

des überhitzten Wasserdampfes berechnet [6]. Die Linien des extremen Druckanstieges im überkritischen Bereich basieren auf isochoren Kompressibilitätskoeffizienten von heissem Wasser in flüssiger Form [6].

Beim Experimentieren unter Phasengleichgewichtsbedingungen im HDLR ist also für jede gewünschte Temperatur $T \leq T_{\text{crit}}$ nur ein Anfangsfüllgrad im Intervall $w_0 \in [w_{0,\text{min}}(T); w_{0,\text{max}}(T)]$ zulässig. Mit steigender Temperatur nimmt die Breite dieses Intervalles rapide ab und wird für die maximale Gleichgewichtstemperatur am kritischen Punkt zu Null. Die ist eine Folge der gleichen Werte der spezifischen Volumina von Satt Dampf und Siedewasser am kritischen Druck und damit als Konsequenz auch die Gleichheit der Werte $w_{0,\text{min}}(T_{\text{crit}}) = w_{0,\text{max}}(T_{\text{crit}})$.

Also auch in dieser Art des Experimentierens, beim Erhitzen von Wasser im isochoren, diskontinuierlichen Reaktor, zeichnet sich der kritische Zustand speziell aus; er ist nur erreichbar, wenn der Anfangsfüllgrad präzise 31.3% beträgt.

8. Abweichungen vom ideal-isochoren Verhalten

Die oben präsentierten Rechnungen und Schlussfolgerungen basieren auf idealisierten Voraussetzungen, die den Rechnungsgang zwar wesentlich vereinfachen,

die aber mit einer realen Konstruktion streng genommen unvereinbar sind, oder nur näherungsweise erfüllt sein können. Das reale Verhalten eines rohrförmigen Stahlautoklaven während dem Erwärmen ist natürlich nicht ideal isochor. Infolge der Temperatur-Zunahme und infolge des Druckanstieges dehnt sich das Innenvolumen etwas aus. Solange diese Reaktionsvolumenzunahme gegenüber dem Anfangsvolumen vernachlässigbar bleibt, folgen die realen Zustandsänderungen (quasi-isochor) wenigstens approximativ denen unter idealen Bedingungen. Weiter ist aus konstruktiven Gründen zusätzlich zum genannten Reaktionsvolumen ein nicht vollständig beheizbares, wenn auch kleines Totvolumen in Rechnung zu setzen, welches den Rauminhalt der Messleitung und des Manometers quantifiziert. Durch die Wahl von Messleitungen mit sehr kleinem Innendurchmesser und von Totvolumen-armen piezoelektrischen Druckmessgebern lässt sich diese notwendige Rechnerkorrektur vernachlässigen. Beide genannten Nicht-Idealitäten äussern sich aber gleichermaßen in einer leichten Vergrößerung des disponiblen realen Reaktor-Volumens im Vergleich zum idealen. Somit zeigt der Rechnungsgang des Druckes im idealen Reaktor bei gewählter Temperatur und bekanntem Anfangsfüllgrad einen approximativen Wert als obere Grenze des Druckes unter realen Bedingungen.

9. Schlussfolgerung

Mit der Einführung des Anfangsfüllgrades als experimenteller Parameter wurde es uns möglich, unsere erst scheinbar unverständlichen Messungen theoretisch zu begründen. Damit wurde uns das Geschehen im Innern des HDLR, verfolgbar durch die Druck- und Temperaturmessung, transparent. Wir besitzen nun zum Experimentieren einen einfachen, leicht zu heizenden Hochdruck-Laborreaktor, der uns nebst etlichen Stunden Bastelarbeit keine tausend Franken Material kostete.

Eingegangen am 6. Juli 1994

- [1] F. Goudriaan, D. Peferoen, *Chem. Eng. Sci.* **1990**, *45*, 2729.
- [2] A. Marzano, 'Traitement de la lignine par le processus HTU', Diplomarbeit 1993, Ingenieurschule Freiburg.
- [3] J.M. Seydoux, 'Construction d'un réacteur tubulaire à haute pression', Semesterarbeit 1993, Ingenieurschule Freiburg.
- [4] W. Berties, 'Übungsbeispiele aus der Wärmelehre', Vieweg, Braunschweig, 1979, S. 286.
- [5] B. Veuthey, 'Diagramme d'état de l'eau liquide', Semesterarbeit 1994, Ingenieurschule Freiburg.
- [6] Ullmanns Enzyklopädie der Technischen Chemie, Urban & Schwarzenberg, München, 1967, Vol. 18, S. 407.

