

Πρωτόκολλο παρασκευής PHB (πολυδρόξυ βουτυρικό)

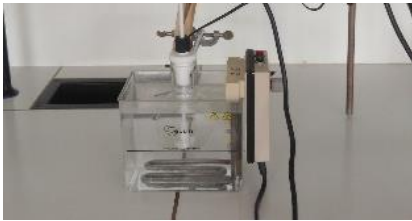
1. Πλήρωση του δοχείου ζύμωσης

Στο δοχείο ζύμωσης προσθέτουμε

- 1.1. 200mL διαλύματος A, (με ογκομετρικό κύλινδρο).
- 1.2. 20 μ L διαλύματος B (με μικροπιπέτα)
- 1.3. 2 mL καλλιέργειας (με σταγονόμετρο)

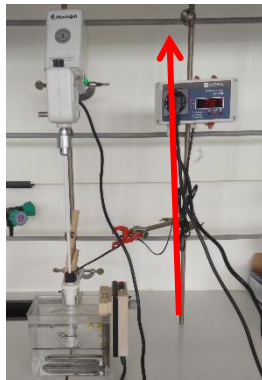
2. Προετοιμασία του υδατόλουτρου

- 2.1. Θερμοστατούμε το υδατόλουτρο (36°C- 38°C).



- 2.2. Τοποθετούμε το δοχείο ζύμωσης στο υδατόλουτρο και το στερεώνουμε με ένα σφιγκτήρα.

Προσαρμόζουμε στο δοχείο ζύμωσης μηχανικό αναδευτήρα ρυθμίζοντας την ταχύτητα στην ελάχιστη αναγραφόμενη τιμή.



- 2.3. Ζύμωση

Αφήνουμε το δοχείο ζύμωσης αναδευόμενο και θερμαινόμενο για 45 h.

3. Απομόνωση του PHB

- 3.1. Φυγοκέντρωση

Αποσύρουμε το δοχείο ζύμωσης από το υδατόλουτρο και το αφήνουμε για 15 min για να ολοκληρωθεί η καθίζηση του ιζήματος.

Εξάγουμε 150 mL από το υπερκείμενο υγρό με ένα σιφόνιο και το αποθηκεύουμε σε ποτήρι ζέσεως.

Το υπόλοιπο φυγοκεντρείται για 15min στις 10000 rpm.

- 3.2. Κατεργασία με υποχλωριώδες νάτριο (NaClO)

Μετά την φυγοκέντρωση διατηρούμε το στερεό υπόλειμμα στον σωλήνα (αποχύνοντας το υπερκείμενο) και προσθέτουμε 10mL υποχλωριώδους νατρίου (μετρημένα σε ογκομετρικό κύλινδρο)

Επιάζουμε το μίγμα στους 60° C για 45 min.

- 3.3. Έκπλυση με ακετόνη.

Διατηρούμε το στερεό υπόλειμμα στο σωλήνα (αποχύνοντας το υπερκείμενο NaClO)

Προσθέτουμε 5mL ακετόνης και φυγοκεντρούμε το μίγμα για 5 min.

- 3.4. Έκπλυση με μεθανόλη

Διατηρούμε το στερεό υπόλειμμα στο σωλήνα (αποχύνουμε το υπερκείμενο ακετόνη)

Προσθέτουμε 5 mL μεθανόλης και φυγοκεντρούμε το μίγμα για 5 min.

- 3.5. Κατεργασία με χλωροφόρμιο

Διατηρούμε το στερεό υπόλειμμα στο σωλήνα (αποχύνουμε το υπερκείμενο)

Μεταφέρουμε το στερεό υπόλειμμα σε ένα γυάλινο τρυβλίο.

Μετράμε 5mL χλωροφόρμιο και το μεταφέρουμε στο γυάλινο τριβλίο (μέσα στον απαγωγό).

Τοποθετούμε το γυάλινο τριβλίο κάτω από έναν αναποδογυρισμένο χωνί, συνδεδεμένο με μια αντλία κενού.

Αναδεύουμε κυκλικά το μίγμα .



4. Ανάκτηση του PHB

Όταν το χλωροφόρμιο εξατμιστεί πλήρως, αφαιρούμε τον πλαστικό υμένα

