

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.06.034

中药分析中电雾式检测器应用现状

刘芫汐,王莹[△],金红宇,马双成

(中国食品药品检定研究院,北京 102629)

摘要:目的 为电雾式检测器(CAD)在中药分析中的应用提供参考。方法 查阅相关文献,整理CAD在中药材、中药提取物和中药制剂检测中的应用情况,并与常见通用型检测器及其适用范围进行比较,归纳影响CAD准确性的仪器设定参数。结果 CAD可用于分析糖类及皂苷类等半挥发或不挥发成分,拥有较高灵敏度、较宽线性范围及较好响应一致性。结论 CAD在中药分析中具有较广阔的应用前景。

关键词:电雾式检测器;高效液相色谱法;中药分析;参数设立

中图分类号:R932;R286.0

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)06-0128-04

Application Status of Charged Aerosol Detector in Analysis of Traditional Chinese Medicine

LIU Yuanxi, WANG Ying, JIN Hongyu, MA Shuangcheng

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing, China 102629)

Abstract: Objective To provide a reference for the application of charged aerosol detector (CAD) in the analysis of traditional Chinese medicine (TCM). **Methods** The relevant literature was searched, the application of CAD in TCM, TCM extract and TCM preparation was sorted out, the difference between frequently-used universal detectors and their application scopes were compared, and the instrument setting parameters affecting the accuracy of CAD were summarized. **Results** CAD can be used for the analysis of semi-volatile or non-volatile components such as sugars and saponins, it had high sensitivity, wide linear range and good response consistency. **Conclusion** CAD has a broad application prospect in the analysis of TCM.

Key words: charged aerosol detector; HPLC; analysis of traditional Chinese medicine; parameter setting

电雾式检测器(CAD)是ESA公司于2004年推出的一款新型高效液相色谱(HPLC)检测器。CAD是基于雾化-气溶胶的检测器,检测原理是将液相洗脱液雾化蒸发后检测溶质颗粒的带电粒子的信号流,具有灵敏度高、重复性好、不依赖于化学结构的信号响应一致性、动态检测范围宽、操作直观简单的特点,适用于分析各种不挥发或半挥发性化合物。2020年版《中国药典(四部)》通则0512“高效液相色谱法”中HPLC的检测器首次补充了CAD,并对其基本特性进行了简单说明。在此,对近10年来采用CAD分析中药成分的文献报道进行总结,为其在中药分析中的推广应用提供参考。

1 在中药分析中的应用

1.1 其他类检测器的应用缺点

紫外检测器(UVD)在HPLC中的应用最广泛。但由于中药中糖类、皂苷、萜类等成分缺少发色基团,故无法使用UVD进行检测。2020年版《中国药典(一部)》收录的药材及成药品种,其中若涉及无紫外吸收成分的含量测定,多采用蒸发光散射检测器(ELSD)进行检测,如瓜子金中的瓜子金皂苷己、益母草中的盐酸水苏碱、

马鞭草中的熊果酸等^[1]。ELSD虽为通用性检测器,但日常检测存在线性范围窄、计算复杂等问题,且在实际分析中为防止其基线漂移,只能采用等度洗脱法,限制了其色谱分离。

1.2 CAD在中药材成分分析中的应用

中药材的成分复杂,性质差异大,常同时含有仅有紫外末端吸收和有强紫外吸收类型的化合物,很难采用某一类型的专属性检测器对所有化合物进行检测。CAD具有良好的响应一致性和通用性优势,在中药材尤其是在萜类、糖类、皂苷类、部分生物碱类成分的分析中应用日益广泛。张春泥等^[2]对比了川楝子饮片的UV, ELSD, CAD指纹图谱,结果发现,与ELSD比较, CAD的灵敏度更高,确认了28个共有特征色谱峰,能表征出川楝子更多成分的色谱峰信息。最终得出结论, CAD适用于川楝子中无紫外吸收或弱紫外吸收物质的检测,其在川楝子指纹图谱的建立上具有明显优势。

在中药单糖及多糖测定中, CAD的使用愈加广泛。张素红等^[3]使用HPLC-CAD测定了白茅根中果糖、葡萄糖、蔗糖的含量,建立了中药中单糖和二糖的分析方

第一作者:刘芫汐,女,大学本科,药师,研究方向为中药质量控制,(电子信箱)2418810483@qq.com。

[△]通信作者:王莹,女,博士,副研究员,研究方向为中药质量控制,(电子信箱)wayi_1986@163.com。

法,表明CAD适用于单糖和低聚糖的检测。谭必琴等^[4]考察了检测器的采集频率和滤光片,并对流动相比、柱温和流速进行了优化,测定了蜂蜜中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖4种糖的含量,结果发现,使用CAD测定蜂蜜中4种糖成分时,其灵敏度远高于ELSD。郑晓倩等^[5]使用CAD检测了黄精九蒸九晒过程中的单糖和双糖的含量变化,并与ELSD比较,结果前者耐用性及稳定性更佳。张雪等^[6]建立了CAD同时测定白及药材中单糖和双糖的方法。此外,多篇报道均证明,CAD在中药单糖及多糖测定中有一定应用前景^[7-9]。