Chimia 48 (1994) 409–412
© Neue Schweizerische Chemische Gesellschaft
ISSN 0009–4293

Analyse d'un chromatogramme

Olivier Naef*

Abstract. A program for peak detection in chromatograms has been developed using Labview 3.0 which is a modern object oriented graphical programming language that can be operated on many different platforms. The peak detection is based on the calculation of the first derivative. To determine the limits of this peak detection, computer-simulated chromatograms have been used which is less time consuming than using experimental data.

1. Introduction

La création d'un logiciel pour la détection des pics nécessite l'analyse d'un chromatogramme. En simulant celui-ci, il est possible de générer très rapidement les différents pics que l'on obtient dans la réalité.

La simulation permet également de déterminer, de manière plus aisée, les limites de détection. Le langage de programmation utilisé est Labview 3.0 pour Windows. Ce langage de programmation graphique est un outil moderne orienté objet. Il fonctionne sur différentes plates-formes.

2. Etude théorique d'un chromatogramme

2.1. Introduction

Un chromatogramme réel, comporte différents paramètres que l'on cherche à modéliser. Ces principaux paramètres sont illustrés dans la *fig. 1*.

Le chromatogramme se compose de trois éléments: la ligne de base, le bruit de fond et les pics. Pour chaque pic, on détermine sa résolution par rapport au pic précédent et au pic suivant, son temps de rétention, ses temps de départ et de fin, sa hauteur et sa surface. On peut également calculer sa demi-hauteur ainsi que le rapport entre son signal et le bruit de fond. Son asymétrie peut éventuellement être calculée.

*Correspondance: Prof. Ing. O. Naef
Ecole d'Ingénieurs de Fribourg
Rue du Musée 4
CH-1705 Fribourg

des überhitzten Wasserdampfes berechnet [6]. Die Linien des extremen Druckanstieges im überkritischen Bereich basieren auf isochoren Kompressibilitätskoeffizienten von heissem Wasser in flüssiger Form [6].

Beim Experimentieren unter Phasengleichgewichtsbedingungen im HDLR ist also für jede gewünschte Temperatur $T \leq T_{\text{crit}}$ nur ein Anfangsfüllgrad im Intervall $w_0 \in [w_{0,\text{min}}(T); w_{0,\text{max}}(T)]$ zulässig. Mit steigender Temperatur nimmt die Breite dieses Intervalles rapide ab und wird für die maximale Gleichgewichtstemperatur am kritischen Punkt zu Null. Die ist eine Folge der gleichen Werte der spezifischen Volumina von Satttdampf und Siedewasser am kritischen Druck und damit als Konsequenz auch die Gleichheit der Werte $w_{0,\text{min}}(T_{\text{crit}}) = w_{0,\text{max}}(T_{\text{crit}})$.

Also auch in dieser Art des Experimentierens, beim Erhitzen von Wasser im isochoren, diskontinuierlichen Reaktor, zeichnet sich der kritische Zustand speziell aus; er ist nur erreichbar, wenn der Anfangsfüllgrad präzise 31.3% beträgt.

8. Abweichungen vom ideal-isochoren Verhalten

Die oben präsentierten Rechnungen und Schlussfolgerungen basieren auf idealisierten Voraussetzungen, die den Rechnungsgang zwar wesentlich vereinfachen,

