



# spectrometrie

## SPECTROSCOPISCHE DETECTIE IN DE VLOEISTOFCHROMATOGRAPHIE

Theorie, Apparatuur, Interpretatie en Toepassingen: Deel IIIA

H. Lingeman

Vrije Universiteit, Vakgroep Analytische Chemie, De Boelelaan 1083

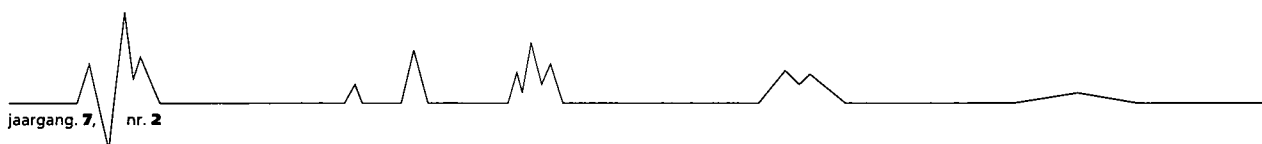
1081 HV Amsterdam, tel.: 020 - 444 7539, fax.: 020 - 444 7543

### Inleiding

In Deel III van deze serie artikelen over de principes, chromoforen, apparatuur, kwantitatieve aspecten, interpretatie, foutenbronnen en toepassingen van spectroscopische detectietechnieken (absorptie, fluorescentie, chemiluminescentie,

enz.) in het ultraviolette en zichtbare gedeelte van het spectrum zullen met name (mogelijke) foutenbronnen bij kwantitatieve chromatografische bepalingen en de principes en toepassingen van multi golflengte-detectie aan de orde komen.

Ten slotte zullen een aantal toepassingen en praktische oefeningen van absorptiedetectie besproken worden.



### 3.1

#### Foutenbronnen bij kwantitatieve bepalingen

Na het bespreken van enkele instrumentele en calibratie routines voor vaste golflengte detectoren zal in deze paragraaf aandacht worden besteed aan een aantal (mogelijke) foutenbronnen die bij het gebruik van LC-UV kunnen voorkomen. De meeste problemen komen voort uit het meten van een verkeerde extinctie, het optreden van strooilicht, de aanwezigheid van verstrooid licht, problemen met de monochromator, het toepassen van een doorstroomecel en de samenstelling van de monsteroplossing en/of de mobiele fase.

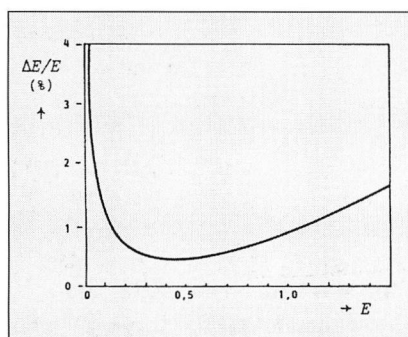
#### 3.1.1

##### Fotometrische fouten

Bij het meten van een extinctie worden steeds  $I$  en  $I_0$  met elkaar vergeleken. Stel nu dat de kleinste intensiteitsverandering die nog een waarneembare verandering in het detectorsignaal geeft  $dI$  is, dan zijn de relatieve fouten in  $I$  en  $I_0$   $dI/I$  en  $dI/I_0$ . Met behulp van Vergelijking 3 en 4 kan nu Vergelijking 16 worden afgeleid:

$$dE/E = (0,434/E \cdot I_0)(1 + 10^E) dI \quad (16)$$

$dE/E$  is in deze vergelijking de relatieve fout in  $E$ . De fout in  $E$  is minimaal als de afgeleide van deze functie nul is, dat is wanneer  $E \approx 0,55$  (figuur 18)



figuur 18

fotometrische fout:  
 $dE/E$  (in %) uitgezet tegen  $E$ .