在皂苷及苷元的研究中,陈翠花等^[10]采用超高效液相色谱(UPLC)-CAD柱后补偿结合内参法测定三七中总皂苷的含量,补偿后各成分响应一致性较好,无需响应因子,也可用于定量分析。南易等^[11]使用CAD同时检测了知母中的芒果苷和知母皂苷BⅡ。同时对比了药典中对这2个成分的UV和ELSD检测法,发现使用CAD检测不但简化了测定步骤,还提高了重复性和灵敏度(芒果苷和知母皂苷BⅡ的检测限分别为0.43 ng和1.20 ng,定量限分别为1.28 ng和4.80 ng)。

在生物碱方面,尤其是甾体类生物碱分析应用中,采用CAD可通过优化流动相来获得更好的分离效果,比ELSD更具优势^[12]。杨娟艳等^[13]采用CAD检测了小叶黄杨中不同部位环维黄杨星D的含量,采用UV时基线漂移且响应值低,无法准确检测目标成分含量,而采用CAD后响应值高、基线平稳,且定量更准确。LONG等^[14]建立了CAD检测贝母中贝母素甲和贝母素乙2种生物碱含量的方法,同时与ELSD测定结果进行了比较,结果显示,CAD检测灵敏度为ELSD的30~55倍,可检测到ELSD无法检测到的微量杂质,且其重复性和动态范围均远优于ELSD。

1.3 CAD在中药提取物中的应用

CAD除了应用于中药材的分析外,近年来在中成药及中药提取物中的应用也逐渐增加,在进行含量测定时还常被用于指纹图谱的分析。赵鑫等^[15]通过高效液相色谱联用质谱(HPLC-MS)-CAD同时测定了辛夷提取物中4种木脂素类成分,分别为松脂素二甲醚、木兰脂素、里脂素B二甲醚和表木兰脂素A。结果表明,CAD对4种成分的单位浓度的响应因子一致性优于DAD,可用于辛夷中木质素类成分的质量评价。刘丽娜等^[16]建立了银杏叶提取物中萜类内酯类成分的HPLC-CAD检测法,并与2015年版《中国药典》中ELSD检测法及《欧洲药典》中采用示差检测器(RID)检测法相比较,结果CAD测定灵敏度更高,具有明显优势。

1.4 CAD在中药制剂中的应用

廖强等^[17]通过快速溶剂萃取提取、柱后补偿HPLC-CAD检测了4种中成药(补中益气丸、通窍鼻炎颗粒、醒脑再造胶囊、玉屏风颗粒)中的黄芪甲苷。王莹等^[18]建立了注射用益气复脉中4种糖成分(果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖)的CAD检测方法。QIAN等^[19]使用CAD检测了板蓝根颗粒中7种氨基酸成分,并对其中6种进行了定量分析。结果表明,该方法的精密度、稳定性和回收率均符合试验要求,相较于传统的衍生化后质谱测定法,该方法前处理简单易操作,且结果更准确。

除用于检测中成药中无紫外吸收的同一类型成分外,CAD还被广泛用于同时测定成方制剂中多种不同类型的指标性成分。罗昌明等^[20]采用CAD考察了风湿定痛片中8种指标性成分,分别为在250 nm波长处有最大吸收的甘草酸和甘草次酸,在235,269,259,274 nm波长处有最大吸收的八角枫苷A、水杨苷、毒藜碱、丹皮酚,在248 nm及301 nm波长处有最大吸收的欧前胡素和异欧前胡素,对比以上各波长下的图谱发现,CAD获得的峰数量均显著多于DAD图谱,且灵敏度高,基线更平稳。段萍萍等^[21]采用HPLC-CAD法检测了千柏鼻炎片中盐酸麻黄碱、绿原酸、对羟基桂皮酸、金丝桃苷、大黄素5个活性成分。这5个成分最大吸收波长差异较大,传统的DAD难以同时检测,采用CAD检测与各成分紫外吸收强弱无关,测定时不但得到的图谱信息更丰富,且各成分灵敏度均高于DAD。在对中药中多成分进行检测,特别这些成分紫外最大吸收波长不同的情况下,部分研究表明,采用CAD可获得更丰富的色谱峰信息,且基线更平稳^[20,22-23]。

