

# Evaluasi waktu mati kromatografi untuk penentuan indeks retensi pada RP-HPLC menggunakan beberapa deret homolog

## Evaluation of chromatographic dead times for retention indices determination in RP-HPLC using some homologous series

Rinaldi Idroes

Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Syiah Kuala  
Kampus Darussalam, Banda Aceh, Indonesia

---

### Abstrak

Waktu mati yang didefinisikan sebagai waktu suatu senyawa yang tidak tertahan dalam suatu kolom, sangat diperlukan untuk menentukan semua parameter retensi pada kromatografi kolom seperti: waktu retensi terkoreksi, waktu retensi relatif, dan terutama Indeks Retensi Kovats.

Pada penelitian ini dibandingkan antara metode iterasi dan linearisasi waktu retensi terkoreksi dengan memanfaatkan beberapa deret homolog seperti n-alkane, alkilarilketon, alkilbenzen dan 2-alkanon. Diperoleh hasil bahwa metode iterasi baik nilai maupun standar deviasi yang diperoleh lebih baik dibanding metode linearisasi. Indikasi lain ditemukan bahwa hasil perhitungan waktu mati kedua metode tidak tergantung komposisi pelarut pada semua deret homolog yang digunakan.

Deret homolog n-alkana menunjukkan keakuratan pemodelan yang lebih baik dibanding deret homolog lainnya, dan 2-alkanon nomor dua terbaik.

**Kata Kunci:** Evaluasi Waktu Mati, Deret Homolog, Sistem Metanol/Air, RP-HPLC.

### Abstract

Dead time that defined as a retention time of unretained substance in the chromatographic column, is needed to determine all retention parameters in column chromatography such as corrected retention time, relative retention time and Kovats Retention Indices.

This research reported a comparison between the iteration and linearization of corrected retention times of homologous series such as n-alkane, alkylketone, alkylbenzene and 2-alkanone. Furthermore the iteration method provides better dead-time values and smaller standard deviations than the linearization method. Moreover, the dead-time calculation obtained according to homologous series is not depending on solvent composition for various homologous series.

The n-alkane homologous series show better indication accuracy of fit ( $S/N$ ) in comparison with other homologous series, thereafter 2-alkanone exhibit the second best adjustment.

**Keywords:** Dead-time evaluation, homologous series, methanol/water solvent, RP-HPLC.

### Pendahuluan

Pada kromatografi gas (GC), waktu mati ( $t_0$ ) didefinisikan sebagai gas yang tidak tertahan pada kolom. Analog dengan GC,

pada HPLC waktu mati didefinisikan sebagai waktu tertahannya suatu senyawa yang dianggap tidak tertahan oleh kolom (Waetzig, 1989). Akan tetapi fenomena

yang terjadi di HPLC lebih kompleks, karena tidak ada senyawa yang tidak tertahan di kolom HPLC, bahkan pelarut sekalipun juga ikut tertahan di kolom. Penentuan waktu mati sering dilakukan dengan injeksi senyawa yang tidak tertahan, atau pun dengan metode deret homolog. Nilai waktu mati akan selalu tergantung pada metode penentuan yang digunakan. Waktu mati merupakan parameter yang sangat diperlukan pada kromatografi cair terutama untuk penentuan faktor retensi ( $k'$ ) (Knox dan Kaliszan, 1985), indeks retensi (Kovats, 1958), optimasi proses pemisahan (Warren *et al.*, 1990), uji interaksi antara pelarut dan zat terlarut (Slaats *et al.*, 1981) dan interpretasi fenomena fisiko-kimia pada kolom kromatografi yang digunakan (Nowotnik and Narra, 1993).

