



中药及天然产物 化药 生化药物
药用辅料 食品与化工 其他



CAD电雾式检测器

应用文集

ThermoFisher
SCIENTIFIC

前言

液相色谱仪常用检测器主要分为选择性检测器和通用型检测器，其中选择性检测器包括紫外/可见光吸收检测器 (UVD)、二极管阵列检测器 (DAD)、荧光检测器 (FLD) 等，通用型检测器主要指示差折光检测器 (RI)、蒸发光散射检测器 (ELSD)、质谱检测器 (MS) 等。紫外吸收检测器是目前液相色谱仪中应用最广泛的检测器，它灵敏度高，线性范围宽，但要求被检测样品组分有紫外吸收或衍生后有紫外吸收，属于选择性检测器；二极管阵列检测器是紫外检测器的一个分支，是一种光学多通道检测器，它可以对每个洗脱组分进行光谱扫描，经计算机处理后，得到光谱和色谱结合的三维图谱；荧光检测器同样属于选择性检测器，其灵敏度在目前常用液相色谱仪检测器中是最高的，但要求目标化合物受激发光作用后，能产生发射光，主要适用于能激发荧光的化合物或衍生后能激发荧光的化合物。通用型检测器中，示差折光检测器是一种早期的测定无生色基团化合物的检测器，只要被测组分与洗脱液的折光指数有差别就可使用，其灵敏度较低，对温度变化敏感，并与梯度洗脱不相容；蒸发光散射检测器，是 20 世纪 80 年代才研发生产出来的，主要用于检测挥发性低于流动相的样品，而不需要样品含有发色基团，它的响应值与样品的质量成正比，灵敏度比示差折光检测器高，对温度变化不敏感，基线稳定，可用于梯度洗脱，但由于灵敏度和重现性差，使得其应用受到影响；质谱检测器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都有突出的优点，但它的昂贵操作费用和复杂性限制了它的推广应用。

近年来，一款新型的检测器 - 电雾式检测器 (CAD) 在液相色谱分析中得到了较好的应用，它属于通用型检测器，是一种新型原理的、高灵敏度、重现性较好的检测器，它基于雾化检测器的原理，洗脱液经雾化后形成颗粒，经过漂移管干燥后与带电氮气碰撞，使得目标化合物带上正电荷，最后，通过静电计测量电荷的量，该测量值与目标化合物的质量成一定比例关系。电雾式检测器基于独特的新型设计原理，解决了其他检测器设计与原理上的一些局限性，它的检测技术完全不依赖于化合物的分子结构，达到了通用性目的，能对大多数化合物提供一致响应性，同时能达到较高的灵敏度和低检测极限，很容易检测到纳克数量级的化合物，并且与液相色谱分离系统联用，其重现性、稳定性很好，因此能准确的用于定量分析或半定量分析，能检测到大部分非挥发性和半挥发性的有机物。该电雾式检测器自 2004 年 10 月一经推出，就相继获得了仪器行业的最高荣誉，获 2005 年 PITTCON “撰稿人” 银奖和素有“发明领域的诺贝尔奖” 2005 年 “R&D100” 奖。后期又推出了更高型号 -Corona ultra RS 和 Corona Veo，能更好的兼容 HPLC 的应用以及完全兼容超高效液相色谱 (UHPLC) 的应用范围。

根据最近几年来国内外公开发表的文献，以及本公司开发的应用方法，编写了此文集，期望对相关的科研工作者以及色谱分析工作者有一定的参考与借鉴意义。

赛默飞应用中心 / 市场部

2013 年 4 月 20 号

目 录

第一章 电雾式检测器 (CAD) 设计原理、特点与应用进展	4
第一节 CAD 设计原理与特点.....	5
第二节 电雾式检测器 (CAD) 应用进展综述.....	7
1.2.1 天然产物与中草药的分析.....	7
1.2.2 制药行业中活性药物成分与对离子分析.....	7
1.2.3 糖类与氨基糖苷类化合物测定分析.....	8
1.2.4 表面活性剂、聚合物等化工行业应用分析.....	8
1.2.5 其它类型的应用分析.....	8
第二章 电雾式检测器 (CAD) 与 CP、BP、USP 相关的分析方法	11
2.1 银杏制剂中银杏内酯的测定.....	12
2.2 快速液相色谱结合 CAD 检测器测定兽药中的马度米星铵.....	13
2.3 胆汁 (猪、羊、牛) 中胆汁酸的 CAD 表征与胆汁酸差异性比较分析.....	13
2.4 药用辅料中脂肪酸分析.....	14
第三章 电雾式检测器 (CAD) 应用实例介绍	16
第一节 CAD 在中药及天然产物分析中的应用.....	17
3.1.1 三七药材液相色谱指纹图谱的建立.....	17
3.1.2 电喷雾检测器测定人参皂苷的性能评价.....	18
3.1.3 紫杉醇杂质的相对响应因子测定.....	20
3.1.4 青蒿素及其衍生物的检测.....	21
第二节 CAD 在化药分析中的应用.....	23
3.2.1 混合模式分离 -CAD 联用法分析依替磷酸二钠的检测方法.....	23
3.2.2 盐酸乙胺丁醇片中盐酸乙胺丁醇含量的测定.....	23
3.2.3 使用五氟苯基柱分析药膏中硫酸庆大霉素及其相关物质.....	25
3.2.4 高效液相色谱法测定对映体比率.....	26
3.2.5 电喷雾检测器测定抗惊厥类药物.....	27
3.2.6 对乙酰氨基酚纯度测定.....	28
3.2.7 活性药物成分 (APIs) 中阴阳对离子的同时测定.....	28
第三节 CAD 在生化药物中的分析应用.....	30
3.3.1 酿酒酵母发酵液中甘油含量的测定.....	30
3.3.2 脂质体中磷脂含量的测定.....	30
3.3.3 22 种氨基酸的同时直接检测.....	31
第四节 CAD 在药用辅料中的分析应用.....	34

3.4.1 混合模式色谱与电雾式检测器测定蛋白药物中的聚山梨醇酯 20.....	34
3.4.2 非离子型表面活性剂：聚山梨醇酯 20，聚山梨醇酯 80 和 Triton X100 的检测.....	35
第五节 CAD 在食品与化工行业中的应用.....	37
3.5.1 采用 HPLC-CAD 法直接检测低聚糖.....	37
3.5.2 排阻色谱法分析聚乙二醇.....	38
3.5.3 阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、两性离子和非离子表面活性剂的测定.....	39
3.5.4 采用柱后补偿液相色谱与电雾式检测器分析茶氨酸.....	42
3.5.5 人造甜味剂 Sweet' N Low [®] 的检测.....	43
第六节 CAD 其他特色应用资料.....	44
3.6.1 对洋地黄毒甙强降解过程中物料平衡评价.....	44
3.6.2 生物柴油中甘油及甘油酯的测定.....	45
附录一 部分应用文献目录.....	48
附录二 部分公开发表的文献目录.....	50

第一章 电雾式检测器（CAD）设计原理、特点与应用进展

第一节 CAD 设计原理与特点

CAD 检测器是一款新型原理的，高灵敏度，重现性较好的通用型检测器，能准确的用于定量分析或半定量分析，能检测到大部分非挥发性和半挥发性的有机物。电雾式检测器的三款型号，见图 1 所示。CAD 检测器的工作过程：HPLC 洗脱液经与雾化器中氮气碰撞作用而雾化，其中较大的液滴经废液管流出，较小



图 1 电雾式检测器

的溶质（分析物）液滴在室温下干燥，形成溶质颗粒。同时，用于载气的氮气分流形成的第二股氮气流经过电晕式装置（含高压铂金丝电极）形成带正电荷的氮气颗粒，与溶质颗粒反向相遇时经碰撞使溶质颗粒带上正电。为了消除由带有过多正电荷的氮气所引起的背景电流，在含溶质颗粒的气流流入静电检测计之前，通过一种称之为离子阱的装置（带有低负电压）使迁移率较大的颗粒（即粒度较小的氮气颗粒）的电荷中和，而迁移率小的带电颗粒把它们的电荷转移给一个颗粒收集器，最后用一个高灵敏度的静电检测计测出带电溶质的信号电流。由此产生的信号电流与溶质（分析物质）的含量成正比。

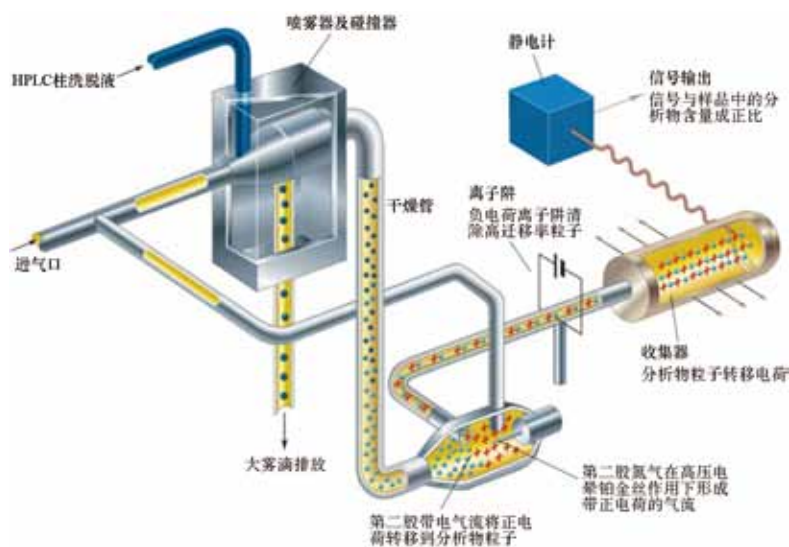


图 2 电雾式检测器的构造及工作示意图

电雾式检测器的分析步骤如下：

第一步：雾化与干燥

HPLC 洗脱液进入电雾式检测器雾化室，在氮气的辅助气下，进行雾化去溶剂，使洗脱液中的目标化合物变成颗粒，颗粒的量的多少与洗脱液中的目标化合物的浓度有关。没有雾化完的大液滴直接进入废液管，雾化完的超细小颗粒进入干燥管，把溶剂蒸发掉。由于在该过程中，颗粒物的粒径很小，因此，蒸发很快。

干燥后的目标化合物颗粒随后随气流直接进入混合腔。因此，和大多数基于雾化原理的检测一样，雾化效率显著受到流动相中的有机相的影响，当有机相比例逐渐增加时，雾化效率增加，响应值也增加，在有机相比例达到 80% 时，雾化效率趋于稳定。

第二步：使目标颗粒物带电

另有一路氮气经过高压电晕放电针，变成带正电的氮气，在碰撞室与干燥的目标化合物进行正交碰撞后，带电的氮气裹在了颗粒物表面，把电荷转移给目标化合物颗粒，使目标化合物颗粒带上电，因此，颗粒物越大，球面积越大，带电量也越多。经过碰撞后，离开碰撞室，迁移速度较快的多余的带电氮气被一个低压离子阱捕集移除，迁移率较慢的多电荷目标化合物颗粒通过离子捕集阱，并撞向一个颗粒物过滤网。

第三步：检测带电目标化合物颗粒物

颗粒物会撞击到收集器，然后把电荷转移到过滤网上，由此产生的电流会被高灵敏度的静电计测量到。然后，该电信号会被放大输出到检测器上，最终产生的信号强度与目标化合物的量直接成比例。由于在流动相背景中，可以把多余带电的氮气捕集掉，因此，检测器能检测到很少的电荷数，使得电雾式检测器的检出限较低，灵敏度较高。同时，由于电雾式检测器的响应不依赖于化合物的结构，其对大部分的化合物的响应因子也基本一致。而相比蒸发光散射检测器，由于其散射受到化合物的空间结构的影响，即使是同分异构体，同样的浓度其响应值也会出现较大的差异。

电雾式检测器的主要特点：

- 1) 基于该检测器的设计原理与结构，该检测器总体上灵敏度高，如在分析葡萄糖、蔗糖和乳糖时，能检测到 0.5ng 的柱上样量；
- 2) 响应因子一致，不依赖于化合物结构，重现性非常好，如对 24 种化合物在相同色谱条件下分别直接进样 1 μ g（不接色谱柱），其响应的峰面积的 RSD 值仅为 10.7%；
- 3) 动态检测范围宽，达 3-4 个数量级；
- 4) 应用较广泛，能分析小分子、大分子化合物，如氨基酸、蛋白、聚合物等；
- 5) 使用操作直观简单，维护十分简便，工作流速 0.2-2.0ml/min，完全兼容 UHPLC 超快速分析。

电雾式检测器使用注意事项：电雾式检测器由于需要对流动相进行雾化，所以当需要使用酸或盐来调节流动相时要使用挥发性的有机酸和有机盐，如甲酸、乙酸和三氟乙酸等，有机盐要使用铵盐；pH 值范围建议 2-7.5，更高的 pH 值可能会增加背景和噪音值。

第二节 电雾式检测器 (CAD) 应用进展综述

电雾式检测器是一款理想的宽范围多类型应用的检测器,从2004年问世以来,应用领域主要集中在药物、蛋白、磷脂类、类固醇类、低聚糖类、表面活性剂类、碳水化合物、聚合物、对离子和多肽类的分析等。主要应用文献及有代表性的分析成果分别体现在以下五个方面,(1)天然产物与中草药的分析;(2)制药行业中活性药物成分与对离子分析;(3)糖类与氨基糖苷类化合物测定分析;(4)表面活性剂、聚合物等化工行业应用分析;(5)其它类型的应用分析。

1.2.1 天然产物与中草药的分析

在天然产物及中草药分析中,由于该类样品所含目标化合物种类繁多,常同时含有紫外末端吸收的化合物和强紫外吸收类型的化合物,因此,很难采用某一类型的检测器,如紫外检测器,进行所有化合物的检测及定量分析。因此,根据电雾式检测器的通用性及响应一致性,对银杏、人参等进行了初步的指纹图谱分析。白长财等^[1]利用电雾式检测器建立三七药材液相色谱指纹图谱,通过对三七皂苷类成分的检测分析,与ELSD和UV两种常用的检测器比较,CAD检测器具有较为平稳的基线和较高的灵敏度,更加适用于三七及含有较弱或无紫外吸收成分药材的指纹图谱分析。其次,很多天然产物与中草药的主要成分是萜类、皂苷类化合物,该类化合物通常紫外吸收较弱,因此,适合采用CAD来进行定量检测分析。Li wang等^[2]分别用ELSD和CAD方法分析了人参中7种三萜类皂苷化合物,分别为Rg1, Re, Rb1, Rc, Rb2, Rb3和Rd,结果表明:CAD的灵敏度、重现性和线性都优于ELSD,灵敏度高2-6倍,峰面积重现性RSD小于2.5%。Han Young Eom等^[3]采用ELSD和CAD分析了紫外末端吸收化合物-柴胡皂苷,是一种三萜类皂甙,共含有10种化合物,并比较了两个检测器的优缺点。分析结果表明,CAD的灵敏度与重现性都优于ELSD。同时,仔细考察了各种色谱条件及试剂等对CAD灵敏度可能造成影响的因子,如缓冲液的浓度、pH值、流动相流速、氮气的纯度和CAD检测值设定范围等。对CAD而言,最好的灵敏度表现是在0.1mM乙酸铵(pH 4.0),流速为1.0 mL/min,CAD范围为100 pA;而ELSD在0.01%乙酸,0.8 mL/min流速时表现最佳。氮气的纯度对两者影响都较小,而CAD的灵敏度是ELSD的2-6倍。Ping Sun等^[4]采用高效液相色谱仪UVD与CAD串联的方式对紫杉醇及相关杂质进行了测定,并计算了各个化合物的相对响应因子(RRFs),结果表明,CAD的RRF值更一致。在本实验中,采用等度洗脱条件下,由于CAD峰响应与物质的结构无关,因此采用HPLC-UV-CAD对含有已知和未知杂质的样品进行分析,开发了一种经验方法计算所有杂质的RRFs,已知杂质的RRFs也通过线性校正曲线进行计算。对于已知杂质,比较两种计算方法得到的RRFs值,差异性很小。对于没有标准品的未知样品,该新方法对于测定未知杂质或降解物的RRFs也是有效的。

1.2.2 制药行业中活性药物成分与对离子分析

在制药行业中,常需要检测和定量活性药物成分及其各种杂质,且在最终的成品药中,常会加入辅料或对离子,有时也需要对其进行定量分析,以保证药品质量,同时,在药物研发过程中,需要进行药物代谢实验及一些药物筛选分析,都可以使用CAD来进行检测与定量。Pistorino等^[5]比较了MS、ELSD和CAD对6-deoxyerythronolide B进行定量分析,最终从检出限和分析成本来看,CAD更具有优势,同时,对于双磷酸类药物,采用UV分析,达不到要求,因此,采用Dionex的两性分离色谱柱结合CAD检测器,能同时分析钠离子和双磷酸根,能达到很好的分离和定量要求;Christopher Crafts等^[6]采用两性离子色谱柱结合CAD检测器,同时分离测定了常用药物的对离子等。郭慧丽等利用HPLC-CAD法测定脂质体磷脂膜中各种类脂

的含量，可以快速、高效、准确地检测脂质体中的磷脂及其降解产物的含量。高维等^[7]利用 CAD 检测器测定了盐酸乙胺丁醇片中盐酸乙胺丁醇 (EMB) 的含量，此方法测定 EMB 的最低定量限 (LOQ) 为 15 µg/mL (S/N=10)，方法回收率 >99.84%，因此该方法准确、快速、简便，可用于 EMB 的测定及其释放度和稳定性研究，对其类似化合物的测定具有参考价值；Peter Wipf 等^[8]采用 UV、ELSD 和 CAD 比较了测定手性化合物手性比例值 (Er 值)，由于 ELSD 的非线性响应，紫外检测器不能检测没有紫外吸收的化合物，因此推荐使用 CAD 检测器测定手性体的 Er 值，得到较好的结果，也更接近于实际真值。

Christopher Crafts 等^[9]在药物代谢安全测试 (MIST) 中，按照 2008 年 USFDA 的指导准则要求，对人体代谢和药物代谢尽可能的进行半定量的分析，通常在该类分析中采用 LCMS 或 LCMSMS 进行定量和定性分析，但仅采用 LCMS 进行定量的测定往往有困难。因此有时，采用 UV 检测器对 MS 进行一个互补的检测手段，但这依赖于药物目标化合物和其代谢产物的化合物结构中是否有紫外吸收官能团。因此，Christopher Crafts 等在实验中采用 UltiMate 3000 液相色谱 (配 DAD 检测器)，并串联 CAD 检测器 (型号为 Conora Ultra) 和 LTQ Orbitrap 质谱仪 (Thermo Scientific)，测定了丁螺环酮 (有较强的紫外吸收) 和红霉素 (较弱的紫外吸收) 两种药物的代谢产物分析，并进行了比较，其中丁螺环酮的代谢物有 5 种代谢物，线性范围为 4-124ng，采用同样的方法对红霉素及其 4 种主要代谢物进行了分析，紫外 210nm 都没有吸收，而 CAD 在红霉素 100µM 时，各代谢物均有响应，并根据峰面积值计算了 4 种代谢物相对峰面积响应值，进行了半定量分析。

Brian Forsatz 等^[10]在 Schering-Plough 研究院采用 HPLC 接 CAD 检测器对 USFDA 规定的清洁生产验证进行了相关探索性分析，对于制药行业来说，清洁验证是一个主要的分析应用部分，采用 CAD 和采用 UV 比较而言，CAD 具有更多的优点，尤其对于没有生色基团的化合物，同时，对于很多没有紫外吸收的辅料，CAD 也能达到准确定量，能保证生产设备干净无残留。

1.2.3 糖类与氨基糖苷类化合物测定分析

糖类与氨基糖苷类化合物的共同特点是强极性，在 ODS 柱上没有保留，另外，它们均没有紫外吸收。因此，采用氨基柱或 HILIC 柱进行分离，电雾式检测器进行定量，取得了较好的分离度与较低的检出限。Ward 等^[11]对单糖及脱水酸酐的分析研究表明，在生物质燃烧中，常产生左旋葡聚糖，大部分是采用衍生生成三甲基硅烷酯后用 GC 或 GCMS 分析，近来也有采用 ESI MS 分析，或离子色谱 - PAD 分析，而 HPLC-CAD 可以直接分析，不需要衍生和浓缩步骤等；Shinsuke Inagaki 等^[12]采用 HPLC-CAD 直接分析了低聚糖类，采用氨基柱分离，测定了 SGP 糖，检测限达到 0.40pmol(S/N=3)，该方法灵敏度虽然低于 FLD 检测器，但是是 UVD 的 5 倍左右，同时，还能不需要衍生同时测定单唾液酸糖和去唾液酸糖等。Roy W. Dixon 等^[13]采用强阳离子交换柱，用纯水洗脱，分析了左旋葡聚糖和其他脱水单糖，方法的检测限约为 90µg/ml。

1.2.4 表面活性剂、聚合物等化工行业应用分析

表面活性剂与聚合物材料在现代化工业中应用广泛，但由于其成分复杂，缺乏相应的标准品物质，同时，由于大部分处于紫外末端吸收，因此，很多分析工作者采用电雾式检测器进行了检测分析，取得了较理想的结果。Dawen Kou 等^[14]采用 SEC 与 CAD 结合分析了 PEG 类表面活性剂化合物及其二聚体杂质，结果表明，比较 RI、ELSD 和 CAD 的分析结果，CAD 更为准确。聚合物分析中，Takahashi 等^[15]在 SFC 上，比较了 CAD 和 ELSD 用于测定 PEG 的分子量分布，结果表明：CAD 的重现性远好于 ELSD，CAD 的 S/N 也更高，因此，CAD 可以用于合成的多聚体的检测。

1.2.5 其它类型的应用分析

Tanja Vehovec 等^[16]比较了 CAD 与其他三种非紫外检测器 - ELSD 和 RI，结果表明 CAD 的优点在于响应因子更一致，灵敏度更高，动态范围更宽，因此，采用一个通用的标准物质，可以对其他化合物及有关物质进行定量。同时，由于雾化效果受到有机相的影响，可以采用反梯度进行解决，对 HPLC、UHPLC 和