除了应用于中药制剂中的成分分析外,CAD还被用于检测制剂中的辅料及添加物。王亚琼等^[24]采用HPLC-CAD检测了小儿咳喘灵口服液中甜味剂,结果发现有部分企业违规采用蔗糖作矫味剂,该法灵敏度高,不但可检测是否违规添加蔗糖,还能用于制剂中蜂蜜的质量评价,为中成药中甜味剂的检测及蜂蜜类辅料质量评价提供了参考。李丽红等^[25]用CAD检测掺假蜂蜜中的果葡糖浆,结果1%果葡糖浆可明显检出,表明能用于蜂蜜掺假的快速鉴别。

2 常见通用型检测器比较及适用范围研究

中药分析中常见的通用型检测器包括示差折光(RI)、ELSD,质谱检测器(MS)、CAD等。2020年版《中国药典(四部)》通则0512中列举了7种检测器。

RI是最早商品化的通用型检测器,用于分析无紫外吸收物质,获取大分子的分子量分布信息等。因测定

的是洗脱液的折射率变化, RID的灵敏度与流动相和分析组分均相关。检测器对温度和压力波动敏感, 与梯度洗脱不相容。随着ELSD的问世, 检测器的灵敏度和稳定性均有提升。ELSD与任意挥发性流动相相容, 可检测挥发性低于流动相的样品, 而无须样品含有发色基团, 应用范围较RI宽。而ELSD的响应曲线呈S形, 线性范围较窄, 给定量带来不便。为改善ELSD的缺陷, 凝聚成核散射检测器(CNLS)面市, 其具有宽动态范围的曲线响应的优势, 但其响应依赖于化合物的水溶性。MS是另一种通用型检测器, 在灵敏度、选择性、通用性及化合物的分子量和结构信息的提供等方面均有突出优点, 但仅能检测能被电离的待测物质, 且成本较高。与上述通用型检测器比较, CAD检测信号仅与进样质量有关, 不依赖于被检测物质的化学结构与性质, 与梯度洗脱兼容, 线性范围宽, 其响应值不依赖于被测物质的离子化效率, 能检测大部分非挥发性或半挥发性物质^[26]。

3 影响CAD准确性的仪器参数设定

作为一款质量敏感型检测器, CAD的响应值仅与进样质量有关。但有研究表明, 一些因素会影响CAD的准确性与灵敏度, 如雾化器温度、背景噪音、流动相组成、幂律函数值等。吴晓惠等^[27]依据HPLC的检定规程, 并参考生产厂家要求, 建立了HPLC-CAD的校准方法, 对影响仪器性能的各参数如泵耐压、泵流量设置误差、柱温箱稳定性等进行了全面评价, 确认各项性能指标控制在合理范围内。

梯度洗脱时, CAD的响应会受流动相影响。流动相中有机相占比增大, 响应值会随之增大。可通过逆梯度补偿技术对其进行修正, 令进入检测器的洗脱液始终保持相同比例的组分。GÓRECKI等^[28]最早提出了逆梯度补偿技术。而后更多的研究表明, 在中药分析领域, 逆梯度补偿可使相应结果一致性更好, 还可避免由于流动相变化导致的基线漂移, 从而减小色谱图中的噪声, 利于获得更好的灵敏度^[29-31]。雾化器温度的提高可提升信噪比, 从而提升CAD的灵敏度, 但温度过高可能会影响待测成分的挥发。CAD中的背景噪声主要来源于溶剂中的添加剂和杂质, 因此HPLC-MS级溶剂有利于提高灵敏度。

此外, 流动相中的添加剂、流速等也会对灵敏度产生影响。EOM等^[32]评价了不同浓度的添加剂、pH、流动相的流速、氮气纯度等对CAD的影响。结果发现, 采用CAD对柴胡皂苷进行分析时, 通过在一定程度上降低流动相中的盐浓度, 可提高其灵敏度; 使用0.1 mmol醋酸铵(pH4.0)-乙腈, 在1.0 mL/min流速下可获得最

高的灵敏度。同时, 氮气纯度对测定结果无显著影响。SCHILLING等^[33]通过神经网络技术建立了结构-性质关系模型, 用以描述物质性质和色谱参数对CAD响应值的影响, 结果显示, 在不同试验条件下可预测结构相似化合物的CAD响应性的潜力。

