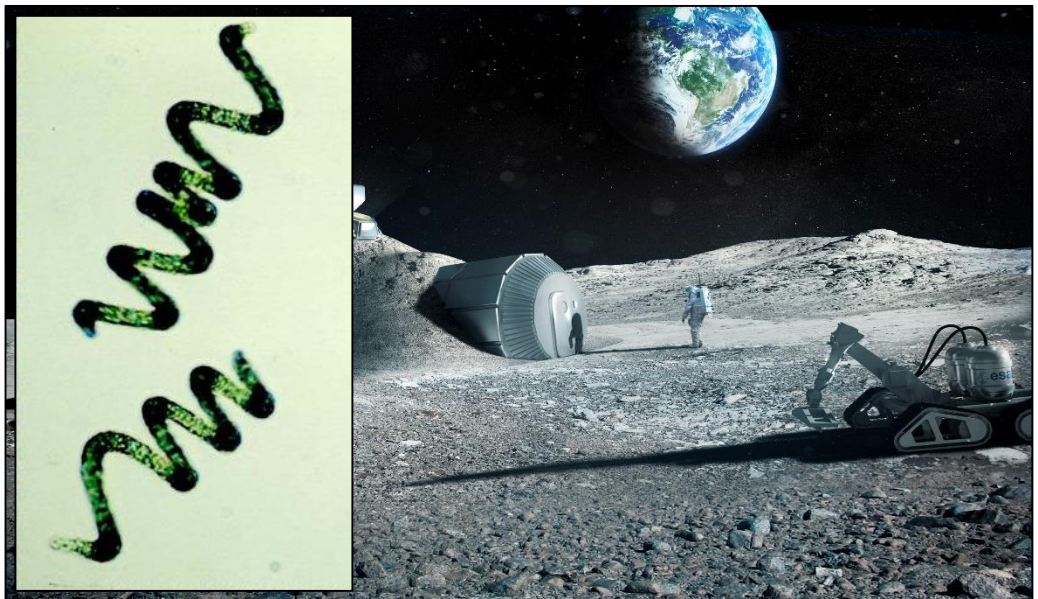


Voedsel en zuurstof in de ruimte

ONDERZOEK VAN FOTOSYNTHESE BIJ EETBARE BACTERIEËN

De leerlingen voeren experimenten uit met de bacterie *Arthrospira* ('Spirulina') en controleren zo fotosynthetische activiteit in variërende omstandigheden (lichtintensiteit, golflengtes, CO₂-concentratie). Dit is van belang voor productie van O₂ en voedsel voor ruimtereizigers.



Uitgave Januari 2017

Doelgroep Basis K 1 2 3 4 5 6
Secundair 1 2 3 4 5 6

Voedsel en zuurstof in de ruimte

Onderzoek van fotosynthese bij eetbare bacteriën voor ruimtereizigers.

Cursus kenmerken

Leeftijd doelgroep	12-15 jaar
Type	Klasexperimenten
Vorbereidingstijd voor de leraar	60 minuten per experiment
Vereiste lestijd	1 lesuur voor experiment opstelling 1 lesuur voor verwerking resultaten
Locatie	Biologieklas, labo op school
Vereist gebruik van	- Geconcentreerde Spirulina cultuur - Benodigheden zoals opgelijst in deze cursus
Eindtermen (experiment)	Biologie Fotosynthese, invloed van lichtsterkte en golflengte op fotosynthese Chemie Indicatoren voor zuurtegraad, Experiment opstellingen, procedures, rapportage, oxidatie en reductie van koolstof
Eindtermen (context)	Biologie : Fotosynthese en ademhaling, Cyanobacteriën vs algen, zuurstof en voedsel productie in ecosystemen. Aardrijkskunde Samenstelling van de aardatmosfeer, vrije zuurstof op Aarde en elders in de ruimte, evolutie van het vroege leven op Aarde.
Vereiste voorkennis	- Chemische formules van eenvoudige stoffen. - Chemische vergelijking (basiskennis) - Werken met hoge precisie - Rapporteren over metingen en resultaten.
Samenvatting	- In het eerste klasexperiment gaan leerlingen het effect testen van lichtintensiteit en variabele golflengtes op fotosynthese. - In het tweede experiment wordt bij fotosynthetiserende organismen opgevolgd hoeveel zuurstof en biomassa ze produceren in een vat met en zonder toegevoegde CO₂. Voor beide experimenten gebruiken we fotosynthetiserende bacteriën, meer bepaald <i>Arthrospira platensis</i> (beter bekend als 'Spirulina'). Dit is tevens het sleutelorganisme bij het ontwikkelen van een levensonderhoudend gesloten systeem bij langdurende ruimtevluchten.

Colofon

Uitgave Oktober 2016

Laatste update 4 jan 2017 (extra updates van SCK•CEN wetenschappers zijn nog op komst)

Gebruik en beschikbaarheid

- Dit cursusmateriaal mag gratis gebruikt worden voor niet-commerciële, educatieve doeleinden. Wie fragmenten eruit overneemt, dient de bron te vermelden.
- Lesmateriaal download op www.esero.be > nederlandstalig > lesmateriaal.

AUTEURS

ESA Education

- Productie uitgewerkt klasexperiment voor de “Teachers Summer Workshops” in ESTEC 6-8 juli 2016 (Engelstalig)

ESERO Belgium

- Productie van Vlaamse editie, met uitgebreide achtergrondinformatie.
- Layout
- Medewerker: Pieter Mestdagh

SCK•CEN

- Bijdragen aan achtergrondinformatie
- Testen en verbeteren van experiment-protocol
- Medewerkers: Nathalie Leys, Tom Clarijs, Hugo Moors, Felice Mastroleo

Uw mening is belangrijk

Cursussen van ESERO Belgium worden online aangeboden in dynamische vorm. Dat betekent dat elke zinvolle feedback van gebruikers onmiddellijk leidt tot de publicatie van een aangepaste uitgave op www.esero.be (Nederlandstalig). Help toekomstige gebruikers door uw opmerkingen of aanvullingen per email op te sturen (www.esero.be > NL > contact). Gebruikers die nieuwe onderdelen toevoegen aan de cursus, worden hierboven in de auteurslijst vermeld.

Inhoud

CURSUS KENMERKEN	1
COLOFON.....	2
INHOUD.....	3

DEEL 1

ACHTERGROND INFORMATIE.....	5
1 FOTOSYNTHESE.....	5
<i>De essentie van fotosynthese/respiratie</i>	5
CO ₂ (koolstofdioxide).....	7
H ₂ O (water).....	7
Energie	9
C ₆ H ₁₂ O ₆	9
O ₂ (zuurstof)	9
2 CYANOBACTERIA.....	10
<i>De rol van Cyanobacteria in de geschiedenis van de Aarde</i>	10
<i>Arthrospira ('Spirulina')</i>	12
3 LEVEN IN DE RUIMTE.....	12
<i>Planten kweken in de ruimte</i>	12
<i>Spirulina als ruimtevoedsel</i>	16
<i>Melissa: geavanceerd recyclage-systeem</i>	17

DEEL 2

EXPERIMENT

“EFFECT VAN LICHT OP FOTOSYNTHESE”	21
1 SAMENVATTING	21
<i>Uitvoering van het experiment in vijf stappen</i>	21
<i>Alternatief voor Arthrospira platensis</i>	21
2 STAP 1: SPIRULINAPARELS MAKEN	22
<i>Principe</i>	22
<i>Vorbereidingen (door leerkracht)</i>	23
<i>Parels aanmaken (door leerlingen)</i>	24
3 STAP 2: EFFECT VAN LICHTINTENSITEIT.....	25
<i>Principe</i>	25
<i>Waterstof carbonaat zuurindicator</i>	25
<i>Opstelling van de test</i>	26
4 STAP 3: EFFECT VAN GOLFLENGTE	28
<i>Principe</i>	28
<i>Opstelling van de test</i>	28
5 STAP 4: RESULTAAT BEKIJKEN	29
<i>Waarnemingen</i>	29
<i>Waarnemingstabellen</i>	30
6 STAP 5: BESLUIT	31
7 LIJST VAN GEBRUIKTE MATERIALEN.....	31

DEEL 3**EXPERIMENT****“FOOD FROM SPIRULINA” 34**

① SAMENVATTING	34
<i>Uitvoering van het experiment in 4 stappen</i>	34
② STAP 1: VOORBEREIDENDE OPSTELLINGEN	34
③ STAP 2: STARTEN VAN HET EXPERIMENT	36
④ STAP 3: DAGELIJKE WAARNEMINGEN	37
⑤ STAP 4: EINDWAARNEMINGEN EN BESLUIT	38
⑥ LIJST VAN GEBRUIKTE MATERIALEN.....	39

BRONNEN..... 42**BIJLAGE****SAMENSTELLING VAN HET GROEIMEDIUM..... 43**

① ALGEMENE BESCHRIJVING	43
② SAMENSTELLING	43
<i>Macro-elementen</i>	43
<i>Spore-elementen</i>	44
③ MEDIUM PREPARATIE.....	44
④ BEWARING	44

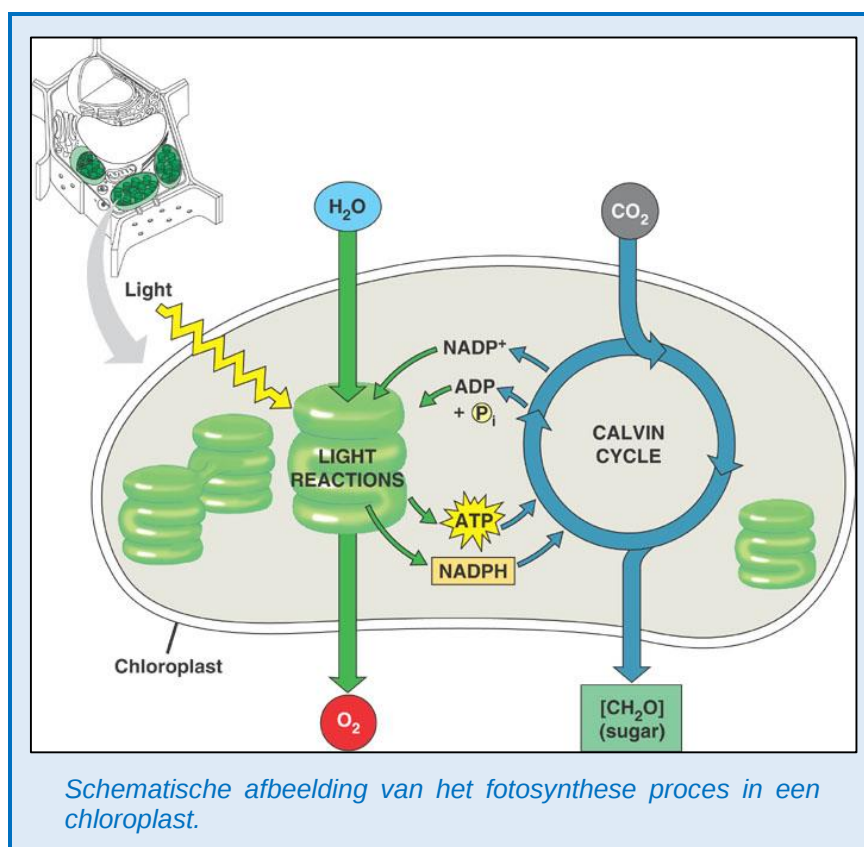
DEEL 1

ACHTERGROND INFORMATIE

1 Fotosynthese

De essentie van fotosynthese/respiratie

Fotosynthese is een proces waarbij geoxideerde koolstof (CO_2) uit de lucht of uit het water wordt gereduceerd. De koolstof komt terecht in suikers ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), een basisbouwstof waarvan de planten of eencelligen vervolgens allerlei organische stoffen kunnen maken om hun cellichamen op te bouwen. Het reduceren van koolstof kan alleen maar door iets anders te oxideren. Bij fotosynthese wordt de zuurstof in water (H_2O) geoxideerd tot vrije zuurstof (O_2). Het hele proces vindt plaats in chloroplasten. Dit zijn celorganellen die groene korreltjes bevatten, namelijk chlorofiel.



De fotosynthese reactievergelijking

Het complexe en indrukwekkende proces van fotosynthese op aarde kan samengevat worden in een eenvoudige chemische vergelijking:

Fotosynthese (celgroei)	$6 \text{ CO}_2 + 6 \text{ H}_2\text{O} + \text{energie (licht)} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{ O}_2$
Celrespiratie (aerobe vertering)	$6 \text{ CO}_2 + 6 \text{ H}_2\text{O} + \text{energie (chemisch)} \leftarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{ O}_2$

De eerste reactie (fotosynthese) vindt in werkelijkheid plaats in 2 fasen. Ietwat vereenvoudigd kan dit als volgt voorgesteld worden:

- Fase 1: $6 \text{ H}_2\text{O} + \text{zonlicht} \rightarrow 6 \text{ H}_2 + 3 \text{ O}_2 + \text{energie (ATP)}$
- Fase 2: $6 \text{ CO}_2 + 6 \text{ H}_2 + \text{energie (ATP)} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 3 \text{ O}_2$

De omgekeerde vergelijking is een vereenvoudigde samenvatting van aerobe verbranding, waar alle aerobe levende wezens op Aarde energie uithalen. Deze twee vergelijkingen vormen een zeer belangrijke basis voor het begrijpen van het leven op Aarde. Ze illustreren volgende gegevens:

- **Producenten en consumenten**

Plantencellen (en fotosynthetiserende eencelligen, samen de 'autotrofen' of 'producenten') zijn de enigen op aarde die de chemische omzetting in beide richtingen uitvoeren. Overdag, en in normale omstandigheden, doen plantencellen veel meer aan fotosynthese dan aan respiratie. Daardoor wordt op aarde voortdurend biomassa en zuurstof geproduceerd. De biomassa wordt door heterotrofe organismen ('consumenten') als bron van voedsel en energie gebruikt.

- **Reductie van C**

Autotrofen reduceren koolstof door de CO_2 uit de lucht te halen en er organische moleculen van te maken. Wanneer koolstof gereduceerd wordt, wordt een ander atoom geoxideerd. De zuurstof uit water wordt geoxideerd, en zo wordt vrije zuurstof (O_2) als restproduct in de atmosfeer gebracht.

- **Oxidatie van C**

Bij celrespiratie wordt de koolstof in organische moleculen terug geoxideerd. Als oxidator wordt de vrije zuurstof uit de atmosfeer gebruikt. Hierbij komt energie vrij, die door de cel opgeslagen wordt in de molecule ATP.

