

根据 EAM 4.7 ICP-MS 方法测定肉类替代品中的重金属和痕量元素

使用 ICP-MS 对植物性蛋白质食品和细胞培养物进行食品安全分析



作者

Jenny Nelson,
安捷伦科技有限公司

Edward O'Neill, Dave Block,
美国加州大学戴维斯分校

Sam Heckle, 美国 CEM 公司

前言

人体需要摄入足够量的必需常量营养成分（碳水化合物、脂肪和蛋白质），以支持身体的能量需求。蛋白质是身体组织生长、发育和修复所必需的，并且对于增长或维持肌肉和骨骼健康尤为重要。肉类、家禽、鱼类、乳制品和鸡蛋是蛋白质的主要来源，而植物性来源包括大豆、豆类、坚果、扁豆、谷物、粮食、水果和蔬菜。无论是出于伦理、饮食、健康，还是社会原因，全球越来越多的人成为纯素或素食主义者，或者正在减少动物性食品的摄入量。对集约化动物养殖对气候和自然资源影响的担忧，可能会促使更多人限制饮食中肉类的量^[1]。

食品行业意识到素食食品越来越受欢迎，正在积极研究有助于满足该需求的工艺和产品。从超市货架上以及快餐店和餐馆菜单上越来越多的替代蛋白质产品可以看出素食食品的趋势。一些食品公司已经在销售通过在生物反应器中生长的动物源性细胞培养的肉类组织所生产的产品。

为确保非肉类蛋白质或培养的蛋白质产品作为食用品的安全性，生产商必须遵守良好生产规范 (GMP)。通常，GMP 指南为食品的生产、检测和质量保证提供指导。食品安全分析包括对食品中的受监管化学物质进行检测，例如有机污染物（如农药残留）和无机污染物（如重金属）。在美国 (US)，食品药品监督管理局 (FDA) 对各种食品进行监管，并发布了实验室应当使用以帮助确保食品安全的分析方法。例如，FDA 元素分析手册 (Elemental Analysis Manual, EAM) 4.7 是一种综合性方法，描述了如何利用 ICP-MS 测定食品消解液（使用微波辅助酸消解制得）中的 12 种元素。EAM 4.7 还提供了一系列质量控制 (QC) 检测方法，以确保分析人员能够证明仪器性能和数据准确度^[2]。想要生产、进口或出口基于细胞的肉类替代品的公司可能需要在每个目标市场均获得监管部门的批准。然而，现有的食品分析检测方法（例如 EAM 4.7）有可能应用于任何新开发的细胞培养食品。

本研究介绍了使用 Agilent 7850 ICP-MS 和 Agilent SPS 4 自动进样器对不同植物性肉类替代品样品中的 30 种元素和细胞培养溶液中的 29 种元素进行分析。植物性蛋白质分析中包含 Be，但并非细胞培养基研究的目标分析物。分析方法改编自先前使用 7850 ICP-MS 的食品分析研究^[3]。元素列表包括 EAM 4.7 中规定的所有 12 种重金属和微量元素：砷、镉、铬、铜、铅、锰、汞、钼、镍、硒、铊和锌。此外，还对以下痕量和常量元素进行了分析：铝、铈、钡、铍、硼、钙、钴、铁、镁、磷、钾、银、钠、铟、硫、锡、钛和钒。

通过分析四种食品有证标准物质 (CRMs)、加标方法空白 (FMB) 和四种植物性肉类替代食品加标分析组分 (FAPs) 评估了所分析元素的数据质量。FAP 是指在样品前处理前进行加标的样品。本研究还制备并分析了液体细胞培养基的 FMB 以及细胞培养基、用过的细胞培养基和用过的条件细胞培养基的 FAPs。

实验部分

校准标样

使用 2% 硝酸 (HNO₃) 和 0.5% 盐酸 (HCl) 制备校准标样。通常会在样品中加入 HCl，以便使用安捷伦 ICP-MS 系统进行分析，因为这可以确保化学性质不稳定的元素（如 Hg）保留在溶液中。使用标准氦 (He) 碰撞池模式可以轻松控制所有与 Cl 相关的多原子重叠^[4]。使用安捷伦标准溶液（包括环境校准标样，货号 5183-4688）制备校准标样。以下元素使用安捷伦单元素校准标样：Hg（货号 5190-8485）、S（货号 5190-8210）、P（货号 5190-8428）、B（货号 5190-8254）、Ti（货号 5190-8545）、Sr（货号 5190-8527）和 Sn（货号 5190-8543）。大多数痕量元素的校准范围为 0.1–25 ppb。Cu、Zn 和 Mn 的校准浓度高达 250 ppb。Hg 的校准范围为 0.01–2.5 ppb。矿物元素的校准范围为 5–25000 ppb。

使用 1% HNO₃、0.5% HCl 和 10% 异丙醇 (IPA) 配制含有 2 ppm ⁶Li、Sc、Ge、Rh、Tb 和 Bi（安捷伦货号 8188-6525）的内标 (ISTD) 溶液。按照 4.7 方法，在 ISTD 中加入 IPA 有助于确保分析溶液中的碳含量一致。该方法有助于避免电离增强，当微波消解后如果样品中残留的碳含量不同时，电离增强会影响 As 和 Se 的灵敏度。ISTD 溶液以样品流速约 1/16 的流速自动在线添加。

