

国产科学仪器应用与发展

全自动二维液相色谱仪控制系统的设计

常剑 罗飞

(华南理工大学自动化科学与工程学院 广州 510640)

**摘要** 二维液相色谱仪根据二维液相色谱的原理,采用两根色谱柱逐步分离,解决了中药中天然物质分离难度大的问题。本文首先介绍了二维液相色谱仪控制系统的架构,接着讨论了整体流路及分离的两种工作方法:在线工作方式和离线工作方式。然后设计控制流路实现对各种阀门的分时控制,以实现不同分离方法下的系统运行及物质分离。在最后收集阶段,采用一种算法对色谱波峰进行分析,实现有效收集。

**关键词** 二维液相色谱;在线工作方式;离线工作方式;色谱波峰

中图分类号 TH833

文献标识码:A

Design of an Automatic Two-dimensional Liquid Chromatograph Control System

Chang Jian, Luo Fei

(College of automation science and engineering, South China University of Technology,Guangzhou 510640,China)

**Abstract** Based on the theory of two-dimensional chromatogram, the liquid chromatograph employs two chromatographic columns to gradually separate substances, and thus solves the challenge of separating natural substances in traditional Chinese medicine. Firstly the structure of the two-dimensional liquid chromatograph is introduced, then two methods for controlling stream paths and separating substances, on-line separating and off-line separating are discussed in details. And then the design for controlling the stream paths is illustrated, which is aimed at the realization of time-sharing control of various valves and the realization of separating substances and steady operating of systems in different separating ways. And in the substance collecting step, an algorithm is adopted for the analysis of chromatogram wave. As is shown by the result, the system can collect substances efficiently.

**Key words** Two-dimensional Liquid Chromatogram; On-line separating; Off-line separating; Chromatogram wave

我国拥有丰富的天然物质资源和悠久的中医药历史,但在天然物质有效成份分子结构分析、生物活性测定和药理等方面的研究现状远远落后于世界先进水平,无法实现中医药的现代化和国际化。天然物的全自动、全成份、较大量分离是天然物研究和新药创制的急需基础条件。

二维色谱仪是一种用于对中药等复杂天然物质进行全组份分离的实验仪器,它采用两根不同性质的色谱柱<sup>[1]</sup>串联,有效解决天然物成分复杂、色谱信号相邻峰重叠、难以判断收集区间等天然物分离难题,实现全自动、全成份、高纯度、较大制备量的天然物制备。

谱仪控制系统是以工控机和 ARM 为核心的二级分布式嵌入式控制系统,按照制备过程需要编写工作程序,完成自动取样、分离、检测、收集、清洗管路和色谱数据采集处理。装置采用模块化组合方式,可采用高压-高压串连、中压-高压串连、中压-中压串连和单独高压装置或单独中低压装置,装置可采用全自动或半自动方式。用两根不同性质的柱容量大的异形色谱柱串联,以保留值、吸收值和双波长吸收值之比控制样品的收集,加大对天然物质进行多组份的分离和收集能力。

电控系统结构框图如下图 1 所示。

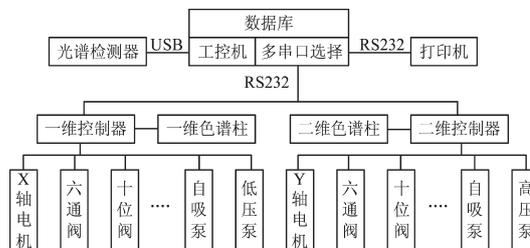


图 1 电控系统结构框图

Fig.1 Structure of the electrical system

1 二维液相色谱仪控制系统设计

1.1 二维液相色谱仪电控系统介绍

二维液相色谱仪控制系统是以工控机二维液相色谱

收稿日期: 2010-11-10

基金资助: “十一五” 国家科技支撑重大项目 (2006BAK03A08)

作者简介: 常剑(1986-),男,在读硕士研究生,主要研究方向为模式识别与智能系统; 罗飞(1957-),男,教授,博士生导师,主要研究方向为模式识别与智能系统