幂律函数值(PF)是指在质量范围内通过试验确定的幂律指数b的倒数。当分析物质量浓度较高时, 粒径分布会与质量浓度遵循指数幂律的变化规律。当检测质量浓度范围较大时, 需使用PF值修正拟合绘制标准曲线。SOLIVEN等^[34]对阿米卡星的分析结果说明了PF值的重要性及对于检测结果的影响。AHMAD等^[35]和PAWELLEK等^[36]在测定中通过公式推导, 对PF的值进行优化。王莹等^[18]在注射用益气复脉的研究中采用回收率判断的方式, 对PF值进行优化, 使检测结果更可靠, 给出了通过线性初步判断优化PL值的方法。

4 小结

CAD作为一种质量型检测器, 近年来在药物分析领域应用广泛, 在中药检测方面也逐渐突显出其优势。目前在中药成分测定中, CAD主要用于糖类及皂苷的分析, 在多数研究结果中均显示出较高的灵敏度。与ELSD比较, 其线性范围更宽, 色谱峰响应更一致。CAD检测器在无紫外吸收成分、指纹图谱及中药中多成分测定中均显示出较好的应用前景。但如何通过优化具体参数获得更准确、精密的测定结果仍需进一步研究。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 8.
- [2] 张春泥, 王英姿, 孙欣光, 等. HPLC-CAD结合化学计量学的川楝子饮片指纹图谱研究[J]. 药学报, 2017, 52(3): 456-461.
- [3] 张素红, 王京辉, 郭洪祝, 等. HPLC-CAD法测定白茅根中果糖、葡萄糖和蔗糖的含量[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(6): 942-947.
- [4] 谭必琴, 赵勇, 刘雁鸣. HPLC-CAD法同时测定蜂蜜中的果糖、葡萄糖、蔗糖和麦芽糖含量[J]. 中国药师, 2017, 20(7): 1316-1318.
- [5] 郑晓倩, 金传山, 张亚中, 等. 黄精九蒸九晒炮制过程中糖类成分动态变化[J]. 中成药, 2020, 42(7): 1837-1841.
- [6] 张雪, 李铮, 张英涛, 等. HPLC-CAD法同时测定白及中单糖、双糖的含量[J]. 国际药学研究杂志, 2018, 45(2): 154-157.
- [7] 郑晓倩, 金传山, 张亚中, 等. HPLC-CAD法测定3种药用石斛中3种糖类成分的含量[J]. 中国药房, 2020, 31(10): 1185-1189.
- [8] 梁琰, 赵志国, 张敏敏, 等. 超声辅助酸解-超高效液相色谱-电雾式检测器测定灵芝多糖的单糖组成[J]. 食品工业

