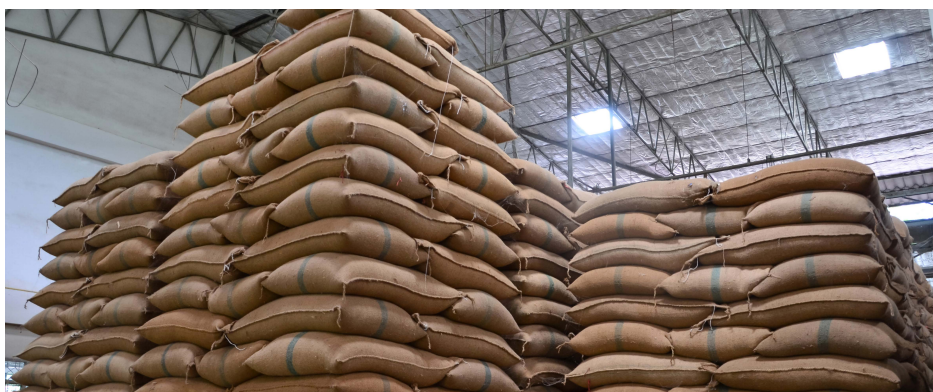


通过元素指纹图谱法使用 ICP-MS 和统计建模对大米进行真伪鉴别

使用 Agilent 7900 ICP-MS 和 Agilent Mass Profiler Professional 软件鉴别大米的原产地



作者

Fei Xu¹, Fanzhou Kong¹,
Hong Peng¹, Guangtao Zhang¹
和 Shuofei Dong²

1. 玛氏全球食品安全中心,
中国北京
2. 安捷伦科技 (中国) 有限公司,
中国北京

前言

大米是全球近一半人口的重要主食，而中国是世界第一大稻米生产国。鉴于全球对大米的巨大需求，高价值品种成为了食品造假者的目标，他们经常通过掺假以次充好或虚贴标签冒充昂贵品种等手段牟取经济利益。在中国，大米的价格很大程度上取决于其产地，所以生产商通过注册其产品为地理标志产品与市场上其他产品进行区分。以知名产地进行推广的大米，在需求高于产量的情况下，更容易出现掺假的情况。经常使用的手段包括用其他低级别产品替代部分或全部正品，以及使用虚假的产品标签。确定大米的原产地对农民、经销商和消费者来说都具有重要意义，因为这些群体都有可能因食品欺诈而遭受经济损失^[1]。鉴定食品产地和真伪对于食品安全和合规同样至关重要。如果食品供应商、生产商或零售商被发现提供掺假产品或使用错误的产品标签，他们可能会面临相应的惩罚。

粮食作物与加工食品的元素组成因植物种类、土壤类型、环境因素和耕作方式（包括灌溉和化肥的使用）的不同而有所不同。通常在对样品进行微波辅助酸消解之后，使用 ICP-MS 对食品中的各种元素进行分析^[2-4]。这些分析结果提供了每个样品的“元素指纹”，代表了样品的原产地。这些信息可用于食品真伪研究，现已应用于茶叶和香料等食品当中^[5,6]。

安捷伦 ICP-MS 系统包括拥有八极杆反应池系统 (ORS⁴) 的碰撞/反应池 (CRC)，经过调谐优化，可利用氦气 (He) 碰撞模式去除所有常见的多原子离子干扰。氦气碰撞模式支持多种元素使用相同的池设置，为食品真伪研究提供了高质量数据。Agilent Mass Profiler Professional (MPP) 是一个化学计量学软件，用于处理大量的质谱数据，安捷伦 ICP-MS 的数据与 MPP 软件兼容。MPP 包含多种数据分析方法，用户能够用其建立可靠的模型来预测未知样品的属性（如样品来源等）。

在本研究中，使用 Agilent 7900 ICP-MS 对 90 个产地已知的大米样品进行了分析，采集它们的元素浓度数据。然后，利用 MPP 软件对大量的样品数据进行处理。当确定可以应用主成分分析 (PCA) 方法区分样品的来源，就可以应用不同类型的算法，通过 MPP 软件建立预测模型。随后，使用这些预测模型来识别 24 个“未知”测试样品的来源。

