

第 4 号

中国科学院大连化学物理研究所

研究报告与资料

高速液相色谱用内梯度淋洗装置设计

董 明 全



一九八〇年十一月

在高速液相色谱中,梯度淋洗装置能使冲洗液的极性及其变化速率,按人为要求,随时间而变化。从而提高色谱柱的分离效能,加快分离速度。

国外的梯度淋洗装置控制类型较多。较先进的是美国P-E公司的系列-3,全部控制是按曲线方程要求,用微处理器控制。控制器基本分为两种类型:一种是采用固定程序;另一种是采用随意程序。

我们设计的内梯度淋洗装置,是以五条折线逼近一条曲线(上凸线,下凹线或直线)的办法,实现全部控制。由控制器发出二个模拟信号,控制二台执行机构——恒流注射泵,按梯度曲线分别输送两种不同极性的溶剂,各自在不同的时间段,以不同的流量工作,保证混合后的总流量等于设定值。

一、内梯度淋洗控制原理图框

图1是我们设计的内梯度淋洗装置控制原理框图。A溶剂和B溶剂组成一混合冲洗剂,以 $\frac{A}{A+B}\%$ 为纵座标,以时间 t 为横座标,来说明这一逻辑过程。 $\frac{A}{A+B}\%$ 是以“浓度梯度”乘以“时间”得到某一时间段的百分比,然后进行各段累加,这是通过“浓度梯度选

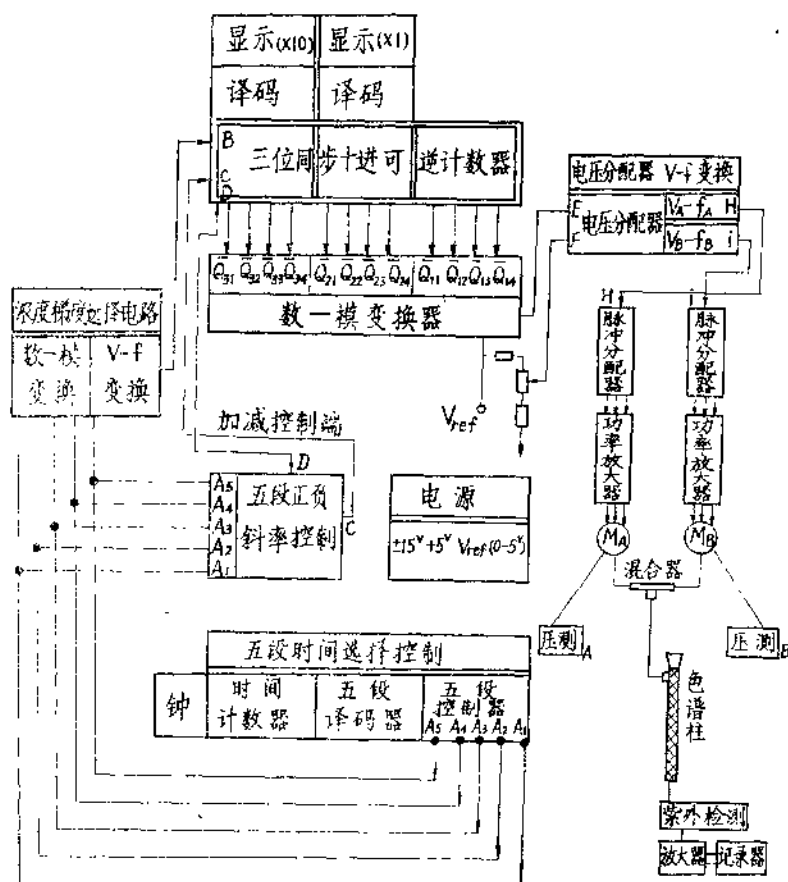


图1 内梯度淋洗装置控制原理框图

择”电路,“计数”电路和“时间选择”电路实现的。梯度的极性是由“正负斜率控制”电路实现,以控制“计数”电路“加”或“减”。为了控制两台执行机构,控制器由“数-模变换器”和电压分配器发出二个模拟信号,使A泵,B泵工作。