Metode penentuan waktu mati pada HPLC secara linearisasi waktu retensi terkoreksi dari deret homolog ditentukan berdasarkan metode yang sebelumnya diterapkan pada GC (Berendsen *et al.*, 1980). Beberapa peneliti selanjutnya mengaplikasikan metode ini dengan menggunakan deret homolog n-alkan ( $C_5$  bis  $C_{17}$ ) dengan pelarut murni metanol (Moeckel *et al.*, 1992) pada RP-HPLC. Selanjutnya Didaoui dkk (Didaoui *et al.*, 1999) telah melakukan penelitian dengan membandingkan beberapa metode antara lain metode Grobler (Grobler, 1974, Guardino (Guardino, 1976) dan multiparametrik, baik pada sistem acetonitril maupun sistem metanol, pada kolom fasa terbalik dengan memanfaatkan beberapa deret homolog seperti alkilarilketon, 2-Alkanon dan Nitroalkan. Fokus dari penelitian untuk memilih metode penentuan waktu mati yang terbaik dengan deret homolog, yang dapat memberikan nilai waktu mati terkecil dengan keberulangan yang terbaik.

## Metodologi

Beberapa senyawa deret homolog yang digunakan antara lain: n-Alkana (n-Pentana hingga n-Undekana), Alkilbenzena (Toluena hingga Oktilbenzena), 2-Alkanon (Aseton hingga 2-Dodekanon), Alkilarilketon (Asetofenon hingga Dekanofenon) dimana masing-masing sejumlah 1 mL senyawa deret homolog tersebut diencerkan dengan Tetrahidrofur (THF) hingga 10 mL. Selanjutnya diencerkan dengan perbandingan 1:100 dengan metanol/air. Gas pada pelarut dihilangkan dengan menggunakan Helium (He) selama 10 menit. Supaya tercapai kondisi kesetimbangan pada sistem, maka peralatan HPLC dan detektor indeks bias dibiarkan hidup beberapa lama, baru dilakukan penyuntikan. Kondisi eksperimen sebagai berikut. Kolom: Lichrospher 100 RP-18 (Merck), diameter 5  $\mu$ m, 125 x 4 mm, diselubungi dengan mantel air pada 30 °C. Sistem pelarut metanol/air (V/V), botol pelarut diletakkan dalam bak-air pada suhu konstan 30 °C. Laju alir: 1,0 mL/menit. Termostat: Haake D8 (Fison), Karlsruhe, Jerman, dengan ketelitian  $\pm 0,02$  °C. Katup: Rheodyne 7010 dengan loop 20  $\mu$ L, Cotati, California. Pompa Bischoff model 2200 (seri 903), Leonberg, Jerman. Detektor Refractive Index (Indeks Bias) model ERC-7510, Erma Optical Works Ltd. Japan, suhu diatur pada 30 °C. Range  $\frac{1}{4}$ , Polaritas (-), Rekorder HP-3394 Hewlett-Packard, Waldbronn, Jerman, Volume mati ( $V_0$ ) 20  $\mu$ L.

### Linearisasi waktu retensi terkoreksi

Metode linearisasi waktu retensi terkoreksi telah banyak digunakan dan dibahas secara mendalam pada Kromatografi Gas (Gassiot *et al.*, 1978; Haken *et al.*, 1973) dan telah diaplikasikan juga pada HPLC (Al-Thamir *et al.*, 1979). Sesuai prinsip pada kromatografi kolom bahwa terdapat hubungan antara logaritma waktu retensi terkoreksi dengan bilangan atom karbon dari deret homolog. Sehingga diperoleh konsep Berendsen [Berendsen *et al.*, 1980] sesuai persamaan (1).

