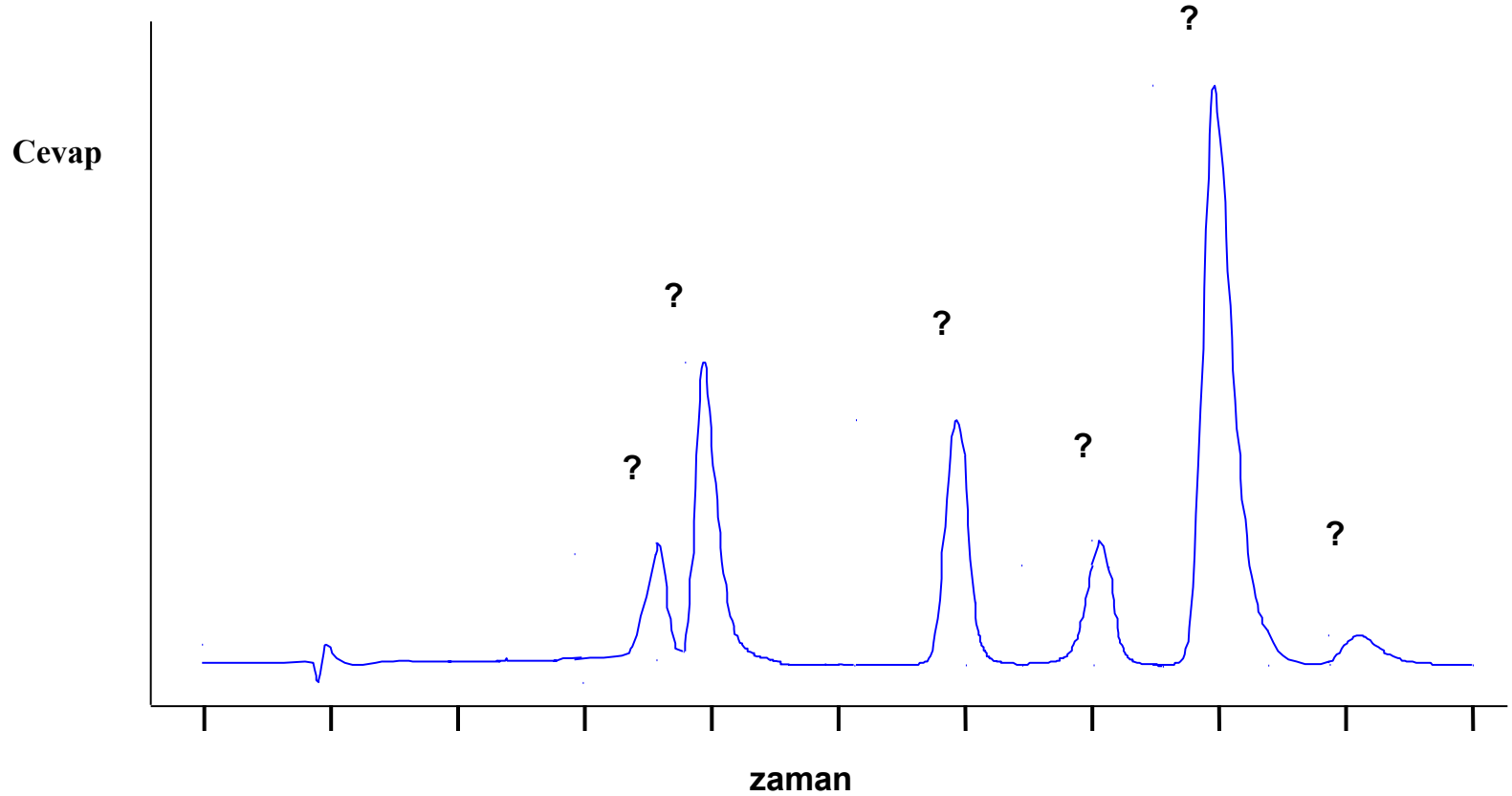


Kalitatif/Kantitatif

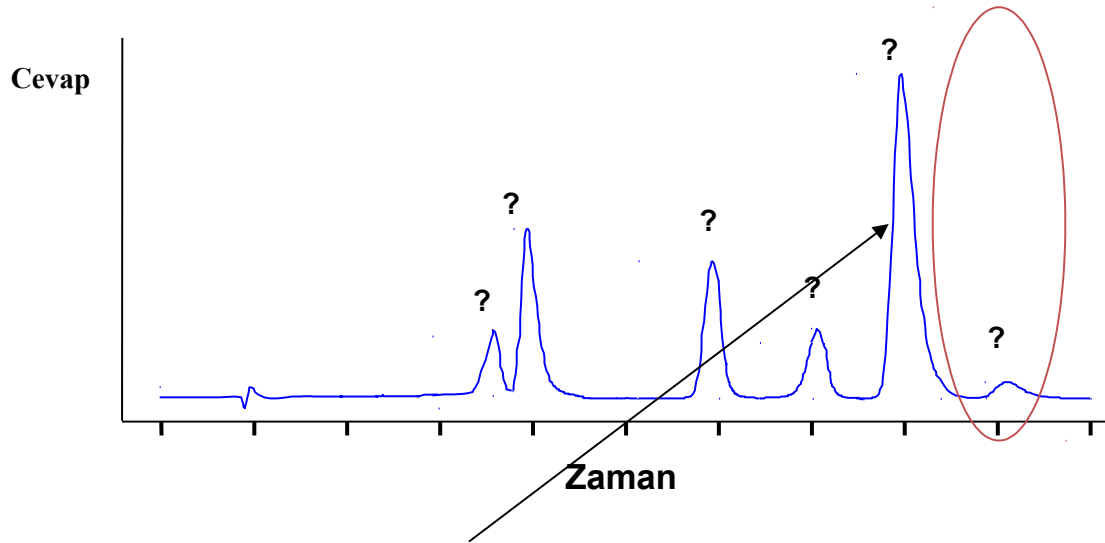
Doç. Dr. Şebnem Budak

Kalitatif Analiz

Amaç, numune karışımı içinde bir bileşiğin teşhisini yapmaktır.



