

使用 ICP-MS 和 Agilent Mass Profiler Professional 软件判别茶叶的原产地

使用 Agilent 7850 ICP-MS 和 MPP 化学计量学软件对印度茶进行元素指纹图谱分析



作者

Dr. Vinay Jain¹, Shuofei Dong²,
Bappaditya Kanrar³

¹ 安捷伦科技公司, 印度马尼萨尔

² 安捷伦科技(中国)有限公司,
中国北京

³ 茶叶研究协会, 印度加尔各答

前言

茶是世界上广受欢迎的饮料之一, 因此成为一种高价值的农产品^[1]。印度是仅次于中国的世界第二大茶叶生产国, 其中大部分茶叶产自东北部的阿萨姆邦、西孟加拉邦和特里普拉邦。另外还有茶叶种植园位于康格拉(印度北部)和尼尔吉里(印度南部)。总体而言, 印度茶分为三类: 阿萨姆红茶(种植最多的品种)、大吉岭茶(优质且市场价值高)和尼尔吉里红茶(因风味独特而闻名)^[2]。

制造商将不同品种的茶混合在一起，创造出具有均衡风味的良好一致性的产品。此外，混合有助于减轻高需求茶叶品种的压力，例如仅在西孟加拉邦种植的大吉岭茶。然而，如果消费者购买了一包大吉岭茶，他们很难根据标签了解茶叶的质量和产地。大吉岭茶等具有高市场价值的茶叶品种越来越多地成为食品造假者的目标，他们经常通过替换、掺假或虚贴标签，以牟取经济利益^[3]。知名产地的茶叶（及其他食品）更容易出现掺假，尤其是在需求高于产量的情况下。为了保护消费者和生产者的利益免受食品掺假的影响，需要使用分析方法区分茶叶的原产地并验证其真伪。

植物种类、土壤类型、环境因素和农作方式（包括灌溉和化肥的使用）是影响用于生产食品和饮料的农产品元素组成的因素。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^[4-6]。这些多元素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。这些数据有助于进行食品真伪研究，现已应用于茶叶、香料和大米等食品中^[3, 7, 8]。

安捷伦 ICP-MS 仪器采用八极杆反应池系统 (ORS⁴)，其经过优化，可利用氦 (He) 碰撞模式和动能歧视 (KED) 去除所有常见的多原子重叠^[9]。He KED 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的多元素数据集。安捷伦 ICP-MS 数据与 Agilent Mass Profiler Professional (MPP) 软件兼容。MPP 是一种化学计量学软件包，用于处理大型质谱 (MS) 数据集。MPP 包含多种数据分类方法，使分析人员能够建立稳健的模型来预测未知样品的属性（如样品来源）。

安捷伦 ICP-MS（例如 7850 和 7900）拥有超过 10 或 11 个数量级的浓度线性动态范围，能够在一次运行中测量样品中的主量和痕量分析物。在宽动态范围下，无需对主量元素进行特别的仪器条件调整，从而简化了方法设置过程，同时还可确保减少由超范围结果引起的重新运行次数。

本研究使用 Agilent 7850 ICP-MS 分析了 150 个茶叶样品的“元素指纹”。这些样品采集自印度的八个地区的相同生长季节。使用 MPP 软件处理从 7850 ICP-MS 获得的元素数据。初步的主成分分析 (PCA) 结果表明，可以根据测量的 68 种元素中 18 种的浓度差异来区分茶叶的原产地。因此，选择这 18 种元素进行后续的分析。利用不同的分类预测算法，通过 MPP 软件建立预测模型，然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

校准标样

使用 5% HNO₃ (v/v) 按体积配制 18 种“指示”元素的校准标样。使用安捷伦标样溶液配制校准标样，其中包括多元素校准标样-1（部件号 8500-6944）、多元素校准标样-2A（部件号 8500-6940）、环境加标混合溶液（部件号 5183-4687）和多元素校准标样-4（部件号 8500-6942）。十二种元素（B、V、Cr、Co、Ni、Zn、Se、Rb、Sr、Mo、Cs 和 Ba）的校准范围为 0.1–200 ppb；Mg 的校准范围为 1.0–20 ppm；Mn 和 Al 的校准范围为 0.1–2.0 ppm；La、Ce 和 Nd 的校准范围为 0.1–20.0 ppb。使用安捷伦单元素标准品铑 (Rh)（部件号 5190-8509）配制 Rh 内标 (ISTD) 溶液。使用三通接头将 ISTD 溶液 (1.00 mg/L) 与样品在线混合。