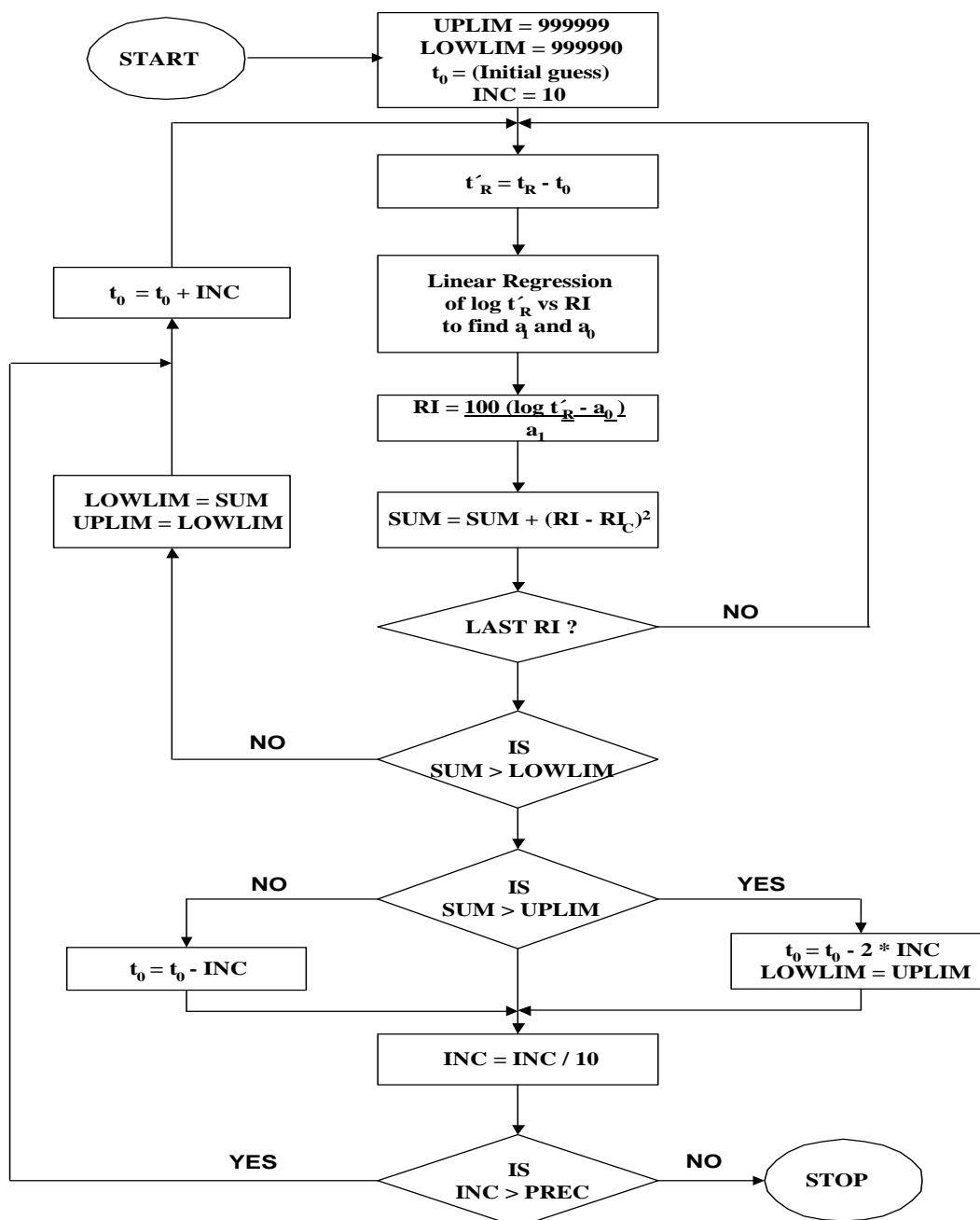
$$\frac{\left\{ \frac{t_{R,n_c+1} - t_0}{t_0} \right\}}{\left\{ \frac{t_{R,n_c} - t_0}{t_0} \right\}} = \frac{t_{R,n_c+1} - t_0}{t_{R,n_c} - t_0} = \frac{k'_{n_c+1}}{k'_{n_c}} = \alpha \dots\dots\dots(1)$$