以下表所给数据和程序,进行单纯地控制器运行。一次循环全过程, $\frac{A}{A+B}$ % 浓度显示和给定值之差为1%。

起 始 予 置 浓 度 10%

段	斜 率 极 性	浓 度 梯 度 %/分	时 间 (分)	每段结束的 $\frac{A}{A+B}$ %
1	+	5	10	60
2	+	3	10	90
3	+	1	9	99
4	-	7	9	36
5	-	3	12	0

五段时间选择电路(图2)的线路特点是具有宽范围的时间选择。每一时间段结束,就

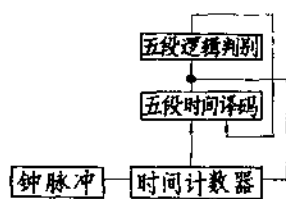


图 2 五段时间选择电路

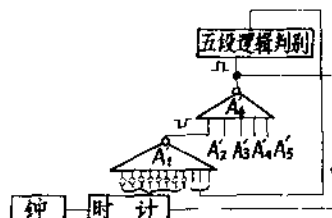


图 3 电路设计过程

给出一程序信号,并使时间计数器复零一次。总的时间就是各段时间的累加。

电路设计过程如图3,电路中以时间计数器、译码器和五段逻辑判别构成组合电路。逻辑功能要求在每一设定的时间段中,时间计数器计数与设定时间相吻合,就使 A'_1 (或 A'_2, A'_3, A'_4, A'_5)输入端全为“1”电平,使它的输出为“0”。传递给或门 A'_6 ,得“0”电平跳跃,经 A'_7 反相得到“1”电平跳跃,时间计数器复零。这样一全过程 A'_1 输出为“1”脉冲, A'_2 输出为“1”脉冲,使五进位计数器计数一次。然后时间进入下一时间程序段,过程同上。测试30分钟的累积差为1.3秒。

浓度梯度选择电路采用同相数字-模拟缓冲器, V - f 变换器,16分频器组成(见文后总图),可实现浓度梯度0~10%/分钟任意选择。数-模缓冲器中数-模变换是采用8421编码权电阻网络, V - f 变换器后接16分频器是为了提高浓度梯度选择电路中数-模变换用的基准电压源 V_{ref} ,以降低误差。

V_{ref} 的计算:电路设计规定, V - f 变换器输入每增加30毫伏,频率增加1赫芝。若在8421编码中“1”输出,则数-模缓冲器输出电压为 $\frac{1}{16}V_{ref}$ 。将此电压加到 V - f 变换器输入端,输出经16分频器,输出为10个脉冲/分,相当于浓度梯度1%/分。16分频器的输入频率

为 $\frac{16 \times 10}{60}$ 赫芝。V-f 变换器的输入电压为 $\frac{16 \times 10}{60}$ 赫芝乘以 $30 \frac{\text{毫伏}}{\text{赫芝}}$ ，即

$$\frac{1}{16} V_{ref} = \frac{16 \times 10 \times 30}{60} \text{毫伏} \quad V_{ref} = 1.28 \text{伏}$$

8421 编码数-模缓冲器经过实测：“8”为 0.641 伏；“4”为 0.321 伏；“2”为 0.162 伏；“1”为 0.082 伏；“0”为 0.001 伏。

五段正负斜率控制是作为可逆计数器“加减控制”的信号源（见总图）。可逆计数器显示出混合冲洗液中 A 溶剂的体积百分比，当百分比不断增加以示正斜率，反之以示负斜率。在电路控制上，插孔空着以示正斜率，插入以示负斜率。

各段浓度梯度乘时间的值在三位同步十进可逆计数器中累加（见总图），后从计数器的 $\bar{Q}_{11}$, $\bar{Q}_{12}$, $\bar{Q}_{13}$, $\bar{Q}_{14}$, $\bar{Q}_{21}$, $\bar{Q}_{22}$, $\bar{Q}_{23}$, $\bar{Q}_{24}$, $\bar{Q}_{31}$, $\bar{Q}_{32}$, $\bar{Q}_{33}$, $\bar{Q}_{34}$ 端取出讯号，做为数-模变换器的讯号源。浓度予置见总图。

