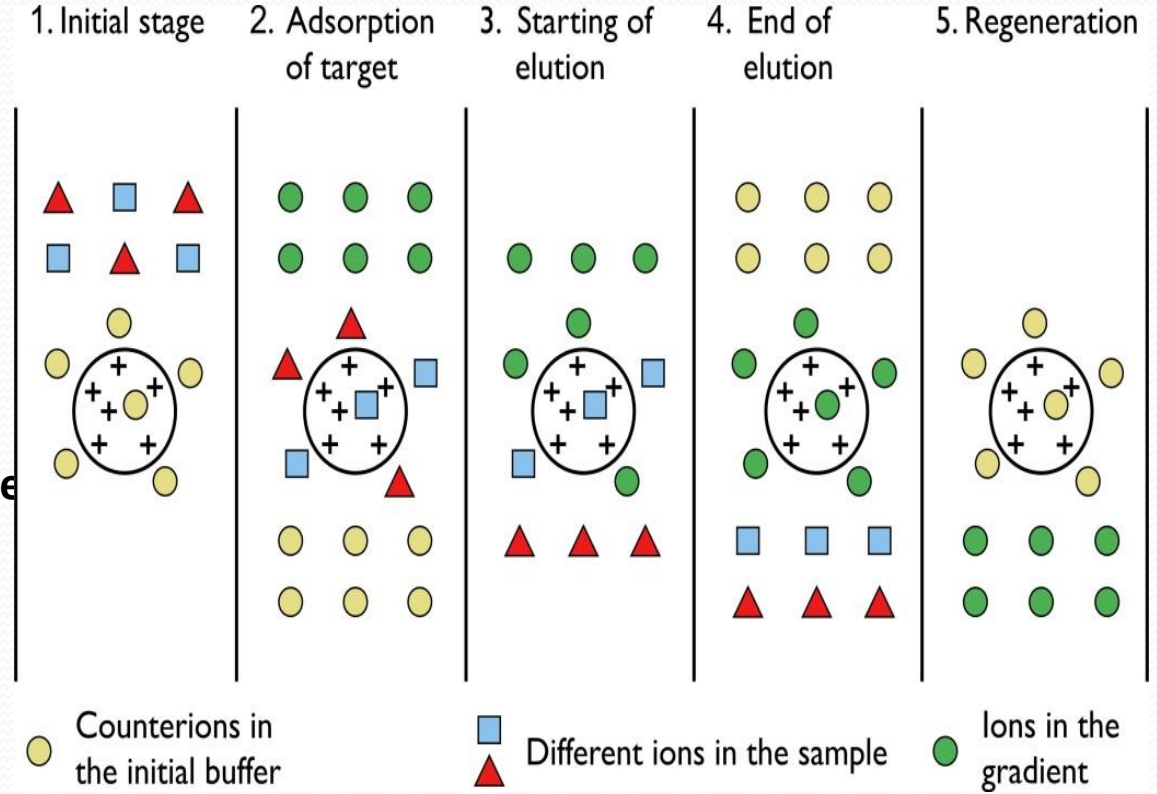


12. HAFTA

- KROMATOGRAFİK TEKNİKLER
- İnce tabaka kromatografisi
- Kağıt kromatografisi (Uygulama)

İyon-değişim kromatografisi

- Moleküller net yüklerine göre ayrılırlar.
- Durgun faz: iyon-değişim rezini
- Hareketli faz: sulu çözelti
- Örnek: sulfonik asit gruplu rezinler ($-\text{SO}_3^-$) genellikle tuz halinde kullanılır (SO_3Na). Numunedeki pozitif yüklü kısım rezin ile elektrostatik etkileşime girer.