Dimana  $\alpha$  adalah suatu Konstanta yang spesifik untuk setiap deret homolog. Selanjutnya persamaan (1) dapat diturunkan menjadi persamaan (2).

$$t_{R,n_c+1} = \alpha t_{R,n_c} - (\alpha - 1)t_0 \dots\dots\dots (2)$$

Dimana  $t_0$  adalah waktu mati,  $t_{R,n_c}$  waktu retensi deret homolog pada bilangan karbon  $n_c$ , dan  $t_{R, n_c+1}$  adalah waktu retensi deret homolog pada bilangan karbon tetangga  $n_c+1$ . Persamaan (2) adalah suatu persamaan garis lurus dengan slope  $\alpha$  dan intercept  $(1-\alpha)t_0$  Intercep adalah produk dari waktu mati yang dicari dan  $(1-\alpha)$ . Selanjutnya diperoleh persamaan (3).

$$t_0 = \frac{\text{Intercept}}{1 - \text{Slope}} \dots\dots\dots (3)$$



Gambar 1: Diagram alir penentuan waktu mati dengan metode iterasi.

### Metode Iterasi

Mulai tahun 1976 hingga 1986 beberapa kelompok peneliti telah mengembangkan metode iterasi dalam penentuan waktu mati (Guardino *et al.*, 1976; Bellas, 1975; Garcia Dominguez, 1977; Toth and Zala, 1984; Touabet *et al.*, 1986). Metode Guardino yang akan di evaluasi pada penelitian ini memerlukan

suatu proses iterasi dalam perhitungan waktu mati ( $t_0$ ), yang ditunjukkan lewat diagram alir pada gambar 1, untuk memperoleh nilai keakuratan model terbaik untuk  $t_0$ ,  $a_1$  dan  $a_0$  dilakukan dengan meminimalisasi jumlah kuadrat dari selisih antara indeks retensi yang diketahui dengan yang dihitung. Penentuan awal dari waktu mati mesti lebih rendah dari pada

waktu mati perhitungan matematis. Waktu retensi terkoreksi ditentukan dengan valuasi ini, selanjutnya  $a_1$ ,  $a_0$  dan indeks retensi ( $RI$ ) dapat dihitung dengan regresi linier. Jumlah dari selisih antara nilai  $RI$  yang dihitung dengan yang diketahui, dibandingkan dengan batas nilai atas dan bawah (UPLIM dan LOWLIM). Diagram alir pada gambar 1 dapat dijelaskan sebagai berikut. UPLIM dan LOWLIM adalah batas atas dan batas bawah dari jumlah kuadrat deviasi. INC adalah penambahan nilai dari waktu mati.  $RI_c$  adalah indeks retensi Kovats yang dihitung. SUM adalah jumlah dari kuadrat deviasi.  $RI$  adalah indeks retensi Kovats yang diketahui ( $100n_c$ , dimana  $n_c$  adalah bilangan atom karbon). PREC adalah nilai ketelitian yang diberikan.

### Hasil dan Pembahasan

Dalam membandingkan metode perhitungan waktu mati, beberapa definisi dan prinsip yang perlu dijadikan patokan untuk memudahkan analisa adalah sebagai berikut.

- Semakin kecil nilai S/N, menjadi indikasi semakin baik keakuratan model yang digunakan (accuracy of fit) (Pacakova and Feltl, 1992; Smith *et al.*, 1985).
- Waktu mati didefinisikan sebagai waktu tertahannya suatu senyawa yang diperkirakan tidak tertahan pada suatu kolom (Waetzig, 1989). Permasalahannya di HPLC tidak ada senyawa yang tidak tertahan, bahkan pelarut sekalipun juga tertahan di kolom (Berendsen *et al.*, 1980). Nilai waktu mati seharusnya serendah mungkin, artinya jika ada suatu metode

yang menghasilkan nilai waktu mati yang lebih rendah, metode tersebut dianggap lebih baik (Ehrensberger, 1996).