标准物质和样品

使用购自美国国家标准技术研究院 (NIST, Gaithersburg, US) 的四种食品基质 SRMs 验证了方法，包括 NIST 1577c 牛肝、NIST 1947 密歇根湖鱼组织、NIST 1549a 全脂奶粉和 NIST 1568b 米粉。植物性肉类替代品样品（炸鸡、牛肉汉堡和碎牛肉的非肉类替代品）购自美国北卡罗来纳州的一家超市。从加州大学戴维斯分校的一项研究项目中获得了一系列培养基液体样品^[5]。细胞培养基由 40% Dulbecco 改良 Eagle 培养基 (DMEM)、40% Ham's F-10 营养混合物、20% 胎牛血清 (FBS) 组成。

标样和样品前处理

所有 SRMs 和植物性肉类替代品样品均根据 EAM 4.7 方法中的消解程序直接进行前处理（未均质化或去除水分）。使用美国 CEM 公司的 MARS 6 密闭容器微波消解系统。准确称取样品（约 0.5 g 食品或 SRM）置于 75 mL PFA Xpress 容器中，然后加入 8 mL HNO₃ 和 1 mL H₂O₂。使用表 1 中的加热程序在同一批次中消解样品、SRMs 和加标样品 (FAPs) 的平行样品。每批次可处理最多 40 种不同的食品样品基质，所有样品类型均采用同一套程序。消解后，将 0.5 mL 浓盐酸加入消解液中，然后加入去离子水至最终重量为 100 g。

表 1. 微波消解参数

参数	设置
功率 (W)	1800
程序升温时间 (min)	25
保持时间 (min)	15
温度 (°C)	200

本研究还分析了加州大学戴维斯分校为培养肉类替代品样品而配制的八个液体细胞培养基样品。

样品 1 和 2 为来自相同的未使用细胞培养基的不同批次，这些培养基孵育了不同的时间。因此，预期化学组成略有不同。样品 1 为取自瓶中的新鲜培养基，而样品 2 则在培养箱中保存 21 天后进行分析。

样品 3、4 和 5 为来自同一批次的用过的细胞培养基，在培养基用于培养原代胚胎鸡肌肉前体细胞 21 天后收集。用过的培养基是指细胞收获后留下的细胞培养基，因此含有未使用的营养物质以及积累的代谢物和废物。预期样品 3 至 5 的组成相似，因为它们属于“生物学重复样品”，即用于孵育相同类型细胞的三份单独培养物的培养基。因此，三个样品之间化学组成上的任何差异都应归因于重复培养物之间的代谢变化。

样品 6、7 和 8 来自用于样品 3、4 和 5 的同一批培养基，但在细胞在培养基中生长 14 天而不是 21 天后收集。样品 6、7 和 8 也是生物学重复样品，用于培养与样品 3 至 5 相同类型的鸡胚胎细胞的三份单独培养物。

取各液体细胞培养基样品 15 mg，用 15 mL 2% HNO₃ 和 0.5% HCl 稀释（而不是消解），然后直接利用 ICP-MS 进行分析。细胞培养基比较宝贵，因此将样品量限制为 15 mg。

校准标样、样品和 QC 溶液的分析序列如图 1 所示。样品列表重复运行，每运行 10 个样品后自动插入定期 QC 序列。

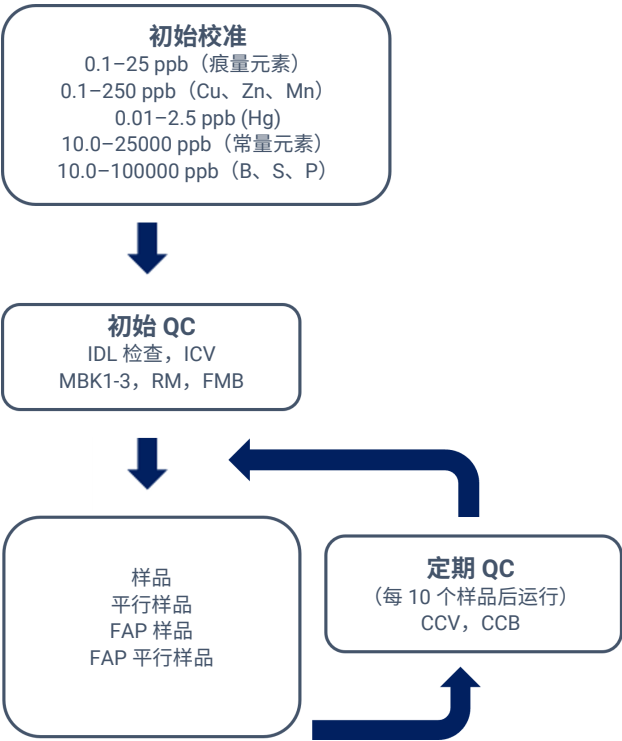


图 1. 分析序列

说明：仪器检测限 (IDL)、初始校准验证 (ICV)、方法空白 (MBK)、标准物质 (RM)、加标方法空白 (FMB)、加标分析组分 (FAP)、连续校准验证 (CCV)、连续校准空白 (CCB)。

仪器

本分析使用 Agilent 7850 ICP-MS，其包括 ORS⁴ 碰撞池和 UHMI 气溶胶稀释系统。使用标准 ICP-MS 进样系统，其由 MicroMist 玻璃同心雾化器、温控石英雾化室和带有内径 2.5 mm 中心管的石英炬管组成。使用镀镍铜采样锥和镍截取锥。