Kalitatif analiz - Teşhis



- Retansiyon Zamanı
- Respons

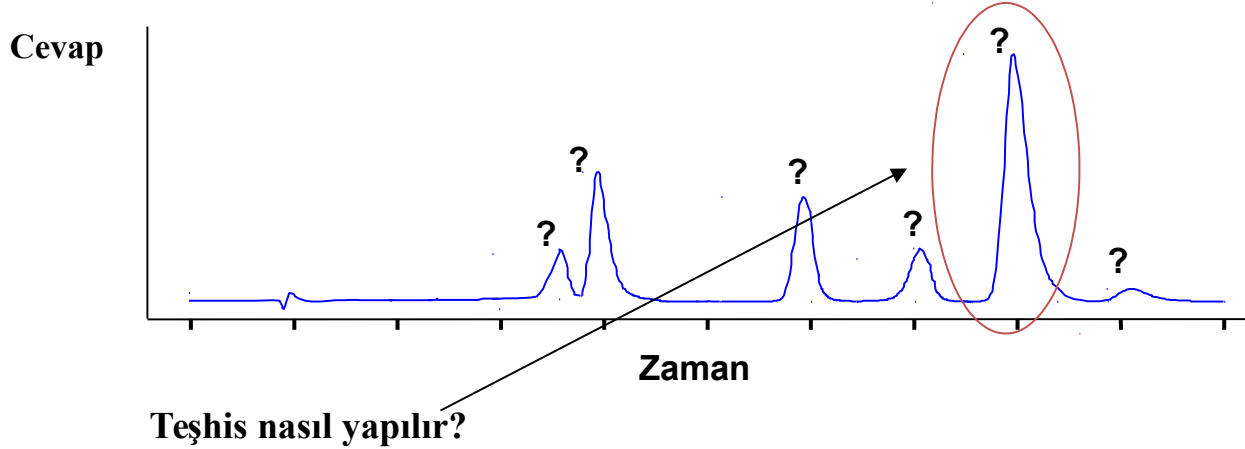
Teşhis nasıl yapılır?

Analitler Retansiyon Zamanı ve cevap özelliklerine göre teşhis edilebilirler.

Cevap özelliği detektöre bağlıdır.

- Seçici Detektörler (MS, ECD, DAD, FLD)
- Selektif Olmayan Detektörler (IR, Light Scattering Detektor, UV-visible Detektor)

Kalitatif Analiz - Teşhis

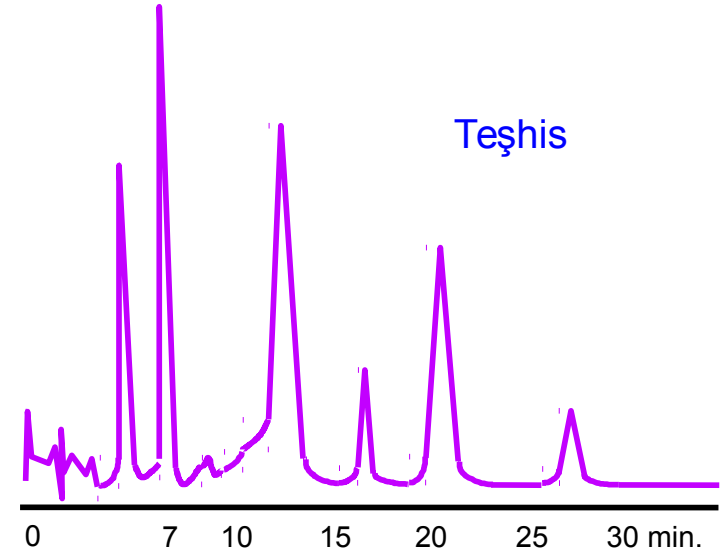
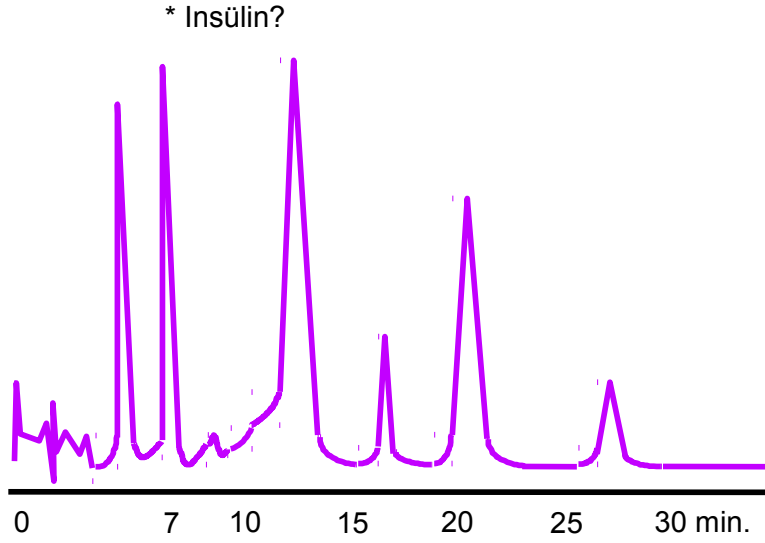


