Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

应用多变量分析和LC-MS检测仿冒化妆品

Baiba Čabovska
沃特世公司(美国马萨诸塞州米尔福德)

应用优势

- 使用高分辨率质谱和多变量分析比较正品化妆品样品和疑似仿冒化妆品样品的快速简便方法。
- 可用于化妆品样品的比对，也适用于需要进行差异评估的其他类型分析(如原材料或包装的不合格批次)。

沃特世解决方案

ACQUITY UPLC® I-Class系统

CORTECS® UPLC C_{18} 色谱柱

UNIFI®科学信息系统

Xevo® G2-XS QTof质谱仪

关键词

仿冒品、化妆品、多变量分析、精确质量数QTof、包装分析

简介

每年，化妆品行业由于仿冒品而遭受的损失达数十亿美元[1]。由于欧洲和北美制定有更加严格的法规，因此66%的仿冒商品来自亚洲[2]。这会给消费者带来极大风险，这里提到的风险并非是指由此带来的经济损失，而是仿冒化妆品生产中所使用的原料很可能含有对使用者健康有害的物质，甚至是禁用物质。

仿冒品的检测有时会由化妆品公司(尤其是通常成为被仿冒对象的高端产品公司)完成，因为只有他们知道其产品的正确配方。但是，如果仿冒品检测能够在这些产品入关时完成(例如在海关查验期间)，将起到很大的帮助且能够有效节省时间。即使不知道正确的配方，如果需要，仍然可以通过多变量数据统计分析将疑似假冒样品与正品样品进行比较，并评估其间的差异。

多变量分析(MVA)广泛应用于需要进行多个样品或批次比对的分析领域。最常用的技术之一是主成分分析(PCA)，此方法可将一个庞大的多变量数据集约简为一组互相不相关的变量，即主成分。

实验

样品制备

高端化妆品样品购自美国生产商。本研究分别选择了一种乳霜、乳液和精华液进行分析，具有相同外观的其他商品来自一家亚洲网络零售商。所有样品由四氢呋喃(THF)进行稀释配制而得，浓度为5 mg/mL。

UPLC条件

UPLC系统:	ACQUITY UPLC I-Class
分离模式:	梯度
色谱柱:	CORTECS UPLC C_{18}, 90Å, 1.6 µm, 2.1 mm x 100 mm
柱温:	40 °C
进样体积:	5 µL
流速:	0.4 mL/min
流动相A:	0.1 %甲酸水溶液
流动相B:	0.1%甲酸甲醇溶液
梯度:	20%流动相B保持30 s，在2.5 min内增加至99%，在99%条件下保持6 min，然后重新平衡回20%

MS条件

MS系统:	Xevo G2-XS QTof
电离模式:	ESI+，ESI-
毛细管电压:	3.0 kV(正)，2.0 kV(负)
脱溶剂气温度:	450 °C
离子源温度:	150 °C
锥孔电压:	30 V
碰撞能量范围:	10 - 40 eV
MS扫描范围:	50-1200 m/z

数据采集和处理

Waters® UNIFI科学信息系统用于数据采集和处理。

结果与讨论

样品在ESI+和ESI-模式下重复分析五次，获取两种模式的代表性数据集。由于缺乏仿冒样品的配方信息，且为了进行更全面的分析，实验中使用不同的电离模式采集数据，因为有些化合物仅在正离子模式下电离，有些则只在ESI-模式下电离。

所有样品数据均使用UNIFI科学信息系统中附带的多变量分析工具进行处理。UNIFI可以根据用户定义的条件生成标记点矩阵，用以自动传输到EZInfo软件进行多变量分析(MVA)。初始汇总结果将展示为PCA得分图。在这个初始图中，各样品组的相关信息不会传输至MVA软件，该模式称为无监管模式。

如果需要额外区分这些样品组，则可以采用监管分析模式，例如最小偏二乘法判别分析(PLS-DA)模式(图1)。PLS-DA模拟了所有样品组的变量X(预测)和Y(响应)之间的数量上的关系，可用于阐述组间差异。然而，在这种类型的图中，每个样品由一个点表示，这就无法观察到对组间差异有贡献的特别标记物信息。

图1a中展示了通过ESI-获得的数据。图中可以明显看出，各样品之间存在差异。通过此图可以观察到整体趋势，真品样品位于较低象限，偏向左侧，而仿冒样品出现在较高象限，偏向右侧。