### 1.2 二维液相色谱仪控制流路设计

全自动二维制备液相色谱仪是将分离机理不同而又相互独立的两根色谱柱串连起来构成的分离系统。样品经过第一根色谱柱时,通过浓缩、搜集及后续的检测器进行初步分离,然后切换到第二根色谱柱中进行第二步分离。二维分离采用两种不同的分离机理分离样品,即利用样品的两种不同特性把复杂混合物分离(大量分离已知物质即为制备)成单一组分,这些特性包括分子尺寸、等电性、亲水性、疏水性、电荷、特殊分子内作用(亲和)等<sup>[2]</sup>,在一维系统中不能完全分离的组分可能在二维系统中得到更好的分离。与一维系统相比,分辨率、分离能力得到极大的提高。

二维液相色谱仪的流路如图2所示,其中使用了一个六通阀(V3),三个四通阀(V4,V5,V6),两个十位阀(V7,V8),一个十通阀(V9),四根色谱柱(S1,S2,S3,S4),两个检测器(D1,D2),两个中压泵(B1,B2),两个高压泵(B3,B4),两个自吸泵(B5,B6),通过软件编程控制流路转换,分别实现了一维和二维的洗针,进样,分离和收集过程。

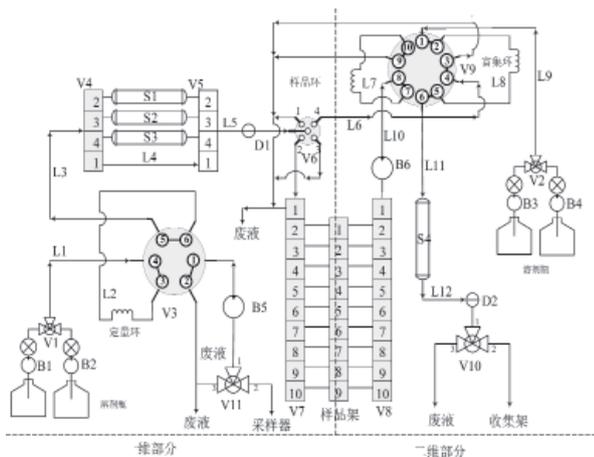


图2 二维液相色谱仪流路图

Fig.2 Stream paths of the two-dimensional liquid chromatography

## 2 二维液相色谱仪工作方式介绍

### 2.1 二维液相色谱仪的两种工作方式

二维液相色谱技术的核心之一是将第一维洗脱的样品成分有效的导入第二维中,因而接口的切换是系统设计的关键。本系统对于进入第二维的第一维洗脱后的样品,通过软件上的自动控制,提供了两种工作方式:在线工作方式和离线工作方式。而针

对不同的进样方式,通过阀的切换来实现第二维分析样品的进样。

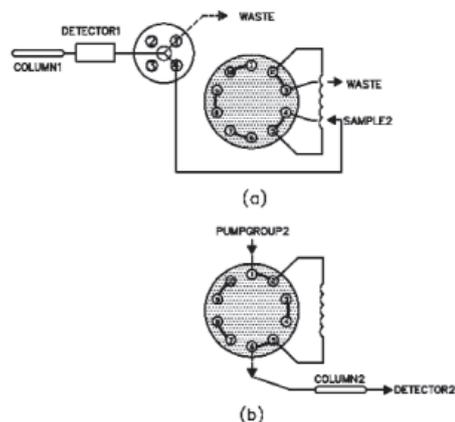


图3 在线方式阀门动作图

Fig.3 On-line switching of valves

在线工作方式,即将第一维色谱柱分离后的馏分,利用定量环先对其进行暂时的收集,然后利用泵将定量环中的样品送入二维色谱柱,进行洗脱后进入检测器,从而进行样品分离。当十通阀的位置如图3(a)所示时,如果未出现目标组分,四位阀位于1口,这时将非目标组分排到废液瓶;如果出现目标组分或在线方式进样开始时间到时,四位阀转到4口,这样前级色谱柱分离后的某一目标组分就会被送入二维的富集环2中。当在线方式进样结束时间到时,立即转动十通阀切换到图3(b)所示位置,在高压泵组的作用下第二级色谱的流动相会将富集环内的目标组分送入第二级色谱柱。

