Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

基于UNIFI的中药保健品及化妆品非法添加化学成分解决方案

袁铭
沃特世科技(上海)有限公司

应用优势

- 采用Waters专利的MS^E数据采集模式，一针进样同时得到所有峰的母离子及二级碎片信息，没有数据损失；
- 基于UNIFI的科学信息化数据处理平台，应用含有保留时间及二级碎片的非法添加库，快速筛查与鉴定非法添加物。

沃特世解决方案

ACQUITY UPLC® I-Class 系统

Xevo® G2-XS QTof

ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱

非法添加科学数据库

UNIFI®信息化数据处理平台

关键词

中药 保健食品 化妆品 非法添加 UNIFI

简介

近年来，随着生活水平的提高，人们越来越重视身体的健康状况，很多消费者为了调节身体的某项机能而长期使用带有某种功效的保健品。一些市售保健品虚假夸大宣传，并辅以“中草药、纯天然、速效、无毒副作用”等宣传标语来误导消费者。往往这些以速效的著称的保健品会非法添加一些化学成分，给消费者的安全带来了极大的危害，也引起了各监管机构的极大关注。

中药成分复杂，所能添加的化学药品种类繁多，且容易受到中药及其他基质成分的干扰。很多不法商家添加药品中间体、结构改造物或衍生物，而致使获取对照品困难。另有利用药物副作用达到的其他效果的方法，如在减肥类保健品中添加降糖药或降压药。以上现状给非法添加化学成分的检测带来了挑战。

本文中将展示中药保健品及化妆品非法添加化学成分的总体解决方案：采用超高液相色谱(UPLC®)串联四极杆飞行时间质谱仪(Q-Tof MS)，沃特世(Waters®)专利的MS^E非数据依赖型采集模式，进行基于UNIFI的科学信息化数据处理平台，采用非法添加数据库中保留时间及一级二级高分辨质谱信息，稳定精简的工作流程，快速筛查目标非法添加物，并针对结构类似物及未知物的筛查和鉴定提供有效的方案。解决方案的精简工作流程如图1，并以某市售保健品为例，展示快速高效的筛查流程。

实验

样品制备

市售某安眠保健品及抗疲劳保健品样品各0.5 g，加入5 mL LC-MS级甲醇，超声20 min，5000 rpm下离心5 min，取上清，后甲醇稀释到十分之一浓度。

LC条件

LC系统：	ACQUITY UPLC I-Class
色谱柱：	ACQUITY UPLC BEH C_{18} (100*2.1 mm, 1.7 μm)
柱温：	45 ˚C
流动相A：	0.1%甲酸/水
流动相B：	0.1%甲酸/乙腈

梯度表如下

时间 (min)	流速 (mL/min)	溶剂 %A	溶剂 %B	曲线
0	0.4	95	5	初始
0.5	0.4	95	5	6
9	0.4	30	70	6
10	0.4	30	70	6
12	0.4	5	95	6
14	0.4	5	95	6
17	0.4	95	5	1

MS条件

MS系统：	Waters Xevo G2-XS QTof
采集模式：	灵敏度模式ESI^+，MS^E
毛细管电压：	2.5 kV
锥孔电压：	40 V
源温度：	120 ˚C
雾化气温度：	500 ˚C
雾化气流速：	800 L/h
锥孔气流速：	50 L/h
采集质量范围：	50-1200
Lock mass：	亮氨酸脑啡肽(LE) 400 ng/mL
扫描时间：	0.2 s
碰撞能量：	Low CE 6 eV
	High CE 10-45 eV

结果与讨论

基于UNIFI的中药保健品及化妆品非法添加化学成分整体解决方案，见图1，采用超高液相色谱(UPLC)串联四极杆飞行时间质谱仪(Q-Tof MS)，专利的MS^E非数据依赖型采集模式，由“低碰撞能”和“高碰撞能”两种扫描交替构成，一针进样同时获得一级二级高分辨质谱信息，无数据丢失。UNIFI结合非法添加数据库，采用3D的峰检测方式，可有效的进行高低能量谱图的匹配，使谱图更加干净，降低假阳性。