样品前处理

来自 8 个地区（杜阿尔斯、察查县、特莱、大吉岭、托克莱、特里普拉、上阿萨姆和北岸）的共计 150 个茶叶样品由印度茶叶研究协会提供。每个样品都经过干燥和研磨，准确称取约 0.50 ± 0.01 g 样品并置于聚四氟乙烯 (PTFE) 微波消解容器中。用 5 mL HNO₃ 和 0.1 mL HCl 预消解每个样品，然后应用表 1 所示的微波消解程序 (Anton Paar, Austria) 进行消解。冷却至室温后，将消解溶液转移至 50 mL 离心管中，并用去离子水定容至 40 mL。所有样品、方法空白和加标样品均使用相同的程序制备（图 1）。

表 1. 微波消解程序

| 步骤 | 程序升温时间 (min) | 温度 (°C) | 保持时间 (min) |
|-----|--------------|---------|------------|
| I | 15 | 105 | 3 |
| II | 10 | 160 | 3 |
| III | 10 | 190 | 10 |
| IV | - | 室温 | - |

加标样品前处理

为了测试定量方法的准确性，通过向北岸地区随机选择的样品中加入已知浓度的元素，进行加标回收率研究。在分析的元素中，茶叶样品普遍富含 Zn、Al、Mg 和 Mn，含有中等浓度的 B、V、Cr、Co、Ni、Rb、Sr、Mo 和 Sr，以及低浓度的 Se、Cs、La、Ce 和 Nd。因此，在消解之前，向北岸地区的茶叶样品中加入了这些元素，相对于最终样品消解溶液，这些元素的加标浓度分别为 1 ppm、100 ppb 和 10 ppb。对所选的北岸茶叶平行加标了三份样品来完成实验。

仪器

本分析使用包括超高基质进样 (UHMI) 系统和 ORS⁴ 碰撞/反应池的 Agilent 7850 ICP-MS。使用 Agilent SPS 4 自动进样器执行进样。7850 配备标准配置，包括 MicroMist 雾化器、石英雾化室、2.5 mm 直径中心管的石英炬管、离轴离子透镜组件和镍锥。所有元素均使用一组 He KED 碰撞池模式条件进行测量，详见表 2。使用 Agilent ICP-MS MassHunter 软件控制 7850 并采集数据，再使用 MPP 软件 (15.1 版) 分析数据。

表 2. Agilent 7850 ICP-MS 操作条件

| 参数 | 值 |
|-----------------|------|
| RF 功率 (W) | 1550 |
| 采样深度 (mm) | 9.0 |
| 雾化器气体流速 (L/min) | 0.92 |
| 雾化室温度 (°C) | 2.0 |
| 透镜调谐 | 自动调谐 |
| He 流速 (mL/min) | 4.3 |
| 动能歧视电压 (V) | 3 |

结果与讨论

检测限

在方法开发过程中，采集了 68 种元素的数据。然而，只有 18 种元素的变化较为明显，可用于分类预测建模。计算校准曲线空白 (n = 10) 浓度的 3 倍标准偏差 (SD)，作为这 18 种元素的仪器检测限 (IDL)。使用 80 倍的稀释倍数 (将 0.50 ± 0.01 g 的茶叶消解并稀释至最终体积为 40 mL) 计算方法检测限 (MDL)。IDL 和 MDL 如表 3 所示。较低的 IDL，表明 7850 ICP-MS 适用于痕量元素的测定。