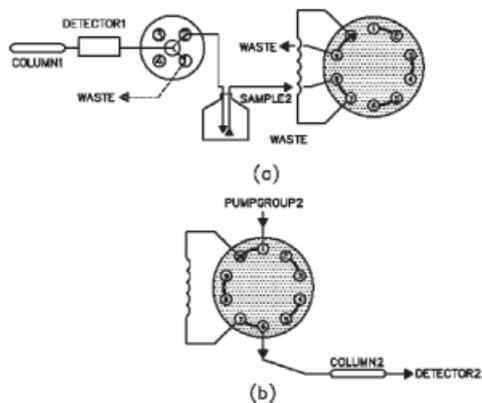


图4 离线方式阀门动作图

Fig.4 Off-line switching of valves

离线工作方式,即将第一级色谱柱分离后的馏分依次收集起来,根据需要再注入第二维色谱柱进行分离。如图4(a)所示时,如果未出现目标组分时,四位阀位于1口,这时将非目标组分排到废液瓶;如果出现目标组分,四位阀转到2口,目标组分就会被

送入收集瓶中,实现对洗脱后的组分切割。当离线方式开始时,十通阀切换到图 4(a) 所示位置,通过自吸泵将样品吸到富集环 1 中。

当离线进样完成,将十通阀动作到图 4(b) 所示位置,在高压泵组的作用下第二级色谱的流动相会将富集环内的目标组分送入第二级色谱柱。

### 2.2 二维液相色谱仪进样方式介绍

二维液相色谱仪进样分为两种方式: 正常进样方式和节约进样方式。

正常进样方式: 三通阀 V11 连通样品瓶,六通阀 V3 转动到位置 A 状态,启动自吸泵 B5 将样品定量吸入定量环中,六通阀 V3 转回到位置 B 状态,同时开始计时,完成一维的进样。

节约进样方式: 三通阀 V11 连通样品瓶,六通阀 V3 转动到位置 A 状态,启动自吸泵 B5 将样品定量吸入定量环中,然后三通阀 V11 连通清洗液,启动自吸泵 B5 将一定量的清洗液吸入进样管路中。六通阀 V3 转回到位置 B 状态,同时开始计时,完成一维的进样。

在正常进样方式中,六通阀 V3 的定量环和进样管路中都充满样品,定量环中的样品进入到色谱柱中分析,进样管路中的样品会清洗流入废液瓶,浪费太大。在节约进样方式中先吸入一定量样品,样品量与六通阀 V3 的定量环体积相等,然后旋转三通阀 V11 连通清洗液,吸入清洗液,清洗液量与六通阀 V3 前的样品管路体积相等,这样清洗液将样品推入了六通阀 V3 的定量环,六通阀 V3 转回到位置 B 状态,同时开始计时,完成一维的进样。

## 3 二维液相色谱仪色谱波峰的处理

### 3.1 二维液相色谱仪的原理

通常情况下需要进行检测的化学样品的组成极其复杂,常常含有几百甚至上千种组分,因此采用一维液相色谱进行分离时,通过一维色谱柱洗脱的样品仍然会存在严重的重叠峰,往往远不能满足分离的要求。二维液相色谱分离技术就是利用两根性质不同的色谱柱对复杂样品中的待分析组分进行分离<sup>[3]</sup>,通过将不同分离模式的色谱柱用特定的方式联接起来,使其发挥各自特有的分离能力,就可将复杂样品的重叠的峰所对应的组份分离出来。

