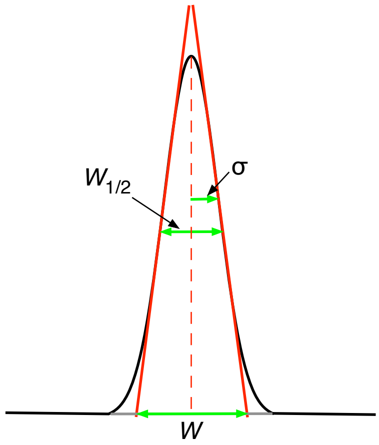
Eindhoven, 6-10-2016

Beste leden van de redactie van BINAS,

In BINAS, zesde editie, tabel 37F staat een formule voor de resolutiefactor bij chromatografie:

$$R_\mathrm{S} = \frac{\Delta t_\mathrm{R}}{2(\sigma_1 + \sigma_2)} \quad \text{met de toevoeging: "}\sigma = \text{piekbreedte op halve piekhoogte"}$$



Chromatografische piek als Gauss-curve

Hoewel deze formule *op zichzelf* juist is, is de toevoeging erachter dat niet. σ Is niet de 'piekbreedte op halve hoogte', maar het symbool van de standaard deviatie, wat jullie natuurlijk ook bekend is.
Daarbij komt het probleem dat de waarde van σ niet gemakkelijk uit de chromatografische piek te meten is. Ze ligt weliswaar op ca. 61 % van de top van de piek, maar dat is iets lastiger te meten dan halverwege de top.
Het lijkt me dat dit voor leerlingen van het vo geen handige formule is.

Wat moet de formule van de resolutie dan wel zijn? Om deze vraag te beantwoorden leid ik een formule af waarin R_s wordt uitgedrukt in $W_{1/2}$ (de piekbreedte op halve hoogte, maar nu echt).
Daarvoor leid ik eerst af wat de relatie is tussen de volgende grootheden:

- de piekbreedte aan de basis (W, de afstand tussen de snijpunten van de raaklijnen door het buigpunt en de basislijn)
- de piekbreedte op halve hoogte ($W_{1/2}$)
- de standaard deviatie (σ)

We kunnen een chromatogafische piek opvatten als een Gauss-curve. Dit volgt uit de fyische processen in de kolom die aan de vorm van de piek ten grondslag liggen. De wiskundige formule voor de Gauss-curve is:

$$\boldsymbol{y_\mathrm{G} = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}} = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{x^2}{2\sigma^2}} \quad (\text{waarbij we } \mu = 0 \text{ stellen})}$$

<u>De grootte van *W*</u>

- Eerst bepalen we de vergelijking van de raaklijn door het (rechter) buigpunt, $y_\mathrm{RL} = ax + \mathrm{b}$. Hierbij is a de helling van de raaklijn door het buigpunt. De helling van de raaklijn is de afgeleide van de Gauss-curve. Die afgeleide is:

$$y_\mathrm{G}{}' = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{x^2}{2\sigma^2}} \cdot \frac{d}{dx}\left(-\frac{x^2}{2\sigma^2}\right)$$

$$y_\mathrm{G}' = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{x^2}{2\sigma^2}} \cdot \left(\frac{-1}{2\sigma^2} \cdot 2x\right)$$

$$y_\mathrm{G}{}' = \frac{-x}{\sigma^3\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{x^2}{2\sigma^2}}$$

- De constante a in de vergelijking voor de raaklijn is gelijk aan de helling van de raaklijn door het buigpunt, dus voor $x = \sigma$:

$$a = y_\mathrm{G}{}' = \frac{-\sigma}{\sigma^3\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{\sigma^2}{2\sigma^2}} = \frac{-1}{\sigma^2\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}} = \frac{-1}{\sigma^2\sqrt{2\pi e}}$$

- De vergelijking van de raaklijn wordt dan:

$$y_{\mathrm{RL}} = \frac{-1}{\sigma^2\sqrt{2\pi e}} \cdot x + b$$

- De constante b vinden we door te stellen dat voor $x = \sigma$ geldt: $y_{RL} = y_G$

$$\frac{-1}{\sigma^2\sqrt{2\pi e}} \cdot \sigma + b = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{\sigma^2}{2\sigma^2}}$$

$$b = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{\sigma^2}{2\sigma^2}} + \frac{1}{\sigma^2\sqrt{2\pi e}} \cdot \sigma$$

$$b = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}} + \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi e}} = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi e}} + \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi e}} = \frac{2}{\sigma\sqrt{2\pi e}}$$

- De vergelijking van de raaklijn door het buigpunt is dus:

$$y_{\mathrm{RL}} = \frac{-1}{\sigma^2\sqrt{2\pi e}} \cdot x + \frac{2}{\sigma\sqrt{2\pi e}}$$

- Deze raaklijn snijdt de basislijn als $y_{RL} = 0$. De bijbehorende waarde van x is:

$$y_{\mathrm{RL}} = \frac{-1}{\sigma^2\sqrt{2\pi e}} \cdot x + \frac{2}{\sigma\sqrt{2\pi e}} = 0$$

$$x = \frac{2 \cdot \sigma^2\sqrt{2\pi e}}{\sigma\sqrt{2\pi e}} = 2\sigma$$

En omdat $W = 2x$ volgt: $\boldsymbol{W = 4\sigma}$

<u>De grootte van $W_{1/2}$</u>

We berekenen eerst het maximum van de Gauss-curve (de waarde van y_G als $x = 0$) en dan de waarde van y_G op halve hoogte. Daarna berekenen we de bijbehorende waarde van x en $W_{1/2}$.