Pratik Yaklaşım:

- Aynı şartlarda alınmış kromatogramda bilinmeyen pikin Rt değeri ile referansın Rt değeri karşılaştırılır. Şartlar değiştirilerek (Sabitt ve hareketli fazlar) hem bilinmeyen hem de referans tekrar enjekte edilir ve karşılaştırma tekrar yapılır.
- Spesifik bir detektör kullanarak sonuçları karşılaştırınız. (Mass-, UV-spektrumu)

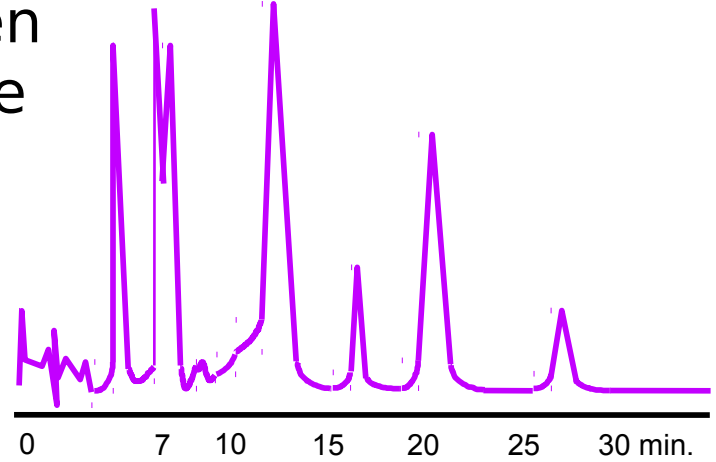
Numune Katımı

* Saf standart insülin katımı

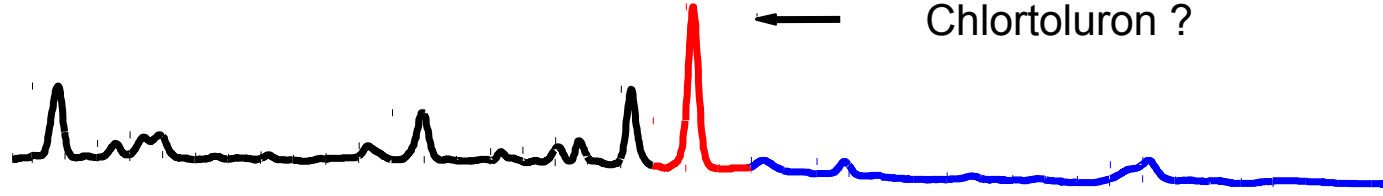


Referans bileşiği bilinmeyen numune içine ilave edilir ve cevap sonuçları ve pik karakteristikleri karşılaştırılır.

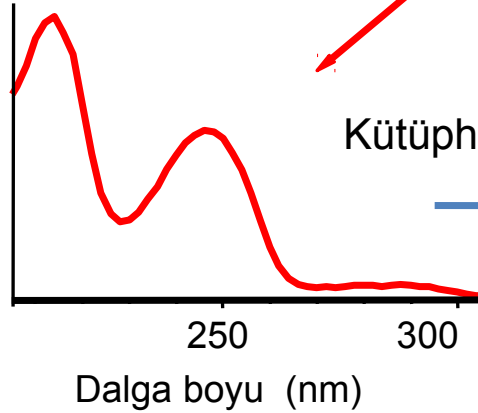
* İnsülin değil



UV-VIS Spektrum Kütüphaneleri

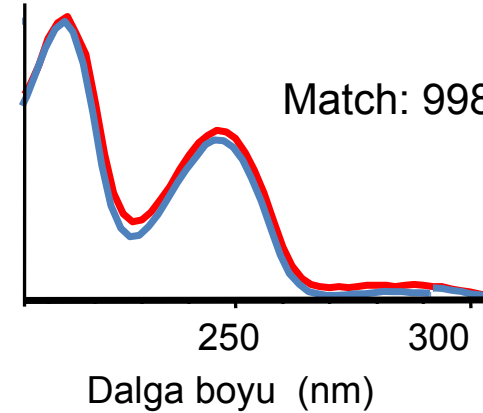


Pik Spektrumunu alınız.

