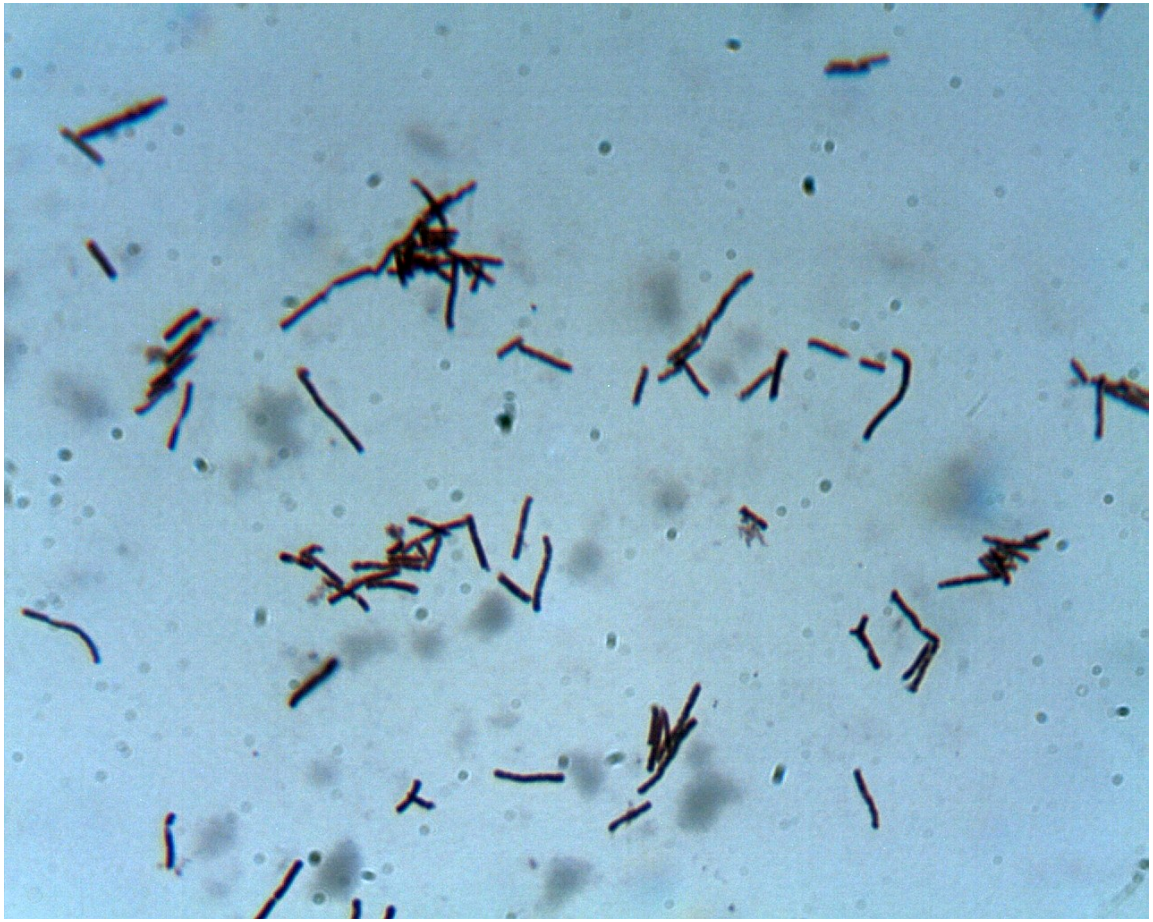
Fotometrische Bestimmung von PHB aus Lactobacillus acidophilus.