- **C evenwicht**

Wanneer we de totaalbalans van de reactie in beide richtingen maken op aarde, dan zouden we vaststellen dat de hoeveelheid opgenomen CO_2 (fotosynthese) ongeveer gelijk is aan de hoeveelheid uitgestoten CO_2 (respiratie en verbranding). Het systeem is dus zelf-recyclerend, en er wordt alleen energie aan toegevoegd door de zon. Het leven op aarde kan enkel blijven voortbestaan dankzij deze toegevoegde energie.

- **Historische reserve gereduceerde C**

Mensen zijn zoals andere dieren heterotrofen, en halen dus ook hun energie en voedsel direct of indirect uit de biomassa die dagelijks geproduceerd wordt door autotrofen. Bijkomend halen mensen chemische energie uit historische voorraden biomassa, met name door de verbranding van de fossiele brandstoffen. We brengen daardoor meer CO_2 terug in de aardatmosfeer dan alle leven op aarde spontaan zou doen op dit moment (dit veroorzaakt het broeikaseffect).

Bovenstaande voorbeelden tonen aan hoe belangrijk de fotosynthese/respiratie vergelijking is wanneer men het ecosysteem aarde wil begrijpen. Het is daarom ook interessant om enkele basisgegevens te kennen over bepaalde componenten van de reactie:

CO₂ (koolstofdioxide)

Concentraties

- Gemiddelde in de **aardatmosfeer**: 0,040% (0,028% voor de industriële revolutie).
- Gemiddelde in lucht **uitgeademd** door mensen: 4%
- CO₂ lost op in water of **bloed** als carbonzuur (H₂CO₃, een zuur). De pH van menselijk bloed varieert tussen 7,35 and 7,45. Als het bloed zuurder wordt (pH<7,35 vanaf ongeveer 1% CO₂ in de lucht) zal men sneller beginnen in en uitademen, om het overtollig CO₂ kwijt te raken (hyperventileren). Dit kan bijvoorbeeld bij slechte ventilatie van gebouwen waar veel mensen zijn.

	Atmosfeer (droog)	Uitgeademde lucht (droog)
O ₂	21%	17%
CO ₂	0,04%	4%
N ₂	78%	78%
Ar	1%	1%

Dit zijn waarden voor droge lucht. In werkelijkheid bevat de lucht ook nog water:

	Atmosfeer	Uitgeademde lucht
Droge lucht	99,99%-95,75%	93,8%
H ₂ O	0,01%-4,25%	6,2 %

Enkele eigenschappen van CO₂

- Broeikasgas op Aarde (nog meer op Venus en Mars). Behoudt warmte omdat het een goede infrarood absorbeerder is.
- Vormt de bubbels in spuitwater en frisdrank.
- Zwaarder dan lucht op Aarde, zodat het kan accumuleren. In 1986 stierven plots 1700 mensen en 300 dieren nabij het Nyos meer in Kameroen. Een grote massa onder water geproduceerd CO₂ kwam plots vrij en vergiftigde een zone van 25 km rond het meer.

C als basis van plantenweefsel

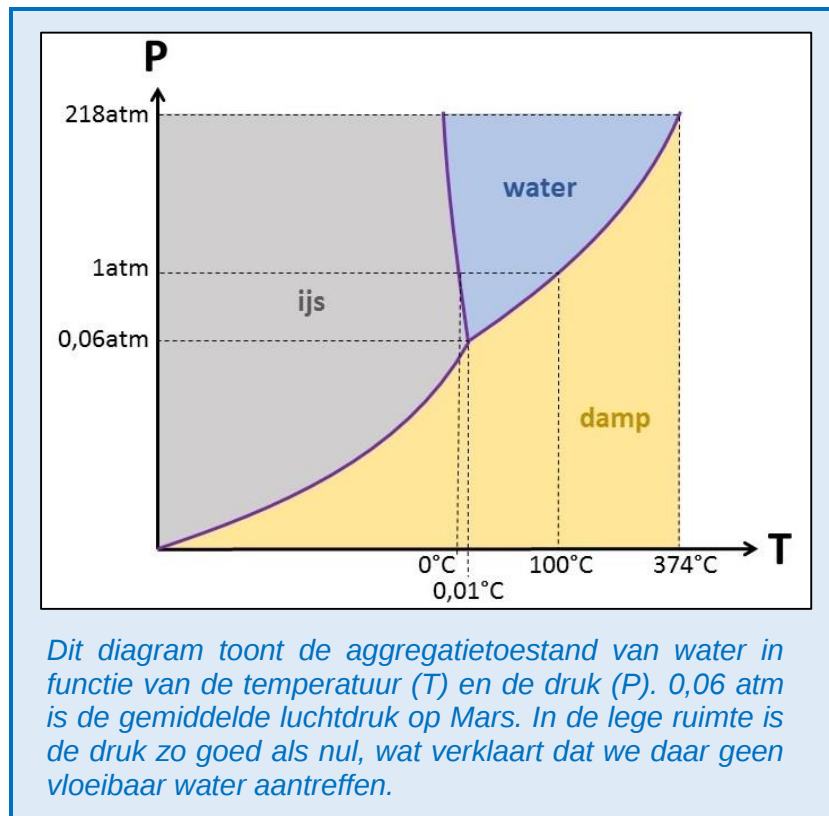
- Koolstof uit CO₂ wordt opgenomen door planten uit de lucht en gereduceerd in organische moleculen.
- Daarnaast zijn er nog andere elementen die door planten ingebouwd worden in hun weefsels (P, S, N, ...). Deze elementen vinden ze in wateropgeloste moleculen in de bodem, waarmee ze rechtstreeks in contact staan via hun wortels.
- Stikstof (N) wordt bovendien soms door bacteriën opgenomen uit de lucht. Zulke bacteriën leven zelf in de plantenweefsels, en stellen de luchtstikstof dus direct beschikbaar voor de plantengroei.

H₂O (water)

Vloeistof, gas of ijs

Dat we op aarde water in vloeibare vorm kennen, hebben we zeker niet alleen te danken aan de temperaturen die hier heersen. Minstens even belangrijk is de luchtdruk. Op de meeste plaatsen in de ruimte ontbreekt deze atmosferische druk, en vindt men water enkel als gas of

ijs. Onderstaande grafiek toont de drie aggregatie toestanden van water in functie van omgevende luchtdruk en temperatuur..



Op de maan is er geen atmosfeer, dus de luchtdruk is daar 0 atm (0 hPa). Op Mars is de luchtdruk aan het oppervlak ongeveer 0,06 atmosfeer (6 hPa). Vergelijk dit met de gemiddelde luchtdruk op aarde op zeeniveau: 1 atm of 1013 hPa. Kijk nu terug naar bovenstaande grafiek. Wat kan men verwachten in verband met water wanneer dit zich op de maan of op Mars bevindt?

Vloeibaar water is noodzakelijk voor leven

In dergelijke lage druk verdampt water zeer snel, zelfs bij heel lage temperaturen. Als mensen gaan leven op de maan of op mars, dan moeten ze hun vloeibaar water opslaan waar ze zelf leven, namelijk in structuren waar de luchtdruk kunstmatig hoog gehouden wordt (drukcabines). Ook de planten die voedsel en zuurstof voor astronauten produceren, moeten in drukcabines groeien. Fotosynthese en andere levensprocessen zijn immers alleen mogelijk in een omgeving met vloeibaar water. Alle levende lichamen op aarde bestaan voor minimum 50% uit vloeibaar water, en alle levende organismen wisselen voortdurend water uit tussen hun lichaam en de omgeving.

Anekdote: de diwaterstof monoxide hoax

In 1983 meldde de Amerikaanse krant Durand Express dat er "diwaterstof monoxide" was gevonden in de waterleidingen van de stad. Men waarschuwde dat het inademen ervan fataal kon zijn. Dit veroorzaakte enige paniek bij de bevolking. Deze diwaterstof monoxide hoax werd later door anderen herhaald. Allen gebruikten ze de chemische naam voor water, en beschreven ze effecten van water op een alarmerende manier. Zo werd bijvoorbeeld gezegd dat het corrosie versnelt en dat het ernstige brandwonden kan veroorzaken. Dikwijls werd gesteld dat deze stof verboden zou moeten worden, of minstens voorzien worden van een

waarschuwinglabel. Dit is een mooi voorbeeld van hoe wetenschappelijke ongeletterdheid en overdreven analyses kunnen leiden tot onrealistische angsten.

Energie

Geen leven zonder toegevoegde energie

Levende cellen zijn complexe systemen die energie nodig hebben om te blijven bestaan en zich te vermenigvuldigen. In de hele biosfeer wordt energie toegevoegd door de zon, maar geen materie. Alle atomen blijven binnen de biosfeer en worden in kringlopen uitgewisseld met de omgeving.

Zoals in het ecosysteem aarde alle atomen binnen het systeem blijven circuleren, maar wel van buitenaf energie moet toegevoegd worden om deze atomen te blijven ordenen tot levende cellen, zo moet de mens ook in een ruimteschip of ruimtebasis in staat zijn om in een gesloten systeem alle atomen te recupereren en hergebruiken als voeding, zuurstof en drinkbaar water. Ook in dit systeem wordt energie toegevoegd van buitenaf door de straling van de zon te gebruiken.

Het zonlicht dat we op Aarde ontvangen is gefilterd; onze atmosfeer laat bepaalde golflengtes van elektromagnetische straling door, en filtert andere weg.

De electromagnetische straling die planten gebruiken voor fotosynthese is specifiek

$C_6H_{12}O_6$

Glucose, basismolecule voor stofwisseling

Deze chemische formule staat voor glucose. Glucose die aangemaakt is in het fotosyntheseproces, wordt door plantencellen (of eencelligen) omgezet in allerlei biochemische moleculen, zoals eiwitten, vetten, meervoudige suikers, etc. Wanneer het lichaam energie wil halen uit de reserve aan biochemische moleculen, worden deze eerst terug omgezet in glucose, zodat de aerobe reactie van celrespiratie kan plaatsvinden. De omzettingsreacties worden uitgevoerd met behulp van talrijke enzymen die in het DNA gecodeerd liggen. Omdat het lichaam deze omzettingsreacties niet hoeft te doen wanneer we pure glucose eten (geraffineerde suiker zoals in de keuken), wordt dit product ook 'snelle suikers' genoemd.

O_2 (zuurstof)

Zuurstof komt veel voor, maar niet in vrije vorm

Zuurstof staat op de derde plaats in de lijst van meest voorkomende elementen in het universum, maar het is gewoonlijk in een molecule gebonden aan andere elementen. Het lijkt moeilijk om het te vinden in de zogenaamde vrije vorm, de dizuurstofmolecule (O_2). Dat komt omdat deze molecule chemisch erg reactief is, en dus voortdurend nieuwe bindingen vormt met andere atomen.

21% zuurstof dankzij fotosynthese

Een actief mechanisme zoals fotosynthese is dus noodzakelijk om te kunnen verklaren dat de concentratie vrije zuurstof in de aardatmosfeer 21% is. Zonder constante fotosynthese activiteit van levende cellen, zou de zuurstof in onze atmosfeer (grotendeels) verdwijnen. Tergelijkertijd zou de concentratie CO_2 stijgen, aangezien het niet langer zou gefixeerd worden door fotosynthetische organismen om organische componenten te bouwen. Daarop

volgens zou het andere (heterotrofe) leven ook verdwijnen, aangezien veruit de meeste organismen afhankelijk zijn van de hoge concentratie aan vrije zuurstof voor respiratie.

Kan vrije zuurstof voorkomen op een planeet zonder dat er levende organismen voorkomen? En zo ja, in welke concentraties? De ESA Rosetta missie naar de komeet 67P Churyumov-Gerasimenko toonde aan in 2015 dat vrije zuurstof (O_2) uitzonderlijk ook kan bestaan in hoge concentraties in afwezigheid van leven. In de coma (omgevende wolk van gassen en stof) van de komeet werden concentraties zuurstof gemeten tot 10% met het ROSINA instrument, een Belgische-Zwitserse massaspectrometer.

Zuurstof voor astronauten op een verre reis

Tot nu toe hebben astronauten voor hun verblijf in de ruimte zuurstofflessen meegenomen vanop aarde, om daarboven continu te beschikken over adembare lucht met 21% O_2 . Astronauten die naar Mars reizen, kunnen onmogelijk voldoende zuurstof meenemen om heel de reis lang te kunnen ademen in hun drukcabines of ruimtepakken. Net zoals andere ruimtevaartagentschappen, werkt de ESA al vele jaren aan een systeem om zelf zuurstof en voedsel te produceren in de ruimte, waarin fotosynthetiserende cellen een hoofdrol spelen. Over dit project (Melissa) leest u verder meer in deze cursus. Een andere strategie is het splitsen van watermoleculen in vrije zuurstof en water, gebruik makend van zonne-energie. Maar aangezien men bij zulke lange reizen ook planten moet kweken om te eten, en omdat water bij pioniersmissies dikwijls heel beperkt beschikbaar is, blijft fotosynthese een cruciale denkpiste om zuurstof te produceren voor ver reizende astronauten.

2 Cyanobacteria

De rol van Cyanobacteria in de geschiedenis van de Aarde

Een start zonder zuurstof

Enkele miljarden jaren geleden, wanneer de eerste levende cellen op onze planeet verschenen, was de Aarde een anaerobe omgeving. Anaeroob betekent zonder zuurstof. Zoals alle leven, hadden ook de eerste levende cellen energie nodig. Ze gebruikten de energie van geologische processen zoals vulkanisme en zeebodemspreiding. Dit soort processen waren veelvuldig aanwezig op de jonge Aarde. De zogenaamde extremofielen die we vandaag kennen zijn afstammelingen van deze vroege levensvormen. Hun naam verwijst naar de extreme omstandigheden waarin ze leven: afwijkende temperaturen, zuurtegraad, ... Een voorbeeld hiervan zijn bacteriën die hun energie halen uit de reductie van sulfaten tot H_2S .

De grote vernieuwing: leven van zonlicht

Biologische evolutie zorgde vervolgens voor het ontstaan van steeds nieuwe levensvormen, die nieuwe strategieën uitprobeerden om de beschikbare hulpbronnen te gebruiken. Eén van de belangrijkste innovaties in de geschiedenis van het leven, was de 'uitvinding' van fotosynthese. Zo kon het leven het alomtegenwoordig zonlicht gaan gebruiken om enorme hoeveelheden biomassa te produceren uit atmosferisch CO_2 . Bovendien had dit nieuw proces van fotosynthese een heel bijzonder afvalproduct: vrije zuurstof (O_2). De bacteriële familie die verantwoordelijk was voor deze belangrijke nieuwe strategie op Aarde heet Cyanobacteriën. Ze zijn nog steeds overal talrijk aanwezig op deze wereld. Ze worden verantwoordelijk geacht voor de allereerste betekenisvolle stijging van zuurstofconcentraties op Aarde. Dit gebeurde ongeveer 2,45 miljard jaar geleden.

