

应用纪要

DART-QDa结合LiveID快速区分掺假香料中的姜黄和印尼莪术

Klemens Losso, Stefan Stuppner, Matthias Rainer, Thomas Jakschitz, Günther Bonn

Austrian Drug Screening Institute – ADSI, Institute of Analytical Chemistry and Radiochemistry – University of Innsbruck





摘要

本应用纪要介绍了Waters DART QDa系统结合Live ID软件的成功应用，该方法根据样品中高价值抗氧化、抗炎化学保护活性成分的不同水平区分看似相同的姜黄香料样品。该应用方法对于关注食品掺假和真伪鉴别研究的食品安全科学家以及从事化妆品配方检测的质量控制科学家很有用。

优势

- 只需进行少量样品前处理工作即可实时鉴定姜黄和印尼莪术，无需进行色谱分离
- 几秒内即可检出食品掺假并区分化妆品成分
- 采用直观的软件，非专家水平的用户也能轻松上手，可以为多种真伪鉴别、完整性检验和质量控制工作开发稳健的模型并进行验证。

简介

姜黄(*C. longa*)和印尼莪术(*C. xanthorrhiza*)都属于姜科(Zingiberaceae)植物,原产于南亚热带,但在世界热带地区广泛种植。这些植物的干燥根茎称为姜黄,是一种传统的香料、染料和药物,特别是在阿育吠陀或传统中药中¹。目前,姜黄因在成分研究中发现其具有多种药理特性而广受关注,例如抗氧化、抗炎或抗突变特性²,尽管其中一些成分最近被宣布为PAIN(泛分析干扰化合物)³。姜黄和印尼莪术提取物在化妆品配方中的应用也愈加广泛,作为石化衍生成分的天然替代品,具有抗氧化、抗炎、化学保护和化妆品着色特性⁴。

研究提出,姜黄的药理作用主要归因于所谓的“姜黄素类化合物”,更确切地说,是归因于姜黄素、去甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素等物质。姜黄包含所有这三种姜黄素类化合物,而印尼莪术缺少双去甲氧基姜黄素,因此被认为价值较低,在国际市场上更便宜。因此,市售的姜黄粉常被掺入印尼莪术,给客户和食品行业造成经济损失。本应用纪要介绍了一种使用DART-QDa分析结合LiveID软件快速、轻松地检测此类香料掺假的方法。

实验

样品前处理提取步骤

称取150 mg干燥并磨碎的样品加入2 mL反应管中,并与1 mL乙腈:水75:25 (v:v)混合。以25 °C超声处理15 min后,将样品在16800 rcf下离心3 min。分离上清液,并通过H-PTFE过滤器过滤到1.5 mL反应管中。用提取溶剂按1:99 (v:v)的比例稀释提取物。最后,将每份提取物点样到QuickStrip卡上,并使用DART QDa进行分析。

利用姜黄(n=10)和印尼莪术(n=10)正品样品的质谱图建立化学计量学模型。模型参数参见表1。

PCA 成分	10
LDA 成分	1
离群值标准	5倍标准偏差
分箱分辨率	1
质量范围	200–400 <i>m/z</i>

表1.LiveID真伪鉴别模型的参数

MS条件

MS系统:	ACQUITY QDa
MS离子源:	DART SVP
电离气体:	氦气
电离模式:	DART + ve
气体温度:	450 °C
锥孔电压:	10 V
采样速度:	1.00 mm/s
采样频率:	10 Hz
采集模式:	全扫描
采集范围:	100~600 <i>m/z</i>

