

Ablaufplan Fermentation und Fotometrie

1.4 Abnutschen des Hydrolysats

Nutschen Sie nach Beendigung der Hydrolyse das Hydrolysats ab.



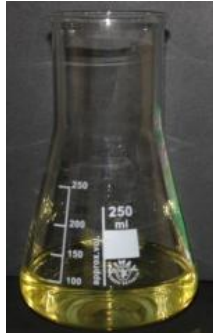
2. Fermentation

2.1 Vorbereitung des Nährmediums (2-fach konzentriert)

Siehe Lehrer-Ablaufplan

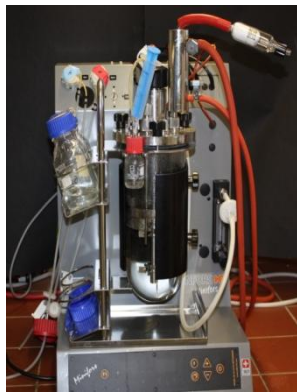
2.2 Ansetzen der Vorkultur

1. Geben Sie zu 50 ml 2-fach konzentriertem Nährmedium und 50 ml H₂O_{dest.} 20 g Frischhefe.
2. Resuspendieren Sie die Frischhefe.



2.3 Fermentation im Bioreaktor

1. Befüllen Sie den Fermenter mit:
 - 800 ml Nährmedium (2-fach konzentriert) und
 - 800 ml des abgenutschten Hydrolysats.
2. Starten Sie die Fermentation mit den folgenden Parametern:
 - anaerob
 - 30 °C
 - 200 rpm
 - pH 4,5



Geben Sie die 100 ml Vorkultur erst in den Fermenter, nachdem die Parameter eingestellt sind!

3. Fotometrische Messungen

3.1 Probenentnahme

Es werden Proben zu Beginn (t_0) und während der Fermentation nach 15 (t_1), 45 (t_2), 90 (t_3) und 150 (t_4) Minuten entnommen.

1. Spülen Sie das Probenentnahmerohr jeweils vor der eigentlichen Probenentnahme durch Entnahme von 5 ml Fermentationsmedium.
2. Verwerfen Sie diese 5 ml.
3. Entnehmen Sie erneut 5 ml Fermentationsmedium.
4. Überführen Sie 1 ml des Mediums für die Glucose- und Ethanolbestimmung (3.2.1) und 1 ml für die OD-Messung (3.2.2) in ein Reaktionsgefäß und stellen Sie dieses auf Eis.
5. Zentrifugieren Sie eines der beiden Reaktionsgefäße für eine Minute bei 14000 rpm.
6. Überführen Sie 500 μ l des Überstandes in ein neues Reaktionsgefäß.
7. Frieren Sie den Überstand bei -20 °C bis zur fotometrischen Bestimmung von Glucose bzw. Ethanol ein.

3.2 Fotometrische Bestimmung

3.2.1 Bestimmung von Ethanol und Glucose

1. Beachten Sie während der Ethanolbestimmung:
Nach jedem Pipettierschritt und während der Messung muss ein Deckel auf der Küvette sein!
2. Bestimmen Sie die Konzentration von Glucose und Ethanol gemäß den beigefügten Pipettierschemata.



3.2.2 Bestimmung der Optischen Dichte

1. Bestimmen Sie den Leerwert mit 1 ml 1-fach Nährmedium bei 600 nm.
2. Entnehmen Sie von 1 ml Probe 125 μ l und geben Sie 875 μ l 1-fach Nährmedium hinzu.
3. Messen Sie die OD der Probe bei 600 nm.
4. Übertragen Sie die gemessenen Werte in das beigefügte Datenblatt.