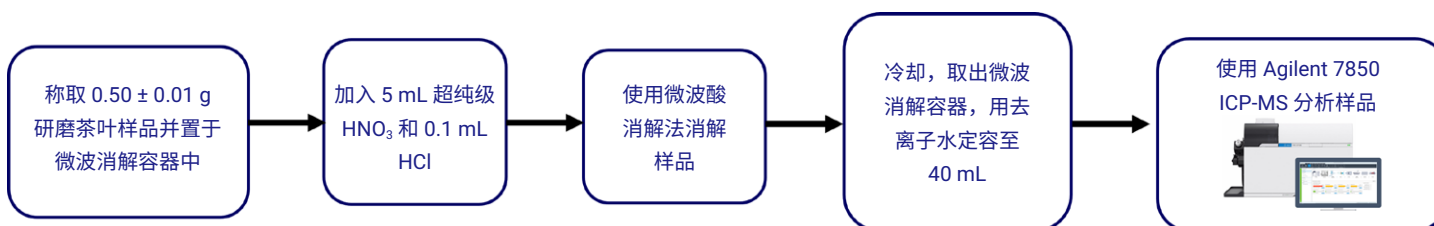


图 1. 用于茶叶 ICP-MS 分析的分析工作流程

茶叶样品的定量结果

使用 7850 ICP-MS 分析印度 8 个不同地区的茶叶消解物。如表 5 所示，各地区内的元素浓度定量结果的百分比差异 <5%。

表 5. 来自 8 个地区的 15 或 20 个茶叶样品中 18 种元素的平均实测浓度，根据稀释倍数进行了校正。单位：mg/kg

| 元素 | 杜阿尔斯地区 | | 察查县地区 | | 特莱地区 | | 大吉岭地区 | | 托克莱地区 | | 特里普拉 | | 上阿萨姆 | | 北岸 | |
|----|------------------|--------|------------------|--------|------------------|--------|------------------|--------|------------------|--------|------------------|--------|------------------|--------|------------------|--------|
| | 平均浓度 (n = 20) | 差异 (%) | 平均浓度 (n = 20) | 差异 (%) | 平均浓度 (n = 20) | 差异 (%) | 平均浓度 (n = 15) | 差异 (%) | 平均浓度 (n = 20) | 差异 (%) | 平均浓度 (n = 15) | 差异 (%) | 平均浓度 (n = 20) | 差异 (%) | 平均浓度 (n = 20) | 差异 (%) |
| B | 12 | 2.0 | 15 | 1.8 | 9.7 | 2.1 | 12 | 2.1 | 6.4 | 2.3 | 14 | 3.2 | 9.9 | 2.4 | 11 | 2.7 |
| Mg | 2245 | 0.6 | 1989 | 0.9 | 2183 | 1.3 | 1951 | 0.8 | 2337 | 1.5 | 1418 | 2.9 | 2162 | 1.5 | 1988 | 2.2 |
| Al | 853 | 0.7 | 734 | 0.8 | 922 | 1.3 | 559 | 1.2 | 579 | 1.5 | 349 | 3.0 | 630 | 1.5 | 759 | 2.0 |
| V | 0.19 | 4.9 | 0.22 | 2.8 | 0.25 | 3.6 | 0.25 | 2.7 | 0.23 | 2.4 | <MDL | - | 0.10 | 3.6 | 8.3 | 3.0 |
| Cr | 7.9 | 4.6 | 19 | 1.0 | 21 | 1.1 | 0.54 | 2.4 | 7.9 | 1.6 | 0.32 | 4.9 | 0.84 | 2.1 | 12 | 2.7 |
| Mn | 639 | 0.8 | 637 | 1.0 | 504 | 1.2 | 384 | 1.0 | 817 | 1.3 | 540 | 3.0 | 308 | 1.3 | 1088 | 2.0 |
| Co | 0.18 | 4.4 | 0.34 | 1.6 | 0.39 | 2.8 | 0.14 | 4.2 | 0.30 | 1.3 | 0.15 | 2.9 | 0.12 | 2.6 | 1.2 | 2.8 |
| Ni | 5.9 | 4.3 | 7.7 | 1.1 | 7.6 | 2.7 | 8.2 | 0.9 | 8.0 | 1.7 | 3.4 | 2.8 | 2.5 | 1.3 | 8.9 | 3.8 |
| Zn | 32 | 4.4 | 20 | 0.9 | 33 | 4.9 | 41 | 0.9 | 37 | 1.5 | 27 | 2.9 | 27 | 1.6 | 31 | 2.2 |
| Se | 0.85 | 3.9 | 0.27 | 4.9 | 0.19 | 4.8 | 0.19 | 4.7 | <MDL | - | 0.20 | 4.1 | 0.31 | 4.6 | 0.19 | 3.1 |
| Rb | 23 | 0.5 | 44 | 1.0 | 67 | 1.6 | 71 | 1.4 | 29 | 1.4 | 54 | 2.9 | 35 | 1.5 | 93 | 2.2 |
| Sr | 6.3 | 0.7 | 11 | 1.2 | 12 | 1.6 | 12 | 1.0 | 16 | 1.3 | 13 | 2.9 | 16 | 1.5 | 11 | 2.3 |
| Mo | 0.90 | 2.9 | 0.25 | 3.1 | 0.23 | 3.6 | <MDL | - | <MDL | - | <MDL | - | <MDL | - | 1.0 | 4.8 |
| Cs | 0.36 | 2.9 | 0.16 | 1.6 | 0.17 | 1.7 | 0.10 | 2.0 | <MDL | - | 0.12 | 2.9 | 0.13 | 2.1 | 0.13 | 2.0 |
| Ba | 19 | 4.9 | 31 | 1.0 | 33 | 0.8 | 21 | 0.9 | 33 | 1.2 | 31 | 2.9 | 37 | 1.4 | 41 | 2.2 |
| La | 0.13 | 1.7 | 0.40 | 1.1 | 0.15 | 2.0 | 0.16 | 1.2 | 0.14 | 1.5 | 0.12 | 2.9 | 0.15 | 1.9 | 0.21 | 4.3 |
| Ce | 0.21 | 1.1 | 0.33 | 1.0 | 0.28 | 1.8 | 0.28 | 1.5 | 0.24 | 2.5 | 0.18 | 3.0 | 0.20 | 1.4 | 0.38 | 2.2 |
| Nd | 0.10 | 2.4 | 0.29 | 2.2 | 0.12 | 3.1 | 0.14 | 2.2 | 0.12 | 3.8 | <MDL | - | 0.21 | 1.7 | 0.24 | 3.0 |