数据管理

色谱软件

MS软件：

MassLynx

信息学软件：

Live ID样品识别软件

结果与讨论

DART-QDa真伪鉴别模型

将主成分分析(PCA)与线性判别分析(LDA)相结合，用两种聚集图来展示组合质谱图。所得的结果图簇如图1所示。

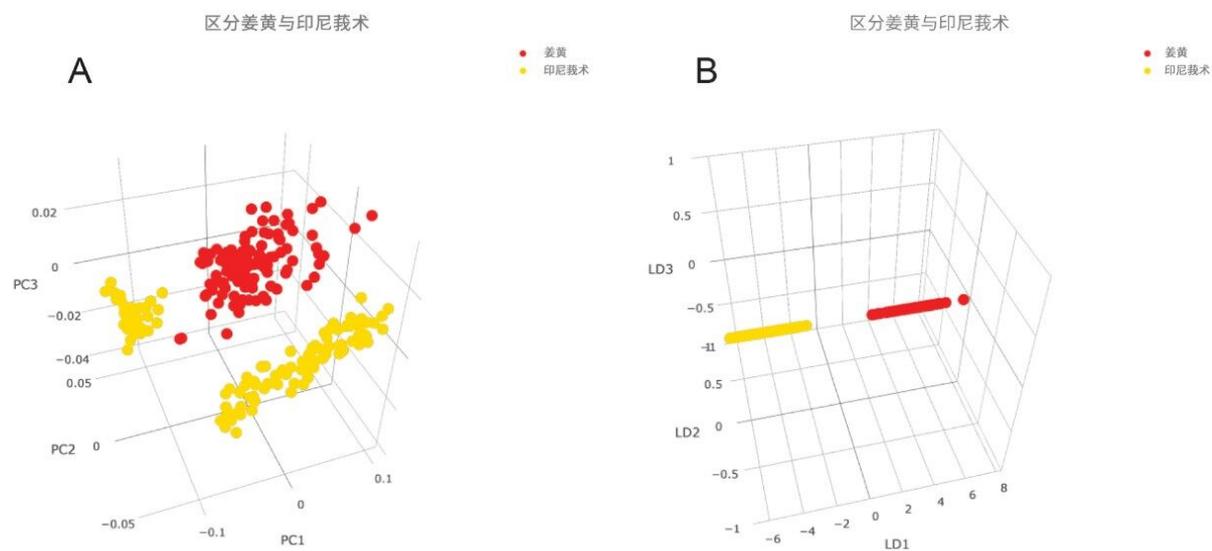


图1A.PCA；1B.PCA/LDA图，在LiveID中使用DART-QDa真伪鉴别模型生成。

载荷图(Loading Plot) (图2和图3) 显示了有助于区分类别的重要离子。369 m/z 处的离子 (姜黄素) 似乎是

PC1中的主要特征，约占变异的70%。217 m/z 处的离子（芳姜黄酮）和235 m/z 处的离子（原莪术烯醇、异原莪术烯醇、莪术烯醇、莪术双环烯酮）是PC2中的主要特征，约占变异的16%。相应结构标注在图4所示的谱图中。