- Pada deret homolog diperoleh suatu hubungan penting yaitu linieritas antara logaritma natural faktor kapasitas  $\ln(k')$  dan bilangan atom karbon  $n_c$ . Selanjutnya korelasi hubungan linier tersebut dapat digunakan untuk perhitungan waktu mati, sehingga parameter koefisien determinasi ( $r^2$ ) atau koefisien korelasi ( $r$ ) dapat digunakan dalam observasi fenomena ini (Ehrensberger, 1996).
- Sangat disarankan bahwa pada penentuan waktu mati kondisi eksperimen harus dijaga konstan, terutama laju alir dan suhu (Furr, 1989). Secara umum eksperimen dilakukan pada laju alir 1,0 mL/min dan suhu 30 °C. Suhu system seperti pelarut, kolom dan detektor (terutama detektor Indeks Bias) harus dapat dikontrol.
- Penentuan waktu mati yang benar tidak boleh tergantung pada komposisi pelarut (Bidleingmeyer *et al.*, 1991), seandainya juga dipengaruhi oleh komposisi pelarut maka nilai standar deviasinya harus sekecil mungkin.
- Seandainya digunakan penanda (marker) waktu mati, seharusnya waktu tertahannya 'marker' tidak boleh tergantung komposisi pelarut dan konsentrasi senyawa 'marker' itu sendiri (Bidleingmeyer *et al.*, 1991).

Tabel I : Perbandingan penentuan waktu mati menggunakan deret homolog n-alkan pada sistem pelarut MeOH/H<sub>2</sub>O

	Iterasi			Linearisasi			
	80/20	70/30	60/40	80/20	70/30	60/40	
$t_0$ (min)	1,10	1,17	0,96	1,17	2,26	1,12	
$a_1$	0,0045	0,0057	0,0069	0,6352	0,5577	0,5087	
$a_0$	-0,6878	-0,3951	0,2631	0,4255	0,9987	-0,5491	
$n_c$	n5-n10	n5-n8	n5-n8	n5-n10	n5-n8	n5-n8	
S/N	0,080	2,580	0,313	0,173	0,237	0,371	
$M_i$	$RI_5$	499,83	501,73	499,42	499,28	500,36	499,39
	$RI_6$	600,58	597,75	600,41	600,64	599,13	600,51
	$RI_7$	699,88	699,24	700,58	700,11	700,23	700,67
	$RI_8$	799,81	801,30	799,36	799,93	800,04	799,36
	$RI_9$	900,01	-	-	899,86	-	-
	$RI_{10}$	1000,25	-	-	999,77	-	-

Tabel II : Perbandingan penentuan waktu mati menggunakan deret homolog alkilbenzen pada sistem pelarut MeOH/H<sub>2</sub>O

	<i>Iterasi</i>			<i>Linearisasi</i>		
	80/20	70/30	60/40	80/20	70/30	60/40
$t_0$ (min)	1,36	1,33	2,31	1,35	1,25	2,30
$a_1$	0,0042	0,0052	0,0069	0,6548	0,5955	0,5005
$a_0$	-2,683	-2,646	-2,616	0,467	0,504	1,151
$n_c$	n7-n14	n7-n11	n7-n10	n7-n14	n7-n11	n7-n10
$S/N$	13,005	13,931	8,067	14,193	17,142	8,143
$RI_7$	707,71	705,26	703,13	708,04	705,78	703,17
$RI_8$	795,73	794,84	795,87	795,73	794,44	795,88
$RI_9$	896,42	896,98	898,98	896,23	896,37	899,00
$RI_{10}$	998,52	1000,44	1002,10	998,28	1000,17	1002,14
$RI_{11}$	1098,34	1102,46	-	1098,13	1102,87	-
$RI_{12}$	1199,24	-	-	1199,14	-	-
$RI_{13}$	1301,53	-	-	1301,57	-	-
$RI_{14}$	1402,39	-	-	1402,60	-	-