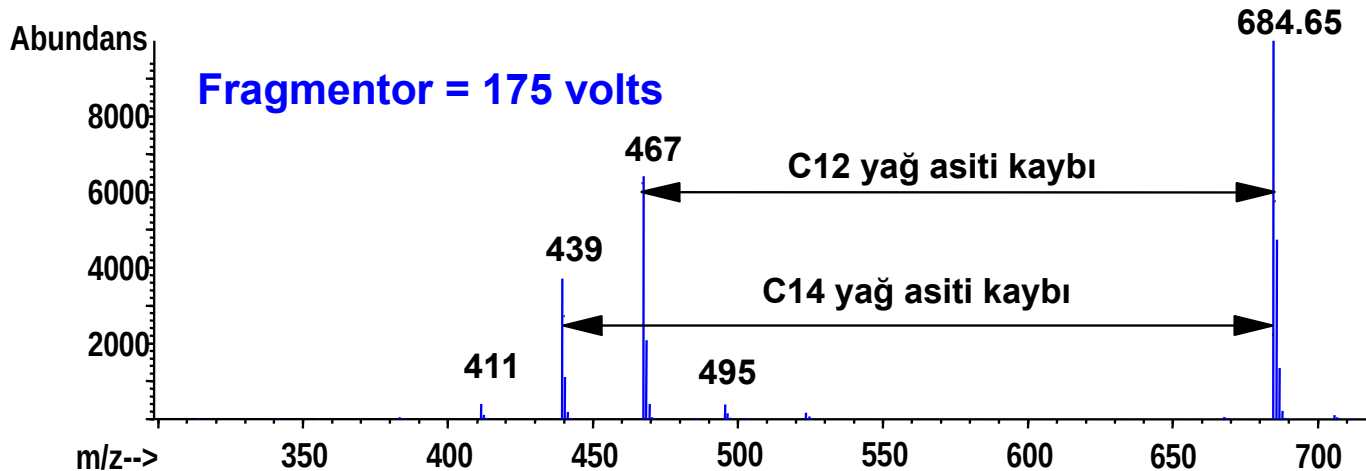
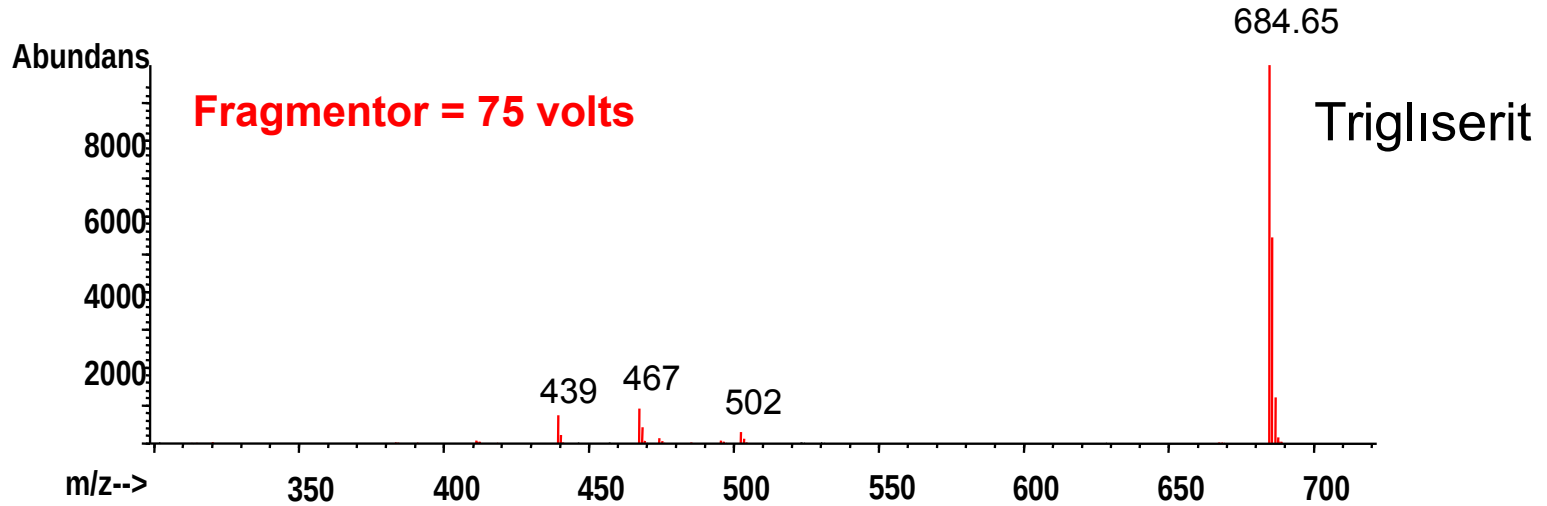


Kütüphane ile karşılaştırınız.

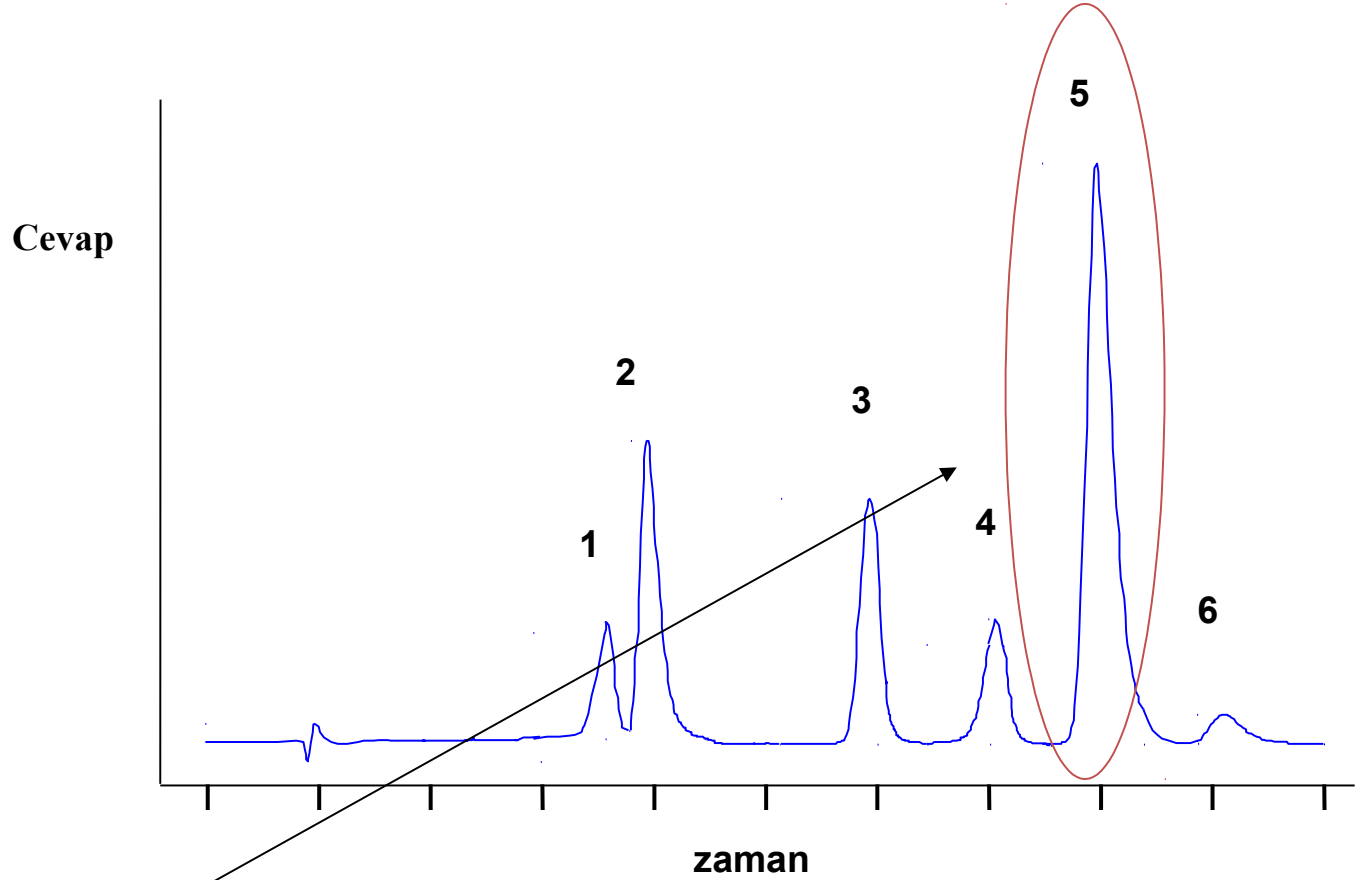
Uyuşma Faktörünü bulunuz.