Was ist 3-PHB

- Ein Polymer aus 3-Hydroxybuttersäure
- Ein Ester
- Reservestoff von Blaualgen
- Reservestoff von Milchsäurebakterien, vielen anderen Bakterien aber auch Mensch

Eigenschaften von 3-PHB

- Hydrophob
- Als Reinstoff spröde
- Unlöslich in Ethanol, Aceton o.ä.
- Schmelzpunkt etwa 175°C
- Zugfestigkeit 20-31 Mpa (wie Polypropylen)
- Biologisch abbaubar
- Unlöslich in kaltem Chloroform oder Dichlormethan

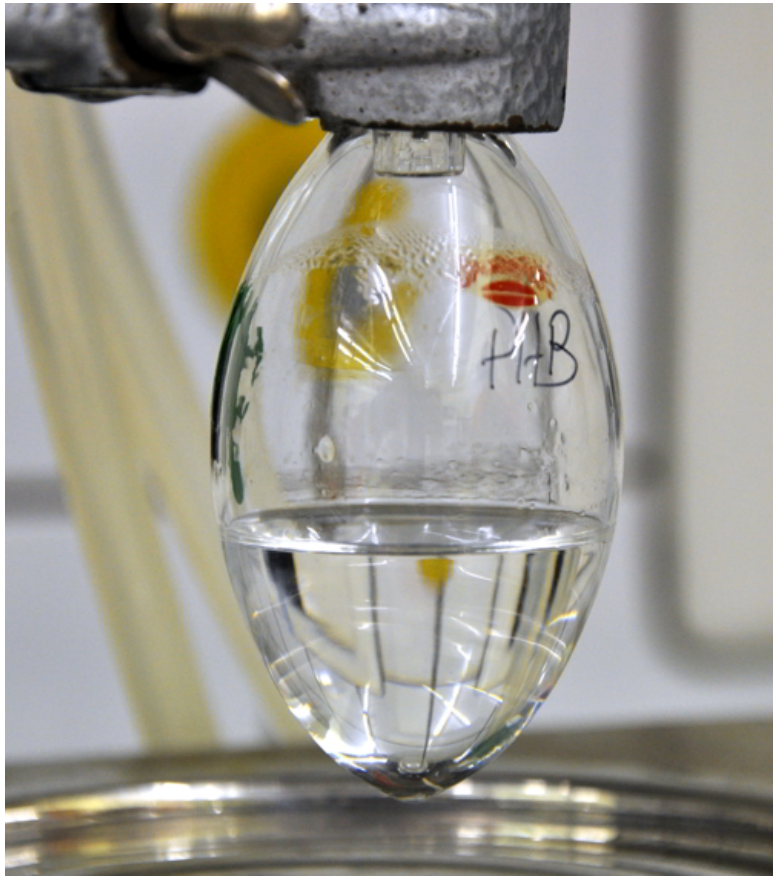
Solubilisieren von 3-PHB

Probe in kaltem Chloroform ist eine trübe Angelegenheit

Solubilisieren von 3-PHB

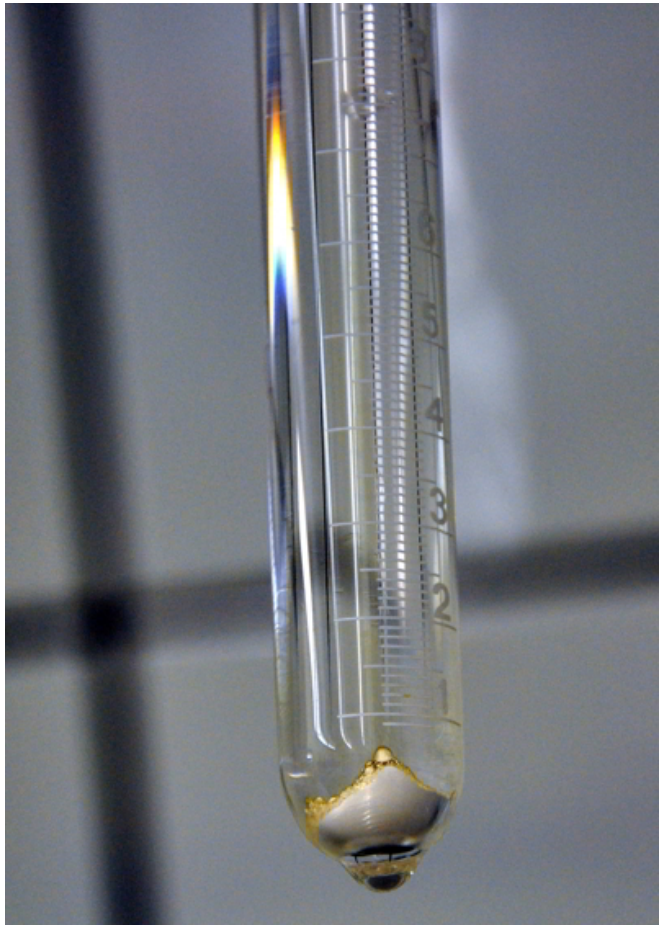
In Chloroform bei 65°C für 3 Stunden unter Rückfluss kochen (je nach Kristallstruktur)