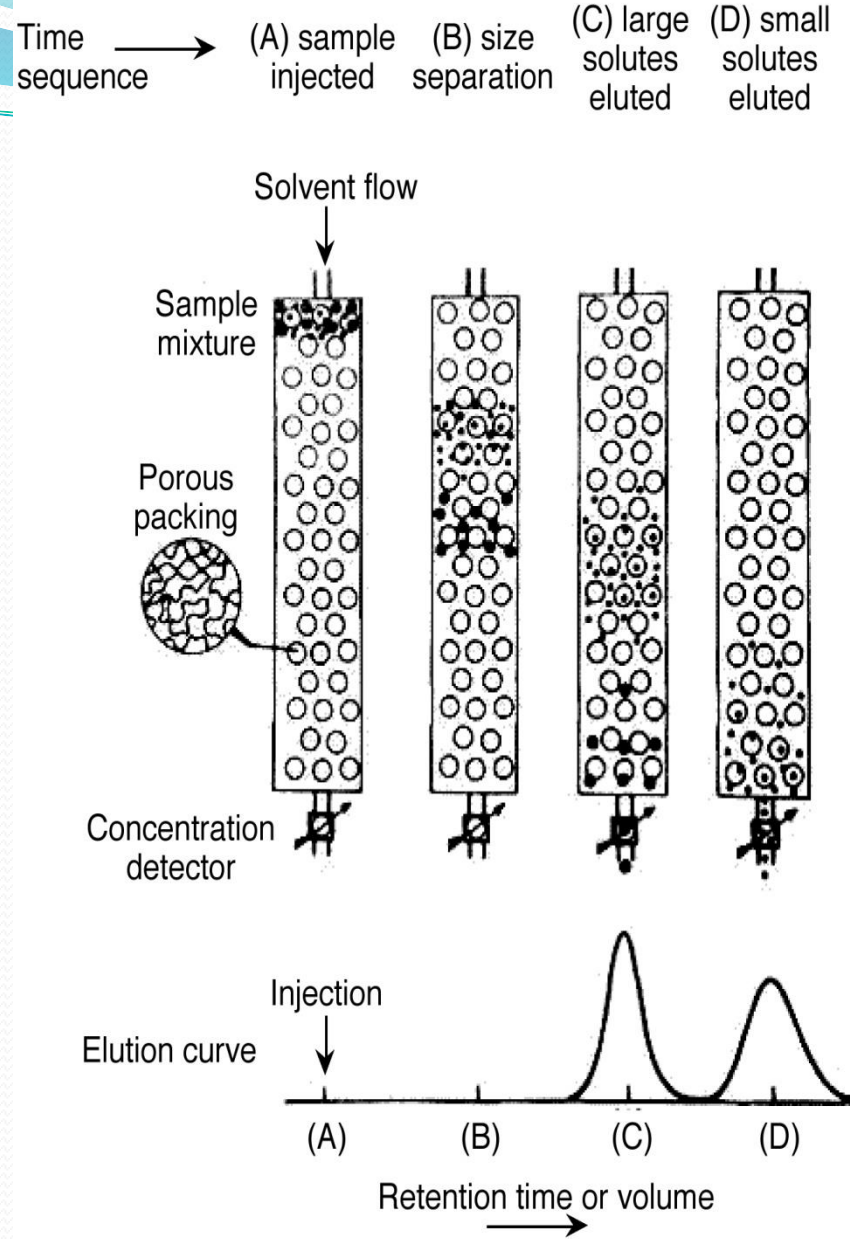


Boyut-dışlama kromatografisi

- Moleküller şekil ve büyüklüklerine göre ayrılırlar.
- Durgun faz: küresel jel parçacıklar
- Hareketli faz: sulu çözelti
- Küçük proteinler daha yavaş hareket eder, büyükler ise hızlıca kolondan geçerler.
- Dextran jeller: Sephadex