根据先前检测食品消解液的经验^[3]，选择预设的等离子体模式 HMI-4，该模式下会对样品进行四倍的气溶胶稀释^[6]。当选择 UHMI 时，等离子体设置会根据目标样品类型的基质水平自动调整，如表 2 中的阴影行所示。其他仪器操作条件均使用 ICP-MS MassHunter 自动调谐功能自动优化。所有分析物均在氦气 (He) 模式 (增强型 He 模式用于 P、S、As 和 Se) 下进行采集。EAM 4.7 规定，用于 FDA 监管的食品分析的 ICP-MS 必须能够在具有动能歧视 (KED) 的氦气模式下运行。在单四极杆 ICP-MS 上，反应池气体不是可接受的替代方案，因为存在形成反应产物离子而产生新的谱图重叠干扰的风险。在 He 模式下运行 ORS⁴ 是安捷伦 ICP-MS 系统的标准方法，因为它能够可靠地去除所有常见分析物的典型多原子离子干扰^[4, 7]。仪器操作条件列于表 2 中。

表 2. Agilent 7850 ICP-MS 操作条件*

ICP-MS 参数	设置
RF 功率 (W)	1600
采样深度 (mm)	10
载气流速 (L/min)	0.80
稀释 (UHMI) 气体流速 (L/min)	0.15
透镜调谐	自动调谐
氦池气体流速 (mL/min)	4.3 (10**)
动能歧视电压 (V)	5 (7**)

* 阴影部分的参数在方法和 HMI-4 等离子体预设中进行定义；所有参数在启动和自动调谐过程中自动优化。 ** 增强型 He 模式设置用于 P、S、As 和 Se

结果与讨论

代表性校准曲线如图 2 所示。Na、Mg、Mn、Cu、As 和 Hg 在整个校准范围内表现出优异的线性，相关系数为 0.9999 或更高。

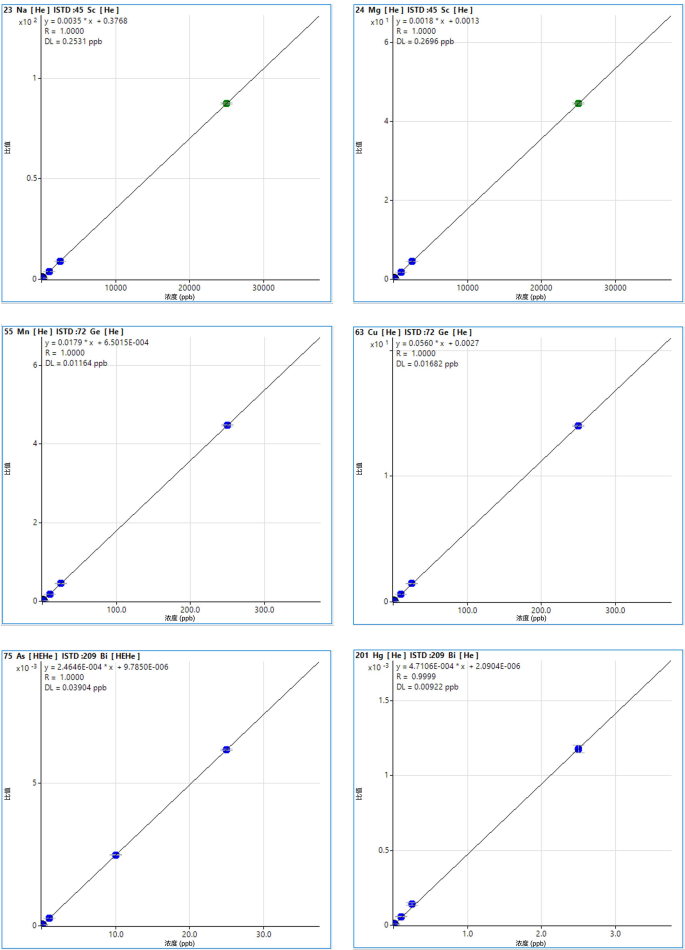


图 2. 常量元素和痕量元素的代表性校准曲线

根据 ICP-MS MassHunter 校准情况计算的典型 7850 ICP-MS 仪器检测限 (DLs) 如表 3 所示。根据运行结束时检测的方法空白计算 EAM 方法检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ)，如表 3 所示，n = 10^[8]。采集 30 种元素（包括 EAM 4.7 中要求的 12 种元素）的数据，对于所有分析物，均使用 He 池气体。

表 3. Agilent 7850 ICP-MS 检测限和 EAM 4.7 标称分析限（如有提供）

元素	ICP-MS MassHunter		基于 EAM 4.7 分析限计算		EAM 4.7 标称分析限	
	DL (µg/kg)	BEC (µg/kg)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
9 Be	0.000	0.000	0.011	0.037	-	-
11 B	4.290	8.808	1.501	5.002	-	-
23 Na	7.410	275.1	7.505	25.02	-	-
24 Mg	0.140	0.384	0.141	0.471	-	-
27 Al	0.100	0.423	0.204	0.680	-	-
31 P	1.650	3.475	2.372	7.908	-	-
34 S	242.0	911.3	212.9	709.8	-	-
39 K	13.58	152.0	4.311	14.37	-	-
43 Ca	6.450	8.585	5.955	19.85	-	-
47 Ti	0.219	0.110	0.289	0.962	-	-
51 V	0.012	0.060	0.015	0.049	-	-
52 Cr	0.035	0.433	0.032	0.107	5.390	48.90
55 Mn	0.021	0.032	0.010	0.033	2.330	21.20
56 Fe	0.005	0.787	0.053	0.175	-	-
59 Co	0.001	0.002	0.001	0.003	-	-
60 Ni	0.024	0.024	0.006	0.020	6.380	58.00
63 Cu	0.006	0.055	0.018	0.060	6.020	54.70
66 Zn	0.159	1.003	0.116	0.387	37.40	340.0
75 As	0.029	0.043	0.004	0.014	1.270	11.60
78 Se	0.166	0.412	0.088	0.292	7.280	66.10
88 Sr	0.004	0.008	0.002	0.006	-	-
95 Mo	0.005	0.002	0.003	0.012	5.180	47.10
107 Ag	0.001	0.002	0.002	0.005	-	-
111 Cd	0.003	0.003	0.003	0.010	0.408	3.710
118 Sn	0.011	0.129	0.008	0.025	-	-
121 Sb	0.013	0.033	0.007	0.024	-	-
137 Ba	0.017	0.008	0.017	0.058	-	-
201 Hg	0.006	0.006	0.012	0.039	0.861	7.820
205 Tl	0.001	0.004	0.013	0.044	*0.281	*2.100
Pb**	0.002	0.024	0.001	0.005	1.200	10.90