Tabel III : Perbandingan penentuan waktu mati menggunakan deret homolog 2-alkanon pada sistem pelarut MeOH/H<sub>2</sub>O

	<i>Iterasi</i>			<i>Linearisasi</i>		
	80/20	70/30	60/40	80/20	70/30	60/40
$t_0$ (min)	1,14	1,21	1,19	1,14	1,19	1,18
$a_1$	0,0041	0,0053	0,0064	0,6654	0,5944	0,5281
$a_0$	-3,141	-3,411	-3,526	0,381	0,482	0,556
$n_c$	n6-n12	n4-n12	n3-n10	n6-n12	n4-n12	n3-n10
$S/N$	0,734	7,998	2,247	0,734	14,669	3,047
$RI_3$	-	-	300,84	-	-	303,18
$RI_4$	-	404,98	396,52	-	408,76	396,28
$RI_5$	-	493,43	501,48	-	493,68	500,20
$RI_6$	600,36	599,19	601,23	600,36	597,42	599,87
$RI_7$	698,44	700,20	700,74	698,44	697,88	699,78
$RI_8$	801,51	801,36	800,09	801,51	799,31	799,79
$RI_9$	900,49	901,01	899,84	900,49	899,69	900,33
$RI_{10}$	999,88	1000,37	999,09	999,88	1000,06	1000,43

Indeks Retensi Kovats dihitung berdasarkan persamaan (4), dimana terdapat korelasi linier antara logaritma natural faktor retensi  $\ln(k')$  dengan bilangan atom karbon  $n_c$ . Berdasarkan definisi Kovats,

bahwa Indeks Retensi adalah bilangan karbon  $n_c$  di kali 100 (seratus), sehingga dari persamaan (4) dapat diturunkan hubungan antara faktor retensi dengan indeks retensi. Dimana  $a_1$  dan  $a_0$  adalah parameter regresi.

Tabel IV : Perbandingan penentuan waktu mati menggunakan deret homolog alkilarilketon pada sistem pelarut MeOH/H<sub>2</sub>O

	<i>Iterasi</i>			<i>Linearisasi</i>		
	80/20	70/30	60/40	80/20	70/30	60/40
$t_0$ (min)	1,22	1,16	1,16	1,20	1,22	1,35
$a_1$	0,0041	0,0051	0,0062	0,6628	0,5935	0,5224
$a_0$	-4,197	-4,368	-4,683	0,406	0,495	0,645
$n_c$	n <sub>9</sub> -n <sub>16</sub>	n <sub>8</sub> -n <sub>14</sub>	n <sub>8</sub> -n <sub>12</sub>	n <sub>9</sub> -n <sub>16</sub>	n <sub>8</sub> -n <sub>14</sub>	n <sub>8</sub> -n <sub>12</sub>
S/N	0,119	14,234	8,646	0,550	19,715	18,086
$RI_8$	-	796,45	798,45	-	792,73	794,51
$RI_9$	899,61	908,08	904,82	901,28	909,07	907,57
$RI_{10}$	1000,18	998,39	997,07	1000,25	1000,67	1000,29
$RI_{11}$	1099,60	1096,70	1097,75	1098,93	1098,91	1098,69
$RI_{12}$	1199,85	1197,93	1201,99	1199,02	1199,11	1198,95
$RI_{13}$	1300,44	1299,92	-	1299,84	1299,48	-
$RI_{14}$	1400,16	1401,99	-	1400,03	1399,59	-
$RI_{15}$	1499,84	-	-	1500,35	-	-
$RI_{16}$	1599,42	-	-	1600,68	-	-

Sebagai contoh nilai indeks retensi untuk Pentan = 500, Heksan = 600, Aceton = 300, 2-Butanon = 400, Acetophenon = 800, Toluena = 700, dan seterusnya. Hasil perhitungan ditabulasikan pada Tabel I sampai dengan Tabel IV yang menampilkan hasil perbandingan perhitungan dengan berbagai deret homolog meliputi n-alkan, alkilbenzen, 2-alkanon dan alkilarilketon pada sistem pelarut Metanol/Air (MeOH/H<sub>2</sub>O).