die aber mit einer realen Konstruktion streng genommen unvereinbar sind, oder nur näherungsweise erfüllt sein können. Das reale Verhalten eines rohrförmigen Stahlautoklaven während dem Erwärmen ist natürlich nicht ideal isochor. Infolge der Temperatur-Zunahme und infolge des Druckanstieges dehnt sich das Innenvolumen etwas aus. Solange diese Reaktionsvolumenzunahme gegenüber dem Anfangsvolumen vernachlässigbar bleibt, folgen die realen Zustandsänderungen (quasi-isochor) wenigstens approximativ denen unter idealen Bedingungen. Weiter ist aus konstruktiven Gründen zusätzlich zum genannten Reaktionsvolumen ein nicht vollständig beheizbares, wenn auch kleines Totvolumen in Rechnung zu setzen, welches den Rauminhalt der Messleitung und des Manometers quantifiziert. Durch die Wahl von Messleitungen mit sehr kleinem Innendurchmesser und von Totvolumen-armen piezoelektrischen Druckmessgebern lässt sich diese notwendige Rechnerkorrektur vernachlässigen. Beide genannten Nicht-Idealitäten äussern sich aber gleichermassen in einer leichten Vergrößerung des disponiblen realen Reaktor-Volumens im Vergleich zum idealen. Somit zeigt der Rechnungsgang des Druckes im idealen Reaktor bei gewählter Temperatur und bekanntem Anfangsfüllgrad einen approximativen Wert als obere Grenze des Druckes unter realen Bedingungen.

9. Schlussfolgerung

Mit der Einführung des Anfangsfüllgrades als experimenteller Parameter wurde es uns möglich, unsere erst scheinbar unverständlichen Messungen theoretisch zu begründen. Damit wurde uns das Geschehen im Innern des HDLR, verfolgbar durch die Druck- und Temperaturmessung, transparent. Wir besitzen nun zum Experimentieren einen einfachen, leicht zu heizenden Hochdruck-Laborreaktor, der uns nebst etlichen Stunden Bastelarbeit keine tausend Franken Material kostete.

Eingegangen am 6. Juli 1994

- [1] F. Goudriaan, D. Peferoen, *Chem. Eng. Sci.* **1990**, *45*, 2729.
- [2] A. Marzano, 'Traitement de la lignine par le processus HTU', Diplomarbeit 1993, Ingenieurschule Freiburg.
- [3] J.M. Seydoux, 'Construction d'un réacteur tubulaire à haute pression', Semesterarbeit 1993, Ingenieurschule Freiburg.
- [4] W. Berties, 'Übungsbeispiele aus der Wärmelehre', Vieweg, Braunschweig, 1979, S. 286.
- [5] B. Veuthey, 'Diagramme d'état de l'eau liquide', Semesterarbeit 1994, Ingenieurschule Freiburg.
- [6] Ullmanns Encyklopädie der Technischen Chemie, Urban & Schwarzenberg, München, 1967, Vol. 18, S. 407.

Chimia 48 (1994) 409–412
© Neue Schweizerische Chemische Gesellschaft
ISSN 0009–4293

Analyse d'un chromatogramme

Olivier Naef*

Abstract. A program for peak detection in chromatograms has been developed using Labview 3.0 which is a modern object oriented graphical programming language that can be operated on many different platforms. The peak detection is based on the calculation of the first derivative. To determine the limits of this peak detection, computer-simulated chromatograms have been used which is less time consuming than using experimental data.

1. Introduction

La création d'un logiciel pour la détection des pics nécessite l'analyse d'un chromatogramme. En simulant celui-ci, il est possible de générer très rapidement les différents pics que l'on obtient dans la réalité.

La simulation permet également de déterminer, de manière plus aisée, les limites de détection. Le langage de programmation utilisé est Labview 3.0 pour Windows. Ce langage de programmation graphique est un outil moderne orienté objet. Il fonctionne sur différentes plates-formes.

2. Etude théorique d'un chromatogramme

2.1. Introduction

Un chromatogramme réel, comporte différents paramètres que l'on cherche à modéliser. Ces principaux paramètres sont illustrés dans la *fig. 1*.

Le chromatogramme se compose de trois éléments: la ligne de base, le bruit de fond et les pics. Pour chaque pic, on détermine sa résolution par rapport au pic précédent et au pic suivant, son temps de rétention, ses temps de départ et de fin, sa hauteur et sa surface. On peut également calculer sa demi-hauteur ainsi que le rapport entre son signal et le bruit de fond. Son asymétrie peut éventuellement être calculée.