所有分析物均在 He 模式（增强型 He 模式用于 P、S、As 和 Se）下进行采集。标称分析限见 EAM 4.7，并且基于一年内单个实验室验证期间所测得的方法空白；n = 143。* 基于单个实验室验证 (n = 27)。** Pb 含量以三种丰度最高的同位素 206、207 和 208 之和进行计算。

仪器校准和样品消解过程的验证

作为 EAM 4.7 中规定的方法质量控制程序的一部分，并且为了确保校准的持续有效性，在分析序列中对 CCV 标准品进行了五次分析。大多数被测元素报告的回收率符合 EAM 可接受标准，即 CCV 实际浓度的 ±10%（结果未显示）。

为了验证样品消解过程和分析方法的准确度，使用 7850 ICP-MS 分析了两组各四个 NIST SRMs。如表 4 所示，平均浓度与标准浓度高度一致，符合 FDA EAM 方法的 QC 标准要求 (80%–120%)。由于并非所有 SRMs 中的所有分析物均经过认证，因此空白单元格表明不存在标准值或参考值。

表 4. 使用 Agilent 7850 ICP-MS 得到的四种 NIST 食品类 SRMs 的平均实测浓度。样品一式三份进行消解，然后各重复检测三次，再计算平均值 (n = 9)

元素	NIST 1577c 牛肝					NIST 1947 密歇根湖鱼组织				
	浓度单位	标准浓度	平均实测浓度	回收率 (%)*	QC 标准 (80%–120%)**	浓度单位	标准浓度	平均实测浓度	回收率 (%)*	QC 标准 (80%–120%)**
²³ Na	mg/kg	2033	2039	100	合格	-	-	-	-	-
²⁴ Mg	mg/kg	620	614	99	合格	-	-	-	-	-
³¹ P	mg/kg	11750 R	12189	104	合格	-	-	-	-	-
³⁴ S	mg/kg	7490	7541	101	合格	-	-	-	-	-
³⁹ K	mg/kg	10230	10195	100	合格	-	-	-	-	-
⁴³ Ca	mg/kg	131	115	88	合格	-	-	-	-	-
⁵¹ V	µg/kg	8.17	8.52	104	合格	-	-	-	-	-
⁵² Cr	µg/kg	53	57	107	合格	-	-	-	-	-
⁵⁵ Mn	mg/kg	10.46	10.18	97	合格	mg/kg	0.076	0.071	93	合格
⁵⁶ Fe	mg/kg	197.94	199.86	101	合格	mg/kg	3.79	3.38	89	合格
⁵⁹ Co	mg/kg	0.300	0.307	102	合格	-	-	-	-	-
⁶⁰ Ni	µg/kg	44.5	49.3	111	合格	-	-	-	-	-
⁶³ Cu	mg/kg	275.2	256.8	93	合格	mg/kg	0.411	0.356	87	合格
⁶⁶ Zn	mg/kg	181.1	181.7	100	合格	mg/kg	2.66	2.44	92	合格
⁷⁵ As	µg/kg	19.6	22.7	116	合格	mg/kg	0.732	0.672	92	合格
⁷⁸ Se	mg/kg	2.031	2.182	107	合格	mg/kg	0.475	0.426	90	合格
⁸⁸ Sr	µg/kg	95.3	96.8	102	合格	-	-	-	-	-
⁹⁵ Mo	mg/kg	3.30	3.49	106	合格	-	-	-	-	-
¹⁰⁷ Ag	µg/kg	5.9	6.1	104	合格	-	-	-	-	-
¹¹¹ Cd	µg/kg	97.0	98.4	101	合格	-	-	-	-	-
¹²¹ Sb	µg/kg	3.13 R	3.74	120	合格	-	-	-	-	-
²⁰¹ Hg	µg/kg	5.36 R	5.93	111	合格	mg/kg	0.254	0.274	108	合格
Pb	µg/kg	62.8	63.6	101	合格	-	-	-	-	-

Pb 含量以三种丰度最高的同位素 206、207 和 208 之和进行计算。

表 4 接下页

表 4 (续)