Dari Tabel I hingga Tabel IV dapat ditarik beberapa hal penting sebagai berikut. Secara umum dapat dicatat bahwa metode iterasi Guardino menghasilkan nilai waktu mati yang lebih kecil dengan nilai standar deviasi yang juga lebih kecil dibanding dengan metode linearisasi Berendsen. Pada kedua metode komposisi pelarut tidak berpengaruh terhadap nilai waktu mati yang diperoleh terhadap semua deret homolog yang diteliti. Nilai S/N digunakan sebagai parameter keakuratan model, dimana semakin kecil nilai S/N maka semakin akurat model yang digunakan. Model paling

akurat diperoleh jika perhitungan waktu mati dengan menggunakan deret homolog n-alkan (Tabel I), selanjutnya diikuti oleh deret homolog 2-alkanon (Tabel III). Sedangkan deret homolog alkilbenzen (Tabel II) dan alkilarilketon (Tabel IV) menunjukkan nilai S/N yang relatif besar dibanding dua deret homolog yang disebutkan sebelumnya. Pada deret homolog 2-alkanon (Tabel III), perhitungan waktu mati dengan metode iterasi Guardino maupun metode linearisasi Berendsen menunjukkan nilai yang relatif sama dan berdekatan.

### Kesimpulan

Telah dilakukan penelitian perbandingan metode iterasi (Guardino *et al.*) dengan linearisasi waktu retensi terkoreksi dari deret homolog (Berendsen *et al.*), diperoleh hasil bahwa metode iterasi menunjukkan hasil yang lebih baik dibanding metode linearisasi, dimana indikatornya adalah nilai waktu mati yang lebih kecil dan standar deviasi yang lebih

rendah. Selanjutnya nilai waktu mati yang diperoleh dari hasil perhitungan pada kedua metode dengan menggunakan deret homolog, meliputi n-alkan, akilarketon, alkilbenzen dan 2-alkanon, tidak tergantung dari komposisi pelarut. Model paling akurat diperoleh jika perhitungan waktu mati

menggunakan deret homolog n-alkan dan deret homolog 2-alkanon.

### Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih pada Badan Pertukaran Akademisi Jerman atas sponsornya dan Prof. Dr. S. Ebel atas supervisi penelitian yang dilakukan penulis.

