

● 卢佩章 张玉奎 梁鑫淼 著

高效液相 色谱法 及其 专家系统

$$\ln k' = a + b \cdot \ln \frac{C_B}{C_A} + c \cdot C_B$$

$$a = l_1 + l_2 \cdot V_w + l_3 \cdot X_{AH} + l_4 \cdot \mu_A^2$$

$$b = p \cdot \frac{\partial N_{B_0}}{\partial N_A}$$

$$c = m_1 + m_2 \cdot V_w + m_3 \cdot X_{AH} + m_4 \cdot \mu_A^2$$

辽宁科学技术出版社

高效液相色谱法 及其专家系统

卢佩章 张玉奎 梁鑫淼 著

辽宁科学技术出版社

高效液相色谱法及其专家系统

Gaoxiao Yexiang Sepufa Jiqi Zhuanjia Xitong

卢佩章 张玉奎 梁鑫森 著

辽宁科学技术出版社出版

(沈阳市和平区北一马路 108号 邮政编码110001)

辽宁省新华书店发行 辽宁美术印刷厂印刷

开本: 850×1168 1/32 印张: 21 字数: 484,000 插页: 5

1992年12月第1版 1992年12月第1次印刷

责任编辑: 李贵玉 冬 风 版式设计: 李 夏

封面设计: 君 文 责任校对: 东 戈

插 图: 张 辉

印数: 1 — 2,500

ISBN 7 - 5381 - 1541 - 2/TQ · 19 定价: 37.00元

(辽)新登字4号

序

高效液相色谱是 60 年代末 70 年代初发展起来的一种新型分析分离技术,至今仍处于蓬勃发展之中。特别是进入信息社会以来,随着微型计算机技术的迅速发展和广泛应用,色谱专家系统又成为当前发展的趋势。根据 1991 匹兹堡会议的统计结果表明,在所发表的 1389 篇文章中,有关色谱方面的文章有 498 篇,其中液相色谱方面的文章占 216 篇,居分析领域中发表的文章数目之首,并且液相色谱专家系统的文章又占有突出地位。在仪器的销售方面,根据 1989 年的统计,全世界整个分析仪器的销售总额为 48.12 亿美元,而液相色谱仪的销售量又占首位,达 7.82 亿美元。

70 年代初,中国科学院大连化物所就在卢佩章教授的指导下开展了高效液相色谱的研究。与工厂合作生产出液相色谱固定相,于 1977 年 10 月通过了鉴定,并出版了高效液相色谱微粒型固定相论文集;1984 年开始先后由李秀珍、张玉奎、包绵生、王俊德、林从敬等人共同编写了高效液相色谱讲义,并在色谱杂志上以讲座形式进行了系统的介绍。

1984 年,我们又受国家科委的委托,研制智能高效液相色谱仪,这项任务于 1989 年 10 月完成,并在第三届北京分析测试展览会上获得了金奖。同时,先后在导师卢佩章教授的精心指导下,张玉奎教授等老师的热心帮助下,在硕士生卢小明、窦林,博

士生邹汉法、黄红心、陈农、梁鑫淼等的共同努力下,发展出了高效液相色谱专家系统,其中柱系统推荐、智能优化和色谱定性等方面都处于国际领先水平。为了反映近 20 年来高效液相色谱及其专家系统的发展状况,特别是作者与整个学术集体在中国科学院大连化物所各级领导的关怀和支持下所取得的研究成果,我们编写了本书。

本书系统地介绍了我们在高效液相色谱仪、色谱担体的研制过程中,以及发展高效液相色谱方法及其专家系统过程中所积累的主要经验,并公布了专家系统中所有的源程序,为的是使我国在生产高效液相色谱仪的工作中,能立足于国内,并迎头赶上国际先进水平。由于本书内容涉及面较广,液相色谱发展又很迅速,虽然经过了几代科学家的共同努力,但仍感不足,敬请广大读者多提宝贵意见,以便今后再版时加以改进。

在本书的出版过程中,辽宁科学技术出版社总编辑李贵玉同志及责任编辑冬风同志,对该书的原稿进行了许多有益的修改和校订,在此表示衷心的感谢。我们还感谢杨阳同志在打印手稿方面的大力帮助。