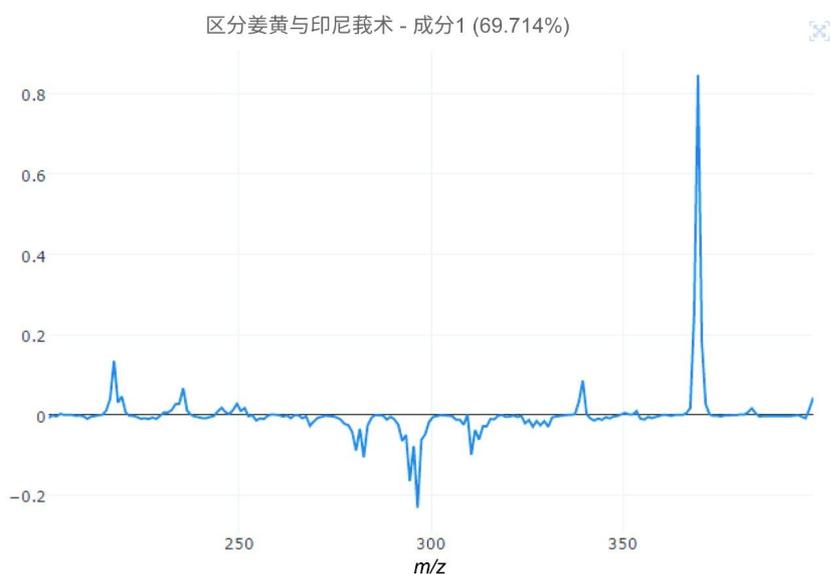


图2.在LiveID中创建的PC1的载荷图

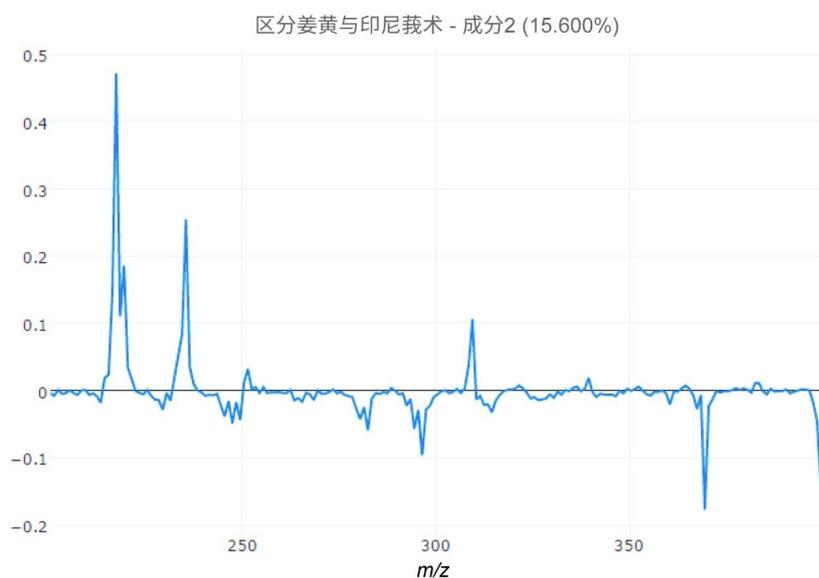
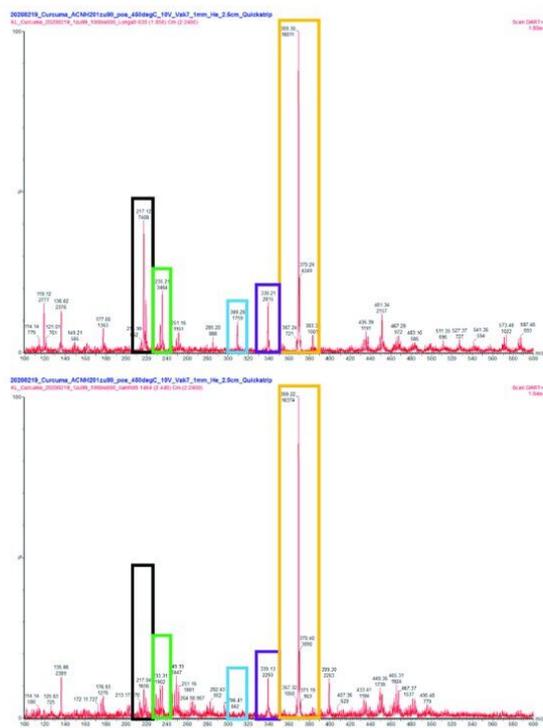
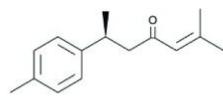


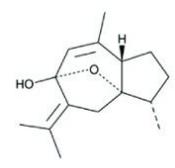
图3.在LiveID中创建的PC2的载荷图



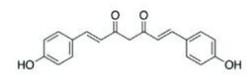
... 姜黄酮
(m/z 217)



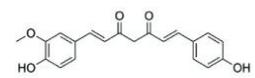
... 原莪术烯醇、异原莪术烯醇、
莪术烯醇、莪术双环烯酮
(m/z 235)



... 双去甲氧基姜黄素
(m/z 309)



... 去甲氧基姜黄素
(m/z 339)



... 姜黄素
(m/z 369)

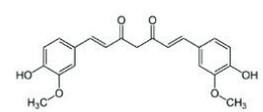


图4.姜黄（顶部）和印尼莪术（底部）的质谱图，突出显示了不同的组分。

模型验证

使用LiveID提供的“leave 1 file out”选项对创建的真伪鉴别模型进行交叉验证。相关联的验证报告见图5。分析两种不同的姜黄物种获得的240幅谱图中，所有谱图都可能与正确的物种相关联。这使得正确度得分达到100%。此外，使用LiveID提供的“leave 20% out”选项对该模型进行验证，正确度得分也达到100%。

Validation report

[Download as .csv](#)

Description : 10 PC, Outlier 5 SD, Binning 1, One Out

Created : 4/2/2020, 5:05:38 PM

Model details

Name : Discrimination C. longa and C. xanthorrhiza

Type : PCA-LDA

Outlier threshold : 5 (standard deviations)

PCA components : 10

LDA discriminants : 1

Mass range : 200 - 400 (m/z)

Bin size : 1 (m/z)

