

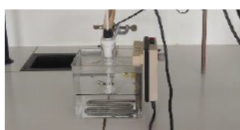
# Synthèse du PHB

## 1. Remplissage du fermenteur.

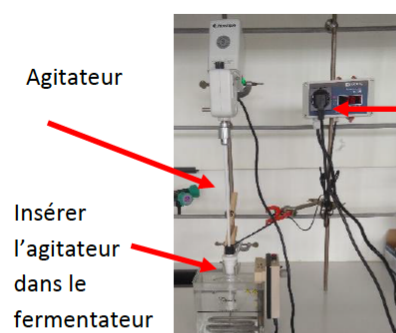
- 1.1 Prélever 200ml de la solution A, à l'aide d'une éprouvette graduée.
- 1.2 Prélever 20 $\mu$ L de la solution B
- 1.3 Introduire les prélèvements dans 250 ml de fermenteur. Et ajouter 2ml de culture avec une pipette Pasteur.

## 2. Préparation du bain Marie.

- 2.1 Préparer le bain Marie avec le système de chaleur, et le régulateur de température.



- 2.2 Mettre le fermenteur dans le bain Marie et le fixer avec une pince.  
Adapter un agitateur au fermenteur. La vitesse de rotation au minimum.



Le régulateur doit être ajusté;

Bas: 36°C

Haut: 38°C

- 2.3. Fermentation

Laisser le fermenteur dans le bain Marie avec l'agitateur pendant 45H.

## 3. Extraction du PHB.

### 3.1. Centrifugation.

Sortir le fermenteur du bain Marie.

Laisser décanter pendant 15 minutes.

Extraire doucement 150 mL du surnageant (liquide) avec une pipette (mettre dans un bécher).

Le reste (ce qui est au fond du fermenteur) est centrifugé. (15 minutes à 10000 rpm).

### 3.2. Traitement à l'Hypochlorite.

Après centrifugation:

Garder le solide dans le tube (éliminer le surnageant)

Ajouter au solide 10mL (mesurer avec une éprouvette graduée) d'hypochlorite de sodium.

Incuber le mélange à 60° pendant 45 minutes.

Centrifuger le mélange pendant 5 minutes.

### 3.3. Laver avec l'eau distillée

Garder le solide dans le tube (éliminer le surnageant).

Laver avec 5 mL d'eau distillée (mesurer avec une éprouvette graduée).

Centrifuger le mélange pendant 5 minutes.

### 3.4. Laver avec l'acétone.

Garder le solide dans le tube (éliminer le surnageant).

Laver avec 5 mL d'acétone (mesurer avec une éprouvette graduée).

Centrifuger le mélange pendant 5 minutes.

### 3.5. Laver avec le méthanol

Garder le solide dans le tube (éliminer le surnageant)

Laver avec 5 mL de méthanol (mesurer avec une éprouvette graduée)

Centrifuger le mélange pendant 5 minutes.

### 3.6. Traitement au Chloroforme

Garder le solide dans le tube (éliminer le surnageant).

Transférer le solide dans

En dessous d'une hotte

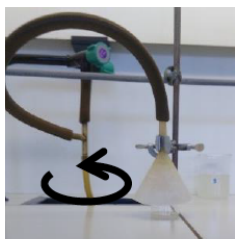
Les introduire dans une



une boîte de Pétri.

aspirante mesurer 5 mL de chloroforme.

boîte de Pétri (En dessous d'une hotte)



Mettre la boîte de Pétri en dessous d'un entonnoir retourné, connecter à un système Venturi.

Remuer le mélange avec un mouvement rotatif.

### 4. Obtention du PHB.

Quand le  
Vous pouvez



chloroforme est entièrement évaporé.  
retirer le film plastique.