Solubilisieren von 3-PHB



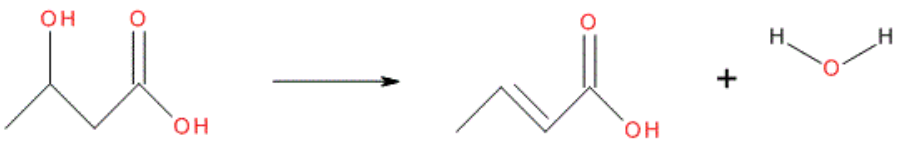
In kaltem Chloroform nach dem Rückflussieren auch bei Raumtemperatur eine klare Sache

Vorbereitung für die Analyse



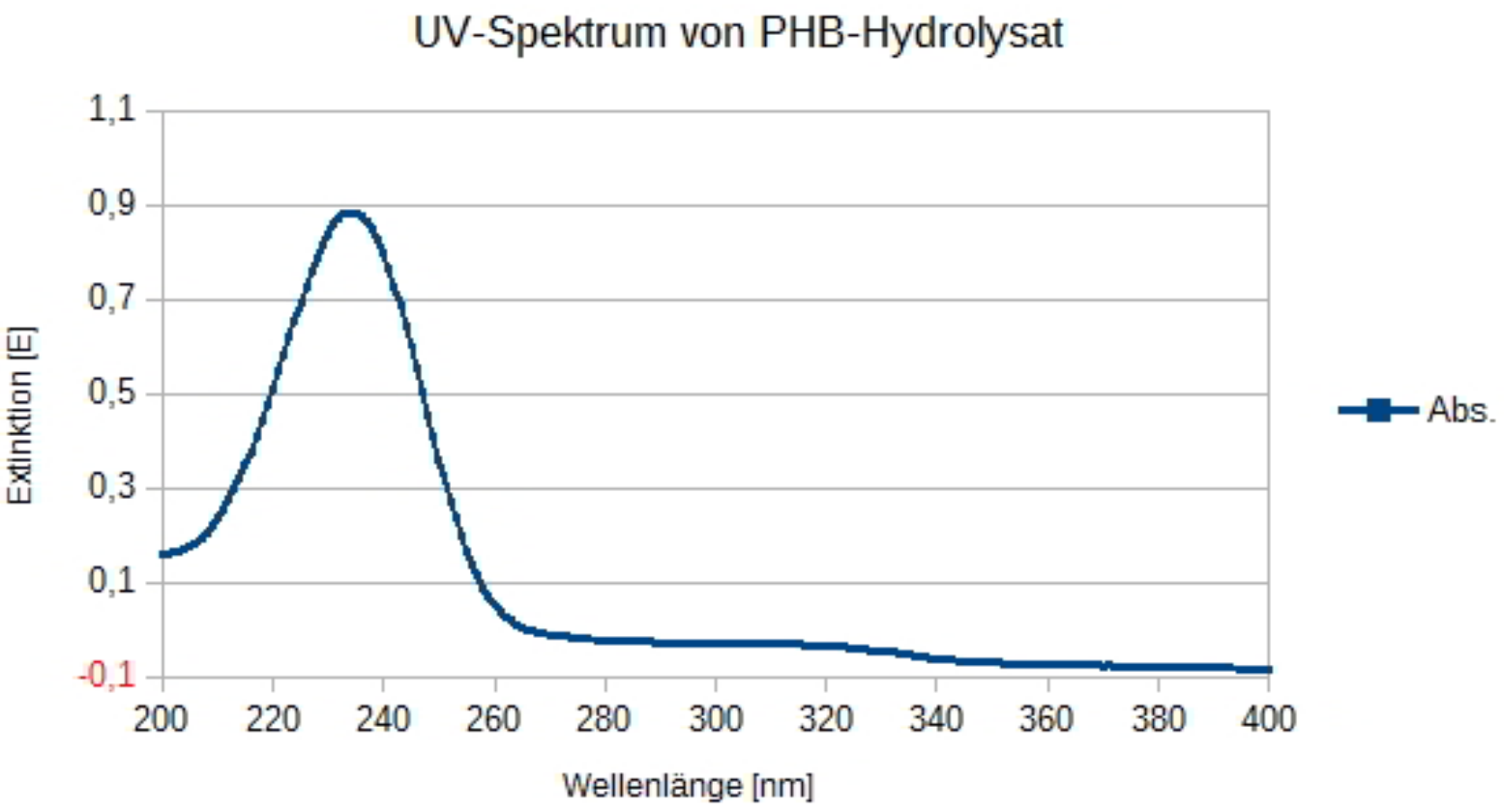
- Einengen des in Chloroform gelösten PHB bis zur Trockne
- Probe und PHB-Standard in konz. H_2SO_4 aufnehmen