*Correspondance: Prof. Ing. O. Naef
Ecole d'Ingénieurs de Fribourg
Rue du Musée 4
CH-1705 Fribourg

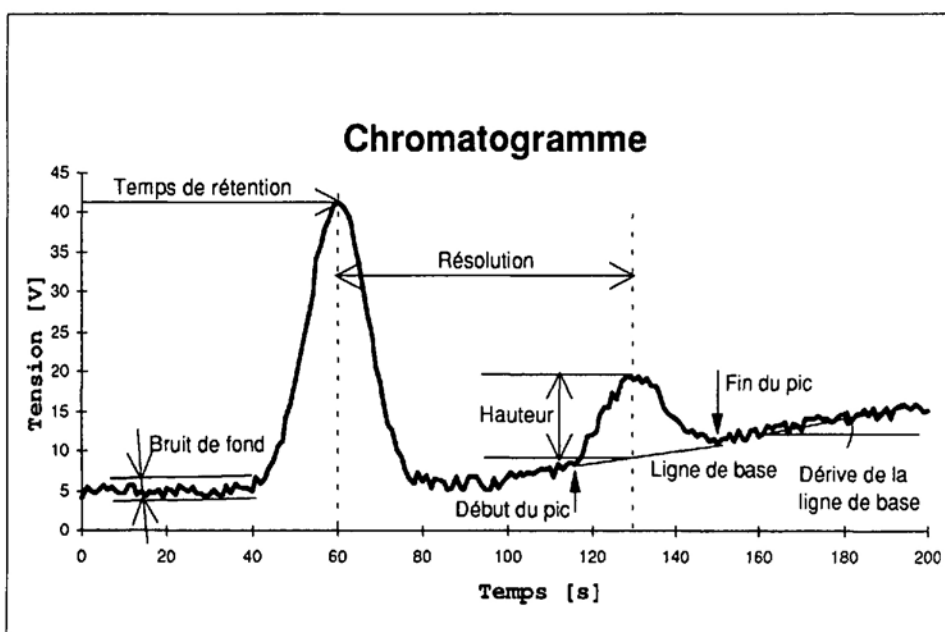


Fig. 1. Différents paramètres modélisables pour un chromatogramme

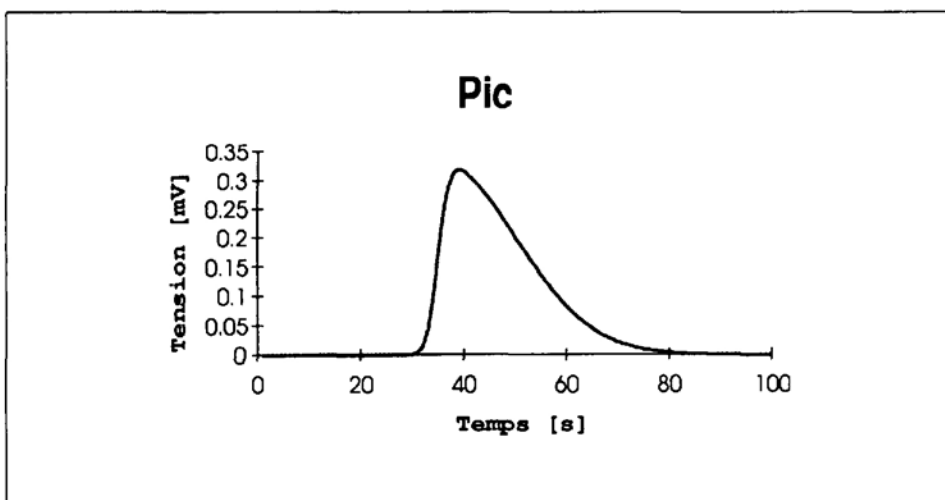


Fig. 2. Pic asymétrique généré avec le modèle EMG

2.2. Pics symétriques ou asymétriques

Dans un cas idéal (injection sur une bande très étroite dans la colonne, répartition linéaire du soluté entre la phase stationnaire et la phase mobile), la distribution du produit à l'intérieur de la colonne peut être représentée par une courbe de Gauss. Le signal de sortie pour le pic correspond donc directement à une fonction normale:

$$h(t) = \frac{A}{\sigma \cdot \sqrt{2 \cdot \pi}} \cdot \exp\left(-\frac{(t-t_R)^2}{2 \cdot \sigma^2}\right) \quad (1)$$

