

Veilig gladde benen

Practicumvoorschrift bij testkist voor practicum Veilig gladde benen over lidocaïnebepaling met MIPs met kleurverdringing en colorimetrie



Ontwikkeld door Leonie Titulaer (aansluitcoördinator Bètasteunpunt en scheikundedocent Porta Mosana College) in samenwerking met Gil van Wissen en Alejandro Guzman Landero Renteria (PhD Sensory Engineering, Faculty of Science and Engineering, Maastricht University) en Nicky Deenen (TOA Porta Mosana College)

www.maastrichtuniversity.nl/betasteunpunt

Januari 2026

Veilig gladde benen

Inhoudsopgave

Inhoudsopgave	2
1 Sjef Pak wil veilig gladde benen	3
2 Moleculaire imprinting techniek	4
2.1 moleculaire herkenning: natuurlijke receptoren	4
2.2 Molecular imprinting	5
3 Kleurverdringing in MIPs en colorimetrie	5
3.1 Kleurverdringingstest in MIPs	5
3.2 Colorimetrie	6
4 Lidocaïne	7
5 Experiment	8
5.1 Materialen	8
5.3 Uitvoering	9
5.3.1 Experiment 1: Bepaling van de ijklijn	9
5.3.2 Experiment 2: Bepaling lidocaïnegehalte van de crème	11
Bronnen	12
Filmpjes ter ondersteuning	12
Bijlage Bereiding van moleculair imprinted polymeren (MIP)	13

1 Sjef Pak wil veilig gladde benen

Sjef Pak, een fanatiek wielrenner, heeft graag gladde benen. Via een nieuwe ontharingsmethode kan Sjef van zijn overvloedige haargroei afkomen en super gladde benen overhouden. Hij is een oude bekende tegengekomen die hem een professionele haarverwijdering aanbiedt. Na de behandeling moet hij zijn benen insmeren met een crème die verdovend werkt doordat er lidocaïne in zit. Hij heeft wel eens wat gehoord van lidocaïne en is er niet helemaal gerust op. Hij besluit om jou in te huren om het lidocaïnegehalte in de crème te bepalen en te zien of het veilig is om te gebruiken.

Jij bent een onderzoeker van het Maastricht Science Program van de Universiteit Maastricht. Je gaat gebruik maken van moleculaire imprinting techniek om het



lidocaïnegehalte in de crème te onderzoeken. In hoofdstuk 2 staat uitgelegd wat de theorie hierachter is. In de bijlage lees je hoe je moleculair geïmprinte polymeren (MIPs) kunt maken. Je gaat de kleurverdringing door lidocaïne in MIPs meten met colorimetrie, wat wordt uitgelegd in hoofdstuk 3. De werking van Lidocaïne wordt in hoofdstuk 4

besproken. De werkwijze van de experimenten die je gaat uitvoeren staat beschreven in hoofdstuk 5.

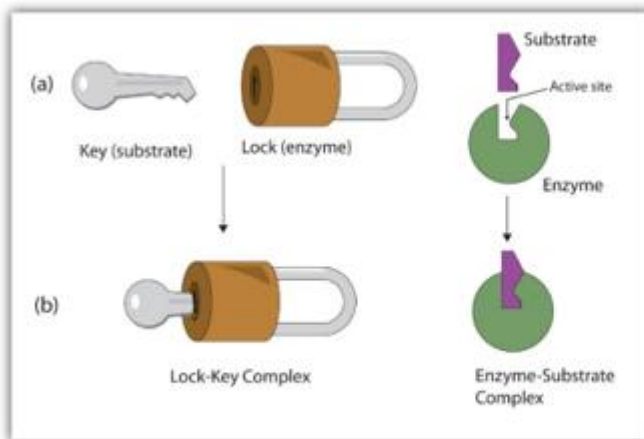
De leerdoelen van dit practicum zijn:

- *Je begrijpt hoe moleculaire herkenning werkt bij Molecular Imprinted Polymers (MIPs).*
- *Je kunt een concentratiereeks maken van lidocaïneoplossingen die in contact zijn gebracht met met kleurstof gevulde MIPs die gemaakt zijn voor lidocaïne.*
- *Je kunt met behulp van een colorimeter-app op je telefoon een ijklijn maken van de gemaakte concentratiereeks. (Experiment 1)*
- *Je kunt de lidocaïneconcentratie van een onbekend monster bepalen met behulp van met kleurstof gevulde MIPs die gemaakt zijn voor lidocaïne en de kleurverdringingstest. Bij de berekeningen gebruik je de ijklijn uit experiment 1. (Experiment 2)*

2 Moleculaire imprinting techniek

2.1 moleculaire herkenning: natuurlijke receptoren

Molecular imprinting technieken zijn een hulpmiddel om specifieke stoffen te scheiden uit een mengsel of om het gehalte van specifieke stoffen in een mengsel te bepalen. Hierbij wordt gebruik gemaakt van moleculaire herkenning. In de natuur is moleculaire herkenning bekend van enzymen en van antilichamen.