SFC 都适用。同时综合介绍了 CAD 已经被用于制药、化学品、食品、消费品行业以及生命科学研究领域, 它们包括非挥发性的和半挥发性的, 中性的、酸性的、碱性的和两性的化合物, 以及极性的和非极性的化合物 (如磷脂类、蛋白类、类固醇类、聚合物类、糖类以及多肽等); 曹海龙等^[17]建立了高效液相色谱法-电雾式检测器检测酿酒酵母发酵液中甘油含量的方法, 色谱柱采用 Shodex Asahipak NH2P-50 4E, 流动相采用乙腈-水 (体积比为 75: 25), 最低检出限达到 10ng, 回收率 99.06 ~ 99.10%, 相对标准偏差 1.38 ~ 4.87%, 该方法简便、快速、准确, 可用于酿酒酵母发酵液中甘油的测定。还有其他一些应用可以在 CAD 的产品主页上查到 (http://www.esainc.com/products/type/hplc_systems/detectors/coronacad), 如发酵液中的磷霉素纯化与分析, 生物柴油中的甘油三酯类分析, 磷酸二钠盐药物类分析, 化合物主成分与有关物质分析, 磷酸酯类分析, 不饱和脂肪酸; 天然产物 (如皂甙类)、表面活性剂类等。

参考文献:

- [1] 白长财, 柴兴云, 王海龙, 等. 利用电雾式检测器建立三七药材液相色谱指纹图谱, 中国药学杂志, 2009,10: 54-55.
- [2] Li Wang, Wen-Shun He, Hai-Xia Yan, etc. Performance Evaluation of Charged Aerosol and Evaporative Light Scattering Detection for the Determination of Ginsenosides by LC. *Chromatogr.* 2009, 70: 603-608.
- [3] Han Young Eom, So-Young Park, Min Kyung Kim, etc.,. Comparison between evaporative light scattering detection and charged aerosol detection, *Journal of chromatography. A.* 06/2010; 1217(26):4347-54.
- [4] Ping Sun, Xiande Wang. Lori Alquier, etc.,. Determination of relative response factors of impurities in paclitaxel with high performance liquid chromatography equipped with ultraviolet and charged aerosol detectors *Maryanoff Journal of Chromatography A*, 2008, 1177(1):87-91.
- [5] M. Pistorino, B.A. Pfeifer, *Anal. Bioanal. Chem.* 390 (2008), 1189.
- [6] Christopher Crafts, Bruce Bailey, Marc Plante. Use of Charged Aerosol Detection as an Orthogonal Quantification Technique for Drug Metabolites in Safety Testing (MIST), <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/110510-PO-HPLC-Drug-Metabolites-21Nov2011-LPN2953-01.pdf>
- [7] 高维, 方平飞, 李焕, 等. HPLC-CAD 法测定盐酸乙胺丁醇片中盐酸乙胺丁醇的含量, 中南药学, 2009, 5: 338- 340.
- [8] PETER W, STEFAN W, LESLIE A. HPLC Determinations of Enantiomeric Ratios, *CHIRALITY* 19:5-9 (2007).
- [9] Christopher Crafts, Bruce Bailey, Marc Plante, etc.,. Evaluation of Methods for the Simultaneous Analysis of Cations and Anions Using HPLC with Charged Aerosol Detection and a Zwitterionic Stationary Phase, *Journal of Chromatographic Science*, Volume 47, Number 7 August 2009, 534-539.
- [10] Brian Forsatz, Nicholas H. HPLC with Charged Aerosol Detection for Pharmaceutical Cleaning Validation, *LCGC North America*, September 2007.
- [11] T.J. Ward, R.F. Hamilton Jr., R.W. Dixon, M. Paulsen, C.D. Simpson, *Atmos. Environ.*40 (2006) 7005.
- [12] Shinsuke Inagaki, Jun Zhe Min, Toshimasa Toyooka. Direct detection method of oligosaccharides by high-performance liquid chromatography with charged aerosol detection, *Biomed. Chromatogr.* 21: 338-342 (2007).
- [13] Roy W. Dixon W, Gregor B.,. Determination of levoglucosan in atmospheric aerosols using high performance liquid chromatography with aerosol charge detection, *Journal of Chromatography A*, 1109 (2006) 214-221.
- [14] Dawen Kou, Gerald Maniusa, Shangdong Zhana. Size exclusion chromatography with Corona charged aerosol detector for the analysis of polyethylene glycol polymer. *Journal of Chromatography A*, Volume 1216, Issue 28, 10 July 2009, Pages 5424-5428.
- [15] Kayori Takahashi, Shinichi Kinugasa, Masaaki Senda, etc. Quantitative comparison of a corona-charged

aerosol detector and an evaporative light-scattering detector for the analysis of a synthetic polymer by supercritical fluid chromatography, *Journal of Chromatography A*, Volume 1193, Issues 1-2, 6 June 2008, Pages 151-155.

- [16] Tanja Vehovec, Ales Obreza. Review of operating principle and applications of the charged aerosol detector, *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 1549–1556.
- [17] 曹海龙, 朱豫, 李曙光, 等. 高效液相色谱法 - 电雾式检测器测定酿酒酵母发酵液中甘油的含量, *分析仪器*, 2009, 12(1): 27- 29.

第二章 电雾式检测器（CAD）与 CP、BP、USP 相关的 分析方法

2.1 银杏制剂中银杏内酯的测定

方法简介:

银杏内酯化合物属于萜类化合物，由倍半萜内酯和二萜内酯组成，是银杏叶中一类重要的活性成分。对于银杏内酯的分析，因其紫外吸收弱，多采用 HPLC-ELSD 方法（见图 3）。中国药典 2010 版方法中流动相采用非常规溶剂正丙醇-四氢呋喃-水，但正丙醇的沸点接近 100℃，挥发性差，容易导致 CAD 检测器噪音增加。本实验改进了此方法，采用 HPLC-CAD 方法，流动相是常规反相色谱溶剂甲醇和水，改善了上述缺点（图 4）。

分析条件:

分析柱: Acclaim 120 C18, 5 μ m 4.6 \times 150mm
(P/N: 059148)

柱温: 35℃

CAD 检测条件: 雾化温度: 35℃

流动相: A: 甲醇; B: 水, 梯度条件见表 1

流速: 0.8 mL/min

表 1 改进后的梯度条件

时间 (min)	A(%)	B(%)
0	27	73
10	30	70
15	35	65
22	35	65

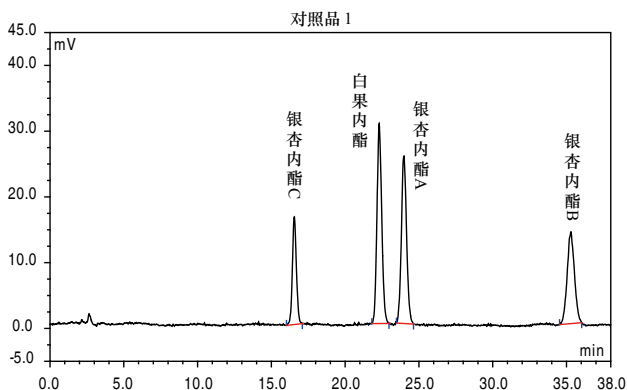


图 3 采用药典流动相银杏内酯 ELSD 色谱图 (5 μ L)

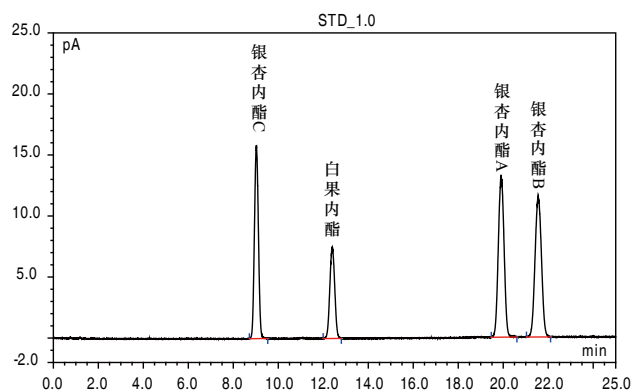


图 4 采用甲醇-水流动相银杏内酯在 CAD 检测器上色谱图 (1 μ L)

表 2 CAD 与 ELSD 检测银杏内酯灵敏度比较

检测器	峰名	信噪比 (S/N)	检测器	峰名	信噪比 (S/N)
CAD	银杏内酯 C	864.1	ELSD	银杏内酯 C	111.2
	白果内酯	448.0		白果内酯	191.7
	银杏内酯 A	767.5		银杏内酯 A	166.9
	银杏内酯 B	694.8		银杏内酯 B	96.1

方法结论:

本试验优化了中国药典 2010 版中测定银杏制剂中银杏内酯含量色谱条件，并采用 CAD 测定了其含量，可获得比 ELSD 检测器更好的灵敏度、重现性，并且降低了银杏内酯对照品的需求量，大大降低银杏制剂中测定色谱条件的复杂性，提高了方法的适用性，降低了检测成本。在信噪比方面，相同浓度标准进样相同体积，分别在 CAD 检测器和 ELSD 检测器上比较，结果显示，CAD 检测的灵敏度至少比 ELSD 高 2 倍（见表 2）。因此，对于药品中杂质检测，CAD 检测可获得更好的灵敏度。

参考文献来源: 2012-APP-RLC-035-液相色谱-电喷雾检测器测定银杏制剂中银杏内酯(内部资料)

2.2 快速液相色谱结合 CAD 检测器测定兽药中的马度米星铵

方法简介:

《中国兽药典》2010 版采用高效液相色谱 - 蒸发光散射检测器 (HPLC-ELSD), 甲醇 - 0.02 mol/L 醋酸铵溶液为流动相, 常规 C18 色谱柱对马度米星铵进行测定。本实验采用 UPLC-CAD 检测器对马度米星铵进行测定, 实验结果表明马度米星铵在 CAD 检测器上有较好的响应, 进样精密度、稳定性都较好, 其中灵敏度和稳定性较兽药典中蒸发光散射检测器方法相比具有明显优势, 同时分析时间大大缩短。并且 CAD 操作简单, 设置参数少, 稳定性较好, 受环境影响因素少。该检测器完全可以满足马度米星铵的测定。

分析条件:

分析柱: Waters BEH C18, 1.7 μ m 2.1 \times 100mm

柱温: 30 $^{\circ}$ C

进样量: 3 μ L

CAD 检测条件: 氮气压力 35.0psi

流动相: 甲醇 - 0.02 mol/L 醋酸铵 (85:15)

流速: 0.3mL/min

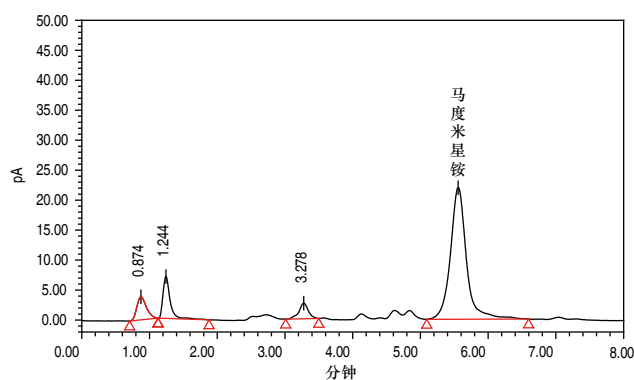


图 5 样品测定谱图

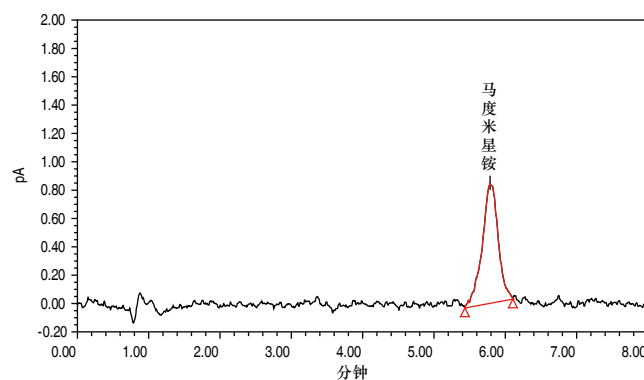


图 6 检出限测定谱图 (浓度 10ppm, 进样 2 μ L, s/n 6.94)

参考文献来源: 2012-APP-RLC-006- HPLC-CAD 法检测马度米星铵 (内部资料)

2.3 胆汁 (猪、羊、牛) 中胆汁酸的 CAD 表征与胆汁酸差异性比较分析

方法简介:

本方法采用 CAD 检测器, 以胆汁水解后常见的六种胆汁酸成分, 运用 HPLC 方法分析了猪胆粉、羊胆粉与牛胆粉的差别, 中国药典 2010 版方法中为紫外 192nm 测定, 为末端吸收, 灵敏度低, 杂质对主成分干扰较大。采用 CAD 检测分离度和灵敏度均较高, 为猪胆粉的质量控制、胆粉的来源鉴别提供了一种有效的方法。

分析柱: Acclaim Surfactant, 5 μ m 4.6 \times 150mm

柱温: 35 $^{\circ}$ C

电雾式检测器 (CAD): 型号: Corona Ultra

雾化温度: 35 $^{\circ}$ C, 采集频率: 5Hz

进样量: 5 μ L

流动相及梯度条件见表 3, 标准品测定谱图见图 7

表 3 流动相及梯度条件

时间 (min)	CH ₃ CN (%)	0.5%HAc (%)	流速 (mL/min)
0	45	55	0.9
27	45	55	0.9
27.1	90	10	0.9
35	90	10	0.9
35.1	45	55	0.9
45	45	55	0.9

结果参考：

动物胆粉中含有的胆汁酸都不具有紫外吸收的生色团，因此只能在低波长检测。低波长检测的缺点是干扰大、噪音高、漂移严重，这类化合物的检测恰恰是 CAD 这类质量型检测器的优势。因此选择 CAD 检测器进行检测可以获得比紫外检测器更好的灵敏度（如图 7）。

将样品注入液相色谱仪，以比较各种来源胆粉之间胆汁酸的差异（图 8）。

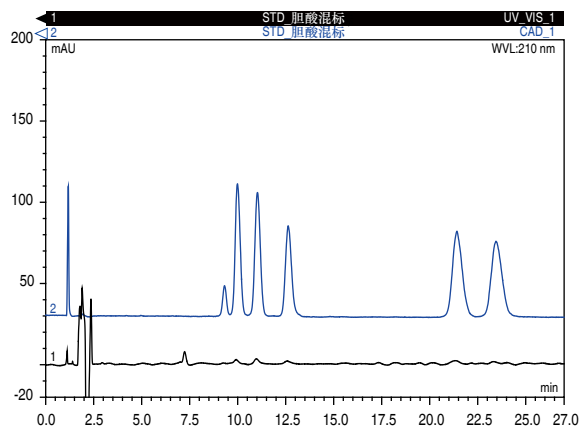


图 7 六种胆汁酸 UV 与 CAD 检测比较图
(1、UV210nm 色谱图；2、CAD 色谱图)

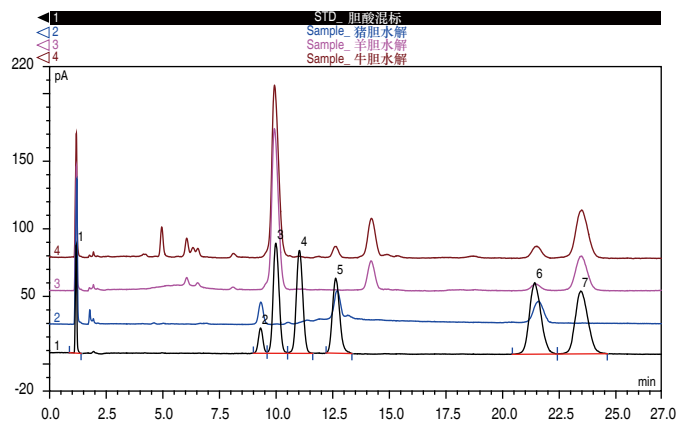


图 8 不同来源胆粉色谱图
(1 对标准品；2 猪胆粉；3 羊胆粉；4 牛胆粉)

方法结论：

本方法采用 CAD 检测器能够对胆汁酸成分取得灵敏度较高的检测，与紫外检测器相比有较明显的优势。本方法所采用的 Acclaim Surfactant 色谱柱是一种硅胶基质的带有专利键合相的色谱柱，在相同条件下分析酸性物质可取得比常规 C18 更佳的分离与峰形。

参考文献来源：2012-APP-RLC-023 胆汁（猪、羊、牛）中胆汁酸的 CAD 特征的表征与胆汁酸差异性比较分析（LC-CAD）（The CAD instrument is for trial purposes to assess its suitability for routine use in USP laboratories.）

2.4 药用辅料中脂肪酸分析

方法简介：

混合脂肪酸是一种常见药用辅料，作为栓剂等制剂的载体，其应用符合医药“低毒、高效”的基本发展原则和民众医疗保健的意愿，近年来发展较快。脂肪酸紫外吸收弱，用传统 UV 方法无法检测，本实验采用 HPLC-CAD 方法检测辅料中的常见脂肪酸取得了较好的分析结果。

分析条件：

色谱柱：PRP-1, 7 μ m 4.1 \times 250mm (Hamilton)

流动相：乙腈 - 四氢呋喃 - 60mM 醋酸溶液 = 60:5:35, 15min 内变化到 90:10:0

流速：1.0mL/min

柱温：45 $^{\circ}$ C

进样量：25 μ L

电雾式检测器（CAD）：型号：Corona Ultra；雾化温度：15 $^{\circ}$ C

结果参考:

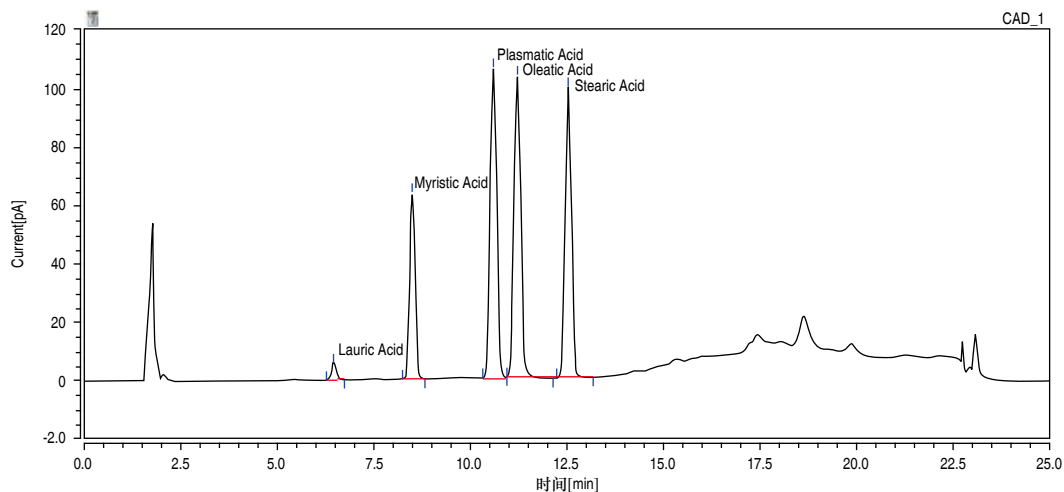


图 9 辅料中脂肪酸分析图谱

表 4 辅料中脂肪酸分析结果

供试品中组分名称		保留时间 min	峰面积 pA*min	塔板数 Plates	分离度 Resolution	拖尾因子 USP Tf
月桂酸	Lauric Acid	6.463	0.886	13070	8.11	1.11
肉豆蔻酸	Myristic Acid	8.500	10.771	15153	6.86	1.06
棕榈酸	Plasmatic Acid	10.597	22.388	15989	1.81	1.09
油酸	Oleatic Acid	11.213	22.478	16794	3.91	1.07
硬脂酸	Stearic Acid	12.543	20.818	22488	n.a.	1.05

方法结论:

本方法使用 CAD 检测器结合 Hamilton 的一款色谱柱, 对多种脂肪酸同时进行分析, 分离度高, 色谱峰形好, 有较高实用价值。

参考文献来源: 2013-APP-LC-039 CAD 检测器分析药用辅料中的脂肪酸 (The CAD instrument is for trial purposes to asses its suitability for routine use in USP laboratories.)