最后我们十分感谢辽宁科学技术出版社对于本书的出版所给予的巨大支持。

作 者

1991 年 12 月

前 言

高效液相色谱是近 20 年来发展起来的一种新型的分析分离技术。从 1991 年第 42 届匹兹堡会议^[1]的统计结果表明:在所发表的 1389 篇文章中,色谱分析、光谱分析、电化学分析、波谱分析、质谱分析、环境分析、联用技术和化学计量学的文章数分别为 498、104、82、142、135、66、35 篇,还有其它方面的文章 327 篇。色谱分析的文章数占总数的 35%,居第一位。而在发表的色谱文章中,液相色谱、气相色谱、毛细管电泳、薄层色谱、超临界色谱的文章数分别为 216、98、35、34、30 篇,另外,还有逆流色谱等方面的文章 85 篇。液相色谱的文章数占色谱分析文章数的 41%。在我国,根据 1991 年第八次全国色谱报告会^[2]的统计结果也可以看出,在所发表的 324 篇文章中,液相色谱文章有 124 篇,占总数的 38%,由此可见,无论是国内还是国外,液相色谱法是至今仍在蓬勃发展着的一种非常重要的分析方法。

同时,随着计算机技术的迅猛发展,微型计算机在分析实验室以空前的速度普及和应用。目前,微型计算机已成为色谱仪的关键部件。它不仅完成色谱仪器部件的实时控制、数据采集和处理,而且还能对获得的实验数据进行分析、推理,然后将所得到的结果反馈于色谱仪,进行下一步的操作,从而使仪器的自动化程度得以大大的提高。自从 1981 年杜邦公司的自动选择最佳方法的液相色谱仪“探索者”(Sentinel)问世以来,惠普、瓦里安、玻

金埃尔默、沃特斯等公司竞相研制全盘自动化的高效液相色谱仪^[3-8]。这不仅具有很高的学术价值,而且还能产生很大的经济效益。根据 THAYER^[9]对 1989 年分析仪器销售量的估计表明:在世界上,1989 年分析仪器的销售总额为 48.12 亿美元,其中液相色谱仪、离子色谱仪、气相色谱仪、质谱仪、核磁共振仪、紫外光谱仪以及付里叶红外光谱仪的销售量分别是 7.82、1.36、5.41、4.18、1.99 和 2.42 亿美元,等等。因此从仪器的销售量来看,液相色谱仪在所有的分析仪器中,其销售量也占第一位。据不完全统计,1990 年在我国,液相色谱仪进口量约 2 千万美元,今后几年液相色谱仪的需求量仍呈上升的趋势。

随着液相色谱的应用面的不断拓宽,分析样品的复杂程度也越来越大,虽然分析一个样品往往只需不到一个小时的时间,但针对实际的具体样品,推荐和发展出合适的方法,并对所得的谱图进行定性定量分析,还是需要在专家的指导下进行。有时在寻找一个合适的分析方法以及对所得的谱图进行定性和定量分析时,可能需要几个月乃至几年的时间。但是,随着人工智能(AI)技术的迅速发展,使人们有可能把专家的知识 and 经验转变成计算机软件,由计算机来代替专家解决专家所要解决的问题,因此,色谱专家系统的发展又成为一个必然的发展趋势^[10]。在 1991 年的匹兹堡会议上就设立了两个专题讨论计算机辅助色谱方法的发展^[1],欧共体、瓦里安、沃特斯、玻金埃尔默、惠普、贝克曼等均在发展自己的专家系统。色谱专家系统的出现,使得色谱仪的智能性更添光彩,它不仅能减小一般分析人员的盲目性,节省了大量的人力、物力和时间,而且有了专家系统,使专家能发挥更大的作用,解决的问题也能更多更深入。当然色谱专家系统的自身发展,还是需要色谱专家的不断深入的研究,不断地更

新和创造,使之得以不断的提高。

70年代初,中国科学院大连化学物理研究所就开展了高效液相色谱的研究。与工厂合作生产出液相色谱固定相,该项成果于1977年10月通过了鉴定。并出版了高效液相色谱微粒型固定相论文集^[11],编写了高效液相色谱讲义,而且在色谱杂志上以讲座形式进行了系统地介绍^[12-21]。同时还多次举办了全国性的液相色谱学习班。