Figuur 1: Schematische weergave van het "sleutel-slot" model bij enzym en substraat

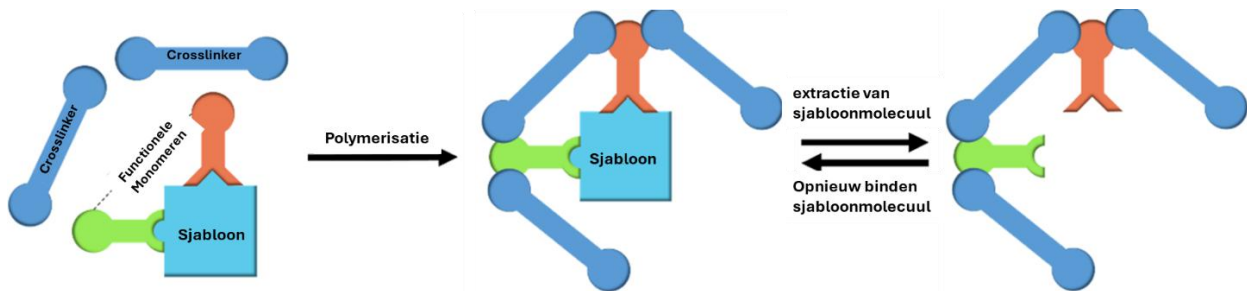
Om uit te leggen hoe MIP werkt wordt eerst uitgelegd hoe moleculaire herkenning bij enzymen werkt. De ontwikkeling van de MIP-techniek is namelijk geïnspireerd door de werking van enzymen.

Enzymen zijn eiwitten die in de natuur voorkomen om reacties te katalyseren. De stof die reageert noemen we het substraat. Het enzym heeft een natuurlijke receptor, een soort opening waar alleen het substraat in past. Zodra het enzym en het substraat zijn gekoppeld in het enzym-substraatcomplex reageert het substraat tot een gewenst product. Je zou het kunnen vergelijken met een sleutel en een slot. Het enzym is het slot en alleen met de juiste sleutel vindt de reactie plaats (het openen van het slot). Hier zit een moleculair herkenningsmechanisme achter, met een ingewikkeld samenspel van covalente bindingen en niet-covalente interacties zoals vanderwaalskrachten en waterstofbruggen. Dit basisprincipe, het sleutel-slotmodel, is in de 19^e eeuw geïntroduceerd door Fischer. Een illustratie van dit principe is te zien in figuur 1.

Het gebruik van natuurlijke receptoren heeft het voordeel dat deze buitengewoon goed zijn in het herkennen van moleculen. Een nadeel is dat het isoleren van deze receptoren uit levende organismen een tijdrovende en kostbare procedure is. Bovendien zijn de receptoren kwetsbaar voor veranderingen in omgeving zoals temperatuur en pH. De manier waarop een substraat en een enzym koppelen wordt nagebootst bij MIP.

2.2 Molecular imprinting

Met moleculair geïmprimeerd polymeren (MIP) wordt het mechanisme van moleculaire herkenning, het sleutel-slot principe nagebootst. Een polymeer wordt gevormd in aanwezigheid van een specifiek molecuul dat we het sjabloonmolecuul noemen. Tijdens de polymerisatie vormen zich holtes in het polymeer waar het sjabloonmolecuul precies in past. Het sjabloonmolecuul wordt als het ware in het polymeer gestempeld. Het moleculair geïmprimeerd polymeer (MIP) voor het sjabloonmolecuul is nu klaar. Dit proces is schematisch weergegeven in figuur 2.



Figuur 2. Het maken van een MIP. In stap 1 wordt het polymeer gevormd rondom het sjabloon (template). Vervolgens wordt het sjabloon geëxtraheerd en blijft de MIP over.

Een animatie van het maken en van de werking van een MIP zie je in de volgende link:
<https://youtu.be/zkfHTWak5oc?feature=shared> .