加标回收率和基质效应的评估

为了验证本方法的准确性，对北岸地区的一个茶叶样品进行了加标回收率研究。对茶叶样品的三个不同加标样品进行了分析，并计算了加标回收率，结果如表 6 所示。平均加标回收率 (n = 3) 在 100% ± 10% 之内，测量值的 %RSD 小于 5%。出色的回收率表明所有元素都不受样品基质产生的任何基质效应的影响。

表 6. 使用 Agilent 7850 ICP-MS 分析平行配制 3 份的北岸加标茶叶样品的准确度和精密度

| 元素 | 未加标样品的浓度 (mg/kg) | 加标浓度 (mg/kg) | 加标样品的浓度 (mg/kg) | 平均回收率 (%) (n = 3) | RSD (%) |
|--------|------------------|--------------|-----------------|-------------------|---------|
| 11 B | 11.4 | 8 | 18.7 | 92 | 3.7 |
| 24 Mg | 1987 | 80 | 2071 | 105 | 4.8 |
| 27 Al | 763 | 80 | 837 | 93 | 4.0 |
| 51 V | 8.3 | 8 | 16.5 | 103 | 0.7 |
| 52 Cr | 12.0 | 8 | 20.6 | 107 | 1.1 |
| 55 Mn | 1087 | 80 | 1160 | 92 | 2.1 |
| 59 Co | 1.4 | 8 | 9.5 | 101 | 2.0 |
| 60 Ni | 8.7 | 8 | 16.8 | 102 | 1.0 |
| 66 Zn | 33 | 80 | 118 | 107 | 1.4 |
| 82 Se | 0.18 | 0.8 | 0.99 | 101 | 1.4 |
| 85 Rb | 94 | 8 | 101 | 97 | 1.7 |
| 88 Sr | 11.5 | 8 | 18.9 | 93 | 3.3 |
| 95 Mo | 0.98 | 8 | 8.7 | 96 | 0.5 |
| 133 Cs | 0.14 | 0.8 | 0.87 | 92 | 0.8 |
| 137 Ba | 42 | 8 | 49 | 95 | 2.2 |
| 139 La | 0.23 | 0.8 | 0.99 | 95 | 3.6 |
| 140 Ce | 0.39 | 0.8 | 1.21 | 103 | 4.0 |
| 146 Nd | 0.25 | 0.8 | 1.1 | 101 | 3.5 |