元素	NIST 全脂奶粉 SRM 1549a					NIST 米粉 SRM 1568b				
	浓度单位	标准浓度	平均实测浓度	回收率 (%)*	QC 标准 (80%–120%)**	浓度单位	标准浓度	平均实测浓度	回收率 (%)*	QC 标准 (80%–120%)**
²³ Na	mg/kg	3176	3648	115	合格	-	-	-	-	-
²⁴ Mg	mg/kg	892	1018	114	合格	mg/kg	559	525	94	合格
³¹ P	mg/kg	7600	8792	116	合格	mg/kg	1530	1711	112	合格
³⁹ K	mg/kg	11920	13673	115	合格	mg/kg	1282	1307	102	合格
⁴³ Ca	mg/kg	8810	10195	115	合格	mg/kg	118.4	125.0	105	合格
⁵² Cr	-	-	-	-	-	mg/kg	118.4	124.5	105	合格
⁵⁵ Mn	mg/kg	0.184	0.189	103	合格	-	19.2	19.2	100	合格
⁵⁶ Fe	mg/kg	1.85 R	2.12	115	合格	-	7.42	7.68	104	合格
⁶³ Cu	-	-	-	-	-	mg/kg	2.35	2.39	102	合格
⁶⁶ Zn	mg/kg	33.8	34.7	103	合格	mg/kg	19.42	18.55	96	合格
⁷⁵ As	-	-	-	-	-	mg/kg	0.285	0.335	118	合格
⁷⁸ Se	mg/kg	0.242	0.288	119	合格	mg/kg	0.365	0.425	116	合格
¹¹¹ Cd	-	-	-	-	-	mg/kg	0.0224	0.0201	90	合格
²⁰¹ Hg	-	-	-	-	-	µg/kg	5.91	6.00	107	合格

R - 参考质量分数值。* FDA 元素分析手册（第 3.4 节，特殊计算）3.4 公式 20。 ** FDA EAM 4.7 QC 标准 (80%–120%)，用于 NIST 标准值。

基质效应和加标回收率

为测试非质谱干扰（基质效应），通过在空白中添加 1 µg/kg (对于大多数痕量元素)、50 µg/kg (对于 Al、Fe、Cu、Zn) 和 4000 µg/kg (对于常量元素，包括 K、P 和 S) 的各元素来制备 FMB。在整个分析运行过程中定期分析 FMB。所有回收率均在 EAM 4.7 方法可接受的回收率范围 (90%–110%) 内，如表 5 所示。

实施加标回收率 (FAP) 测试，以检查 7850 ICP-MS 方法分析植物性（肉类替代品）食品的准确度。以 1 µg/kg 或 50 µg/kg 的浓度向每个样品中添加所有元素，并使用 7850 ICP-MS 进行检测。对于元素天然浓度低于 1 µg/kg 的样品，报告 1 µg/kg 加标样品的结果。对于天然浓度较高的样品，报告 50 µg/kg 或 4000 µg/kg 加标样品的结果。加标植物性牛肉替代品食品样品中所有元素的回收率均在 EAM 4.7 方法 QC 标准 (±20%) 范围内，如表 5 所示。

表 5. 平均回收率结果基于对平行的样品消解液的分析，每个样品在 Agilent 7850 ICP-MS 上重复分析两次，n = 2。低加标浓度为 1 µg/kg，高加标浓度为 50 µg/kg 或 4000 µg/kg

	浓度单位	方法空白			植物性“碎牛肉”		
		方法空白浓度	低浓度加标样品回收率 (%)	高浓度加标样品回收率 (%)	天然浓度	低浓度加标样品回收率 (%)	高浓度加标样品回收率 (%)
11 B	µg/kg	7.472	-	93	<LOD	-	111
23 Na	mg/kg	15.98	-	108	3650	-	*
24 Mg	mg/kg	<LOD	-	105	210.5	-	*
27 Al	µg/kg	0.448	106	101	2659	-	103
31 P	mg/kg	<LOD	-	96	2116	-	*
34 S	mg/kg	<LOD	-	**	1371	-	*
39 K	mg/kg	<LOD	-	105	2655	-	*
43 Ca	mg/kg	<LOD	-	102	1565	-	*
47 Ti	µg/kg	<LOD	102	91	152	-	103
51 V	µg/kg	<LOD	106	-	15.3	-	104
52 Cr	µg/kg	<LOD	106	-	89.2	-	103
55 Mn	µg/kg	<LOD	-	98	4085	-	104
56 Fe	mg/kg	0.859	-	106	33.16	-	*
59 Co	µg/kg	<LOD	105	-	35.2	-	104
60 Ni	µg/kg	<LOD	106	-	188	-	103
63 Cu	µg/kg	0.053	-	107	1615	-	105
66 Zn	mg/kg	<LOD	-	103	44.54	-	*
75 As	µg/kg	<LOD	104	-	16.3	-	109
78 Se	µg/kg	<LOD	104	-	78.0	101	98
88 Sr	µg/kg	<LOD	95	-	1686	-	92
95 Mo	µg/kg	<LOD	105	-	275	-	105
107 Ag	µg/kg	<LOD	-	102	1.481	-	92
111 Cd	µg/kg	<LOD	106	-	9.470	-	104
118 Sn	µg/kg	3.580	91	-	634	NA	
121 Sb	µg/kg	<LOD	104	-	<LOD	96	-
137 Ba	µg/kg	<LOD	103	-	391	-	100
201 Hg	µg/kg	<LOD	101	-	<LOD	111	-
205 Tl	µg/kg	<LOD	98	-	9.341	110	-
Pb***	µg/kg	<LOD	104	-	6.697	114	-

所有分析物均在 He 模式（增强型 He 模式用于 P、S、As 和 Se）下进行采集。* 与天然浓度相比，加标浓度过低，** 低于校准范围。NA = 未测量，不适用。*** Pb 含量以三种丰度最高的同位素 206、207 和 208 之和进行计算。

植物性蛋白质食品样品的定量结果

三种植物性肉类替代食品样品的定量结果见表 6。除 EAM 4.7 中规定的 12 种元素外，还提供了 Be、B、Na、Mg、Al、P、S、K、Ca、Ti、V、Fe、Co、Sr、Ag、Sn、Sb 和 Ba 的数据。