Nieuwe en grotere levensvormen dankzij het afvalproduct zuurstof

Cyanobacteriën worden soms blauwwieren genoemd (Engels: Bluegreen Algae). We raden het gebruik van deze term af, want wieren of algen vormen een totaal verschillende en niet aan bacteriën verwante vorm van leven. De cyanobacteriën bevatten chlorofyl waardoor ze aan fotosynthese kunnen doen. Ze werden erg talrijk kort na hun ontstaan. Vanwege hun massale productie van biomassa en zuurstof, daalde de vrije CO₂ en steeg de zuurstofconcentratie in de aardatmosfeer gevoelig. Deze nieuwe molecule was giftig voor de bestaande anaerobe levensvormen, die dan ook enkel overleefden in de overblijvende zuurstofvrije plaatsen (zoals spreidende zeebodems en vulkanen).

Pas tussen 2 en 2,5 miljard jaar geleden geraakte de aardatmosfeer gevuld met een grote hoeveelheid vrije zuurstof. Maar toch ontstond er al snel een nieuwe en energie-efficiënte vorm van metabolisme: aerobe vertering. Van nu af aan konden de organismen die andere cellen opeten veel meer energie halen uit hun vertering. Dit zou uiteindelijk de mogelijkheid openen om grotere, meercellige levensvormen te ontwikkelen. Het blijft echter een mysterie waarom het na de toename van atmosferische zuurstof nog een miljard jaar duurde vooraleer de eerste meercellige dieren verschenen.

Samenwerkingsverband met cyanobacteria: planten

Lang na de uitvinding van fotosynthese werd een volgende grote stap genomen in de biologische evolutie op Aarde: het ontstaan van Eukaryotische cellen (tussen 2,5 en 3 miljard jaar geleden). In tegenstelling tot de prokaryoten (Bacteria en Archaea), hebben Eukaryoten een celkern en meerdere celorganellen met specifieke functies. Het is algemeen aanvaard dat deze celorganellen ontstaan zijn door een proces met de naam endosymbiose. Hiermee bedoelt men dat prokaryoten zijn beginnen leven binnenin de cellen van de eerste eukaryoten, totdat ze een noodzakelijk onderdeel geworden zijn in hun cellichaam en hun fysiologie. Ook sommige fotosynthetiserende Cyanobacteriën – met hun chlorofyl – zijn endosymbiotisch in andere cellen gaan leven. De celorganellen die hieruit voortkwamen noemen we chloroplasten. De eerste organismen die chloroplasten bevatten zijn zo de oudste voorouders van de planten geworden.

Het belang van planten (meercellig en ééncellig) en Cyanobacteria kan niet overschat worden op Aarde. Ze vormen samen voor de zogenaamde primaire productie, waar alle heterotrofe levensvormen (meercellig en ééncellig) op Aarde van afhankelijk zijn. Bovendien zijn de mensen recent begonnen de historische stock van de primaire productie te gebruiken als energiebron voor de technologische revolutie. Dus niet alleen het meercellig leven in het algemeen, maar ook de explosieve groei van de mensenpopulatie op aarde is onrechtstreeks mogelijk gemaakt door Cyanobacteriën en de chloroplasten die ze gecreëerd hebben.

Naar een miniatuur ecosysteem

Als mensen voor langere tijd in de ruimte willen verblijven, en verder weg van onze thuisplaneet, dan moeten we in staat zijn om de aardse productie van voedsel en zuurstof (en de recyclage van allerlei stoffen en zuiver water) te imiteren in een kleine afgesloten ruimte. Dit is nodig om naar Mars te reizen of om op de maan te wonen, missies die in de nabije toekomst voorbereid worden door de grote ruimtevaart organisaties. De hele biosfeer met al zijn complexiteit en diversiteit kopiëren in het klein is volstrekt onmogelijk. Om deze enorme uitdaging aan te gaan, kunnen we ons beter terug concentreren op de eenvoudiger organismen die dit hele systeem op aarde ooit begonnen zijn: de Cyanobacteriën. Eén van hen, met name *Arthrospira plantensis*, krijgt bij ESA dan ook een hoofdrol in de ontwikkeling

van een volledig 'life support system' voor lange ruimtereizen. Dit Europees onderzoeksproject loopt al decennia lang en heet Melissa.

Arthrospira ('Spirulina')

Een bacterie met een lange geschiedenis

Arthrospira is een geslacht (genus) van cyanobacteriën. Deze organismen bestaan al sinds het begin van het leven op Aarde ongeveer 3,5 miljard jaar geleden. Het genus leeft van nature vooral in warme (35°C) alkalische (pH 9) meren, met water dat rijk is aan carbonaten.

Arthrospira is eetbaar, en werden reeds gebruikt bij heel oude menselijke culturen als extra voedselbron. Zo werd de consumptie ervan door azteken gedocumenteerd sinds de 16^{de} eeuw. Ook in Afrika werd de consumptie ervan vastgesteld bij meerdere oorspronkelijke stammen.

Beweeglijke spiralen

De cellen van Arthrospira hebben een cilindervorm en groeperen zich in spiraalvormige stringen die de naam 'trichomen' dragen. Ze bevatten met gas gevulde blaasjes (vacuoles) waarmee ze hun drijfvermogen in het water kunnen regelen. Wanneer ze uit het water gehaald worden, zijn ze met hun beweeglijke cellichamen soms in staat om over het oppervlak te glijden

De context van ruimtevaart is niet het enige didactische voordeel van Spirulina. De cellen zijn opvallend groot voor een bacterie, waardoor ze goed zichtbaar zijn onder een gewone lichtmicroscop. De klasexperimenten kunnen dus gecombineerd worden met microscopische observatie en/of onderzoek.

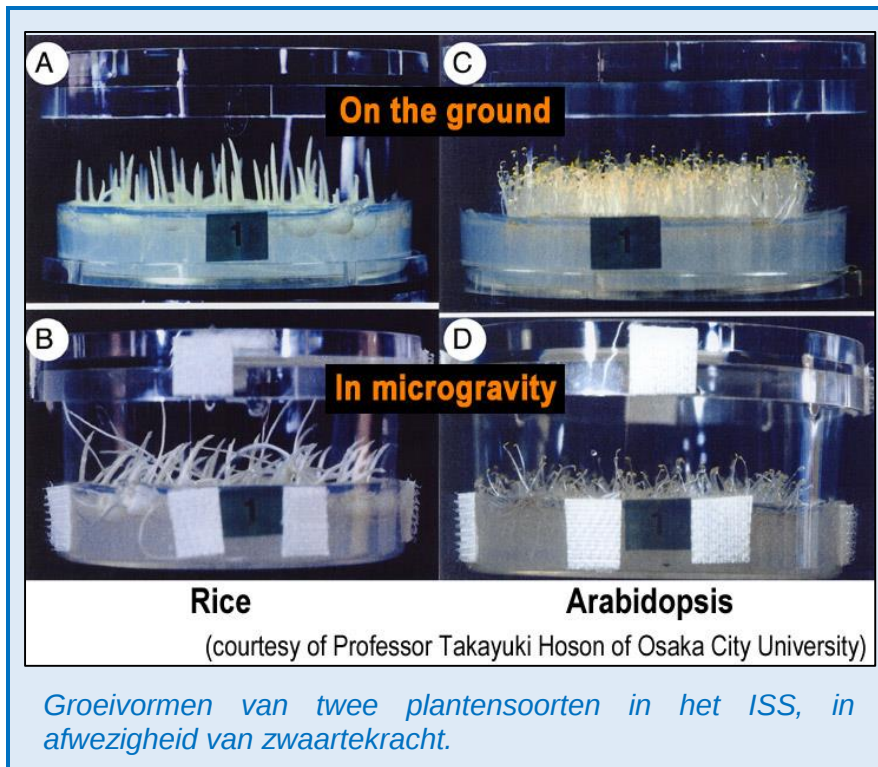
3 Leven in de ruimte

Planten kweken in de ruimte

Planten kweken in een ruimteschip of een basis op de maan kan op het eerste zicht eenvoudig lijken, net zoals we ook een bak met planten in de woonkamer naast het raam kunnen zetten. Maar er zijn heel wat moeilijkheden of onzekerheden op te lossen. Deze moeilijkheden doen zich voor in de ruimte, en moeten tijdens het onderzoek op Aarde zo correct mogelijk nagebootst en bestudeerd worden.

Het gebrek aan zwaartekracht

Op aarde registreert een groeiende plant waar onder en boven is. Bijgevolg groeien in de regel wortels naar beneden en stengels naar boven. Dit wordt **gravitropisme** genoemd. Wanneer de zwaartekracht (grotendeels) wegvalt, dan vertonen planten heel vreemde groeivormen, waardoor ook andere functies (zoals transport van voedingsstoffen) verstoord kan worden. We weten trouwens nog niet hoe planten reageren op verminderde zwaartekracht zoals op de maan (0,17g) en op Mars (0,38g).



Ook **gassen en vloeistoffen** rondom de plant gedragen zich in het ruimtestation anders dan op de grond. Zo kan de beschikbaarheid van bepaalde gassen bijvoorbeeld verminderen omdat er geen convectie bewegingen in de lucht plaatsvinden. Dit wordt eenvoudig geïllustreerd door een kaars aan te steken in gewichtloosheid (in het ISS bijvoorbeeld). Niet alleen de vlam verandert van vorm en lichtintensiteit, ook de verbrandingsproducten zijn anders. Een kaars op aarde verbrandt het kaarsvet (lange koolstofketens) tot CO_2 , water en roetdeeltjes. In de ruimte produceert dezelfde brandende kaars veel meer onvolledig verbrande koolstofketens en koolstofmonoxide (CO). Dit komt omdat de zuurstofaanvoer en rookgassenafvoer beperkt zijn door het gebrek aan convectiestromen. De fotosynthesereactie illustreert hoe belangrijk de continue beschikbaarheid van CO_2 is voor planten.



Ook is het niet erg eenvoudig om de planten steeds van water te voorzien in afwezigheid van zwaartekracht. Op de website van ESA wordt in een video getoond hoe de Italiaanse astronaut Paolo Nespoli water injecteert in een gesloten recipient waarin de plantenwortels groeien:

[http://www.esa.int/spaceinvideos/Videos/2011/03/Greenhouse_in_Space - Paolo Nespoli launching the project at ISS](http://www.esa.int/spaceinvideos/Videos/2011/03/Greenhouse_in_Space_-_Paolo_Nespoli_launching_the_project_at_ISS)

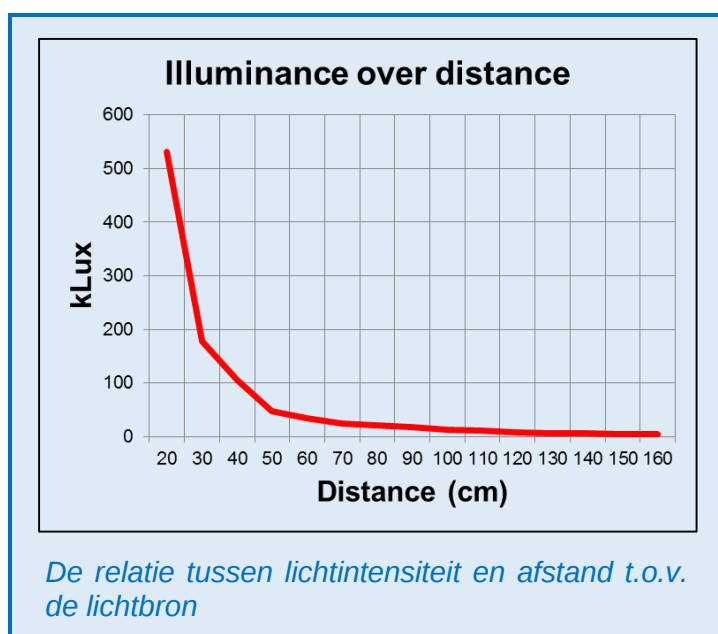


Beperkt zonlicht

Wanneer mensen (samen met planten) in de ruimte leven, verblijven ze steeds in een goed afgeschermd en gesloten ruimte. Het is dan ook niet mogelijk om het plantgoed in de volle zon te laten groeien. Op Mars komt daar nog bij dat men veel verder verwijderd is van de zon. Bij maximale zonbelichting op de Marsevenaar (zon in zenith), krijgt men dezelfde hoeveelheid licht als op aarde wanneer de zon hier 36° boven de horizon staat. Dit is bijvoorbeeld het geval op de middag van 21 maart of 21 september op 54° breedte (ter hoogte van Hamburg, Noord-Duitsland).

De leerlingen kunnen **zelf** het effect **testen** op hoeveelheid licht wanneer men zich verder van de zon verwijderd:

- Download een app voor android of IOS die toelaat dat je lichtintensiteit meet met je smartphone. Zoek op "light meter" of "light intensity app". De gemeten waarden zullen worden gegeven in kLux of Lumen.
- Zet een lamp op tafel en doe ze aan.
- Meet de lichtintensiteit met de smartphone per 5cm afstand t.o.v. de lamp.
- Zet de gemeten waarden uit op een grafiek, en ontdek de relatie: lichtintensiteit $\approx (1/\text{afstand}^2)$



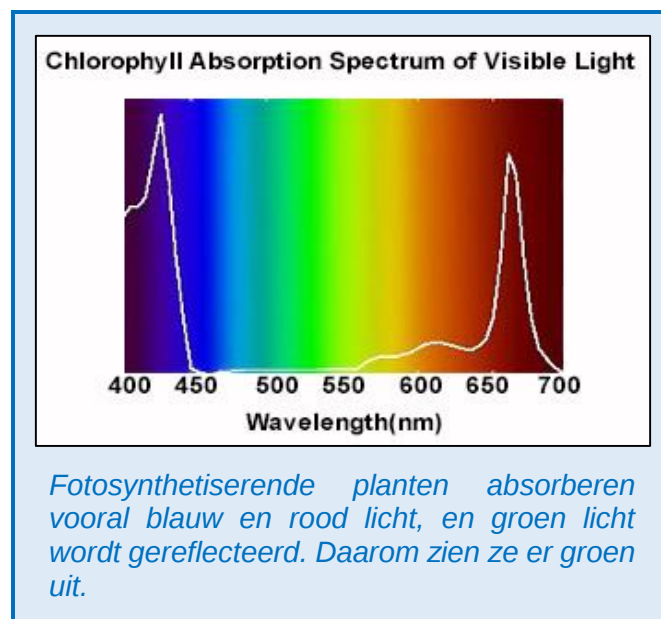
Ter info:

- Lichthoeveelheid uitgezonden in een bepaalde richting = **candela**
- Lichthoeveelheid uitgezonden per seconde = **lumen**
- Lichthoeveelheid gemeten per m² = **lux**

Alle planten die we kennen zijn ontstaan op aarde. Zowel hun fotosynthetische groei als hun reacties op licht (groeirichting, bladstand, ...) zijn afgestemd op de hoeveelheid licht dat ze hier ter beschikking hebben. Verschillende ruimtevaart-organisaties onderzoeken dan ook de effecten van beperkt licht op plantengroei.