使用 MPP 软件进行数据分析

将从 150 个茶叶样品中测得的 18 种元素的 ICP-MS 数据合并，然后导入安捷伦 MPP 化学计量学软件进行统计分析。MPP 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、箱线图、相关性和聚类分析。

主成分分析

执行 PCA (P 临界值 <0.05)，研究不同地理区域的茶叶样品组之间是否存在显著差异。PCA 法可评估元素对区分各组样品的相对贡献。图 3 中的三维 (3D)-PCA 评分表明，根据 18 种元素的元素分析，原产地不同的茶叶样品之间存在显著差异。在前三个主成分 PC1 (X 轴, 38.68%)、PC2 (Y 轴, 19.87%) 和 PC3 (Z 轴, 13.66%) 中总共捕获了 72% 的差异。根据 PCA 载荷值，茶叶原产地的差异主要源于 PC1 的 Sr、Ba 和 B；PC2 的差异主要源于 Cs、La 和 Rb；PC3 的差异主要源于 Mo、Ce 和 Nd。

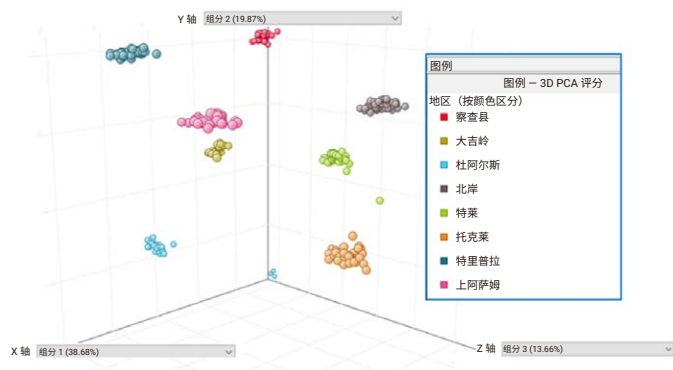


图 3. 150 个茶叶样品的 3D-PCA 图评分显示基于元素分析的原产地歧视。图中的 X 轴、Y 轴和 Z 轴代表 PCA 结果的三大主成分

分类预测分析

分类预测分析是一种能够将未知样品无干扰地分配到先前确定的组中的一种实用技术。MPP 软件中包括多种分类预测算法。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、支持向量机 (SVM)、朴素贝叶斯和神经网络。这些分类预测算法中的任何一种都可用于构建分类模型。

构建预测模型

使用常用的食品分类预测算法 LDA 和 SVM 构建预测模型，用以确定茶叶样品的原产地。建模用的各地的样品集的元素浓度参数使用非平均值进行。为了构建模型，从 8 个地区分别随机选择茶叶样品 (大吉岭和特里普拉选择 12 个样品，其他地区选择 18 个样品)。其余 24 个样品 (从 8 个地区各选择 3 个样品) 作为“未知”样品，用以测试两种预测模型的准确性。