实验部分

仪器

使用配备 Agilent SPS 4 自动进样器的 Agilent 7900 ICP-MS 完成所有元素浓度分析。7900 ICP-MS 配备了玻璃同心雾化器、石英双通道雾化室、2.5 mm 中心管的石英炬管、镍锥和 ORS⁴ 碰撞反应池。应用 Agilent ICP-MS MassHunter 软件控制仪器，使用 MPP 软件进行数据分析。文中所述数据分析功能在 MPP 15.0 或更高版本中可用。典型的仪器操作参数如表 1 所示。

表 1. Agilent 7900 ICP-MS 操作条件

参数	设置
RF 功率 (W)	1550
采样深度 (mm)	8
雾化器气体流量 (L/min)	1.16
透镜调谐	自动调谐
He 流速 (mL/min)	5
动能歧视电压 (V)	5

校准标样

使用 5% (v/v) 硝酸 (HNO₃) 溶液稀释安捷伦标样溶液，配制 24 种元素的标准曲线样品。标样包括：多元素校准标样-2A (部件号 8500-6940)、多元素校准标样-4 (部件号 8500-6942) 和环境校准标样 (部件号 5183-4688)。使用铑 (Rh) 单元素标准品 (部件号 5190-8509) 配制 Rh 内标 (ISTD) 溶液。除汞 (Hg) 外的标准溶液于分析前 24 小时内进行预混合。对于汞，应在要进行上机分析时再加入。

试剂、标准物质和样品

硝酸 (69%) 购自 Merck Millipore (Darmstadt, Germany)。去离子水 (DIW, 18.2 MΩ·cm) 由 Milli-Q 系统 (Millipore, MA, USA) 制得。

米粉标准参比物质 (SRM) 1568b 购自美国国家标准与技术研究院 (NIST, Gaithersburg, MD, USA)。90 个已知产地（来自地理标志产品产地）的大米样品从中国 5 个省的大米加工厂直接获得，其中在辽宁省采集了 2 个品种，共 30 个样品，其他各省各 15 个样品。采集地包括：黑龙江五常、辽宁盘锦（两批不同类型的样品）、江苏射阳、湖北京山和广西贵港。这些样品分别标记为 HLJ、LN-1、LN-2、JS、HB、GX。

样品前处理

所有实验器皿（包括消解罐）均在 30% (v/v) HNO₃ 溶液中浸泡 24 小时，并在使用前用去离子水冲洗三次。称取约 0.5 g 大米样品加入到聚四氟乙烯 (PTFE) 消解罐中，与 6 mL HNO₃ 混合。将消解罐置于通风橱中过夜，使样品进行预消解。然后将其放入微波消解仪 (Anton Paar, Austria) 中进行消解，加热程序如表 2 所示。

消解后，将溶液冷却至室温，然后用去离子水稀释至 50 mL。每批消解的大米样品均包含 NIST-1568b SRM 标样，以验证消解方法的准确性和精密度。

表 2. 典型微波消解参数

阶段	时间 (min)	温度 (°C)
升温	15	环境温度至 180
保持	20	180
冷却	约 45	180 至环境温度

结果与讨论

检测限 (DLs) 和背景等效浓度 (BECs)

由 ICP-MS MassHunter 软件计算出的 24 种元素的典型 DLs 和 BECs 如表 3 所示。

表 3. 本研究中测得的 24 种元素的 DLs 和 BECs

元素	DL (µg/L)	BEC (µg/L)	元素	DL (µg/L)	BEC (µg/L)
11 B	0.33	0.064	60 Ni	0.012	0.047
23 Na	0.091	1.03	63 Cu	0.0011	0.016
24 Mg	0.092	0.075	66 Zn	0.018	0.18
27 Al	0.37	0.47	75 As	0.0020	0.0020
39 K	0.39	11.90	78 Se	0.048	0.019
44 Ca	0.030	0.137	85 Rb	0.00001	0.0009
47 Ti	0.0064	0.0021	88 Sr	0.0015	0.0006
51 V	0.0015	0.0007	95 Mo	0.0011	0.0019
52 Cr	0.0021	0.014	111 Cd	0.0039	0.0049
55 Mn	0.0037	0.0042	137 Ba	0.0033	0.0069
56 Fe	0.022	0.13	201 Hg	0.0001	0.0009
59 Co	0.0005	0.0062	208 Pb	0.0097	0.12

SRM 回收率

在每批次样品分析中，均对 NIST-1568b 米粉 SRM 分析 2-3 次，以验证方法的准确性和精密度。四个不同批次的分析结果统计如表 4 所示。除汞外，所有元素的平均浓度与标准浓度相比都具有良好的一致性（回收率 80%-120%）。汞元素回收率较低可能是因为低浓度汞在 5%-8% HNO₃ 中不稳定^[7]。