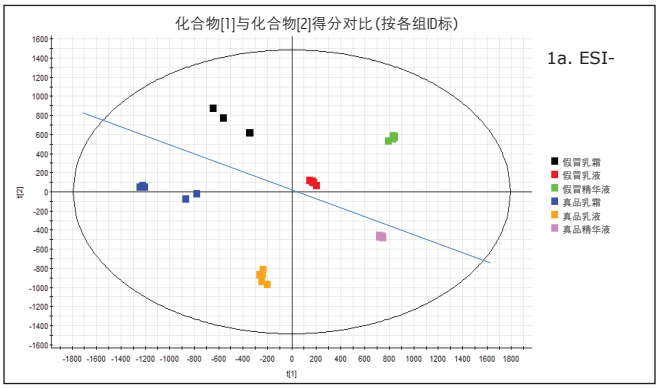

图1a. 所有样品的ESI-模式PLS-DA图。

为对比更清晰，图中添加了一条蓝线，显示仿冒品数据均在蓝线以上，所有真品数据均在蓝线以下。此图表明，在ESI-模式下，样品数据的某些元素是共有的，并且影响着两个样品集分组。尽管在正离子模式下也可见显著性差异(图1b)，但仿冒品与正品样品中成分整体变化趋势均未观察到。

本实验还通过最小偏二乘法判别分析(OPLS-DA)得分图对每个样品组(乳霜、乳液和精华液)进行了进一步研究，如图2所示。

OPLS可帮助分析人员深入挖掘数据，除组间简单差异外，还可获取更多的额外信息。额外获取的详细信息可用于鉴定造成样品间差异的特定标记物，例如，发现出现在仿冒样品的差异是否由对人体健康有害的化学物质造成。用于更深入挖掘数据的工具被称为S-Plot。S-Plot显示了这两个数据组之间精确质量数/保留时间(AMRT)的差异点，如图3所示。AMRT对以协方差(变异程度)为x轴，以相关性(变异的一致性)为y轴值进行作图。S-Plot的右上方象限显示真品样品中提高的AMRTs，左下方象限则显示仿冒品样品中提高的成分。在此情况下，AMRT可代表两种样品中差异的配方成分。标记物在X轴上距离越远，其对两组间差异的贡献就越大；而在y轴上距离越远，则表示分析结果的可靠性越高。