数据处理过程根据3种不同的情况分别给出相对应的解决思路：

1. 目标组分的快速筛查，根据保健品或化妆品宣传的功效，通过Item tag将库中此类功效的成分导入到分析方法中，快速匹配目标组分；

2. 对于结构相似，具有共有特征碎片的一类化合物，可通过设置特征二级碎片快速查找结构类似物；

3. 未知组分的一步鉴定，Discovery工具可将元素组成分析，在线库搜索，及二级碎片匹配确证一步完成，最后可根据结果参数筛选最可能的结果。

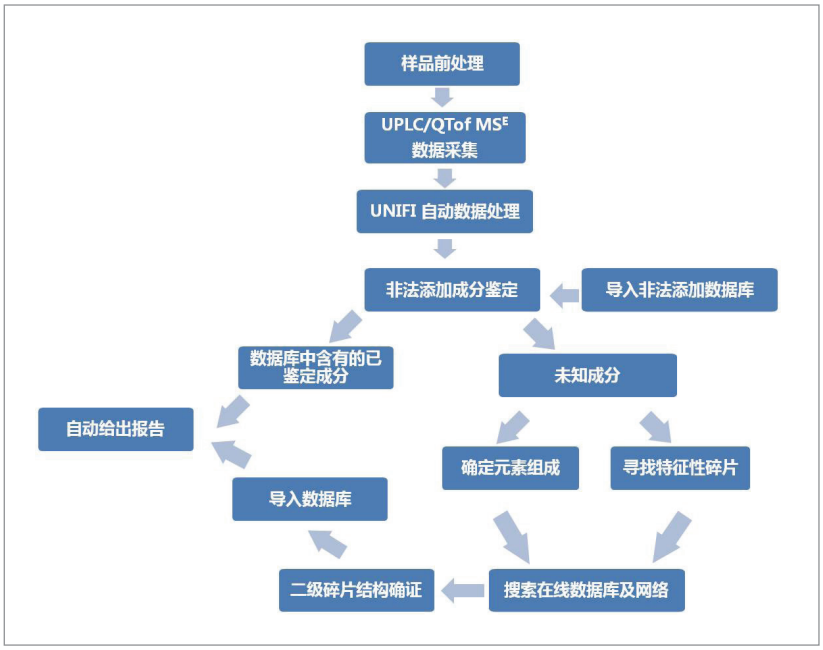

图1. 基于UNIFI的中药保健品及化妆品非法添加解决方案流程。

中药保健品及化妆品非法添加化学成分数据库

中药保健品及化妆品非法添加化学成分库的构架如图2，库中共有262个化合物，每一个化合物条目包含中文名、英文名、化学结构、分子式、平均分子量、单同位素精确分子量、CAS号等基本信息。

另外每个化合物还具有关键诊断信息：保留时间及高分辨二级碎片。库中保留时间对应着推荐的色谱条件，如文中LC条件项下给出的色谱条件；二级碎片信息对应推荐的碰撞能量，无需优化采集方法即可使用。