第三章 电雾式检测器（CAD）应用实例介绍

第一节 CAD 在中药及天然产物分析中的应用

3.1.1 三七药材液相色谱指纹图谱的建立

方法简介:

指纹图谱对中药的质量控制具有整体性、客观性的特点。目前对三七药材及其制剂的指纹图谱研究已有大量的报道,方法大多为 HPLC-UV,少数为 HPLC-ELSD。UV 检测器适用于有紫外吸收的化合物的检测,但对皂苷等只有末端吸收的化合物的检测不理想,并且在梯度洗脱时容易造成基线漂移。虽然 ELSD 对皂苷、糖等化合物的检测灵敏度高于 UV,但对低含量成分检测时重复性较差。本文利用 HPLC 电雾式检测器联用技术,建立了三七药材指纹图谱的简单、可靠的分析方法。

分析条件:

分析柱: Agilent Zorbax Eclipse XDB C18,
5 μm 4.6 \times 250 mm

柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$

CAD 检测条件: 氮气压力 35.0psi; 输出范围: 100pA

流动相: A: 水; B: 乙腈; 梯度条件见表 5

进样量: 10 μL

流速 1.0 mL/min

结果参考:

1) 检测器比较

在同一色谱条件下,比较了 UV、ELSD 和 CAD 三种检测器,从检测限和定量限的比较结果(表 6)可知,CAD 检测器基线平稳,灵敏度较高,可以获得大信息量的 HPLC 图谱,更加适用于三七药材指纹图谱的分析。

表 5 梯度条件

时间	乙腈 %
0	19
40	19
45	31
65	31
75	45
85	19

表 6 三种检测器灵敏度比较

Compd.	UV		ELSD		CAD	
	LOD/ μg	LOQ/ μg	LOD/ μg	LOQ/ μg	LOD/ μg	LOQ/ μg
N-R1	0.03	0.13	0.04	0.13	0.05	0.16
G-Rg1	0.04	0.28	0.08	0.16	0.03	0.13
G-Re	0.02	0.63	0.19	0.75	0.15	0.41
G-Rb1	0.05	0.30	0.05	0.17	0.01	0.05
G-Rg2	0.12	0.45	0.15	0.82	0.02	0.05
G-Rh1	0.13	0.45	0.18	0.48	0.12	0.04
G-Rd	1.83	4.60	0.08	0.30	0.02	0.15

2) 方法学参考

将供试品溶液按照已经建立的 HPLC 分析条件,连续进样 6 次,记录各色谱峰相对保留时间及其 RSD 值。

结果表明 CAD 检测器 RSD 值在 0.01% ~ 0.92% 之间, 仪器精密度符合要求。另外, 分别考察了同一批次样品及同一样品放置不同时间的保留时间 RSD 值, 结果均表明重复性良好。

方法结论:

通过比较 CAD 与 ELSD、UV 三种检测器及色谱条件优化, 建立了灵敏、准确、稳定的 HPLC-CAD 联用分析三七药材的指纹图谱方法 (见图 10)。通过对 20 批不同产地和批次的药材分析, 建立了采自云南、广西等不同产地三七药材的指纹图谱, 为三七及其它含有弱或无紫外吸收成分的药材的质量控制和基础研究提供了新的参考。

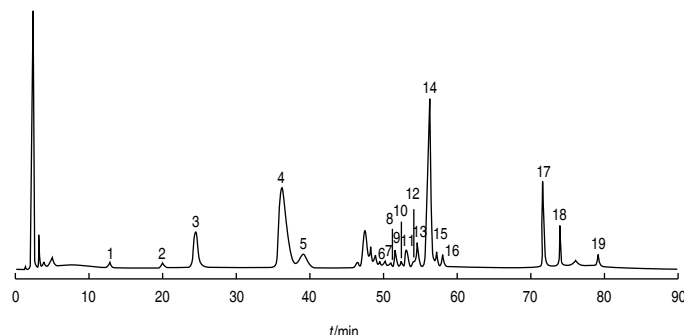


图 10 三七药材指纹谱图

3: Notoginsenoside R₃; 4: Ginsenoside Rg₁; 5: Ginsenoside Re; 14: Ginsenoside Rb₁;
15: Ginsenoside Rg₂; 16: Ginsenoside Rh₁; 17: Ginsenoside Rd

参考文献来源: 白长财, 柴兴云, 王海龙, 等. 中国药科大学学报 2009, 40 (1): 54 - 58

3.1.2 电喷雾检测器测定人参皂苷的性能评价

方法简介:

本方法建立了利用 HPLC 电雾式检测器联用技术, 检测 7 种常见的人参皂苷化合物的方法。同时, 将该方法与其他两种方法 ELSD 和 UV 就灵敏度、线性、准确性方面分别进行了比较。

分析条件:

分析柱: Agilent Zorbax Extend C18, 5 μm 4.6 × 250 mm

柱温: 20℃

CAD 检测条件: 雾化室温度 30℃; N₂: 35 psi

DAD: 203 nm

ELSD: 漂移管温度 40℃; N₂: 36 psi

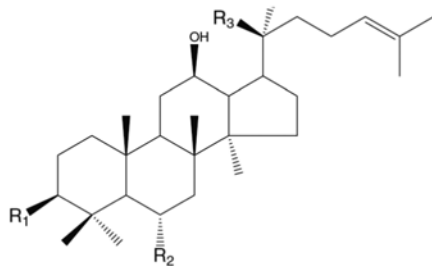
流动相: A: 水; B: 乙腈; 梯度见表 7

进样量: 10 μL

流速: 1.0 mL/min

表 7 梯度条件

时间 (min)	乙腈 %
0	18
27	22
30	26
65	39
75	18



No.	Compounds	R ₁	R ₂	R ₃
1	Ginsenoside Rg ₁	-OH	-Oglc	-Oglc
2	Ginsenoside Re	-OH	-Oglc(2-1)rha	-Oglc
3	Ginsenoside Rb ₁	-Oglc(2-1)glc	-H	-Oglc(6-1)glc
4	Ginsenoside Rc	-Oglc(2-1)glc	-H	-Oglc(6-1)araf
5	Ginsenoside Rb ₂	-Oglc(2-1)glc	-H	-Oglc(6-1)arap
6	Ginsenoside Rb ₃	-Oglc(2-1)glc	-H	-Oglc(6-1)xyl
7	Ginsenoside Rd	-Oglc(2-1)glc	-H	-Oglc

图 11 7 种人参皂苷的结构示意图

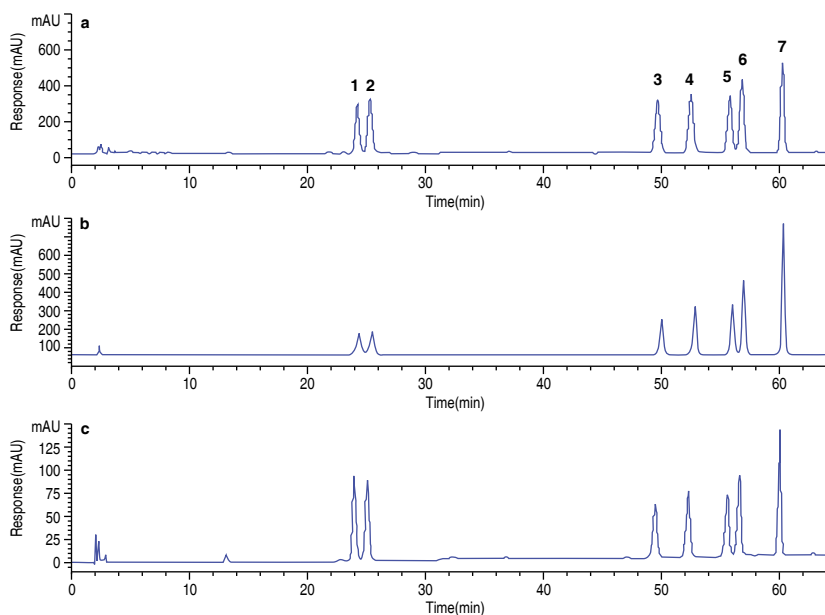


图 12 人参皂苷标准谱图 (a). CAD, (b). ELSD, (c).UV

1: Rg₁, 2: Re, 3: Rb₁, 4: Rc, 5: Rb₂, 6: Rb₃, 7: Rd

表 8 三种检测器测定 7 个皂苷的 LOD 与 LOQ 比较

分析物测试范围 (mg/mL)	Rg ₁ (0.0158-0.63)	Re (0.015-0.60)	Rb ₁ (0.0136-0.546)	Rc (0.0164-0.654)	Rb ₂ (0.0136-0.546)	Rb ₃ (0.0147-0.588)	Rd (0.0169-0.675)
CAD*							
r ²	0.9995	0.9991	0.9985	0.9984	0.9975	0.9991	0.9993
a	0.8858	0.8711	0.9126	0.8928	0.8992	0.8969	0.8831
b	4.3776	4.4485	4.5203	4.4934	4.5248	4.5555	4.528
LOD(ng)	9.64	6.57	13.9	15.0	11.3	11.6	10.9
LOQ(ng)	24.1	17.5	34.8	40.1	25.5	20.9	18.2
ELSD							
r ²	0.9983	0.9987	0.9990	0.9975	0.9979	0.9988	0.9988
a	1.2763	1.286	1.3132	1.3245	1.2952	1.2491	1.3186
b	4.1308	4.2592	4.239	4.2425	4.267	4.3353	4.461
LOD(ng)	60.2	43.8	46.4	58.4	47.2	38.6	24.2
LOQ(ng)	144.6	102.2	116.0	150.3	113.4	96.5	72.6
UV							
r ²	0.9998	0.9998	0.9999	0.9996	0.9995	0.9996	0.9996
a	2464.9	2552	2047.2	2079.5	2119.7	2437.8	2617.2
b	3.0923	1.7975	1.8529	2.2607	1.8887	2.6991	0.6305
LOD(ng)	62.3	43.8	36.0	67.0	85.0	57.9	54.4
LOQ(ng)	124.6	119.0	108.0	101.0	128.0	133.0	142.0

* The logarithm of the peak areas (y) and the logarithm of the corresponding concentration of the analyte (x)

方法结论：

通过对三种检测器 LOQ 和 LOD 的比较，CAD 具有最佳的灵敏度。而对于 R_{g1} 和 R_e, CAD 可以检测的最低浓度比 ELSD 和 UV 低六倍以上。

对日内和日间重现性进行考察，CAD 日内以及日间重现性 RSD 均 ≤ 2.94%，而 ELSD 则 ≤ 3.99%，CAD 表现出更好的响应稳定性。对样品加标回收实验表明，CAD 对 7 种人参皂苷的回收率在 96.9~103%，且 RSD < 3%，说明 CAD 对样品能够实现准确检测。

参考文献来源：Li Wang, Wen-Shun He, Hai-Xia Yan, et al. Journal of Chromatography A, 2008, 1189(1-2): 92-100

3.1.3 紫杉醇杂质的相对响应因子测定

方法简介：

采用 HPLC、UV 与 CAD 串联的方式对紫杉醇相关杂质的相对响应因子 (RRFs) 进行测定。在等度洗脱条件下，CAD 峰响应与物质的结构无关。用 HPLC-UV-CAD 对含有已知和未知杂质的样品进行分析，开发了一种经验方法计算所有杂质的 RRFs，已知杂质的 RRFs 也通过线性校正曲线进行计算。对于已知杂质，比较两种计算方法得到的 RRFs 值。在没有得到有标准品的真实样品时，该新方法对于测定未知杂质或降解物的 RRFs 有效。

分析条件：

- 分析柱：Curosil-PFP, 3μm 4.6 × 150mm
- 柱温：35 °C
- 紫外检测波长：波长 227nm, 带宽 4nm
- CAD 检测条件：雾化温度：30°C；输出范围：100pA
- 进样量：50 μL
- 流动相：水：乙腈 =52：48
- 流速：1.2mL/min

结果参考：

1) RRFs 测定

在 0.1-2.0μg/ml 的范围内，对峰面积和分析物浓度做线性回归分析，得到所有 9 个化合物的线性校正曲线，所有分析物的线性数据见表 9。通过计算各杂质与紫杉醇的回归曲线斜率之比，得到 RRF_{UV} (UV 相对响应因子)。如表 9 所示，8 个杂质的 RRFs 在 0.47-0.92 之间。

表 9 各化合物相对响应因子

Compd.	Regression equation	R ²	RRF _{UV}
10-Deacetylbaccatin III	Y=66.16x+0.8502	0.9992	0.79
Baccatin III	Y=57.90x+0.3943	0.9999	0.69
10-Deacetyl-7-xylosyltaxol C	Y=39.20x-0.0477	1.0000	0.47
Photodegradant	Y=61.84x+0.3769	0.9999	0.74
Cephalomannine	Y=67.35x+0.5839	0.9999	0.80
10-Deacetyl-7-epitaxol	Y=75.45x+0.9273	0.9997	0.90
Paclitaxel	Y=84.15x-1.0984	0.9988	1.00
Taxol C	Y=42.07x+0.1346	0.9999	0.50
7-epi-taxol	Y=77.38x+0.7795	0.9998	0.92

2) RRFs 的估算

在药学研究中，经常估算未知化合物的 UV RRFs 用于定量，这可能带来潜在的质量平衡问题。因为在相同浓度的化合物等度洗脱时，CAD 可以提供近乎一致的响应，所以 CAD 响应的相对量与化合物的相对量有关。基于 UV 峰面积和相对响应，杂质的 RRFs 可以通过下面公式得到：

$$RRF_{i,s} = \frac{(UV_{\text{peak area}})_i / (UV_{\text{peak area}})_s}{(CAD_{\text{peak area}})_i / (CAD_{\text{peak area}})_s}$$

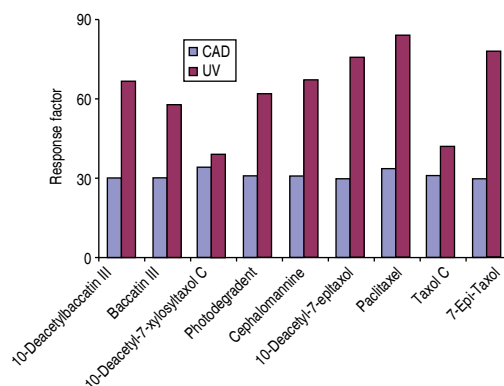


图 13 紫外和 CAD 响应一致性对比

方法结论：

HPLC-UV-CAD 法可以用于测定紫杉醇药物中相关杂质的 UV RRFs，一份强迫降解样品也得到分析，并通过该法得到了未知杂质的 RRFs。与线性数据得到的准确值相比，该法可迅速、便捷和准确地测定已知和未知杂质的 UV RRFs。

参考文献来源：Ping Sun, Xiande Wang, Lori Alquier, et al. Journal of Chromatography A, 1177 (2008) 87–91

3.1.4 青蒿素及其衍生物的检测

方法简介：

青蒿素 (Artemisinin) 是我国自主开发的、国际公认的抗疟疾的特效药，市场需求量大。本文利用 HPLC 电雾式检测器联用技术，建立了青蒿素及其衍生物的简单、可靠的分析方法。

分析条件：

分析柱：Shiseido MG C18, 3 μm 4.6 \times 75mm

柱温：室温

CAD 检测条件：N₂: 35 psi; 输出范围：100pA

流动相：60% 乙腈 / 水, TFA 调 pH 3

进样量：10 μL

流速：2 mL/min

表 10 梯度条件

时间 (min)	乙腈 %
0	19
40	19
45	31
65	31
75	45
85	19

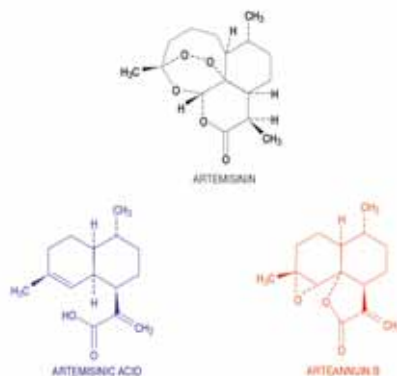


图 14 青蒿素及衍生物结构

结果参考:

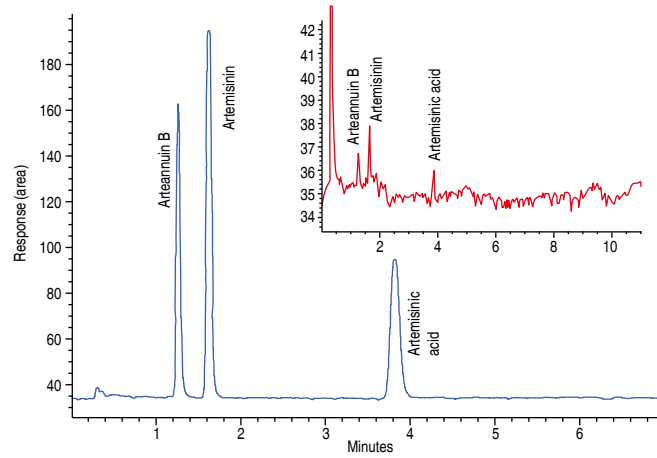


图 15 青蒿素标准谱图 (3.3 μ g) (小图 50ng)

方法结论:

HPLC-CAD 法可以用于测定青蒿素及其衍生物, 通过对流动相条件和 CAD 参数的调整, 对照品和样品均获得了较好的分离度和峰形。

参考文献来源: AN 70-6466 Artemisinin_and_Derivatives (内部资料)

第二节 CAD 在化药分析中的应用

3.2.1 混合模式分离 -CAD 联用法分析依替磷酸二钠的检测方法

方法简介:

双磷酸盐能够有效抑制骨吸收，常用于治疗高钙血症和转移性骨质疾病如骨质疏松症和佩吉特氏病等。由于其具有较强的极性和螯合作用，且没有 UV 吸收，对这类物质的分析非常具有挑战性。本方法介绍了一种全新的直接测定依替磷酸二钠（图 16）的检测方法，采用离子交换 - 反相混合模式柱进行色谱分离，通用型检测器 CAD 进行检测，在 8min 内即可实现对依替磷酸二钠及其相关物质快速高效的分析（图 17）。

分析条件:

分析柱：Primesep SB, 5 μm 3.2 \times 50 mm

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

CAD 检测条件：N₂: 35 psi；输出范围：100pA

流动相：A：5% 乙腈 +0.03% TFA 水溶液；

B：5% 乙腈 +0.2% TFA 水溶液，

梯度条件见表 11

进样量：5 μL

流速：0.5 mL/min

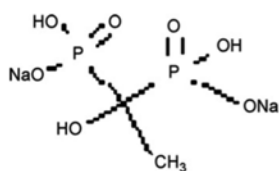


图 16 依替磷酸二钠结构

表 11 梯度条件

时间 (min)	B (%)
0	0
5	100
8	100

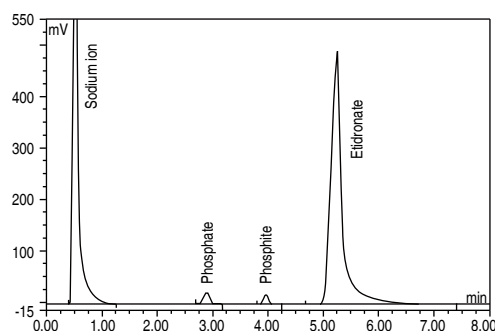


图 17 依替磷酸二钠及杂质谱图

方法结论:

混合模式分离 -CAD 实现了依替磷酸二钠药物及其相关物质的直接分析，快速、高效，且能够准确检测药物中低至 0.5% 浓度的相关物质的准确分析。该方法学如果能够应用于其他双磷酸盐药物的分析，将很有可能显著提高检测的效率和准确性。

参考文献来源：Xiao-Keng Liu, Jiang B. Fang, Nina Cauchon, et al. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 46 (2008) 639-644

3.2.2 盐酸乙胺丁醇片中盐酸乙胺丁醇含量的测定

方法简介:

盐酸乙胺丁醇 (ethambutol hydrochloride, EMB)，是一种抗结核病药物，常与异烟肼、链霉素等联合用药，以增强疗效，并延缓细菌耐药性的产生。由于 EMB 没有紫外吸收官能团，不能通过常规的高效液相色谱—紫外检测法 (HPLC-UV) 进行检测，其含量测定一直是药物分析领域的难点。目前国内报道的有气相色谱法、

旋光法、柱前衍生化高效液相色谱法和在线衍生化高效液相色谱法等。国外也有报道利用间接紫外法或柱前衍生化来提高其测定的灵敏度和选择性。但这些方法或分离度较差，或操作烦琐，或衍生不完全，甚至有些衍生化产物不够稳定，影响测定的准确性。

本文建立一种准确、快速、简便的高效液相色谱 - 电雾式检测器法测定盐酸乙胺丁醇片中盐酸乙胺丁醇的含量，可应用于其释放度和稳定性研究，对其类似化合物的测定也具有参考价值。

分析条件：

分析柱：Hedera ODS-2 C18, 5 μ m 4.6 \times 250 mm

柱温：30 $^{\circ}$ C

CAD 检测条件：氮气压力 35.0psi；输出范围：100pA

流动相：15 mmol/L 醋酸铵溶液 (pH 为 7.3)- 甲醇 (80:20, v/v)

进样量：20 μ L

流速：1.0 mL/min

结果参考

1) 专属性实验

考察了赋形剂对测定片剂中盐酸乙胺丁醇含量的影响。比较盐酸乙胺丁醇对照品、赋形剂、盐酸乙胺丁醇对照品加赋形剂及盐酸乙胺丁醇供试品的色谱图 (见图 18)，可见片剂中赋形剂对盐酸乙胺丁醇的分析测定无干扰，本法具有良好的专属性。

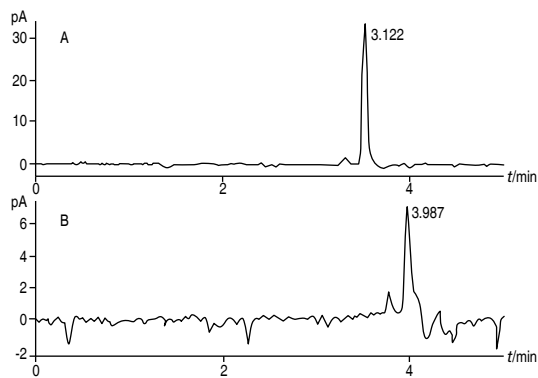


图 18 盐酸乙胺丁醇色谱图 (A: 对照品 B: 赋形剂)

2) 精密度

配制高、中、低 3 个浓度样品各 5 份，处理后进样，每日测定 5 次，连续测定 5 d，以 1 d 内测得的浓度计算日内标准偏差 (n=5)；不同日测得的浓度计算日间标准偏差 (n=5)，结果见表 12。

表 12 日内、日间精密度 (n=5)

浓度 μ g/mL	日内精密度		日间精密度	
	Found \pm SD	RSD%	Found \pm SD	RSD%
50	49.88 \pm 0.07	1.96	48.96 \pm 0.12	2.57
100	99.93 \pm 0.16	1.74	101.05 \pm 0.53	3.13
150	150.42 \pm 0.54	1.13	151.94 \pm 1.47	3.24

方法结论：

本方法中引入的电雾式检测器 (CAD)，基于独特的新检测原理，它的检测不依赖于化合物分子结构，并且能应用于检测绝大多数非挥发或半挥发性化合物，包括药物化合物、脂类、碳水化合物、多肽等。

较之其它测定方法，本实验建立的 HPLC-CAD 的方法更加简便、直接、准确，显著提高了其测定的选择性，

简化了操作步骤,降低了实验成本,可用于盐酸乙胺丁醇片剂中 EMB 含量的测定及其释放度和稳定性研究,对其类似化合物的测定具有参考价值。

参考文献来源:高维,方平飞,李焕德,等.中南药学,2009.7(5):338-340

3.2.3 使用五氟苯基柱分析药膏中硫酸庆大霉素及其相关物质

方法简介:

硫酸庆大霉素是一种常用的广谱氨基糖苷类抗生素,多用于革兰氏阴性菌和革兰氏阳性细菌。庆大霉素主要包括四种活性成分,庆大霉素 C1、C1a、C2、C2a 和少量的 C2b。由于庆大霉素是一类强极性化合物,常规 RP-HPLC 不容易保留,且结构中仅含有一个弱的 UV 发色集团,使得低浓度时 UV 检测器受到很大的局限性。其他常用的检测器还有 RI、ELISD 和 ECD,但 RI 检测器不兼容梯度,ELISD 灵敏度低、动态范围窄,不适合此类检测;ECD 检测器虽然具有很高的灵敏度,但是检测时电极容易中毒,而电极维护非常耗时。针对上述情况,本方法使用一根短的五氟苯基柱、离子对试剂梯度,能够完成庆大霉素类似物的分离,包括所有已知和未知活性药物成分(API)(图 19),检测器选用 CAD 来实现硫酸庆大霉素的高灵敏度准确检测。

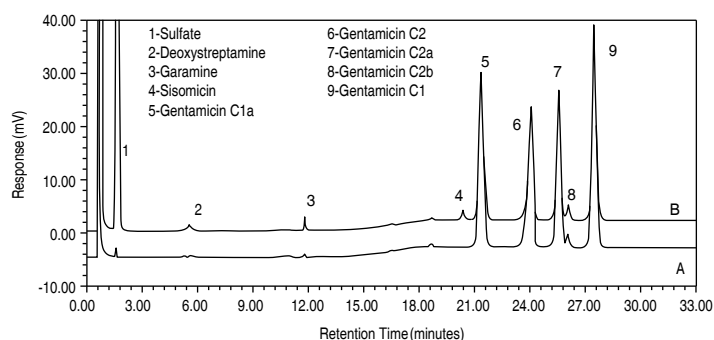


图 19 硫酸庆大霉素对照品 (A) 和硫酸庆大霉素、脱氧链霉素硫酸盐及硫酸盐西索米星混合对照 (B) 色谱图

分析条件:

分析柱: Restek Allure PFP Propyl, 3 μ m 4.6 \times 50mm 或 Thermo Fluophase PFP, 5 μ m 4.6 \times 50mm

柱温: 室温

CAD 检测条件: N₂: 35 psi; 输出范围: 100pA

流动相: A: 七氟丁酸:水:乙腈(0.025:95:5, v/v/v); B: 三氟乙酸:水:乙腈(1:95:5, v/v/v); C: 水:乙腈(20:80); 梯度条件见表 13

进样量: 20 μ L

方法结论:

本方法首次使用 HPLC-CAD 联用法,实现硫酸庆大霉素类似物各个已知和未知成分的分离,并准确直接检测,无需衍生化处理。图 20 所示,稀释剂、安慰剂均无组分干扰倍他米松中相关物质的测定。并且经过两个实验室间的比对试验证明,方法在适用性、灵敏度、重现性等方面均表现良好,证明方法可以应用于质量控制实验室对批量庆大霉素产品的稳定性研究和常规测试。

参考文献来源: Arul Joseph, Abu Rustum. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 51 (2010)

521-531

表 13 梯度条件

时间 (min)	A(%)	B(%)
0	100	0
8	100	0
12	80	20
16	0	100
33	0	100
33.5	0	0
43.5	0	0
44	100	0
48	100	0

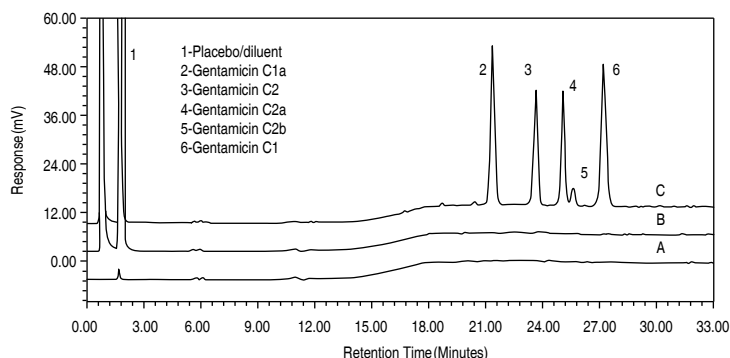


图 20 稀释剂 (A)、安慰剂 (B) 和倍他米松乳膏样品 (C) 中各组分谱图

3.2.4 高效液相色谱法测定对映体比率

方法简介:

不同于 RI 检测器, ELSD 可以兼容梯度, 因此作为 UV 检测器的有力补充, 1978 年开始广泛用于液相色谱检测。ELSD 作为一种通用型检测器, 曾用于手性拆分、手性固定相分离影响因素和对映体纯度等。但是由于 ELSD 线性范围很窄, 很容易造成对映比计算失真。本方法首次系统的对比了 ELSD、UV 和 CAD 检测器在对映比测定的差异。方法分别选取 3 种化合物, rac-3、rac-4 和 (R)-5/(S)-5 作为目标物进行对比。

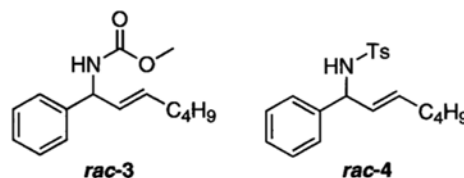


图 21 二甲基锌介导的烷基二茂锆醛亚胺

对于 rac-3, UV 法确定其对映体比率 (er) 是 49.8:50.2, CAD 的鉴定结果和 UV 一致, 而 ELSD 测定的数值则有很大差异, 为 60.5:39.5。

对于 rac-4, 其紫外吸收比 rac-3 稍强, 使用 200 μ g/ml 浓度为考察对象。同样出现和 rac-3 相同的结果。并且通过改变流动相配比发现, 随着流动相中异丙醇比例的增大, ELSD 检出的 er 呈现递减的趋势。同样对于 (R)-5/(S)-5 的考察也表现出相同的规律, 即 UV 和 CAD 一致, 且与理论值非常接近, 而 ELSD 则表现出较大的差异。

$$\log A = \log a + b \log c$$

A 为 ELSD 响应, c 为浓度, a、b 为常数

表 14 各检测器检测的 (R)-5 和 (S)-5 对映体比率

Entry	Er _{weight} (R)	Er _{UV} (R)	Er _{ELSD} (R)	Er _{ELSD-corr} (R)	Er _{CAD} (R)
1	>99.9:0.1	>99.9:0.1	>99.9:0.1	99.2:0.8	>99.9:0.1
2	95.0:0.5	95.9:4.1	95.0:0.5	96.5:3.5	96.7:3.3
3	90.0:10	91:9	98.1:1.9	92.1:7.9	91.4:8.6
4	80:20	81:19	90.7:9.3	80.6:19.4	80.6:19.4
5	70:30	71.5:28.5	81.4:18.6	71.6:28.4	70.7:29.3
6	60:40	61.8:38.2	69.4:30.6	62.5:37.5	60.4:39.6
7	50:50	48:52	50.8:49.2	50.5:49.5	49.1:50.9
8	40:60	41.3:58.7	37.9:62.1	42.3:57.7	41.3:58.7
9	30:70	30.8:69.2	23.4:76.6	32.3:67.7	31.4:68.6
10	20:80	20.3:79.7	11.7:88.3	22.1:77.9	20.4:79.6
11	10:90	9.8:90.2	4.1:95.9	12.2:87.8	9.5:90.5
12	5:95	5:95	0.3:99.7	2.6:97.4	4.6:95.4
13	<0.1:99.9	<0.1:99.9	<0.1:99.9	0.8:99.2	<0.1:99.9

为了考察造成 ELSD 这种差异性的原因，对 ELSD 的线性规律进行了考察，发现 ELSD 的响应信号与化合物浓度之间呈现双指数关系，即：通过这个公式，可以对 ELSD 中 er 值进行校正。虽然校正后的 er 更加真实的反映对映体比率，但是数据处理非常繁琐，且不适用于批量样品。

CAD 检测器虽然同 ELSD 类似，也是一种通用型检测器，但 CAD 对同一化合物表现出最佳的线性及更宽的动态范围，如图 22 所示。用 CAD 检测器检测 (R)-5 和 (S)-5 的对映体比率，均与 UV 的结果类似，且有时比 UV 更加精确。

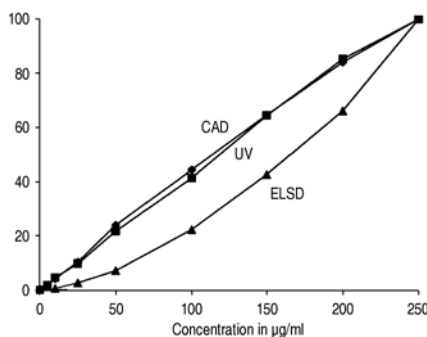


图 22 (R)-5 在各检测器上的线性

方法结论：

通过对 ELSD、UV 和 CAD 检测器的对比，发现在所有情况下，CAD 和 UV 的检测结果保持一致，并且和实际值最为接近，而 ELSD 线性的影响，很容易造成检测结果的偏差。因此，CAD 检测器由于其检测准确性、易于操作，而且是一种通用型检测器，尤其是化合物没有或者仅有弱 UV 反映的情况下，非常适用于对映体纯度的检测。

参考文献来源：PETER WIPF, STEFAN WERNER, LESLIE A. TWINING, *et al.* CHIRALITY 19:5-9 (2007)

3.2.5 电喷雾检测器测定抗惊厥类药物

方法简介：

本方法采用 CAD 检测器对 4 种抗晕厥类药物进行了测定，结果显示 CAD 均表现出了高灵敏度和准确性（图 23），动态范围从 ng 级到 μg 级。

分析条件：

分析柱：MCM column, 5 μm 4.6 \times 150 mm

流动相：30% 乙腈 /70%25mmol/L 醋酸铵, pH5.0

柱温：室温

CAD 检测条件： N_2 : 35 psi

进样量：10 μL

流速：1.0ml/min

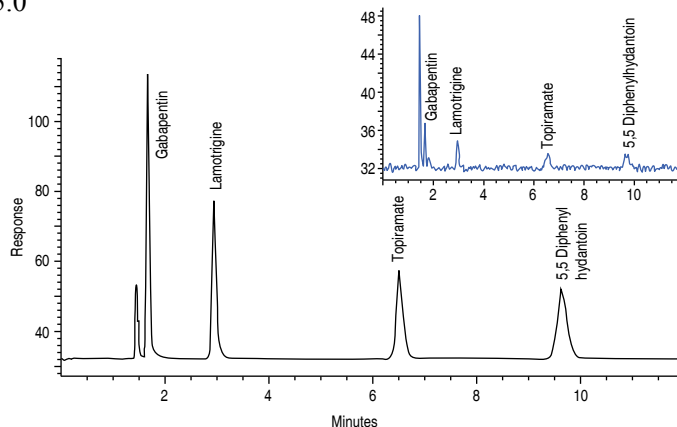


图 23 4 种药物分析重复进样 5 针重复性 (200 ng) (RSD 1.1~2.8%) (小图为 10 ng 进样)

参考文献来源：AN 70-6705 Anticonvulsants-1（内部资料）

3.2.6 对乙酰氨基酚纯度测定

方法简介：

本方法采用 CAD 检测器对对乙酰氨基酚中的葡萄糖杂质进行了测定。固定对乙酰氨基酚的浓度 100 μ g，可以对其中 0.005%~1% 的葡萄糖杂质进行准确测定（图 24）。

分析条件：

分析柱：MCM column, 5 μ m 4.6 \times 150 mm

柱温：室温

CAD 检测条件：雾化室温度 30 $^{\circ}$ C；N₂：35 psi

流动相：A：90:9:1 (v/v/v) 水：甲醇：醋酸，B：乙腈；A：B=90:10

进样量：10 μ L

流速：1.5mL/min

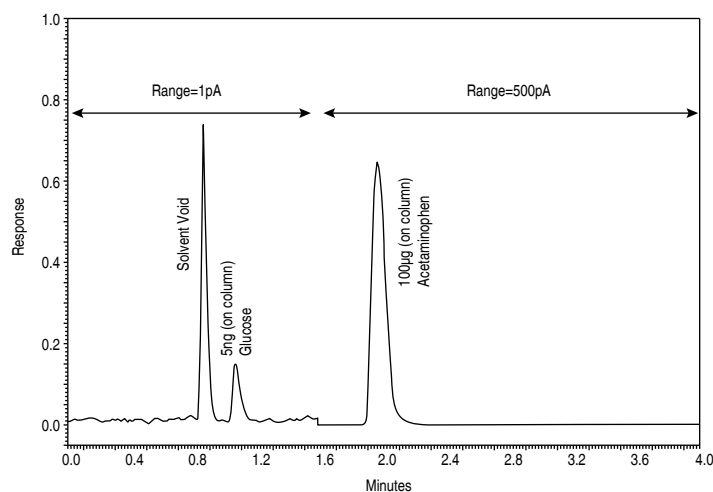


图 24 0.005% 水平杂质测定谱图

方法结论：

CAD 检测器为非挥发分析物提供了一种通用性检测器，具有很宽的动态响应范围、灵敏度高、精密度好。由于操作简单，分析可靠，在 HPLC 分析领域中占有明显的优势。

参考文献来源：AN 70-6716 Impurity_Testing-2（内部资料）

3.2.7 活性药物成分（APIs）中阴阳对离子的同时测定

方法简介：

临床医疗中使用的大约 50% 以上药物都是以药物分子的盐给药，盐的形式可以改善活性药物成分（API）的生物和理化性质，包括水溶性、吸湿性、pH 值、溶解率、化学稳定性、结晶形式和力学性能等。最常见的药物的反离子包括：氯、钠、硫酸根、乙酸根、磷酸、钾、马来酸盐、钙、柠檬酸盐、溴化物，硝酸盐、铵盐、甲苯磺酸酯、磷酸盐、酒石酸盐和亚乙基二胺。常规检测时，需要结合采用几种不同的的方法才能实现药物活性成分及其多种对离子的准确分析。最新创新型的混合模式色谱柱技术和通用检测技术的能够实现 API 成分及其多种无机、有机对离子的同时快速、灵敏分析。

特色的 Acclaim Trinity P1 色谱柱结合了阳离子交换、阴离子交换和反相色谱三种功能，可以实现一针进样，阴阳离子和脂溶性 APIs 的同时分离。联用通用型检测器 CAD，克服了不同物质同时分析检测器选择的难题。

分析条件:

分析柱: Acclaim Trinity P1, 3 μm 3.0 \times 50mm
 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$
 CAD 检测条件: 雾化温度 30 $^{\circ}\text{C}$
 检测波长: 210nm, 254nm
 流动相: A 乙腈, B 去离子水, C 0.2 mol/L 醋酸铵,
 pH4.0; 梯度条件见表 15
 流速: 0.5 mL/min
 进样量: 2 μL

表 15 梯度条件

时间 (min)	B (%)	C (%)
-10	35	5
0	35	5
2	35	5
7	0	90
15	0	90

方法结论:

Trinity P1 是一种混合机制色谱柱, 能够同时分析活性药物成分中对离子成分。在等度条件乙腈 /120 mmol/L 醋酸铵 (75:25) pH = 4.8 下, 即可实现双氯芬酸钠样品中氯离子、钠离子和主成分的良好分离 (图 24), 样品加标结果显示方法准确。而对于常见的 16 种药物反离子成分 (图 26), Trinity P1 均可实现其基线分离并准确、高灵敏度检测。

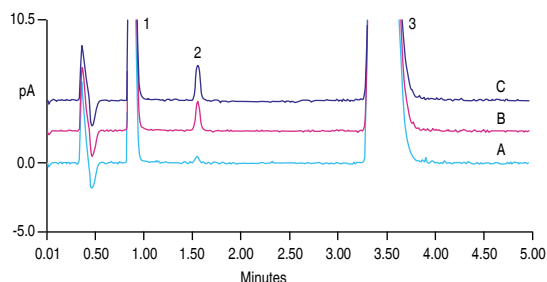


图 25 双氯芬酸钠样品及加标谱图

1. 钠离子; 2. 氯离子; 3. 双氯芬酸

A: 双氯芬酸钠样品; B: 0.1%(w/w) 氯离子加标; C: 0.15%(w/w) 氯离子加标

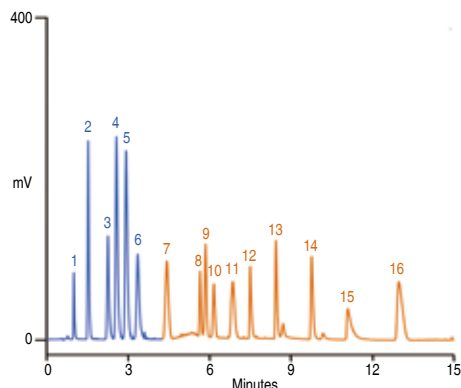


图 26 16 种对离子同时分离谱图

阳离子: 1. 普鲁卡因; 2. 维生素; 3. 缓血酸铵; 4. 钠离子; 5. 钾离子; 6. 葡甲胺
 阴离子: 7. 甲磺酸; 8. 马来酸盐; 9. 氯化物; 10. 溴化物; 11. 碘化物; 12. 磷酸盐; 13. 苹果酸盐; 14. 酒石酸盐; 15. 柠檬酸盐; 16. 硫酸盐

表 16 双氯芬酸钠样品及加标测定结果

Sample	Raw Area (pA*min)	RSD (n=5)	Calculated Chloride (w/w)
Diclofenac Standard	0.0231	13.01%	0.03%
Diclofenac+0.1%CL	0.1069	2.39	0.14%
Diclofenac+0.15%CL	0.1318	1.49%	0.17%

参考文献来源: Christopher Crafts, Marc Plante, Bruce Bailey, *et al.* 87447-PO-IICS-API-Counterion-CAD-18. Oct2010-LPN2610-01

第三节 CAD 在生化药物中的分析应用

3.3.1 酿酒酵母发酵液中甘油含量的测定

方法简介:

甘油是酿酒酵母发酵过程中重要的发酵产物之一。目前,甘油的测定方法主要有化学法、酶法、热重-差热分析法、气相色谱法和高效液相色谱法(HPLC)等。其中,高效液相色谱法由于测定准确、灵敏度高、精密度好、分析成本相对较低、样品预处理简单等优点,在甘油测定方面有着非常广泛的应用。本文利用配备电雾式检测器的 HPLC 系统,创建了测定酿酒酵母发酵液中甘油的方法。

分析条件:

分析柱: Shodex Asahipak NH2P-504E, 4.6 × 250 mm

柱温: 25℃

CAD 检测条件: 氮气压力 35.0psi; 输出范围: 100pA

流动相: 乙腈 - 水 (75:25, v/v)

进样量: 10 μL

流速: 1.0 mL/min

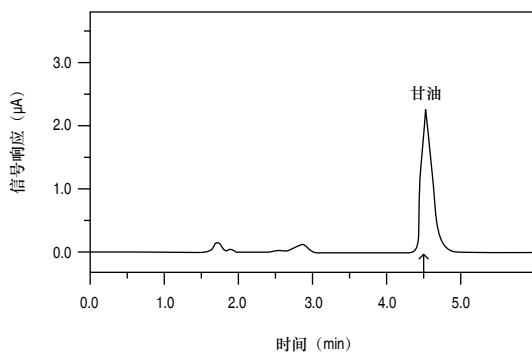


图 27 甘油标准品谱图

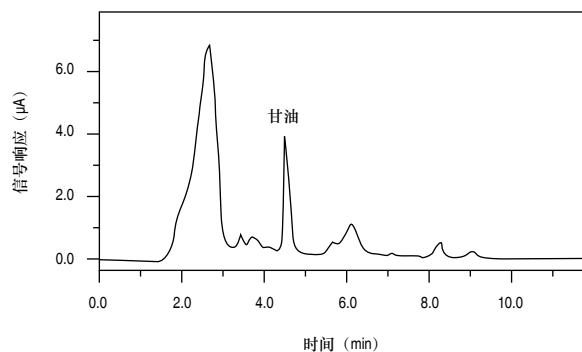


图 28 发酵液样品谱图

方法结论:

采用 HPLC-CAD 检测甘油,与采用示差折光检测器相比,具有更高的灵敏度;与柱前衍生化 HPLC 法相比,无需对样品进行衍生化处理,操作步骤简单。用此法测定酿酒酵母发酵液实际样品,有较高的灵敏度和较好的重现性,完全符合实际检测工作的需要。

参考文献来源: 曹海龙, 朱豫, 李曙光, 等. 分析仪器, 2009. 1: 27 - 29

3.3.2 脂质体中磷脂含量的测定

方法简介:

CAD 可实际应用于任何非挥发或半挥发化合物,包括药物、脂类、碳水化合物、多肽、药物分子支架、类固醇、蛋白质、聚合物等。磷脂和胆固醇是脂质体主要成分,其稳定性直接影响脂质体药物的包封率和渗漏率及脂质体在体内的行为。目前,磷脂分析多采用 HPLC-ELSD 法,其特点是散射光的对数响应值与组分的质量的对数成线性关系,但此对数关系变异性较大,其灵敏度较低,最低检出限在 50--100ng 之间。CAD

检测器作为一种通用型检测器，在磷脂的分析检测方面显示出了非凡的能力，文献报道甘油三酯、胆固醇等类脂物质的最低检出限达到了 1ng。本实验采用 HPLC-CAD 联用测定了空白脂质体注射液及冻干粉针剂中 DSPE-PEG, DSPG, MPPC, DPPC 的含量。

分析条件：

分析柱：Venusil XBP C8, 5 μ m 4.6 \times 250 mm
CAD 检测条件：氮气压力 35.0psi；输出范围：200pA

流动相：A：水；B：甲醇；梯度条件见表 17

进样量：10 μ L

流速：1.0 mL/min

柱温：25 $^{\circ}$ C

结果参考：

1) 系统适用性

系统适用性试验结果表明，空白脂质体注射液中各辅料和酸、碱、氧化、高温、强光破坏试验中产生的杂质均不影响 DSPE-PEG、DSPG、MPPC、DPPC 的检测。酸、氧化、高温、强光破坏试验结果显示 MPPC 的含量升高，见图 29。

2) 样品测定

脂质体样品中的其他组分与磷脂能够有效分离，不影响磷脂的测定，其中 2.70 min 的色谱峰为脂质体中加入冻干保护剂，在磷脂分析的过程中可以同时定量测定，见图 30。实验结果表明，脂质体冻干粉针样品稳定性明显优于注射液。

方法结论：

实验表明，CAD 检测器作为一种新型通用检测器，其性能完全适用于磷脂分析。本实验建立的 HPLC-CAD 检测法完全满足磷脂的分析检测要求，为脂质体制剂的磷脂成分分析检测提供了一套完整的方法，成为脂质体制剂中磷脂的含量和降解产物检测的一种有效手段。

参考文献来源：姜庆伟，杨瑞，梅兴国. 中国药学杂志，2007. 42(23) : 1794 - 1796

3.3.3 22 种氨基酸的同时直接检测

方法简介：

氨基酸是蛋白质的基本结构单位，是动物体合成蛋白质的原料来源，属食品、饲料的营养成分，在医学上具有防病治病的作用，也可作为营养型化妆品有效成分及合成药物、表面活性剂、其他工业产品的化工原料。因此，氨基酸分析是工业、农业生产及生命科学研究中最重要的技术之一。但是由于多种氨基酸结构相似，且只有少数具备足够的发色团，因此无衍生处理的氨基酸的分离和检测非常困难。对于氨基酸的分析，目前常用的灵敏、准确的检测方法均需要使用衍生化试剂，从而增加了操作复杂性，比较耗时。本文采用 UHPLC，12min 即实现了 22 种氨基酸的良好分离，使用 CAD 作为检测器，克服了氨基酸在常规紫外检测器

