

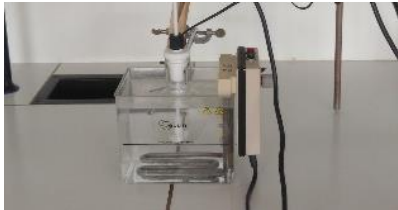
Protokoll für die Synthese von Polyhydroxybutyrat (PHB)

1. Befüllen des Fermenters

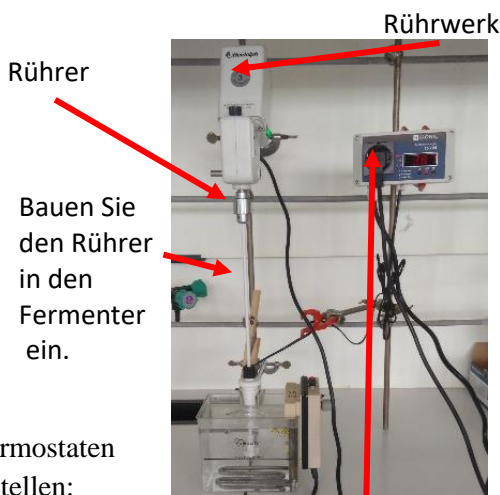
- 1.1 Befüllen Sie Ihren Fermenter mit 200 mL der Lösung A.
- 1.2 Pipettieren Sie 20 µL der Lösung B hinzu.
- 1.3. Beimpfen Sie den Fermenter (250 mL) mit 2 mL einer Bacillus subtilis Kultur.

2. Vorbereiten des Fermenters

- 2.1 Bauen Sie Ihr Heiz- und Temperatur-Kontrollsystem in den Fermenter ein.



- 2.2 Setzen Sie Ihren Fermenter in das Wasserbad ein und fixieren Sie ihn mit einer Klemme. Fixieren Sie einen mechanischen Rührer über dem Fermenter. Die Rührgeschwindigkeit soll minimal sein.



Thermostaten einstellen:

- Heizung an bei 36 °C
- Heizung aus bei 38 °C

2.3. Fermentation

Starten Sie die Fermentation für 45 h bei 37 °C und minimaler Rotationsgeschwindigkeit

3. Extraktion von PHB

3.1 Zentrifugation

Entnehmen Sie den Fermenter aus dem Wasserbad und lassen Sie die Feststoffe im Fermenter 15 Minuten absetzen.

Entnehmen Sie 150 mL des Überstandes mit einer Pipette. Bewahren Sie den Überstand in einem Becherglas auf.

Zentrifugieren Sie den restlichen Fermenterinhalt für 15 Minuten bei 10 000 rpm.

3.2 Hypochlorid Behandlung

Dekantieren Sie den Überstand aus dem Zentrifugenröhrchen.

Geben Sie zum Pellet im Zentrifugenröhrchen 10 mL Natriumhypochlorid.

Inkubieren Sie die Mischung bei 60 °C für 45 Minuten.

3.3 Waschen mit destilliertem Wasser

Behalten Sie das Pellet.

Entleeren Sie den Überstand in den Abfallbehälter. Waschen Sie das Pellet mit 5 mL destilliertem Wasser.

Zentrifugieren Sie die Mischung 5 Minuten bei 5.000 rpm.

3.4 Waschen mit Aceton

Behalten Sie das Pellet.

Entleeren Sie den Überstand in den Abfallbehälter. Waschen Sie das Pellet mit 5 mL Aceton.

Zentrifugieren Sie die Mischung 5 Minuten bei 5.000 rpm.

3.5 Waschen mit Methanol

Behalten Sie das Pellet.

Entleeren Sie den Überstand in den Abfallbehälter. Waschen Sie das Pellet mit 5 mL Methanol.

Zentrifugieren Sie die Mischung 5 Minuten bei 5.000 rpm.

3.6 Chloroform Behandlung

Behalten Sie das Pellet.

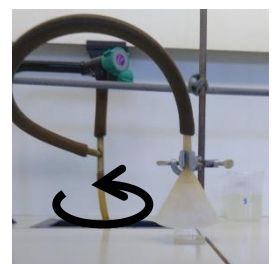
Verwerfen Sie den Überstand.

Überführen Sie das Pellet in eine Glas-Petrischale.

Geben Sie unter dem Abzug 5 mL Chloroform hinzu.

Setzen Sie die Petrischale unter einen Trichter, der an eine Vakuumpumpe angeschlossen ist.

Durchmischen Sie das Gemisch durch eine rotierende Bewegung.



4. Gewinnung von PHB

Wenn das Chloroform vollständig verdampft ist, können Sie den PHB Plastikfilm vom Boden der Petrischale abziehen.