Favoriete golflengtes van planten en cyanobacteriën

Waarom zijn planten gewoonlijk groen? Deze kleur hebben ze omdat ze het groene deel van het zichtbaar licht weerkaatsen in plaats van absorberen. Met andere woorden, het zonlicht dat gebruikt wordt voor fotosynthese heeft een andere golflengte dan de groene (450-600 nm), zoals geïllustreerd op de figuur hieronder. Het is op dit moment niet bekend waarom dit deel van het zichtbaar spectrum niet gebruikt wordt. Het is in elk geval van belang voor ruimtereizigers om het gebruik van licht bij fotosynthese goed te kennen, om optimale lichtcondities te voorzien in de groeikamers.



Ook de effecten van ultraviolet (UV) en infrarood (IR) belichting zijn van belang. Van planten is bekend dat ze het nabije infrarood (NIR) goed weerkaatsen, en op die manier voorkomen dat de bladeren teveel opwarmen in de zon. Dit gegeven wordt gebruikt om vegetatie op Aarde vanuit de ruimte te monitoren. De absorptie van een groot deel van het zichtbaar licht en de reflectie van NIR worden gecombineerd in een multispectraal beeld van vegetatie, namelijk de vegetatie-index.

De aardse atmosfeer is een filter voor UV straling en voor sommige golflengtes in de IR band, terwijl het zichtbaar licht grotendeels doorgelaten wordt. Op Mars is die filter veel minder aanwezig, en op de maan of in de lege ruimte al helemaal niet. De groeikamers die we maken voor planten in de ruimte, moeten hier rekening mee houden.

Andere moeilijkheden

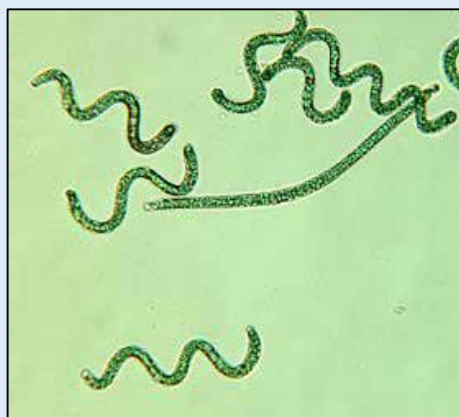
Daarnaast zijn er nog heel wat andere euvels te overwinnen alvorens we plantaardig voedsel kunnen oogsten in de ruimte, zoals onderstaande voorbeelden illustreren:

- De afwezigheid van bestuivende insecten.
- Het schadelijk effect van straling. Vooral als men natuurlijk zonlicht wil gebruiken voor plantengroei, dan wordt dit een moeilijk punt. Met glas kan men immers niet goed beschermd worden tegen hoogenergetische straling.
- Luchtverversing. Levende wezens die samen verblijven in een gesloten ruimte, hebben regelmatig verse lucht nodig, maar verse lucht (met een chemische samenstelling en druk zoals op Aarde) is in de ruimte een schaars goed en kan niet gewoon van 'buiten' komen.

Spirulina als ruimtevoedsel

Superfood

Sommige cyanobacteria zijn bij liefhebbers van voedingssupplementen erg populair onder de naam 'superfoods'. Dit is het geval voor *Arthrospira plantensis*. Grote hoeveelheden van deze bacterie worden gekweekt en gedroogd, met als resultaat een groen poeder (voedingssupplement). En inderdaad, onderzoekers hebben ontdekt dat *Arthrospira* een opvallend hoge concentratie heeft aan eiwitten en alle 8 essentiële aminozuren bevat. Deze laatste zijn aminozuren die het menselijk lichaam niet zelf kan aanmaken. Ze moeten deel uitmaken van onze voeding om gezond te blijven. Maar wie een min of meer normaal voedingspatroon heeft, hoeft deze supplementen niet te nemen.



Arthrospira is een bacterie die chlorofiel bevat, en die een spiraalvormige lichaamsbouw heeft.



Spirulina (Arthrospira plantensis) wordt gekweekt als voedingssupplement. Op de foto is de infrastructuur te zien voor culturen voor commercieel gebruik.

Supplement voor een astronautendieet

Het is echter veel moeilijker om astronauten in de ruimte te voorzien van gevarieerde voeding, en vooral van verse voedingswaren. Daarom is de nutriëntrijke *Arthrospira* (Spirulina) een interessante voedingsbron om te gebruiken in een gesloten levensonderhoudend systeem, waarin alle afvalstoffen van het astronautenteam (menselijk afval, absorberend papier, oneetbare plantendelen) terug worden omgezet in voedsel, zuurstof en zuiver water. Wanneer Spirulina gebruikt wordt in onderstaand klasexperiment over fotosynthese, wordt dan ook sterk aangeraden het Melissa onderzoek als inspirerende context te gebruiken.



Deze voedingsreep van ESA bevat Spirulina als supplement, en wordt door astronauten in het ISS gegeten.

Een voedingsbron met vele voordelen

Arthrospira wordt reeds vele jaren onderzocht als bron van voeding in de ruimte. De voordelen van dit organisme in een kunstmatig levensonderhoudend systeem vormen een lange lijst:

- Geenenkele Arthrospira soort bevat phycotoxines. Vergiftiging van de consument is uitgesloten.
- Ze zijn licht verteerbaar omdat ze een beperkte hoeveelheid DNA bevatten en een dunnere celwand hebben dan de meeste bacteriën en wieren.
- Ze zijn erg rijk aan proteïnen met essentiële aminozuren, koolwaterstoffen, en essentiële vetzuren (ook zeer interessant als supplement voor een vegetarisch dieet).
- Ze bevatten veel verschillende vitaminen, mineralen en anti-oxidantia.
- Ze hebben een zeer efficiënte O_2/CO_2 omzetting.
- Hun volledige biomassa is eetbaar, er gaat geen biomassa verloren in oneetbaar afval.
- Hun morfologie, anatomie en fysiologie is uitgebreid bestudeerd en bekend.

Het is dan ook logisch dat Arthrospira een zeer goede kandidaat vormt om bij te dragen aan het lichtgewicht, afval-arm en nutriëntrijk dieet van astronauten bij langer verblijf in de ruimte.

Melissa: geavanceerd recyclage-systeem

MELiSSA: Micro-Ecological life Support System Alternative

Een astronaut consumeert 3 kg water, 1 kg zuurstof en 1 kg voedsel per dag. Om zich te wassen en de leefmodule proper te houden is nog eens 25 kg water per dag nodig. Dergelijke hoeveelheden kunnen niet vanop Aarde meegenomen worden voor lange reizen. Daarom moet er efficiënt gerecycleerd worden, alvorens we naar Mars kunnen reizen.



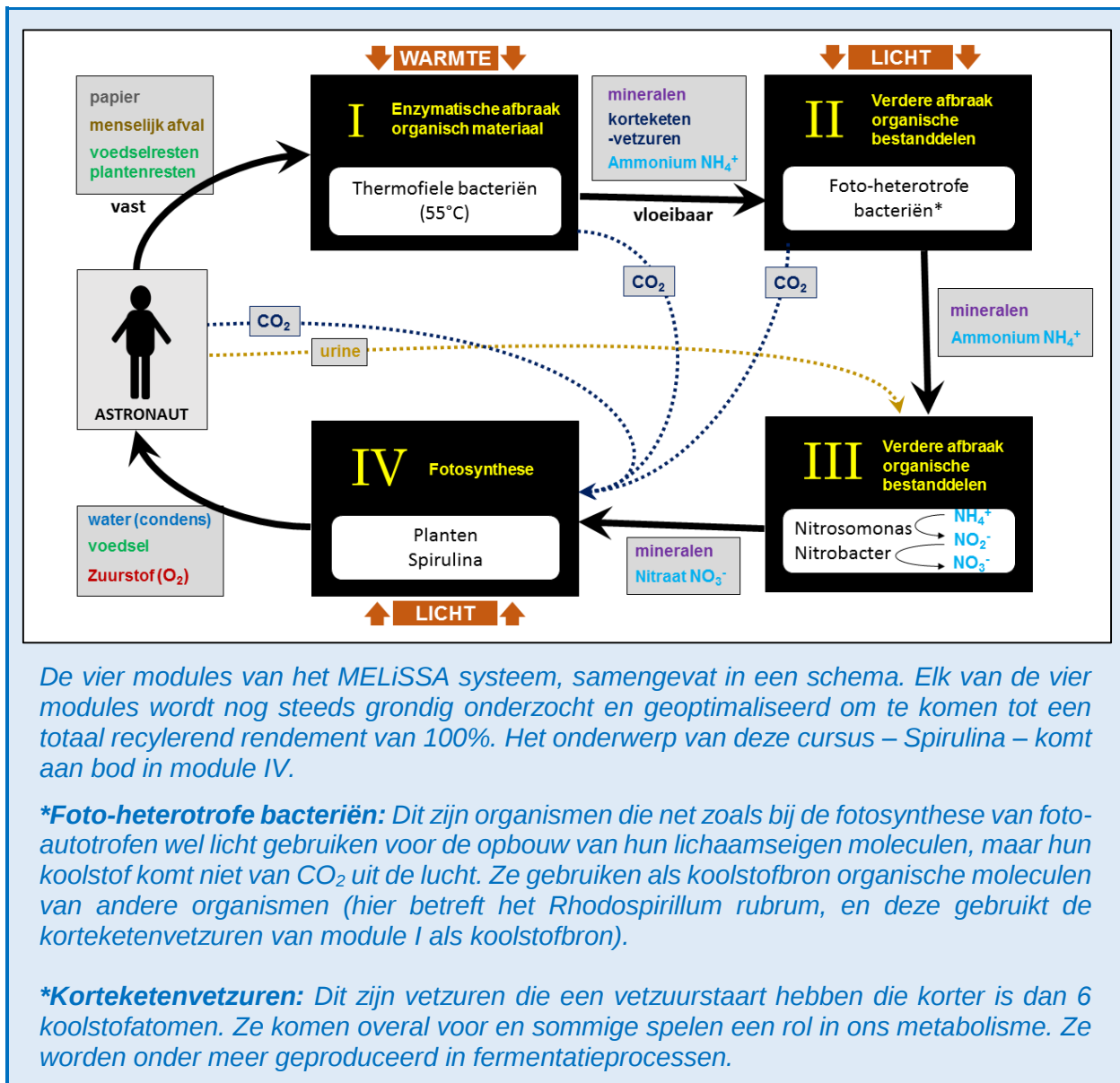
Het **MELiSSA** project werd door het Europese Ruimtevaart Agentschap ESA opgericht. Een internationaal consortium van onderzoeksinstituten werkt in dit project aan een gesloten levensonderhoudend systeem, waarin alle afvalstoffen aan boord van een ruimteschip of –basis terug worden omgezet in zuurstof, zuiver water, en voedsel. Net zoals het ecosysteem op aarde gaat geen materie verloren binnen dit systeem, en wordt er van buitenaf enkel energie aan toegevoegd. Het grootste deel van die materie bestaat uit volgende elementen:

- H (Waterstof)
- O (zuurstof)
- C (koolstof)
- N (stikstof)
- P (fosfor)

De toegevoegde energie komt van de zon.

Een kringloop in vijf stappen

Om alle afval volledig te recyclen tot voedsel, zuurstof en zuiver water, zijn meerdere stappen nodig. Het MELiSSA project zocht naar de kortst mogelijke procedure (het gehele systeem moet zo compact mogelijk zijn om mee te nemen in de ruimte), en kwam uit op een systeem met 4 essentiële stappen plus de consument-astronaut. Deze worden hieronder samengevat in een schema.



Het onderzoek binnen MELiSSA

Het samenvattend schema hierboven ziet er relatief eenvoudig uit, maar de uitdagingen voor de onderzoekers zijn nog steeds talrijk alvorens het compacte levensonderhoudend systeem in de ruimte (en op Aarde) kan gebruikt worden. Men onderzoekt onder meer:

- Het selecteren en verfijnen van essentiële biologische processen per module.
- Het verbeteren van het rendement per module.
- De effecten die de producten van elke module hebben op de daaropvolgende module.
- Het modelleren en maximaal controleren van de biologische processen van elke module.
- Beperkingen op vlak van sporen-elementen en eventuele sporadische giftige stoffen die zouden kunnen voorkomen in het systeem.
- Hoe efficiënt verloopt het systeem na langere tijd, blijft het even efficiënt, of moet er ingegrepen worden?
- Zijn de uiteindelijke producten voor de astronauten volledig betrouwbaar?
- Levert het systeem alle nodige producten op om comfortabel te leven in de ruimte? Is de opbrengst voldoende bevredigend voor de astronauten?

- Wat verandert er aan het systeem in gewichtloosheid?

Een volledige testopstelling met alle vier de modules is in gebruik in de universiteit van Barcelona. Men gebruikt als consument 40 ratten, die model staan voor 1 astronaut.

Belgische bijdrage

Een belangrijke Belgische partner in het MELiSSA onderzoek is het Studiecentrum voor Kernonderzoek (SCK•CEN) in Mol. Dit federaal Belgisch instituut bestudeert meerdere aspecten van de menselijke gezondheid in de ruimte. Het labo Microbiologie houdt zich onder meer bezig met het optimaliseren van het gebruik van Spirulina in het MELiSSA project.

Als u de klasexperimenten in deze cursus met Spirulina wilt uitvoeren, dan kan SCK•CEN u voorzien van een Spirulina inoculum en een groeimedium in poedervorm om in water op te lossen. In 2017 zullen deze leveringen gestandaardiseerd worden voor geïnteresseerde scholen uit het België. Neem contact op met ESERO Belgium om hierover geïnformeerd te worden.

DEEL 2

EXPERIMENT

“Effect van licht op fotosynthese”

1 Samenvatting

In dit klasexperiment zullen de leerlingen *Arthrospira platensis* ('Spirulina') culturen gebruiken om te testen welke invloed de lichtintensiteit en de golflengte van invallend licht hebben op de fotosynthese. Ze zullen indirect nagaan hoeveel CO₂ de organismen produceren door te kijken naar de kleurverandering van een zuurindicator. Om in de verschillende testbuisjes telkens dezelfde hoeveelheid *Arthrospira* cellen te stoppen, moeten de leerlingen macroscopische “Spirulina parels” maken, die allemaal even groot zijn, en op het zicht kunnen geteld worden.

Uitvoering van het experiment in vijf stappen

Stap 1

Maak Spirulina parels om de cellen macroscopisch te kunnen kwantificeren. Dit kan eenvoudig met oplossingen van Na-alginaat en CaCl₂.