Küçük Moleküller



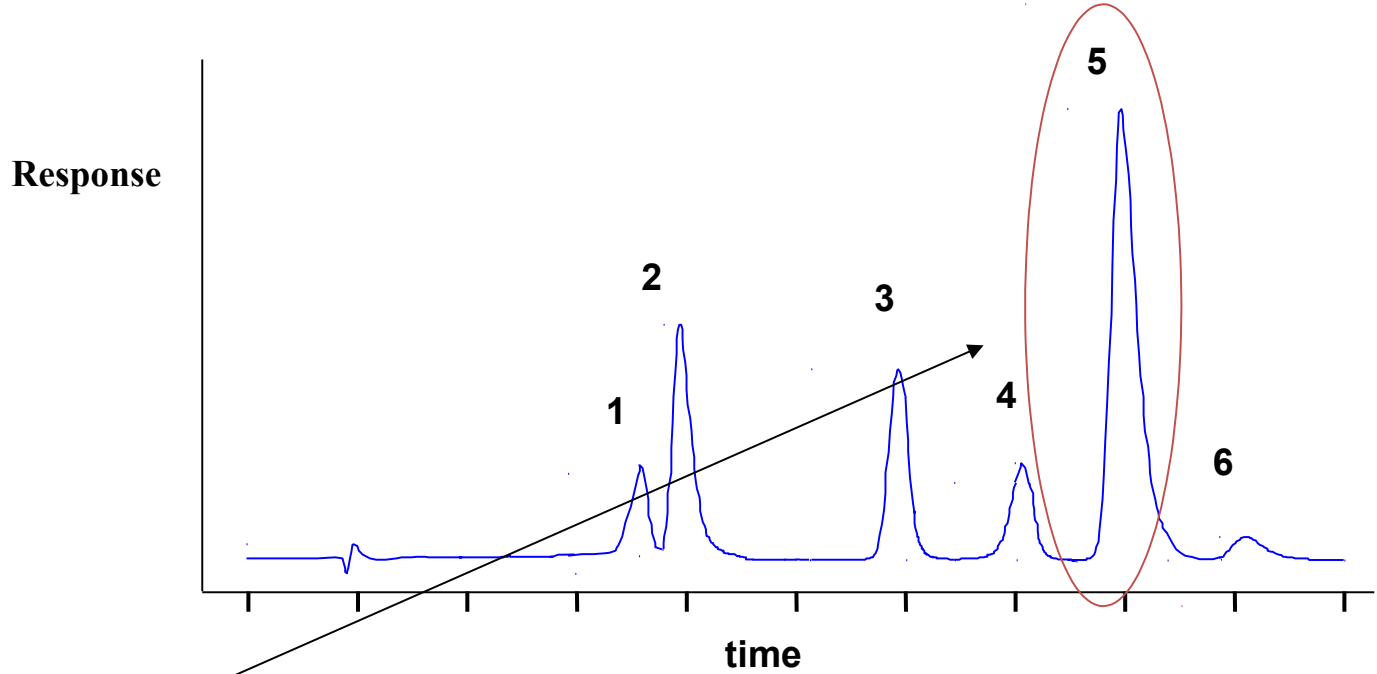
Kantitatif Analiz



Bileşik 5 in miktarı?