表 17 梯度条件

时间 (min)	B (%)
0	90
2.5	100
12	100
12.1	90
15	90

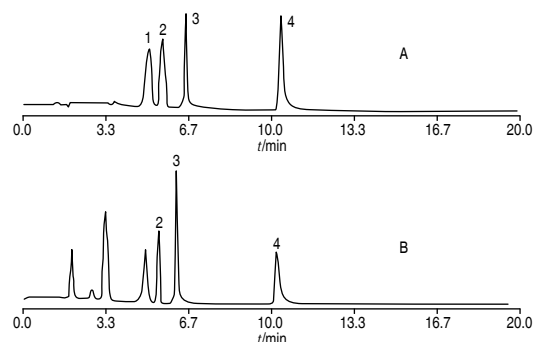


图 29 系统适用性 HPLC 色谱图

A：空白脂质体注射液色谱图；B：经酸破坏后的色谱图
1：二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 (DSPE-PEG)；
2：二硬脂酰磷脂酰甘油 (DSPG)；3：单棕榈酰磷脂酰胆碱 (MPPC)；4：二棕榈酰磷脂酰胆碱 (DPPC)

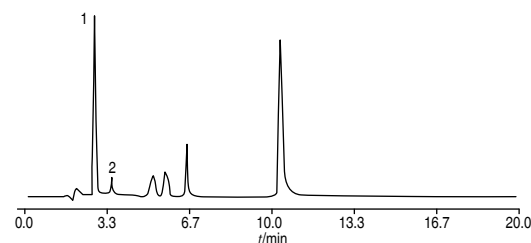


图 30 脂质体样品的 HPLC 色谱图
1：加入冻干保护剂脂质体；2：药物

响应低的缺点，方法灵敏度高，在 100-300ng 之间具有良好的线性。

分析条件：

分析柱：Acclaim RSLC PAII, 2.2 μ m 2.1 \times 250 mm

柱温：40 $^{\circ}$ C

CAD 检测条件：雾化温度 35 $^{\circ}$ C

检测波长：210nm, 254nm

流动相：A：0.4% 七氟丁酸水溶液；B：乙腈；梯度洗脱：0-2.5min, A 100%，2.5-8min, A 100%-30%，8-12min, A 30%-45%

流速：0.25 mL/min

进样量：2 μ L

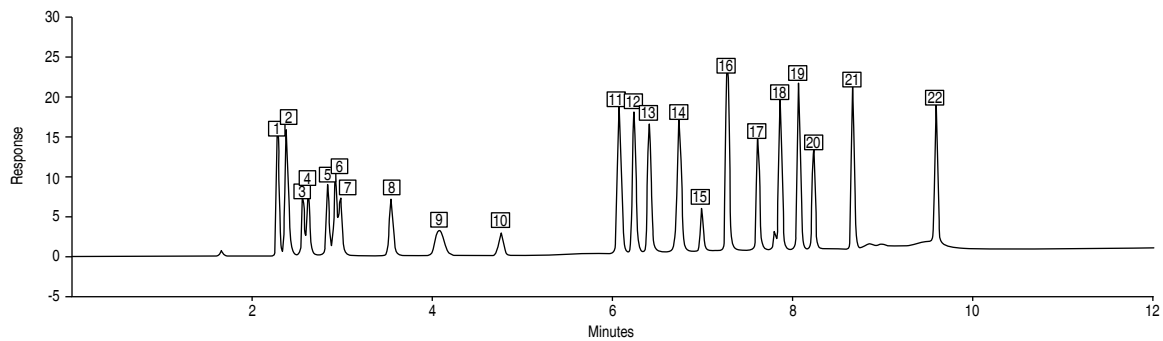


图 31 22 种氨基酸的 CAD 谱图

表 18 22 种氨基酸分析结果

No	峰名称	保留时间	峰面积	峰高	理论塔板数 (EP)
1	Sodium	2.283	0.607	17.064	26773
2	Glycine/Threonine	2.376	0.768	15.814	14676
3	Aspartic Acid	2.562	0.270	7.264	26321
4	Glutamine	2.623	0.354	8.616	28098
5	Asparagine	2.835	0.373	8.931	29778
6	Alanine	2.922	0.424	10.265	27462
7	Glutamic Acid	2.977	0.336	7.132	n.a.
8	Citrulline	3.538	0.391	7.043	26144
9	Proline	4.071	0.357	3.189	7563
10	Ornithine	4.763	0.192	2.838	29446
11	Lysine	6.072	1.005	18.745	80619
12	Histidine	6.238	0.899	17.691	96907
13	Valine	6.408	0.787	16.184	114004
14	Methionine	6.740	0.890	16.625	113923
15	DOPA	6.989	0.211	5.327	199470

16	Arginine	7.273	1.090	24.391	168772
17	Tyrosine	7.611	0.621	14.327	198921
18	Isoleucine	7.862	0.770	18.506	214012
19	Leucine	8.066	0.922	20.966	216162
20	norleucine	8.231	0.521	12.460	246776
21	Phenylalanine	8.669	0.828	20.272	283342
22	Tryptophan	9.591	0.726	17.682	356019

参考文献来源：Dionex Application #245 19 May 2011（内部资料）

第四节 CAD 在药用辅料中的分析应用

3.4.1 混合模式色谱与电雾式检测器测定蛋白药物中的聚山梨醇酯 20

方法简介:

聚山梨醇酯 20 (Polysorbate 20), 又称为吐温 20(Tween 20), 是聚山梨醇酯类中的一种, 属于非离子型表面活性剂。聚山梨醇酯 20 没有强发色官能团, 常规反相液相色谱 - 紫外检测器较难进行准确的定性与定量测定。本方法采用混合模式柱 Oasis MAX 分析, 避免了甘露糖、Tris 等辅料以及蛋白的影响, 检测器为通用型的质量检测器 CAD, 具有高灵敏度和宽线性范围, 利用这款检测器, 检测蛋白药物中的聚山梨醇酯 20 的含量的方法具有很好的可行性和借鉴意义。

分析条件:

分析柱: Oasis MAX, 30 μm 2.1 \times 20 mm

柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$

CAD 检测条件: 雾化室温度 30 $^{\circ}\text{C}$; N_2 : 35.0psi

DAD: 280 nm

流动相: A: 2% 甲酸 -98% 异丙醇 (v/v);

B: 2% 甲酸 -98% 水 (v/v); 梯度见表 19

进样量: 30 μL

流速: 1.0 mL/min

方法结论:

本实验建立了蛋白类药物, 如某人源化单克隆抗体中聚山梨醇酯 20 的含量测定方法。经过精密度、重复性、线性等方法学考察, 表明本方法准确度高, 精密度、重现性较好, 定量限达 1.1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 可作为药物及制剂中聚山梨醇酯 20 的含量测定方法。CAD 作为质量型检测器, 当需要检测更低浓度样品, 可以通过适当增大进样体积, 或进行柱后有机相补偿, 提高化合物的响应, 降低定量检出限。同时, 由于该检测器响应因子一致, 可以通过聚山梨醇酯 20 的浓度同步对蛋白类药物进行初步半定量分析。

表 19 梯度条件

时间 (min)	A (%)	B (%)
0	10	90
1.0	20	80
3.4	20	80
3.5	100	0
4.5	100	0
4.6	10	90
7.0	10	90

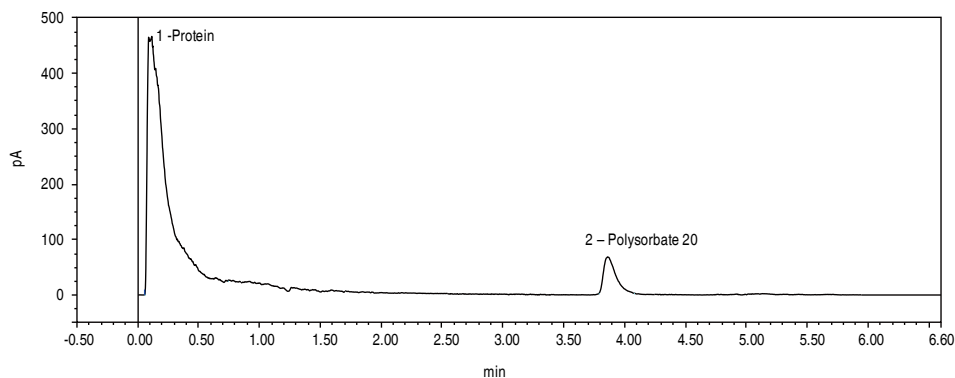


图 32 样品色谱图 (1 号峰主要为蛋白, 2 号峰为聚山梨醇酯 20)

总体而言，该方法设计巧妙，原理新颖，操作使用方便，取得了较理想的结果，因此具有较好的推广与借鉴意义。

参考文献来源：郑萍，刘绿叶，张艳海，等. 采用混合模式色谱与电雾式检测器测定蛋白药物中的聚山梨醇酯，药物分析杂志，2013. 1(1)

3.4.2 非离子型表面活性剂：聚山梨醇酯 20，聚山梨醇酯 80 和 Triton X100 的检测

方法简介：

聚山梨醇酯 20，聚山梨醇酯 80 和 Triton X100 作为非离子表面活性剂具有低毒性和高表面活性，在药物制剂领域有广泛应用，它们没有生色团，紫外吸收弱。对于它们的测定，传统上基于用比色法和薄层色谱法，准确性较差。本方法利用通用型的质量检测器 CAD 来测定，具有很好的可行性和推广意义。

分析条件：

分析柱：MD150, 3 μm 3.2 \times 150 mm

柱温：室温

CAD 检测条件：N₂: 35 psi; 输出范围：500pA

流动相：65% 水 : 35% 甲醇

流速：0.5 mL/min

进样量：10 μL

结果参考：

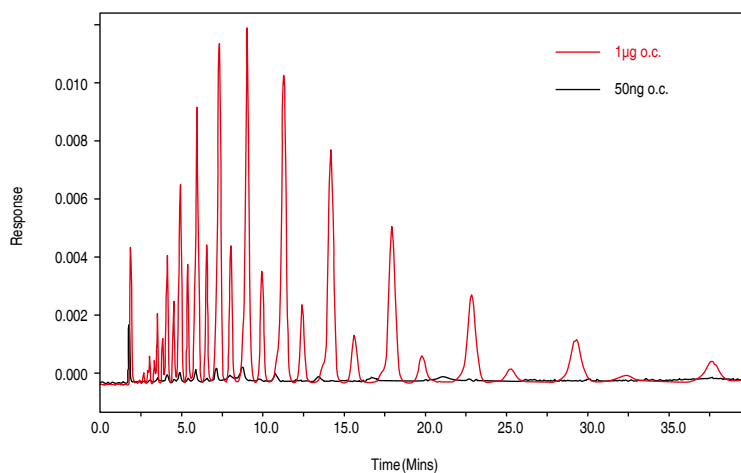


图 33 聚山梨醇酯 20

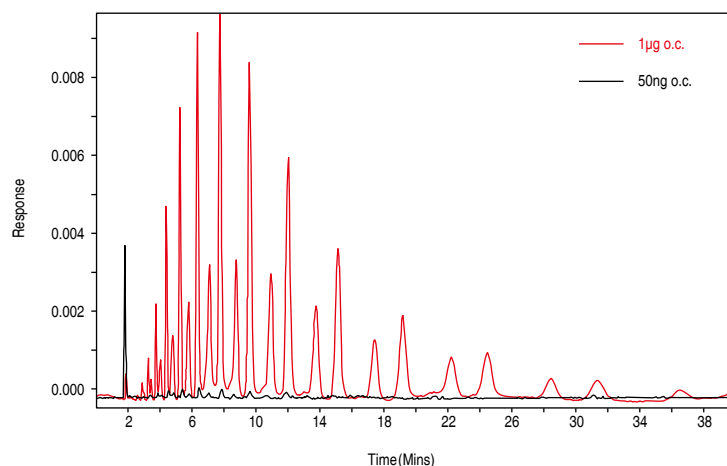


图 34 聚山梨醇酯 80

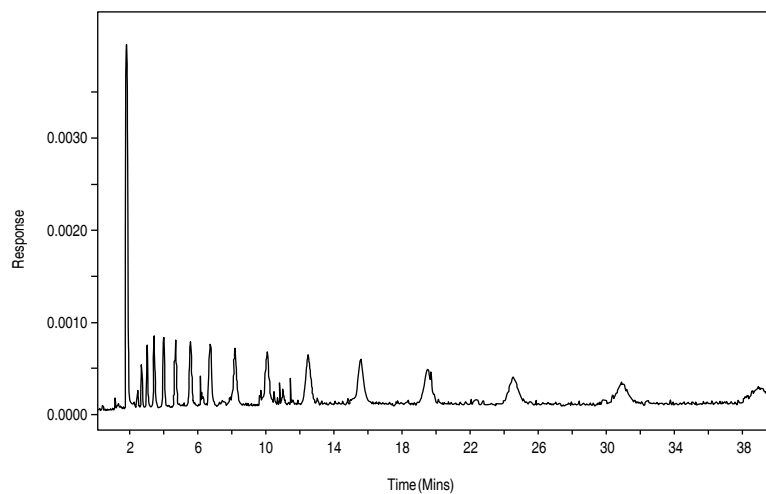


图 35 Triton X100 谱图 (1 μ g)

方法结论:

本实验建立了药物及制剂中聚山梨醇酯类化合物的含量测定方法,取得了较理想的结果,可推广应用于含有该类辅料的药物检测。

参考文献来源: AN 70-6809 Non-Ionic_Surfactants-Polysorbate_20,_Polysorbate_80 (内部资料)

第五节 CAD 在食品与化工行业中的应用

3.5.1 采用 HPLC-CAD 法直接检测低聚糖

方法简介:

对于糖链的分析,常用的方法是将其将糖蛋白使用化学法或酶解法释放出低聚糖,经吡啶基胺(PA)荧光标记后,高效液相分析,荧光检测,前处理繁琐,且N-连接的糖链在处理过程中遭到破坏,无法检测。本文建立了一种简单、快速检测低聚糖的方法。样品来自蛋黄中提取的唾液酸糖蛋白,分离使用氨基柱,检测限可达0.4 pmol。使用本方法,分析了样品中的单唾液酸低聚糖、去唾液酸低聚糖以及游离唾液酸,无需衍生化反应。本方法的建立为低聚糖检测提供了全新的工具。

分析条件:

分析柱: RP: Kaseisorb LC ODS 2000,

5 μm 4.6 \times 150mm

HILIC: TSK gel Amido-80,

2.0 mm \times 150 mm

柱温: 室温

UV: 210nm

CAD 检测条件: N₂: 35 psi; 输出范围: 100pA

进样量: 10 μL

FLD: 激发 246nm-- 发射 315nm; 激发 320nm-- 发射 400nm

流动相: A: 0.10% TFA 水溶液;

B: 0.10% TFA 乙腈溶液

流速: RP: 1 mL/min; HILIC: 0.4 mL/min

方法结论:

RP 和 HILIC 模式条件下,采用 CAD 检测器灵敏度均低于 FLD 检测器,但 CAD 在 HILIC 模式下灵敏度比 UV 高 5 倍(表 20)。虽然 CAD 灵敏度低于 FLD 检测器,但其前处理简单,无需衍生,使其具有无可争辩的优势。本方法成功用于 SGP 酸水解样品的测定(图 38)。

表 20 HILIC 模式下 SGP 和衍生化 SGP 检测限对比

	Detection limits/pmola		
	FL	UV	CAD
SGP	Not detected	1.9	0.40
Fmoc-SGP	0.044	0.42	0.39
PA-SGP	0.035	1.2	0.81

^a These values were estimated on the basis of the signal-to-noise (S/N) ratio = 3

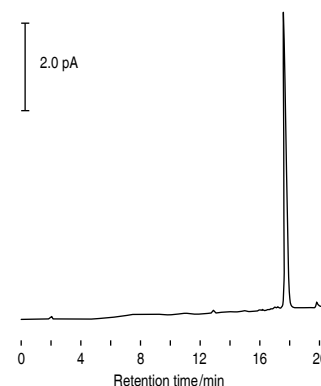


图 36 RP 模式分析 Fmoc-SGP (CAD)
Gradient: 5.0–60% B (0–30 min); sample,
50 $\mu\text{mol/L}$ Fmoc- SGP

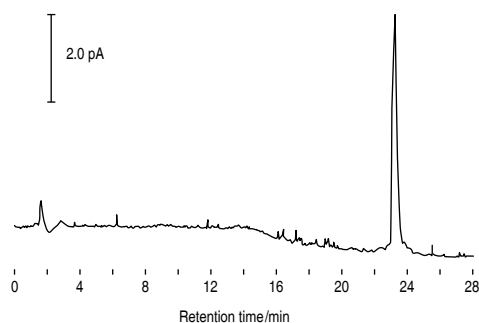


图 37 HILIC 模式分析 SGP (CAD)

Gradient: 85–20% B (0–30 min); sample, 50 $\mu\text{mol/L}$ Fmoc- SGP

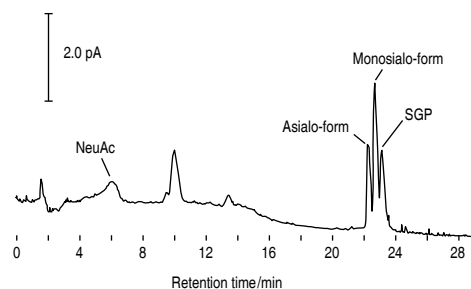


图 38 HILIC 模式分析 SGP 酸水解样品 (CAD)
条件同图 37

参考文献来源: Shinsuke Inagaki, Jun Zhe Min and Toshimasa Toyooka. Biomed. Chromatogr. 21: 338–342 (2007)

3.5.2 排阻色谱法分析聚乙二醇

方法简介:

聚乙二醇是常用的乳化剂和表面活性剂,广泛用作化妆品、食品、医药产品中,在制药行业中,聚乙二醇的作用是使药物聚乙醇化,以改善药物的溶解性、稳定性等。PEG 试剂的检测不仅涉及到纯度,还包括多分散性测试。多分散性反映了被测测量聚合物分子量分布情况,体现了 PEG 品质和一致性。本文建立了排阻色谱法-CAD 分析聚乙二醇的方法。

分析条件:

分析柱: Two PLgel MIXED-D SEC columns,

5 μm 7.5 \times 300mm

柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$

CAD 检测条件: N_2 : 35 psi

流动相: 二甲基甲酰胺

流速: 0.5 mL/min

进样量: 20 μL

方法结论:

如图 39 所示,比较了三种通用型检测器示差折光 (RI)、蒸发光散射 (ELSD) 和 CAD 检测器在测定 PEG 差异性进行了比较。以峰面积作对比,对同一个 PEG 32 kDa 试剂样品的杂质测定结果表明,RI 测定值是 21.5%,ELSD 测定值仅为 9.1%,而 CAD 则为 25.6%。由于一般来说 PEG 杂质都没有标准品对照,只能是根据峰面积比例来确定,因此线性差的 ELSD 检测器则容易出现检测值偏低,尤其在低浓度时;RI 检测器由于灵敏度较低;CAD 在 PEG 纯度确定和 PEG 分散性方面,能够提供更为精确的结果(表 22)。

表 21 7 个批次中二聚体杂质检测结果

PEG reagent Lot #	% Dimer (by peak area)			ELSD result/CAD result
	By RI	By ELSD	By CAD	
5	Not detected	0.4	7.8	5.1%
6	Not detected	2.1	11.7	18%
7	Not detected	3.2	12.0	27%
1	Not detected	2.5	13.5	19%
4	14.4	5.2	19.7	26%
2	15.6	5.4	19.9	27%
3	21.5	9.1	25.6	36%

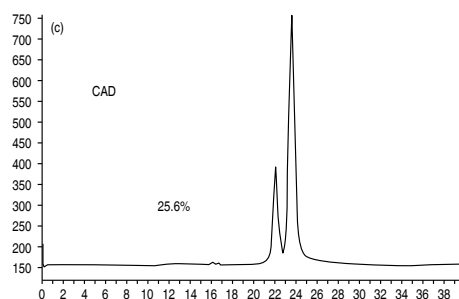
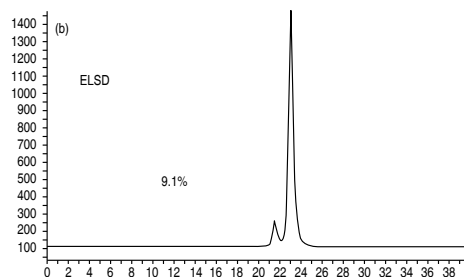
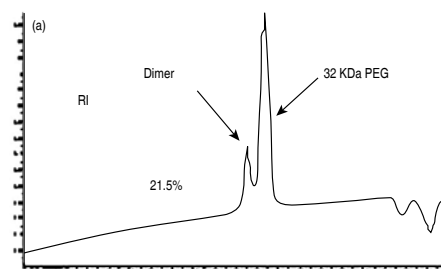


图 39 PEG 32 kDa 检测谱图 (a) RI, (b) ELSD, (c) CAD

表 22 7 个批次分散性测试结果 (CAD 和 ELSD 比较)

PEG reagent Lot #	By CAD			By ELSD		
	Polydispersity	M_w	M_n	Polydispersity	M_w	M_n
1	1.025	32264	31474	1.015	34270	33748
2	1.033	32171	31147	1.015	33332	32854
3	1.034	31904	30867	1.023	32880	32136
4	1.038	32065	30887	1.016	34252	33706
5	1.192	28924	24265	1.020	36493	35790
6	1.195	30357	25398	1.018	33170	32574
7	1.375	25039	18210	1.033	31666	30651

参考文献来源: Dawen Kou, Gerald Manius, Shangdong Zhan. Journal of Chromatography A, 1216 (2009) 5424–5428

3.5.3 阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、两性离子和非离子表面活性剂的测定

方法简介:

表面活性剂由于其特殊的结构, 在传统 C18 色谱柱上分析和测定较为困难, 本实验采用 Acclaim Surfactant 专用色谱柱, 结合 CAD 检测器对多种性质的表面活性剂进行分析, 均获得了较好的结果。

分析条件:

分析柱: Acclaim Surfactant Plus, 3 μm 3.0 \times 150 mm

柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$

DAD: 225 nm

流动相: A: 甲醇; B: 0.1 mol/L NH_4OAc ;

梯度见表 23

进样量: 2 μL

流速: 0.6 mL/min

结果参考:

表 23 梯度条件

时间 (min)	A(%)	B(%)
-8	35	65
0	35	65
8	85	15
15	85	15

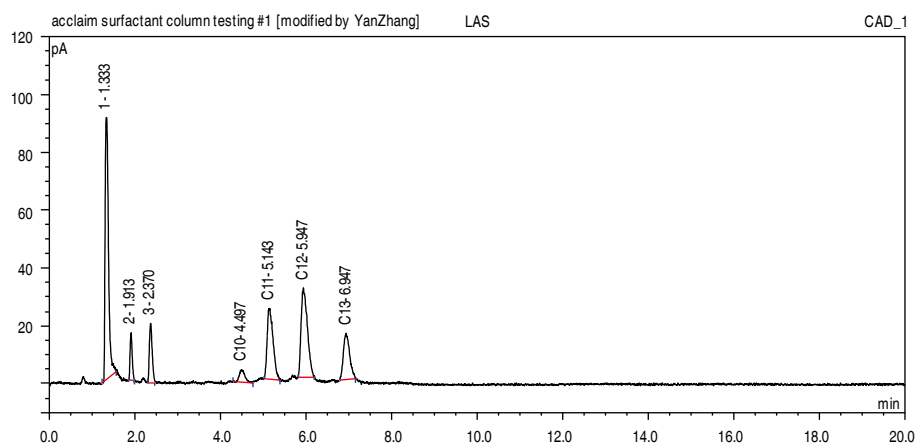


图 40 十二烷基苯磺酸钠 CAD 谱图

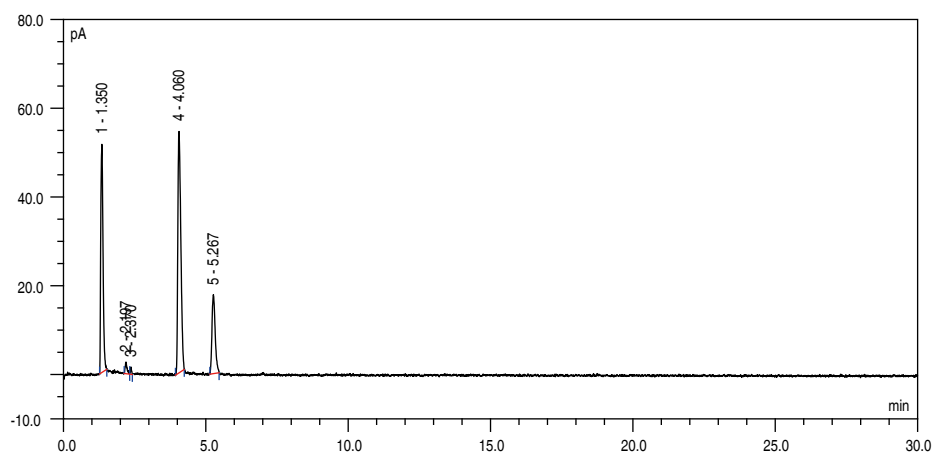


图 41 十二烷基硫酸钠 CAD 谱图

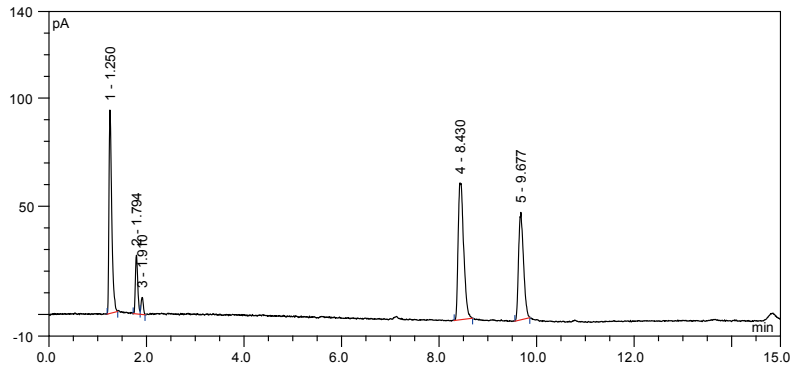


图 42 MES CAD 谱图

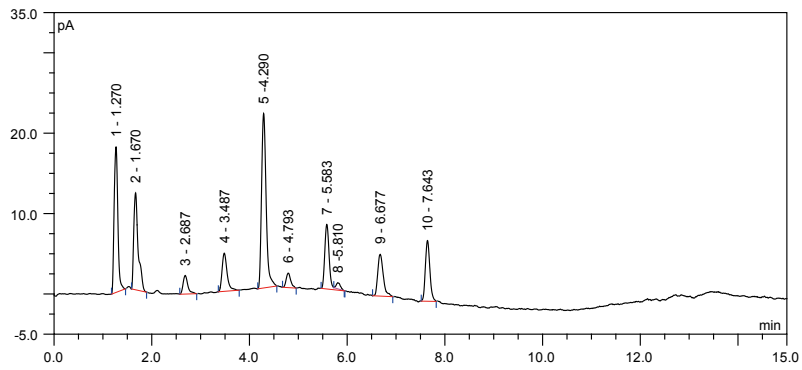


图 43 椰油酰胺丙基甜菜碱 CAD 谱图

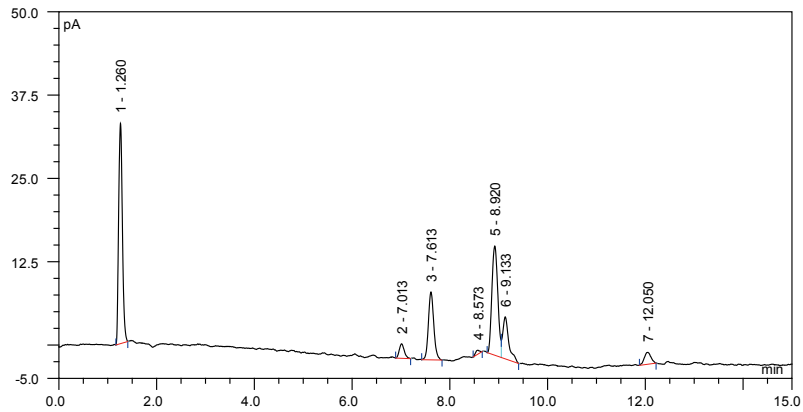


图 44 AOS 35% CAD 谱图

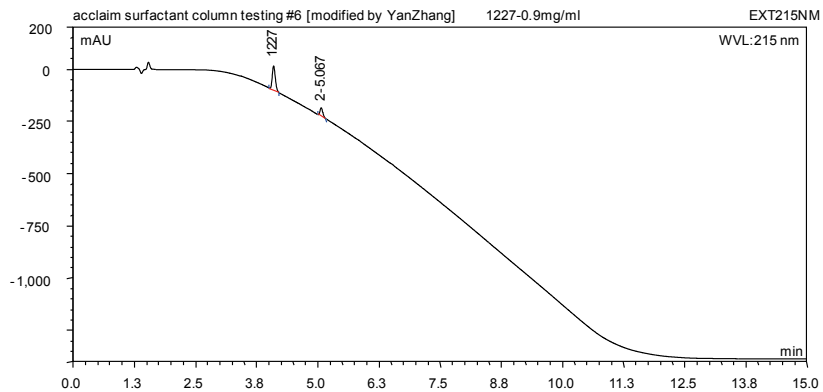


图 45 十二烷基二甲基苄基氯化铵 -1227 UV 谱图

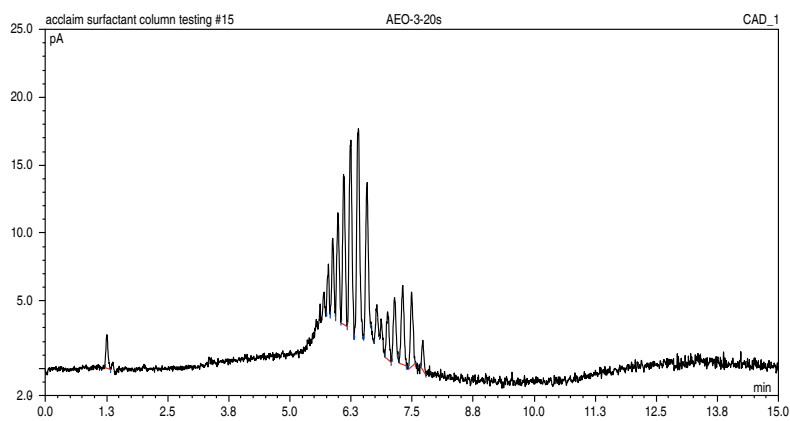


图 46 十二烷基二甲基苄基氯化铵 -1227 CAD 谱图

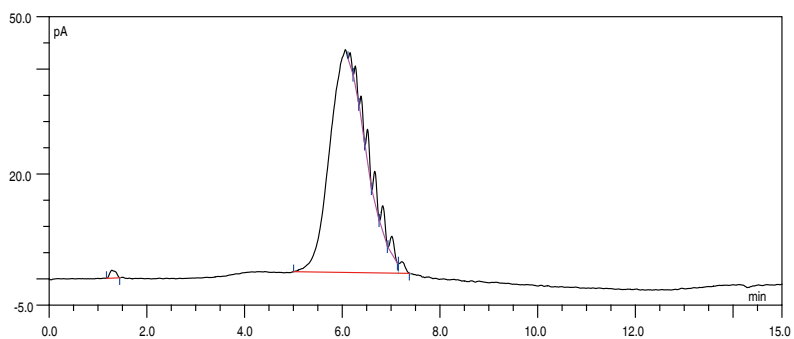


图 47 TritonX-100 CAD 谱图

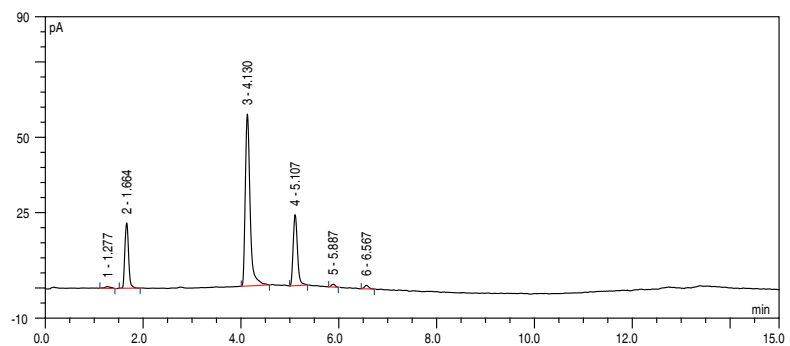


图 48 AOS 35% CAD 谱图

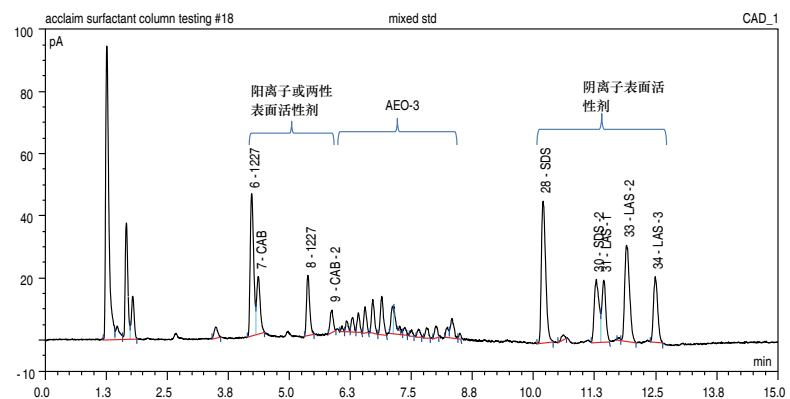


图 49 5种表面活性剂混合溶液 (浓度 0.2~0.3mg/ml)

方法结论：

该色谱柱主要吸附机制为反相疏水作用和阴离子交换作用。对阴阳离子，非离子表面活性剂均有一定保留。实验结果表明该色谱柱分离柱效高，分析时间短，柱流失少，CAD 背景较低（9~10pA）。

参考文献来源：2012-APP-RLC- 057 Acclaim Surfactant plus column 应用测试（内部资料）

3.5.4 采用柱后补偿液相色谱与电雾式检测器分析茶氨酸

方法简介：

茶氨酸(theanine, N-乙基-γ-L-谷氨酰胺)是茶叶中特有的非蛋白氨基酸,具有舒缓神经抗疲劳等作用,常作为功能性成分添加到食品饮料中。自1950年日本学者酒户弥二郎首次从绿茶中分离茶氨酸以来,对于茶氨酸的定性、定量方法,已出现了碱式碳酸铜沉淀法、强酸性阳离子交换树脂法、薄层色谱法、气相色谱法和柱前衍生反相高效液相色谱法、直接进样蒸发光散射检测法、高效液相色谱质谱法等。本文采用一种新型的通用型检测器-电雾式检测器,对紫外末端吸收的化合物灵敏度相对较高,进行直接进样分析,无溶剂干扰,以及消除了温度变化等引起的基线漂移,重现性较好,同时,采用柱后补偿进行有机相补偿,提高了雾化效率,增加了响应性,降低了检出限。

分析条件：

色谱柱：Acclaim 120 PA2 C18, 5 μm 4.6 × 250 mm

流动相：左泵：A：0.1% 三氟乙酸（体积分数）乙腈，B：0.1% 三氟乙酸（体积分数）水，洗脱梯度：0-11min 内，A 为 100%，11min-15min，A 由 100%-60%，保持 5min，然后 A 立即回到 100%，流速为 0.5mL/min；右泵，为补偿流动相，为 100% 乙腈，流速为 0.5mL/min。

进样体积：20 μL；

柱温箱：25℃

电雾式检测器参数设置：采集频率：5Hz；雾化温度 35℃；载气压力 35.0psi

结果参考：

1) 色谱柱与流动相的选择

选用 Acclaim PA2 C18 极性官能团改性柱，可以兼容 100% 水相，同时耐受较低的 pH 值，流动相中添加了 0.1% 三氟乙酸，增加了选择性，使得茶氨酸与其他化合物达到了基线分离。

2) 采用柱后补偿分析

由于电雾式检测器同质谱仪等质量型检测器一样，也是基于雾化原理的检测器，其响应值依赖于洗脱液的雾化效率，通过增加有机相比例，可以提高雾化效率，从而增加响应值，降低检出限。因此，本方法中把 DGP3600 高效液相色谱仪左泵设置为分析泵，右泵设为补偿泵，左边的梯度洗脱程序为色谱分离条件，有机相从低到高；右泵为 100% 的乙腈，作为柱后补偿流动相。

3) 线性方程为 $Y=0.1412X-0.0614$ ，相关系数 $r=0.9998$ ，线性范围为 1.0 ~ 50 μg/ml；方法最低检出限为 0.10 μg/ml（以 S/N=3 计），定量限为 0.35 μg/ml（以 S/N=10 计）；加样回收率平均值为 103.1%。

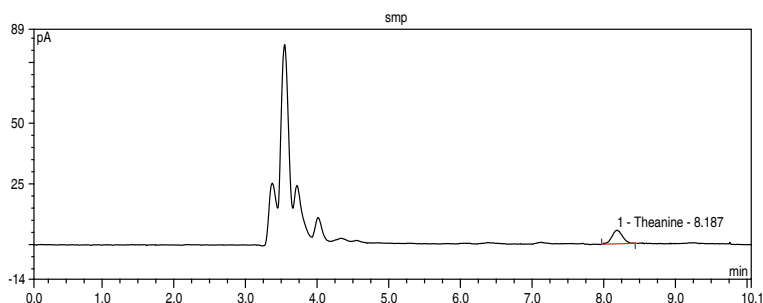


图 50 样品茶氨酸 CAD 谱图

方法结论：

本文采用最新型通用型检测器-电雾式检测器（CAD）对茶叶粗提物中的茶氨酸进行了分析，同时结合

双三元液相色谱系统进行梯度洗脱与柱后补偿，取得了较好的分析结果，与蒸发光散射检测器相比，大大降低了目标化合物的检出限，取得了较好的重现性与回收率结果，同时也避免了对茶氨酸进行衍生等复杂操作。

参考文献来源：赵粼，阙斐，周晓红，等. 柱后补偿液相色谱与电雾式检测器分析茶氨酸，食品工业科技，2012. 3

3.5.5 人造甜味剂 Sweet' N Low[®] 的检测

方法简介：

甜味剂是指赋予食品甜味为目的所加入的添加剂，在食品工业生产中应用广泛，有报道应用示差检测器或蒸发光检测器对该类成分进行检测，但灵敏度均不高，本实验使用 HPLC-CAD 法检测甜味剂 Sweet' N Low[®] 组成，灵敏度高，重现性好，具有较好的应用价值。

分析条件：

分析柱：Shiseido C18 SG300, 5 μ m 4.6 \times 150mm

柱温：室温

CAD 检测条件：N₂：35 psi；输出范围：100pA

流动相：20% 甲醇水溶液：0.1% TFA

进样量：10 μ L

流速：1.0 mL/min

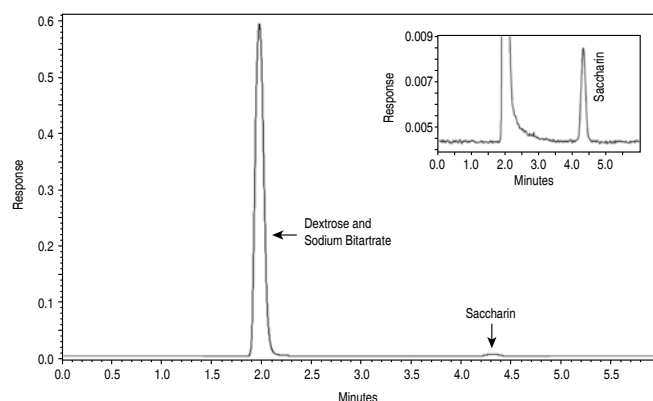


图 51 Sweet' N Low[®] 样品谱图 (10 μ g)(小图为 10x 稀释样品)

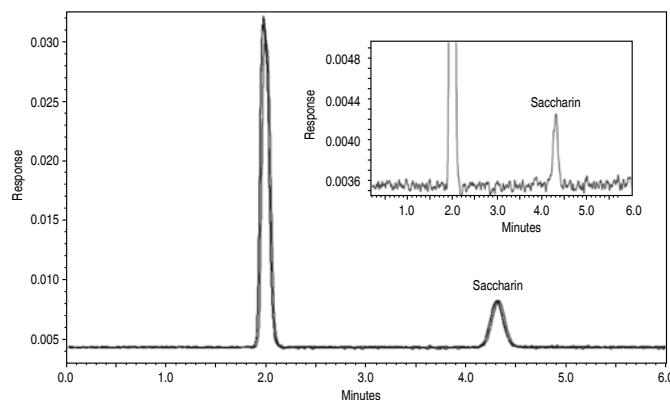


图 52 糖精钠标准品谱图 (200ng, 5 针重复进样)(小图为 20ng 标准)

方法结论：

本文采用最新型通用型检测器 - 电雾式检测器 (CAD) 对甜味剂 Sweet' N Low[®] 组成进行检测，灵敏度高，重现性好，具有较好的应用价值。

参考文献来源：AN 70-6848 Artificial_Sweeteners-2_Sweet'N_Low (内部资料)

第六节 CAD 其他特色应用资料

3.6.1 对洋地黄毒甙强降解过程中物料平衡评价

方法简介:

通用型检测技术在 HPLC 方法开发、验证和稳定性测试中发挥着越来越重要的作用。在药物降解或稳定性研究中，对其物料平衡的检测非常重要，因为它关系着母体药物的损失和降解物的增加。但是常规 HPLC-UV 由于缺乏合适的对照品或者降解物没有 UV 活性，不能用于物料平衡的检测。在这种情况下，就需要用到通用型检测器 CAD 和 ELSD。相对于 ELSD，CAD 在响应一致性方面更占优势。本文就提供了采用 CAD 检测器评价洋地黄毒甙强降解过程中物料平衡的很好的实例。

分析条件:

分析柱: Atlantis T3 C18, 3 μ m 4.6 \times 150mm

柱温: 35 $^{\circ}$ C

CAD 检测条件: N₂: 35 psi; 输出范围: 100pA

UV: 218 nm

流动相: A: Water:ACN = 89:11 (v/v); B: Water:ACN = 53:47 (v/v); 梯度条件见表 24

流速: 1 mL/min

进样量: 10 μ L

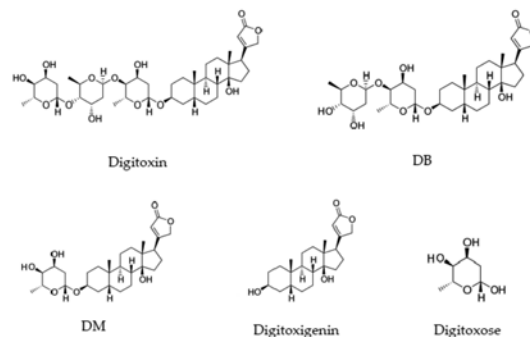


图 53 洋地黄毒甙各物质分子结构

表 24 梯度条件

时间 (min)	A(%)	B(%)
0	100	0
2.4	100	0
2.5	0	100
15	0	100
15.1	100	0
24	100	0

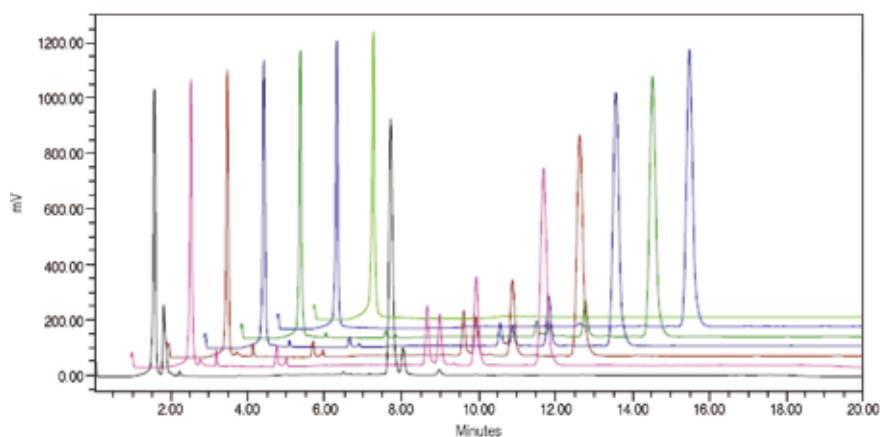


图 54 HPLC-CAD 谱图，由前至后依次为空白、样品、酸降解 4、6、10、24、240 小时后样品

方法结论：

洋地黄毒甙常用于治疗充血性心脏衰竭和心律不齐等，目前酸性水解是已知唯一的降解途径，在酸性作用下，洋地黄毒甙水解生成 DB、DM 等（见图 55）。图 54 显示了随着时间推移，洋地黄毒甙的降解过程。如图 55 显示，在低浓度时降解产物 digitoxigenin 与洋地黄毒甙的标准曲线有很好的拟合度，更加证明了同一流动相条件下，分析物具有 CAD 响应一致性的特点。通用的检测方法 CAD 能够克服 UV 检测的限制，为未知非挥发性物质提供了解决方案，并因此适用于物料平衡的监测。