- als $x = 0$:

$$y_{\mathrm{G,max}} = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{o} = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}}$$

- Als $y_G = ½ \cdot y_{G,max}$ volgt:

$$\frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{x^2}{2\sigma^2}} = \frac{1}{2\sigma\sqrt{2\pi}}$$

$$e^{-\frac{x^2}{2\sigma^2}} = \frac{1}{2} \qquad \text{Neem de nat. logaritme:} \quad \ln\left(e^{-\frac{x^2}{2\sigma^2}}\right) = \ln\frac{1}{2}$$

$$-\frac{1}{2} \cdot \frac{x^2}{\sigma^2} = \ln\frac{1}{2} \qquad \text{en dus: } x^2 = 2\ln 2\,\sigma^2$$

$$x = \sigma \cdot \sqrt{2\ln 2}$$

- En omdat $W_{1/2} = 2 \cdot x$ geldt:

$$\boldsymbol{W_{1/2} = 2\sigma\sqrt{2\ln 2} \approx 2{,}35482 \cdot \sigma}$$

Voor de relatie tussen W en $W_{1/2}$ geldt dan:

$$\boldsymbol{W = \frac{4\sigma}{2\sigma\sqrt{2\ln 2}} \cdot W_{1/2} = 1{,}69864 \cdot W_{1/2} \approx 1{,}70 \cdot W_{1/2}}$$

De vergelijking voor de resolutiefactor

De resolutiefactor is gedefinieerd als:

$$R_S = \frac{t_{R,B} - t_{R,A}}{\frac{1}{2} \cdot W_A + \frac{1}{2} \cdot W_B} = \frac{2 \cdot (t_{R,B} - t_{R,A})}{W_A + W_B}$$

Gebruik makend van de relatie tussen W en $W_{1/2}$ krijgen we (A en B zijn twee stoffen met hun piek):

$$R_S = \frac{2 \cdot (t_{R,B} - t_{R,A})}{1{,}698644 \cdot (W_{1/2,A} + W_{1/2,B})} = \frac{1{,}17741 \cdot \Delta t_R}{W_{1/2,A} + W_{1/2,B}}$$

$$\boldsymbol{R_S = \frac{1{,}18 \cdot \Delta t_R}{W_{1/2,A} + W_{1/2,B}}} \qquad (1)$$

Deze vergelijking is in de praktijk goed bruikbaar: meet van elke piek de retentietijd en de breedte op halve hoogte en vul in. De afronding van de constante 1,17741 op 1,18 is in de praktijk geen enkel probleem, omdat vooral de waarden van $W_{1/2}$ niet heel erg nauwkeurig kunnen worden bepaald (aannemende dat je die bepaalt door opmeten van een piek).

Ik adviseer dan ook om deze formule in BINAS op te nemen in plaats van de huidige.

Met behulp van bovenstaande relatie tussen W en σ kunnen we R_S ook uitdrukken in σ:

$$R_S = \frac{2 \cdot (t_{R,B} - t_{R,A})}{W_A + W_B} = \frac{2 \cdot (t_{R,B} - t_{R,A})}{4\sigma_A + 4\sigma_B}$$

$$\boldsymbol{R_S = \frac{\Delta t_R}{2(\sigma_A + \sigma_B)}} \qquad (2)$$

Maar als je de piekbreedte op halve hoogte opmeet en in deze laatste formule invoert (zoals BINAS suggereert) maak je een fout, zoals uit het volgende voorbeeld blijkt.

Voorbeeld

Gegeven: Δt_R = 0,95 min; $W_{1/2,A}$ = 0,25 min; $W_{1/2,B}$ = 0,30 min

De resolutiefactor volgens formule (1):

$$R_S = \frac{1{,}18 \cdot \Delta t_R}{W_{1/2,A} + W_{1/2,B}} = \frac{1{,}18 \cdot 0{,}95}{0{,}25 + 0{,}30} = 2{,}0$$

De resolutiefactor volgens formule (2) en voor σ de "piekbreedte op halve hoogte":

$$R_S = \frac{\Delta t_R}{2(\sigma_A + \sigma_B)} = \frac{0{,}95}{2 \cdot (0{,}25 + 0{,}30)} = 0{,}86$$

Het verschil is aanzienlijk, termeer daar een resolutiefactor van 2,0 een goede scheiding tussen pieken betekent en een van 0,86 niet.

Pierre Heldens