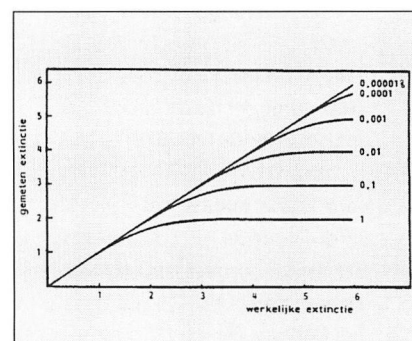
#### 3.1.2

##### Strooilicht en verstrooid licht

Onder strooilicht wordt verstaan alle straling die op de detector terecht komt en die een andere golflengte heeft dan de ingestelde golflengte. Strooilicht kan afkomstig zijn uit twee bronnen. In de eerste plaats van de stralingsbron. De straling met afwijkende golflengte wordt dan niet volledig geabsorbeerd aan de zwarte wanden van de monochromator, of wordt verstrooid aan vuile of beschadigde oppervlakken van de optiek of aan stofdeeltjes. Uiteindelijk verlaat deze straling samen met die van de gewenste golflengte de monochromator en legt de rest van de weg af door het monster en naar de detector.

De andere bron is daglicht. Dit kan op de detector terecht komen als tijdens de meting de detector niet goed is gesloten. Strooilicht leidt tot het meten van een *te lage extinctie*. Het effect van strooilicht wordt groter bij hogere extincties. Bovendien verandert het aandeel van het strooilicht aan de totale intensiteit, van het ingestraalde licht, met de golflengte. De hoeveelheid strooilicht

kan worden beperkt door een 'cut-off'-filter of een monochromator te gebruiken. Hoewel met een dubbel-monochromator de hoeveelheid strooilicht sterk wordt teruggedrongen, gaat dit ten koste van de intensiteit. Figuur 19 geeft een indruk van het effect van strooilicht op de meetresultaten.



figuur 19

*Invloed van strooilicht op de gemeten extinctie.*

Verstrooid licht is straling die aan deeltjes wordt verstrooid (b.v. troebel monsteroplossing, luchtbelletjes). Belangrijk is dat kortgolvig licht sterker wordt verstrooid dan langgolvig licht. Verstrooide straling bereikt de detector niet en geeft dus aanleiding tot het meten van een *te hoge extinctie*.

### Attentie!

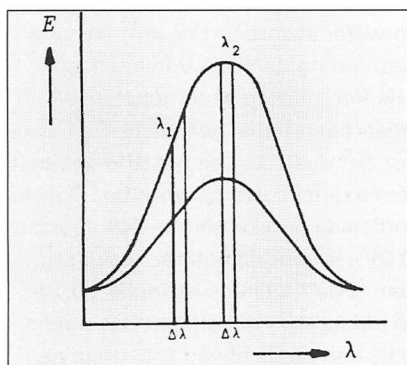
Luchtbelletjes in de detectorcel zijn te herkennen aan scherpe 'spikes' in het chromatogram. De oorzaak kan zijn dat het eluens niet goed is ontgast of dat de stralingsbron teveel warmte afgeeft. Het verwijderen van lucht kan vaak gebeuren door bij het uiteinde van de detector een weinig tegendruk aan te brengen (voorzichtig!).

### 3.1.3

#### Fouten door de monochromator

Bij prisma monochromatoren kunnen, wanneer het prisma is verschoven, fouten in de golflengteschaal optreden. Omdat de dispersie van een prisma verandert met de golflengte, zijn de afwijkingen in de golflengteschaal bij kortere golflengten kleiner dan bij langere golflengten.

Bij een rooster zijn de afwijkingen in de golflengteschaal niet afhankelijk van de golflengte. Speling in het instelmechanisme van de schaal kan leiden tot afwijkingen, waarvan de grootte afhankelijk is van de richting van waaruit de golflengte wordt ingesteld. De instelling moet daarom steeds vanaf dezelfde kant gebeuren. Op de helling van een absorptieband is de verandering van de extinctie met de golflengte meestal veel groter dan in het maximum (Figuur 20).



figuur 20

*In het maximum is de verandering van E met λ het kleinste, die van E met c het grootste.*

Daarom wordt bij voorkeur in het maximum gemeten. Bovendien is in het maximum de invloed van de spectrale spleetbreedte het kleinst. De gemeten extinctie is het gemiddelde van de extinctie over het golflengtegebied van de spleetbreedte. In het maximum is dit meestal vrijwel gelijk aan de werkelijke extinctie bij de ingestelde golflengte; op de hellingen kunnen aanzienlijke afwijkingen optreden.