Stap 2

Test het effect van lichtintensiteit door de testbuisjes met de celculturen en zuurindicator op verschillende afstanden te plaatsen van een lichtbron. Alle buisjes ontvangen hetzelfde licht (alle golflengtes), maar in verschillende hoeveelheid.

Stap 3

Test het effect van golflengte door de testbuisjes te bedekken met variërende kleurfilters. De lichtintensiteit is hierbij voor alle buisjes dezelfde (afstand tov de lamp is constant).

Stap 4

Bekijk hoe de kleur van de cultuur veranderd is in elk testbuisje. De kleurverandering is het gevolg van veranderde zuurtegraad, die zelf het gevolg is van veranderde concentraties CO₂.

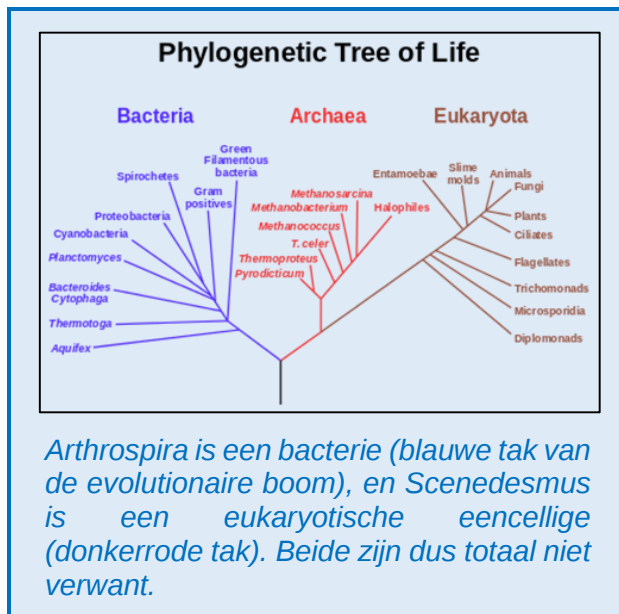
Stap 5

Maak een besluit.

Alternatief voor *Arthrospira platensis*

Arthrospira culturen geraken mogelijk beschadigd wanneer variaties optreden in temperatuur, zuurtegraad of chemische samenstelling van de vloeistof. Als men op school de stabiliteit van de cultuur niet kan garanderen, dan is het beter om een andere fotosynthetiserende eencellige te gebruiken. Een aanrader is bijvoorbeeld *Scenedesmus quadricauda*, een eencellig groenwier dat gemakkelijker te kweken is. Dit organisme is totaal verschillend van *Spirulina*. Het is een eukaryoot en geen bacterie, het is niet eetbaar, en het heeft niets te maken met

toepassingen in de ruimtevaart. Maar het kan wel dienen om onderstaande klasexperimenten uit te voeren zonder iets te wijzigen aan het experiment protocol of de verwachte uitkomsten.



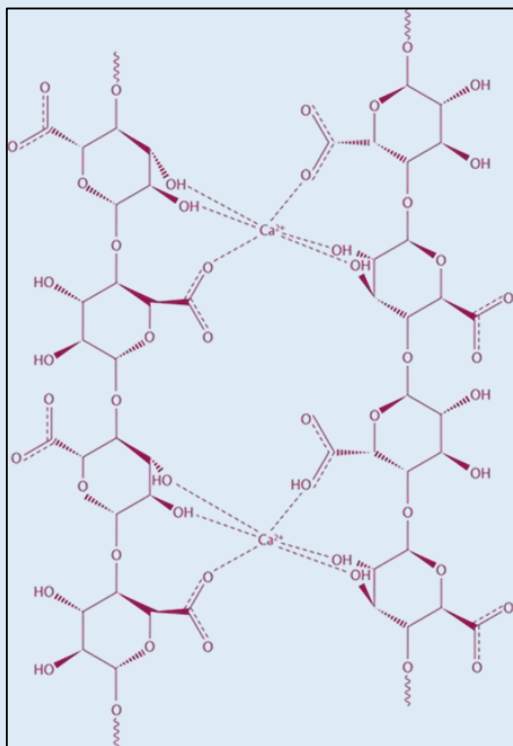
② Stap 1: Spirulinaparels maken

Principe

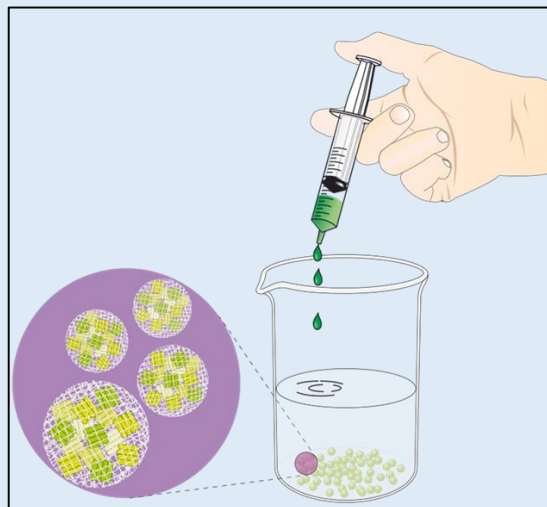
Van een vloeistof met geconcentreerde *Spirulina* cultuur worden gelijkmatig druppels uit een plastic spuit gedruppeld. Elke druppel zal een gelachtige "**Spirulina-parel**" worden wanneer deze zich mengt met een gelijke hoeveelheid Na-alginaat-oplossing. Omdat elke parel ongeveer even groot is, zullen ze ook allemaal ongeveer dezelfde hoeveelheid *Spirulina* cellen bevatten.

Deze parels bevatten grote hoeveelheden bacteriecellen, en laten toe om tijdens het experiment de cyanobacteriën **macroscopisch te quantificeren**. Het Na-alginaat is onschadelijk voor de levende cellen, en het fotosyntheseproces wordt er niet door beïnvloed.

De parels zijn heel gemakkelijk en goedkoop te maken. Men kan er honderden maken op korte tijd. Ze kunnen ook meerdere weken bewaard worden (zelfde omstandigheden als de losse *Spirulina* cellen), en dus gebruikt worden in latere experimenten.



Wanneer Ca-ionen toegevoegd worden aan het algiinaat, worden chemische kruisverbindingen gevormd.



De moleculaire structuur met kruisverbindingen is in staat om de Spirulina cellen 'op te sluiten' in een gelachtige druppel.

Voorbereidingen (door leerkracht)

Spirulina concentratie voorbereiden

- Giet zuiver water in een plastic fles van 2 liter (geen kraanwater, want dat bevat schadelijke chloor).
- Voeg 1,5 gram medium voor algen toe (gekocht medium of verkregen van SCK•CEN).
- Voeg de Spirulina cellen toe die je kreeg van het wetenschappelijk instituut.
- Sluit de fles af met een katoen- of schuimdop die niet absorberend is.
- Zet de cultuur nabij een constante warmtebron (lamp), op een afstand waar de omgevingstemperatuur ongeveer 25-30°C is en blijft.
- Laat de cultuur groeien gedurende 3 tot 4 weken
- Centrifugeer 50 ml van deze cultuur 5 minuten op lage snelheid of suspension.
- Giet de vloeistof aan de oppervlakte weg.
- Doe nu van de overblijvende geconcentreerde cultuur telkens 2 ml in een plastic spuit (1 x 2 ml per leerlingengroep)

CaCl₂ oplossing voorbereiden

- Los 15 gram CaCl₂ op in 1 liter gedestilleerd water.
- Verdeel deze oplossing over flessen van 50 ml voor elk leerlingengroepje.

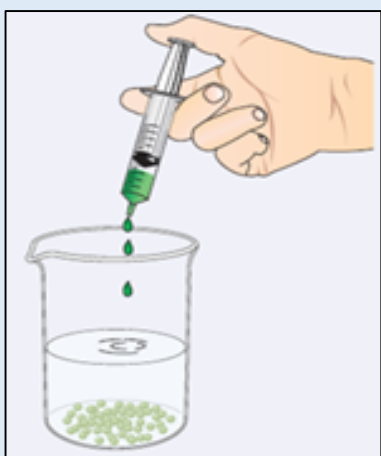
Let op: Vermijd oog- of huidcontact met zuiver CaCl₂, en adem het stof niet in. De 1,5% oplossing is volledig ongevaarlijk.

Na-Alginaat-oplossing voorbereiden

- Los 25 gram Na-alginaat poeder op in 1 liter gedestilleerd water om een 2,5% oplossing te bekomen.
- Meng de oplossing goed met een magnetische roerder. Hiervoor dient de roerder een hele nacht actief te blijven.
- Een goed geslaagde alginaatoplossing moet vloeibaar genoeg zijn om traag uit te kunnen gieten. Aangezien het alginaat een natuurlijk product is, kunnen de gel-eigenschappen variëren. Test daarom vooraf of je oplossing een goede viscositeit heeft. Verwarm de oplossing niet, want dan zal de gel minder sterk zijn.
- De oplossing kan tot 2 weken bewaard worden op 4°C in een afgesloten fles.
- Maak voor elk leerlingengroepje een flesje met 2 ml Na-alginaat-oplossing.

Parels aanmaken (door leerlingen)

1. Spuit de 2 ml geconcentreerde Spirulina cultuur in het flesje met 2 ml Na-alginaat-oplossing.
2. Roer dit mengsel (4 ml) voorzichtig met de punt van de plastic spuit, totdat alle bacteriën gelijkmatig verdeeld zijn.
3. Zuig de 4 ml van het mengsel terug op met de spuit.
4. Laat nu voorzichtig en gelijkmatig druppels uit de spuit vallen in de beker met 50 ml CaCl_2 . Soms moet men de beker heel lichtjes schudden om te voorkomen dat er parels aan mekaar blijven hangen.
5. Laat de parels die zich vormen minstens 10 minuten rusten in de CaCl_2 oplossing, waardoor ze zich verstevigen.
6. Giet het geheel in de plastic zeef. Was de parels die in de zeef liggen minstens een minuut, om alle CaCl_2 eraf te spoelen. De CaCl_2 oplossing moet grondig verwijderd worden, anders zal deze het resultaat van het experiment onjuist beïnvloeden (de ionen veranderen de kleur van de gebruikte zuurindicator).
7. Leg de zeef op absorberend keukenpapier, zodat de parels niet meer vochtig zijn.



Elke druppel bacteriecultuur die in de Ca-oplossing valt, vormt meteen een parel.



Het grondig afspoelen van de CaCl_2 -oplossing is cruciaal, om het eindresultaat van het experiment niet te beïnvloeden.

③ Stap 2: effect van lichtintensiteit

Principe

Verschillende testbuisjes met een vast aantal Spirulina parels worden op verschillende afstanden van een lichtbron geplaatst. Op die manier kan de fotosynthetische groei vergeleken worden bij verschillende hoeveelheden invallend licht (stap 4).

In stappen 2 en 3 wordt de zuurindicator toegevoegd aan de testbuisjes. Deze moet echter vooraf gemaakt worden door de leraar.

Stappen 2 en 3 worden gelijktijdig uitgevoerd door de leerlingengroepjes.

Waterstof carbonaat zuurindicator

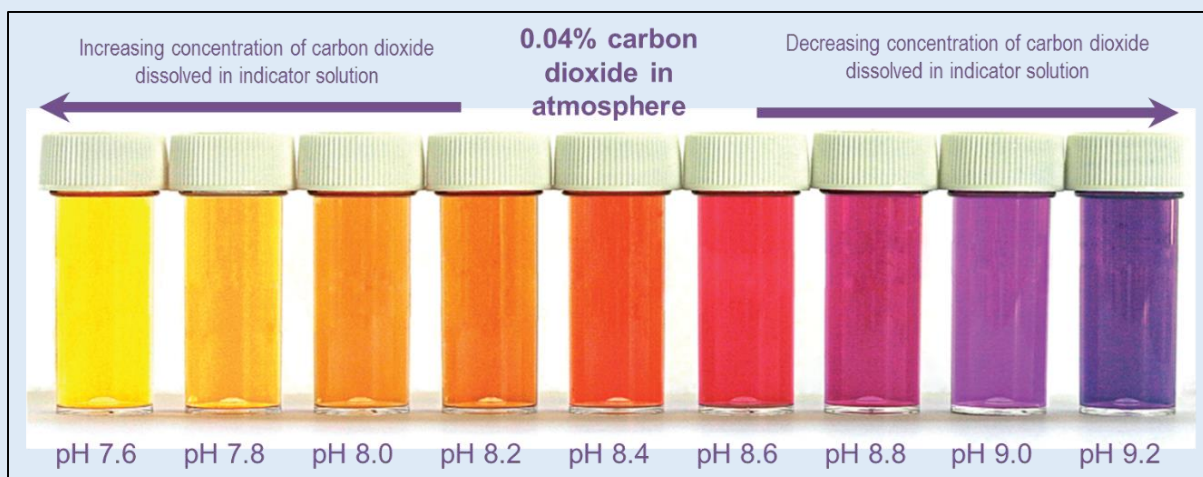
Beschrijving van de waterstof carbonaat indicator oplossing

Een bicarbonaat of waterstof carbonaat indicator is een type pH indicator die gevoelig genoeg is om elke verandering van de concentratie CO_2 in een waterige oplossing te tonen met een kleurverandering. Deze indicator wordt dikwijls gebruikt in fotosynthese en respiratie experimenten om te weten of CO_2 vrijkomt of niet.

De kleurveranderingen worden hieronder weergegeven in de figuur. Een CO_2 concentratie van 0,04% (indicator kleur oranje-rood) wordt als standaard waarde beschouwd in ons alledaagse omgeving hier op Aarde. Wanneer de concentratie CO_2 toeneemt, dan lost deze op in het water, en wordt de oplossing lichtjes zuurder (lagere pH). De CO_2 wordt in de oplossing immers omgezet in carbonzuur. In dat geval verandert de kleur naar geel. Wanneer de concentratie CO_2 verlaagt, dan wordt de oplossing meer alkalisch (hogere pH), en verandert de kleur naar paars en blauw.

Om te verzekeren dat de indicatoroplossing de standaard CO_2 concentratie van 0,04% bevat, moet nieuw aangemaakte indicator uitvoerig in contact gekomen zijn met de omgevingslucht.

Deze indicator is gevoelig voor elke beïnvloeding van de pH, dus niet alleen door carbonzuur. Daarom is het belangrijk zorgvuldig te werk te gaan, zodat geen andere stoffen in het mengsel komen die de kleurverandering kunnen beïnvloeden.



Als fotosynthese sneller plaatsvindt dan respiratie, dan daalt de concentratie CO_2 . De kleur verandert dan van rood naar paars.

Als respiratie sneller plaatsvindt dan fotosynthese, dan stijgt de concentratie CO_2 . De kleur verandert dan van rood naar oranje en geel.

