

# Fermentacijos ir fotometrijos aprašas

Žingsniai 2 ir 3: gliukozės fermentacija į etanolį naudojant mieles.

## 1.4 Hidrolizato filtravimas

Hidrolizei pasibaigus filtruokite hidrolizatą Nutsche filtru.



## 2. Fermentacija

**2.1 Mitybinės terpės paruošimas (2-fold concentrated)** Žiūrėti į mokytojo aprašymą.

### 2.2 Subkultūros paruošimas

- Įdėkite 20 g šviežių mielių į 50 ml 2-fold concentrated mitybinės terpės ir 50 ml distiliuoto H<sub>2</sub>O.
- Sumaišykite šviežias mieles.



### 2.3 Fermentacija bioreaktoriuje

- Pripildykite fermentatorių - 800 ml mitybinės terpės (2-fold concentrated) ir - 800 ml filtruoto hidrolizato.
- Pradėkite fermentaciją pagal šiuos kriterijus:
  - anaerobinės sąlygos
  - 30 °C
  - 200 rpm
  - pH 4,5



Dėkite 100 ml subkultūros į fermentatorių tik tada, kai parametrai nustatyti!

## 3. Fotometriniai matavimai

### 3.1 Mėginių paėmimas

Mėginiai yra paimami pačioje pradžioje ( $t_0$ ) ir fermentacijos metu po 15 ( $t_1$ ), 45 ( $t_2$ ), 90 ( $t_3$ ) ir 150 ( $t_4$ ) minučių.

- Išplaukite mėginio ištraukimo vamzdelį prieš kiekvieno mėginio paėmimą ir paimkite 5 ml mitybinės terpės.
- Išmeskite 5 ml.
- Dar kartą paimkite 5 ml mitybinės terpės.
- Lašinkite 1 ml terpės gliukozės ir etanolio nustatymui (3.2.1) ir dar 1 ml optinio tankio (OD) matavimui (3.2.2) dviejuose mėgintuvėliuose.
- Centrifuguokite mėgintuvėlį gliukozės ir etanolio nustatymui 1 minutę 14000 rpm.
- Po centrifugavimo įlašinti 500  $\mu$ l viršutinio skysčio sluoksnio į naują mėgintuvėlį.
- Šaldykite šį mėgintuvėlį -20 °C temperatūroje iki gliukozės arba etanolio fotometrinio nustatymo.

### 3.2 Fotometrinis nustatymas

#### 3.2.1 Gliukozės ir etanolio nustatymas

Etanolio nustatymo metu kreipkite dėmesį į:

- Kiuvetė turi būti uždengta dangteliu po kiekvieno lašinimo žingsnio ir matavimo metu!
- Nustatykite gliukozės ir etanolio koncentraciją remdamiesi prie pipetės pridėtomis schemomis.



#### 3.2.2 Optinio tankio nustatymas

- Nustatykite the blank value with a 1 ml 1-fold mitybinės terpės at 600 nm.
- Paimkite 125  $\mu$ l of the 1 ml mėginį ir įdėkite į 875  $\mu$ l 1-fold mitybinę terpę.
- Išmatuokite mėginio OD at 600 nm ir parašykite gautas vertes į pridėtą darbo aprašo lapą.