

# Erjesztés és fotometriai menetrend

Második és harmadik lépés: Glükóz erjesztése etanollá élesztő segítségével

## 1.4 A hidrolizátum szűrése

Szűrje le a hidrolizátumot a hidrolízist követően egy Nutsche filterrel.



## 2. Erjesztés

### 2.1 Tápoldat előállítása “nutrient medium”

(kétszeresen koncentrált)

Nézze meg a tanárok lapját

### 2.2 A szubkultúra előkészítése

“Preparation of the subculture”

1. Adjon 20 g friss élesztőt az 50 ml kétszeresen koncentrált tápoldathoz, és 50 ml desztillált vizet.
2. Oldja fel a friss élesztőt.



### 2.3 Erjesztés a bioreaktorban

1. Töltse fel a fermentert:
  - 800 ml tápoldattal (kétszeres koncentrációjú)
  - 800 ml szűrt hidrolizátummal

2. Kezdje meg az erjesztést az alábbi paraméterekkel:
  - anaerob közeg
  - 30 °C
  - 200-as fordulat
  - pH 4,5



Rakjon 100 ml szubkultúrát az erjesztőbe, miután megvannak a megfelelő paraméterek.

## 3. Fotometriai mérések

### 3.1 A minta kivonása

A mintákat vonja ki a folyamat kezdetén ( $t_0$ ) és az erjesztés alatt 15 ( $t_1$ ), 45 ( $t_2$ ), 90 ( $t_3$ ) és 150 ( $t_4$ ) percenként.

1. Mossa le a mintavételhez használt csövet minden egyes vételnél, és vonjon ki 5 ml erjesztő közeget.
2. Tegye félre ezt az 5 ml-t.
3. Vonjon ki 5 ml erjesztő közeget még egyszer.
4. Pipettával szedjen ki 1 ml-t a közegből a glükóz- és etanol meghatározáshoz (3.2.1.) és újabb 1 ml-t az optikai sűrűség (OD) méréséhez, két kémcsőbe.
5. Keverje a csövet a glükóz és etanol meghatározásához egy percent keresztül 14 000-es fordulatszámra.
6. A keverés után pipettával szedjen ki 500  $\mu$ l –t a felszínről egy új kémcsőbe.
7. Fagyassza le ezt a kémcsövet -20 °C-ra, amíg meg tudja határozni a glükóz és/vagy az etanol fotometriás tartományát

### 3.2 Fotometriás meghatározás

#### 3.2.1 Az etanol és a glükóz meghatározása

Az etanol meghatározása közben figyeljen a következőkre

1. A fedő mindig legyen a kuvettán minden pipettázós lépés után, a mérések közben.
2. Határozza meg a glükóz koncentrációját és az etanol koncentrációját a hozzáadás sorrendjétől függően.



#### 3.2.2 Az optikai sűrűség meghatározása

1. Határozza meg a vakminta “blank” értékét egy 1 ml-es egyszeres koncentrációjú tápoldattal 600 nm-en. “Determine the blank value with a 1 ml 1-fold nutrient medium at 600 nm.”
2. Vonjon ki 125  $\mu$ l az 1 ml-es mintából, és adja hozzá a 875  $\mu$ l-es egyszeres koncentrációjú tápoldathoz.
3. Mérje le a minta OD-jét 600 nm-en és írja le a becslült értékeket a csatolt dolgozó papírra.