



# Spectrometrie

## SPECTROSCOPISCHE DETECTIE IN DE VLOEISTOFCHROMATOGRAFIE:

Theorie, Apparatuur, Interpretatie en Toepassingen: Deel II

H. LINGEMAN

VRIJE UNIVERSITEIT, VAKGROEP ANALYTISCHE CHEMIE, DE BOELELAAN 1083, 1081 HV AMSTERDAM, TEL.: 20 444 7539, FAX.: 20 444 7543

### INLEIDING

In Deel II 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 calibratie, apparatuurtechnische en hiermee samenhangende praktische aspecten aan de orde komen.

De meeste aandacht gaat uit naar het gebruik van één-golflengte (single wavelength) detectoren die gebruikt kunnen worden in combinatie met een vloeistofchromatografische scheiding. Verder zullen er methoden besproken worden die gebruikt kunnen worden om absorptiedetectoren te ijken.

**Literatuur:** Algemene informatie omtrent het gebruik van absorptiedetectie in de vloeistofchromatografie kan gevonden worden in:

R.P.W. Scott, *Liquid Chromatography Detectors*, 2nd. ed., Elsevier, Amsterdam, 1986.

J.W. Dolan and L.R. Snyder, *Trouble Shooting LC Systems*, Humana, 1989.

### 2.1 APPARATUUR

In Figuur 7 is schematisch een ultraviolet (UV) absorptiedetector voor vloeistofchromatografie (LC) weergegeven. Een detector waarmee metingen in het golflengtegebied van 200 nm tot 800

nm kunnen worden uitgevoerd bestaat uit de volgende onderdelen:

- Stralingsbron (vaak een deuteriumlamp);
- Monochromator (vaak een diffractie-rooster);
- Doorstroomcel;
- Stralingsdetector;
- Versterker met afleeseenheid en/of registreer-eenheid, meestal gekoppeld aan een gegevensverwerkend systeem.

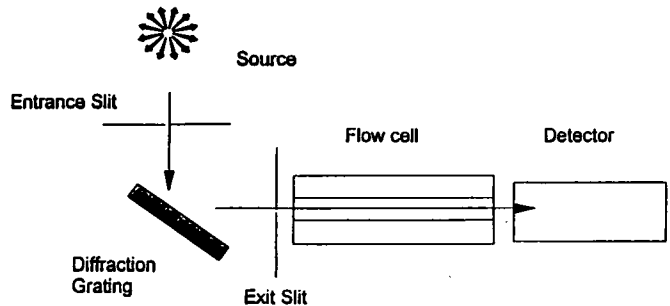


Fig.7 Schematische weergave van een UV spectrometer

Het dispergerend element - de monochromator - scheidt het witte licht van de deuteriumlamp in verschillende golflengten en de aanwezige spleet zorgt ervoor dat er maar een zeer beperkt aantal golflengten het monster en de detector kunnen bereiken. Er bestaan enkelstraals- en dubbelstraalsinstrumenten. In een enkelstraalsinstrument moet na elkaar bij iedere gewenste golflengte de intensiteit worden gemeten van de door het monster doorgelaten straling. Het op nul instellen met behulp van een blanco bij elke golflengte waarbij de extinctie wordt gemeten, is nodig omdat de stralingsintensiteit van de bron, de gevoeligheid van de detector en de doorlaatbaarheid en reflectie van de optische componenten veranderen met de golflengte. Een enkelstraalsinstrument is zeer geschikt voor nauwkeurige metingen bij één golflengte. Het opnemen van spectra is echter een tijdrovende zaak. Vaak is daarom een splitter aanwezig die de lichtbundel in tweeën splitst waardoor er een referentie- en een monsterbundel ontstaat. Het nadeel van deze methode is dat er twee detectoren nodig zijn die niet altijd dezelfde gevoeligheid hebben. De andere mogelijkheid is het gebruik van een chopper (een roterende spiegel) waardoor het licht afwisselend

door de monsteroplossing en de blanco wordt gestuurd. Bij dit type dubbelstraalsinstrumenten ontstaan twee stralingsbundels waarvan de intensiteit lager is dan van de primaire bundel, en bovendien niet altijd gelijk. In beide gevallen wordt de intensiteit van de monster- en die van de referentiebundel afzonderlijk gemeten.