组间的差异可能来自其中一组中不存在的分析物，或来自组间强度(浓度)变化最大的分析物。

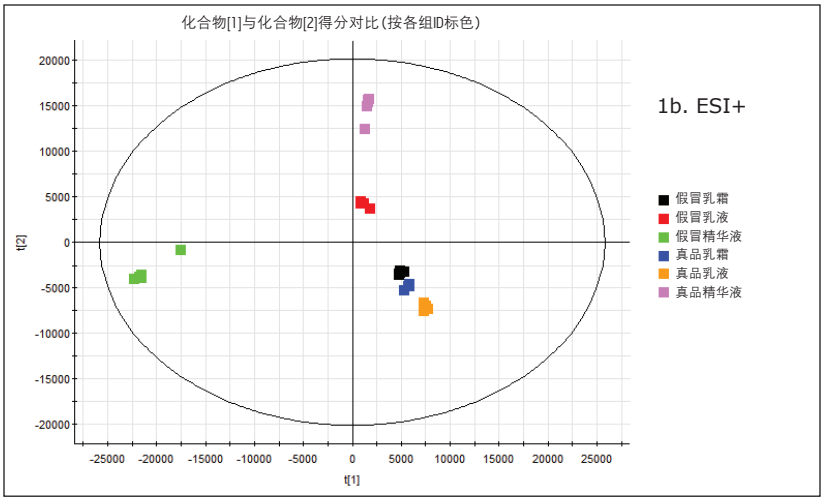

图1b. 所有样品的ESI+模式PLS-DA图。

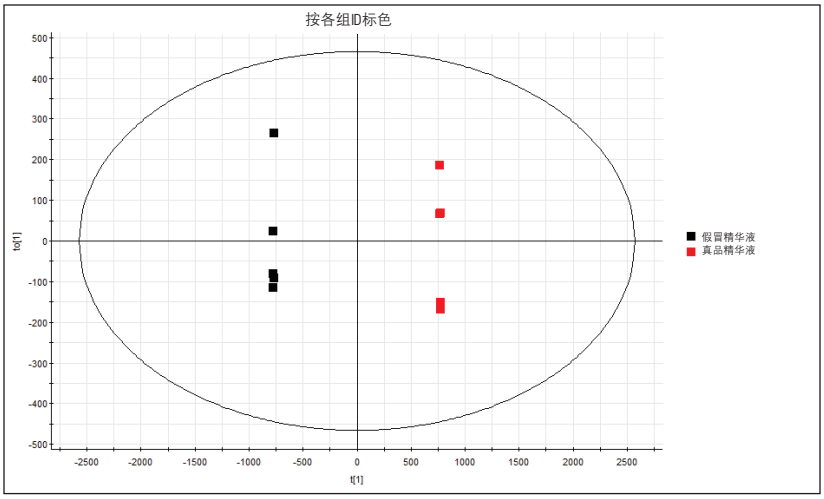

图2. 精华液样品的ESI-模式OPLS-DA图。

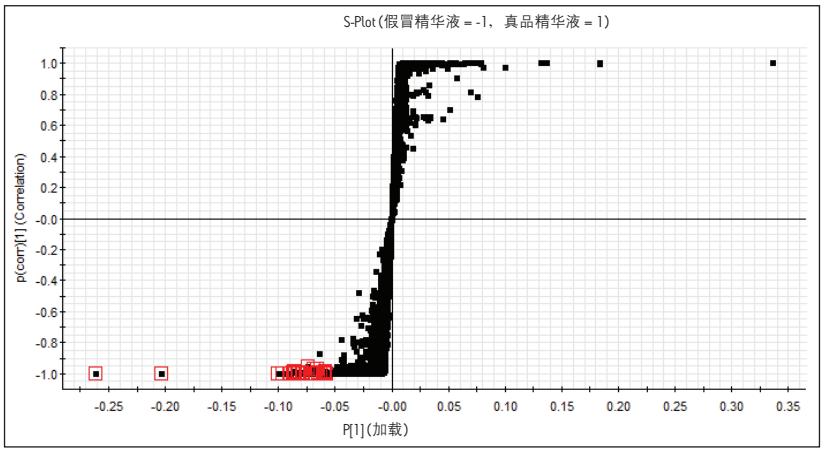

图3. ESI-模式下仿冒和正品精华液样品的S-Plot。红框选中的标记点是假冒精华液与正品精华液之间的最大差异源。

选出对组间差异贡献最大的标记点后，即可相应标出每个标记点集合。例如，标出与假冒乳霜和正品乳霜之间的差异相关的标记点。如果在多个选区中发现标记点，则可以添加标签。

实验对所有三个类型的样品都进行了组间比对。每个组完成标记后，可以发现：有两个标记点在所有三个类型的仿冒样品中均有出现——m/z 151.0409 (2.59 min) 和m/z 179.0725 (3.64 min) (图4)。这两个AMRT很有可能是引起PLS-DA (ESI-) 图中观察到的正品样品和仿冒品之间显著差异的重要影响因素。在趋势图中，我们还观察到这些标记点并未在正品样品中检出。

为进一步研究这些标记点，我们应用了UNIFI科学信息系统中的发现工具，将这两个标记点提交运行自动元素成分计算、结构数据库检索和高碰撞能量下数据的碎片匹配。实验结果如图5所示。

对于第一个标记点，系统列出了一个建议分子式$C_8H_8O_3$。从ChemSpider数据库获得的相应结构中，对羟基苯甲酸甲酯和水杨酸甲酯的高碰撞能碎片匹配度最高 (2)。第二个标记点系统列出的分子是$C_{10}H_{12}O_3$，对羟基苯甲酸丙酯和4-丙氧基苯甲酸具有最高的碎片匹配度 (4)。水杨酸甲酯在食品和饮料中用作香精，4-丙氧基苯甲酸可用于液晶的化学合成。而对羟基苯甲酸酯是一种防腐剂，最常用于个人护理产品，如身体乳液和乳霜[3]。然而，由于人们发现对羟基苯甲酸酯是一种内分泌干扰物，并对此高度关注，因此在高端化妆品公司已停止使用[4,5]。