在用于样品消解和稳定的酸中添加盐酸可能会显著提高汞的回收率。盐酸可使汞等化学性质不稳定的元素残留在溶液中。使用安捷伦 ICP-MS 的标准 He 模式可以轻松控制所有 CI 相关的多原子离子干扰^[8]。

表 4. NIST-1568b 米粉 SRM 中认证元素的回收率和重现性数据，n = 10

元素	标准浓度 (µg/g)	平均实测浓度 (µg/g)	标准偏差 (µg/g)	平均回收率 (%)
24 Mg	559 ± 10	540	27	97
27 Al	4.21 ± 0.34	4.11	0.15	98
39 K	1282 ± 11	1276	62	100
44 Ca	118.4 ± 3.1	114.3	8.3	97
55 Mn	19.2 ± 1.8	18.3	1.0	95
56 Fe	7.42 ± 0.44	7.30	0.30	98
59 Co*	0.0177 ± 0.0005	0.0170	0.0010	96
63 Cu	2.35 ± 0.16	2.29	0.15	98
66 Zn	19.42 ± 0.26	17.73	1.81	91
75 As	0.285 ± 0.014	0.269	0.020	94
78 Se	0.365 ± 0.029	0.351	0.026	96
85 Rb	6.198 ± 0.026	5.352	0.211	86
95 Mo	1.451 ± 0.048	1.405	0.110	97
111 Cd	0.0224 ± 0.0013	0.0197	0.0022	88
201 Hg	0.00591 ± 0.00036	0.00395	0.00127	67
208 Pb*	0.008 ± 0.003	0.009	0.001	116

* 参考值：未全面验证的值，但可与标准值在相似条件下使用

ISTD 稳定性

以 Rh 作为 ISTD, 是因为与其他可能使用的 ISTD 元素 (如 Sc 和 Ga) 相比, 大米样品中一般不存在 Rh。使用三通接头将 Rh 标准溶液 (1 mg /L) 与样品在线混合。包括一半大米样品的分析序列, 在 10 小时内连续分析。ISTD 的回收率偏差均在 $\pm 20\%$ 的限值范围内, 如图 1 中红色虚线所示。结果表明, 对于需要对食品消解物进行长时间分析的真伪研究而言, 7900 ICP-MS 具有出色的可靠性和高基质耐受性。

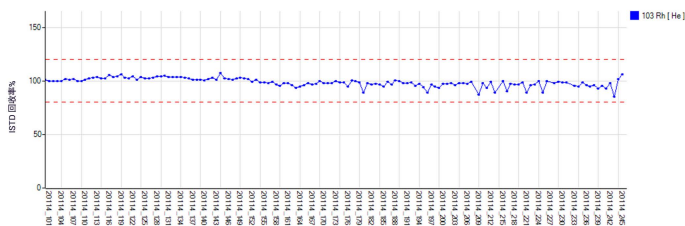


图 1. 使用 Agilent 7900 ICP-MS 进行 10 小时样品分析获得的 ISTD 回收率

使用 MMP 软件进行数据挖掘

将多元素数据批处理文件 (90 个大米样品, 24 种元素) 合并, 然后导入 MMP 化学计量学软件进行统计分析。该软件包括多种检验方法, 如 t 检验、方差分析 (ANOVA)、模型构建算法、相关性和聚类分析以及导入 R 算法的扩展功能。使用 PCA (一种无监督方法) 查看样品组之间是否具有显著差异。PCA 技术可评估各个元素对各组样品分离的相对贡献。三维 (3D)-PCA 得分如图 2 所示。

在前三个主成分 PC1、PC2 和 PC3 中总共包含了 65% 的特征值 (图 2)。采用 24 种元素可以对 5 种产地的 90 个大米样品进行一定程度上的分离。来自 HB、GX 和 LN-1 的样品与其他样品可显著区分, LN-2 与 HLJ 的样品有一定程度的重叠。根据 MMP 软件生成的 PCA 载荷图, PC1 的差异主要源于 B、Na、Zn 和 Cd; PC2 的差异主要源于 Al、Fe、Mn 和 Sr; PC3 的差异主要源于 Na、Cu、Se 和 Rb。结果证明了利用元素浓度数据建立产地预测模型的可行性, 并且模型可用于鉴别未知大米样品的产地。