Tegenwoordig zijn er registrerende enkelstraalsinstrumenten op de markt. Deze hebben of een systeem waarbij monster en blanco snel heen en weer worden bewogen of een systeem waarbij het referentiespectrum over het gewenste golflengtegebied wordt opgeslagen in een geheugen en afgetrokken van het spectrum van het monster voordat dit wordt geregistreerd. Het laatste systeem vereist uiteraard een grote stabiliteit van zowel de bron als de detector alsmede een reproduceerbare en nauwkeurige instelling van de golflengte.

Een UV-VIS detector meet de verhouding van het licht dat de doorstroomcel binnenkomt ( $P_0$  of  $I_0$ ) en het licht dat door de cel heen komt ( $P$  of  $I$ ). De verhouding hiervan is de transmissie ( $T$ ) (Vergelijking 3):

$$T = I / I_0 = P / P_0 \quad (3)$$

Omdat de transmissie niet lineair verandert met de concentratie, waardoor het moeilijk wordt om van de pieken in een chromatogram de concentratie te bepalen, wordt in een spectrometer de transmissie omgezet naar een absorptie ( $A$  of  $E$ ) volgens Vergelijking 4:

$$A = E = \log 1 / T \quad (4)$$

Literatuur: Spectrometers bestaan al ongeveer 50 jaar, alleen de introductie van de doorstroomcel voor LC toepassingen is een relatief nieuwe ontwikkeling. Een volledige discussie over de verschillende onderdelen die in een spectrometer zitten kan gevonden worden in: A. Knowles and C. Burgess (Eds.), *Practical Absorption Spectrometry*, Chapman and Hall, London, 1984

B.J. Clark, T. Frost and M.A. Russell (Ed.), *U.V. Spectroscopy*, Chapman and Hall, London, 1993.

Gelijktijdig met de ontwikkeling van de LC, in de beginjaren zeventig, begon-

nen apparatuurfabrikanten met het ontwikkelen van LC detectoren uitgerust met doorstroomcellen. In het begin leken UV detectoren precies op conventionele spectrometers, maar al gauw werden deze aangepast aan de specifieke eisen voor LC detectoren. Om het bijvoorbeeld mogelijk te maken om tijdens de chromatografische run een spectrum op te nemen. Verder waren een aantal detectoren in het begin uitgerust met een 'chopper' zodat een referentiecel gebruikt kon worden, maar deze optie bleek van weinig waarde omdat in LC, in tegenstelling tot gewone spectrometrie, alleen relatieve metingen worden uitgevoerd. Het gevolg was dat UV detectoren goedkoper konden worden dan gewone spectrometers omdat overbodige accessoires achterwege gelaten werden. Op hetzelfde moment is de gevoeligheid en de stabiliteit van UV detectoren zodanig verbeterd dat heden ten dage UV detectie de meest robuuste detectietechniek binnen de scheidingsmethoden genoemd mag worden.

Achtereenvolgens zullen een aantal componenten worden besproken die van wezenlijk belang zijn voor het toepassen van UV detectie.

### 2.1.1 Stralingsbron

Als stralingsbronnen kunnen worden gebruikt de wolfram-, halogeen-, deuterium-, xenon- of kwiklamp. Verder kunnen voor speciale toepassingen een pulserende xenonlamp of een laser worden gebruikt.

■ Wolframlamp (voor het VIS gebied). Deze lamp bestaat uit een band- of spiraalvormig stukje wolfram dat door een elektrische stroom tot gloeien wordt gebracht en een continu emissiespectrum heeft overeenkomend met het spectrum van een 'zwarte straler' van ongeveer 2.900 K. De lamp heeft een emissiemaximum bij ongeveer 1.000 nm. De intensiteit neemt snel af bij kortere golflengten en is gevoelig voor spanningsfluctuaties (1% spanningsfluctuatie kan een verandering van 6% in de intensiteit geven). Daarom wordt de lampvoeding gestabiliseerd. Bij veroudering nemen de lichtintensiteit en kleurtemperatuur van de lamp af door het neerslaan van wolfram op het omhulsel. Het materiaal van het omhulsel bepaalt de ondergrens van het golflengtegebied

waarin de lamp bruikbaar is.

#### ■ Halogeenlamp.

Deze lamp is een modificatie van de wolfraamlamp en heeft een kwartsomhulsel zodat hij bruikbaar is tot 280 nm (UV gebied). Verder bevat de lamp een weinig jodium dat het neerslaan van wolfram op de wand tegengaat. De halogeenlamp heeft een hogere lichtopbrengst dan de eenvoudige wolfraamlamp (Figuur 8). De halogeenlamp stelt hoge eisen aan de stabiliteit van de voedingsspanning. Bij 450 nm varieert de stralingsintensiteit met  $i^8$ .