### 3.1.4

#### Fouten door monster en eluens

Bij het bereiden van de monsteroplossing kan een aantal fouten worden geïntroduceerd. De belangrijkste hiervan zijn:

- De monsterfout die ontstaat als geen representatief monster wordt genomen, bij voorbeeld als gevolg van het niet homogeen zijn van het monster;
- Indien een derivatiseringsreactie wordt uitgevoerd, moet worden gecontroleerd of deze reactie reproduceerbaar is en of de 'kleur' voldoende stabiel is om een serie metingen te kunnen uitvoeren (opnemen van een extinctie - tijdcurve);
- Ontleding van de te bepalen verbinding, bijvoorbeeld als gevolg van bestraling met UV-licht;
- Fluorescerende oplossingen verlagen de gemeten extinctie;
- Verstrooiing van straling aan deeltjes of gasbellen in de meetoplossing;
- Verontreinigingen in de monsteroplossing of het eluens die absorberen bij de golflengte waarbij een bepaling wordt uitgevoerd. Vaak kan men een aanwijzing krijgen over de aanwezigheid van dergelijke verbindingen door een spectrum op te nemen en dit te vergelijken met het spectrum van een zuivere standaard. Ook weekmakers (b.v. ftalaten) uit bijvoorbeeld plastic flessen, kurkresten en kranenvet kunnen storingen veroorzaken;
- Bij gebruik van vluchtige oplosmiddelen moeten alle vaten goed worden afgesloten zodat tijdens de meting de concentratie niet verandert als gevolg van verdamping van het oplosmiddel.

Bij LC-UV vormt de aanwezigheid van een mobiele fase een apart probleem. Eluentia kunnen worden onderverdeeld in loopmiddelen voor normal-phase (NP) en reversed-phase (RP) LC. RP loopmiddelen bestaan meestal uit een mengsel van water en methanol, acetonitril of tetrahydrofuraan. Buffers, ionpaar reagentia, additieven (b.v. basen), enz. worden soms toegevoegd om het chromatografisch gedrag te verbeteren. NP eluentia bestaan voornamelijk uit mengsels van organische vloeistoffen. De transmissiewaarden voor een aantal organische vloeistoffen zijn opgenomen in Tabel XI (Deel I). Er kunnen grote verschillen optreden in transmissie indien van één en hetzelfde oplosmiddel verschillende kwaliteiten worden gebruikt. Met name in het lage golflengtegebied zijn deze verschillen belangrijk en het is daarom belangrijk dat voor iedere methode afzonderlijk een goede kosten-baten analyse wordt gemaakt. Voor het gebruik van gradientelutie zijn extra zuivere oplosmiddelen in de handel die spookpieken en ongewenste basislijnveranderingen voorkomen. Met name de optische zuiverheid van mobiele fase additieven moet zorgvuldig gecontroleerd worden omdat een aantal van deze reagentia niet in een speciale LC kwaliteit aanwezig zijn. Een extra zuiveringsstap, bijvoorbeeld destillatie van triethylamine, is dan ook vaak noodzakelijk.

#### Attentie!

Het gebruik van een goede kwaliteit oplosmiddelen en reagentia is een eerste vereiste om zonder problemen LC te bedrijven. Aanvullende gegevens omtrent de fysisch-chemische eigenschappen van oplosmiddelen kan verkregen worden uit gegevens gepubliceerd door de producenten (b.v. Baker, Merck).

Waarom is het zo belangrijk om zuivere oplosmiddelen te gebruiken? Het antwoord is dat een spectrometer slechts een beperkt lineair dynamisch bereik heeft en dat absorptie van het eluens dit lineair bereik verkleint. Ofschoon de wet van Beer zegt dat de absorptie lineair toeneemt met de concentratie, zullen strooilicht en de electronica van de detector de lineariteit beperken. Het lineair dynamisch bereik is voor ieder instrument verschillend, maar de absorptie mag de 1,5 absorptie eenheden nooit overschrijden.

Het probleem met absorptiemetingen is dat deze geen inzicht geven in de hoeveelheid licht die door de detectorcel gaat. In dit opzicht is het verstandiger om transmissiemetingen te doen, maar deze zijn niet lineair met de concentratie (Tabel XIV).