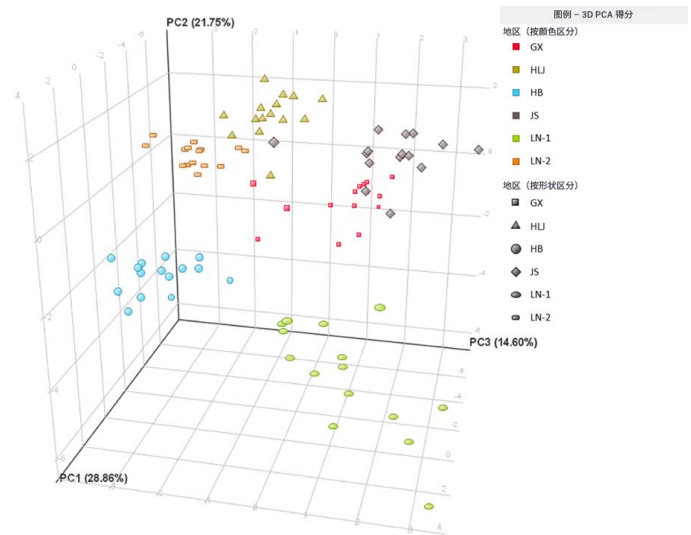


图 2. 来自 5 个不同地点的 90 个大米样品 (包括来自辽宁的两个不同品种) 的 3D-PCA 得分图。图中的各个坐标轴代表 PCA 结果的前三个主成分

类别预测分析

类别预测分析是一种能够将新的未知样品无偏差地分配到先前确定的组别中的一种实用技术。这种分析工具的价值在复杂样品的质量控制中日益突出, 如应用于葡萄酒和啤酒等^[9]。

MPP 中包括多种类别预测算法 (图 3)。这些算法包括簇类独立软模式法 (SIMCA)、随机森林法、线性判别分析 (LDA)、偏最小二乘判别分析 (PLSDA)、决策树法、支持向量机 (SVM)、朴素贝叶斯法和神经网络法。这些分类预测算法中的任何一种都可用于构建分类模型。

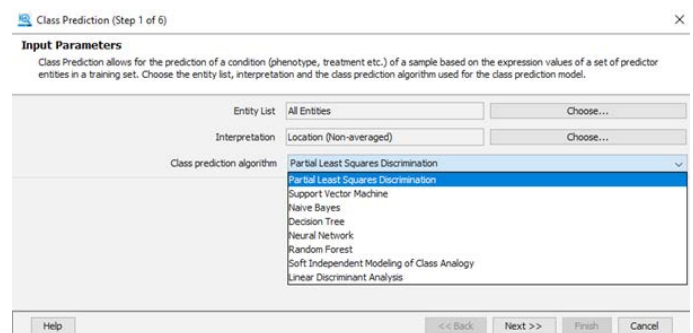


图 3. Agilent MMP 软件截屏, 显示了分类预测算法选项

在 MPP 中构建预测模型

从五个地点（其中辽宁采集了两组样品）各自的 15 个大米样品中随机选取 11 个样品，采用四种不同的分类预测算法（PLSDA、SVM、LDA 和 SIMCA）构建预测模型。各个地点的其余四个大米样品（总共 24 个样品）作为“未知”样品，用以测试预测模型的准确性。在 MPP 中构建预测模型时，分析人员仅需遵循六步自动标准化的软件操作流程，软件会自动跳过任何不必要的步骤。

测试预测模型

使用 PLSDA、SVM 和 LDA 模型得到的产地预测结果如表 5 所示。这三种预测模型都正确地识别了所有 24 个样品的产地。表 5 中的置信度值越高（阴影越深），表明正确预测结果的置信度越大。