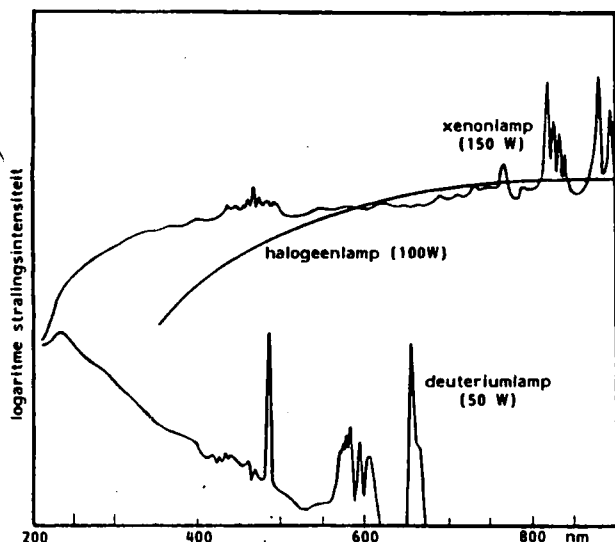


Fig. 8 Intensiteit van enkele stralingsbronnen als functie van de golflengte

■ Deuteriumlamp - waterstoflamp - (voor het UV gebied). Deze lamp bestaat uit twee elektroden, die zich binnen een omhulsel bevinden in een deuterium (waterstof) atmosfeer (ca. 3 mm Hg). Nadat de kathode via een verwarmingsmechanisme op temperatuur is gebracht, wordt tussen de beide elektroden een spanning van ongeveer 100 V aangelegd. Hierdoor ontstaat een electronentransport, dat de aanwezige deuteriummoleculen aanslaat en dissocieert. Bij recombinatie van de deuteriumatomen en -ionen treedt emissie van straling op. Het emissiespectrum is beneden de 350 nm continu en vrij van lijnen (Figuur 8). De ondergrens van het doorlaatbaarheidsgebied wordt in hoofdzaak bepaald door de doorlaatbaarheid van het omhulsel. De deuteriumlamp heeft een ongeveer driemaal zo hoge lichtop-

brengst als de waterstoflamp. Deuteriumlampen zijn kostbaar en hebben een beperkte levensduur (ca. 500 h).

■ Xenon- en kwiklampen. Deze bronnen hebben een hoge intensiteit (Figuur 8). Ze werken bij een hoge druk (40-80 atm) en geven onder die omstandigheden een combinatie van een continu en een lijnenspectrum met sterk verbrede lijnen. Ze vereisen een hoge spanning en dus een speciale spanningsbron. Kwiklampen worden veel toegepast in UV detectoren voor LC, waarbij bij een aantal vaste golflengten wordt gemeten. Xenonlampen vinden vooral toepassing in de fluorimetrie. De levensduur van dergelijke bronnen bedraagt 200 - 2.000 uur.

■ Pulserende bronnen (bijvoorbeeld de pulserende xenonlamp) worden vooral gebruikt als storings door van buiten afkomstig strooilight vermeden moeten worden. Ze worden gebruikt in plaats van 'choppers'. Zowel de 'chopper' als de pulserende bron geven een wisselings signaal af dat selectief wordt versterkt. Het gevolg is dat het continu aanwezige strooilight signaal wordt genegeerd.

■ Lasers zijn van tamelijk recente datum. Ze hebben het voordeel van een zeer hoge stralingsintensiteit en een zeer kleine bandbreedte. Er zijn lasers met variabele golflengte (bijvoorbeeld één voor het gebied van 285 tot 400 nm). Ze zijn echter nog zeer kostbaar en hun levensduur is beperkt. Op het moment worden ze voornamelijk gebruikt voor fluorescentiedetectie en zullen daarom in de overeenkomstige sectie in meer detail worden besproken.

Samenvattend kan worden gezegd dat voor UV detectie in LC in het algemeen een deuteriumlamp wordt gebruikt. Deze lamp heeft zijn energiemaximum in het UV gebied, maar ook in het VIS gebied, tot ongeveer 500 nm, is deze lamp bruikbaar. Dit is een duidelijk voorbeeld van het aanpassen van een LC detector ten opzichte van conventionele spectrometers waarin bijna altijd twee lichtbronnen aanwezig zijn.