80年代初,我们就已开展智能色谱的研究^[22-26],1984年,我们又受国家科委的委托,研制智能高效液相色谱仪,这项成果于1989年10月完成并通过了鉴定^[27],在第三届北京分析测试展览会上获得了金奖。智能液相色谱仪的核心是液相色谱专家系统,其中柱系统推荐、智能优化和色谱定性等方面都处于国际领先水平。

本书第一章,详细叙述了全盘自动化液相色谱仪的硬件及其基础软件,并以自制的智能液相色谱仪为实例,介绍了二极管阵列检测器的设计、电路、性能、数据采集、数据处理、三维谱图、拟合定量方法、高压泵、自动进样器接口的设计及其控制软件,最后还公布了所有基础软件的源程序。

色谱分析的核心是分离,因此作为色谱专家系统,其首要任务就是要给出待定的分析样品应选择的色谱方法。同时,因为最佳操作条件优化只有在最佳柱系统的条件下才能真正地显示其价值,所以,这就要求专家系统推荐的方法也应是最佳方法。本书第二章将在详细地总结液相色谱常用的固定相、流动相的基础上,对不同性质的样品如何选择其应有的最佳柱系统的理论、原则及其基本数据作了系统地论述;与此同时,我们以源程序为实例介绍了专家系统的建立,其中包括推理机的设计、知识库的

建立和用户接口的设计等。

操作条件优化是色谱专家系统中另一个重要组成部分,我们系统地总结和发展了各种优化方法,并在此基础上建立了智能优化系统,对于任何样品(已知或未知),人们只需做二三次实验之后,计算机就能求得组分的保留值方程,通过智能优化,自动地求得流动相最佳浓度曲线,使得样品组分在满足一定的分离条件下,分析时间最短。本书第三章将详细地讨论智能优化系统的理论基础、基本策略及其计算机软件。

本书的第四章,针对广泛应用的反相色谱,在国际上首次建立了作用指数及其规律进行定性的方法和软件。在反相色谱保留值基本方程 $\ln k' = a + c \cdot C_B$ 的基础上,首次建立了包括 460 个组分在内的标准 a 、 c 指数库,并对 10 类样品 1200 个已知保留值进行了预测,精度在 10% 以内。该系统包括谱图定性、数据定性及其软件,并列出了其源程序。另外,本章还讨论了 a 、 c 参数的预测方法。

第五章介绍了液相色谱谱图库的建立及其对推荐方法的验证。我们根据谱图选择原则从 2000 多篇文献中选取了 200 多幅谱图,采用 EMG 模型,以存贮峰型参数规律的方法建立了“活谱图”库,同时为了最佳柱系统推荐之后,能够直接调用与分析样品有关的色谱图来验证推荐方法的可靠性,我们是通过智能检索的办法来达到的,克服了传统检索法的盲目性。最后我们还以源程序为实例,讨论了谱图库的建立,谱图的调用和谱图的显示。

第六章讨论了液相色谱专家系统的总体设计,指出了专家系统中各组成部分之间的内在联系和必要的连接。然后通过一个总体控制软件贯串其每一部分,从而使每一部分既相互独立,

又融为一体。本章也公布了总体软件的源程序,最后还列举了一些应用实例。

本书可供化学、化工、石油、环保、卫生、生化、食品等部门的色谱工作者在解决实际问题时参考。对于从事或发展专家系统,开发色谱仪器或者应用专家系统来解决实际问题的色谱工作者,本书无疑也是一本很有价值的参考书。

