

De Bodem Leeft, Practicum Denitrificatie

denitrificatie

Denitrificatie is een belangrijk proces dat door zeer veel soorten bodembacteriën kan worden uitgevoerd. Bij denitrificatie zetten bacteriën nitraat (NO_3^-) om in nitriet (NO_2^-). Dit wordt vervolgens omgezet in stikstofmonoxide (NO) dat weer wordt omgezet in lachgas (NO_2). Uiteindelijk wordt het lachgas omgezet in stikstofgas (N_2). Bacteriën doen dit alleen als er geen zuurstof aanwezig is. Ze gebruiken de zuurstof van de stikstofoxiden als alternatief. De hoeveelheid energie die bij denitrificatie verkregen wordt is wel in verhouding minder dan bij het gebruik van zuurstof.

De onderzoeksvraag van dit experiment is of in het bodemonmonster denitrificerende bacteriën voorkomen. Dat doe je door te kijken hoeveel stikstofgas er tijdens de groei wordt gevormd. De bacteriën worden in vloeibaar medium in reageerbuizen gekweekt. Op het vloeistofoppervlak breng je een laagje kaarsvet (paraffine) aan. Als er stikstofgas wordt gevormd, wordt de parafineprop omhooggeduwd (zie tekening). We voegen een beetje alcohol (ethanol) toe als energiebron voor de bacteriën. Onze eigen cellen zouden liever glucose hebben, maar veel bodembacteriën kunnen ethanol makkelijker gebruiken dan glucose, als tenminste de concentratie niet te hoog is.

wat heb je nodig?

- | | |
|---|---------------------|
| -4 reageerbuizen met aluminium dop | -vloeibaar kaarsvet |
| -leidingwater | -ethanol |
| -nitraatstrips | -verse grond |
| -nitraatoplossing (1M kaliumnitraat in water) | -pasteurse pipetten |



*pasteurse
pipet*

wat ga je doen?

Je neemt zelf een bodemonmonster mee. Een eetlepel grond is meer dan genoeg.

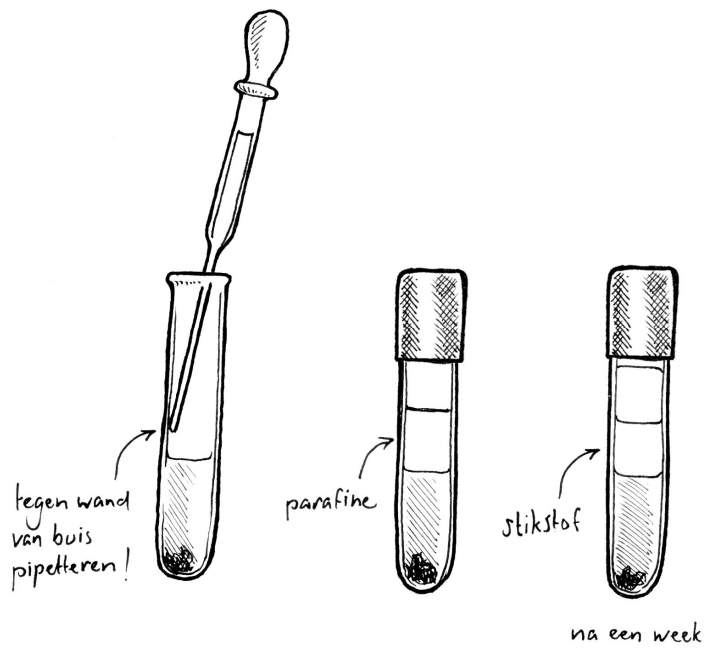
Er worden vier buizen klaargemaakt, genummerd van 1 tot en met 4. Buis 1 en 2 zijn controles. Bij buis 1 wordt geen grond gebruikt, zodat je zeker weet dat het resultaat door de aanwezigheid van grond komt. Bij buis 2 wordt geen nitraat gebruikt, zodat je zeker weet dat het resultaat door de aanwezigheid van nitraat komt. Buis 3 en 4 zijn de "echte" experimenten. Je voert het experiment dubbel uit om het experiment betrouwbaarder te maken.

Goede resultaten worden verkregen als op de volgende manier gewerkt wordt:
nummer de buizen

- | | |
|-----------------|---------------------------------------|
| alle buizen: | -Vul de buis met 10 ml leidingwater |
| buis 2, 3 en 4 | -Doe er één spatelpuntje grond bij |
| buis 1, 3 en 4: | -Voeg 6 druppels nitraatoplossing toe |
| alle buizen: | -Voeg 3 druppels ethanol toe |

- Schud de buizen goed door te zwenken
- Druppel met een pasteurse pipet voorzichtig vloeibaar kaarsvet op het vloeistofoppervlak. Zorg dat hierbij geen kaarsvet op de zijwanden van de reageerbuizen komt.
- Sluit de buizen af met een aluminium dop.
- Maak een foto van de reageerbuizen.
- Zet de reageerbuis in de stoof bij 30°C of, als die er niet is, op een donkere, veilige plek.
- Kijk na enkele dagen tot een week of er gasvorming is opgetreden.
- Maak weer een foto van de reageerbuizen.
- Vervolgens kun je met een roerstafje de kaarsvetprop omlaag duwen en met een nitraatstrip onderzoeken of er in de vloeistof nog nitraat en nitriet aanwezig is.





fotoverslag

Maak van het experiment een fotoverslag. Dit moet bestaan uit de volgende onderdelen:

- Foto's van de reageerbuizen aan het begin en het einde van het experiment.
- Foto's van de nitraatstrips.
- Bijschriften bij de foto's waarin je duidelijk maakt wat er is gebeurd in de buizen.
- Conclusie (antwoord op de onderzoeksvraag) van het experiment met uitleg.