

蒸发光散射检测器 (ELSD)应用概况

张悦晗,甄汉深,成 莉

(广西中医学院,广西南宁 530001)

摘 要:目的:介绍蒸发光散射检测器 (ELSD)的仪器构造、特点、工作原理、应用等。总结其在中药成分分析中的优势和应用情况。方法:对有关高效液相色谱蒸发光散射检测器法测定中药成分的文章进行综述。结果:蒸发光散射器在测定没有紫外吸收或仅在紫外末端有吸收的成分上有较大的优势和较广泛的应用。结论:蒸发光散射检测器在中药成分分析中有广泛的应用前景。

关键词: 蒸发光散射检测器;高效液相色谱法;工作原理;应用

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1673-7717(2007)04-0831-03

The Application of Introduced Evaporative Light - Scattering Detector(ELSD)

ZHANG Yue-han, ZHEN Han-shen, CHENG Li

(Guangxi Traditional Chinese Medical University, nanning 530001, Guangxi, China)

Abstract Objective: Introduced evaporative light - scattering detector (ELSD) instrument structure, characteristic, principle of work, application and so on. Analyze in Chinese native medicine ingredient analysis superiority and application situation. **Methods:** ELSD determination Chinese native medicine ingredient article to the related highly effective liquid chromatography to carry on the summary. **Results:** ELSD or only has the absorption in the determination not ultraviolet absorption in the ultraviolet terminal on the ingredient to have the big superiority and the widespread application. **Conclusion:** ELSD have the widespread application prospect in the Chinese native medicine ingredient analysis.

Keywords: ELSD; HPLC; principle of work; application

目前,高效液相色谱仪日益普及,所分析的样品范围也越来越广。检测器作为高效液相色谱仪的重要组成部分,其发展在某种意义上决定着 HPLC 技术的进步。高效液相色谱检测器中除了最常用的紫外检测器之外,还有二极管阵列检测器 (diode - array detector),荧光检测器,示差折光检测器,蒸发光散射检测器 (evaporative light - scattering detector),化学荧光检测器,质谱检测器,电化学检测器 (electrochemical detector),拉曼光谱检测器,核磁共振检测器等。检测器的研究其共同方向均朝着灵敏度高,重现性好,响应快,线性范围宽,适用范围广,对流动相流量和温度波动不敏感,死体积小等方面发展。近年 ELSD 在国内外广泛的应用于类酯、表面活性剂、糖、氨基酸、季铵盐、高聚物以及甾体化合物等的检测。现就 HPLC - ELSD 的应用进展作一概述。

1 仪器的首次出现

1966年, Ford 等第一次介绍了 ELSD, 当时它的名字叫蒸发分析器 (evaporative analyzer), ELSD 在发展过程中还用不同名字, 散射测浊器 (nephelometer), 质量检测器 (mass detector), 光散射检测器 (light scattering detector)。首台蒸发光散射检测器 (evaporative light - scattering detector; ELSD) 是由澳大利亚的 Union Carbide 实验室研制开

发的, 并在 20 世纪 80 年代初转化为商品^[1]。

2 仪 器

2.1 组成及工作原理 总体上讲,蒸发光散射检测器 (ELSD) 由 3 部分组成。即雾化器,加热漂移管和光散射池。雾化器与分析柱出口直接相连,柱洗脱液进入雾化器针管,在针管的末端,洗脱液和充入的气体 (通常为氮气) 混合形成均匀的微小液滴,可通过调节气体和流动相的流速来调节雾化器产生的液滴的大小。漂移管的作用在于使气溶胶中的易挥发组分挥发,流动相中的不挥发成分经过漂移管进入光散射池。在光散射池中,样品颗粒散射光源发出的光被检测器检测产生电信号。

2.2 检测步骤 蒸发光散射检测器 (ELSD) 是强有力的检测工具,能检测挥发性比流动相低的任何样品。ELSD 的检测依次分为 3 个步骤: ①雾化:从色谱柱中洗脱出来的组分和惰性气体混合,产生出包含流动相和样品的气溶胶。②蒸发:作为气溶胶的流动相在通过加热的漂移管时被蒸发掉。③检测:留下来的不挥发性样品颗粒和流动相蒸气通过一个光散射池,暴露在光照之下,用光传感器测定样品的散射光产生电信号,信号与样品质量成比例关系。