*Attentie! Een belangrijk punt is dat lampruis groter wordt bij het verouderen van een deuteriumlamp. Dit betekent dat ruim voordat de lamp totaal geen licht*

meer uitzendt deze vervangen moet worden. Bij een aantal instrumenten is het mogelijk om de intensiteit van de lamp te controleren, hetgeen minimaal op vaste tijdstippen moet gebeuren. Een ander punt waaraan gedacht moet worden is dat het langdurig opslaan van lampen meestal een negatief effect op het ruisniveau en de levensduur heeft, zodat het op voorraad houden van lampen tot een minimum beperkt moet worden.

**Literatuur:** Een overzicht van de gebruikte lichtbronnen in UV en VIS detectoren is te vinden in:

P.R. Fielden, Recent Developments in LC Detector Technology, J. Chromatogr. Sci., 30 (1992) 45.

### 2.1.2 Monochromator en spleetbreedte

De meeste stralingsbronnen leveren een continu spectrum over een tamelijk groot golflengtegebied. Het is echter belangrijk om de absorptie van straling te meten bij één golflengte of bij een aantal golflengten afzonderlijk. Daartoe moet de straling naar golflengte worden gescheiden met behulp van een monochromator. Deze bestaat uit een dispergerend (kleurschiftend) element in combinatie met een in- en een uittreespleet en een aantal spiegels en/of lenzen. In het UV gebied worden in het algemeen meer spiegels dan lenzen gebruikt. De kwaliteit van het reflecterende oppervlak is zeer belangrijk. Indien een spectrometer tussen bron en detector tien reflecterende oppervlakken heeft is de uiteindelijke stralingsopbrengst bij een reflectie van 90% per oppervlak minder dan 40%. Als gevolg van het blootstaan aan UV straling neemt bovendien het reflecterend vermogen snel af (bij 200 nm van 90% naar 40% in 200 dagen).

Voor de dispersie kunnen prisma's en roosters worden gebruikt, waarbij door draaiing van het dispergerende element steeds straling met een andere golflengte door het monster kan worden gestuurd. Met filters wordt een beperkt golflengtegebied afgezonderd en is voor elke golflengte waarbij men wil meten een ander filter nodig. De kwaliteit van een monochromator wordt bepaald door de stralingsopbrengst, de (effectieve) spectrale spleetbreedte en de hoeveelheid strooilicht. Onder de spectrale

spleetbreedte verstaat men de breedte van het golflengtegebiedje dat bij instellen van een bepaalde golflengte wordt doorgelaten (Figuur 9). De effectieve spectrale spleetbreedte is het golflengtegebiedje waarin de intensiteit van de doorgelaten straling tenminste gelijk is aan de helft van de intensiteit in het maximum.

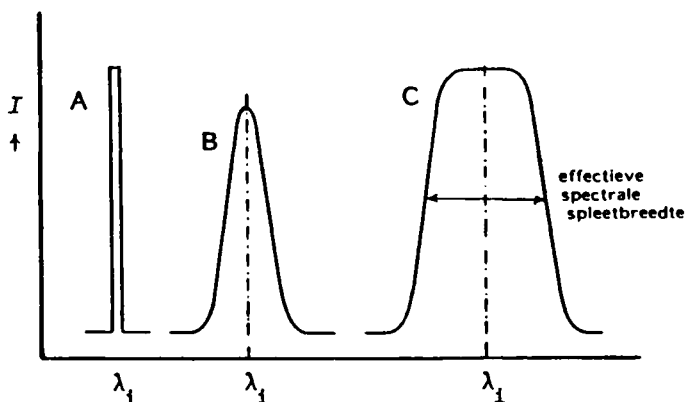


Fig.9 Golflengtegebied van de uit de monochromator tredende straling bij instellen van de golflengte  $\lambda_1$ , A; Ideaal, B; profiel van een goede monochromator, C; gangbaar profiel

■ Filters laten straling door van bepaalde golflengten en absorberen de overige straling. Men onderscheidt onder andere kleurfilters en interferentiefilters. Kleurfilters bestaan uit een materiaal waarin een kleurstof is verwerkt. Kleurfilters met dezelfde kleur kunnen zeer verschillende absorptiecurves vertonen. Een oranje filter bijvoorbeeld kan zijn kleur te danken hebben aan (Figuur 10):

