

Kromatografi ve Fermentasyon Laboratuvarı (KFL)

Kromatografi ve Fermentasyon Laboratuvarı kromatografik ayırım, miktarlama, saflaştırma ve farklı kapasitelerde biyokütle üretimi üzerine faaliyet göstermektedir. Bu amaçla Laboratuvarımızda Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Cihazı (HPLC), Hızlı Performanslı Sıvı Kromatografisi Cihazı (FPLC) ve farklı kapasitelerde fermentör cihazları mevcuttur. Laboratuvarımız ODTÜ ve diğer üniversitelerle beraber kamu ve endüstriye analiz desteği sağlamakta, cihaz kapasitesi ve yetkin personeli ile ODTÜ ve Türkiye için nitelikli bir laboratuvar olma yolunda çalışmalarını sürdürmektedir.

YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOGRAFİSİ CHAZI

Laboratuvarımızda bulunan HPLC cihazı (Varian Prostar) 4 farklı analiz şartını kontrol edebilen, tam otomatik-entegre bir sistemdir. (Şekil 1).



Şekil 1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Cihazı

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi gıda- içecek endüstrisi, çevre mühendisliği, tıp, endüstriyel kimya, ziraat, farmakoloji vb. çok çeşitli alanlarda kimyasal ayırım, saflaştırma, tespit etme ve miktar belirleme amacıyla kullanılır.

Dedektörler:

Photo-Diode Array Dedektör (Prostar 330 PDA):

UV-VIS-NIR : 190- 700 nm (aynı zamanlı 5 farklı dalga boyunda analiz)

Floresan Dedektör (ProStar 363)

Dalga boyu : 200-731 nm standart; 200-900 nm

Refraktif İndeks Dedektör (ProStar 350)

Analiz limiti: 0,05 - 3 µg/mL

Çalışma ısı aralığı: 30 - 50°C

Elektrokimyasal Dedektör (ED50 Dionex):

İletkenlik, doğrudan akım amperometre ve entegre amperometre olmak üzere 3 temel elektrokimyasal prensibe göre çalışır.

Temel Prensip:

Yüksek performanslı sıvı kromatografi sistemi (HPLC) bir örneğin, hareketli sıvı faz ve durgun katı faz arasında yüzeye tutunma ve dağılımına bağlı olarak ayrılmasına dayanır. Genel olarak örnek hazırlama, cihaz şartlanması ve data analizi çalışmalarını içerir (Şekil 2).



Şekil 2. HPLC'de genel olarak çalışma safhaları.

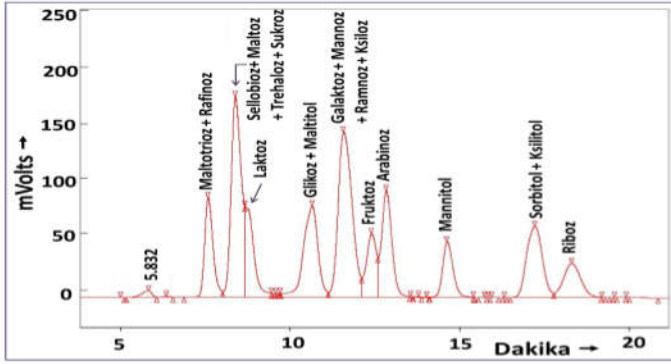
Analizler:

Nitelik ve nicelik olarak analiz edilmesi gereken, gıda endüstrisi, çevre araştırmaları, farmakoloji ve moleküler biyoloji gibi farklı alanlardan gelen maddeleri analiz etmek mümkündür.

Analiz Profili

- ✓ Sakkarit/Polisakkaritler
- ✓ Organik asitler
- ✓ İlaç hammaddeleri
- ✓ Vitaminler
- ✓ İyonlar
- ✓ Metabolitler
- ✓ Nükleotitler,...

Örnek çalışma: Meyve suyunda sakkarit ve polisakkarit taraması



Şekil 3. Meyve suyunda sakkarit/polisakkarit profili taraması

AKREDİTE METOTLAR



ODTÜ MBB KFL “TS EN ISO/IEC 17025 kapsamında TS EN 12630 Meyve ve Sebze Suları Glukoz, Fruktoz, Sorbitol ve Sakaroz Muhtevası Tayini – Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi Metodu” standartından 31 Aralık 2013 tarihi itibariyle TÜRKAK’tan akreditedir.