2.3 光源 光源部分, Alltech 2000 型 ELSD 为激光二极管,其强度在 30000h 工作寿命中是稳定的,也有的光源使用钨灯。在使用寿命期间光源强度的降低能引起检测灵敏度的逐渐下降。激光二极管和卤素灯比较来说,激光的长寿命使得避免经常更换灯源,也能有较好的重现性。

2.4 影响检测的因素 影响 ELSD 响应的因素可分为 4

收稿日期: 2006 - 11 - 13

作者简介:张悦晗 (1980 -),女,江西南昌人,2004 级硕士研究生,主要从事药物质量与成分分析的研究。

中华中医药

学刊

个方面:①载气压,雾化器的设计,流动相的组成和流速都将影响雾化过程。②被分析物的浓度和体积质量等决定了进入光散射池的气溶胶中的颗粒的直径。③被分析物的折射指数,光源发出的光的强度和波长,光电倍增管的位置等将影响散射光强度。④光电倍增管的灵敏度和入射光的强度决定了检测的效率,反映为实验者所观测的峰面积。

2.5 与紫外检测器(UV)示差折光检测器(RI)的比较 紫外检测器因其高灵敏度和稳定性,在HPLC中应用最广泛。但它所能检测的物质必须具有吸收紫外光的生色团,而相应的流动相在检测波长下则应当是无紫外吸收的。这一特性一定程度上限制了其能检测的物质范围和一些良好溶剂的使用。示差折光检测器是一种通用的检测器,它是基于色谱柱流出物光折射率的变化来连续测定样品浓度。但它对工作环境要求很苛刻,要求恒温,恒流速,且无法采用梯度洗脱,检测灵敏度也不够高。

ELSD的出现,一定程度上弥补了HPLC传统检测器的不足,特别是无紫外或紫外末端吸收的大分子有机化合物的检测,显示出极大的优越性。其响应值不依赖于样品的光学性质,不论它具有何种官能团。对所有样品的检测几乎具有相同的响应因子,对未知物和纯度的测定要比UV检测更容易更准确。因为ELSD的检测是流动相被蒸发之后进行的,在梯度洗脱过程中基线较稳定,没有在RI和低波长UV检测中来自溶剂峰的干扰。

3 ELSD的应用

中药的化学成分复杂,有一部分成分不存在紫外吸收或仅在紫外末端有吸收。加上色谱分离的困难以及流动相带来的干扰,使用传统的紫外检测器对其进行定性定量分析十分困难。ELSD在一定程度上弥补了这方面的不足,被广泛的应用于皂苷类成分、糖类成分、萜类成分、部分生物碱类成分以及其他一些成分的分析,取得了满意的结果。

3.1 皂苷类成分的分析 皂苷类成分大多没有紫外吸收,或仅在紫外末端有吸收,容易受到试剂的干扰,使用紫外检测法存在一定的不足。就目前情况看,ELSD应用于皂苷类成分的分析的例子比较多^[2]。①黄芪甲苷:由于制剂中化学成分复杂,薄层色谱分离困难,而黄芪甲苷仅在200nm左右有弱的末端吸收;紫外检测器检测杂质干扰大,样品分离度差^[3]。王桂等有^[4]采用Hypersil C18色谱柱,流动相:乙腈-水(38:62),流速:0.85mL/min,黄芪甲苷在1.704~3.408μg范围内呈线性,平均回收率为100.71%,RSD为1.79%。李涛等^[5]以HPLC-ELSD法测定桃芪生血胶囊中黄芪甲苷的含量。采用C18柱,流动相为甲醇-水(80:20)。黄芪甲苷含量测定的线性范围为1.272~5.088μg($r=0.9996$, $n=6$),平均加样回收率为95.87%,RSD为1.3%。兰燕宇等^[6]建立高效液相色谱法测定强身颗粒中黄芪甲苷含量的方法。采用C₁₈柱,以乙腈-水(36:64)为流动相,流速0.5mL/min,柱温30℃,蒸发光散射检测器检测。黄芪甲苷进样浓度在0.05012~0.5012g/L范围内峰面积的自然对数和进样浓度的自然对数的线性关系良好, $r=0.9999$ ($n=5$)。结果证明本方法操作简便、准确、重现性好,适用于黄芪甲苷的质量控制。②王树春等^[7]采用ODS C₁₈柱,ELSD载气流速1.6L/min,流动相为