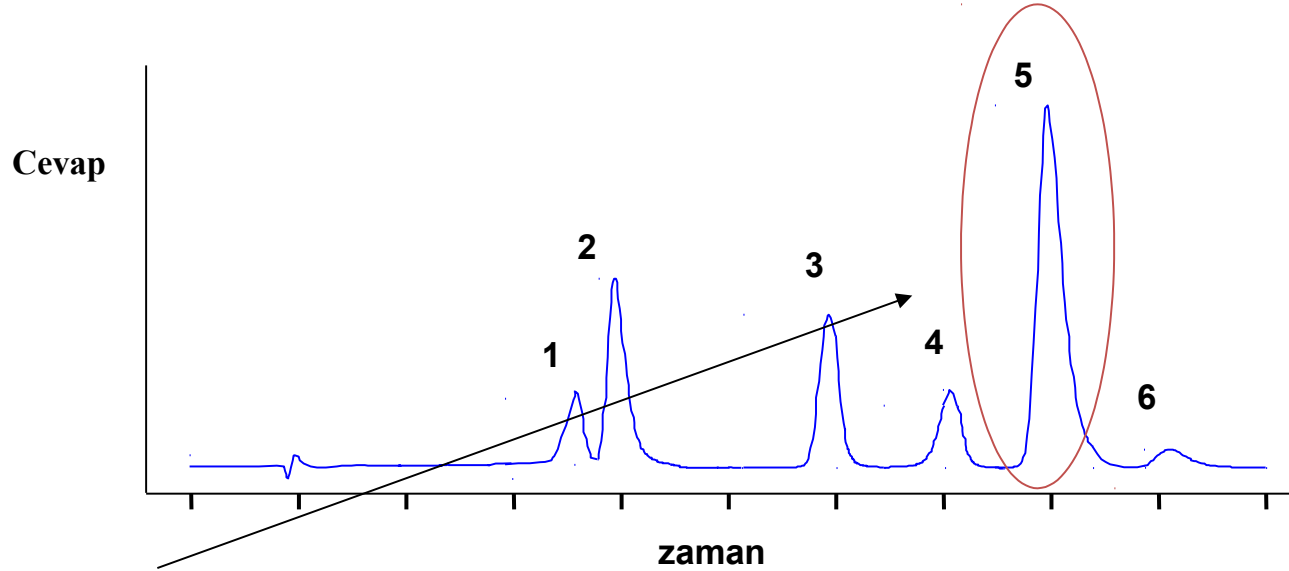
Kantitatif Analiz

Kantitatif Analizin amacı kromatografik sonuçlardan hareketle madde miktarının bulunmasıdır.



Bileşik 5 in miktarı?

Kantitatif Analiz



Bileşik 5 in miktarı?

Kantitatif Analizde Kullanılan Pik Özellikleri:

- Pik Yüksekliği
- Pik Alanı

Kantitatif Analizde Kullanılacak Kromogramlar İçin Gerekli Özellikler:

- İyi ayrılmış pikler (rezolusyon)
- Bileşiğin cevabının detektörün lineerlik sınırı içinde olması
- Pikte omuz olmaması, kuyruklanma olmaması - uygun pik performansı

Hesaplamalarda Kullanılan Pik Yüksekliği ve Pik Alanı

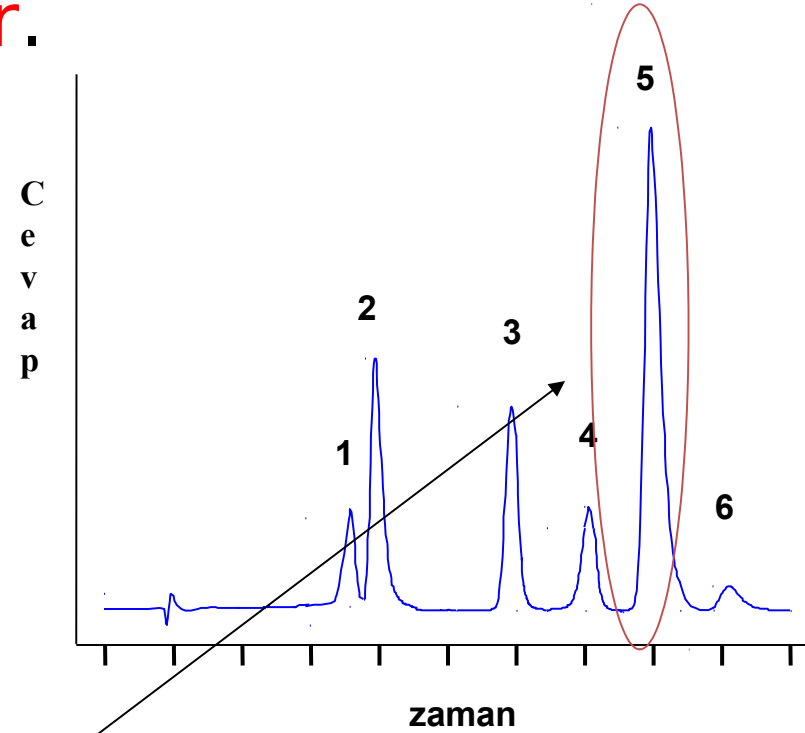


- Pik yükseklikleri akış hızındaki farklılıktan etkilenmez
- Pik alanları özellikle kötü kuyruklu pikler için kullanılır.