**tabel XIV:**  
**Verband tussen absorptie en transmissie**

Absorptie	% Transmissie
0,05	89
0,1	79
0,5	31
1,0	10
2,0	1
3,0	0,1

### Attentie!

Wat opvalt is dat als de absorptie een waarde van 2 bereikt dat dan nog maar 1% van het licht door de cel heen komt. De signaal-ruis-verhouding (S/N) wordt dan bijzonder ongunstig en het strooilicht wordt de beperkende factor in dit soort gevallen.

De meeste LC detectoren maken veel gebruik van de auto-zero mogelijkheid, hetgeen betekent dat de afgelezen absorptie niet overeen komt met de werkelijke absorptie. Als het

loopmiddel 0,1 absorptie eenheden bedraagt, dan wordt er maar 20% van de energie weggenomen en zal de auto-zero geen probleem opleveren. In een aantal gevallen is het resultaat van het gebruik van de auto-zero functie echter dat minder betrouwbare resultaten worden verkregen.

Water kan ook een probleem opleveren bij LC-UV. Hiervoor geldt hetzelfde als voor de organische oplosmiddelen, namelijk dat gedemineraliseerd / gedestilleerd, of commercieel verkrijgbaar 'HPLC-grade' water gebruikt moet worden. De kwaliteit van het te gebruiken water moet ook weer voor iedere serie bepalingen worden getest. Een methode om dit te doen is het opnemen van het spectrum van water, in een conventionele spectrometer, tegen lucht. Afgezien van de noodzakelijke off-set, zal een goede kwaliteit water een rechte lijn geven vanaf 200 nm en hoger.

De meeste problemen met een extreem hoge achtergrondabsorptie worden veroorzaakt door verontreinigingen die in het gebruikte water, oplosmiddelen of reagentia aanwezig zijn. De volgende richtlijnen kunnen helpen om deze problemen zoveel mogelijk te voorkomen:

- Gebruik nooit oplosmiddelen uit plastic containers of afvalvaten;
- Gebruik de oplosmiddelen altijd direct uit de 'Winchester';
- Bewaar water niet in plastic vaten;
- Houd de apparatuur waarmee HPLC-grade water wordt gemaakt goed schoon en spoel alle nieuwe onderdelen zeer grondig voor;
- Gebruik zoveel mogelijk HPLC-grade oplosmiddelen en reagentia.

### Attentie!

Belangrijk is dat er alleen HPLC-grade tetrahydrofuraan (THF) wordt gebruikt omdat de andere kwaliteiten meestal conserveermiddelen bevatten. Omdat de HPLC-grade geen conserveermiddelen bevat is het verstandig om hier kleine verpakkingen van te kopen de flessen niet aan lucht bloot te stellen. De absorptie van THF neemt significant toe bij het laten staan van THF monsters gedurende langere tijd.

Tenslotte een voorbeeld om bovenstaande nog eens te benadrukken. Stel dat een LC eluaat wordt doorgemeten dat een aromatische verbinding bevat met een molecuulgewicht van 100, een concentratie van ongeveer 10 mg/l, een molaire extinctie van 10.000 en een detectiegolflengte van 240 nm.

In *water* absorbeert de aromatische verbinding dan 90% van het licht (zie Vergelijking 4) en het eluens absorbeert totaal geen licht. De detector ziet dus 10% van het licht en geeft een extinctie van 1,0 voor de LC-piek. Indien de onzekerheid van de detector 0,01% is over de volle schaaluitslag, dan is de fout in de extinctie  $\pm 0,1\%$ . In *chloroform* absorbeert het eluens 99% van het licht van 240 nm in een 10 mm cel. De detector ziet nu 1% van het licht als er alleen maar chloroform voorbij komt en slechts 0,1% als de aromatische verbinding door de cel gaat. Als de onzekerheid van de detector nog steeds 0,01% is, dan is fout in de extinctie nu  $\pm 10\%$ . Maar er is echter geen aanwijzing dat er iets aan de hand is behalve dan een relatief sterke ruis in de basislijn, die onderdrukt kan worden zodat alles weer in orde lijkt. De conclusie is echter dat zeker in die gevallen waar lage concentraties gemeten moeten worden, strooilichteffecten een grote rol gaan spelen en dat de experimentator dus precies moet weten wat er gebeurt.