甲醇-水(75:25)建立了天冬中无共轭体系的天冬皂苷甲的含量测定方法。

3.2 糖类成分的分析 糖类成分多不存在紫外吸收,定量分析主要采用分光光度法,其缺点是只能测定总糖含量,灵敏度和准确度较差。近来有采用HPLC-ELSD方法对糖类成分进行分析的报道。梁乾德等^[8]对四物汤煎液进行稀释,醇沉等处理后,建立液相色谱-蒸发光散射(HPLC-ELSD)测定其中D-果糖、D-葡萄糖和蔗糖含量的方法,取得了良好的结果。

3.3 生物碱类成分的分析 薛燕等^[9]利用HPLC-ELSD很好地测定浙贝母药材中的主要生物碱贝母素甲、贝母素乙,用于浙贝母药材的质量控制。使用XTerra RP₁₈色谱柱(150mm×3.19mm ID, 5μm),以ELSD检测,贝母素甲在1.09~4.36μg,贝母素乙在1.04~4.16μg与峰面积的对数值呈线性关系。朱丹妮等^[10]采用HPLC-ELSD方法对贝母类药材中的贝母素甲、贝母素乙和西贝素的含量进行了测定。使用Alltech Silica柱,分别以环己烷-醋酸乙酯-二乙胺(6:4:1)和环己烷-醋酸乙酯-二乙胺(6:4:0.12)为流动相,得到了良好的重现性和准确度。

3.4 萜类成分的分析 ①银杏萜类内酯具有扩张冠状动脉血管,增大脑血流量等作用,是银杏的重要活性成分,而倍受国内外学者的重视。银杏叶所含的内酯有效成分二萜内酯和倍半萜内酯,需用紫外低波长检测;且含有少量酚性物质,紫外吸收强,会对测定产生很大影响,即使经过复杂的前处理,效果亦不理想。R法是目前银杏萜类内酯常用的测定方法,但灵敏度低及基线稳定性差,ELSD有逐步将其取代的趋势。②青蒿素属于倍半萜内酯。Avery B. A等^[11]采用HPLC-ELSD法分析了青蒿素及其衍生物,在线性关系良好,快速,费用低廉,适用于分析青蒿素及其一大类衍生物。

3.5 氨基酸的分析 板蓝根作为常用中药,具有清热解毒、凉血利咽的功效。在对板蓝根的成分分析研究中,鲜见对其水溶性成分的测定。在祖国传统医学中,板蓝根一般水煎提取,其水溶性成分中含有多种氨基酸类成分,赵宇新等^[12]对其含量相对较高的精氨酸进行含量测定。从以往文献报道来看,此类成分的含量测定多采用氨基酸分析仪或采用衍生化法^[13],用氨基酸分析仪测定,样品处理较复杂;柱前,柱后衍生又易产生误差。

4 结 语

存在的问题:ELSD并非适合所有的化合物。ELSD作为一种通用型质量检测器,同时也是一种破坏性检测器,样品无法回收。对于比较珍贵的样品无法回收再利用。另外,ELSD虽然是通用型质量检测器,但是对于一些挥发性比较强的成分,可能在较高的温度下会随着流动相挥发成气体状态,不适用于ELSD检测。

HPLC-ELSD方法将在各类中药材质量标准制定、中药指纹图谱规范研究以及中药新药质量标准和稳定性等领域蕴藏极大的潜力。

参考文献

- [1] 黄永焯,王宁生. HPLC/ELSD在天然药物分析中的应用[J]. 中药新药与临床药理, 2001, 12(6): 444-448

紫河车超细粉体的表征技术研究

刘 永,付廷明,郭立玮,陈 峰

(南京中医药大学植物药深加工工程中心,江苏 南京 210029)

摘 要:目的:对紫河车细粉和超微细粉体进行表征研究。方法:先用中草药粉碎机将紫河车粉碎成细粉,然后用倍力微粉机对细粉进行超微粉碎;用扫描电镜和粒径测定仪表征。结果:细粉与超细粉的 d_{10} 分别为 $16.05\mu\text{m}$ 、 $9.37\mu\text{m}$, d_{50} 分别为 $96.69\mu\text{m}$ 、 $50.57\mu\text{m}$, d_{90} 分别为 $212.8\mu\text{m}$ 、 $148.21\mu\text{m}$,分布宽度分别为 2.035、2.745。结论:经过超微粉碎后,粉体外观性状得到改善。

