

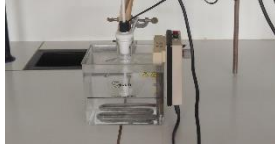
Prosedür: PHB (Poli-Hidroksibütirat) Sentezi

1. Fermentörün Doldurulması

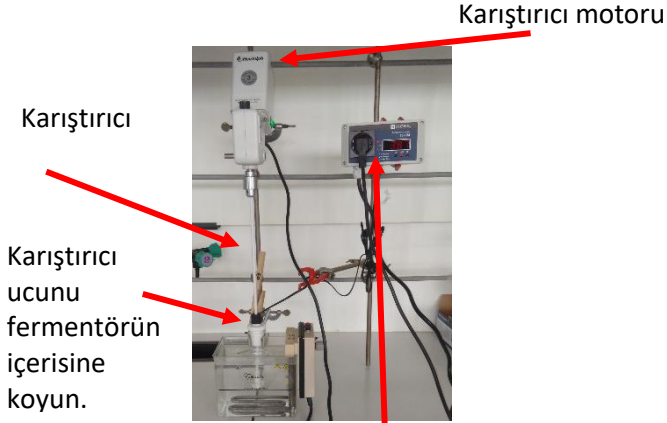
- 1.1 Dereceli mezür kullanarak A çözeltisinden 200 mL alın.
- 1.2 Mikropipet ile B çözeltisinden 20µL alın.
- 1.3 Çözeltileri fermentöre koyun (250 mL) ve plastik pipet ile 2 mL bakteri kültürü ekleyin.

2. Su banyosunun hazırlanması

- 2.1 Daldırma ısıtıcı ve termostat ile su banyosunu hazırlayın.



- 2.2 Fermentörü su banyosuna koyun ve kısıkaç ile düzeltin.
Mekanik karıştırıcıyı fermentörün üst kısmına gelecek şekilde ayarlayın. Dönme hızı minimum olmalı.



Termostat şu derecelere ayarlanmalı:

Düşük: 36°C

Yüksek: 38°C

- 2.3. Fermentasyon
Fermentörü karıştırıcı ve ısıtıcı açık şekilde 45 saat bırakın.

3. PHB İzolasyonu

3.1. Santrifüj

Fermentörü su banyosundan çıkarın.
15 dakika bekletin.
150 mL süpernatanı pipet yardımıyla yavaşça alın ve beherde tutun.
Kalan kısmı santrifüje edin. (15 dakika, 10000 rpm)

3.2. Hipoklorit ile muamele

Santrifüj sonrası:

Çökeltiyi tüpte bırakın. Süpernatanı atın.
Çökeltinin üzerine 10 mL (dereceli mezür ile ölçülmüş) sodyum hipoklorit ekleyin.

Karışımı 45 dakika boyunca 60°C'de inkübe edin.

Karışımı 5000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüje edilir.

3.3. Su ile yıkama

Santrifüj sonrası:

Çökeltiyi tüpte bırakın. Süpernatanı atın.
5 mL distile su ile yıkayın.

Karışımı 5 dakika boyunca santrifüje edin.

3.4. Asetonla yıkama

Çökeltiyi tüpte bırakın. Süpernatanı atın.
5 mL (dereceli mezür ile ölçülmüş) asetonla yıkayın.

Karışımı 5 dakika boyunca santrifüje edin.

3.5. Metanol ile yıkama

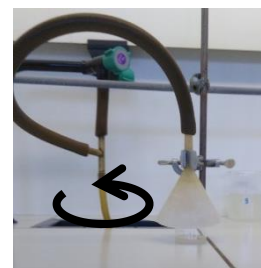
Çökeltiyi tüpte bırakın. Süpernatanı atın.
5 mL (dereceli mezür ile ölçülmüş) metanolle yıkayın.

Karışımı 5 dakika boyunca santrifüje edin.

3.6. Kloroform ile muamele

Çökeltiyi tüpte bırakın. Süpernatanı atın.
Çökeltiyi cam petri kabına alın.
Çeker ocakta 5 mL kloroform ölçün.

Çeker ocak içerisinde cam petri kabına koyun.



Cam petri kabını huninin dar ucuna takılmış venturi vakumunun altına koyun.
Karışımı cam petri kabıyla birlikte yuvarlak hareketlerle döndürün.

4. PHB Eldesi



Kloroform tamamen buharlaştığında plastik filmi alabilirsiniz.