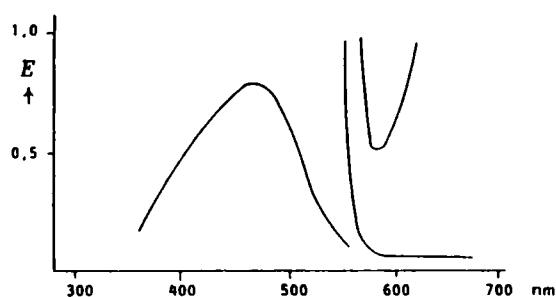


Fig. 10 Spectra van filters met een oranje kleur

- Het uitsluitend doorlaten van het gebied in het spectrum dat met oranje correspondeert (595 - 600 nm);
- Het doorlaten van alle golflengten

boven de 580 nm en absorberen van alle straling met een kortere golflengte;

- Absorptie van uitsluitend blauwgroene straling (de complementaire kleur van oranje, 480 - 490 nm).

Hoewel alle drie typen kleurfilters in de spectrometrie worden gebruikt, wordt alleen het eerste type voor dispersie-doelinden toegepast, hoofdzakelijk in eenvoudiger apparaten waarmee bij één of slechts enkele golflengten wordt gemeten (bijvoorbeeld in UV detectoren voor LC). Dergelijke filters hebben een bandbreedte van (vaak) enkele tientallen nanometers.

- Interferentiefilters bevatten een doorlatende laag met een dikte  $d$  tussen twee verzilverde glasplaten. Er wordt alleen straling doorgelaten als geldt:

$$d = k \cdot \lambda / 2 \quad (7)$$

In deze vergelijking is  $k$  elk geheel getal groter dan 0. Interferentiefilters hebben een veel kleinere bandbreedte dan kleurfilters.

- Prisma's. Het dispergerend vermogen van een prisma berust erop dat het prismamateriaal voor elke golflengte een andere brekingsindex heeft. Het dispergerend vermogen neemt over het algemeen toe naarmate de golflengte afneemt. Daardoor wordt bij eenzelfde spleetbreedte bij een kortere golflengte een kleiner golflengtegebied (uitgedrukt in nm) doorgelaten dan bij een langere golflengte. De spectrale spleetbreedte van een prismamonochromator wordt ondermeer bepaald door de lengte van de basis, de grootte van de tophoek van het prisma, en de breedte van de intreespleet. Door verkleining van de spleet kan de spectrale spleetbreedte niet onbepaald worden verminderd. Bij een te smalle spleet gaan namelijk verstrooiingsverschijnselen optreden aan de randen van de spleet. Bovendien neemt de intensiteit van de uittredende straling sterk af.

- Roosters. Er wordt onderscheid gemaakt tussen doorlatende en reflectie-roosters. Bij doorlatende roosters wordt een groot aantal evenwijdige lijnen in het materiaal gekrast; straling wordt

alleen doorgelaten door de niet-gekraste delen van het rooster. Bij het reflectierooster wordt de straling gereflecteerd in de krassen die evenwijdig en onder een schuine hoek in het rooster materiaal zijn aangebracht. De spectrale scheiding wordt verkregen doordat interferentie optreedt (Figuur 11).

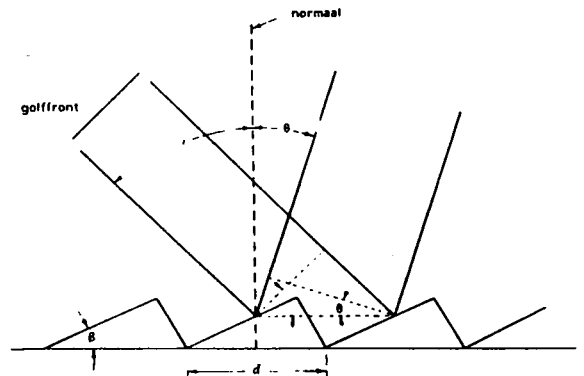


Fig. 11 Interferentie aan een reflecterend rooster.  $\beta$  is de 'blaze'-hoek.