## Literatuur

Informatie omtrent de betrouwbaarheid van absorptiemetingen kan gevonden worden in:

H.H. Willard, L.L. Merritt, J.A. Dean and F.A. Settle, *Instrumental Methods of Analysis*, ed. 7, Wadsworth, New York, 1988.

## 3.2

### Multi golflengte absorptiedetectie

#### 3.2.1

##### Inleiding

In de vloeistofchromatografie wordt nog steeds gezocht naar meer gevoelige en selectieve detectiemethoden. Met name voor de bepaling van organische componenten in complexe farmaceutische, biomedische en klinische monsters. Vandaar dat vanaf eind zeventiger jaren de multi golflengte detectoren steeds belangrijker zijn geworden. De lineaire diode-array (LDA) detectoren zijn op het moment de belangrijkste vertegenwoordigers van dit type detectoren.

Er zijn twee verschillende manieren waarop absorptiespectra tijdens een LC scheiding kunnen worden opgenomen; met behulp van snel scannende of diode-array detectoren. In vergelijking met conventioneel scannende detectoren kan een diode-array detector simultaan spectrale gegevens verzamelen zonder dat er bewegende (mechanische) delen aanwezig zijn in het apparaat. Dit heeft een aantal voordelen. De belangrijkste hiervan zijn echter de winst in snelheid en betrouwbaarheid. Met LDA detectoren kunnen in een korte tijd (ms domein) zeer veel gegevens worden verzameld die met behulp van de moderne computertechnologie snel verwerkt kunnen worden. Op deze manier kan bijvoorbeeld de identificatie van verbindingen en de controle van de piekzuiverheid sterk worden vereenvoudigd.

LDA detectoren worden tegenwoordig zowel in de absorptie als luminescentie spectroscopie gebruikt (zie ook deel IV van deze serie). Een voorbeeld is in Figuur 21 gegeven. Meestal worden de meetresultaten weergegeven in 3-D figuren waarin de intensiteit van het signaal wordt uitgezet tegen de golflengte en de tijd.

De informatie die uit dit soort figuren valt af te lezen is veelvoudig zoals bijvoorbeeld in Figuur 21 is te zien.

## Literatuur

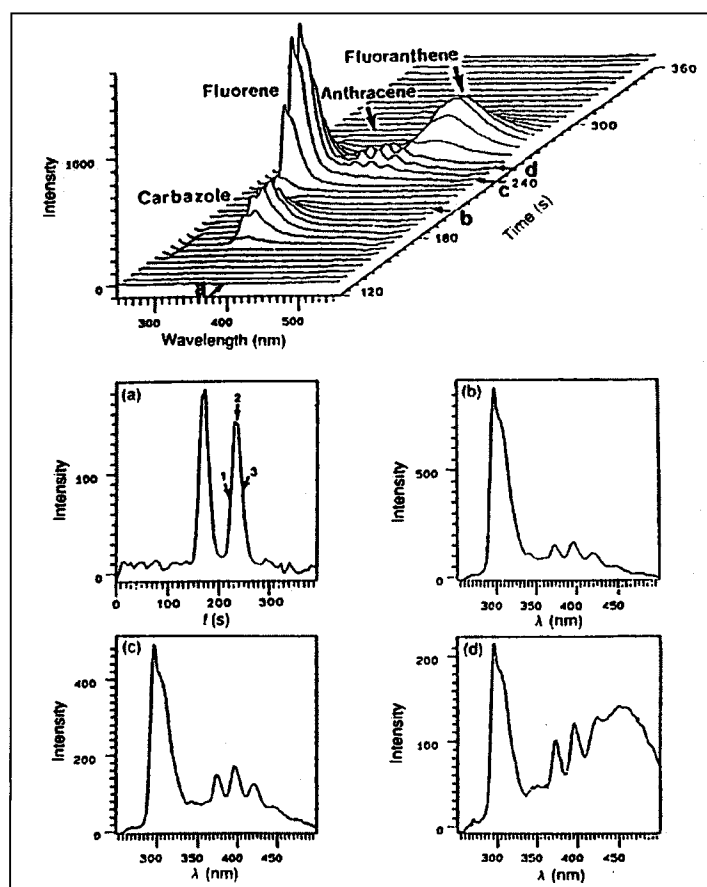
De achtergronden, instrumentele aspecten en toepassingen van DA detectie kunnen worden gevonden in: A.J. Owen, *The Diode-Array Advantage in UV/Visible Spectroscopy*, Hewlett-Packard, No. 12-5954-8912, 1988.