Hydrolyse des PHB bei 100°C

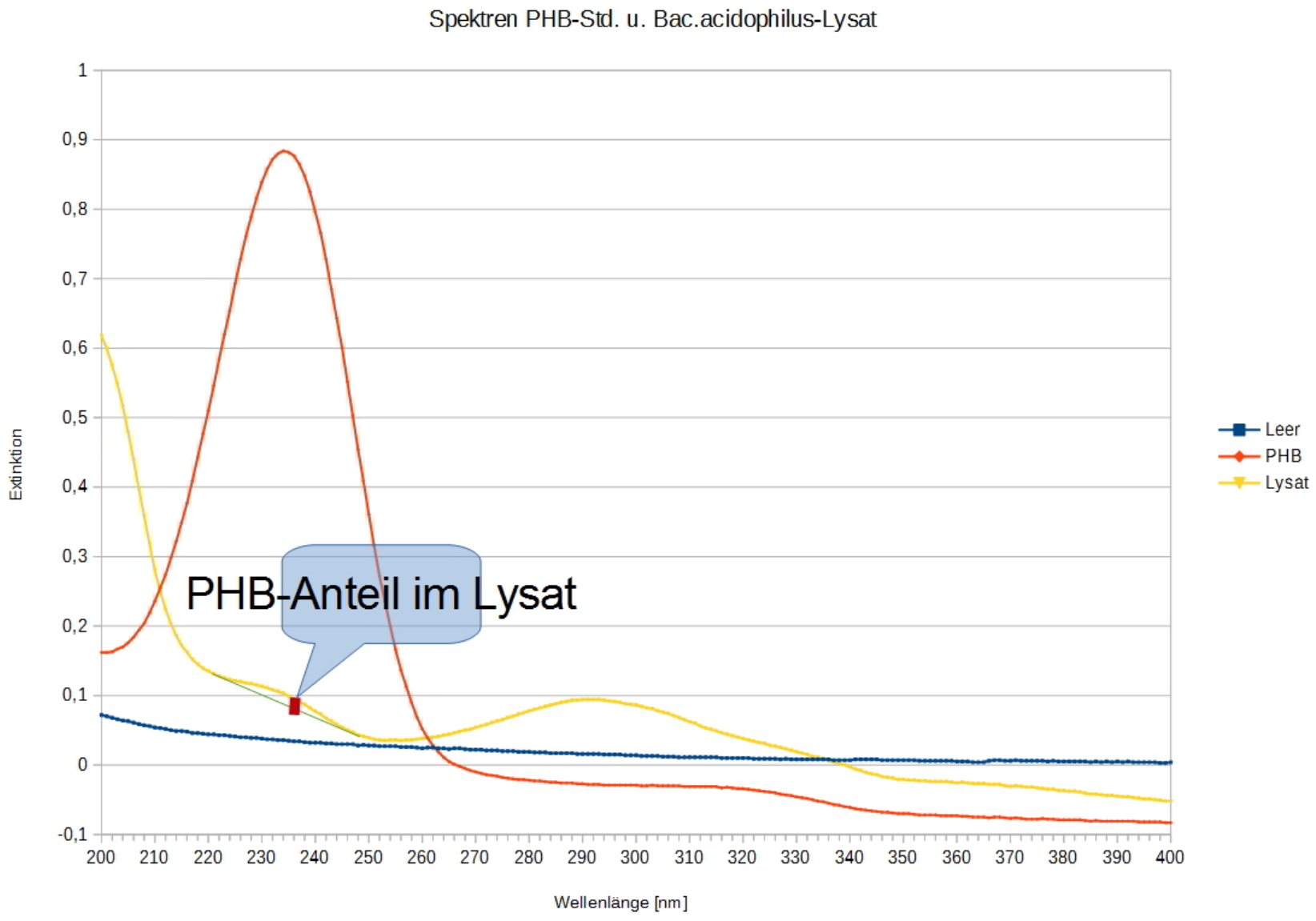


Neben der Verseifung des Esters kommt es zu einer quantitativen Eliminierung, die in stark saurer Umgebung Licht oberhalb von 200 nm absorbiert.