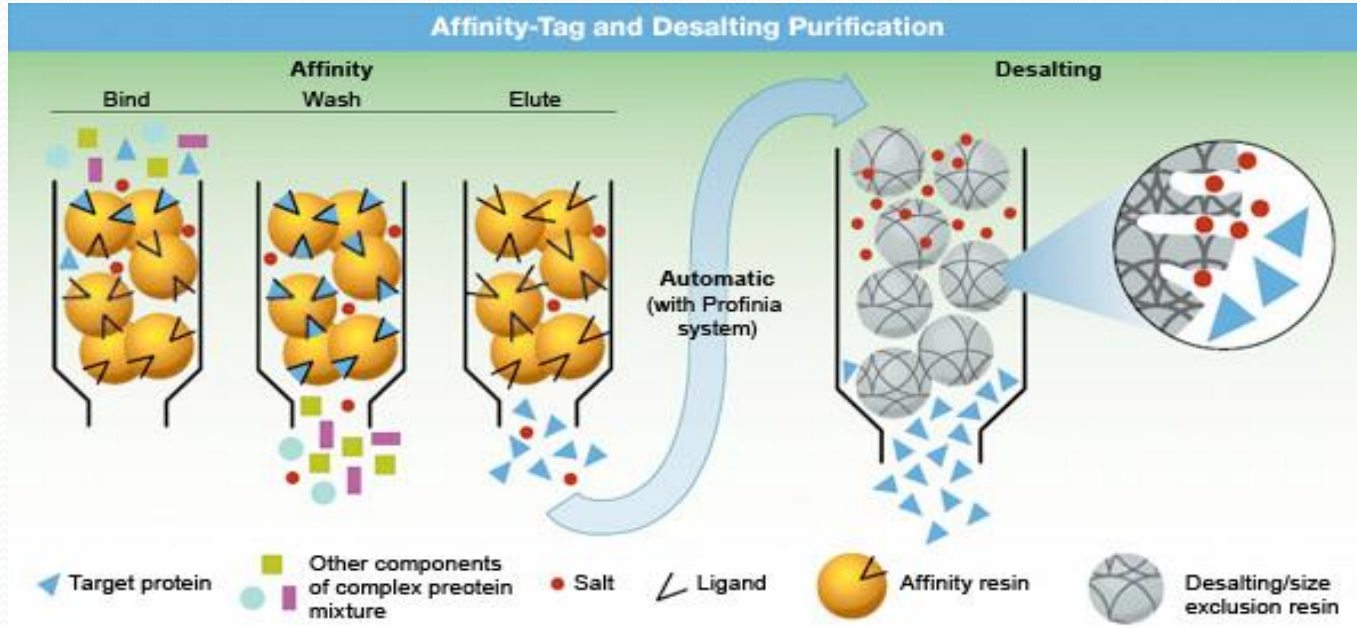
Table 3.1 Properties of Sephadex Gels

Type	Fractionation Range (Daltons)	Water Regain (ml/g dry gel)	Bed Volume (mL/g dry gel)
G-25	1 000 – 5 000	2.5	4 – 6
G-50	1 500 – 30 000	5.0	9 – 11
G-75	3 000 – 80 000	7.5	12 – 15
G-100	4 000 – 150 000	10.0	15 – 20
G-200	5 000 – 600 000	20.0	30 – 40



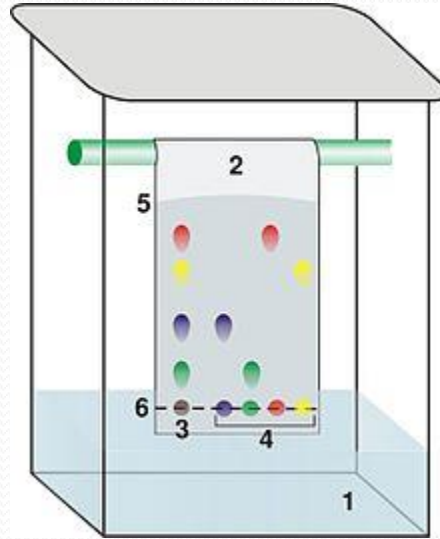
Affinite kromatografisi

- Moleküller biyolojik seçiciliğe göre ayrılırlar.
- Durgun faz: ligand ya da substrat bağlı matriks
- Hareketli faz: sulu çözelti
- Özellikle enzimlerin saflaştırılması için kullanılır.



İNCE TABAKA KROMATOĞRAFİSİ

- İnce tabaka kromatografisi, bir “katı-sıvı adsorpsiyon kromatografisidir.” Bu yöntemde sabit faz, çeşitli boyutlardaki cam plakalar üzerine, ince bir tabaka halinde sıvanmış katı emici maddedir. Bu kromatografi türünde hareketli fazın, sabit faz üzerinden ilerleyişi, aşağıdan yukarı doğru olur. Çözücü, kılcalık etkisi ile içerisine daldırılan ince tabaka plakası üzerinde yürür.



- Uygulamada ince tabaka ve kağıt kromatografisi teknikleri esas alınarak amino asit çözeltileri ayrıştırılacaktır. Her bir amino asitin RF değerlerine göre tayinleri gerçekleştirilecektir.
- Öğrenciler çalışma öncesinde üçerli gruplar halinde organize edilecektir.
- Öğrencilere ilgili uygulamayı yaparken gereksinim duyacakları tüm sarf malzemeleri, kimyasallar, başta cam malzemeler olmak üzere laboratuvar ekipmanları ve gerektiği durumda makine-teçhizat olanakları sunulacaktır.
- Her bir öğrencinin uygulama dahilinde diğer tüm gruplara verilen konulardan sorumlu olacakları anımsatılacaktır.
- Öğrencilerin uygulamalarının bitiminde laboratuvardan çıkmaksızın hemen kendilerine verilen deney rapor tutunaklarına uygulama kapsamındaki gözlemlerini ve sonuçlarını rapor etmeleri istenecektir.
- Öğrencilerinden kullandığı her türlü malzemeyi yerlerine kaldırması istenecektir, gerektiği durumunda temizlik işlerine yardım etmeleri beklenecektir.
- Laboratuvar emniyeti ve temizliği sağlandıktan sonra çıkmalarına yönelik izin verilecektir.