- où $h(t)$ Hauteur du pic au temps t
- σ Déviation standard du pic
- A Surface du pic
- t_R Temps de rétention

A partir de cette équation, il est possible d'extraire la hauteur maximale H du pic et sa largeur W :

$$H = \frac{A}{\sigma \cdot \sqrt{2 \cdot \pi}} \quad (2)$$

$$W(t) = 2 \cdot \sigma \cdot \sqrt{-2 \cdot \ln\left(\frac{h(t)}{H}\right)} \quad (3)$$

Les non-idéalités provoquent une traînée du pic. On passe d'une courbe normale symétrique à une courbe normale asymétrique. Il n'existe pas de fonction directe pour la représentation d'un pic asymétrique. Cependant, on peut utiliser le modèle EMG (Exponentially Modified Gaussian). Ce modèle correspond à la convolution d'une courbe normale avec une fonction exponentielle décroissante:

$$h(t) = \frac{A}{\tau} \cdot \exp\left(\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\sigma}{\tau}\right)^2 - \left(\frac{t-t_R}{\tau}\right)\right) \cdot \int_{-\infty}^t \frac{1}{\sqrt{2 \cdot \pi}} \cdot \exp\left(-\frac{y^2}{2}\right) \cdot dy \quad (4)$$

L'intégrale de convolution peut être remplacée par la fonction d'erreur *erf*. On évite ainsi le calcul d'une intégrale numérique:

$$h(t) = \frac{A}{\sigma} \cdot \exp\left(-\frac{(t-t_R)^2}{2 \cdot \sigma^2}\right) \cdot \frac{1 + \operatorname{erf}\left(\frac{t-t_R}{\tau}\right)}{2} \quad (5)$$

A partir de cette formule, on obtient un pic asymétrique comme celui représenté dans la fig. 2.

2.3. Simulation d'un chromatogramme

Pour simuler un chromatogramme complet, on crée trois fonctions mathématiques. La première permet de créer une ligne de base. Celle-ci est composée d'un offset et d'une demi-gaussienne normale (sommet à t_{max}). La deuxième sert à la génération du bruit de fond. On utilise ici la fonction aléatoire 'RANDOM'. La troisième trace les différents pics. On peut observer au niveau de la fig. 3 la génération complète d'un chromatogramme dans le langage Labview.

Cette simulation permet de tester le logiciel de détection des pics. Elle permet en outre de contrôler dans quelles limites l'algorithme est susceptible de détecter les pics. Un exemple de simulation est représenté dans la fig. 4.

3. Lissage de la courbe de mesure

Lorsque l'on veut faire la dérivée d'un chromatogramme, il est nécessaire de lisser la courbe si l'on veut obtenir une dérivée utilisable (le bruit de fond est amplifié par la dérivation). Les différents types de lissage testés sont le lissage par moyennage, le lissage par convolution et le lissage par transformée de Fourier (filtre passe-bas).

Les lissages par moyennage et par convolution provoquent une diminution de la hauteur et un élargissement des pics. Le principe en est relativement simple: on moyenne chacun des points du chromatogramme à l'aide d'une fenêtre de $2 \cdot n + 1$ valeurs (n valeurs à droite et n valeurs à gauche du point i). La largeur de la fenêtre doit être limitée entre 3 et 9 si l'on ne veut pas que certains pics (très troits ou de faible hauteur) disparaissent du chromatogramme. L'utilisation de la transformée de Fourier donne de meilleurs résultats