Hoewel de concentratie O_2 zal toenemen door fotosynthese, mag men niet zomaar besluiten dat een verkleuring naar paars een indicatie is voor toename van zuurstof. De kleurverandering zegt strikt genomen enkel iets over de pH (in dit geval beïnvloed door carbonzuur).

Bereiding van de waterstof carbonaat indicator oplossing

- Werk nauwkeurig en vermijd elke contaminatie met stof of andere vloeistoffen om de finale kleur van de indicator niet foutief te beïnvloeden.

Basisoplossing:

- Los 0,2 gram thymolblauw en 0,1 gram creosolrood op in 20 ml ethanol.
- Los 0,85 gram NaHCO_3 (Analar) op in 900 ml gedestilleerd water.
- Meng beide oplossingen in een maatfles van 1 liter, en vul bij met gedestilleerd water tot exact 1 liter.

Werkoplossing voor het experiment:

- Breng met een pipet 25 ml van de basisoplossing in een maatfles van 250 ml.
- Vul deze fles bij met gedestilleerd water tot exact 250 ml.
- Blaas met een aquariumpomp gedurende aanzienlijke tijd buitenlucht door de werkoplossing, totdat de kleur van de oplossing dieprood is (in de 250 ml fles) of oranje-rood (in een testbuisje van 16 mm). Dit geeft aan dat de standaard concentratie van 0,04% CO_2 bereikt is. Gebruik lucht van buiten, want in het labo kan de CO_2 concentratie hoger liggen.
- Maak testflesjes van 15 ml werkoplossing per leerlingengroep.

Opstelling van de test

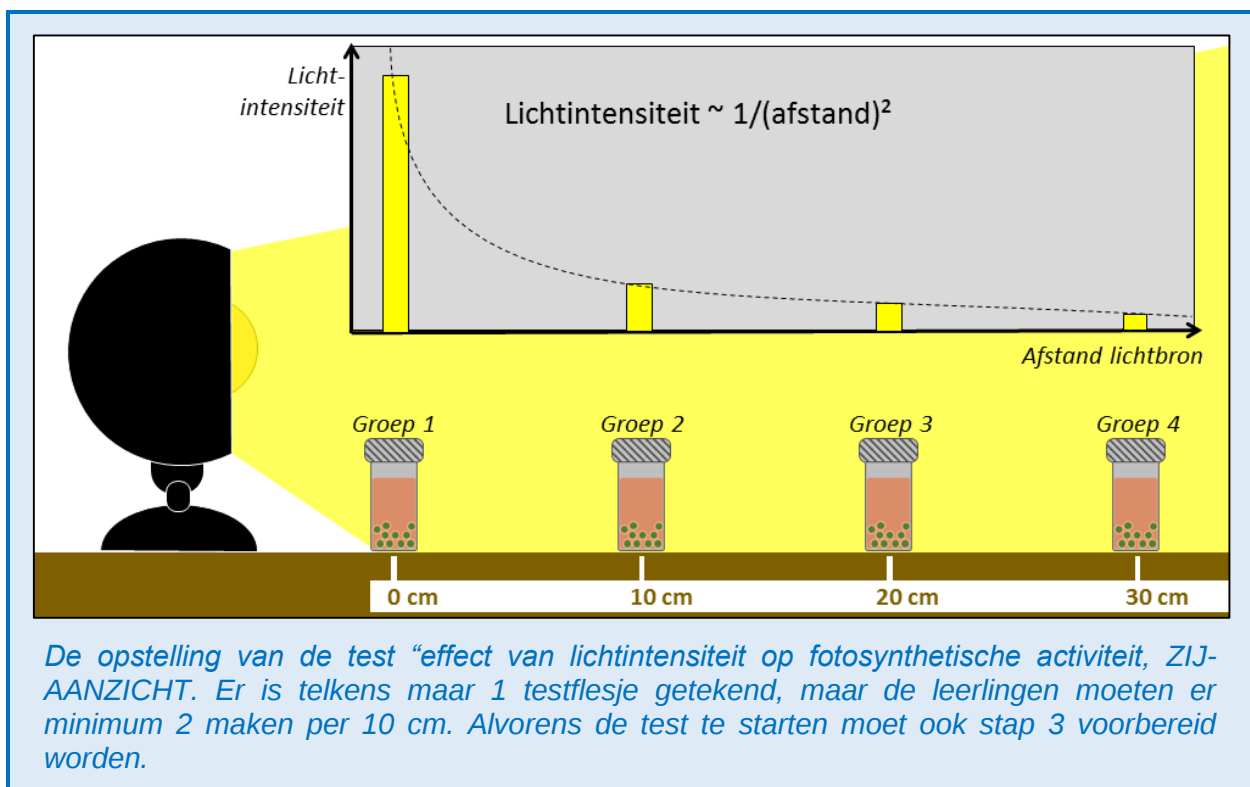
De locatie

- De ruimte waarin de test plaatsvindt, is best een verduisterde ruimte, zodat omgevingslicht de testen niet beïnvloedt.

- Blijf rekening houden met de ideale temperatuur van 25°C die voor de Spirulina cellen van belang is. Een lagere temperatuur schaadt de culturen meer dan een hogere.
- Er moet een stopcontact zijn voor de lamp en een stabiele tafel.

De opstelling

- Maak eerst een foto van de buisjes met indicatorvloeistof voordat de test begint (om later te vergelijken met buisjes waarin Spirulina gezeten heeft).
- Laat vier leerlingengroepjes telkens 2 dezelfde testflessen maken met:
 - 15 ml indicatorvloeistof
 - 10 Spirulina parels (voorzichtig toevoegen)
- Label alle flesjes als volgt (2 flesjes per groep):
 - Groep 1: controle (0 cm)
 - Groep 2: 10 cm
 - Groep 3: 20 cm
 - Groep 4: 30 cm
- Plaats de testflesjes op vaste afstanden van de lamp, zoals aangegeven op de figuur. Groep 1 is de zogenaamde “controle”, waarbij het licht van lamp volledig beschikbaar is.
- Meet eventueel vooraf de lichtintensiteit op de gegeven afstanden, en noteer deze. Wanneer op school geen lichtmeter voorhanden is, kan men gebruik maken van een smartphone met een app voor het meten van licht (eenvoudig online te vinden). Als er moet gekozen worden bij welke golflengte de intensiteit gemeten wordt, kies dan de standaard golflengte van +/- 550 nm (groen-geel).
- Laat deze opstelling 2 uur staan. Na twee uur moet iemand de resulterende kleuren van de vloeistoffen bekijken en fotograferen (stap 4).



De afstanden hierboven opgegeven zijn best toepasbaar bij **halogeenlampen**. Wanneer men een energiebesparende **fluorescentielamp** gebruikt, dan moeten de afstanden korter zijn (de lichtintensiteit verlaagt meer over dezelfde afstand).

In het ideale geval zal de leraar vooraf de lichtintensiteiten meten om de ideale afstanden voor de test te bepalen.

4 Stap 3: effect van golflengte

Principe

Verschillende testbuisjes met een vast aantal Spirulina parels worden bij de lichtbron geplaatst. Elk buisje is bedekt met een andere **kleurfilter**. Op die manier kan de fotosynthetische groei vergeleken worden bij verschillende golflengtes van invallend licht (in stap 4).

Zichtbaar licht kan opgedeeld worden in klassen van golflengten als volgt:

- 400 nm – 510 nm: **blauw**
- 510 nm – 555 nm: **groen**
- 555 nm – 750 nm: **rood**

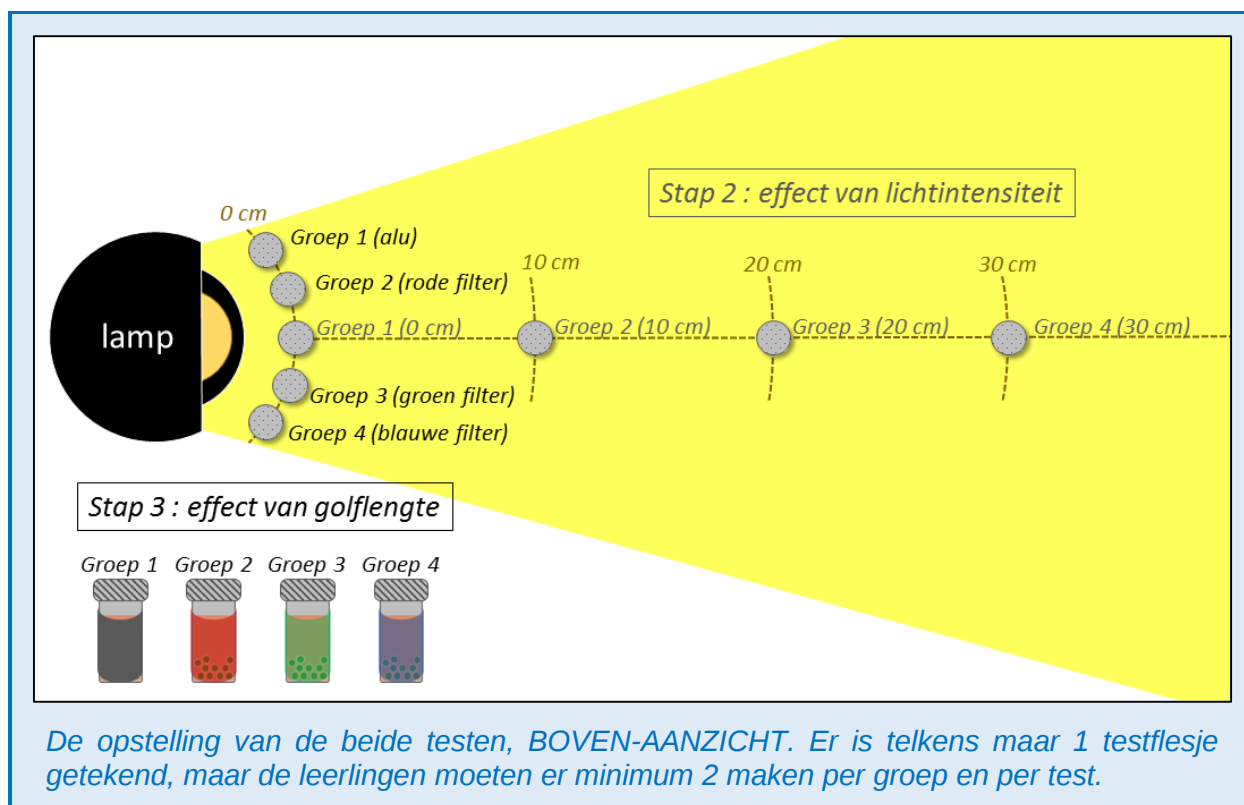
Planten zijn meestal groen, wat betekent dat ze groen licht reflecteren (niet absorberen), en dus niet gebruiken voor fotosynthese. De meeste planten gebruiken voornamelijk rood en blauw licht, maar dit varieert van soort tot soort, en hangt af van de omgeving waarin de soort groeit. In deze test gaan we na welke golflengte Spirulina prefereert.

Opstelling van de test

In stappen 2 en 3 wordt de zuurindicator toegevoegd aan de testbuisjes. De bereiding van deze indicator wordt beschreven onder stap 2, hierboven.

Stappen 2 en 3 worden gelijktijdig uitgevoerd door de leerlingengroepjes.

- Laat vier leerlingengroepjes telkens 2 dezelfde testflessen maken met:
 - 15 ml indicatorvloeistof
 - 10 Spirulina parels (voorzichtig toevoegen)
- Bedek de flesjes volledig met een kleurfilter als volgt (2 flesjes per groep, zorg dat de filter alle doorzichtige delen afdekt):
 - Groep 1: controle (aluminium folie, geen licht)
 - Groep 2: rode filter
 - Groep 3: groene filter
 - Groep 4: blauwe filter
- Plaats de testflesjes vlakbij de lamp (afstand = "0 cm"), zoals aangegeven op de figuur. Groep 1 is de zogenaamde "controle", waarbij geen licht invalt. bij de andere groepen geeft de kleur van de filter aan welke golflengte er niet binnenkomt. Bijvoorbeeld: het flesje met de rode filter krijgt wel blauw en groen licht binnen, maar geen rood licht.
- Laat deze opstelling 2 uur staan. Na twee uur moet iemand de resulterende kleuren van de vloeistoffen bekijken en fotograferen (stap 4).



5 Stap 4: Resultaat bekijken

Waarnemingen

Bekijk hoe de kleur van de cultuur veranderd is in elk testbuisje. De kleurverandering is het gevolg van veranderde zuurtegraad, die zelf het gevolg is van veranderde concentraties CO_2 .

- Na 2 uren, verwijder de kleurfilters, maar zorg dat alle flesjes gelabeld zijn, zodat duidelijk is welke kleurfilter op welk flesje zat.
- Noteer de kleur van elk flesje
- Maak foto's van elk flesje waarop tegelijk de kleur van de vloeistof en het label goed zichtbaar zijn.
- Schrijf op je waarnemingstabel naast elk flesje met welke pH de indicator kleur overeen komt.
- Vraag aan de leerlingen om alle data in grafieken te verwerken, en een volledig verslag te maken met toegevoegde foto's van de resultaten.

Hieronder staan enkele foto's genomen tijdens de ESA Summerschool van juli 2016.



Testbuisje vóór de start van de test: kersen-rood (pH 8,4 - CO₂ uit de lucht opgelost tot 0,04%).



Testbuisje dat afgesloten werd van het licht ('donkere filter'): geel (pH 8,0 – meer CO₂ vanwege respiratie).



Testbuisje dat maximaal licht kreeg (0 cm, zonder filter): paars (pH 9,2 – minder CO₂ vanwege fotosynthese).

Waarnemingstabellen

Voor het effect van lichtintensiteit

Groep	Fles	Licht-intensiteit	Kleur indicator	pH	Opmerkingen/foto's
1 (0 cm, controle)	1				
	2				
2 (10 cm)	1				
	2				
3 (20 cm)	1				
	2				
4 (30 cm)	1				
	2				

Voor het effect van golflengte

Groep	Fles	Ontvangen licht	Kleur indicator	pH	Opmerkingen/foto's
1 (alu, controle)	1	Geen			
	2	Geen			
2 (roodfilter)	1	Blauw, groen			
	2	Blauw, groen			
3 (groenfilter)	1	Blauw, rood			
	2	Blauw, rood			
4 (blauwfilter)	1	Groen, rood			
	2	Groen, rood			

6 Stap 5: Besluit

Algemene conclusies

Zoals gebruikelijk bij wetenschappelijke experimenten, moeten leerlingen een volledig verslag maken waarbij volgende zaken opgenomen zijn:

- Situering en onderzoeksvraag
- Materiaal en methoden
- Resultaten en foto's
- Discussie

Onder "Discussie" moet **minimaal** het **besluit** genomen worden dat:

- De kleurverandering verloopt steeds trager naarmate de afstand ten opzichte van de lamp toeneemt: het fotosynthese proces vertraagt door een steeds lagere lichtintensiteit (verduidelijk met cijfermateriaal en grafieken)
- Wanneer blauw of rood licht weggefilterd worden, zal het fotosynthese proces vertagen. In deze flesjes wordt minder CO₂ verbruikt, en verloopt de kleurverandering dus trager (verduidelijk met cijfermateriaal en grafieken).
- Wanneer het fotosynthese proces in grote mate vertraagd of gestopt wordt, dan vermindert de CO₂ concentratie omdat de levende cellen aan respiratie doen.