Dit type MIP kan bijvoorbeeld gebruikt worden om het sjabloonmolecuul te scheiden uit een mengsel. In dit onderzoek is lidocaïne het sjabloonmolecuul.

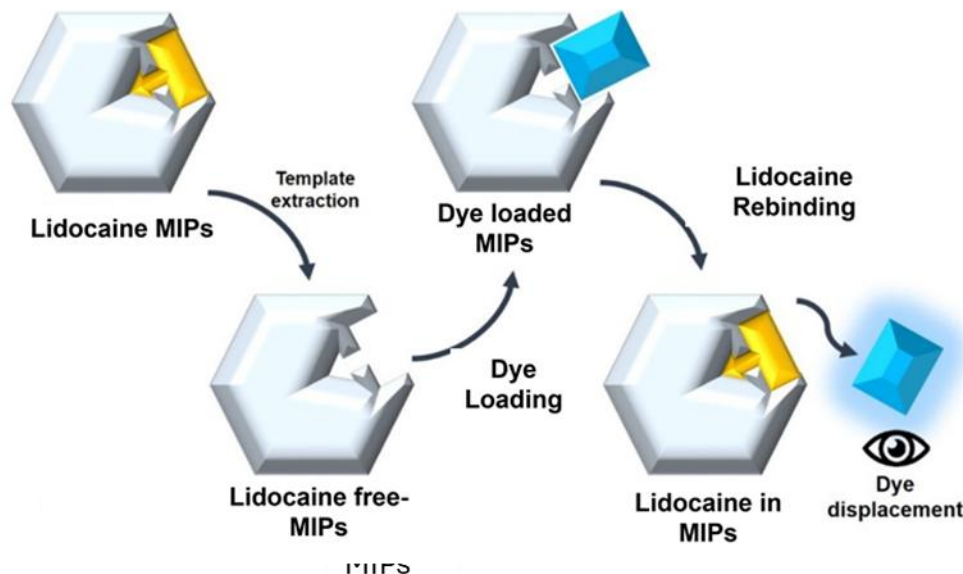
Wil je meer weten over het maken van het polymeer, bestudeer dan de bijlage.

3 Kleurverdringing in MIPs en colorimetrie

3.1 Kleurverdringingstest in MIPs

De kleurverdringingstest is erop gebaseerd dat moleculen die passen in de geïmprimeerde ruimtes van de MIP de kleurstof die hierin zit verdringen. De MIPs in ons experiment hebben de voorkeur voor het molecuul lidocaïne en zodat de lidocaïne de plaats in neemt van de blauwe kleurstof (methyleenblauw). Eerst worden de lidocaïne-specifieke MIPs gecombineerd met een geconcentreerde kleurstofoplossing. In de lidocaïne-specifieke ruimtes in de MIP worden de kleurstofmoleculen gebonden. Als de MIPs in contact komen met een lidocaïne-oplossing wordt de blauwe kleurstof in de oplossing losgelaten. Hoe meer lidocaïne in de oplossing, hoe blauwer de oplossing. Nadat de MIPs uit de oplossing gefiltreerd worden blijft een gekleurde oplossing achter. Hoe hoger de lidocaïne-concentratie in de te meten oplossing, hoe blauwer de vloeistof. De kleur van de oplossing wordt vervolgens gemeten met een colorimeter-app op een telefoon. De werking van de kleurverdringing wordt weergegeven in figuur 3. In een

youtubefilmpje (<https://www.youtube.com/watch?v=1rlvkrAlfqU>) laat Bart van Grinsven van de Universiteit Maastricht toepassingen van MIPS en de werking van MIPS met kleurstof zien.



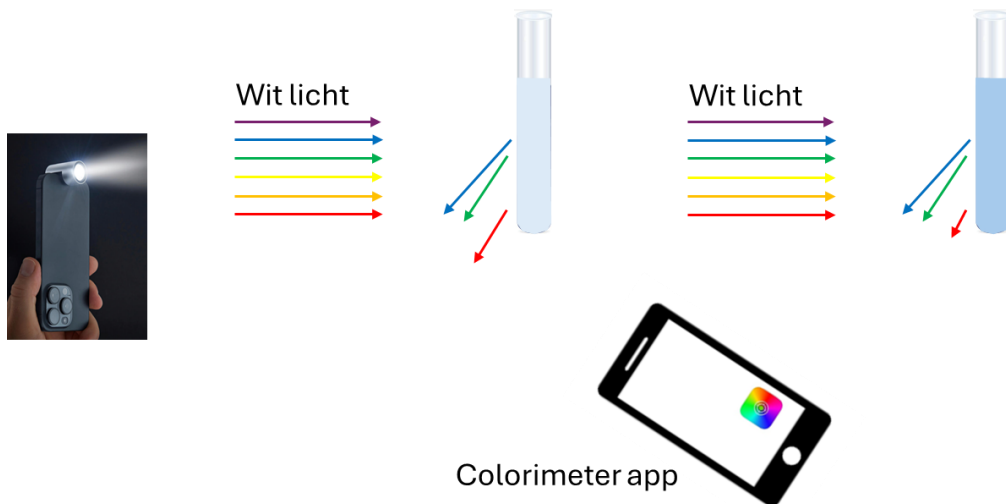
Figuur 3 Kleurverdringing in lidocaine MIPS