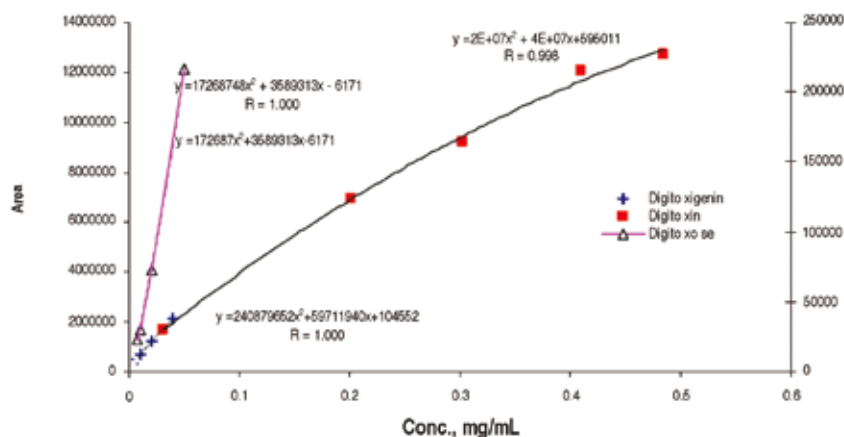


图 55 HPLC-CAD 标准曲线

参考文献来源：Lijun Duan, Kai Li, Yufei Cheng and Xiaoya Ding, PPD, 8551 Research Way, Suite 90, Middleton, WI 53562

3.6.2 生物柴油中甘油及甘油酯的测定

方法简介：

生物柴油，生物柴油是一种清洁、可再生的液态燃油，是用未加工过的或者使用过的植物油以及动物脂肪通过不同的化学反应制备得到。生物柴油最普遍的制备方法在碱性加热条件下，与甲醇发生酯交换反应，将脂肪酸甘油酯转化生产脂肪酸甲酯（FAME）。脂肪酸甲酯与柴油的物理和化学性质非常接近。但其中残留的甘油酯和游离态甘油会造成雾化不良、燃烧不完全、喷嘴堵塞等问题。但由于这类杂质没有紫外或荧光发色基团，因此常规液相检测非常困难。现在通用的解决方案是柱前衍生化反应后，使用 GC 检测，但气相色谱方法只能用于 B100 样品分析，且由于干扰峰的影响，不能用于以椰子油和棕榈油为来源的生物柴油的检测。

本文提供两种甘油酯的测定方案，分别采用正相和反相液相色谱 -CAD 联用，实现了生物柴油中甘油酯和游离甘油的高灵敏度测定。本方法可用于 B100，混合生物柴油产品及其半成品的分析。

分析条件：

（一）正相分析条件：

分析柱：custom Cyanopropyl, 3 μ m 4 \times 150 mm

柱温：40 $^{\circ}$ C

CAD 检测条件：雾化温度 15 $^{\circ}$ C；N₂：35 psi

流动相：A：2,2,4 - 三甲基戊烷（TMP）；B：甲基叔丁基醚 / 醋酸（1000 : 4）；C：TMP / 乙酸正丁酯 / 甲醇 / 醋酸（500 : 133 : 267 : 4）

流速：1~1.2 mL/min

进样量：2~10 μ L

分析谱图见图 56

表 25 物料平衡评价

	Amounts(mg/mL) at Stress Time Intervals (Hours)		
	4	6	10
%Degration	12	18	30
Digitoxin	0.3596	0.3367	0.2861
DB	0.0161	0.0237	0.0430
DM	0.0026	0.0072	0.0129
Digitoxigenin	0.0026	0.0052	0.0146
Digitoxose	0.0046	0.0060	0.0160
Unknown at 2.3 min	0.0126	0.0173	0.0289
Unknown at 3.8 and 4.1min	0.0008	0.0016	0.0044
Total Theoretical Mass	0.4114	0.4115	0.4128
Total Mass w/o unknowns	0.3856	0.3788	0.3727
Total Mass w/ unknowns	0.3989	0.3977	0.4060
Mass balance(%)w/o unknowns	93.7	92.0	90.3
Mass balance(%)w unknowns	97.0	96.6	98.4

注: 2.3min 的 unknown 组分用 digitoxose 标线定量; 3.8 和 4.1min 的 unknown 组分用 digitoxigenin 标线定量。

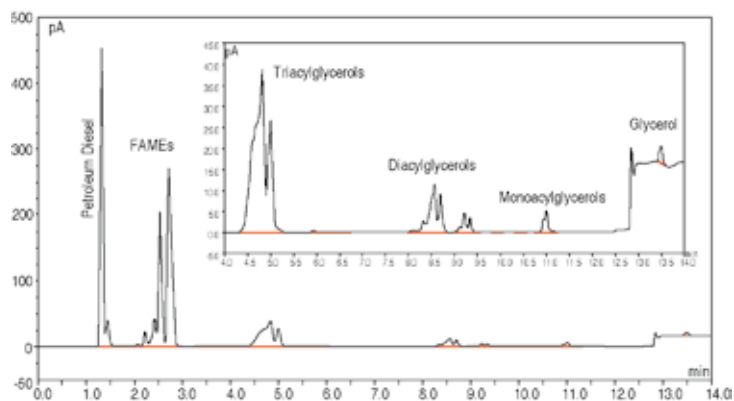


图 56 B20 生物柴油（用半成品生物柴油制备）谱图，叠加放大图为甘油酯

(二) 反相分析条件:

分析柱: Acclaim RSLC 120 C18, 2.2 μm , 2.1 \times 150 mm

柱温: 15 $^{\circ}\text{C}$

CAD 检测条件: 雾化温度 15 $^{\circ}\text{C}$; N_2 : 35 psi

流动相: A: 乙腈; B: 乙酸乙酯

流速: 0.5 mL/min

进样量: 3 μL

分析谱图见图 57

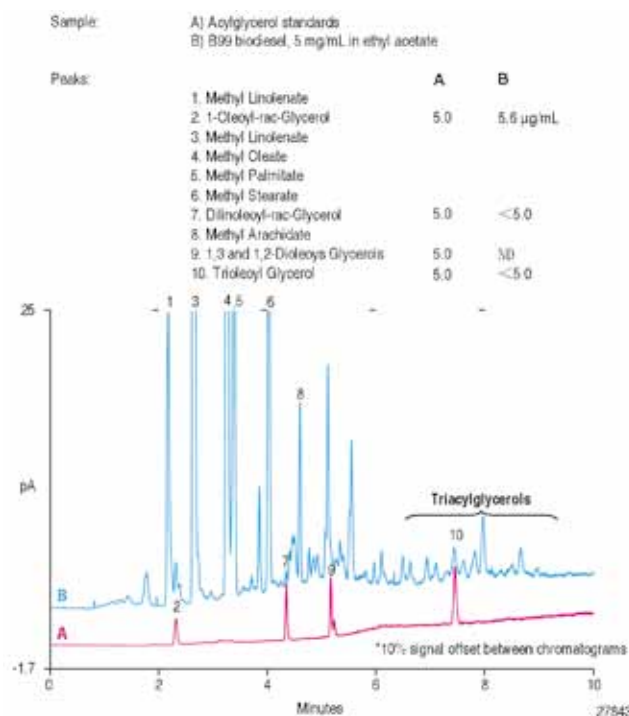


图 57 甘油酯混标 (A) 和 B99 生物柴油 (以油炸后的食用油为原料制备) 谱图

方法结论:

HPLC-CAD 方法提供了一个更简单、高效的测定生物柴油的方法, 一针进样实现游离和甘油酯同时定量。样品处理简单, 正相法直接用异辛烷 / 异丙醇 (95:5) 溶解即可直接进样, 省去了 GC 方法复杂的前处理工艺。采用正相方法对 B20 样品加标回收进行了考察, 回收率在 92.8-106.9%。本方法可以同时测定半成品和混合油脂产品, 适用于任何来源的生物柴油 (包括椰子油和棕榈油), 测定过程没有干扰峰。采用正相液相色谱法和 RP-UHPLC 方法, 均满足 ASTM D6751、EN14214 和 ASTM D6584 的检测要求。

参考文献来源: 88511-AB118-HPLC-Acylglycerols-Biodiesel-07Oct2010-LPN2626 (内部资料)

附录一 部分应用文献目录

http://www.corona-ultra.com/application_notes.html

- | | | |
|-------------|------------|-------------------------------------|
| 【1】 | AN70-8335 | 液相色谱 CAD 检测器检测海藻油 |
| 【2】 | AN70-6641 | 液相色谱 CAD 检测器检测氨基酸 |
| 【3】 | AN70-7620 | 使用 Corona CAD 检测器检测苯二氮和老化剂 |
| 【4】 | AN70-8455 | 使用液相色谱 CAD 检测器分析市场上含有甜菊糖的产品 |
| 【5】 | AN70-7897 | 使用 Corona CAD 检测器分析萃取物以及析出物的含量 |
| 【6】 | AN70-7596 | 使用 Corona CAD 检测器分析有肉毒碱和 L- 酰基肉碱 |
| 【7】 | AN70-6691 | 使用 Corona CAD 检测器分析甘油 |
| 【8】 | AN70-7902 | 使用 Corona CAD 检测器分析普朗尼克 F-68 |
| 【9】 | AN70-7619 | 使用 Corona CAD 检测器分析季氨盐 |
| 【10】 | AN70-7898 | 使用 Corona CAD 检测器分析鞘脂类 |
| 【11】 | AN70-7928 | 使用 Corona CAD 检测器分析胰蛋白酶 |
| 【12】 | AN70-7621 | 使用 Corona CAD 检测器分析水溶性的抗氧化剂 |
| 【13】 | AN70-6473 | 使用 HPLC-CAD 分析纳克级的痕量阴离子 |
| 【14】 | AN70-6647 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测抗生素 |
| 【15】 | AN70-6724 | 使用 CAD 检测器的液相色谱法检测抗痉挛药立痛定和非尔氨酯 |
| 【16】 | AN70-6705 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测抗痉挛药加巴喷丁、拉莫三嗪和托吡酯 |
| 【17】 | AN70-6466 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测青蒿素和衍生物 |
| 【18】 | AN70-6830 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测蔗糖素中人造甜味剂的含量 |
| 【19】 | AN70-6848 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测低脂糖中人造甜味剂的含量 |
| 【20】 | AN70-6955 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测人造甜味剂 |
| 【21】 | AN70-6672 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测纳克级的痕量阿奇霉素 |
| 【22】 | AN70-8305P | 使用正相高效液相色谱 CAD 检测器分析生物柴油 |
| 【23】 | AN70-6644 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测黑升麻 |
| 【24】 | AN70-6671 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测纳克级的羧酸 |
| 【25】 | AN70-6815 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测胆固醇 |
| 【26】 | AN70-6956 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测污染物和老化剂 |
| 【27】 | AN70-6811 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测玉米糖浆 |
| 【28】 | AN70-6982 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测皮质类固醇可的松和考的索 |
| 【29】 | AN70-6996 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测生物代谢物 |
| 【30】 | AN70-6507 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测脂肪酸和脂肪酸脂 |
| 【31】 | AN70-6978 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测火焰阻燃剂 |
| 【32】 | AN70-8332 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测脂肪酸 |
| 【33】 | AN70-8333 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测脂肪醇 |
| 【34】 | AN70-6643 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测银杏 |
| 【35】 | AN70-6642 | 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测高丽参 |

- 【36】 AN70-8858 使用高效液相色谱 CAD 检测器和 Chirobiotic™ T 检测氨基酸对映异构体
- 【37】 AN70-7881 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测甲基纤维素赋形剂 (HPMC) 方法一
- 【38】 AN70-7882 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测甲基纤维素赋形剂 (HPMC) 方法二
- 【39】 AN70-6977 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测蜂蜜
- 【40】 AN70-6716 使用高效液相色谱 CAD 检测器进行纯度检测
- 【41】 AN70-8322 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测天然油
- 【42】 AN70-6809 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测非离子表面活性剂
- 【43】 AN 70-6522 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测纳克级的非离子去污剂 TweenR 80
- 【44】 AN 70-6472 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测纳克级的低聚糖
- 【45】 AN 70-8334 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测石蜡
- 【46】 AN 70-6704 高效液相色谱 CAD 检测器检测纳克级的多肽: 内啡肽、脑啡肽和强啡肽
- 【47】 AN 70-6820 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测杀虫剂——阿特拉津
- 【48】 AN 70-6850 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测杀虫剂——硫丹
- 【49】 AN 70-6988 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测石碳酸盐
- 【50】 AN 70-6506 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测磷脂质类: DPPE 和 DPPC
- 【51】 AN 70-6468 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测磷脂质类: 卵磷脂和鞘磷脂
- 【52】 AN 70-6661 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测植物雌激素: 香豆素类和木脂素类
- 【53】 AN 70-6660 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测植物雌激素
- 【54】 AN 70-6521 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测低含量的聚乙二醇 (PEG400)
- 【55】 AN 70-6703 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测纳克级的蛋白质
- 【56】 AN 70-8859 使用快速液相色谱 CAD 检测器快速检测抗生素和杂质
- 【57】 AN 70-8860 使用快速液相色谱 CAD 检测器快速检测庆大霉素含量和杂质
- 【58】 AN 70-6471 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测纳克级的简单糖类化合物
- 【59】 AN 70-8310P 高效液相色谱 CAD 检测器同时检测棕榈油中的甘油酯和游离脂肪酸
- 【60】 AN 70-8375 使用高效液相色谱 CAD 检测器同时检测阴阳离子
- 【61】 AN 70-6645 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测大豆皂甙
- 【62】 AN 70-6995 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测类固醇激素
- 【63】 AN 70-6646 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测纳克级的类固醇
- 【64】 AN 70-6983 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测糖醇: 甘露糖和紫杉醇类
- 【65】 AN 70-6934 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测紫杉醇类
- 【66】 AN 70-6465 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测睾丸素
- 【67】 AN 70-6467 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测 nano 及的痕量甘油三酸脂
- 【68】 AN 70-8323 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测甘油三酸酯
- 【69】 AN70-6808 高效液相色谱 CAD 检测器检测不饱和脂肪酸花生四烯酸、亚麻酸和油酸
- 【70】 AN 70-6976 使用高效液相色谱 CAD 检测器检测树糖

附录二 部分公开发表的文献目录

- | | | | |
|-------------|---|--|--|
| 【1】 | Dixon, R.W.; Peterson, D.S. | Development and testing of a detection method for liquid chromatography based on aerosol charging | Anal. Chem, 74, 2930-2937 |
| 【2】 | Gamache, P.; McCarthy, | HPLC analysis of non-volatile analytes using charged aerosol detection | LC-GC Europe, 18(6) 345-354, and LC-GC North America |
| 【3】 | Cascone, A.; Ritieni, A.; | Study and prevention of lipid oxidation in meat | Thesis |
| 【4】 | Gamache, P.; McCarthy, R.S.; Asa, D. | Development and evaluation of Corona charged aerosol detection (CAD) | LabPlus international |
| 【5】 | Asa, D. | Impurity testing with a universal HPLC detector | Genetic Eng. News |
| 【6】 | Teutenberg, T.; Tuerk, J.; Holzhauser, M.; Kiffmeyer, | Evaluation of column bleed by using an ultraviolet and a charged aerosol detector | J. Chrom. A, 1119, 197-201 |
| 【7】 | Sherma, J.; Larkin, J.D.; Larkin F.H. | The corona charged aerosol detector for liquid chromatography and high field asymmetric waveform ion mobility spectrometry | J. AOAC International, 89(1), 15-19A |
| 【8】 | Feng Yan, Jeffrey W. Munos, Pinghua Liu, and Hung-wen Liu | Biosynthesis of Fosfomycin, Re-examination and Re-confirmation of A Unique Fe(II) and NAD(P)H-dependent Epoxidation Reaction | Biochemistry. 2006 September 26; 45(38): 11473–11481 |
| 【9】 | Annunziata Cascone, Susanna Eerola, Alberto Ritieni, Aldo Rizzo | Development of analytical procedures to study changes in the composition of meat phospholipids caused by induced oxidation. | Journal of chromatography. A. 2006 Jul 7;1120(1-2): 211-20 |
| 【14】 | Chai-Lin Kao, Svetlana A. Borisova, Hak Joong Kim, and Hung-wen Liu | Linear Aglycones Are the Substrates for Glycosyltransferase DesVII in Methymycin Biosynthesis: Analysis and Implications | J Am Chem Soc. 2006 May 3; 128(17): 5606–5607. |
| 【15】 | Feng Yan, Jeffrey W. Munos, Pinghua Liu, and Hung-wen Liu | Biosynthesis of Fosfomycin, Re-examination and Re-confirmation of A Unique Fe(II) and NAD(P)H-dependent Epoxidation Reaction | Biochemistry. 2006 September 26; 45(38): 11473–11481. |

- 【16】 Marcus Koppitz and Knut Eis Automated medicinal chemistry Drug Discovery Today Volume 11, Numbers 11/12, pp
- 【17】 Dixon, R.W.; Baltzell, G. Determination of levoglucosan in atmospheric aerosols using aerosol charge detection J. Chromat. A 1109, 214-221
- 【18】 Gorecki, T.; Lynen, F.; Szucs, R.; Sandra, P. Universal response in liquid chromatography using charged aerosol detection Anal. Chem, 78, 3186-3192
- 【19】 Moreau, R.A. The analysis of lipids via HPLC with a charged aerosol detector Lipids, 41(7), 727-734
- 【20】 Wipf, P.; Werner, S.; Twining; L.A.; Kendall, C. HPLC determinations of enantiomeric ratios Chirality, 19(1), 5-9
- 【21】 Inagaki, S.; Min, J.Z.; Toyooka, T. Direct detection method of oligosaccharides with charged aerosol detection Biomed. Chrom. 21, 338-342
- 【22】 Asa, D. Applying universal HPLC detection in pharmaceutical development and manufacturing LabPlus international
- 【23】 BRUNELLI C. ; GORECKI T. ; ZHAO Y.; Corona-charged aerosol detection in supercritical fluid chromatography for pharmaceutical analysis Anal. Chem. 79 (2007) 2472
- 【24】 Majors, R.E. Technology and application highlights of HPLC 2007 LC-GC North America
- 【25】 Suvi Ojanperä, Soile Tuominen, Ilkka Ojanperä Single-calibrant quantification of drugs in plasma and whole blood by liquid chromatography Journal of Chromatography B, 856 (2007) 239-244
- 【26】 Nishimoto, M.; Kitaoka, M. Practical preparation of lacto-N-biose I, a candidate for the bifidus factor in human milk Biosci. Biotechnol. Biochem., 71(8), 2101-2104
- 【27】 André de Villiers, Tadeusz Górecki, Frédéric Lynen, Roman Szucs Improving the universal response of evaporative light scattering detection by mobile phase compensation. Journal of chromatography. A. 2007 Aug 17;1161(1-2): 183
- 【28】 Fabián León-Tamariz, Isabelle Verbaeys, Maurits PEGylation of cholecystokinin prolongs its anorectic effect in rats Peptides 28 (2007) 1003 – 1011
- 【29】 Eva Persson, Lars Lofgren, Goran Hansson, Simultaneous assessment of lipid classes and bile acids in human intestinal fluid Journal of Lipid Research Volume 48, 2007, pp.242-251
- 【30】 Shinsuke Inagaki, Jun Zhe Min and Toshimasa Toyooka Direct detection method of oligosaccharides by high-performance liquid chromatography with charged aerosol detection Biomed. Chromatogr. 21: 338-342 (2007)

【31】	Forsatz, B.; Snow, N.H.	Understanding charged aerosol detection with high performance liquid chromatography	Thesis
【32】	Forsatz, B.; Snow, N.H.	HPLC with charged aerosol detection for pharmaceutical cleaning validation	LC-GC North America
【33】	Loughlin, J.; Phan, H.; Wan, M.; Guo, S.; May, K.; Lin, B.	Evaluation of charged aerosol detection (CAD) as as complementary technique for high-throughput analysis of drug discovery screening libraries	American Laboratory
【34】	Hazotte, A.; Libong, D.; Matoga, M.; Chaminade,	Comparison of universal detectors for high-temperature micro liquid chromatography	J. Chrom. A, 1170, 52-61
【35】	Lisa, M.; Lynen, F.; Holcapek, M., Sandra, P.	Quantitation of triacylglycerols from plant oils using charged aerosol detection	J. Chrom. A
【36】	Lobback, C.; Backensfield, T.; Funke, A.; Weitschi	Quantitative determination of nonionic surfactants with CAD	Chromatography Techniques
【37】	Pistorino, M.; Pfeifer, B.	Polyketide analysis using mass spectroscopy, evaporative light scattering, and charged aerosol detector systems	Anal. Bioanal. Chem., 390, 1189-1193
【38】	I. Brondz, D. Ekeberg, K. Høiland, D. S. Bell, A. R. Annino	The Real Nature of the Indole Alkaloids in Cortinarius infractus: evaluation of artifact formation through solvent extraction method	J. Chromat. A. (in press)
【39】	Clos, J.F.; DuBois, G.E.; Prakash, I.	Photostability of rebaudioside A and stevioside in beverages	J. Agric. Food Chem. 56, 8507-8513
【40】	Reilly, J.; Everatt, B.; Aldcroft, C	Implementation of charged aerosol detection in routine reversed phase liquid chromatography	J. Liq. Chromat. Rel. Tech, 31, 3132-3142
【41】	Jin-Ha Kim, Byung-Chul Lim, Soo-Jin Yeom, Yeong-Su Kim,	Differential Selectivity of the Escherichia coli Cell Membrane Shifts the Equilibrium for the Enzyme-Catalyzed Isomerization of Galactose	APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Apr. 2008, p. 2307–2313
【42】	Kiyohiko Igarashi, Takuya Ishida, Chiaki Hori, and Masahiro Samejima*	Characterization of an Endoglucanase Belonging to a New Subfamily of Glycoside Hydrolase Family 45 of the Basidiomycete Phanerochaete chrysosporium	APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Sept. 2008, p. 5628–5634
【43】	Jean-Luc Wolfender	HPLC in Natural Product Analysis: The Detection Issue	Planta Med

- 【44】 Stefan Louw, Alberto S. Pereira, Frédéric Lynen, Melissa Hanna-Brown, Pat Sandra
Serial coupling of reversed-phase and hydrophilic interaction liquid chromatography to broaden the elution window for the analysis of pharmaceutical compounds
Journal of Chromatography A, 1208 (2008) 90–94
- 【45】 Ping Sun, Xiande Wang, Lori Alquier, Cynthia A. Maryanoff
Determination of relative response factors of impurities in paclitaxel with high performance liquid chromatography equipped with ultraviolet and charged aerosol detectors
Journal of Chromatography A, 1177 (2008) 87–91
- 【46】 Zhanna Y. Yuabova, David R. Holschlag,
Genotoxic Impurities: A Quantitative Approach
Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies®, 31: 2318–2330, 2008
- 【47】 Kiyohiko Igarashi, Takuya Ishida, Chiaki Hori, and Masahiro Samejima
Characterization of an Endoglucanase Belonging to a New Subfamily of Glycoside Hydrolase Family 45 of the Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*
APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Sept. 2008, p. 5628–5634
- 【48】 Jeffrey W. Munos, Sung-Ju Moon, Steven O.
Purification and Characterization of the Epoxidase Catalyzing the Formation of Fosfomycin from *Pseudomonas syringae*
Biochemistry. 2008 Aug 19;47(33):8726-35. Epub 2008 Jul 26
- 【49】 V Gaberc-Porekar, I Zore, B Podobnik, V Menart
Obstacles and pitfalls in the PEGylation of therapeutic proteins
Current Opinion in Drug Discovery & Development 2008 11(2):242-250
- 【50】 Maria Vertzoni, Helen Archontaki and Christos Reppas
Determination of intraluminal individual bile acids by HPLC with charged aerosol detection
Journal of Lipid Research, Vol. 49, 2690-2695, December 2008
- 【51】 Bin Zhang & Xiaofeng Li & Bing Yan
Advances in HPLC detection—towards universal detection
Anal Bioanal Chem (2008) 390:299–301
- 【52】 Peng Ai, Gu Yong, Gui Dingkun, Zhu Qiuyu, Zhu Kaiyuan, Lin Shanyan
Aqueous extract of *Astragali Radix* induces human natriuresis through enhancement of renal response to atrial natriuretic peptide
Journal of Ethnopharmacology 116 (2008) 413–421
- 【53】 Jun Wada, Yuji Honda, Masamichi Nagae,
1,2- α -LL-Fucosynthase: A glycosynthase derived from an inverting α -glycosidase with an unusual reaction mechanism
FEBS Letters 582 (2008) 3739–3743
- 【54】 R. Díaz-López, D. Libong, N. Tsapis, E. Fattal, P. Chaminade
Quantification of pegylated phospholipids decorating polymeric microcapsules of perfluorooctyl bromide by reverse phase HPLC with a charged aerosol detector
Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 48 (2008) 702–707
- 【55】 Waraska, J.; Acworth, I.N.
Neurolipids and the use of a charged aerosol detector
American Biotech. Lab.