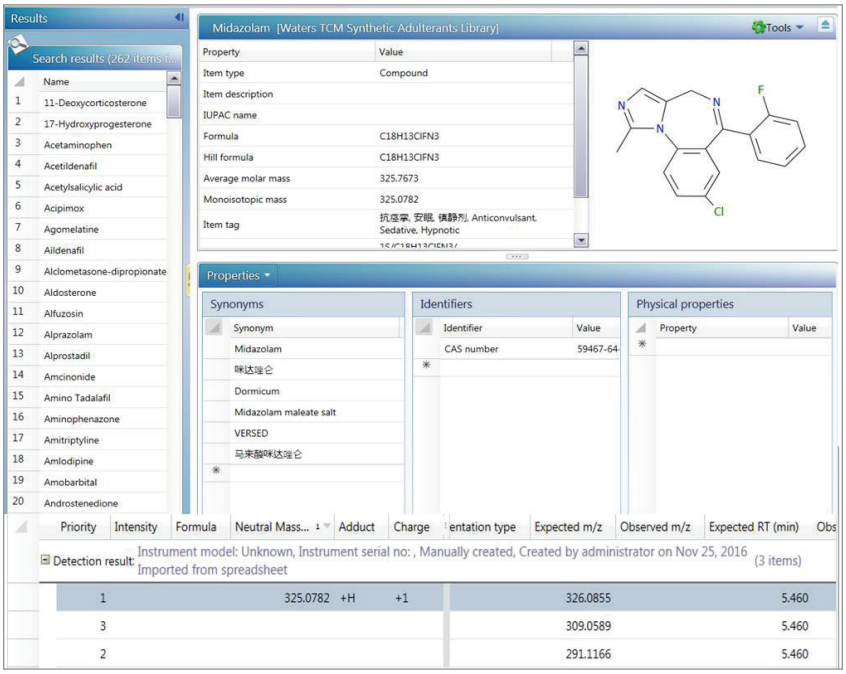

图2. 中药保健品及化妆品非法添加化学成分库详细构架。

库中每个化合物按照功效(中英文)进行分类，如降高压类、降血糖类、调脂减肥类、补肾壮阳类、镇静催眠类、镇痛类、抗炎类等，还有其他详细分类，并可自主选择中文或英文信息。可根据功效搜索此类化合物，如图3，通过Item tag搜索催眠的化合物，结果只显示具有催眠功效的化合物。在设置分析方法中也可以根据功效选择相应类别的化合物，避免匹配过程的假阳性。

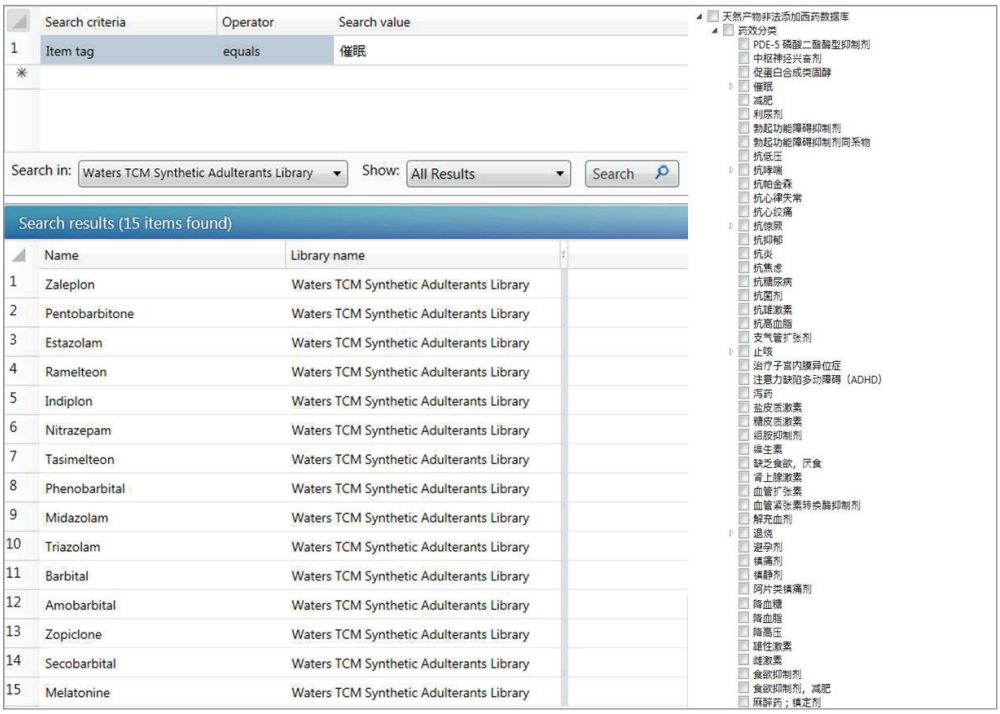

图3. 按照化合物功效检索数据库图。

解决思路1：目标成分的快速筛查

采用解决方案中推荐的色谱及质谱条件采集数据，根据功效分类，将目标成分导入分析方法中，根据保留时间、精确质量数、二级碎片快速筛选与匹配，如图4结果浏览界面所示，准确筛查出市售安眠保健品中非法添加成分。界面中，4A工作流程，可根据预设模板筛选符合条件的组分，同时用户还可根据需求定制不同的工作流程；4B组分列表，显示匹配的组分基本信息如分子式、观测到的母离子、质量误差、加合离子、响应等，以及与库中保留时间及碎片的匹配情况；4C组分离子的提取离子流图；4D对应组分的一级二级质谱图，根据色谱行为将母子离子关联并对应，同时根据结构做二级碎片解析。整个过程简便快捷，大大提高分析效率。