Extra vragen voor een verdiepende discussie met leerlingen

- Waarom is het nuttig de Spirulina cellen te immobiliseren in parels?
- Waarom moesten we in elk fleje evenveel parels doen?
- Doe 5 ml van de indicatorvloeistof in een klein flesje. Blaas met een rietje bubbels uitgedemde lucht in de vloeistof. Je ziet de kleur veranderen. Hoe verklaar je dit?
- Leg de rol van de filters uit. Welk licht komt in de flesjes binnen.
- Welke andere variabelen zouden we kunnen testen op het fotosynthese proces?
- Wat is het belang van jouw besluit voor de astronauten die Spirulina willen kweken in de ruimte?

7 Lijst van gebruikte materialen

Stap 1: Cultuur maken

Voorwerp	Aantal of hoeveelheid	Opmerkingen
Gedestilleerd water	2 liter	
Groeimedium	1,5 gram	Te leveren door SCK•CEN (zie ook bijlage)
Arthrospira inoculum	1	Te leveren door SCK•CEN (minstens een maand tijd rekenen om te kweken en leveren)
Plastic fles, 2 liter	1	
Afsluitdop voor plastic fles	1	Schuimdop of katoendop, niet-absorberend
Lamp	1	Als warmtebron (25-30°C) en lichtbron (5-50 kLux)
Centrifuge	1	Voor 50 ml
Plastic spuit 5 ml	1/In-groep	

Stap 1: CaCl_2 olossing

Voorwerp	Aantal of hoeveelheid	Opmerkingen
Gedestilleerd water	1 liter	
CaCl_2	15 gram	
Fles van 100 ml	1/In-groep	

Stap 1: Na-alginaat olossing

Voorwerp	Aantal of hoeveelheid	Opmerkingen
Gedestilleerd water	1 liter	
Na-alginaat	25 gram	
Magnetische roerder	1	
ijskast	1	
Fles van >2 ml	1/In-groep	

Stap 1: Parels

Voorwerp	Aantal of hoeveelheid	Opmerkingen
keukenpapier	1 rol	
Spuutfles met gedestilleerd water	1/In-groep	Om te spoelen
Plastic zeefje	1/In-groep	

Stap 1: H_2CO_3 -zuurindicator (indien je die zelf maakt)

Voorwerp	Aantal of hoeveelheid	Opmerkingen
thymolblauw	0,2 gram	
creosolrood	0,1 gram	
Gedestilleerd water	1 liter	
Maatfles 1 liter	1	
Maatfles 250 ml	1	
pipet	1	Minimum 25 ml
testbuisje	1	Diameter 16 mm (niet meer en niet minder)
Flesje 15 ml	1/In-groep	

Stap 2+3: Proefopstellingen

Voorwerp	Aantal of hoeveelheid	Opmerkingen
Foto-apparaat	1/In-groep	
Testflesje met schroefdop, >20 ml)	2/In-groep	plastic
Labels	2/In-groep	Etiketten om op de testflesjes te plakken.
Lamp	1	Zelfde lamp als in stap 1
Lichtmeter	1	Dit is optioneel. Een lichtmeter-app op een smartphone kan volstaan.
Flexibele kleurfilters	2 per kleur	Deze filters moeten rond de testbuisjes, waarbij de transparante delen van de flesjes volledig bedekt zijn. Rood + blauw + groen + aluminiumfolie.
Meetlat	1	Om afstanden tot 30 cm uit te zetten.

Stap 4+5: Dataverwerking

Voorwerp	Aantal of hoeveelheid	Opmerkingen
Waarnemings- tabellen	1/In-groep	Afgedrukt op papier of digitaal, te gebruiken net naast de proefopstelling.
Kleurschema zuurindicator	1	Afgedrukt of digitaal, zichtbaar net naast de proefopstelling.

DEEL 3

EXPERIMENT

“Food from Spirulina”

1 Samenvatting

In de klas wordt in 2 transparante vaten *Arthrospira platensis* gekweekt nabij een lichtbron. In één van de vaten wordt bicarbonaat toegevoegd. Dit is een koolstofbron, die in natuurlijke situaties voorzien wordt door CO₂. Na enkele dagen zien de leerlingen het medium donkerder groen worden, omdat het aantal cellen toeneemt. Uiteindelijk wordt de biomassa en het volume vrijgekomen zuurstof (O₂) gemeten om de fotosynthetische groei van beide vaten te kwantificeren.

Uitvoering van het experiment in 4 stappen

Stap 1

Een proefopstelling wordt voorbereid met 2 cultuurflessen en een opvangsysteem voor zuurstof naast een warmte- en lichtbron.

Stap 2

Het experiment wordt opgestart door de *Arthrospira* cellen en het groeimedium toe te voegen aan de cultuurflessen, en deze te plaatsen in de proefopstelling in zijn finale vorm.

Stap 3

Dagelijkse waarnemingen/metingen worden genoteerd in waarnemingstabellen, gedurende een week.

Stap 4

Einde van het experiment: eindwaarnemingen van geproduceerde biomassa en zuurstof + besluit.

2 Stap 1: voorbereidende opstellingen

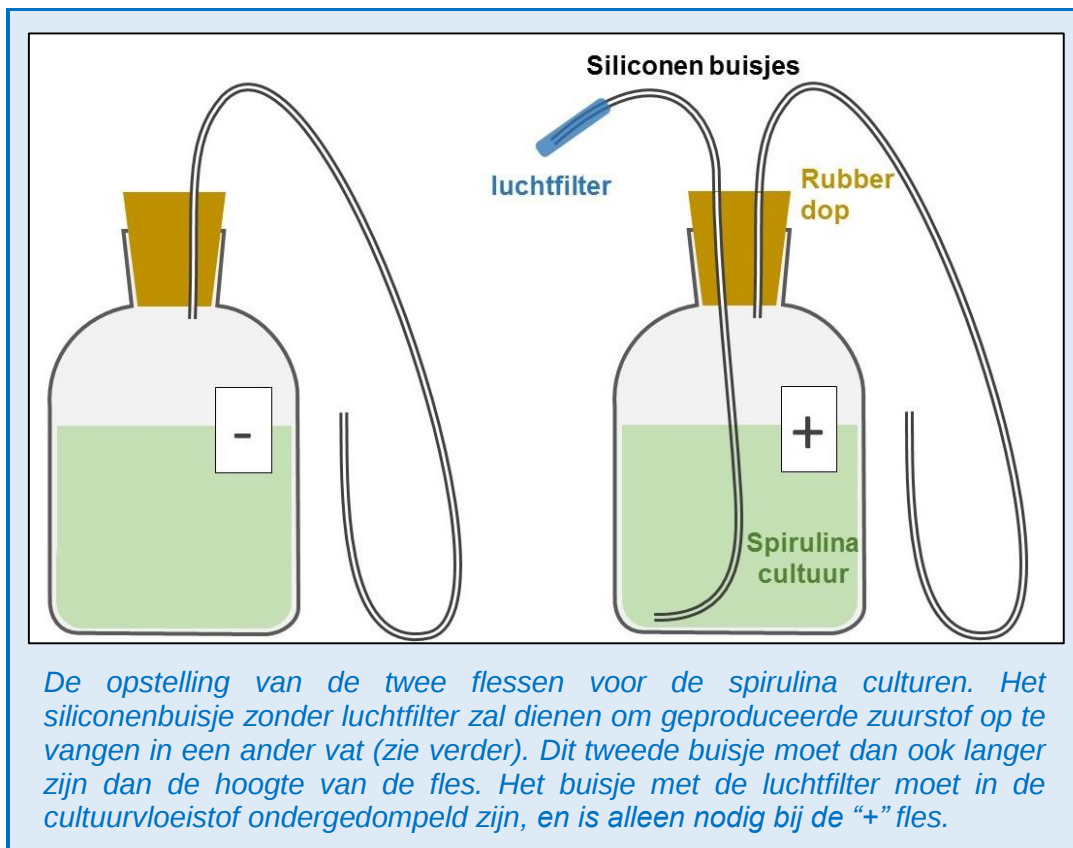
Opstelling met de lamp

- Kies een stabiele locatie waar de *Spirulina* culturen enkele dagen lang continu in het licht en de warmte van een lamp kunnen staan. Blijf uit de buurt van een raam of andere elementen die de omgevingstemperatuur beïnvloeden.
- Zet de lamp aan gedurende 30 minuten, en meet de temperatuur op verschillende afstanden van de lamp. Duid de afstanden aan op tafel waar de temperatuur 30°C is en waar de temperatuur 40°C is. Tussen deze twee aanduidingen zal de *Spirulina* cultuur gezet worden tijdens het experiment.

- Meet de lichtintensiteit op de plaatsen waar de Spirulina culturen zullen geplaatst worden, en zet ze uit op een grafiek (lichtintensiteit ivf afstand). We adviseren een lamp te gebruiken waarbij de lichtintensiteit op de gebruikte afstanden tussen 5 en 50 kilolux bedraagt. Teveel en te weinig licht zal de cultuur beschadigen.

De flessen voor de celculturen

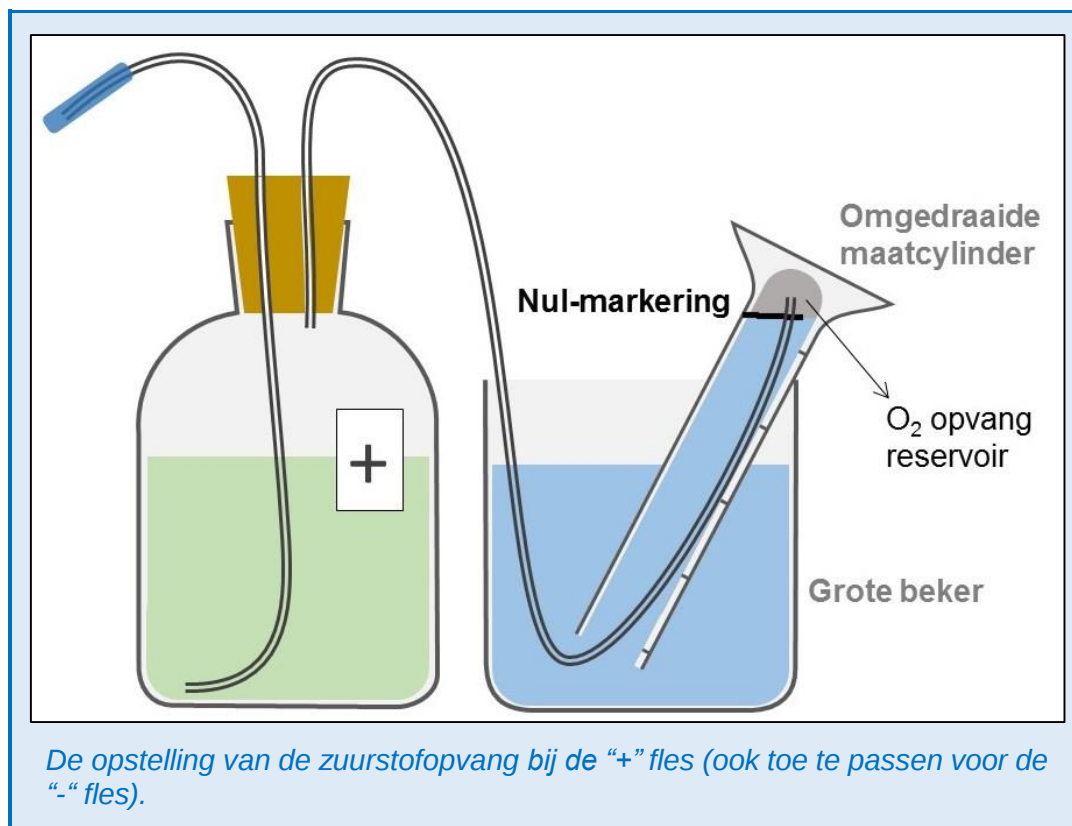
- Gebruik voor de culturen 2 gelijke glazen flessen, waarin een brede, konische, rubber afsluitdop past. Kies bij voorkeur voor flessen met een vorm waarin de celculturen maximaal belicht zijn (grote verhouding oppervlakte/Volume)
- Doorboor de rubber dop van de “+” fles (2 gaten) en steek in er 2 siliconenbuisjes doorheen.
- Doorboor de rubber dop van de “-” fles (1 gat) en steek er 1 siliconenbuisje doorheen.
- Zet op 1 van de buisjes aan de buitenkant van de “+” fles een kleine luchtfilter. Die zal gebruikt worden om erin te blazen, zodat uitgedemde CO₂ in de cultuur terecht komt.
- Schrijf een “+” op de ene fles, en een “-” op de andere (voor de cultuur met en zonder toegevoegde bicarbonaat)



Het opvangen van zuurstof

- Pas de onderstaande procedure twee keer toe, één keer voor de “+” fles en één keer voor de “-” fles.
- Vul een grote beker voor ongeveer $\frac{3}{4}$ met kraantjeswater.
- Vul een maatcilinder van 500 ml volledig met kraantjeswater.
- Draai de gevulde maatcilinder snel om in de grote beker.
- Duw het lange siliconenbuisje (zonder luchtfilter) doorheen het water in de omgekeerde maatcilinder.