目 录

第一章 全自动高效液相色谱仪	1
§ 1.1 引言	1
§ 1.2 全盘自动化高效液相色谱仪硬件	1
§ 1.2.1 高压输液系统	2
§ 1.2.2 进样系统	12
§ 1.2.3 色谱柱系统	16
§ 1.2.4 高效液相色谱检测器	22
§ 1.2.5 自制二极管阵列检测器的设计、有关 接口电路及性能	44
§ 1.2.6 高压梯度装置的自动进样器与 IBM PC 微机的接口	52
§ 1.3 全盘自动化智能高效液相色谱仪的基础软件	54
§ 1.3.1 概述	54
§ 1.3.2 色谱仪基础软件的总体设计	55
§ 1.3.3 各软件模块	56
§ 1.3.4 全盘自动化液相色谱仪的实验考查	106
§ 1.3.5 峰形检测及拟合定量软件	108
§ 1.3.6 色谱峰形描述及 σ 、 τ 与 t_R 关系式的 准确求算方法	128
参考文献	140

第二章 高效液相色谱最佳柱系统推荐及其软件	143
§ 2.1 引言	143
§ 2.2 高效液相色谱常用固定相	144
§ 2.2.1 液固吸附固定相	144
§ 2.2.2 化学键合固定相	150
§ 2.3 高效液相色谱常用流动相	172
§ 2.3.1 正相色谱常用冲洗剂	173
§ 2.3.2 反相色谱常用冲洗剂	176
§ 2.3.3 反相离子对色谱法常用流动相	178
§ 2.4 高效液相色谱最佳柱系统推荐理论 及基本数据	180
§ 2.4.1 概述	180
§ 2.4.2 液相色谱最佳柱系统选择的必要条件	183
§ 2.4.3 什么样品可用液相色谱分析	186
§ 2.4.4 液相色谱分离模式的推荐	191
§ 2.4.5 同系物分离的最佳液相色谱柱系统	207
§ 2.4.6 异构体分离的最佳液相色谱柱系统	224
§ 2.4.7 特殊选择性样品的柱系统推荐	227
§ 2.4.8 液相色谱流动相中添加剂的选择	231
§ 2.4.9 液相色谱最佳柱长、担体粒度和最佳 流速的选择	233
§ 2.5 液相色谱最佳柱系统推荐软件	239
§ 2.5.1 液相色谱最佳柱系统推荐软件的总体设计	239
§ 2.5.2 液相色谱最佳柱系统推荐知识库的建立	243
§ 2.5.3 液相色谱最佳柱系统推荐推理机的设计	261
§ 2.5.4 液相色谱最佳柱系统推荐用户接口的设计	278

参考文献	299
第三章 高效液相色谱智能优化及其软件	302
§ 3.1 引言	302
§ 3.2 Simplex 方法结合智能搜索对未知 样品的优化	307
§ 3.2.1 优化指标的确定	307
§ 3.2.2 寻优方法	309
§ 3.2.3 优化函数及搜索方法的评价	314
§ 3.3 将未知样品转化成已知样品来进行优化的 关键步骤	317
§ 3.3.1 精确测定反相色谱溶质保留值规律式 a、c 参数的方法	318
§ 3.3.2 梯度保留值预测的数学表达式	322
§ 3.3.3 用二、三次梯度洗脱来测定未知样品的 保留值方程的方法	329
§ 3.4 “移动重叠分辨分离度”方法用于液相色谱 分离条件的优化	341
§ 3.4.1 概述	341
§ 3.4.2 优化指标及数学表达式	342
§ 3.4.3 计算机程序	343
§ 3.4.4 “移动重叠分辨分离度”法预测液相 色谱最优化条件的实际应用	345
§ 3.4.5 全浓度扫描法的液相色谱操作条件优化	356
§ 3.5 计算机仿真人工干预优化	359
§ 3.5.1 概述	359
§ 3.5.2 计算机仿真优化策略	360