B.J. Clark, T. Frost en M.A. Russell, *UV Spectroscopy Techniques, Instrumentation, Data handling*, Chapman & Hall, London, 1993.

D.G. Jones, *Anal. Chem.*, 57 (1985) 1057A en 1207A.

A.F. Fell, B.J. Clark en H.P. Scott, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1 (1983) 557.

figuur 21



*Drie-dimensionale representatie verkregen met een luminescentie diode-array detector. De extra mogelijkheden worden gedemonstreerd door het chromatogram dat is opgenomen bij een fluorescentie golflengte van 379 nm (a) aan een nader onderzoek te onderwerpen.*

*De eerste piek is zuiver maar de tweede piek bevat twee co-eluerende verbindingen (anthraceen en fluorantheen). Dit valt af te lezen uit de figuren (b) opgenomen bij 225 s, (c) opgenomen bij 240 s en (d) opgenomen bij 250 s (Figuur uit, B.J. Clark, T. Frost en M.A. Russell, *UV Spectroscopy Techniques, Instrumentation, Data Handling*, Chapman & Hall, London, 1993).*

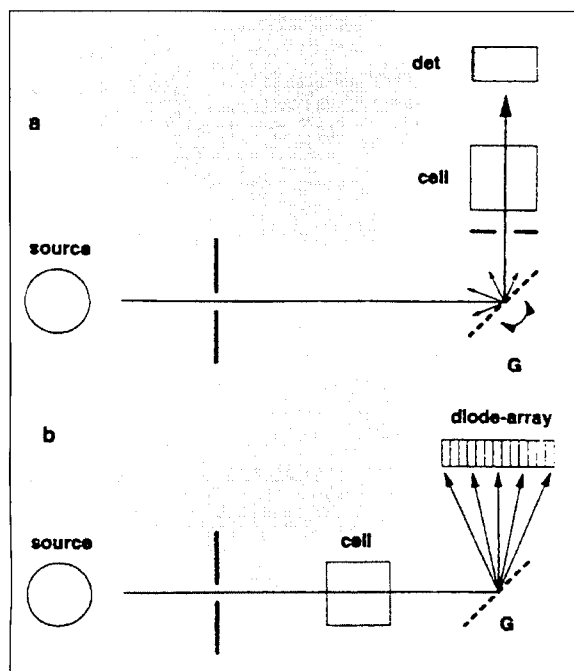
### 3.2.2

#### Vergelijking absorptie-technieken en technische aspecten

Een schematische weergave van een conventionele enkelstraals absorptie-detector is weergegeven in Figuur 2 (Deel I van deze serie). Polychromatisch licht wordt in dit geval eerst gefocuseerd op een monochromator, waarna monochromatisch licht door het monster wordt gevoerd. Tenslotte wordt de niet geabsorbeerde hoeveelheid licht gedetecteerd. Deze opzet is vanzelfsprekend geschikt indien slechts bij één golflengte de absorptie gemeten hoeft te worden. Het systeem is echter niet geschikt om bij verschillende golflengten te meten, de monochromator moet hiervoor iedere keer - mechanisch - op een andere waarde worden ingesteld, of om volledige spectra op te nemen.

Om deze nadelen te ondervangen zijn scannende en LDA detectoren op de markt gebracht. Een schematische weergave van multi golflengte detectoren is te zien in Figuur 22.

figuur 22



In scannende systemen is een snel roterend of vibrerend rooster aanwezig. Dit rooster is voor de detector-cel geplaatst en zorgt ervoor dat een bepaald golflengte gebied in ongeveer 1 s kan worden gescand. Het signaal van de fotodetector is gecorreleerd met de tijd die nodig is om een (golflengte) cyclus te scannen. Het resultaat is dat het signaal dus overeenkomt met de golflengte van het licht dat door de cel wordt doorgelaten.