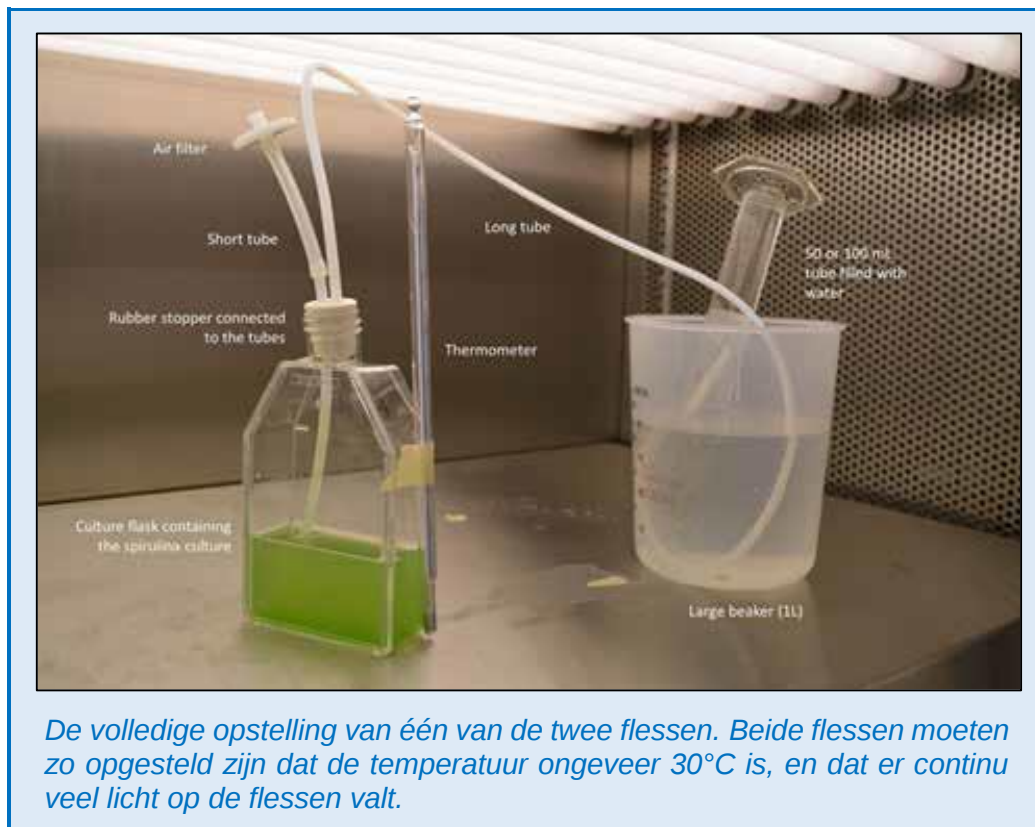
- Als er een beetje lucht in de maatcilinder zit, markeer de stand van het water dan met een streepje en het label "0". Dit is de beginstand van het water alvorens er enige zuurstof geproduceerd wordt.



3 Stap 2: starten van het experiment

De cultuurflessen vullen met Spirulina en groeimedium

- Doe 100 ml zuiver water in beide cultuurflessen (alles op kamertemperatuur). Gebruik geen kraantjeswater, want dat bevat schadelijke chloor.
- Giet in de "+" fles het poedervormig medium met bicarbonaat in het water (het zakje poeder met een "+" erop).
- Giet in de "-" fles het poedervormig medium zonder bicarbonaat in het water (het zakje poeder met een "-" erop).
- Voeg aan beide flessen het Spirulina inoculum toe uit het Eppendorfje. Mogelijks moet je met je vinger tegen het buisje klikken om alles eruit te halen.
- Sluit de "-" fles en beweeg ze draaiend totdat het poeder helemaal opgelost is.
- Laat een leerling via de luchtfilter in de "+" fles blazen terwijl deze fles nog open is (uitgeademende CO₂ toevoegen). Sluit dan de "+" fles af met de rubber dop met flexbuisjes.
- Breng de flexbuisjes op hun plaats om zuurstof op te vangen. Zet beide flessen dicht bij elkaar en nabij de lamp. Hang een thermometer aan de zijkant van elke fles. Het experiment is nu gestart.



④ Stap 3: Dagelijkse waarnemingen

Duur van het experiment

Het experiment zal na het opstarten **drie fasen** vertonen:

1. De eerste dagen na de opstart (grootte-orde 5 dagen) zal er weinig of geen verandering merkbaar zijn. Dit is de zogenaamde **“lag phase”** of aanvangsfase. Omdat het Spirulina inoculum verdund werd, duurt het een tijd vooralleer er genoeg cellen zijn om zichtbare veranderingen teweeg te brengen. De toename van aantal cellen is eerder traag.
2. Wanneer de zuurstofproductie zichtbaar begonnen is (als het waterniveau in het opvangsysteem omlaag gaat), dan is de **groeifase** begonnen. Het aantal cellen neemt nu snel toe. De cultuur wordt duidelijk donkerder groen. Dit duurt ook enkele dagen.
3. Uiteindelijk is de cultuur op zijn **maximum** geraakt, en is er nog weinig verandering zichtbaar. Mogelijks beginnen nu andere organismen in de cultuur te groeien, zoals schimmels.

Het is de bedoeling dat elke dag metingen gedaan worden, foto's gemaakt worden, en waarnemingstabellen worden ingevuld. Probeer het experiment bij het begin van de derde fase te beëindigen. Het totale experiment zal niet langer dan 2 weken duren.

Waarnemingen en opvolging

- Maak elke dag dezelfde foto van de culturen. Zorg dat de kleur goed zichtbaar is, met telkens dezelfde lichtinval. Bewaar de foto's met een bestandsnaam waarin de datum voorkomt.

- Beweeg de cultuurflessen 1 keer per dag zachtjes al ronddraaiend om de cellen terug in de cultuur te verspreiden.
- Noteer de stand van de zuurstofvanger elke dag voor de “-” en de “+” fles en de temperaturen dagelijks in de waarnemingstabel.
- Beëindig het experiment meteen zodra er schimmels groeien of andere bacteriën. Je kan dit zien aan een plotselinge verandering van de kleur van de cultuur, of een plotse snelle toename van opgevangen gassen in de zuurstofvanger.

Waarnemingstabel

Dag	T “-“ (°C)	T “+“ (°C)	Gasniveau “-“	Gasniveau “+“	Opmerkingen/ foto's
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					

5 Stap 4: Eindwaarnemingen en besluit

Zuurstoftest

We gaan ervan uit dat het opgevangen gas zuurstof is, geproduceerd via fotosynthese. Een heel eenvoudige test toont dit aan:

- Sluit de opening van de maatcilinder af terwijl die nog omgekeerd in het water zit, door hem eerst lichtjes omhoog te heffen.
- Als de cilinder goed afgesloten is, draai hem dan om en haal hem uit de beker met water.
- Neem een houten stokje waarvan je het uiteinde doet gloeien door het eventjes in een vlam te houden.
- Breng het gloeiend stokje in het gas in de cilinder onmiddellijk nadat je deze opent.
- Het stokje zal harder beginnen gloeien vanwege de aanwezigheid van zuurstof.
- Neem bij voorkeur een foto of videoopname hiervan om toe te voegen aan het verslag met resultaten.

Biomassa productie

In de ruimte willen we Spirulina kweken voor de zuurstofproductie, maar ook als voedselbron. We moeten nagaan hoeveel voedsel (biomassa) er geproduceerd werd.

- Leg een vers papierfilter op een weegschaal die kan meten in μ gram, en noteer de massa.
- Filter de Spirulinacultuur door deze langzaam in een trechter met de papierfilter te gieten. Probeer hierbij de Spirulina suspensie zoveel mogelijk in het midden van de filter te houden.

- Laat de papierfilter drogen zonder extra te verwarmen (ongeveer 4 dagen). De Spirulina moet echt helemaal droog zijn, zodat je geen extra massa van water gaat meten.
- Weeg de papierfilter met gedroogde Spirulina. Trek van deze massa de eerder gemeten massa af van de propere papierfilter. Dit verschil geeft je de oogst in biomassa.

Dit klasexperiment werd bij ESA getest in 2015. Het oorspronkelijk Spirulina inoculum bevatte ongeveer een biomassa van **10 µg**. Na het experiment werden biomassa's gemeten in de grootte-orde van **100 µg**.

De hoeveelheid geoogste biomassa is klein, ook in de echte levensonderhoudende systemen van MELiSSA voor ruimtevaart. Spirulina heeft als voedselbron in de ruimte vooral **voedingswaarde** omdat er een hoge concentratie proteïnen, essentiële vetzuren en essentiële aminozuren in zit. De grotere massa voedsel wordt geleverd door gekweekte planten.

Let op: **eet de geoogste Spirulina van het klasexperiment niet op**. Deze bacteriën zijn in het experiment gekweekt zonder rekening te houden met voedselveiligheid, en er kunnen mogelijks andere (schadelijke) organismen in terecht komen.

Verslag

- Maak een digitaal verslag met alle foto's en alle data.
- Zet de gemeten data uit in grafieken en leg de foto's op een rij om de evolutie van de kleur van de cultuur te zien.
- Bespreek de resultaten, maak een besluit over de fotosynthetische groei van Spirulina.
- Denk na over de relevantie van je resultaten voor het levensonderhoudens systeem in een ruimteschip of maanbasis.

6 Lijst van gebruikte materialen

Stap 1: Opstelling

Voorwerp	Aantal of hoeveelheid	Opmerkingen
Meetlat	1	Om afstanden tot 30 cm uit te zetten.
thermometer	1	
Lamp	1	Als warmtebron (25-30°C) en lichtbron (5-50 kLux)
Lichtmeter	1	Dit is optioneel. Een lichtmeter-app op een smartphone kan volstaan.

Stap 1: Celculturen

Voorwerp	Aantal of hoeveelheid	Opmerkingen
Gelijke flessen in glas	2	Met grote verhouding oppervlakte/volume, zodat er maximale belichting is van de celculturen.
Rubber doppen	2	Om de 2 cultuurflessen af te dichten. De konische rubber doppen moeten groot genoeg zijn om twee gaatjes oor te boren, waar flexibele buisjes doorheen moeten.
Flexibele buisjes	+/- 1 meter	Ideaal: siliconenbuisjes, doorsnede ongeveer 5mm.
Markeerstift	1	Om op de glazen cultuurflessen te schrijven
Boortje	1	Zelfde dikte als de flexibele buisjes (buitendiameter), om rubber dop te doorboren. Dit kan eventueel met een schaar (maar is minder handig).
Luchtfilttertje	1	(Optioneel). Het filttertje (0,2µm) wordt op 1 van de uiteinden van het flexibel buisje geplaatst, zodat leerlingen gefilterde uitgeademende lucht in de fles kunnen blazen.

Stap 1: Zuurstofvanger

Voorwerp	Aantal of hoeveelheid	Opmerkingen
Maatcilinder 500 ml	2	
Grote beker	2	Waar de maatcilinders ruim in passen (ze worden er omgekeer ingezet).
kraantjeswater	Volume van grote bekens	
Markeerstift	1	Om fijne lijn op buitenkant van de maatcilinders te markeren.

Stap 2: Opstart

Voorwerp	Aantal of hoeveelheid	Opmerkingen
Gedestilleerd water	200 ml	
Groeimedium “+” en “-“	2	<i>Te leveren door SCK•CEN (zie ook bijlage)</i>
<i>Arthrospira</i> inoculum	2	Te leveren door SCK•CEN (minstens een maand tijd rekenen om te kweken en leveren)
Thermometer	2	Vastmaken met plakband op de cultuurflessen.

Stap 3: Opvolging

Voorwerp	Aantal of hoeveelheid	Opmerkingen
Foto-apparaat	1	
Waarnemingstabel	1	Afgedrukt op papier of digitaal, te gebruiken net naast de proefopstelling.

Stap 4: Eindwaarnemingen en besluit

Voorwerp	Aantal of hoeveelheid	Opmerkingen
Dop voor maatcilinder	2	Om de maatcilinder van de zuurstofvanger goed af te sluiten
Houten stokje + vuur	1	Bijvoorbeeld een satéstokje.
Weegschaal	1	Nauwkeurigheid in micrometer (μm).
Trechter	1	Om de biomassa te oogsten met papierfilters.
Papierfilters	2	

Bronnen

- De ESA zomercursus voor leraren in ESTEC (Noordwijk, Nederland) van 6 tot 8 juli 2016.
- “Food from Spirulina” project 2015 (SCK•CEN, ESA, ESERO Belgium).
- Lesmateriaal Spirulina van ESERO Portugal.
- <http://www.saps.org.uk/>
- <https://www.sckcen.be>
- Scientific American
- Foto's van <http://www.esa.int/spaceinimages/Images>
- Schematische afbeeldingen: ESERO Belgium

Bijlage:

Samenstelling van het groeimedium

Misschien wilt u proberen de *Spirulina* cultuur op school in leven houden, om verder mee te experimenteren. Hieronder kan u lezen hoe het groeimedium "Zarrouk" werd samengesteld (bron: ESA Education/SCK•CEN).

1 Algemene beschrijving

Zarrouk is een alkalien zoutbevattend cultuurmedium voor de Cyanobacteriën *Arthrospira sp.*

2 Samenstelling

Het medium is samengesteld volgens een geoptimaliseerd protocol van UBP:

- G. Cogne et al. 2002, *Uptake of Macrominerals and Trace Elements by the Cyanobacterium Spirulina platensis (Arthrospira platensis PCC 8005) Under Photoautotrophic Conditions: Culture Medium Optimization DOI: 10.1002/bit.10504.*

Dit is een licht afwijkende versie van de originele ZARROUK macro-elementen-oplossing. Het aantal producten in de spore-elementen-oplossing is gereduceerd en sommige elementen zijn toegevoegd in een lagere concentratie dan in de originele oplossing.

Macro-elementen

Macro-elementen, oplossing 1

Elementen voor 1 liter medium, maar opgelost in 500 ml.

Element	Gram/liter
K ₂ HPO ₄	0,5
NaHCO ₃	10,5
Na ₂ CO ₃	7,6

Macro-elementen, oplossing 2

Elementen voor 1 liter medium, maar opgelost in 500 ml.

Element	Gram/liter
NaNO ₃	2,5
K ₂ SO ₄	1,0
NaCl	1,0
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,08 g of 8 ml van 1% opl.
CaCl ₂	0,03 g of 3 ml van 1% opl.
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0,01 g of 1 ml van 1% opl.
EDTA	0,08 g of 8 ml van 1% opl.

Spore-elementen

Elementen voor 1 liter medium.

Element	Gram/liter
MnCl ₂ . 4H ₂ O	0,23 g of 23 ml van 1% opl.
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0,11 g of 11 ml van 1% opl.
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0,03 g of 3 ml van 1% opl.

3 Medium preparatie

- All producten voor de macro-elementen worden apart gewogen en opgelost in een totaal volume water van 500 ml.
- All producten voor de spore-elementen worden apart gewogen en opgelost in een totaal volume water van 1 liter.
- Alle producten worden opgelost vóór de autoclavatie (hoge druk en opwarmingstechniek met steriliserend effect)
- De pH wordt getest en moet rond 9,5 zijn.
- Alle oplossingen worden gesteriliseerd via natte hitte-sterilisatie op 121°C, 1 bar, 20 minuten.
- Na afkoeling wordt 500 ml van macro-elementen-oplossing 1 gemengd met 500 ml macro-elementen-oplossing 2.
- 1 ml van de spore-elementen-oplossing wordt toegevoegd.

4 Bewaring

- Het vloeibare Zarrouk medium kan 6 maanden bewaard worden op 4°C.
- De spore-elementen-oplossing kan 1 jaar bewaard worden op 4°C.