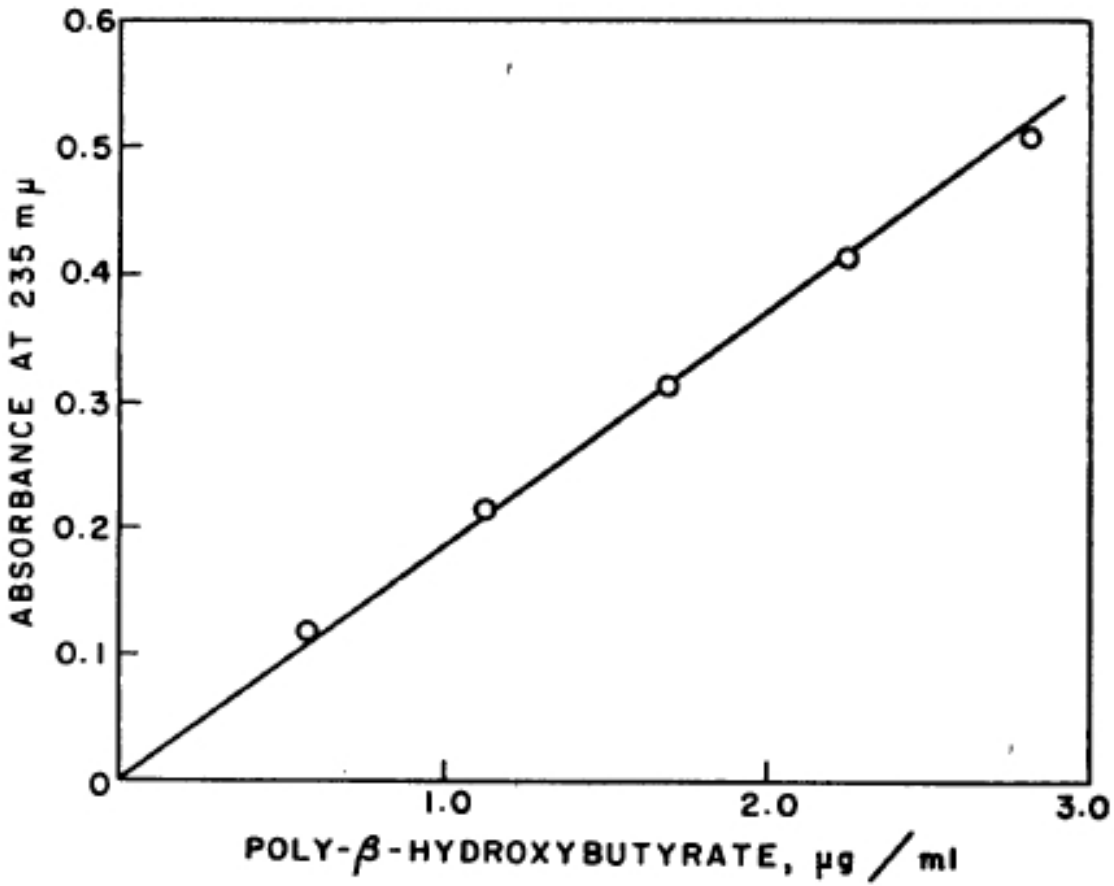
Spektrum der But-3-ensäure



Hydrolysate von Standard & Probe



PHB-Kalibration Law & Slepecky (1960)