Versterking van straling vindt plaats indien:

$$k \cdot \lambda = d (\sin i \pm \sin \theta) \approx d \sin \theta \quad (8)$$

(voor kleine waarden van  $\theta$ )

In Vergelijking 8 is  $k$  elk geheel getal  $\geq 0$  en  $d$  de roosterconstante, dat is de afstand tussen twee lijnen in het rooster. Uit de formule volgt dat behalve straling met golflengte  $\lambda$ , voor  $k = 1$  (eerste-ordespectrum), ook straling wordt doorgelaten met golflengte  $\frac{1}{2}\lambda$  en  $k = 2$ , enz. Met behulp van filters kunnen de hogere-ordespectra uit de straling worden verwijderd. De hoogste stralingsintensiteit wordt verkregen als zoveel mogelijk straling van één orde wordt doorgestuurd. Dit bereikt men door een optimale keuze van de hoek tussen het reflecterende oppervlak en het roosteroppervlak, de 'blaze'-hoek ( $\beta$ ). Voor roosters geldt dat de spectrale spleetbreedte evenredig is met de breedte van de uittreespleet.

Tegenwoordig wordt vaak een holografisch rooster toegepast. Dit wordt vervaardigd door op glas een laagje lichtgevoelig materiaal aan te brengen en dit bloot te stellen aan het interferentiepatroon van een coherente lichtbron. Na 'ontwikkeling' wordt het geheel bedekt met een laagje reflecterend aluminium.

Dergelijke roosters kunnen als zodanig worden gebruikt; er kunnen echter ook kopieën van worden gemaakt. De kwaliteit van holografische roosters is dermate goed dat er minder spiegels en lenzen nodig zijn, waardoor het verlies aan stralingsintensiteit geringer is.

In de beginnende jaren van de LC waren UV detectoren soms uitgerust met simpele filters om de detectiegolflengte te kiezen. Dit gebeurde door het juiste filter bij de gewenste golflengte te kiezen. Tegenwoordig zijn de meeste apparaten uitgerust met een rooster om het licht in kleuren te schiften. Dit betekent dat nauwkeurig de gewenste golflengte kan worden gekozen.

**Literatuur:** Uitgebreide informatie over de werking en het ontwerp van roosters kan gevonden worden in:

A. Knowles and C. Burgess (Ed.), *Practical Absorption Spectrometry*, Chapman and Hall, London, 1984.

Het licht dat de monochromator verlaat moet zodanig gemanipuleerd worden dat alleen het licht van de gewenste golflengte de doorstroomcel bereikt. De intreespleet selecteert het energiegebiedje dat doorgelaten wordt en dat dus de cel bereikt. De spleetbreedte kan niet in alle detectoren worden gevarieerd. Het is echter een bijzonder belangrijke parameter indien spectrometers met elkaar vergeleken worden, omdat hoe groter de spleet des te groter de hoeveelheid energie die de doorstroomcel bereikt. Een grote spleet verbetert de signaal-ruis-verhouding (S/N) van het instrument en dus de gevoeligheid. Er moet echter een compromis worden gevonden tussen een betere gevoeligheid en een slechtere selectiviteit bij het verder openen van de spleet.

**Attentie!** De meeste apparaten hebben een zodanige spleetbreedte dat een golflengtegebiedje van ongeveer 6 nm wordt doorgelaten. Het resultaat is een goede gevoeligheid zonder dat de selectiviteit significant wordt aangetast doordat in het UV gebied met relatief brede absorptiebanden wordt gewerkt.

### 2.1.3 Doorstroomcel

De aanwezigheid van een doorstroomcel is het meest belangrijke verschil tussen een UV detector en een conventionele spectrometer. In plaats van een cuvet-houder is er een 'vaste' doorstroomcel in het instrument gemonteerd.

**Attentie!** Het feit dat er een niet verwisselbare doorstroomcel in een UV detector aanwezig is betekent dat voor calibratieprocedures alleen vloeibare standaarden gebruikt kunnen worden.

De doorstroomcel zelf moet uiteraard zo min mogelijk straling absorberen daarom is het van belang dat de cel van kwarts en niet van optisch- of spiegelglas is gemaakt. Deze laatste twee materialen kunnen niet in het VIS gebied worden gebruikt.

In Figuur 12 is een voorbeeld van een moderne doorstroomcel voor LC-UV toepassingen te zien.