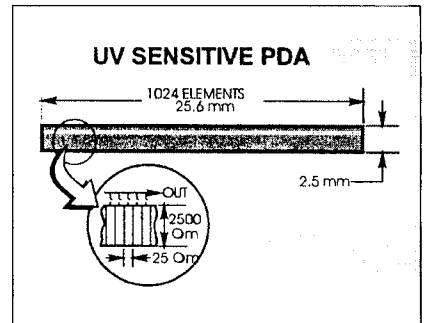
De andere mogelijkheid is het gebruik van LDA systemen. Polychromatisch licht gaat nu eerst door het monster en wordt daarna pas op een polychromator gefocuseerd, die het licht op de LDA disperseert. Iedere afzonderlijke diode meet nu slechts een smalle band (specifiek golflengtegebiedje) van het spectrum. De bandbreedte van het licht dat door een diode wordt gedetecteerd hangt af van de breedte van de intreepleet van de polychromator en de grootte van de diode zelf. In vergelijking met een conventionele absorptiedetector wordt in een LDA detector de omgekeerde (optiek) configuratie gebruikt.

Een LDA bestaat uit een serie (meestal 35 - 1024) diodes die op een silica kristal zijn gemonteerd. (Figuur 23). Iedere diode heeft zijn eigen condensator en door middel van een 'electrische' schakelaar zijn ze onderling met elkaar verbonden.

Schematische weergave van multi golflengte-detectie.

- A: snel scannende detectie
- B: lineaire diode-array detectie;
- G: rooster.

figuur 23

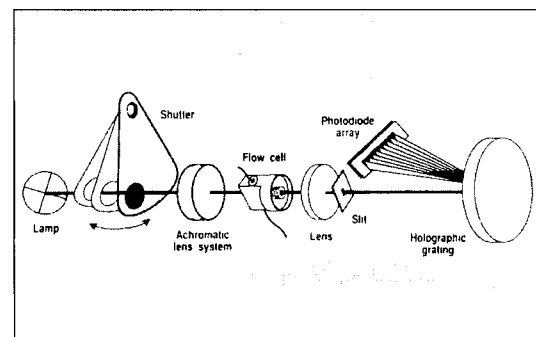


Schematische weergave van een lineaire diode-array.

Allereerst worden de condensatoren tot een bepaald niveau opgeladen. Indien fotonen het silicalaagje binnendringen worden de condensatoren weer ontladen. De condensatoren worden op vaste tijdstippen herladen en dit bepaalt de periode waarin gemeten kan worden. Gedurende iedere meetcyclus, van ongeveer 1 ms, worden de dioden herladen en de hoeveelheid elektrische lading die nodig is om de condensatoren te herladen komt overeen met het aantal fotonen - de lichtintensiteit - dat door een diode is gedetecteerd. Door nu de signalen van de afzonderlijke diodes met elkaar te combineren wordt een volledig absorptiespectrum verkregen.

Een ander belangrijk onderdeel van een LDA is de 'shutter' (Figuur 24).

figuur 24



Schematische weergave van een lineaire diode-array spectrofotometer.

Deze zorgt ervoor dat alleen tijdens de meting het monster bestraald wordt. Op deze manier worden niet gewenste fysische en/of chemische reacties voorkomen.

In LDA detectoren wordt meestal de voorkeur gegeven aan enkelstraals-instrumenten. Dit omdat hierin geen bewegende delen en minder optische componenten aanwezig zijn. Het resultaat is dan ook een robuust systeem met een uitstekende gevoeligheid.

Dubbelstraalsinstrumenten hebben echter de mogelijkheid om te corrigeren voor veranderingen in de intensiteit van de lichtbron en (electronische) ruis en zijn daarom, in principe, gevoeliger en stabiel. Maar door de snelheid waarmee gegevens verzameld kunnen worden en het korte tijdsbestek tussen het meten van een monster en de referentie zijn LDA detectoren bij uitstek geschikt om in de enkelstraals configuratie te worden gebruikt.

