

Лабораторна робота № 3

Тема: Методи відділення цільового продукту (клітинної маси)

Мета роботи: знайомство з методами, що застосовують для відділення готового продукту: відділення продукту (клітинної маси) методом осадової фільтрації, методом мембранної фільтрації, методом центрифугування.

Обладнання та матеріали: мембранні фільтри; установка для фільтрації; паперові фільтри; целюлозне волокно; колба Бунзена; воронка Бюхнера; центрифуга з центрифужними пробірками; мірні циліндри на 100 см³; стакани об'ємом 250 см³; флокулянти (наприклад, розчин поліакриламід); ваги; зважені бюкси; зразки сумішей (культура дріжджів, змішана культура мікроорганізмів аеробного активного мулу).

ІНСТРУКЦІЯ

Завдання 1. Визначити кількість продукту (клітинної маси) методом осадової фільтрації.

Порядок виконання роботи

1. Приєднати воронку до колби Бунзена, з'єднати колбу з водострумним насосом. На воронку покласти великопористий фільтрувальний папір, на неї налити суспензію целюлозного волокна у воді. На фільтрі повинен вийти рівний шар целюлози товщиною 0,5-1 см.

Якщо немає можливості використовувати целюлозне волокно - фільтрація через паперовий фільтр.

2. Профільтрувати 250 мл суміші, що розділяється. Оцінити (візуально) ступінь прозорості відфільтрованої рідини. Зняти шар обложених клітин, зважити, розмістити у бюкс.

3. Розрахувати сиру клітинну масу (г/л):

(Вага бюкса з клітинами, г, - Вага порожнього бюкса, г) / Об'єм рідини, мл, × 1000 (1000 - перерахунок в г/л).

Оцінити ступінь забрудненості клітин фільтруючим матеріалом (візуально).

Завдання 2. Визначити кількість продукту (клітинної маси) методом мембранної фільтрації

Порядок виконання роботи

1. Зважити мембранний фільтр. Профільтрувати через мембранний фільтр 50-100 мл суміші. Оцінити ступінь прозорості фільтрату.

2. Зважити фільтр з осадом.

3. Розрахувати сиру клітинну масу (г/л):

(Вага фільтра з клітинами, г, - Вага порожнього фільтра, г)/ об'єм рідини × 1000 мл.

Завдання 3. Визначити кількість продукту (клітинної маси) методом центрифугування.

Порядок виконання роботи

1. Зважити дві центрифужні пробірки. Виміряти обсяг рідини, що поміщається в пробірку. Налити в пробірку досліджувану суміш. Поставити пробірки в центрифугу. Пробірки повинні бути однаково наповненими і попарно врівноваженими. Одягти кришку, загвинтити. Закрити кожух. Виставити час центрифугування. Включити центрифугу. До повної зупинки центрифуги відкривати кришку не можна!

2. Поділ центрифугуванням виконується протягом 5 хв. у двох варіантах - при швидкості 1000 і 8000 об/хв. Про закінчення процесу візуально оцінити прозорість рідини, злити надосадову рідину. Зважити пробірку з осадом, розрахувати концентрації біомаси (г / л).

Поділ центрифугуванням виконується протягом 5 хв. у двох варіантах - при швидкості 1000 і 8000 об/хв. Про закінчення процесу візуально оцінити прозорість рідини, злити надосадову рідину.

3. Зважити пробірку з осадом, розрахувати концентрації біомаси (г / л).

4. Розрахувати сиру клітинну масу (г/л):

(Вага пробірки з клітинами, г, - Вага порожньої пробірки, г) / об'єм рідини, мл, × 1000 (1000 - перерахунок в г/л).

Завдання 4. Порівняти отримані результати оцінки концентрації клітин в середовищі. Вказати причини розходження результатів оцінки.

Порівняти методи, зробити висновок про ефективність кожного з них.

Контрольні питання:

1. Що може виступати в ролі кінцевих продуктів у біотехнологічних процесах?

2. Які основні етапи в отриманні біотехнологічних продуктів ви можете назвати?

3. Які властивості використовують для відділення кінцевих продуктів?

4. Які методи відділення кінцевих продуктів використовують в біотехнології?

5. Як можна відділити клітинну біомасу від середовища?

6. Що використовують для виділення кінцевих продуктів, що знаходяться в клітинах?

7. Які методи застосовують для виділення продуктів, що накопичуються в культуральному середовищі?

8. Які методи оцінки концентрації клітин в середовищі ви знаєте?