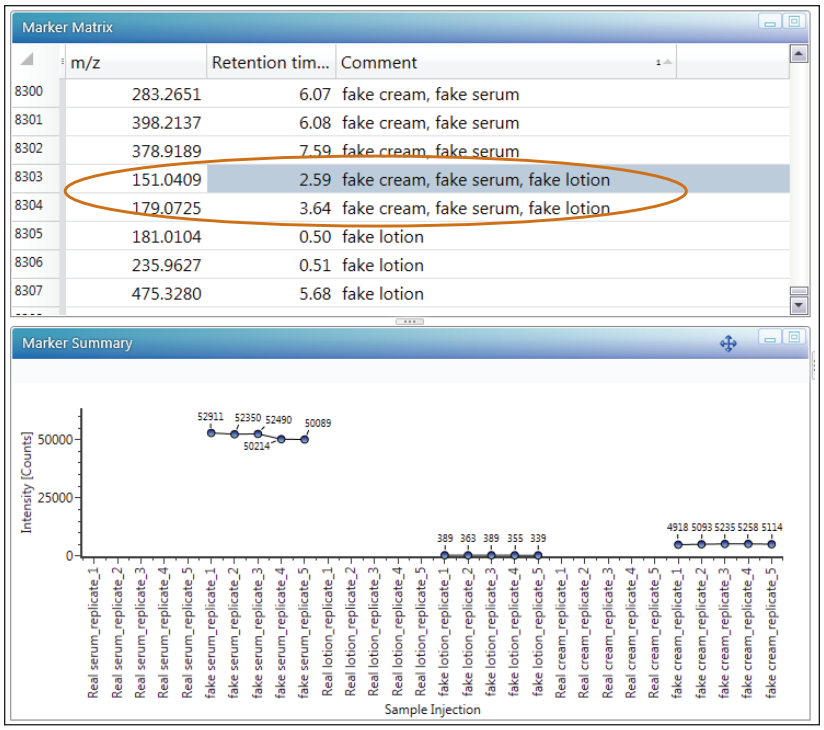

图4. ESI-数据的标记点表和趋势图。

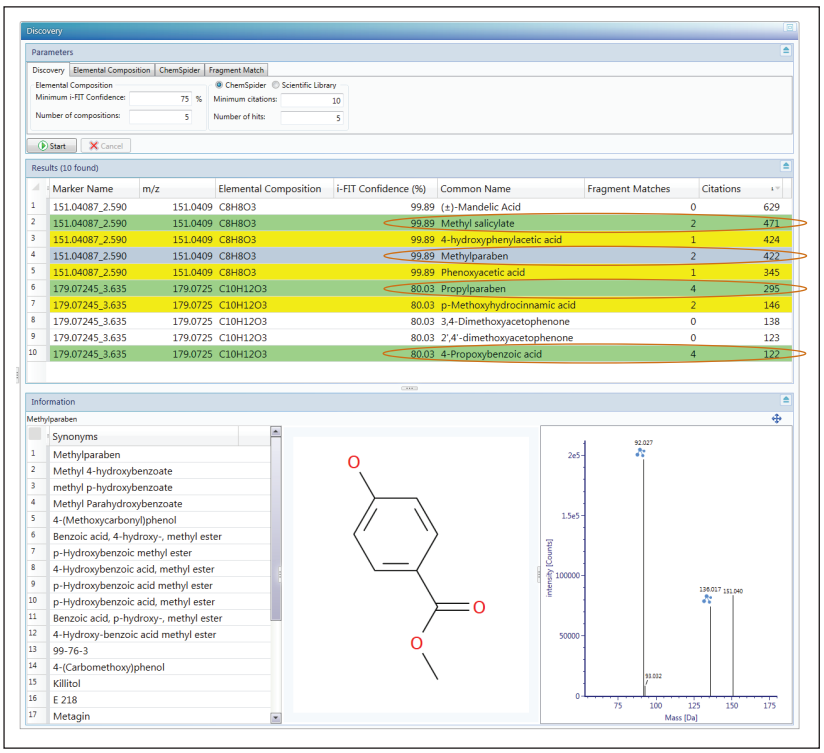

图5. 发现工具中m/z 151.0409和179.0724的结果，其中包含元素组成汇总 (结构引自ChemSpider数据库) 和高碰撞能量数据中每个结构的大量可能的碎片匹配结果。

仿冒品的生产商并不关心这些潜在安全问题，在这种情况下，他们会在配方中使用可获得的最低成本的化学品，生产出表面上看起来与正品样相同的产品。

根据数据和发现工具获得的信息，结合列出的化合物可用信息，m/z 151.0409和179.0724处的两个标记点归属为对羟基苯甲酸具有很高的可信度。

结论

每年，化妆品行业由于仿冒品而遭受的损失达数十亿美元。这些损失的收入会给市场份额带来负面影响，并导致销量的进一步下滑。如果仿冒品导致消费者出现健康问题，将损害正牌化妆品生产商的名誉和品牌形象。尽早快速检出仿冒产品是在国内和出口市场中打击伪劣产品的一种方法。本研究的重点是用于样品比对的多变量分析技术，使用统计分析工具进行复杂样品间的轻松比对。文中提到的UNIFI科学信息系统使用高分辨率质谱实施的LC-MS和信息学工作流程可用于化妆品、食品和饮料，以及药物样品的分析。

参考文献

1. https://oami.europa.eu/ohimportal/en/web/observatory/news/-/action/view/1934074
2. www.ccapcongress.net/archives/Brussels/Files/fsheet5.doc
3. http://www.fda.gov/Cosmetics/ProductsIngredients/Ingredients/ucm128042.htm
4. http://www.businessinsurance.org/the-truth-about-cancer-causing-cosmetics/
5. http://fitbeaut.blogspot.com/2012/10/paraben-free-cosmetics.html

扫一扫，关注沃特世微信

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters, CORTECS, Xevo, ACQUITY UPLC, UPLC, UNIFI和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。
其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2015年 沃特世公司 中国印刷 2015年5月 720005402ZH AG-PDF

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 5999
成都：028 - 6578 4990
香港：852 - 2964 1800

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