表 5. 24 个“未知”大米样品的产地预测结果汇总

样品编号	实际产地	预测模型					
		PLSDA		SVM		LDA	
		预测产地	置信度	预测产地	置信度	预测产地	置信度
GX-101	广西贵港	广西贵港	0.762	广西贵港	0.742	广西贵港	0.776
GX-102	广西贵港	广西贵港	0.476	广西贵港	0.758	广西贵港	0.658
GX-103	广西贵港	广西贵港	0.606	广西贵港	0.804	广西贵港	0.830
GX-104	广西贵港	广西贵港	0.769	广西贵港	0.769	广西贵港	0.865
HB-101	湖北京山	湖北京山	0.632	湖北京山	0.774	湖北京山	0.667
HB-102	湖北京山	湖北京山	0.739	湖北京山	0.797	湖北京山	0.760
HB-103	湖北京山	湖北京山	0.770	湖北京山	0.727	湖北京山	0.811
HB-104	湖北京山	湖北京山	0.531	湖北京山	0.757	湖北京山	0.850
HLJ-101	黑龙江五常	黑龙江五常	0.423	黑龙江五常	0.415	黑龙江五常	0.733
HLJ-102	黑龙江五常	黑龙江五常	0.651	黑龙江五常	0.731	黑龙江五常	0.901
HLJ-103	黑龙江五常	黑龙江五常	0.659	黑龙江五常	0.777	黑龙江五常	0.873
HLJ-104	黑龙江五常	黑龙江五常	0.635	黑龙江五常	0.724	黑龙江五常	0.802
JS-101	江苏射阳	江苏射阳	0.637	江苏射阳	0.766	江苏射阳	0.834
JS-102	江苏射阳	江苏射阳	0.494	江苏射阳	0.625	江苏射阳	0.866
JS-103	江苏射阳	江苏射阳	0.526	江苏射阳	0.735	江苏射阳	0.918
JS-104	江苏射阳	江苏射阳	0.562	江苏射阳	0.824	江苏射阳	0.914
LN1-101	辽宁盘锦-1	辽宁盘锦-1	0.576	辽宁盘锦-1	0.711	辽宁盘锦-1	0.881
LN1-102	辽宁盘锦-1	辽宁盘锦-1	0.738	辽宁盘锦-1	0.743	辽宁盘锦-1	0.893
LN1-103	辽宁盘锦-1	辽宁盘锦-1	0.546	辽宁盘锦-1	0.744	辽宁盘锦-1	0.450
LN1-104	辽宁盘锦-1	辽宁盘锦-1	0.594	辽宁盘锦-1	0.816	辽宁盘锦-1	0.838
LN2-101	辽宁盘锦-2	辽宁盘锦-2	0.769	辽宁盘锦-2	0.717	辽宁盘锦-2	0.832
LN2-102	辽宁盘锦-2	辽宁盘锦-2	0.593	辽宁盘锦-2	0.731	辽宁盘锦-2	0.774
LN2-103	辽宁盘锦-2	辽宁盘锦-2	0.763	辽宁盘锦-2	0.734	辽宁盘锦-2	0.863
LN2-104	辽宁盘锦-2	辽宁盘锦-2	0.535	辽宁盘锦-2	0.727	辽宁盘锦-2	0.745

使用 SIMCA 模型从相同的测试样品获得的结果见表 6。SIMCA 模型使用“距离”来报告结果，其值越低，表明样品越可能属于相应的分类组。除一个大米样品 (HLJ-101) 外，SIMCA 模型正确预测了其他所有大米样品。经预测最可能来自辽宁盘锦-2 组的 HLJ-101，在 PLSDA 和 SVM 模型中置信度值也较低 (表 5)。PCA 结果也表明，HLJ 和 LN-2 的元素特征具有某些相似性 (图 2)。

表 6. 通过 SIMCA 模型预测的 24 个“未知”大米样品的产地结果。绿色：预测正确；琥珀色：预测不正确；红色：实际产地

样品编号	实际产地	预测算法					
		SIMCA					
		距离 (广西贵港)	距离 (黑龙江五常)	距离 (湖北京山)	距离 (江苏射阳)	距离 (辽宁盘锦-1)	距离 (辽宁盘锦-2)
GX-101	广西贵港	0.857	8.050	2.901	8.363	7.635	3.254
GX-102	广西贵港	0.203	9.422	4.627	7.672	8.797	4.865
GX-103	广西贵港	0.221	11.803	2.816	8.288	8.953	3.522
GX-104	广西贵港	0.195	8.879	3.965	7.573	8.219	3.801
HB-101	湖北京山	3.759	11.049	0.255	9.807	6.379	4.664
HB-102	湖北京山	5.279	10.986	0.527	10.328	5.746	5.411
HB-103	湖北京山	5.179	10.519	0.343	9.809	5.585	5.048
HB-104	湖北京山	4.126	10.093	0.367	9.026	5.288	4.650
HLJ-101	黑龙江五常	4.806	3.262	4.684	4.202	3.043	1.841
HLJ-102	黑龙江五常	7.328	0.370	6.634	2.685	3.246	1.511
HLJ-103	黑龙江五常	8.362	0.407	7.177	2.515	3.702	1.475
HLJ-104	黑龙江五常	8.740	0.630	7.133	2.351	3.012	1.895
JS-101	江苏射阳	14.174	6.839	16.351	0.141	2.901	4.514
JS-102	江苏射阳	12.018	6.895	14.477	0.647	2.830	4.234
JS-103	江苏射阳	12.831	6.750	16.327	0.292	3.003	2.786
JS-104	江苏射阳	12.003	7.809	17.050	0.146	4.089	3.750
LN1-101	辽宁盘锦-1	15.744	10.073	10.605	3.314	0.141	5.148
LN1-102	辽宁盘锦-1	18.586	8.118	12.548	3.465	0.302	6.626
LN1-103	辽宁盘锦-1	24.607	12.810	22.225	3.157	0.892	7.842
LN1-104	辽宁盘锦-1	17.242	12.822	12.874	5.091	0.193	6.848
LN2-101	辽宁盘锦-2	11.641	2.939	8.208	2.757	2.114	0.400
LN2-102	辽宁盘锦-2	11.823	2.944	9.358	3.014	2.573	0.266
LN2-103	辽宁盘锦-2	8.010	2.334	8.650	2.498	3.692	0.379
LN2-104	辽宁盘锦-2	9.582	3.681	9.425	2.805	3.444	0.570