- 【56】** Kanisa Kittirattanapiboon, Kanit Krisnangkura Separation of acylglycerols, FAME and FFA in biodiesel by size exclusion chromatography *Eur. J. Lipid Sci. Tech.*, 110(5), 422-427
- 【57】** Xiao-Keng Liu, Jiang B Fang, Nina Cauchon, Pengzu Zhou Direct stability-indicating method development and validation for analysis of etidronate disodium using a mixed-mode column and charged aerosol detector *J. Pharm. Biomed. Analysis*, 46(4), 639-644
- 【58】** Radka Mikelova, Zbynek Prokop, Karel Stejskal, Vojtech Adam, Enzymatic Reaction Coupled with Flow-Injection Analysis with Charged Aerosol, Coulometric, or Amperometric Detection for Estimation of Contamination of the Environment by Pesticides *Chromatographia*, 67(1), 47-53
- 【59】** Vervoort, N.; Daeman, D.; Török, G. Performance evaluation of evaporative light scattering detection and charged aerosol detection in reversed phase liquid chromatography *J. Chromat. A*, 1189(1-2), 92-100
- 【60】** Ian Sinclair and Richard Gallagher Charged Aerosol Detection: Factors for consideration in its use as a generic quantitative detector *Chromatography Today* 1(3), 5-9
- 【61】** Kayori Takahashia*, Shinichi Kinugasa, Masaaki Senda Quantitative comparison of a corona-charged aerosol detector and an evaporative light-scattering detector for the analysis of a synthetic polymer by supercritical fluid chromatography *J. Chrom. A*
- 【62】** Ramos RG, Libong D, Rakotomanga M, Gaudin K, Loiseau PM Comparison between charged aerosol detection and light scattering detection for the analysis of Leishmania membrane phospholipids *J. Chromat. A*, 1209, 88-94
- 【63】** Nair, L.; Werling, J.O. Aerosol based detectors for the investigation of phospholipid hydrolysis in a pharmaceutical suspension formulation *J. Pharm. Biomed. Analysis*, 49, 95-99
- 【64】** Eugene Beilin, Lee J. Baker, Paul Culbert Quantitation of acetol in common pharmaceutical excipients using LC-MS *J. Pharm. Biomed. Analysis*, 46(2), 316-321
- 【65】** R. Díaz-López, D. Libong, N. Tsapisa, E. Fattala, and P. Chaminade Quantification of pegylated phospholipids decorating polymeric microcapsules of perfluorooctyl bromide with a charged aerosol detector *J. Pharm. Biomed. Analysis*, 48(3), 702-707
- 【66】** G. Reid McDonald, Alan L. Hudson Bioactive contaminants leach from disposable laboratory plasticware *Science*, 322(5903), 917

- 【67】 Stojanovic, A.; Lämmerhofer, M.; Kogelnig, D.; Schiesel, S.; Sturm, M.; Analysis of quaternary ammonium and phosphonium ionic liquids by reversed-phase high performance liquid chromatography with charged aerosol detection and unified calibration J. Chromatogr. A 2008 Oct 31; 1209 (1-2) 179-87
- 【68】 Carina Schönherr, Sounia Touchene, Gaston Wilser, Regine Peschka-Süss Simple and precise detection of lipid compounds present within liposomal formulations using a charged aerosol detector J. Chromat. A, 1216, 781-786
- 【69】 Díaz-López R, Tsapis N, Libong D, Chaminade P, Connan C, Phospholipid decoration of microcapsules containing perfluorooctyl bromide used as ultrasound contrast agents Biomaterials 30, 1462-1472
- 【70】 Suvi Ojanperä DRUG ANALYSIS WITHOUT PRIMARY REFERENCE STANDARDS Academic dissertation
- 【71】 L. Nováková, S.A. Lopéz, D. Solichová, D. Šat nský, B. Kulichová, A. Comparison of UV and charged aerosol detection approach in pharmaceutical analysis of statins Talanta
- 【72】 Ashish Soman, M. Jerfy, and F. Swaneek Validated HPLC Method for the Quantitative Analysis of a 4-Methanesulfonyl-Piperidine Hydrochloride Salt Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, (2009), 37, 1000–1009
- 【73】 Christopher B. Fox, Ryan C. Anderson, Timothy S. Dutill, Monitoring the effects of component structure and source on formulation stability and adjuvant activity of oil-in-water emulsions Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 65 (2008) 98–105
- 【74】 IAN SINCLAIR and ISABEL CHARLES Applications of the Charged Aerosol Detector in Compound Management Journal of Biomolecular Screening 14(5); 2009 pp. 531-537.
- 【75】 Dawen Kou, Gerald Manius, Shangdong Zhan, Hitesh P Chokshi Size exclusion chromatography with Corona charged aerosol detector for the analysis of polyethylene glycol polymer. Journal of chromatography. A. 2009 Jul 10;1216(28): 5424-8
- 【76】 Gregory K Webster, Ian Marsden, Cynthia A Pommerening, Determination of relative response factors for chromatographic investigations using NMR spectrometry. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. 2009 Jul 12;49(5): 1261-5
- 【77】 Changcai Bai, Xingyun Chai, Xiaoyan Gao HPLC-CAD in optimizing of saponins extraction from Radix et Rhizoma Notoginseng China journal of Chinese materia medica. 2009 Mar;34(6):
- 【78】 Irena Kralj Cigi and Helena Prosen An Overview of Conventional and Emerging Analytical Methods for the Determination of Mycotoxins J. AOAC Intern. 2006;89:1573–1580
- 【79】 Jayashree Ramaswamy, Shiv O. Prasher The effect of composting on the degradation of a veterinary pharmaceutical Bioresource Technology xxx (2009) xxx–xxx

- 【80】** Alegr a Carrasco-Pancorbo, Natalia Navas-Iglesias, Luis Cuadros-Rodr guez From lipid analysis towards lipidomics, a new challenge for the analytical chemistry of the 21st century. Part I: Modern lipid analysis Trends in Analytical Chemistry, Vol. 28, No. 3, 2009
- 【81】** Zarah Forsberg Hydrolysis and Glycosynthase Activity Studies of Laminarinase, Lam16A, Wildtype and its Catalytic Deficient Mutants Masters Thesis
- 【82】** Jing Zhang Structure-Function Studies of Biomass Degrading Enzymes Master Thesis
- 【83】** Isabel Márquez-Sillero, Eva Aguilera-Herrador, Soledad Cárdenas, Miguel Valcárcel Determination of parabens in cosmetic products using multi-walled carbon nanotubes as solid phase extraction sorbent and corona-charged aerosol detection system Journal of Chromatography A, 1217 (2010) 1–6
- 【84】** Huang Z, Richards MA, Zha Y, Francis R, Lozano R, Ruan J. Determination of inorganic pharmaceutical counterions using hydrophilic interaction chromatography coupled with a Corona® CAD detector J Pharm Biomed Anal. 2009 Dec 5;50(5):809-14
- 【85】** Chris Crafts, Bruce Bailey, Marc Plante, Ian Acworth Evaluation of Methods for the Simultaneous Analysis of Cations and Anions Using HPLC with Charged Aerosol Detection and a Zwitterionic Stationary Phase Journal of Chromatographic Science, Vol. 47, 2009
- 【86】** Agata B azewicz, Zbigniew Fija ek, Ma gorzata Warowna-Grzeskiewicz, Magdalena Jadachb Determination of atracurium, cisatracurium and mivacurium with their impurities in pharmaceutical preparations by liquid chromatography with charged aerosol detection J Chromatogr A. 2010 Feb 19;1217(8):1266-72
- 【87】** Michael Swartz,Mark Emanuele,Amber Awad Charged Aerosol Detection in Pharmaceutical Analysis: An Overview Chromatography Online, 01Apr2009
- 【88】** Christopher B. Fox Squalene Emulsions for Parenteral Vaccine and Drug Delivery Molecules 2009, 14, 3286-3312
- 【89】** Yugo Iwasaki, Atsushi Masayama, Akihiro Mori, Chika Ikeda Composition analysis of positional isomers of phosphatidylinositol by high-performance liquid chromatography Journal of Chromatography A, 1216 (2009) 6077–6080
- 【90】** Clifford R. Mitchell, Ye Bao, Nancy J. Benz, Shuhong Zhang Comparison of the sensitivity of evaporative universal detectors and LC/MS in the HILIC and the reversed-phase HPLC modes J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2009 Dec 15;877(32):4133-9
- 【91】** Chang-Cai Bai, Shu-Yan Han, Xing-Yun Chai, Yong Jiang, Ping Li, Sensitive Determination of Saponins in Radix et Rhizoma Notoginseng by Charged Aerosol Detector Coupled with HPLC Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies 1, 32: 242–260, 2009

- 【92】 Roy W Dixon Aerosol-based detectors for liquid chromatography: do they have a role in bioanalysis? *Bioanalysis* (2009) 1(8), 1389–1392
- 【93】 Lucie Nováková, , Hydrophilic interaction liquid chromatography – charged aerosol detection as a straightforward solution for simultaneous analysis *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009) 4574–4581
- 【94】 Karolina Stypulkowska, Agata Blazewicz,& Zbigniew Fijalek, Determination of Gentamicin Sulphate Composition and Related Substances in Pharmaceutical Preparations by LC with Charged Aerosol Detection *Chromatographia* 2010, 72, December (No. 11/12)
- 【95】 Agata Blazewicz,& Zbigniew Fijalek, Katarzyna Sarna, Determination of Pancuronium and Its Impurities in Pharmaceutical Preparation by LC with Charged Aerosol Detection *Chromatographia* 2010, 72, 183-186
- 【96】 Ulrike Holzgrabe, Cees-Jan Nap, Tanja Beyer Alternatives to amino acid analysis for the purity control of pharmaceutical grade L-alanine *J. Sep. Sci.* 2010, 33,1–9
- 【97】 Ulrike Holzgrabea, Cees-Jan Nap, Stefan Almeling Control of impurities in l-aspartic acid and l-alanine by high-performance liquid chromatography coupled with a corona charged aerosol detector *J. Chromatogr. A* (2009), doi:10.1016/j.chroma.2009.11.036
- 【98】 Arul Joseph, Abu Rustum Development and validation of a RP-HPLC method for the determination of gentamicin sulfate and its related substances *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 51 (2010) 521–531
- 【99】 Joseph P. Hutchinson, Jianfeng Li, William Farrell Manuscript Title: Universal Response Model for a Corona Charged Aerosol Detector *Journal of Chromatography A*,doi:10.1016/j.chroma.2010.09.056
- 【100】 Hitoshi Suzuki, Kiyohiko Igarashi, and Masahiro Samejima Cellotriase and Cellotetraose as Inducers of the Genes Encoding Cellobiohydrolases in the Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium* *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, Sept. 2010, p. 6164–6170
- 【101】 Michael Melmer, Thomas Stangler, Andreas Premstaller,Wolfgang Lindner Solvent effects on the retention of oligosaccharides in porous graphitic carbon liquid chromatography *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 6092–6096
- 【102】 Jin-zhong Xiao, Sachiko Takahashi, Mamoru Nishimoto, Distribution of In Vitro Fermentation Ability of Lacto-N-Biose I, a Major Building Block of Human Milk Oligosaccharides, in Bifidobacterial Strains *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, Jan. 2010, p. 54–59

- 【103】** Ke Zhang, Lulu Dai, Nik P. Chetwyn Simultaneous determination of positive and negative pharmaceutical counterions using mixed-mode chromatography coupled with charged aerosol detector *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 5776-5784
- 【104】** Jia Shaodong, Won Jun Lee, Ji Won Ee, Jeong Hill Park, SungWon Kwon, Jeongmi Lee Comparison of ultraviolet detection, evaporative light scattering detection and charged aerosol detection methods for liquid-chromatographic determination of anti-diabetic drugs *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 51 (2010) 973-978
- 【105】** Arul Joseph, Shrina Patel, and Abu Rustum Development and Validation of a RP-HPLC Method for the Estimation of Netilmicin Sulfate and its Related Substances using Charged Aerosol Detection *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 48, August 2010
- 【106】** C. Merle; C. Laugel; P. Chaminade; A. Baillet-Guffroy QUANTITATIVE STUDY OF THE STRATUM CORNEUM LIPID CLASSES BY NORMAL PHASE LIQUID CHROMATOGRAPHY: COMPARISON *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 33: 5, 629—644
- 【107】** Vehovec T, Obreza A. Review of operating principle and applications of the charged aerosol detector *J Chromatogr A*. 2010 Mar 5;1217(10):1549-56
- 【108】** Hyesun Yeom, Joon Hyuk Suh, Jeong-Rok Youm, and Sang Beom Han Simultaneous Determination of Triterpenoid Saponins from *Pulsatilla koreana* using High Perform (HPLC-CAD) *Bull. Korean Chem. Soc.* 2010, Vol. 31, No. 5 1159
- 【109】** Christine Edwards, Linda A. Lawton Assessment of microcystin purity using charged aerosol detection *J Chromatogr A*. 2010 Aug 6;1217(32):5233-8
- 【110】** Li Wang, Wen-Shun He, Hai-Xia Yan, Yong Jiang, Performance Evaluation of Charged Aerosol and Evaporative Light Scattering Detection for the Determination of Ginsenosides by LC *Chromatographia* Volume 70, Numbers 3-4, 603-608
- 【111】** Eita Sasaki, Yasushi Ogasawara, and Hung-wen Liu A Biosynthetic Pathway for BE-7585A, a 2-Thiosugar-Containing Angucycline-Type Natural Product *J. AM. CHEM. SOC.* 2010, 132, 7405-7417
- 【112】** Seung Hyun Kim, Ho Kyung Kim, Eun Sun Yan Optimization of pressurized liquid extraction for spicatoside A in *Liriope platyphylla* *Separation and Purification Technology* 71 (2010) 168-172
- 【113】** Kakigi Y, Mochizuki N, Icho T, Hakamatsuka T, Goda Y. Analysis of terpene lactones in a Ginkgo leaf extract by high-performance liquid chromatography using charged aerosol detection. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2010;74(3):590-4

- 【114】 Raquel Díaz-Lopez, Nicolas Tsapis, Mathieu The performance of PEGylated nanocapsules of perfluorooctyl bromide as an ultrasound contrast agent *Biomaterials* 31 (2010) 1723–1731
- 【115】 Szabolcs Fekete, Katalin Ganzler, Jenő Fekete Fast and sensitive determination of Polysorbate 80 in solutions containing proteins *J Pharm Biomed Anal.* 2010 Sep 5;52(5):672-9
- 【116】 de la Mata-Espinosa P, Bosque-Sendra JM, Bro R, Discriminating olive and non-olive oils using HPLC-CAD and chemometrics. *Anal Bioanal Chem.* 2011 Feb;399(6):2083-92.
- 【117】 Christiansen A, Backensfeld T, Kühn S, Weitschies W. Investigating the Stability of the Nonionic Surfactants Tocopheryl Polyethylene Glycol Succinate and Sucrose Laurate by MS, DAD, and CAD *J Pharm Sci.* 2011 May;100(5):1773-82
- 【118】 Andreas Greiderer, Linda Steeneken, Tom Aalbers, Characterization of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) using comprehensive two-dimensional liquid chromatography *J Chromatogr A.* 2011 Aug 26
- 【119】 Zongyun Huang & Mariann Neverovitch & Ruben Lozano & Peter Tattersall & Joan Ruan Development of a Reversed-Phase HPLC Impurity Method for a UV Variable Isomeric Mixture of a CRF Drug Substance Intermediate with the Assistance of Corona CAD *J Pharm Innov* (2011) 6:115–123
- 【120】 P. de la Mata-Espinosa, J.M. Bosque-Sendra, R. Bro, L. Cuadros-Rodríguez Olive oil quantification of edible vegetable oil blends using triacylglycerols *Talanta* 85 (2011) 177–182
- 【121】 P. de la Mata-Espinosa, J.M. Bosque-Sendra, R. Bro Quantification of Triacylglycerols in Olive Oils Using HPLC-CAD *Food Anal. Methods* DOI10.1007/s12161-011-9207-3
- 【122】 Taylor Zhang, Daniel Hewitt, Yung-Hsiang Kao SEC Assay for Polyvinylsulfonic Impurities in 2-(N-Morpholino) ethanesulfonic Acid Using a Charged Aerosol Detector *Chromatographia* 2010, 72, July
- 【123】 Kaushal Ramni, Kaur Navneet, Upadhyay Ashuto HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY DETECTORS – A REVIEW *IRJP* 2 (5) 2011 1-7
- 【124】 I. Brondz, K. Høiland, D. Ekeberg, D. S. Bell, A. Chemotaxonomic fingerprint of *Cortinarius infractus* and *Cortinarius subtortus* using SFC- MS - Corona detection *J. Chromat. A.* (in press)
- 【125】 LIU Lu, GAO Xuan, Yang Yong-Jian Application of HPLC-Charged Aerosol Detection *CJPH*, 2012, 43(3)
- 【126】 Grzegorz Kiebowicz, Damian Smuga, Witold Gładkowski, An LC method for the analysis of phosphatidylcholine hydrolysis products and its application to the monitoring of the acyl migration process *Talanta* 94 (2012) 22-29

- | | | | |
|--------------|---|---|---|
| 【127】 | Xiao-Yan Pang,a* Jian Cao,b* Linsee Addington,a | Structure/Function Relationships of Adipose Phospholipase A2 Containing a Cys-his-His Catalytic Triad | J. biol Chem, 2012 Oct 12, 287 (42): 35260-74 |
| 【128】 | Joseph P. Hutchinson, Tomas Remenyi, Pavel Nesterenko, William Farrell, | Investigation of polar organic solvents compatible with Corona Charged Aerosol Detection and their use for the determination of sugars by hydrophilic interaction liquid chromatography | Analytica Chimica Acta 750 (2012) 199-206 |
| 【129】 | Malgorzata Grembecka & Piotr Szefer | Simultaneous determination of caffeine and aspartame in diet supplements and non-alcoholic beverages using liquid-chromatography | Food Analytical methods (2012) 5; 1010-1017 |
| 【130】 | Shaodong Jia, Hee-seung lee, Myung-Joo Choi, Sang Hyun Sung, | Non-derivatization method for the determination of gabapentin in pharmaceutical formulations, rat serum and rat urine | Current analytical chemistry, 8, 159-167 |
| 【131】 | Dan Hengst, Samantha and John Auastad | Analysis of carbohydrates in food using charged aerosol detection | poster |
| 【132】 | Masayuki Omatsu | Analysis of oil stain on paper by charged aerosol detector | Japan Tappi Journal, 62 (3), 336-342 |

更安全

ThermoFisher
SCIENTIFIC

更清洁

更健康

赛默飞致力于帮助您使世界变得

关于赛默飞世尔科技

赛默飞世尔科技（纽约证交所代码：TMO）是科学服务领域的世界领导者。公司年销售额 170 亿美元，在 50 个国家拥有员工约 50,000 人。我们的使命是帮助客户使世界更健康、更清洁、更安全。我们的产品和服务帮助客户加速生命科学领域的研究、解决在分析领域所遇到的复杂问题与挑战，促进医疗诊断发展、提高实验室生产力。借助于 Thermo Scientific、Life Technologies、Fisher Scientific 和 Unity™ Lab Services 四个首要品牌，我们将创新技术、便捷采购方案和实验室运营管理的整体解决方案相结合，为客户、股东和员工创造价值。

欲了解更多信息，请浏览公司网站：www.thermofisher.com

赛默飞世尔科技中国

赛默飞世尔科技进入中国已超过 30 年，在中国的总部设于上海，并在北京、广州、香港、台湾、成都、沈阳、西安、南京、武汉等地设立了分公司，员工人数超过 3800 名。为了满足中国市场的需求，现有 8 家工厂分别在上海、北京和苏州运营。我们在全中国共设立了 7 个应用开发中心，将世界级的前沿技术和产品带给国内客户，并提供应用开发与培训等多项服务；位于上海的中国创新中心结合国内市场需求和国外先进技术，研发适合中国的技术和产品；我们拥有遍布全国的维修服务网点和特别成立的中国技术培训团队，在全国有超过 2000 名工程师提供售后服务。我们致力于帮助客户使世界更健康、更清洁、更安全。

欲了解更多信息，请登录 www.thermofisher.cn

赛默飞世尔科技(中国)有限公司

免费服务热线：800 810 5118
400 650 5118 (支持手机用户)

ThermoFisher
SCIENTIFIC