§ 3.5.3 计算机仿真优化软件及实例	361
§ 3.6 智能优化	366
§ 3.6.1 单一同系物的智能优化	367
§ 3.6.2 同系物混合物的智能优化	368
§ 3.6.3 有峰交叉组分样品的智能优化	369
§ 3.6.4 智能优化软件(程序 1 中 8340—9560)	380
参考文献	426
第四章 反相液相色谱定性及软件	429
§ 4.1 引言	429
§ 4.2 采用作用指数及其规律定性的理论基础 以及预测 a、c 参数的方法	433
§ 4.2.1 采用 a、c 指数库进行定性及预测 a、c 参数的理论基础	433
§ 4.2.2 采用 Taft 常数及疏水常数预测 a、c 参数	449
§ 4.3 采用反相液相色谱作用指数及其规律 进行定性的方法	458
§ 4.3.1 非极性或同系物组分的定性方法	459
§ 4.3.2 不同极性取代基组分的定性方法	460
§ 4.3.3 不同类极性组分需进一步提高精度 时的定性方法	462
§ 4.4 反相色谱定性软件的研制	463
§ 4.5 反相色谱各类样品的定性实例	499
参考文献	550
第五章 液相色谱专家系统中谱图库的建立及验证	554
§ 5.1 引言	554

§ 5.2 谱图选择的原则	555
§ 5.3 谱图存储	561
§ 5.4 谱图库的建立	565
§ 5.5 谱图检索及其谱图显示软件	570
§ 5.6 谱图验证实例	589
参考文献	634
第六章 高效液相色谱专家系统的总体设计.....	636
§ 6.1 总体思想	636
§ 6.2 总体控制软件	637
§ 6.3 液相色谱专家系统组成部分的必要连接	639
§ 6.3.1 样品预处理推荐与柱系统推荐及其连接	639
§ 6.3.2 谱图验证系统与柱系统推荐的连接	642
§ 6.3.3 谱图验证系统与定性系统的连接	647
§ 6.3.4 智能优化与定性系统的连接	650
§ 6.3.5 一点展望	652
参考文献	654

第一章 全自动高效液相色谱仪

§ 1.1 引言

随着色谱技术在各个领域中日益广泛的应用以及微型计算机技术的发展,一代新型的色谱仪即智能色谱仪已经脱颖而出,受到色谱界的普遍重视。1981年杜邦公司的自动选择最佳分离方法的液相色谱仪“探索者”(Sentinel)问世,随后惠普公司、瓦里安公司、玻金埃尔默公司、沃特斯公司等竞相对全盘自动化的高效液相色谱仪进行开发研究。我们自1982年在国家科委支持下开展了智能高效液相色谱仪的研制工作,经过8年的努力,完成了全盘自动化高效液相色谱仪原理样机及其专家系统,两者相结合就形成了智能高效液相色谱仪。本章主要讨论全盘自动化高效液相色谱仪的硬件及基础软件。

§ 1.2 全盘自动化高效液相色谱仪硬件

全盘自动化高效液相色谱仪硬件主要包括高压输液系统、自动进样系统、柱系统、检测系统及微机与泵、检测器、自动进样器的接口板。

§ 1.2.1 高压输液系统

高效液相色谱仪输液系统包括贮液罐、高压输液泵、梯度淋洗装置等。

贮液系统

溶剂贮存器用来供给足够数量的合乎要求的流动相以完成分析工作。对溶剂贮存器的要求是：

- (1) 必须有足够的容积，以备重复分析时保证供液；
- (2) 脱气方便；
- (3) 能承受一定的压力；
- (4) 所选用的材质对所用溶剂都是惰性的。

溶剂贮存器一般是以不锈钢、玻璃或聚四氟乙烯衬里为材料。容积一般为 0.5—2 升为宜。溶剂使用前必须脱气。因为色谱柱是带压操作的，而检测器是在常压下工作。若流动相中所含的空气不除去，则流动相通过柱子时其中的气泡受到压力而压缩，流出柱子后到检测器时因常压而将气泡释放出来，造成检测器噪声大，使基线不稳，仪器不能正常工作，这在梯度淋洗时尤其突出。常用的脱气方法有：

• 低压脱气法：电磁搅拌、水泵抽空，可同时加温或向溶剂吹氮。由于抽空或加热过程中可能引起流动相中低沸点溶剂的挥发而影响其组成，此法不适于二元以上冲洗剂组成的流动相脱气。

• 吹氮脱气法：氮气经由一圆筒过滤器通入冲洗剂中，在 0.5 公斤/厘米² 压力下保持 10—15 分钟，氮气的小气泡可将溶于流动相中的空气带出，此法简单方便，适用于所有冲洗剂脱气，但由于氮气价格昂贵，在国内尚难于普及。