Validation parameters

Validation type : Leave 1 file out

Results summary

	Spectra	Passes	Failures	Outliers	Correctness score
Total	240	240	0	0	100.00%

Confusion matrix

	C. longa	C. xanthorrhiza	Outlier	Total
C. longa	120	0	0	120
C. xanthorrhiza	0	120	0	120

图5.DART-QDa真伪鉴别模型的交叉验证报告

为进一步测试模型的稳健性，从当地超市购买了两个姜黄粉样品，并使用上述方法进行提取。使用创建的 LiveID 真伪鉴别模型对提取物进行分析。两个样品可分别被识别为姜黄和印尼莪术，正确度得分为100%（图6）。

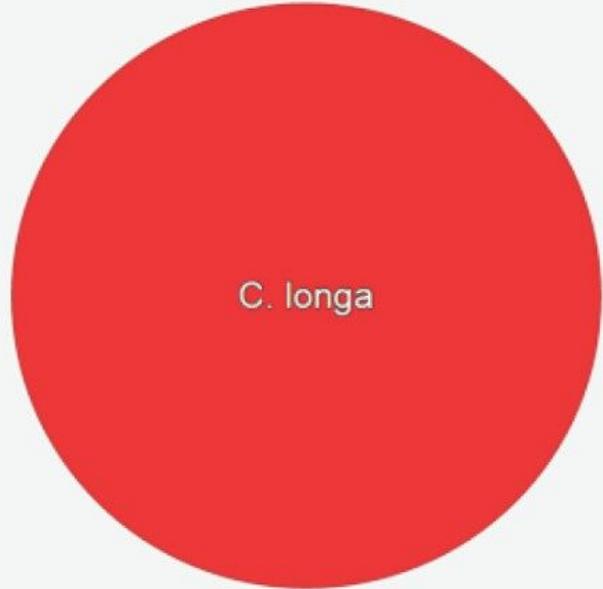
Model: Discrimination C. longa and C. xanthorrhiza
File: 20191118_Curc02.raw

Stopped



Result History

	Decision	Confidence	Outlier Measure	Start Scan	End Scan
	C. longa	100.00 %	-	1636	2088
	C. longa	100.00 %	-	1091	1635
	C. longa	100.00 %	-	546	1090
	C. longa	100.00 %	-	1	545



Model: Discrimination C. longa and C. xanthorrhiza
File: 20191118_Curc03.raw

Stopped



Result History

	Decision	Confidence	Outlier Measure	Start Scan	End Scan
	C. xanthorrhiza	100.00 %	-	1636	2088
	C. xanthorrhiza	100.00 %	-	1091	1635
	C. xanthorrhiza	100.00 %	-	546	1090
	C. xanthorrhiza	100.00 %	-	1	545



图6.未知姜黄样品的识别结果

- DART QDa能够检测到两种姜黄物种提取物中存在的键离子
- 在区分植物物种方面，DART QDa相比LC-MS是一种更加省时的替代方法
- 预期可对该模型进行更新以区分姜黄和印尼莪术的混合物

参考资料

1. Li S.; Chemical Composition and Product Quality Control of Turmeric (*Curcuma longa* L.). *TOPHARMCJ*.2011, 5(1): 28–54.
2. Jayaprakasha G.K.; Jagan M.R.; Sakariah K.K. Improved HPLC Method for the Determination of Curcumin, Demethoxycurcumin, and Bisdemethoxycurcumin. *J Agric Food Chem*.2002, 50(13): 3668–72.
3. Baell J; Walters M.A. Chemistry: Chemical Con Artists Foil Drug Discovery. *Nature*.2014, 513(7519):481–3.
4. Mieloch M.; Witulska M. Evaluation of Skin Colouring Properties of *Curcuma Longa* Extract. *Indian J. Pharm Sci*. 2014, 76 (4): 374–378.

致谢

本文作者由衷感谢Arko Wicaksono采集了20个正品姜黄样品供本研究使用。根据奥地利因斯布鲁克的奥地利药物筛选研究所(ADSI)与沃特世公司之间的合作协议，本研究的工作由因斯布鲁克大学分析化学与放射化学研究所和ADSI各完成一半。

特色产品

ACQUITY QDa质谱检测器 <<https://www.waters.com/134761404>>

DART QDa/LiveID系统 <<https://www.waters.com/134983082>>

720007046ZH, 2020年11月

© 2021 Waters Corporation. All Rights Reserved.