HIZLI PERFORMANSLI SIVI KROMATOGRAFİSİ CİHAZI

Laboratuvarımızda bulunan Hızlı Performans Sıvı Kromatografisi (FPLC), ikili bir pompa, UV-Vis ve floresans dedektörleri, enjektör birimi ve fraksiyon toplama parçalarından oluşmuştur (VARIAN ProStar FPLC). Sistem mikro düzeyde saflaştırma, FLCP, düşük basınçta saflaştırma, preparatif, HPLC analizleri yapmak için uygundur. Aynı zamanda protein, peptid ve nükleik asit ayırımlarını yaklaşık birkaç saat içerisinde gerçekleştirebilir (Şekil 4).



Şekil 4. Hızlı Performanslı Sıvı Kromatografisi Cihazı

(VARIAN ProStar).

Temel Prensi:

FPLC, HPLC sistemiyle prensip olarak aynı şekilde çalışır. Farklı olarak daha yüksek akış hızlarında çalışarak proteinlerin kısa bir zaman içerisinde preparatif olarak saflaştırılmasına olanak sağlar. HPLC’den kullanılan çelik kolonlardan farklı olarak PVC kolonlar kullanılır.

Dedektörler:

✓ UV-Vis dedektör

Ksenon flaş lambası hem UV hem görünür bölge aralığında çalışır (190-700nm).

✓ Floresans dedektör

Floresans dedektörüyle luminesans, fosforesans, kemilüminesans ve bioluminesans ölçümleri mümkündür.

Kullanılan kolonlar:

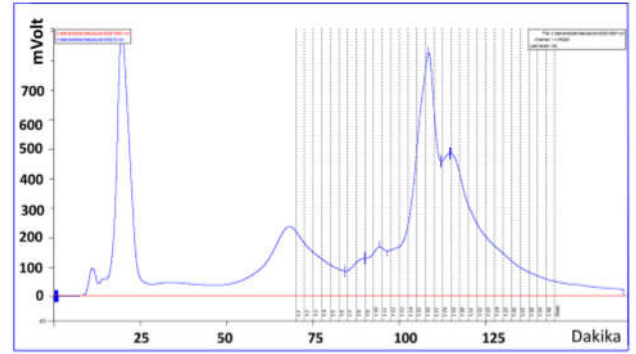
HiLoad 16/60 Superdex 75/200 pg
HiPrep 16/60 Sephacryl S-100-200 HR
HiPrep 16/10 SP/Q XL

Analizler

- Jel filtrasyon ve iyon-değişim metodu ile protein saflaştırma
- Molekül ağırlığı bulma

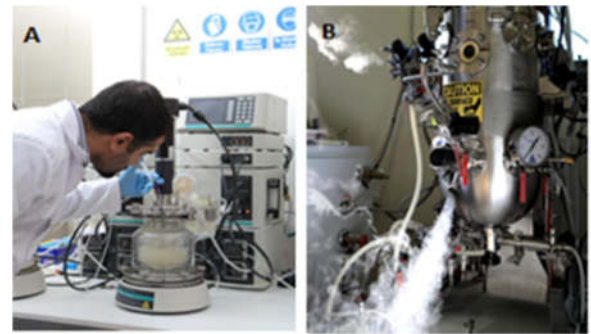
Örnek çalışma:

Ham enzim numunesinde jel filtrasyon kolonu (HiPrep 16/60 Sephacryl S-100HR) kullanılarak saflaştırma ve belli zamanlardaki fraksiyonları toplama (Şekil 5).



FERMENTÖRLER

Fermentasyon ünitesi 2 adet 1L’lik, 1 adet 5 L’lik (New Brunswick Scientific BioFlo 110) ve 1 adet 20 L’lik fermentörleri (New Brunswick Scientific BioFlo 510) içerir (Şekil 6). Kontrol üniteleri, fermentasyon kapları, gaz karıştırıcı, termal gaz akış kontrol üniteleri; pH/dO₂, pompa, güç ve seviye kontrol üniteleri, karıştırıcı motorlar, ısıtıcı üniteler, pH ve dO₂ problemlerinden oluşan, bağımsız da çalışabilen, entegre sistemlerdir.



Şekil 6. (A) 1L’lik fermentörlere aşı yapılıırken.

(B) 20 L’lik fermentör.

Analiz Profili

Farklı amaçlar için (hücre içi-dışı metabolit takibi vb.) büyük ve küçük ölçekte biyokütle üretimi.

Laboratuvar e-posta: mlabkfl@metu.edu.tr