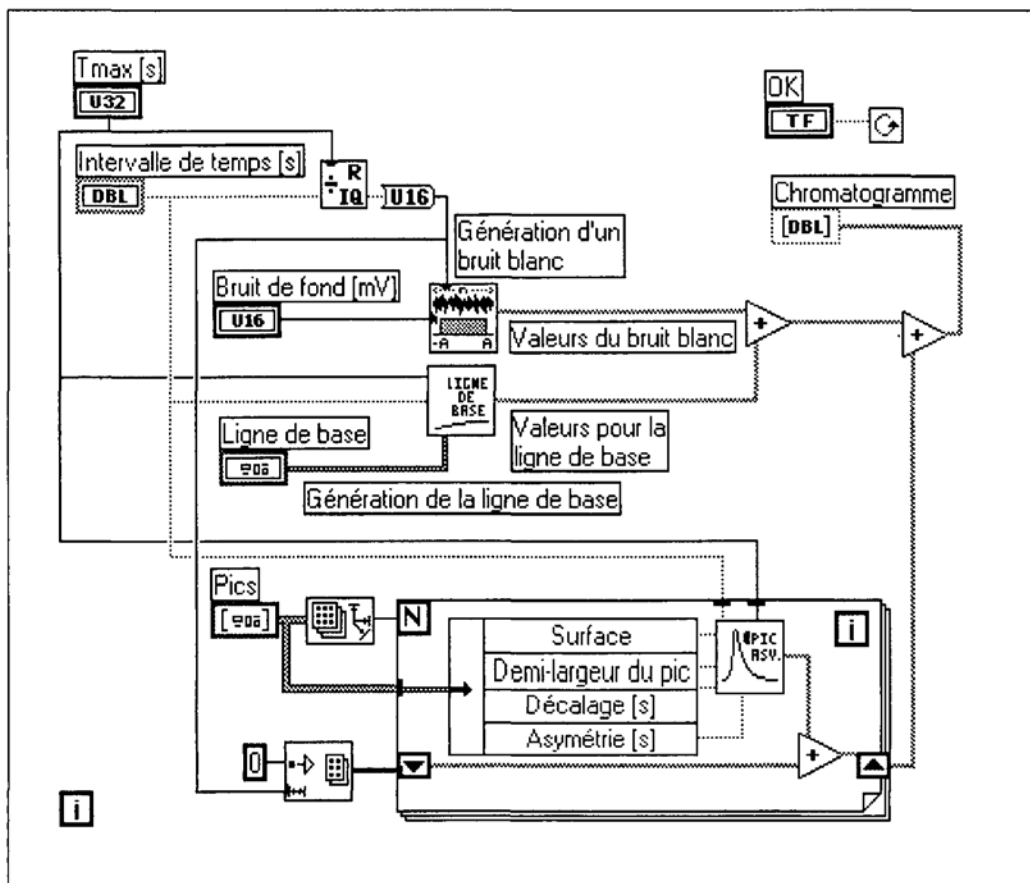


Fig. 3. Génération d'un chromatogramme à l'aide du langage Labview

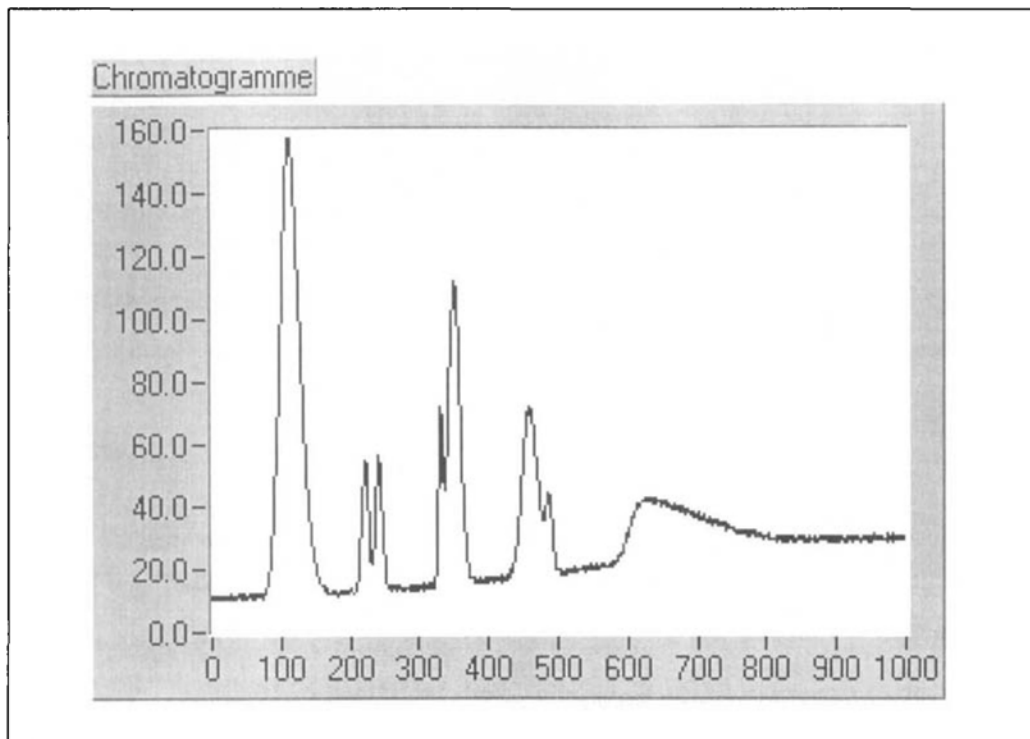


Fig. 4. Chromatogramme simulé

pour un chromatogramme simulé. Il suffit alors de mettre à zéro les hautes fréquences. Pour un chromatogramme réel, la difficulté est de trouver la limite entre les fréquences appartenant aux pics et les fréquences appartenant au bruit de fond. Bien souvent, on constate un mélange entre les fréquences. Dans un tel cas, l'uti-

lisation de la dernière méthode est impossible.

4. Détection d'un pic

4.1. Introduction

La détection d'un pic peut se faire selon plusieurs modes. Si la ligne de base

est horizontale, on peut utiliser un seuil. On peut également intégrer le chromatogramme ou le dériver. L'algorithme écrit pour la détection des pics utilise la dérivée première. Lorsque