表 6. 使用 Agilent 7850 ICP-MS 分析三种植物性肉类替代食品样品所得到的定量结果 (n = 9)

	浓度单位	植物性 “炸鸡”	植物性 “牛肉汉堡”	植物性 “碎牛肉”
9 Be	µg/kg	3.29 ± 2.64	3.51 ± 2.75	<LOD
11 B	µg/kg	2952 ± 204.6	2753 ± 153.5	<LOD
23 Na	mg/kg	10293 ± 350	2537 ± 48	3650 ± 231
24 Mg	mg/kg	281 ± 26360	627 ± 24679	210 ± 34
27 Al	µg/kg	65704 ± 28678	1291 ± 124.9	2659 ± 520.7
31 P	mg/kg	3291 ± 242784	1874 ± 76	2116 ± 312
34 S	mg/kg	24576 ± 434	1756 ± 68	1371 ± 237
39 K	mg/kg	1920 ± 91	4416 ± 86	2655 ± 161
43 Ca	mg/kg	169 ± 9	1025 ± 38	156 ± 22
47 Ti	µg/kg	63362 ± 17691	81.80 ± 11.98	152.4 ± 44.53
51 V	µg/kg	42.92 ± 11.86	8.21 ± 2.92	15.35 ± 1.43
52 Cr	µg/kg	190.7 ± 58.17	178.9 ± 8.71	89.19 ± 13.72
55 Mn	µg/kg	5610 ± 592.5	11450 ± 561.5	4085 ± 856.3
56 Fe	µg/kg	43416 ± 5195	33040 ± 410.0	33159 ± 6752
59 Co	µg/kg	583.5 ± 142.3	1085 ± 75.93	35.17 ± 4.59
60 Ni	µg/kg	581.8 ± 25.01	147.2 ± 19.20	188.5 ± 12.62
63 Cu	µg/kg	4201 ± 861.6	2295 ± 42.85	1615 ± 286.5
66 Zn	µg/kg	13990 ± 989.2	46159 ± 405.1	44540 ± 3098
75 As	µg/kg	30.39 ± 4.48	12.97 ± 3.21	16.35 ± 2.40
78 Se	µg/kg	82.22 ± 28.25	67.56 ± 11.85	78.04 ± 11.96
88 Sr	µg/kg	1272 ± 160.2	2467 ± 157.0	1686 ± 165.5
95 Mo	µg/kg	902.2 ± 121.9	856.1 ± 22.26	274.8 ± 45.87
107 Ag	µg/kg	14.10 ± 18.89	2.41 ± 0.76	1.48 ± 0.41
111 Cd	µg/kg	14.07 ± 1.34	9.91 ± 1.54	9.47 ± 1.28
118 Sn	µg/kg	684.7 ± 24.55	697.8 ± 26.94	634.2 ± 13.62
121 Sb	µg/kg	<LOD	<LOD	<LOD
137 Ba	µg/kg	861.2 ± 44.50	2691 ± 177.15	390.6 ± 80.28
201 Hg	µg/kg	<LOD	<LOD	<LOD
205 Tl	µg/kg	34.15 ± 29.97	7.15 ± 1.61	9.34 ± 0.80
Pb*	µg/kg	19.53 ± 0.89	21.48 ± 5.91	6.70 ± 1.10

所有分析物均在 He 模式（增强型 He 模式用于 P、S、As 和 Se）下进行采集。* Pb 含量以三种丰度最高的同位素 206、207 和 208 之和进行计算。

基于细胞的样品的定量结果和加标回收率

方法空白、液体细胞培养基、用过的培养基和用过的条件培养基样品的定量结果以及加标回收率数据（FMB 和 FAP）见表 7、8 和 9。由于样品来自不同批次的细胞培养基，因此观察到在相同类型样品（表 8 和 9）中测得的一些元素的浓度存在差异。培养基中的 FBS 是导致结果差异的原因之一（例如，样品 3 中的高浓度 Pb），因为它是一种复杂的、成分大都不明确的产品，适用于细胞培养。目前正在开展研究，寻找一种经济有效的方法将 FBS 替换为植物性成分用于培养肉类细胞培养物。

为测试非质谱干扰（基质效应），按 10 ppb、1000 ppb 或 4000 ppb 浓度对空白加标，制备两个 FMBs。1000 ppb 加标浓度用于 Na、Mg、Ca 和 Fe，而 4000 ppb 加标浓度用于 P、S 和 K。低加标浓度用于其余微量元素。在整个样品运行过程中定期分析 FMB。所有回收率均在 EAM 4.7 方法可接受的回收率范围 (90%–110%) 内，如表 7 所示。

实施加标回收率 (FAP) 测试，以检查 7850 ICP-MS 方法分析液体细胞培养基的准确度。向八个培养基样品中添加 10 ppb 痕量元素和 1000 ppb 常量元素。细胞培养基样品中所有元素的回收率均在 EAM 4.7 方法 QC 标准 (±20%) 范围内，如表 7 至 9 所示。