关键词:紫河车;超细粉体;粒径分布;电镜

中图分类号:R285

文献标识码:A

文章编号:1673-7717(2007)04-0833-02

Study on the Characterization of the Superfine Powder of Placenta Hominis

LIU Yong, FU Tingming, GUO Liwei, et al

(Botanical Refinement Engineering Research Center of Nanjing University of TCM, Nanjing 210029, Jiangsu, China)

Abstract Objective: to study the characterization of the fine powder and the superfine powder of Placenta Hominis. **Methods:** Placenta Hominis was crushed to make fine powder with vegetation disintegrator firstly, then the fine powder was crushed to make superfine powder with Beilimicro pulverize, study the characterization of the powder by Mastersizer Microplus instrument of granularity and scanning electron microscope (SEM). **Results:** The d_{10} of the fine powder and the superfine powder were $16.05\mu\text{m}$ and $9.37\mu\text{m}$, the d_{50} were $96.69\mu\text{m}$ and $50.57\mu\text{m}$, the d_{90} were $212.8\mu\text{m}$ and $148.21\mu\text{m}$, the SPAN were 2.035 and 2.745. **Conclusion:** The appearance of the superfine powder of Placenta Hominis was better than the fine powder.

Keywords: Placenta Hominis; superfine powder; granularity distribution; scanning electron microscope

紫河车 (Placenta Hominis) 俗称“胞衣”,以健康产妇的新鲜胎盘为原料制成。性味甘咸,温,具有温肾补精、益气养血之功效。紫河车中含有人胎盘免疫调节肽 (HP-IF,又名胎盘肽 PIP、人胎盘因子、人胎盘转移因子)、人胎盘谷胱甘肽 S-转移酶 (CST- π 抗体) 以及其他抗体、 β 干扰素

(IFN- β), 含氮脂多糖、红细胞生成素等。还有多种激素、多种酶 (如溶菌酶、组胺酶), 另含有 15 种化学元素和微量元素^[1]。制剂中常以细粉入药^[2]。

超微粉碎技术在中药中的应用可以增加药物的比表面积,有利于保留有效成分,增加药物吸收,提高生物利用度

- [2] 马艳蓉,柴国林,张莅峡. HPLC-ELSD 在中药分析中的应用[J]. 中国中医药信息杂志, 2004, 11(4): 368-371
- [3] 张莲珠. HPLC 测定黄芪甲苷概况[J]. 中成药, 2005, 27(5): 587-589
- [4] 王桂有,陈海军,赵自育,等. HPLC-ELSD 测定丹芪注射液黄芪甲苷的含量[J]. 中成药, 2005, 27(6): 666-668
- [5] 李涛,徐长根,郝武常. HPLC-ELSD 测定桃芪生血胶囊中黄芪甲苷的含量[J]. 中成药, 2005, 27(5): 541-543
- [6] 兰燕宇,王爱民,何迅,等. 高效液相色谱法测定强身颗粒中黄芪甲苷的含量[J]. 贵阳医学院学报, 2005, 30(2): 143-145
- [7] 王树春,王琰,王慕邹,等. 高效液相色谱-蒸发光散射检测器法测定天冬中天冬皂苷甲含量[J]. 中国药理学杂志, 2004,

- 39(7): 540-541
- [8] 梁乾德,马百平,王升启. 液相色谱-蒸发光散射测定四物汤煎液中单糖和双糖的含量[J]. 中草药, 2004, 35(4): 395-397
- [9] 薛燕,顾好粮. HPLC-ELSD 法测定浙贝母中主要生物碱的含量[J]. 药学学报, 2005, 40(6): 550-552
- [10] 朱丹妮,谭丰萍,高山林. HPLC-ELSD 分析测定贝母类药材中生物碱成分[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(2): 87-91
- [11] Avery B. A., Venkatesh K. K., Avery M. A.. Rapid determination of artemisinin and related analogues using high performance liquid chromatography and an evaporative light scattering detector[J]. J Chromatogr B, 1999, 730(1): 71-80
- [12] 赵宇新,李曼玲. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定中药板蓝根中精氨酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(1): 8-9
- [13] 王陆黎,张甲生,肖国拾,等. 红景天根中氨基酸含量测定[J]. 白求恩医科大学学报, 1999, 25(1): 26-28

收稿日期: 2006-11-01

作者简介: 刘永 (1980-), 男, 陕西铜川人, 2004 级硕士研究生, 主要从事中药制备高新技术的研究。