3.2 Colorimetrie

Met behulp van colorimetrie kun je de concentratie van een gekleurde stof in een oplossing meten door te kijken hoeveel licht de oplossing absorbeert of doorlaat. Je kunt ook kijken naar hoeveel licht weerkaatst wordt door een oppervlak. Dit noemen we reflectiecolorimetrie. Als je wit licht op een wit oppervlak schijnt worden alle kleuren gereflecteerd. Als je wit licht op een blauw oppervlak schijnt wordt het blauwe licht gereflecteerd en andere kleuren geabsorbeerd. Om de intensiteit van de blauwe kleur te bepalen kun je de weerkaatsing van het rode licht meten. Hoe blauwer de kleur, hoe minder rood licht wordt gereflecteerd (figuur 4).

Door van een bekende concentratiereeks van een blauwe kleurstof de reflectie van rood licht te meten en deze in een grafiek uit te zetten krijg je een ijklijn. Als je vervolgens van een monster met een onbekende concentratie de reflectie meet, kun je via de ijklijn de concentratie bepalen.

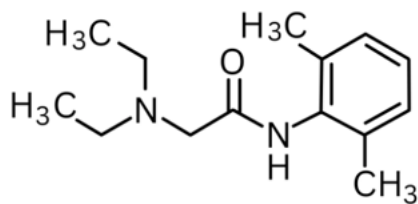
Het maken van een ijklijn wordt uitgelegd in een youtubefilmpje met de volgende link: <https://youtu.be/VKOT1lACOL4?si=7er5sqFJOQ2Xnv3K>.



Figuur 4 Weergave van de reflectie van rood, groen en blauw licht door een blauw gekleurde oplossing, te meten via een colorimeter app.

4 Lidocaïne

Lidocaïne (figuur 5) is een lokaal anestheticum dat veel wordt toegepast als pijnstiller op de huid. Het middel werkt door het blokkeren van natriumkanalen in de celmembranen van zenuwcellen. Hierdoor wordt de geleiding van pijnprikkels naar de hersenen tijdelijk onderbroken. Lidocaïne wordt vaak gebruikt in crèmes, gels of pleisters voor de behandeling van oppervlakkige huidirritaties, brandwonden, insectenbeten of bij kleine medische ingrepen, zoals het inbrengen van een infuus. De werking treedt doorgaans binnen enkele minuten in en houdt meestal één tot drie uur aan, afhankelijk van de dosering en toedieningsvorm.



Figuur 5 Lidocaïne

Hoewel lidocaïne bij uitwendig gebruik over het algemeen als veilig wordt beschouwd, is het belangrijk om de aanbevolen hoeveelheid en frequentie niet te overschrijden. Te veel lidocaïne kan via de huid in de bloedbaan worden opgenomen, wat kan leiden tot gemiddeld 1,50-2 m² (Park et.al 2017). toxiciteit (giftigheid). Symptomen van een overdosis zijn onder andere duizeligheid, sufheid, tintelingen rond de mond, spiertrekkingen en in ernstige gevallen hartritme stoornissen of ademhalingsproblemen. Vooral bij gebruik op een beschadigde huid of over een groot huidoppervlak is voorzichtigheid geboden.

Gegevens Lidocaïne te gebruiken bij het uitwerken van het practicum

Lidocaïne crèmes bevatten meestal 2,5 – 5 % lidocaïne. De huidoppervlakte van het de benen is gemiddeld 24,5% van het totale huidoppervlak van

De toxische grens voor lidocaïne ligt bij ongeveer 5-7 mg lidocaïne per kg lichaamsgewicht per dag.