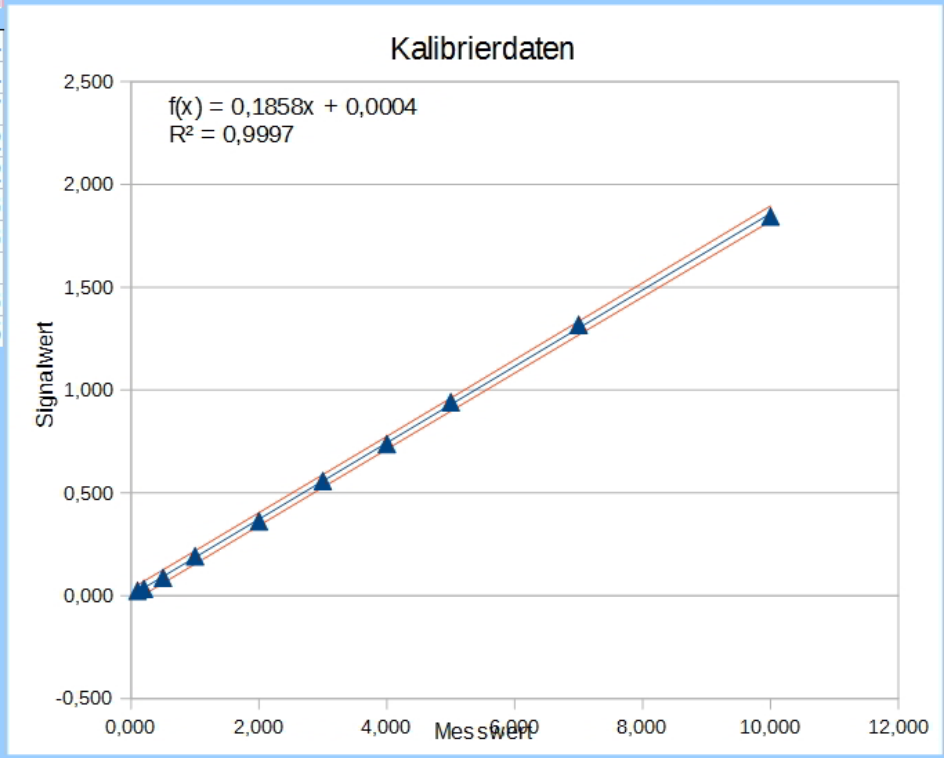


Aktuelle Kalibration

PHB_Test.ods - LibreOffice Calc

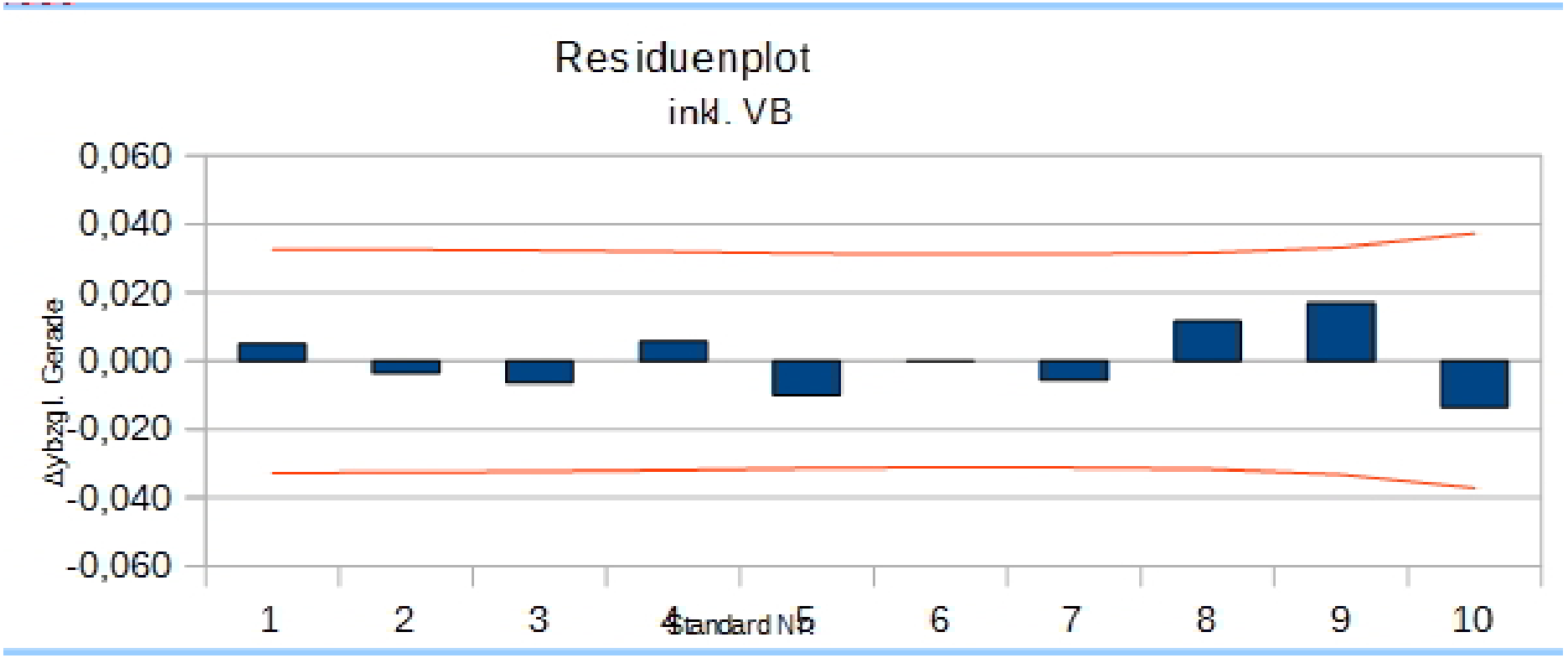
Standard Nr.	c Kal.std.	Signalwert
1	0,100	0,024
2	0,200	0,034
3	0,500	0,087
4	1,000	0,192
5	2,000	0,362
6	3,000	0,558
7	4,000	0,738
8	5,000	0,941
9	7,000	1,318
10	10,000	1,845

Standards:	10
M je Std:	1
P VB (%):	99
\alpha (%):	1
k:	3
NWG:	0,176
EG:	0,353
BG:	0,605



Anstieg:	0,1858	+/-	0,001
Y-Absch.:	0,0004	+/-	0,005
R²:	0,9997		
syx:	0,0103		
sx0:	0,0553		
Qx:	96,7160		

Residuenplot und Messbereich



Das ergibt einen Messbreich von 0,6 bis 10 µg / ml

Mission erfüllt?

- Konz. H_2SO_4 ist viskos (Pipettierproblem)
- Konz. H_2SO_4 ist hohes Risiko für Gerät und Mensch
- GC als alternatives Verfahren nach Verseifung und S_{N2}