表 7. 方法空白、定量结果 (n = 9) 以及培养基液体样品的加标回收率

	浓度单位	方法空白			液体细胞培养基			
		方法空白浓度	低浓度加标 样品回收率 (%)	高浓度加标 样品回收率 (%)	样品 1		样品 2	
					液体细胞培养基 (无细胞)	回收率 (%)	液体细胞培养基 (无细胞)	回收率 (%)
11 B	µg/kg	7.472	-	93	<LOD	103	<LOD	96
23 Na	mg/kg	15.98	-	108	2152	*	9913	*
24 Mg	mg/kg	<LOD	-	105	11.63	104	36.34	104
27 Al	µg/kg	0.448	106	101	<LOD	113	<LOD	109
31 P	mg/kg	<LOD	-	96	32.77	104	137.42	106
34 S	mg/kg	<LOD	-	**	<LOD	101	<LOD	98
39 K	mg/kg	<LOD	-	105	166.8	99	691.5	80
43 Ca	mg/kg	<LOD	-	102	30.92	102	125.1	99
47 Ti	µg/kg	<LOD	102	-	<LOD	98	<LOD	102
51 V	µg/kg	<LOD	106	-	<LOD	102	<LOD	101
52 Cr	µg/kg	<LOD	106	-	<LOD	101	<LOD	100
55 Mn	µg/kg	<LOD	-	98	<LOD	103	<LOD	101
56 Fe	mg/kg	0.859	-	106	0.380	107	2.044	107
59 Co	mg/kg	<LOD	105	-	<LOD	101	0.065	101
60 Ni	µg/kg	<LOD	106	-	<LOD	102	<LOD	104
63 Cu	µg/kg	0.053	-	107	<LOD	105	0.104	105
66 Zn	µg/kg	<LOD	-	103	<LOD	104	1.265	112
75 As	µg/kg	<LOD	104	-	<LOD	101	<LOD	102
78 Se	µg/kg	<LOD	104	-	<LOD	99	<LOD	96
88 Sr	µg/kg	<LOD	95	-	<LOD	105	<LOD	106
95 Mo	mg/kg	<LOD	105	-	<LOD	102	0.011	103
107 Ag	µg/kg	<LOD	-	102	<LOD	81	<LOD	82
111 Cd	µg/kg	<LOD	106	-	<LOD	105	<LOD	106
118 Sn	µg/kg	3.580	91	-	<LOD	100	<LOD	103
121 Sb	µg/kg	<LOD	104	-	<LOD	106	<LOD	106
137 Ba	µg/kg	<LOD	103	-	<LOD	104	<LOD	104
201 Hg	µg/kg	<LOD	101	-	<LOD	115	<LOD	101
205 Tl	µg/kg	<LOD	98	-	<LOD	104	<LOD	105
Pb***	µg/kg	<LOD	104	-	<LOD	104	<LOD	105

所有分析物均在 He 模式（增强型 He 模式用于 P、S、As 和 Se）下进行采集。* 与天然浓度相比，加标浓度过低，** 低于校准范围。*** Pb 含量以三种丰度最高的同位素 206、207 和 208 之和进行计算。

表 8. 孵育 21 天的用过的液体培养基样品的定量结果 (n = 9) 和加标回收率

	浓度单位	用于培养原代胚胎鸡肌肉前体细胞 21 天后的培养基					
		样品 6	回收率 (%)	样品 7	回收率 (%)	样品 8	回收率 (%)
11 B	µg/kg	<LOD	96	<LOD	103	<LOD	102
23 Na	mg/kg	1221	*	2228	*	6541	*
24 Mg	mg/kg	8.333	106	11.88	106	27.93	106
27 Al	µg/kg	<LOD	94	<LOD	111	<LOD	108
31 P	mg/kg	24.35	105	31.08	106	89.59	107
34 S	mg/kg	<LOD	100	<LOD	102	<LOD	104
39 K	mg/kg	102.5	82	154.1	104	446.7	108
43 Ca	mg/kg	48.99	108	25.09	105	79.14	108
47 Ti	µg/kg	<LOD	104	0.062	102	0.081	103
51 V	µg/kg	<LOD	102	<LOD	101	<LOD	102
52 Cr	µg/kg	<LOD	102	<LOD	103	<LOD	102
55 Mn	µg/kg	<LOD	104	0.014	103	<LOD	103
56 Fe	mg/kg	14.03	107	0.371	107	0.837	107
59 Co	mg/kg	<LOD	102	<LOD	101	<LOD	102
60 Ni	µg/kg	0.030	102	<LOD	102	<LOD	102
63 Cu	µg/kg	1.145	109	<LOD	106	<LOD	105
66 Zn	µg/kg	5.212	98	<LOD	105	0.423	105
75 As	µg/kg	3.724	100	6.749	100	6.463	100
78 Se	µg/kg	<LOD	98	<LOD	98	<LOD	99
88 Sr	µg/kg	<LOD	105	<LOD	104	<LOD	104
95 Mo	mg/kg	<LOD	102	<LOD	102	<LOD	103
107 Ag	µg/kg	<LOD	80	<LOD	80	<LOD	80
111 Cd	µg/kg	<LOD	104	<LOD	104	<LOD	104
118 Sn	µg/kg	<LOD	100	<LOD	99	<LOD	99
121 Sb	µg/kg	<LOD	104	<LOD	105	<LOD	105
137 Ba	µg/kg	<LOD	105	<LOD	104	<LOD	103
201 Hg	µg/kg	<LOD	117	<LOD	114	<LOD	119
205 Tl	µg/kg	3.813	104	4.235	104	6.944	104
Pb	µg/kg	228.7	100	0.058	104	<LOD	105

所有分析物均在 He 模式 (增强型 He 模式用于 P、S、As 和 Se) 下进行采集。* 与天然浓度相比, 加标浓度过低。** Pb 含量以三种丰度最高的同位素 206、207 和 208 之和进行计算。