### 3.2.3

#### Instrumentele parameters

Bij het gebruik van scannende en LDA detectoren zijn er een aantal parameters die de juistheid en nauwkeurigheid van de gemeten absorpties beïnvloeden. De volgende parameters zijn hierop ondermeer van invloed:

- 1 Spectrale resolutie;
- 2 Gevoeligheid;
- 3 Dynamisch bereik;
- 4 Golflengte reproduceerbaarheid.

Een uitgebreide discussie omtrent deze parameters is gegeven in de vorige delen van deze serie. Vandaar dat alleen enkele specifiek voor scannende en LDA detectoren belangrijke factoren besproken zullen worden. De nadruk ligt hierbij op het gebruik van de polaire LDA detectoren.

#### 1 Spectrale resolutie:

Spectrale resolutie is een parameter die aangeeft hoe goed twee naast elkaar gelegen golflengten van elkaar onderscheiden kunnen worden. Twee golflengten worden als gescheiden beschouwd indien het minimum van het detectorsignaal tussen de twee pieken minder is dan 80% van het maximum.

De resolutie hangt af van de spectrale bandbreedte (SB). Deze wordt gedefinieerd als de breedte van de piek bij halve intensiteit. De juistheid van de gemeten absorptie hangt af van de verhouding van de SB en de bandbreedte (BB) van het absorberende deeltje. De BB is gedefinieerd als de breedte van de absorptieband op halve hoogte van het absorptiemaximum. Indien de SB/BB verhouding 0,1 of minder is dan kan de absorptie met een juistheid van 99,5% of meer worden bepaald.

Bij conventionele detectoren hangt de SB voornamelijk af van de breedte van de intree- en uitreespleet van de monochromator en het dispergerend vermogen van het gebruikte rooster. Resoluties van 0,1 à 0,5 zijn zondermeer mogelijk.

Resolutie kan een probleem zijn bij LDA detectoren. Deze varieert van 0,1 nm - 3 nm per diode. Voor detectie in LC is een resolutie van 1 - 5 nm meestal voldoende.

Wat is nu de maximale SB, die in de praktijk gebruikt kan worden?

Uitgaand van een BB van 20 nm of meer, is een SB van 2 nm voldoende. Voor BB waarden kleiner dan 20 nm, bijvoorbeeld de vibratieovergangen in aromaten, moet een SB van 0,1 - 0,5 worden gebruikt.

Een andere reden om een kleine SB te gebruiken is wanneer absolute absorptiemetingen moeten worden uitgevoerd. In de praktijk worden echter meestal relatieve metingen

uitgevoerd ten opzichte van een standaard, hetgeen betekent dat zelfs voor verbindingen met een kleine BB betrouwbare kwantitatieve gegevens kunnen worden verkregen met een SB van 1 - 2 nm.

#### attentie!

Door gebruik te maken van een kleinere SB neemt wel de juistheid van de absorptiemetingen toe, maar lang niet altijd de betrouwbaarheid. Dit omdat de nauwkeurigheid afneemt doordat de ruis toeneemt doordat er minder licht door het monster gaat.

De resolutie hangt af van zowel de optische als de digitale resolutie. Dit betekent dat niet alleen het aantal dioden maar ook de diode-breedte een belangrijke rol speelt. Voor de meeste LDA systemen geldt dat gekozen moet worden voor een hoge gevoeligheid of voor een hoge selectiviteit / resolutie. Zoals door Webster [G. Webster, Extr<sup>v</sup>ct, 6(3) (1995) 21] al aangegeven, bepaalt het aantal dioden alleen de digitale resolutie. De optische resolutie is echter minstens even belangrijk. Door minder dioden te gebruiken kan een groter diode oppervlak worden toegepast waardoor een langere integratietijd kan worden gebruikt. Met als gevolg meer gevoeligheid, maar minder resolutie doordat nu een grotere bandbreedte wordt gebruikt.

Dit betekent dat voor een goede evaluatie van een LDA detector zowel de selectiviteit als de gevoeligheid getest moet worden aan de hand van een geschikte neutrale aromatische (b.v. naftaleen, anthraceen) verbinding.