三位同步十进可逆计数器显示出混合液中 A 溶剂的体积百分比，由数-模变换器（见总图）将此数字量转换成模拟电压，做为 (A) 泵的输入控制信号，它的模拟输出量为 $\frac{999}{1665} V'_{ref}$

（ V'_{ref} 是将 $\frac{A}{A+B}\%$ 所示的数字量转换成模拟量用的基准电压源）。若计数器显示任意数字量 D，此时模拟输出量 $\frac{D}{1665} V'_{ref}$ 为 A 泵的控制信号。

电压分配器（图 4）是一个减法器。按照 $V_A + V_B = \frac{999}{1665} V'_{ref}$ 实现对两台泵的控制。

$$V_A = \frac{D}{1665} V'_{ref} \quad V_B = \frac{999-D}{1665} V'_{ref}$$

注射泵控制器由 V-f 变换器，六节拍脉冲分配器和功率驱动器三部分组成（见总图）。将电压分配器输出的 V_A , V_B 讯号分别送 A 泵和 B 泵的 V-f 变换器输入端，把产生的相对应的频率输送给六节拍脉冲分配器，功率驱动器按六节拍工作，保证步进电机绕组供电按六节拍正常运行。设计要求两泵要对称，即流量的线性调节都在 $\pm 1\%$ 。对 A 泵和 B 泵 V-f- α （电压-频率-流量）关系的实测数据见下表：

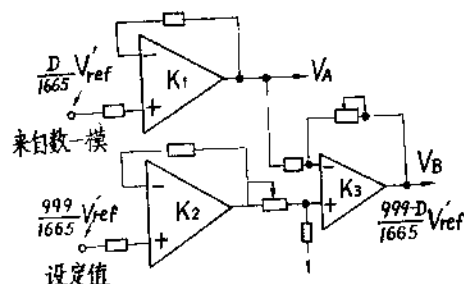


图 4 电压分配器

V_A 伏	$f_A \times 10$ 秒	α_A	V_B 伏	$f_B \times 10$ 秒	α_B
0.2704	94	1ml/4'1''	0.2704	92	1ml/4'2''
0.5407	186	2ml/4'0''8	0.5407	184	2ml/4'0''6
1.0808	370	4ml/4'1''4	1.0808	368	4ml/3'59''8
1.6200	554	6ml/4'2''2	1.6206	550	6ml/4'3''
2.1904	742	8ml/4'0''6	2.1900	740	8ml/4'0''7
2.7301	920	10ml/4'3''1	2.7304	918	10ml/4'2''4
3.3010	1108	12ml/4'2''6	3.2992	1104	12ml/4'1''2

混合器体积为 0.5 毫升, 内有一个小电磁铁, 溶剂在混合器中经过电磁搅拌充分混合, 再进入色谱柱。

二、实 测 数 据

1. 梯度淋洗控制器输出讯号的线性实验

(1) $\frac{A}{A+B}\%$ - V_A 的关系, 实测结果见下表:

$A/A+B$ %	V_A 伏	$A/A+B$ %	V_A 伏	$A/A+B$ %	V_A 伏	$A/A+B$ %	V_A 伏	$A/A+B$ %	V_A 伏
2	0.050	22	0.652	42	1.255	62	1.849	82	2.465
4	0.120	24	0.713	44	1.316	64	1.912	84	2.527
6	0.181	26	0.774	46	1.377	66	1.971	86	2.586
8	0.240	28	0.834	48	1.437	68	2.032	88	2.646
10	0.298	30	0.890	50	1.494	70	2.089	90	2.702
12	0.358	32	0.951	52	1.554	72	2.150	92	2.763
14	0.419	34	1.011	54	1.615	74	2.210	94	2.824
16	0.480	36	1.076	56	1.676	76	2.272	96	2.886
18	0.540	38	1.135	58	1.738	78	2.331	98	2.944
20	0.592	40	1.195	60	1.799	80	2.402	99.9	3.002