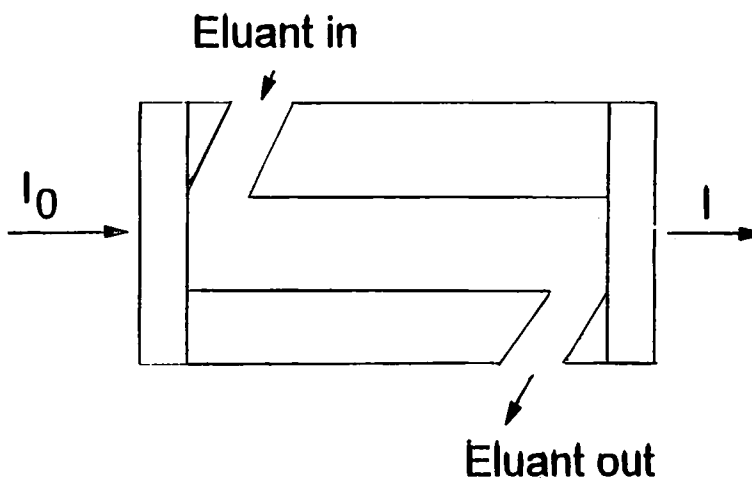


Fig. 12 Doorstroomcel voor absorptiedetectie in de vloeistofchromatografie.

De laatste jaren komen er steeds nieuwe cellen op de markt waarvan op de een of andere manier de weglengte is vergroot. Goed ontworpen doorstroomcellen zijn relatief ongevoelig voor veranderingen in het debiet en de temperatuur. De belangrijkste voorbeelden zijn de Z- en H-type cellen. In combinatie met 3,0 - 4,6 mm I.D. LC kolommen worden er cellen gebruikt met een I.D. van 1,0 mm, een 10 mm optische weglengte en een intern volume van ongeveer 8  $\mu$ l. De gebruike-

lijke gevoeligheid van UV-VIS detectoren is 0,001 AUFS met ca. 1% basislijnruijs. Dit betekent dat voor vroeg eluerende verbindingen, in een geoptimaliseerd systeem, de volgende detectiegrenzen kunnen worden gehaald: 0,1 ng bij een  $\epsilon$  van 10.000, 1 ng bij een  $\epsilon$  van 1.000 en 10 ng bij een  $\epsilon$  van 100. Vergroting van de weglengte is belangrijk omdat volgens de Wet van Lambert-Beer de absorptie lineair toeneemt met de optische weglengte. Bij conventionele spectrometers is precies bekend wat de weglengte is van de gebruikte cuvet, bij UV detectoren ligt dit anders. Niet alleen is de weglengte vaak minder dan 1 cm, maar veel fabrikanten geven niet precies aan hoe groot de weglengte is. Het gevolg is dat het overzetten van een methode van de ene naar de andere detector soms tot onverwachte problemen leidt.

De doorstroomcel introduceert enkele nieuwe problemen en dat zijn de gevoeligheid voor veranderingen in temperatuur en brekingsindex (RI).

Wanneer licht door een doorstroomcel gaat zal een gedeelte van de straling gereflecteerd worden aan de verschillende grensvlakken die in de cel aanwezig zijn. De hoeveelheid licht die gereflecteerd wordt hangt af van het verschil in RI tussen de twee media. Het meest kritische grensvlak bevindt zich tussen de celwand waar het licht binnen komt en de mobiele fase. Normaal is hier weining verschil tussen de twee RI waarden zodat een kleine verandering in de samenstelling van de mobiele fase al een duidelijke invloed op de transmissie kan hebben. De RI waarde is normaal gesproken sterk afhankelijk van de temperatuur en de eluens samenstelling. Vandaar dat thermostering van de detectiecel belangrijk is. Veranderingen in de RI waarde door eluens wisselingen zijn echter nog steeds een probleem en kunnen onverwachte oplosmiddelpieken in het chromatogram geven.

#### 2.1.4 Stralingsdetector en responstijd

Als detector worden tegenwoordig vrijwel uitsluitend vacuümfotocellen en fotomultiplicatorbuizen (PMT) toegepast. Een speciale detector is de diode-array detector (DAD), die met name in de LC meer en meer gebruikt wordt. In deze

paragraaf zal het principe van de PMT en de DAD worden besproken, de toepassingsmogelijkheden van de DAD komen in één van de volgende artikelen in deze serie aan de orde.