Kantitatif Analiz

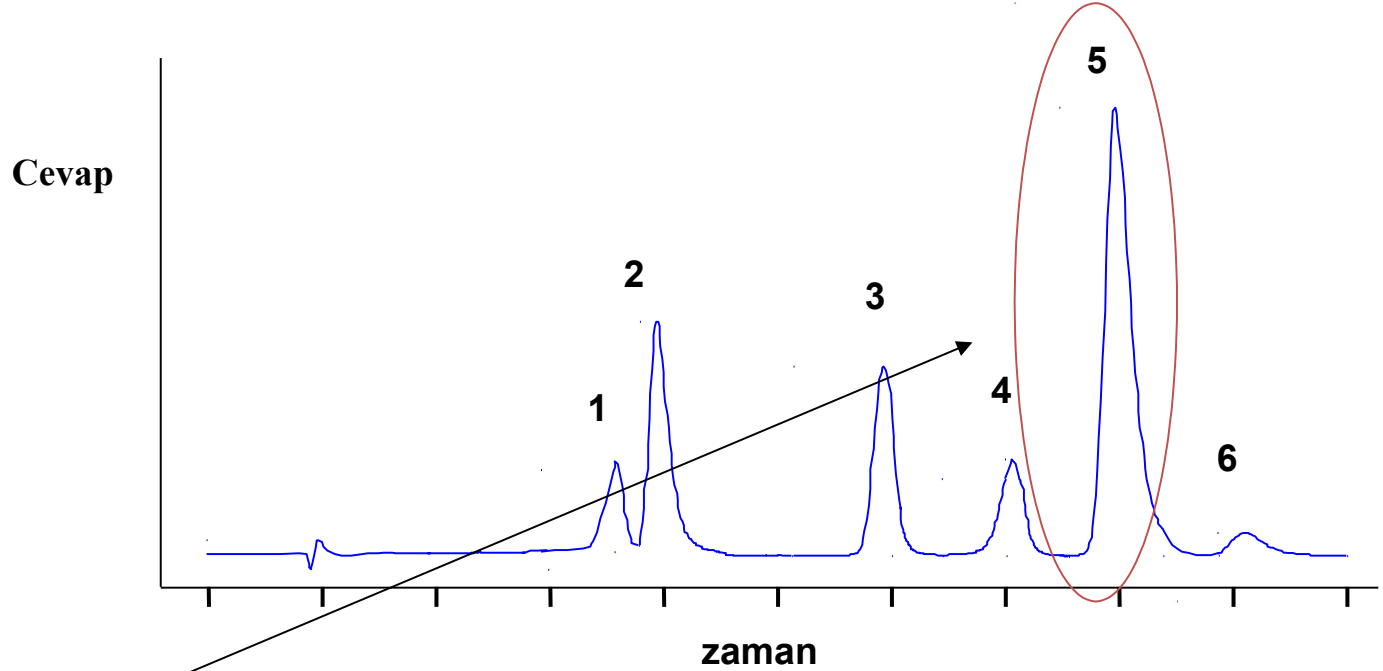
Miktar tayininde 3 prensip kullanılmaktadır.

- Eksternal Standart Kalibrasyonu
- Internal Standart Kalibrasyonu
- Standart Katma
- Alan %
- Norm%



Bileşik 5 in miktarı?

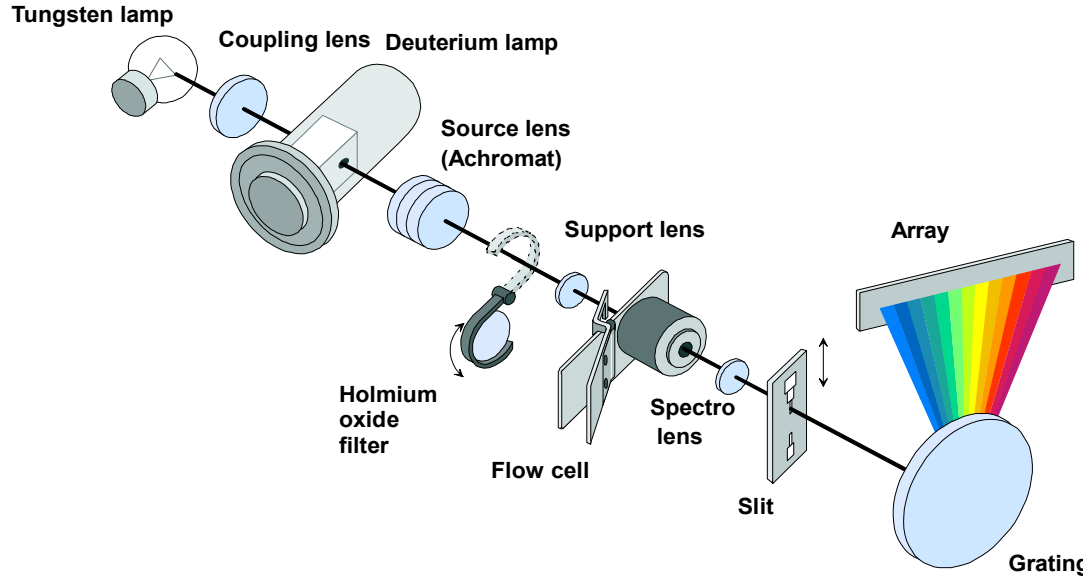
% Alan/Yükseklik Hesaplanması



Bileşik 5'in miktarı ?

Kalibrasyon ve enjekte edilen miktarın önemi yoktur. Cevap faktörü kullanılmaz ancak her bileşimin detektör cevabı aynı olmalıdır. Her bileşimin pik yüksekliği ve/veya alanı bulunup toplam yükseklik ve/veya alana bölünerek % oranları bulunur.