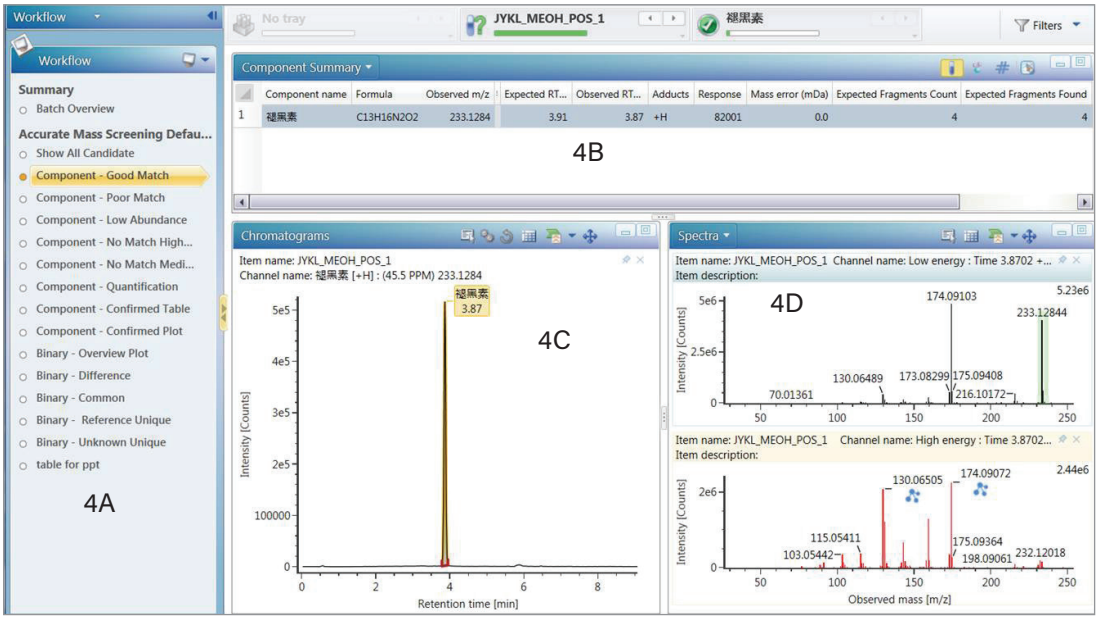

图4. UNIFI科学信息系统中显示的快速筛查结果界面。

解决思路2：特征碎片查找以发现结构类似物

同药效化合物结构上看，属于一类或几类，而结构相似化合物可能具有相同的特征性碎片，若添加药品中间体、结构改造物或衍生物，通过与非法添加库中成分匹配，可能匹配不到。

说明工具中的common fragment search功能可通过输入特征性碎片来查找结构类似物，如图5所示，5A参数窗口，输入特征碎片311.1503及质量误差窗口；5B结果窗口，显示含有此碎片的成分及对应的保留时间；5C含有目标特征碎片的提取离子流图。此思路针对库中无法匹配但与库中成分结构类似的组分，扩大筛查范围，提高鉴定的准确度和效率。