测试预测模型

使用 LDA 和 SVM 模型得到的产地预测结果如表 7 所示。这两种预测模型都正确地识别了所有 24 个“未知”茶叶样品的产地，并且具有较高的置信度。

表 7. 24 个“未知”茶叶样品的产地预测结果。值接近 1，表示可信度极高

| 样品名称 | 实际产地 | SVM 预测模型 | | LDA 预测模型 | |
|----------|------|----------|-------|----------|-------|
| | | 预测产地 | 置信度 | 预测产地 | 置信度 |
| 未知样品 C1 | 察查县 | 察查县 | 0.907 | 察查县 | 0.986 |
| 未知样品 C2 | 察查县 | 察查县 | 0.910 | 察查县 | 0.967 |
| 未知样品 C3 | 察查县 | 察查县 | 0.907 | 察查县 | 0.977 |
| 未知样品 D1 | 杜阿尔斯 | 杜阿尔斯 | 0.912 | 杜阿尔斯 | 0.976 |
| 未知样品 D2 | 杜阿尔斯 | 杜阿尔斯 | 0.916 | 杜阿尔斯 | 0.966 |
| 未知样品 D3 | 杜阿尔斯 | 杜阿尔斯 | 0.905 | 杜阿尔斯 | 0.964 |
| 未知样品 Da1 | 大吉岭 | 大吉岭 | 0.886 | 大吉岭 | 0.981 |
| 未知样品 Da2 | 大吉岭 | 大吉岭 | 0.891 | 大吉岭 | 0.979 |
| 未知样品 Da3 | 大吉岭 | 大吉岭 | 0.906 | 大吉岭 | 0.980 |
| 未知样品 NB1 | 北岸 | 北岸 | 0.919 | 北岸 | 0.978 |
| 未知样品 NB2 | 北岸 | 北岸 | 0.921 | 北岸 | 0.989 |
| 未知样品 NB3 | 北岸 | 北岸 | 0.919 | 北岸 | 0.989 |
| 未知样品 T1 | 特里普拉 | 特里普拉 | 0.898 | 特里普拉 | 0.985 |
| 未知样品 T2 | 特里普拉 | 特里普拉 | 0.886 | 特里普拉 | 0.977 |
| 未知样品 T3 | 特里普拉 | 特里普拉 | 0.877 | 特里普拉 | 0.940 |
| 未知样品 Te1 | 特莱 | 特莱 | 0.902 | 特莱 | 0.980 |
| 未知样品 Te2 | 特莱 | 特莱 | 0.905 | 特莱 | 0.986 |
| 未知样品 Te3 | 特莱 | 特莱 | 0.911 | 特莱 | 0.983 |
| 未知样品 To1 | 托克莱 | 托克莱 | 0.884 | 托克莱 | 0.987 |
| 未知样品 To2 | 托克莱 | 托克莱 | 0.887 | 托克莱 | 0.981 |
| 未知样品 To3 | 托克莱 | 托克莱 | 0.895 | 托克莱 | 0.993 |
| 未知样品 UA1 | 上阿萨姆 | 上阿萨姆 | 0.901 | 上阿萨姆 | 0.985 |
| 未知样品 UA2 | 上阿萨姆 | 上阿萨姆 | 0.913 | 上阿萨姆 | 0.988 |
| 未知样品 UA3 | 上阿萨姆 | 上阿萨姆 | 0.910 | 上阿萨姆 | 0.985 |

结论

使用 Agilent 7850 ICP-MS 对来自印度 8 个地区的 150 个茶叶样品中的 68 种常量元素和痕量元素进行了测量。7850 的宽动态范围和氦碰撞池模式使所有元素都可以在一个批处理文件中使用相同的操作条件进行分析。使用 Agilent Mass Profiler Professional (MPP) 化学计量学软件对多元素数据进行批处理。对数据应用主成分分析 (PCA) 的结果表明，不同地区的茶叶中 18 种元素的浓度存在一定的差异。使用食品真伪研究中常用的两种分类预测模型 (SVM 和 LDA) 构建基于这 18 种元素的分类预测模型。两种模型都正确地识别了 24 个“未知”茶叶测试样品的原产地，包括高价值的大吉岭茶。

元素指纹图谱 ICP-MS 方法有望用于表征各种食品的产地。结果可用于确认正品的产地，或识别掺假或虚贴标签的产品。

参考文献

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Commodities: Tea, accessed March 2022, <https://www.fao.org/markets-and-trade/commodities/tea/en/>
2. Indian Chamber of Commerce, Sector: Tea, accessed March 2022, <https://www.indianchamber.org/sectors/tea/>
3. Jenny Nelson, Helene Hopper, Authentication of Specialty Teas: An Application Note. *Food Qual. Safety*, **2018**, December, accessed March 2022 <https://www.foodqualityandsafety.com/article/specialty-tea-authentication/>
4. 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](#)
5. 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](#)
6. 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](#)
7. Jenny Nelson *et al.*, Determining the metal content of the spices and identifying the country of origin, *Food Qual. Safety*, **2019**, accessed March 2022, <https://www.foodqualityandsafety.com/article/authentic-spices-identifying-country-origin/>
8. Fei Xu 等, 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, 安捷伦出版物, [5994-4043ZHCN](#)
9. 八极杆碰撞/反应池和氦气模式, 安捷伦出版物, [5994-1172ZHCN](#)

www.agilent.com/chem/7850icp-ms

DE88247626

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, 2022
2022 年 3 月 15 日, 中国出版
5994-4583ZHCN

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