Beer Kurallı ve Miktar Tayini



$$\log \frac{I_0}{I} = A = abc$$

I_0 = Giren ışık şiddeti

I = Çıkan ışık şiddeti

A = Absorbans

a = molar absorptivite

b = hücre uzunluğu

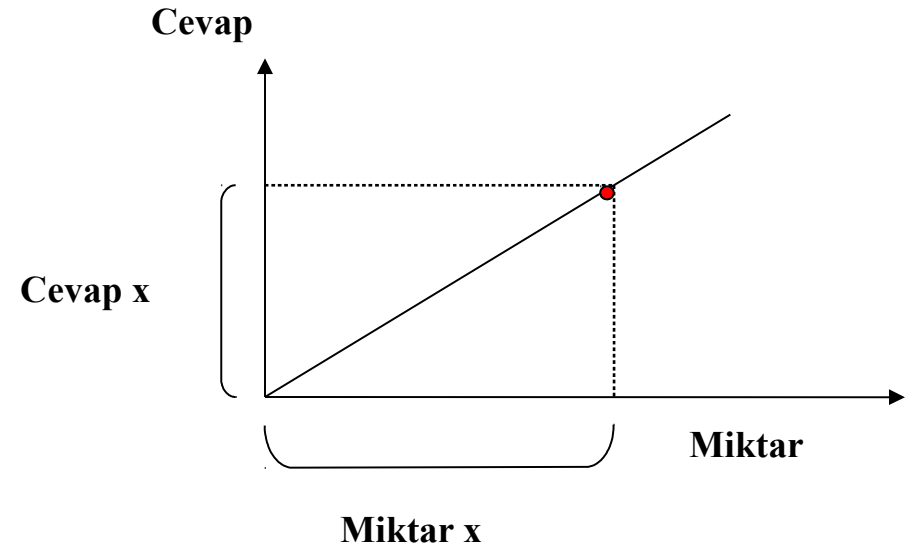
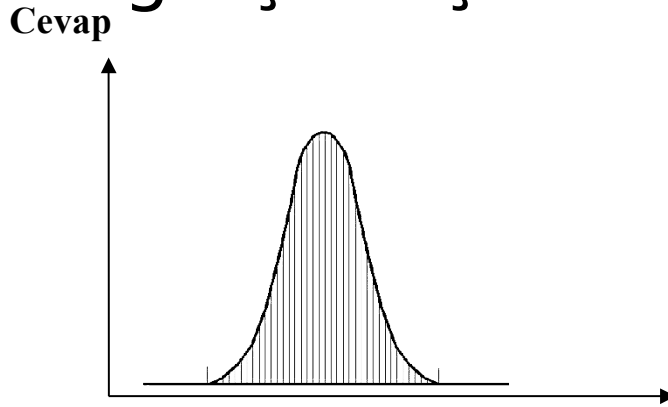
c = numune konsantrasyonu

Absorbans ile konsantrasyon arasındaki lineer ilişki bilinmeyen bileşiklerin miktar tayininin yapılmasını sağlamaktadır.

Miktar Tayini - Eksternal Standart

Prensip:

- Bilinen miktarlarda (konsantrasyon) standart çözeltiler hazırlanır.
- Cevap tayin edilir (Alan, Yükseklik).
- Bilinen miktarların cevabına karşı numunenin cevabı çizilerek tayin gerçekleştirilir.

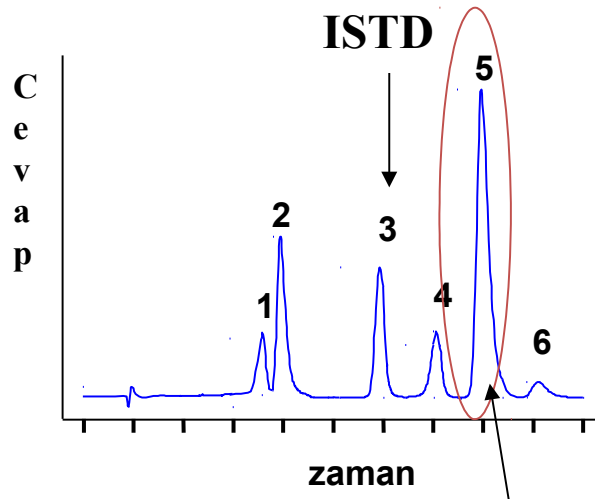


Miktar Tayini - Internal Standart

Prensip:

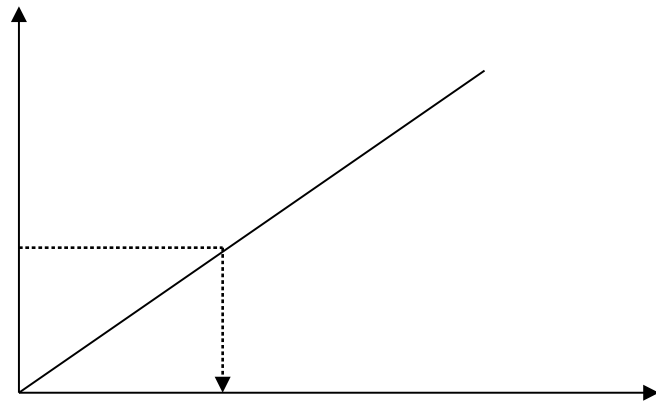
Numune içinde olmayan ve iyi karakterize edilmiş bir bileşik (internal standart) standart çözeltiler ve numune içine katılır.

- Internal standart (iç standart) ve analitin cevap oranı bulunur.
- Cevap oranı miktar oranına göre çizilir.



Bileşik 5'in miktarı nedir ?

Cevap Oranı



Miktar Oranı

Miktar İayını - Internal Standart

İç Standart için Gereken Özellikler:

- Kimyasal ve fiziksel özellikler tayin edilecek bileşiğe yakın olmalıdır..
- Stabil ve saf olmalıdır.
- Diğer bileşiklerin piklerinden tamamen ayrı bir pik vermelidir.

Miktar Tayini Kalite Kriterleri

- Doğru sonuçlar
 - Kesin sonuçlar
 - Tanımlı LOD
 - Tanımlı LOQ
 - Tanımlı Miktar tayini aralığı
- } Metodun amacına bağlı olarak