■ Vacuümfotocel. De fotocel bestaat uit een kathode, vaak in de vorm van een halve cilinder, en een staafvormige anode als as van de cilinder. Het geheel is opgesloten in een glazen of kwarts omhulsel. De kathode is bedekt met een dun laagje caesium dat gelegeerd is met antimoon en waaraan bovendien nog wat zilver en zilveroxide is toegevoegd. De werking berust op het foto-electrisch effect. Voor ieder foton, dat op de kathode valt wordt een electron vrijgemaakt. Dit electron wordt vervolgens door het over de fotocel aangelegde spanningsverschil (b.v. 90 V) naar de anode getransporteerd. De zo ontstane stroom (omstreeks 10 pA) kan na versterking worden gemeten en is evenredig met de hoeveelheid op de kathode vallende straling. Omdat de kathode ook zonder dat er straling opvalt electronen emitteert, moet altijd worden gecorrigeerd voor deze zogenaamde donkerstroom. De spectrale gevoeligheid van de fotocel hangt af van het gebruikte kathodemateriaal. Om het gehele gebied van 200 tot 1.000 nm te kunnen bestrijken worden meestal twee fotocellen gebruikt, die naar de ligging van hun gevoeligheidsmaximum blauw respectievelijk rood gevoelig worden genoemd. Men treft ze tegenwoordig alleen nog aan in oudere en zeer eenvoudige instrumenten.

■ Fotomultiplicatorbuizen (Figuur 13). De PMT berust op hetzelfde principe als de vroeger veel gebruikte fotocel. De PMT bevat echter een aantal hulpelectroden, zogenaamde dynoden, die tussen de kathode en de anode zijn geplaatst en die een versterking van het signaal geven met een factor  $10^6$  tot  $10^7$ . Het oppervlak van de dynode is bedekt met een laagje caesium-antimoon of met beryllium-koper. Het spanningsverschil tussen de verschillende dynoden is 70 - 100 V. Voor elk electron dat een dynode treft worden vier tot vijf zogenaamde secundaire electronen uitgezonden. Dit proces herhaalt zich bij elke dynode, zodat uiteindelijk een hoge versterkingsfactor wordt verkregen. De PMT is zeer gevoelig en lineair over een groot



gebied. Er treedt echter gemakkelijk beschadiging op als er teveel straling op de detector valt, bijvoorbeeld daglicht. PMT's hebben een hoge spanning nodig (ca. 1 kV), die bovendien stabiel moet zijn. De gevoeligheid kan worden vergroot door de dynodespanning te verhogen. Dit heeft als bezwaar dat daarmee ook de donkerstroom wordt vergroot.

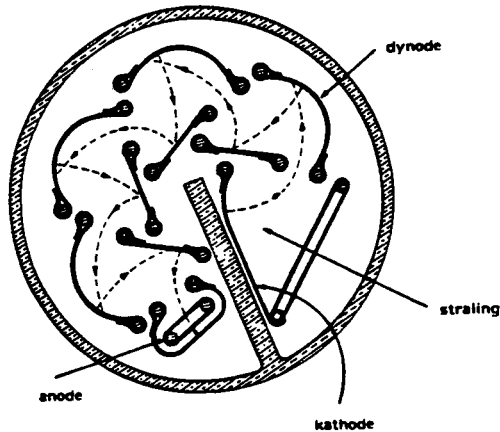


Fig. 13 Fotomultiplicatorbuis

■ Diode-array detector. Deze bestaat uit een aantal (tot 512) siliciumdioden. De geleidbaarheid van een diode is evenredig met de intensiteit van de erop vallende straling. Bij deze wijze van detectie wordt het rooster achter de monsterruimte geplaatst. De door het rooster verspreide straling komt op de siliciumdioden terecht, die elektronisch worden afgetast. Voor elke golflengte waarbij men wil meten is er een diode. Op deze wijze kan zeer snel een spectrum worden verkregen. Vandaar dat deze detector bij voorkeur wordt gebruikt in combinatie met LC. De siliciumdiode is, in principe, minder gevoelig dan de PMT maar heeft geen spanningsbron nodig.

■ Responstijd. Bij veel detectoren kan de responstijd worden gevarieerd. De responstijd is een dempingsfactor die gebruikt wordt bij het analoog uitlezen van een signaal. Een hoge waarde zal de ruis uitmiddelen, maar bij scherpe (smalle) pieken, bij het gebruik van kolommen met een I.D. van  $< 1$  mm, kan dit een vervorming van de piek geven. Het is dus belangrijk dat de responstijd altijd wordt aangepast aan de piekbreedte. Voor microbore kolommen (I.D.  $< 1$  mm) is een responstijd van 0,5 s meestal een goede keus.