Sjef Pak weegt 65 kg. We schatten zijn huidoppervlakte op 1,75 m². Een richtlijn voor de hoeveelheid crème die gesmeerd wordt is 2 mg per cm² huid. Sjef smeert zijn benen twee keer per dag in.

5 Experiment

5.1 Materialen

De materialen die nodig zijn voor experiment 1 en 2 staan in tabel 1. Je gebruikt je eigen telefoon met een colorimeter app die je ziet in figuur 6. Deze app kun je onbeperkt gebruiken op een android telefoon. Op een iphone kun je hem drie dagen gratis gebruiken op (denk eraan om op tijd af te melden).



Figuur 6. App om te gebruiken voor colorimetrie

Tabel 1 Lijst met benodigdheden voor experiment 1 en 2

<i>aantal</i>	<i>laboratoriummateriaal</i>
7	reageerbuis met dop
2	maatcilinder 10 mL of maatpipet 10 mL
3	pasteur pipet
2	sputje (3 mL)
2	filter 0,45 µm
7	cuvet
3	bekerglas 50 mL
1	watervaste stift
<i>hoeveelheid</i>	<i>chemicaliën</i>
50	mL lidocaïne voorraad oplossing 5mM (= 1,44 g/L)
50	mL gedestilleerd water
70	mg MIP met blauwe kleurstof
10	mL verdunde crème (mengsel met onbekende lidocaïneconcentratie)
<i>aantal</i>	<i>apparaten</i>
1	mobiele telefoon met colorimeter app

5.3 Uitvoering

5.3.1 Experiment 1: Bepaling van de ijklijn

Je maakt een verdunningsreeks van lidocaïne-oplossingen. Deze oplossingen worden gemengd met met kleur gevulde MIPS en daarna gefilterd. Van de oplossingen die overblijven wordt de reflectie van rood licht gemeten met de colorimeterapp op je telefoon. Deze metingen verwerk je tot een ijklijn.

1. Markeer 6 reageerbuizen die gevuld zijn met 10 mg MIPS met de codes M1 t/m M6.
2. Vul één bekeerglas met voorraadoplossing en één met demiwater.
3. Maak uitgaande van de voorraadoplossing (5,0 mM lidocaïne) en gedestilleerd water een verdunningsreeks volgens het schema in Tabel 2. Hiervoor zijn twee methodes (a en b) voorhanden. Kijk welk glaswerk je hebt gekregen en kies dan methode a of b.

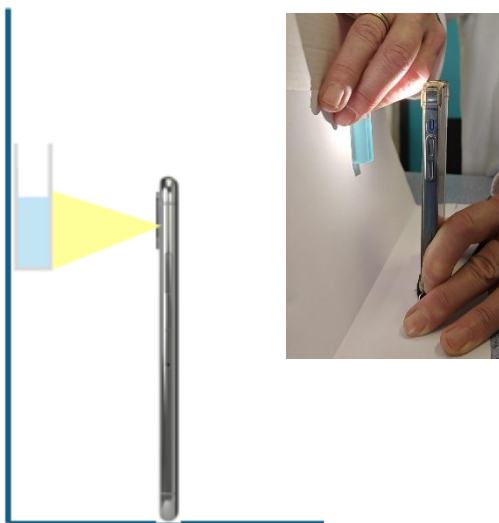
a. *maatcilinder*: Dit kan behulp van een druppelpipet en een maatcilinder van 10 mL. Gebruik voor de voorraadoplossing elke keer dezelfde druppelpipet en gebruik een andere druppelpipet voor het gedestilleerd water. Voeg eerst de juiste hoeveelheid voorraadoplossing toe (tabel 2) en vul de maatcilinder aan met demiwater tot 10 mL. Giet de gemaakte oplossing in de betreffende reageerbuis waar de MIP al in zit. Je gebruikt elke keer dezelfde maatcilinder, begin met de laagste concentratie (M1) en eindig met de grootste (M6).

b. *maatpipet*: Je hebt twee maatpipetten, je gebruikt er één voor de voorraadoplossing en één voor het gedestilleerd water. Vul elke reageerbuis, waar de MIP al in zit, volgens tabel 2.

Tabel 2 Schema voor bereiding verschillende lidocaïneoplossingen voor de ijklijnbeplating.