### Daftar Pustaka

- Al-Thamir, W.K., Purnell, J.H., Wellington, C.A., and Laub, R.J., 1979. Evaluation of Dead Space in Chromatographic Systems, *J. Chromatography* 173, 388.
- Bellas, T.E., 1975. A Computer Program for Calculating Linear and Logarithmic Retention Indices in Gas Chromatography, *Chromatographia* 8, 38.
- Berendsen, G.E., Schoenmaker, P.J., de Galan, L., Vigh, G., Varga-Puchony, Z., and Inczedy, J., 1980. On the Determination of the hold-up time in Reversed-Phase Liquid Chromatography, *J. of Liquid Chromatography*, 3(11), 1669-1686.
- Bidlingmeyer, B. A., Warren, F. V., Weston, A., Nugent, C., and Froehlich, P. M., 1991. Some practical considerations when determining the void volume in High-Performance Liquid Chromatography, *J. of Chromatographic Science* Vol. 29, July
- Didaoui, L., Touabet, A., Ahmed, A.Y.B.H., Meklati, B.Y., and Engewald, W., 1999. Evaluation of Dead-time Calculation in Reversed-Phase Liquid Chromatography Using a Multiparametric Mathematical Method, *HRC-J. of High Resolution Chromatography*, 22, 559.
- Ehrensberger, C.W., 1996. Beiträge zur Reproduzierbarkeit und zur Vorhersage von Retentionsdaten in der HPLC, Dissertation, Würzburg
- Garcia Dominguez, J.A., Garcia Munoz, J., Fernandez Sanchez, E., and Molera, M.J., 1977. Retention of Methane in Gas-Liquid Chromatography - New Evaluation Methods of the Mathematical Dead Time, *J. of Chromatographic Science* 15, 520.
- Gassiot, M., Guardino, X., Albaiges, J., Firpo, G., and Rodriguez-Vinals., 1978. Letter to the Editor : Determination of the Dead Time, *J. of Chromatography* 147, 540.
- Grobler, A. and Balisz., 1974. Computer program for statistical calculation of retention indices, *J. of Chromatographic Science*, 12, 57-59
- Guardino, X., Albaiges, J., Firpo, G., Rodrigues-Vinals, R., and Gassiot, M. 1976. Accuracy in the Determination of Kovats Retention Index, *J. of Chromatography* 118, 13.
- Haken, J.K., Wainwright, M.S., and Smith, R.J., 1977. A Problem of Accuracy of Mathematical Dead-Time Estimation, *J. of Chromatography*, 133, 1.
- Knox, J.H. and Kaliszan, R., 1985. Theory of Solvent Disturbance Peaks and Experimental Determination of Thermodynamic Dead-Volume in Column Liquid Chromatography, *J. of Chromatography* 349, 211.
- Kovats, E., 1958. Gas-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen, Teil 1 : Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone *Helvetica Chimica Acta*, Vol. XLI No. 206, 1915-1932.



- Möckel, H.J., Dreyer, U., and Melzer, H., 1992. On the Determination of the Column Dead Volume from Homologous Series, *Fresenius J. Analytical Chemistry*, 342, 673-677.
- Nowotnik, D.P. and Narra, R. K., 1993. A Comparison of methods for the determination of dead time in a reversed-phase high-performance liquid chromatography system used for the measurement of lipophilicity, *J. of Liquid Chromatography* 16(18), 3919 – 3932.
- Pacakova, V. and Felzl, L., 1992. Chromatographic Retention Indices. An Aid to Identification of Organic Compounds Ellis Horwood, Chichester.
- Slaats, E.H., Markovski, W., Fekete, J., Poppe, H.J., 1981. Distribution equilibrium of solvent components in reversed-phase liquid chromatographic columns and relationship with the mobile phase volume, *Chromatographia* 207, 299-323.
- Smith, R.J., Haken, J.K., and Wainwright, M.S., 1985. Estimation of dead time and calculation of Kovats indices, *J. of Chromatography* 334, 95.
- Toth, A. and Zala, E., 1984. Contribution to the Calculation of the Constants of the n-Alkane Retention Time Curve and Gas Hold-Up Time in Gas-Liquid Chromatography, *J. of Chromatography*, 284, 53.
- Touabet, A., Ahmed, A.Y.B.H., Maeck, M., Meklati, B.Y. 1986. Mathematical Dead-time Determination and Calculation of the Constants of the n-Alkane Retention Time Curve on OV Poly Methyl Phenylsilicone Stationary Phase in Gas Chromatography, *J. High Res. Chromatogr. Chromatogr. Commun* 9, 456.
- Warren, F.V., Phoebe, C.H., Webb, M.A., Weston, A., Bidlingmeyer, B.A. 1990. An interactive approach to eluent optimization for isocratic liquid chromatography, *Amer. Lab.* 22 (11), 17-28.
- Wätzig, H. 1989. *Reproduzierbarkeit und Vorhersage von Retentionsdaten in der HPLC* Dissertation, Würzburg, S. 38-39.

---

\* Korespondensi : Dr. Rinaldi Idroes  
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Syiah Kuala Banda Aceh  
E-mail : rinaldi.idroes@gmx.de