峰容量是色谱分离能力的指标,二维液相色谱系统总峰容量是对应一维模式峰容量的乘积<sup>[4]</sup>,

$P=P_1 \cdot P_2$ ,  $P_1$  表示第一维色谱的峰容量,  $P_2$  表示第二维色谱的峰容量。因此,二维色谱分离系统比一维色谱可提供更高的峰容量,更适合于复杂体系的分离。在测量色谱峰时,通过 12 位 A/D 转换采集泵压力数据,通过 24 位 A/D 转换采集色谱数据,通过串口和上位工控机通讯、传送色谱数据。

### 3.2 色谱波峰的处理

关于二维色谱中的基于双波长吸收值的信号方式制备,我们希望双波长吸收值信号类似如图 5 所示:

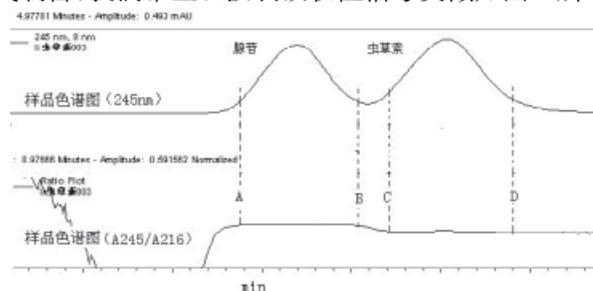


图 5 双波长吸收值信号图

Fig.5 The profile of the absorption value of dual-wavelength

这里,我们定义靠上的曲线为信号 1,靠下的曲线为信号 2。对于信号(经过均值滤波的信号)的处理方法如下:

信号 1: 连续取样 2 点,  $t_1$ 、 $t_2$ , 电压  $v_1$ 、 $v_2$ ; 令  $\alpha = (v_2 - v_1) / (t_2 - t_1)$ , 如果  $v_2 > A$ ,  $\alpha > B$ , 则满足条件一; 如果  $v_2 < A$  或  $\alpha < B$ , 则不满足条件一。

信号 2: 连续取样 2 点,  $t_1$ 、 $t_2$ , 电压  $v_1$ 、 $v_2$ ; 令  $\alpha = (v_2 - v_1) / (t_2 - t_1)$ , 如果某接近零的负数  $< \alpha <$  某接近零的正数, 则满足条件二; 如果  $\alpha <$  某接近零的负数或  $\alpha >$  某接近零的正数, 则不满足条件二。

当条件一和二同时满足时,开始收集,当条件一或条件二有一个不满足时,停止收集。

控制过程中选取 A 为 15, B 为 1, 得出的二维色谱曲线图如图 6 所示:

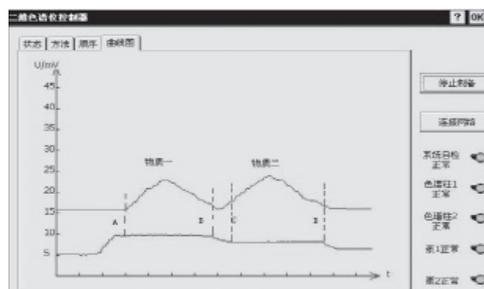


图 6 二维色谱曲线图

Fig.6 The profile of two-dimensional chromatogram

## 4 结束语

采用先进的制备工艺流程,实现时间方式、信号方式、多馏分方式和单样品多馏分方式等多种天然物制备方法,并实现取样、分离、检测、收集和清洗管路等过程的全自动化;在信号方式制备方法中,采用双波长光谱吸收值信号作为制备判断依据,有效解决天然物成分复杂、色谱信号相邻峰重叠、难以判断收集区间等天然物分离难题;为天然物研究机构提供天然物实验室制备设备,为实现中医药现代化和

中医药国际化奠定物质基础。

## 参考文献

- [1] 马继平,关亚凤.制备液相色谱的流型研究[J].化学进展,2003,15(1):25-30
- [2] 李彤,张庆合,等.高效液相色谱仪器系统[M].北京:化学工业出版社,2005,1
- [3] M.J Gray., G.R Dennis.,P.J. Slonecker, et al J. Chromatography, 2004, 1041: 101
- [4] 袁辉明,张丽华,张维冰等.新型全二维微柱液相色谱分离平台的构建[J].分析测试学报,2008,27(3):227-230