Monster	Concentratie Lidocaïne (mM)	Volume voorraadoplossing (mL)	Volume gedestilleerd water (mL)	Massa MIP (mg)
M1	0,0	0	10	10
M2	1,0	2	8	10
M3	2,0	4	6	10
M4	3,0	6	4	10
M5	4,0	8	2	10
M6	5,0	10	0	10

4. Sluit de reageerbuizen af met een dop en meng de MIPs en de lidocaïne-oplossing goed door flink te schudden gedurende 5 minuten.
5. Doe de inhoud van reageerbuis M1 in een schoon droog bekeerglas. Je zuigt met de spuit 3 mL van het mengsel uit het bekeerglas op. Bevestig het 0,45 µm filter aan het spuitje. Dan spuit je de vloeistof voorzichtig via het filter in de lege cuvet. *Let op dat je dit voorzichtig doet, om geen lekkages te krijgen.*
6. Voor het meten van de kleur maak je een opstelling zoals aangegeven in figuur 7.
 - Je vouwt een vel wit papier in een hoek van 90 graden. Bij de eerste meting zet je een lijn op het papier voor de plek van de telefoon, zodat je elke meting dezelfde opstelling hebt.
 - Zet de colorimeterapp aan en zet de zaklamp ook aan (rechtsboven in de app).
 - Houd de telefoon elke keer in een hoek van 90 graden, zodat de afstand van de camera tot de cuvet elke keer hetzelfde is.
 - In de colorimeterapp zie je twee vakjes (zie figuur 8). Het linker vakje toont het witte papier. In het rechter vakje komt de cuvet. Laat de cuvet zakken met de gladde kant naar de camera, zodat het de vloeistof in het rechtervakje te zien is. Zorg dat er geen schaduw in het rechtervakje te zien is. Noteer nu de reflectiewaarde voor de kleur rood (R-waarde) in je schrift.



Figuur 7 Meetopstelling



Figuur 8 Colorimeterapp

7. Leeg het bekeerglas en herhaal stap 4 en 5 voor achtereenvolgens reageerbuis M2 t/m M6. Je gebruikt voor elke meting een nieuwe cuvet, maar hetzelfde bekeerglas, spuit en filter. Zorg dat je elke meting op dezelfde manier uitvoert. Bewaar de cuvetjes om de meting eventueel te herhalen als je gekke resultaten ziet.

Opdracht bij experiment 1:

- a. Zet de reflectiewaarden uit experiment 1 uit tegen de [lidocaïne].
- b. Bepaal de waarden a en b voor de ijklijn $y = ax + b$ met $x =$ de [lidocaïne] en $y =$ de gemeten R-waarde.

5.3.2 Experiment 2: Bepaling lidocaïnegehalte van de crème

Sjef Pak heeft 5 gram crème verdund tot 100 mL. Je krijgt een flesje met de verdunde crème. Jij gaat bepalen wat het lidocaïnegehalte is van dit monster. Je gebruikt hierbij de ijklijn die in experiment 1 is gemaakt.

1. Markeer de laatste reageerbuis gevuld met 10 mg MIPs met een C.
2. Vul een maatcilinder met 10 mL van de verdunde crème en giet dit in reageerbuis C met MIP.
3. Sluit de reageerbuis met het dopje en schud de reageerbuis gedurende 5 minuten, zodat de stoffen kunnen binden.
4. Doe de inhoud van reageerbuis C in een schoon droog bekeerglas. Je zuigt met de 3 mL spuit 3 mL van het mengsel uit het bekeerglas op. Bevestig het 0,45 μm filter aan het spuitje. Dan spuit je de vloeistof voorzichtig via het filter in de lege cuvet. *Let op dat je dit voorzichtig doet, om geen lekkages te krijgen.*
5. Meet de R-waarde van de oplossing zoals je dit deed in experiment 1.
6. Je gebruikt de ijklijn uit experiment 1 om de concentratie in het onbekende monster te berekenen.

Opdracht bij experiment 2:

- a. Bereken hoeveel lidocaïne Sjef mag binnenkrijgen per dag. Gebruik hiervoor de gekaderde informatie uit Hoofdstuk 4
- b. Bereken welk massa% lidocaïne volgens deze richtlijnen veilig is voor de crème.
- c. Bereken met behulp van je metingen en de ijklijn het massa% lidocaïne in de crème van Sjef Pak.

- d. Geef Sjef Pak advies of het veilig is deze crème te gebruiken. Gebruik hiervoor de gekaderde informatie uit Hoofdstuk 4.

Bronnen

Zorginstituut Nederland. (z.d.). *Lidocaïne*. Farmacotherapeutisch Kompas.

