

Plán fermentace a fotometrie

Krok 2 a 3: Fermentace glukózy na ethanol pomocí kvasnic

1.4 Filtrace hydrolyzátu

Po hydrolyze filtrujte hydrolyzát pomocí Büchnerovy nálevky.



2. Fermentace

2.1 Příprava živného roztoku (dvousložkový koncentrát)

Podívejte se na rozpis učitele.

2.2 Příprava kultury

1. Přidejte 20 g čerstvých kvasnic do 50 ml živného roztoku a 50 ml destilované H₂O.
2. Kvasnice řádně rozmíchejte.



2.3 Fermentace v bioreaktoru

1. Naplňte fermentor:
 - 400 ml živného roztoku
 - 400 ml filtrovaného hydrolyzátu.
2. Nastavte následující fermentační parametry:
 - anaerobně
 - 30 °C
 - 200 ot/min
 - pH 4,5



Do fermentoru přidejte 100 ml kultury kvasnic – až po nastavení parametrů!

3.1 Odběří vzorků

Vzorky jsou odebrány úplně na začátku (t_0) a během fermentace po 15 (t_1), 45 (t_2), 90 (t_3) a 150 (t_4) minutách. Před každým odběrem vzorků umyjte odebírací ventil.

1. Odeberte 5 ml fermentačního média.
2. Těchto 5 ml vyhoďte.
3. Extrahujte 5 ml fermentačního media ještě jednou.
4. Přeneste pipetou 2 ml fermentačního média do dvou zkumavek (do každé 1 ml) – 1.zkumavka - určení koncentrace glukózy a ethanolu (viz. 3.2.1), 2.zkumavka - určení optické denzity (viz. 3.2.2).
5. Vložte 1.zkumavku (určenou na test glukózy a ethanol) do centrifugy na 1 minutu při 14000 ot/min.
6. Po odstředění pipetou odsajte 500 μ l supernatantu do nové zkumavky.
7. Zmraďte na -20 °C, dokud nebude vzorek potřeba pro fotometrickou determinaci

3.2 Fotometrická determinace

3.2.1 Určení koncentrace glukózy a ethanolu

Při určení koncentrace glukózy a ethanolu si dávajte pozor na:

1. Víčko musí být na kyvetě po každém odběru pipetou a během měření!
2. Určete koncentraci glukózy a ethanolu pomocí přiložených pipetových schémát.



3.2.2 Určení optické density

1. Určete the blank value s 1 ml jednosložkový živné prostředí na 600 nm.
2. Extrahujte 125 μ l z 1 ml vzorku a přidejte to k 875 μ l 1-složkového živného roztoku.
3. Změřte optickou denzitu vzorku při 600 nm a запиšte naměřené hodnoty do přiloženého pracovního listu.

3. Fotometrické měření