la dérivée sort de la bande de sensibilité, on admet que l'on a un pic. Le passage par 0 indique le temps de rétention, alors que le retour dans la

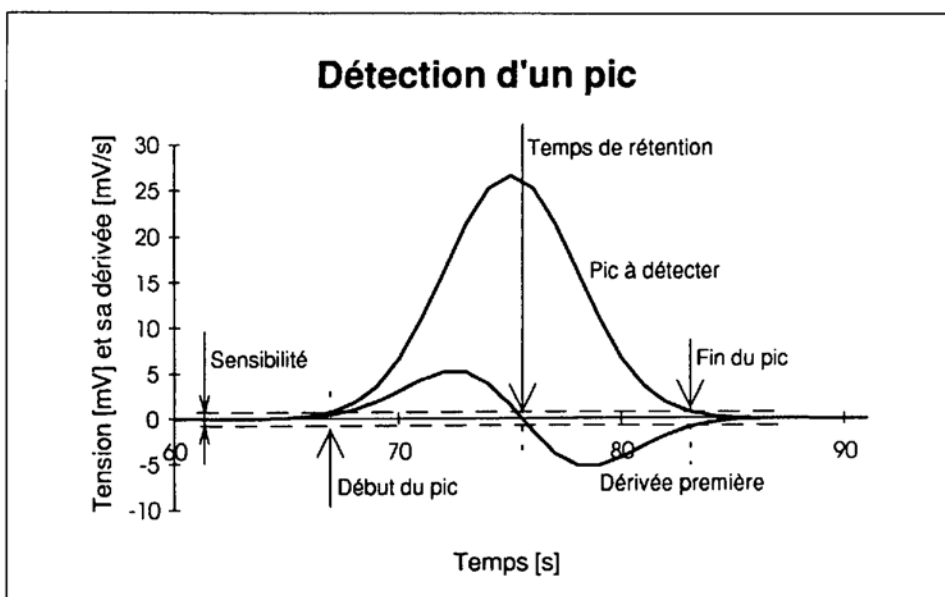


Fig. 5. Détection d'un pic en utilisant la dérivée première

Pour la détection de la fin du pic, on utilise une méthode identique à la détection du début du pic en inversant les valeurs. La fig. 6 représente un tel résultat pour un pic particulier.

5. Conclusion

La méthode de la dérivée permet une bonne détection lorsque le nombre de points est suffisamment grand pour un pic donné. Il serait intéressant de combiner 2 algorithmes différents (détection par seuil et dérivée) afin d'étudier une éventuelle amélioration de la détection. Il faudrait également modifier le programme pour qu'il puisse détecter aussi bien les pics positifs que les pics négatifs.