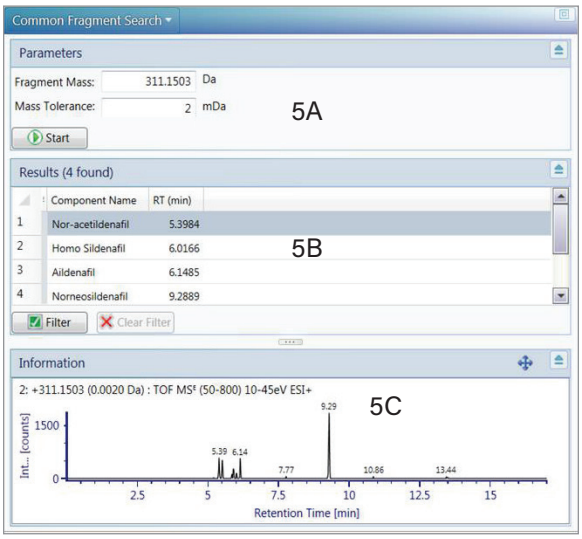

图5. 特征碎片查找工作界面。

解决思路3：未知组分的鉴定

对于大部分非法添加的样品，当中的非法添加物的含量会很高，总离子流图中也会看到明显的峰，而对这种信号响应强却未被匹配的未知组分来说，它的定性通常要经过几步来做，但UNIFI中的Discovery功能一步即可完成对元素组成分析、在线库搜索和二级碎片匹配的确证。只要电脑联网，在线的Chemspider库便可使用，并且实时更新。鉴定的组分可添加到现有的非法添加库，提高未来分析的有效性。

如图6显示Discovery工具，其中6A可设置元素及碎片匹配的相关参数，选择制定的库等，点击start即可一键完成，到6B中查看可能的结果，根据匹配的碎片数，引用次数等选择最可能的组分，6C中显示每个结果组分的结构、碎片匹配图等信息。

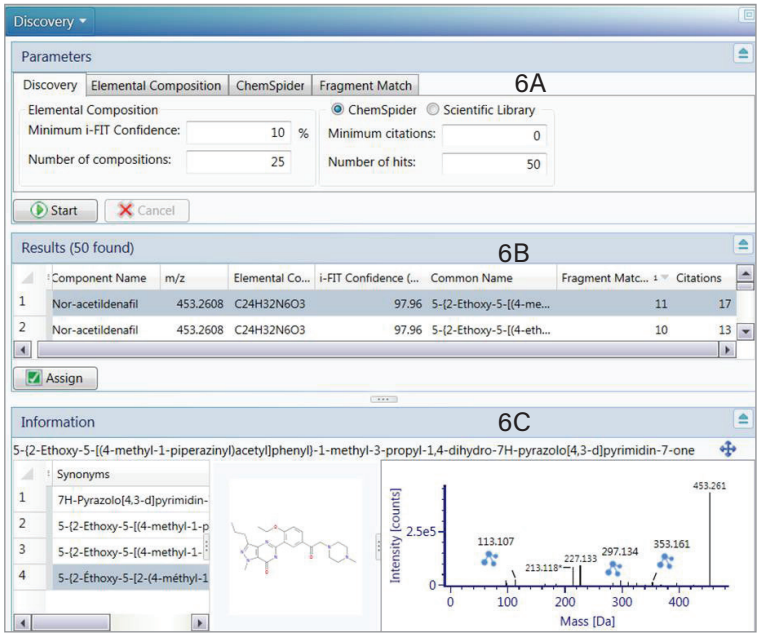

图6. Discovery一步完成对未知物鉴定。

结论

- 本应用纪要以安眠类及抗疲劳类两种市售保健品的分析为例，展示了基于UNIFI的中药保健品非法添加快速筛查的整体解决方案；
- 依照推荐的色谱条件碰撞能，采用MS^E的非数据依赖型采集模式，基于UNIFI科学信息化数据处理平台，结合非法添加库，通过保留时间，精确质量数、二级碎片等信息快速匹配目标组分并给出报告，基本可解决大部分非法添加的样品分析；同时UNIFI针对结构类似物及未知组分给出相应的解决流程，大大提高效率。

扫一扫，关注沃特世微信

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

沃特斯中国有限公司
沃特世科技(上海)有限公司
北京: 010 - 5209 3866
上海: 021 - 6156 2666
广州: 020 - 2829 6555
成都: 028 - 6765 3588
香港: 852 - 2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676
www.waters.com

Waters和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。

©2017 沃特世公司。2017年03月