上述数据说明线性在 1% 内

(2) $V_A, V_B, \frac{999}{1665}V'_{ref}$ 实测值列于下表

$\frac{999}{1665}V'_{ref}$	2.999	2.999	2.999	2.999	2.999	2.999	2.999	2.999	2.999	2.999
V_A	0	0.300	0.595	0.895	1.200	1.500	1.796	2.094	2.400	2.700
V_B	2.999	2.702	2.406	2.113	1.806	1.500	1.206	0.907	0.599	0.300
$\frac{999}{1665}V'_{ref} - (V_A + V_B)$	0	-0.003	-0.002	-0.009	-0.007	-0.001	-0.003	-0.002	0	-0.001

由上表可见, $\frac{999}{1665}V'_{ref} - (V_A + V_B)$ 在 $\pm 1\%$ 以内。误差符合设计要求。

(3) 流量设定分别为 3 毫升/分、2 毫升/分、1 毫升/分、0.5 毫升/分, 相应的实测值分别见下列各表。

设定流量 3 毫升/分的实测值

$\frac{A}{A+B}\%$	A 泵 流 量	$f_A \times 10$ 秒	B 泵 流 量	$f_B \times 10$ 秒	$(f_A + f_B) \times 10$ 秒
0	0	0	12ml/4'1"2	1108	1108
20	2.4ml/3'58"	224	9.6ml/4'0"5	890	1114
40	4.8ml/4'0"4	452	7.2ml/4'1"	674	1116
60	7.2ml/4'0"5	670	4.8ml/3'58"5	456	1126
80	9.6ml/3'58"	896	2.4ml/3'51"	234	1130

设定流量2毫升/分的实测值

$\frac{A}{A+B}\%$	A 泵 流 量	$f_A \times 10$ 秒	B 泵 流 量	$f_B \times 10$ 秒	$(f_A + f_B) \times 10$ 秒
0	0	0	8ml/3'59''5	744	744
30	2.4ml/4'0''2	224	5.6ml/3'51''8	726	760
60	4.8ml/4'0''6	448	3.2ml/4'0''6	306	754
90	7.2ml/3'58''5	674	0.8ml/3'58''	76	750

设定流量1毫升/分的实测值

$\frac{A}{A+B}\%$	A 泵 流 量	$f_A \times 10$ 秒	B 泵 流 量	$f_B \times 10$ 秒	$(f_A + f_B) \times 10$ 秒
0	0	0	4ml/4'	370	370
30	1.2ml/4'1''1	110	2.8ml/3'59''3	250	370
60	2.4ml/4'1''5	220	1.6ml/4'2''5	150	372
90		335		36	371

设定流量0.5毫升/分的实测值

$\frac{A}{A+B}\%$	A 泵 流 量	$f_A \times 10$ 秒	B 泵 流 量	$f_B \times 10$ 秒	$(f_A + f_B) \times 10$ 秒
0		0		186	186
30		56		128	184
60	1ml/4'4''	95	1ml/4'3''	92	187
90		170		14	184

A 泵和 B 泵在不同混合比情况下的流量很难测定准确。为了测定设定值与实测值差，可利用螺旋注射泵的流量与脉冲频率成正比的关系，直接用频率计的 $f \times 10$ 秒档，测得 f_A 的 10 秒中累加脉冲数，对应于 A 泵的流量。同样 $f_B \times 10$ 秒对应于 B 泵的流量， $(f_A + f_B) \times 10$ 秒对应于总流量。以此来计算流量设定值与实测值误差。

上述数据说明流量设定值与实测值差在 $\pm 1\%$ 内。

2. 三种梯度淋洗类型实测曲线

图 5 是三种梯度淋洗类型实测曲线，其中 1 是直线梯度淋洗曲线，实验条件：A 泵为 0.1% 的丙酮水，B 泵为水，流速 0.916 毫升/分，紫外放大器的灵敏度 $1/32$ ，纸速 600 毫米/小时，浓度梯度设定为 10%/分，时间为 10 分。