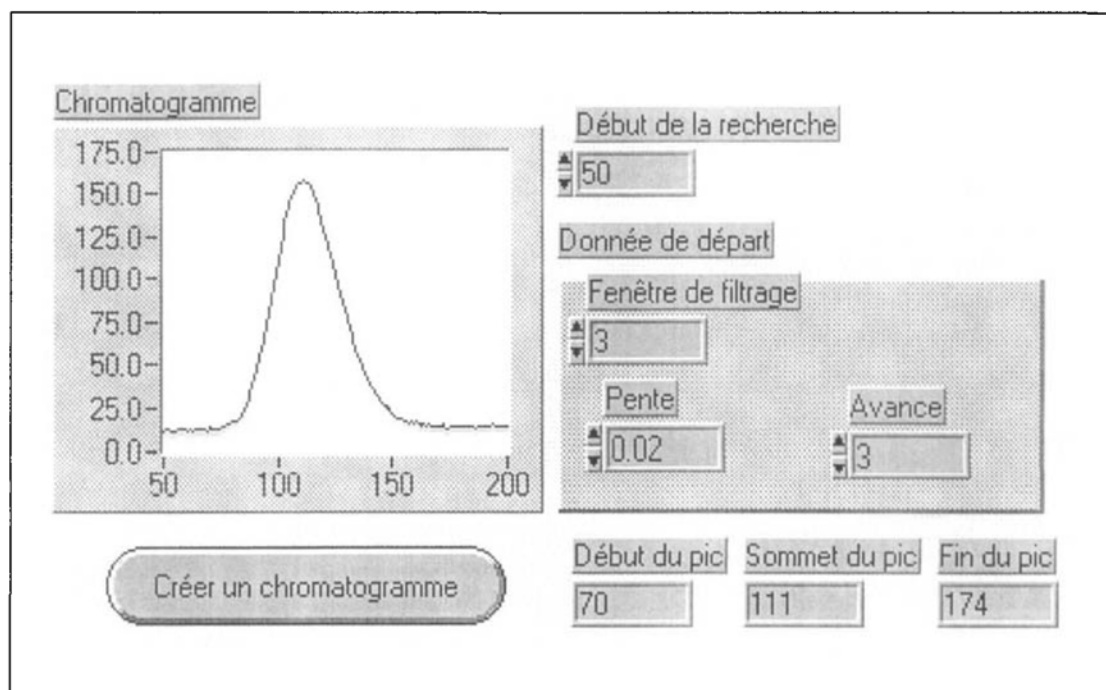


Fig. 6. Résultat à l'écran pour la détection d'un pic

bande de sensibilité marque la fin du pic, comme on peut l'observer dans la fig. 5.

4.2. Limite

L'utilisation du seuil nécessite des pics pointus. Pour les pics asymétriques, ce système simple n'en détecte pas la fin. En outre, cette méthode n'est pas adaptée lorsque la ligne de base varie.

4.3. Algorithme final

Si l'on observe le début d'un pic, on remarque que la pente est à tout instant supérieure à l'instant précédent. Cette propriété peut être utilisée pour détecter le début du pic. Dans un tel cas, le seuil n'est pas l'unique critère. En effet, on peut également prendre en considéra-

tion le fait que les m dérivées successives sont plus grandes que la dérivée précédente. La valeur de m est directement dépendante du nombre de points pour un pic. Par exemple, une valeur de 3 donne de très bons résultats pour autant que le nombre de points à l'intérieur du pic soit supérieur à 20. Si le nombre de points pour un chromatogramme est faible, il est nécessaire de combiner 3 méthodes: détection par dérivées successives, détection avec la dérivée plus grande que le seuil et détection par simple seuil du chromatogramme (sans passage par la dérivée).

La détection du sommet est simple. Elle correspond au passage par zéro de la dérivée première.

Reçu le 6 juillet 1994

- [1] N. Dyson, 'Chromatographic integration methods', RSC Chromatography monographs, Royal Society of Chemistry.
- [2] L. Besson, 'Automation d'un micro-HPLC', Travail de diplôme 1993 à l'Ecole d'Ingénieurs de Fribourg, section de chimie.
- [3] B. Veuthey, 'Détection d'un pic', Travail de semestre 1994 l'Ecole d'Ingénieurs de Fribourg, section de chimie.
- [4] H. Günler, Praxisbuch Labview 3.0, 1993, IWT.
- [5] National Instruments, Manuels de programmation, National Instruments, 1993.