- 科技, 2020, 41(23): 224 - 230.
- [9] 景海漪, 史 辑, 崔 妮, 等. 巴戟天炮制前后寡糖类成分 HPLC - CAD 指纹图谱研究[J]. 中草药, 2014, 45(10): 1412 - 1417.
- [10] 陈翠花, 朱珂璇, 欧阳柳凤, 等. UPLC - CAD 柱后补偿结合内参法测定三七中的总皂苷[J]. 中成药, 2016, 38(9): 1978 - 1983.
- [11] 南 易, 郑 伟, 马凤霞, 等. HPLC - CAD 同时测定知母中芒果苷和知母皂苷 B II 的含量[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(1): 111 - 116.
- [12] 杨炳友, 许振鹏, 刘 艳, 等. 甾体生物碱定量分析方法的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(16): 221 - 234.
- [13] 杨娟艳, 王 芳, 郭 婷, 等. 黔产小叶黄杨中环维黄杨星 D 的鉴别及不同部位含量测定[J]. 生物技术进展, 2016, 6(5): 341 - 345.
- [14] LONG Z, GUO Z, ACWORTH IN, et al. A Non - derivative method for the quantitative analysis of isosteroidal alkaloids from fritillaria by high performance liquid chromatography combined with charged aerosol detection[J]. Talanta, 2016, 151(5): 239 - 244.
- [15] 赵 鑫, 杨 光, 郑国帅, 等. 高效液相色谱 - 质谱 - 电雾式检测法同时测定辛夷提取物中 4 种木脂素成分[J]. 分析化学, 2014, 42(12): 1804 - 1810.
- [16] 刘丽娜, 金红宇, 潘媛媛, 等. 高效液相色谱 - 电雾式检测器法测定银杏叶提取物中萜类内酯含量[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(7): 1269 - 1274.
- [17] 廖 强, 王丽丽, 韦日伟. 快速溶剂萃取 - 电雾式检测器结合柱后补偿液相色谱在 4 种中成药黄芪甲苷测定中的应用[J]. 中国药理学杂志, 2018, 53(6): 456 - 459.
- [18] 王 莹, 刘芫汐, 岳洪水, 等. 电喷雾式检测器与蒸发光散射检测器用于注射用益气复脉中糖成分测定比较及方法准确性探讨[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(22): 209 - 215.
- [19] QIAN XY, NIE LX, DAI D, et al. Determination of Free Amino Acids in Banlangen Granule and its Fractions by Solid Phase Extraction Combined with Ion - pair High Performance Liquid Chromatography using a Corona - charged Aerosol Detector (SPE - HPLC - CAD) [J]. Current Pharmaceutical Analysis, 2020, 16: 1.
- [20] 罗昌明, 吴雪松, 雷明珠, 等. 风湿定片中 8 种指标成分的 HPLC - CAD 含量测定研究[J]. 中南药学, 2019, 17(6): 863 - 867.
- [21] 段萍萍, 辛建娟. HPLC - CAD 法同时测定千柏鼻炎片中盐酸麻黄碱、绿原酸、对羟基桂皮酸、金丝桃苷及大黄素 5 个活性成分的含量[J]. 中国药师, 2020, 23(7): 1432 - 1435.
- [22] 方灵芝, 吴雪松, 张 玥. 高效液相色谱 - 电雾式检测器法同时测定小儿解感片中 7 种黄酮类成分的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(23): 2402 - 2406.
- [23] 邓 磊, 和明伟, 侯连兵. HPLC - CAD 法同时测定元胡止痛胶囊中 6 种生物碱及香豆素类成分的含量[J]. 中南药学, 2019, 17(1): 88 - 92.
- [24] 王亚琼, 张华锋, 周 坚. HPLC - CAD 法测定中成药中甜味剂及其蜂蜜类辅料的质量评价[J]. 中成药, 2020, 42(11): 265 - 268.
- [25] 李丽红, 刘兴国. 采用电雾式检测器测定掺假蜂蜜中的果葡糖浆[J]. 环境化学, 2018, 37(12): 244 - 246.
- [26] ALMELING S, ILKO D, HOLZGRABE U. Charged aerosol detection in pharmaceutical analysis [J]. Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, 2012, 69: 50 - 63.
- [27] 吴晓惠, 黄彬磊, 吴成新, 等. 液相色谱仪 - 电雾式检测器的校准[J]. 化学分析计量, 2019, 28(2): 124 - 127.
- [28] GÓRCEKI, LYNEN F, SZUCS R, et al. Universal response in liquid chromatography using charged aerosol detection [J]. Analytical Chemistry, 2006, 78(9): 3186 - 3192.
- [29] OUYANG LY, WANG ZL, DAI JG, et al. Determination of total ginsenosides in ginseng extracts using charged aerosol detection with post - column compensation of the gradient [J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2014, 12(11): 857 - 868.
- [30] 沈建伟, 李天才, 周党卫, 等. 柱后补偿电雾式液相色谱仪测定黄芪甲苷含量[J]. 生物化工, 2019, 5(5): 89 - 91.
- [31] 廖 强, 陈 勇. ASE - CAD 结合柱后补偿液相色谱法测定浙贝母中贝母素甲和贝母素乙[J]. 中国民族民间医药, 2019, 28(3): 47 - 49.
- [32] EOM HY, PARK SY, KIM MK, et al. Comparison Between Evaporative Light Scattering Detection and Charged Aerosol Detection for the Analysis of Saikosaponins [J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(26): 4347 - 4354.
- [33] SCHILLING K, JOVANA K, MALJUVIĆ N, et al. Quantitative structure - property relationship modeling of polar analytes lacking UV chromophores to charged aerosol detector response [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2019, 411(13): 2945 - 2959.
- [34] SOLIVEN A, HAIDAR AHMAD IA, TAM J, et al. A simplified guide for charged aerosol detection of non - chromophoric compounds - Analytical method development and validation for the HPLC assay of aerosol particle size distribution for amikacin [J]. Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, 2017, 143: 68 - 76.
- [35] AHMAD IAH, BLASKO A, TAM J, et al. Revealing the inner workings of the power function algorithm in Charged Aerosol Detection: A simple and effective approach to optimizing power function value for quantitative analysis [J]. Journal of Chromatography A, 2019, 1603: 1 - 7.
- [36] PAWELLEK R, MUELLNER T, GAMACHE P, et al. Power function setting in charged aerosol detection for the linearization of detector response - optimization strategies and their application [J]. Journal of Chromatography A, 2020, 1637(6): 461844.

(收稿日期: 2021 - 07 - 11; 修回日期: 2021 - 09 - 23)