2 是下凹梯度淋洗曲线，实验条件同上，各段浓度梯度和时间设定如下表。

段	1	2	3	4	5
浓度梯度%/分	2	4	6	8	10
时 间 (分)	3	3	3	3	4

3是上凸梯度淋洗曲线, 实验条件同上, 各段浓度梯度和时间设定如下表。

段	1	2	3	4	5
浓度梯度%/分	10	8	6	4	2
时间(分)	4	3	3	3	3

图中虚线表示设定值, 实线表示实测值。设定值中上凸线和下凹线的明显拐点, 在实测值中都平滑了。由图可见实测值和设定值相吻合。

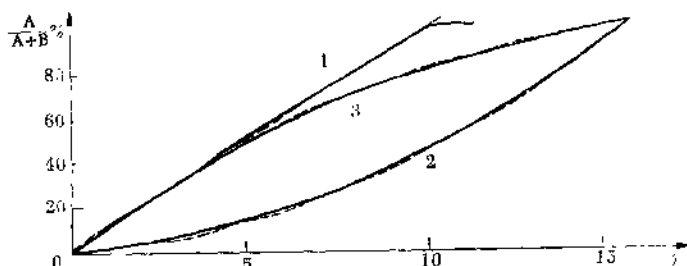


图 5 三种梯度淋洗类型实测曲线

按照“日立635”高速液相色谱仪的梯度验收指标和定义,

$$\text{线性} = \frac{\Delta x}{V_g} \quad \text{重复性} = \frac{\Delta V_g}{V_g} \quad \text{峰升降偏离} = W \quad \text{平滑性} = \frac{\Delta R}{R}$$

式中 Δx 表示直线梯度淋洗曲线中浓度达到最大值时, 基线波动的峰峰值。 V_g 为流量乘以浓度达到最大值所需要的时间。 ΔV_g 为两次实验 V_g 值的差。 W 为响应迟后值, 是由混合器到色谱柱这段连接管引起的。 R 为直线梯度淋洗曲线中最大浓度值。 ΔR 为直线梯度淋洗曲线中的直线

摆幅, 以示混合器中 A、B 两种溶剂混合均匀的程度。实验条件为: 流量 = 0.916 毫升/分, 记录器纸速 = 10 毫米/分。用图 6 的实测直线梯度淋洗曲线 (实验条件同图 5 的曲线 1) 计算线性, 重复性, 峰升降偏离, 平滑性。实测 $\Delta x = 2.3$ 毫米、 $V_g = 100$ 毫米、 $W = 3.3$ 毫米、 $\Delta V_g = 0.5$ 毫米、 $\Delta R = 3.3$ 毫米、 $R = 177$ 毫米。把以上测定值分别代入上式, (都换算成体积计算) 得到:

$$\text{线性} = 2.3\% \quad \text{重复性} = 0.5\%$$

$$\text{峰升降偏离} = 0.32 \text{ 毫升} \quad \text{平滑性} = 1.8\%$$

只是线性超过 $\pm 1\%$, 其它指标都在验收指标范围之内。

3. 高速液相色谱内梯度淋洗实测色谱图

使用我们自行设计的内梯度淋洗装置对含有十个成分的多环芳烃样品进行了分离测定。图 7 是不使用内梯度淋洗装置的分离情况, 全部样品需要经过近 3 小时才能出完。

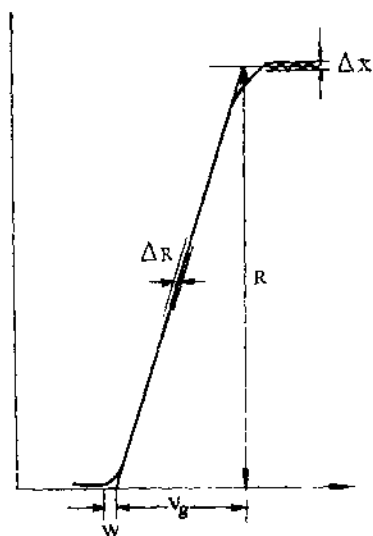


图 6 实测直线梯度淋洗曲线

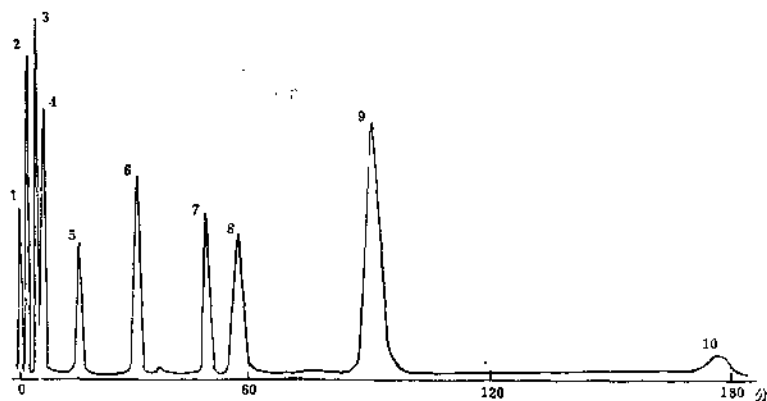


图 7 不采用内梯度淋洗装置的十个组成份多环芳烃色谱图

色谱柱: C_{18} /硅珠 $\sim 5\mu$ $\phi 5 \times 100mm$ 流动相: 甲醇:水=60:40 柱压: $98kg/cm^2$
流量: 0.9毫升/分 检测器: UV-254 1/8档 (图中1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 分别代表苯甲酸, 苯胺, 硝基苯, 苯, 二苯酮, 萘, 联苯, 菲, 蒽, 苊,下同)

图 8 是采用内梯度淋洗装置对上述样品的分离测定情况, 全部样品只需要13分钟就出完了。

三、装置的主要性能

1. 梯度淋洗的时间设定, 浓度梯度设定, 流量设定与实测值差在 $\pm 1\%$
2. 三种梯度淋洗类型曲线的实测值与设定值基本吻合, 实测值中拐点被平滑。
3. 根据高速液相色谱梯度淋洗的实测色谱图, 说明设计符合使用要求。

参 考 文 献

- 〔1〕 天津市无线电技术研究所译, “模数与数模转换技术”, 科学出版社, P.91—223 (1972)。
- 〔2〕 Fred Mac Donald, Chapt. 10, in “Basic Liquid Chromatography”, Walnut Creek, Calif., 1972.
- 〔3〕 江西八一无线电厂译, “线性集成电路的应用”, P.43—76, 1973 (本厂油印)。