Geraadpleegd op 5 juni 2025, van

<https://www.farmacotherapeutischkompas.nl/bladeren/preparaatteksten/l/lidocaine>

Park, Kelly K. MD, MSL*; Sharon, Victoria R. MD, DTMH†. A Review of Local Anesthetics: Minimizing Risk and Side Effects in Cutaneous Surgery. *Dermatologic Surgery* 43(2): p 173-187, February 2017. | DOI: 10.1097/DSS.0000000000000887

<https://www.dr-jetskeultee-skincare.nl/product-advies/hoeveel-zonnebrandcreme-moet-je-smeren/> geraadpleegd op 11-juni 2025

Filmpjes ter ondersteuning

Een animatie van het maken en van de werking van een MIP:

<https://youtu.be/zkfHTWak5oc?feature=shared>



Toepassing en werking MIP met kleurstof door Bart van

Grinsven <https://www.youtube.com/watch?v=1rlvkrAlfqU>



Het maken van een ijklijn:

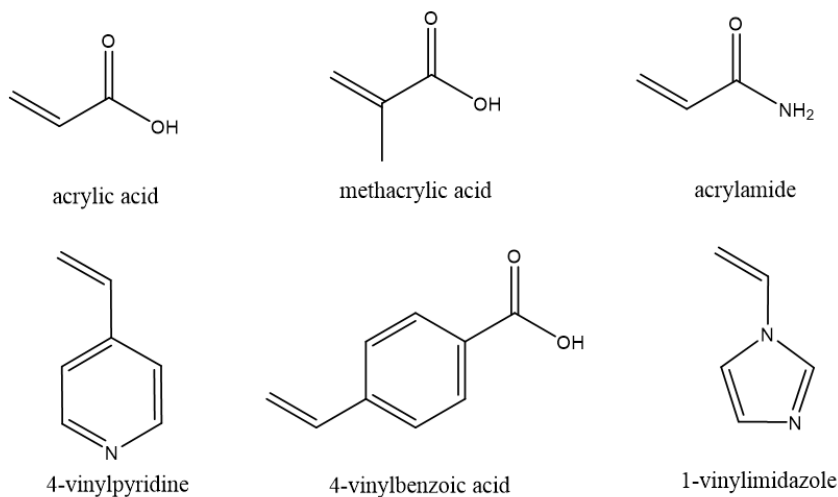
<https://youtu.be/VKOT1ACOL4?si=7er5sqFJOQ2Xnv3K>.



Bijlage

Bereiding van moleculair imprinted polymeren (MIP)

De keuze van monomeren bepaalt de uiteindelijke selectiviteit en affiniteit van de gevormde MIPs. De monomeren bij additiepolymerisatie moeten allemaal een dubbele C=C-binding hebben. Bovendien moeten de monomeren in staat zijn zwakke interacties aan te gaan met het geselecteerde sjabloonmolecuul. Om deze reden worden in de literatuur vaak monomeren gevonden die in staat zijn waterstofbruggen te vormen (figuur B1). Het meest gebruikte monomeer voor het maken van MIPs is methacrylzuur, dat ook als monomeer in dit practicum zal worden gebruikt.

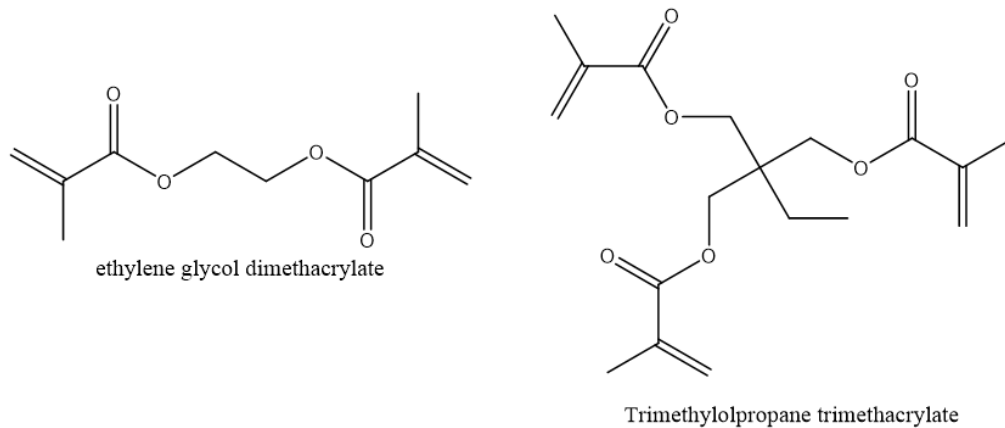


Figuur B1: voorbeelden van functionele monomeren die gebruikt kunnen worden in MIP synthese