结论

结果表明，配备 ORS⁴ 碰撞反应池的 Agilent 7900 ICP-MS 在氦气碰撞模式下可获得高质量、可靠和稳定的数据，这对于食品真伪性研究至关重要。对所有待测元素采用同一种池气体模式，可检测 90 份大米样品消解物中的 24 种元素。在 90 个大米样品中，使用 66 个样品的数据来建立预测模型，再用于预测剩余 24 个样品的产地。

使用 Agilent MPP 统计软件处理分析得到的大量元素浓度数据。PCA 数据分析表明，大米的元素组成受产地的影响，并可以较好地区分五个地区的大米。

在 MPP 软件中通过简单步骤建立了四种预测模型。使用 ICP-MS 数据训练模型，并使用“未知”样品进行测试。研究表明，使用多种预测模型而非单个预测模型，能够正确预测所有 24 个“未知”样品的产地。采用多模型方法可以得出更准确的预测结果，更好地了解样品的元素特征。

本研究所述的分析预测方法有望用于鉴别大米和其他高价值食品的产地，进而成为分析食品真伪的常规方法。

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

DE44425.119375

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2021
2021 年 9 月 6 日，中国出版
5994-4043ZHCN

参考文献

1. Dion M.A.M. Luykx, Saskia M. van Ruth, An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products, *Food Chemistry*, **2008**, 107, 897–911
2. Jenny Nelson, Elaine Hasty, Leanne Anderson, Macy Harris, Determination of Critical Elements in Foods in Accordance with US FDA EAM 4.7 ICP-MS Method (根据 US FDA EAM 4.7 ICP-MS 方法测定食品中的关键元素)，安捷伦出版物，[5994-2839EN](#)
3. Shuofei Dong, Jenny Nelson, Michiko Yamanaka, 使用 Agilent 7800 ICP-MS 对强化食品进行常规分析，安捷伦出版物，[5994-0842ZHCN](#)
4. Kazuhiro Sakai, Junichi Takahashi 和 Ed McCurdy, 应用带方法自动化功能的 Agilent 7900 ICP-MS 对食品 CRM 中的痕量金属组分进行常规测定，安捷伦出版物，[5991-4556CHCN](#)
5. Jenny Nelson, Helene Hopfer, Authentication of Specialty Teas: An Application Note. *Food Qual. Safety*, **2018**, December, 2021 年 2 月访问 <https://www.foodqualityandsafety.com/article/specialty-tea-authentication/>
6. Jenny Nelson et al., Determining the metal content of the spices and identifying the country of origin, *Food Qual. Safety*, **2019**, May, 2021 年 2 月访问 <https://www.foodqualityandsafety.com/article/authentic-spices-identifying-country-origin/>
7. U.S. EPA. 2014. Method 6020B (SW-846): Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry, Revision 2. Washington, DC. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/6020b.pdf>
8. Successful Low Level Mercury Analysis using Agilent ICP-MS (使用安捷伦 ICP-MS 成功分析低浓度的汞)，安捷伦出版物，[5990-7173EN](#)
9. Spiros A. Drivelos, Constantinos A Georgiou, Multi-element and multi-isotope-ratio analysis to determine the geographical origin of foods in the European Union, *Trends Anal. Chem.*, **2012**, 40, 38–51