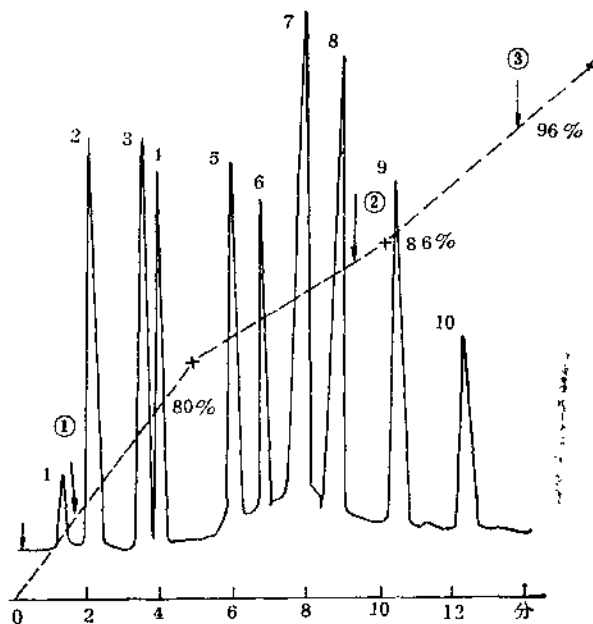
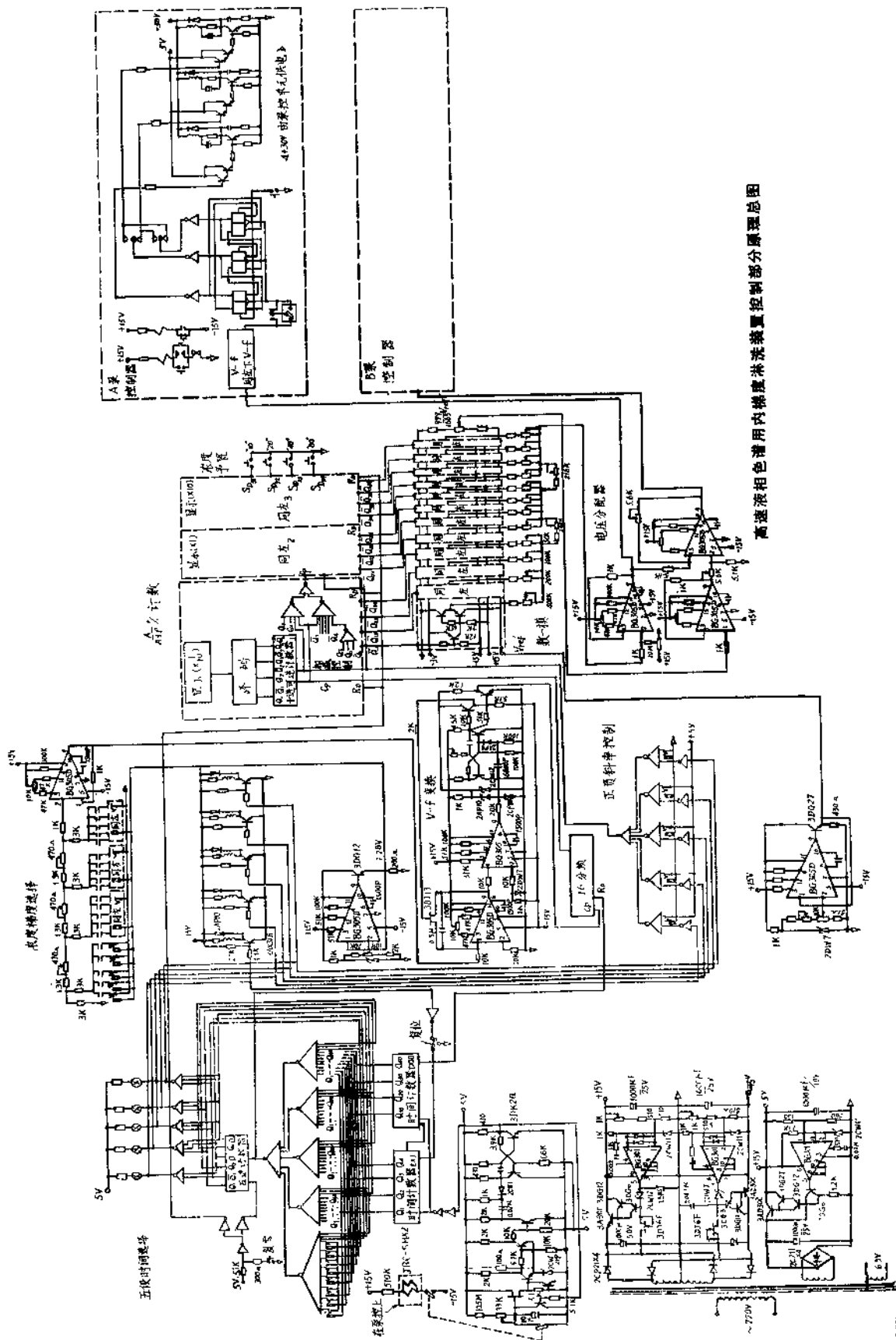


图 8 采用内梯度淋洗装置的十个组成份多环芳烃色谱图

色谱柱: 同上 流动相: 甲醇/水梯度 A泵: 甲醇/水=66.7%
B泵: 甲醇梯度段选择: i. 0~5分 8%/分; ii. 5~10分 4%/分 iii. 10~15分 6%/分 最终甲醇/水=96%
压力: $80\sim 100kg/cm^2$ 流量: 0.9毫升/分



高速液相色谱用内模数控制部分原理图