Naast monomeren zijn voor de synthese van een MIP ook cross-linkers nodig. Dit zijn moleculen met twee of meer dubbele C=C bindingen, die twee polymeerketens kunnen verbinden (figuur B2). Deze cross-linkers geven niet alleen de nodige sterkte aan het materiaal, maar zorgen er ook voor dat de bindingsplaatsen voor de sjabloonmoleculen voldoende gestabiliseerd worden. Vaak is een zeer hoge mate van cross-linking (70-90%) nodig om voldoende selectiviteit te bereiken. In dit laboratoriumproject zal ethyleenglycol dimethacrylaat als cross-linker worden gebruikt.

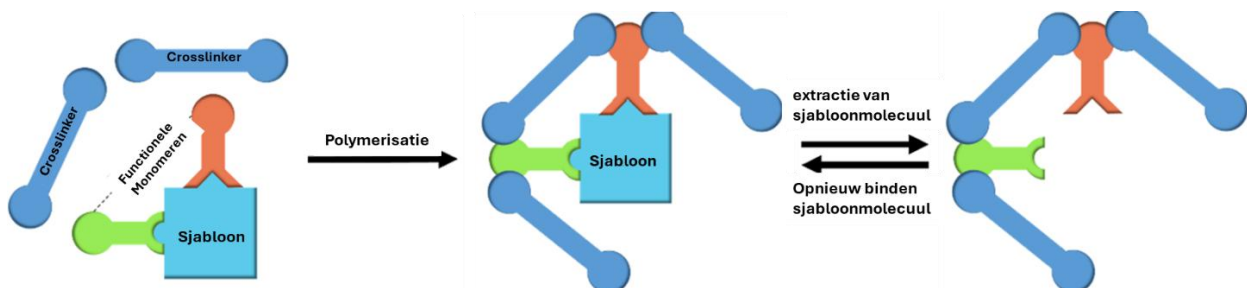
Tijdens de MIP-polymerisatie wordt ook een “porogeen” toegevoegd. Dit is een oplosmiddel, dat wordt gebruikt om een goede menging van alle eerdergenoemde componenten te verkrijgen. Bovendien is het porogeen verantwoordelijk voor de vorming van een poreuze structuur. Dit is nodig om ervoor te zorgen dat de sjabloonmoleculen de bindingsplaatsen binnen de MIPs kunnen bereiken. Uiteindelijk is de MIP een soort van spons, waarin de beste bindingsplaatsen diep in het materiaal zijn opgesloten. Het porogeen dat in dit laboratoriumproject wordt gebruikt, is chloroform.

Het voordeel van het gebruik van vrije radicalenpolymerisatie voor het maken van MIPs is dat het proces vanzelf verloopt. Kort gezegd betekent dit dat alle ingrediënten gewoon samen worden gevoegd in specifieke hoeveelheden en verhoudingen, wat technisch gezien net zo eenvoudig is als het volgen van een recept uit een kookboek. Deze recepten moeten natuurlijk vooraf geoptimaliseerd worden.



Figuur B2: Voorbeelden van cross-linkers, die gebruikt kunnen worden in de MIP-synthese

De keuze van het juiste monomeer en cross-linker is afhankelijk van de structuur van het sjabloonmolecuul en van de eigenschappen van betreffende oxidator of reductor. Vervolgens moeten de verhouding tussen monomeer en cross-linker zorgvuldig worden aangepast zodat de overeenkomst maximale functionele overeenkomst te garanderen met een voldoende hoge mate van cross-linking om een dicht polymeer netwerk te creëren. Ten slotte moet het porogeen de vorming van een poreuze structuur aandrijven die het mogelijk maakt dat het sjabloon-molecuul vrij in en uit de MIP-deeltjes kan bewegen. Zodra de reactie geoptimaliseerd is, kan het recept relatief eenvoudig worden uitgevoerd. Wanneer monomeer en sjabloonmolecuul in het juiste oplosmiddel worden gemengd, zullen de monomeren zich automatisch rond de sjabloonmoleculen rangschikken in een proces dat we zelfassemblage noemen (zie figuur B3).



Figuur B3 Het maken van een MIP. In stap 1 wordt het polymeer gevormd rondom het sjabloon (template). Vervolgens wordt het sjabloon geëxtraheerd en blijft de MIP over.