表 9. 孵育 14 天的条件培养基液体样品的定量结果 (n = 9) 和加标回收率

	浓度单位	用于培养原代胚胎鸡肌肉前体细胞 14 天后的培养基					
		样品 6	回收率 (%)	样品 7	回收率 (%)	样品 8	回收率 (%)
11 B	µg/kg	<LOD	103	<LOD	103	<LOD	104
23 Na	mg/kg	3457	*	1774	*	2378	*
24 Mg	mg/kg	18.08	107	9.834	106	14.39	106
27 Al	µg/kg	<LOD	114	<LOD	105	<LOD	109
31 P	mg/kg	46.33	109	23.92	106	39.31	107
34 S	mg/kg	<LOD	105	<LOD	103	<LOD	106
39 K	mg/kg	232.3	106	126.9	105	159.7	104
43 Ca	mg/kg	42.79	110	20.72	104	32.27	104
47 Ti	µg/kg	<LOD	103	<LOD	104	<LOD	105
51 V	µg/kg	<LOD	103	<LOD	102	<LOD	102
52 Cr	µg/kg	<LOD	102	<LOD	103	<LOD	101
55 Mn	µg/kg	<LOD	104	<LOD	103	<LOD	102
56 Fe	mg/kg	0.683	108	0.280	107	0.794	106
59 Co	mg/kg	<LOD	103	0.013	102	0.015	101
60 Ni	µg/kg	<LOD	104	<LOD	104	<LOD	104
63 Cu	µg/kg	0.046	107	0.039	107	0.033	106
66 Zn	µg/kg	0.404	110	<LOD	106	<LOD	107
75 As	µg/kg	<LOD	103	<LOD	101	<LOD	100
78 Se	µg/kg	<LOD	101	<LOD	98	<LOD	99
88 Sr	µg/kg	<LOD	107	<LOD	106	<LOD	105
95 Mo	mg/kg	<LOD	104	<LOD	104	<LOD	103
107 Ag	µg/kg	<LOD	82	<LOD	82	<LOD	81
111 Cd	µg/kg	<LOD	106	<LOD	105	<LOD	106
118 Sn	µg/kg	<LOD	103	<LOD	102	<LOD	99
121 Sb	µg/kg	<LOD	106	<LOD	106	<LOD	104
137 Ba	µg/kg	0.407	106	<LOD	104	<LOD	104
201 Hg	µg/kg	<LOD	110	<LOD	108	<LOD	111
205 Tl	µg/kg	3.117	106	2.220	105	2.659	105
Pb**	µg/kg	0.381	106	<LOD	105	<LOD	105

所有分析物均在 He 模式 (增强型 He 模式用于 P、S、As 和 Se) 下进行采集。* 与天然浓度相比, 加标浓度过低。** Pb 含量以三种丰度最高的同位素 206、207 和 208 之和进行计算。

ISTD 回收率 (%)

将图 1 中的分析序列在 48 小时内重复分析。所有 ISTD 回收率均在 ±20% 以内，在整个运行过程中未出现内标不合格的情况，符合 EAM 4.7 中规定的标准（图 3）。结果证明了 7850 ICP-MS 等离子体的稳定性以及配备 UHMI 的系统在长时间运行中的高基质耐受性。

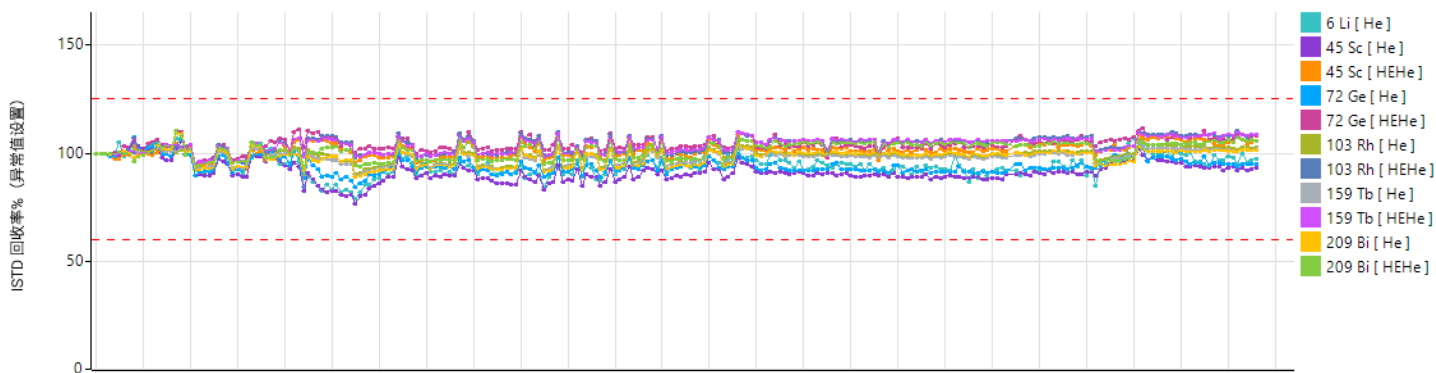


图 3. 48 小时内 ISTD 测量结果的稳定性。所有样品的 ISTD 回收率均采用校准空白进行了归一化处理

IntelliQuant 数据

当分析人员使用 ICP-MS MassHunter 预设方法开发定量方法时，在 He 模式调谐步骤中预定义 IntelliQuant 快速扫描采集。IntelliQuant 无需特殊设置或单独校准，简化了分析过程。IntelliQuant 自动采集每个样品的全质谱数据，只需额外两秒钟的测量时间，分析人员即可快速查看样品中存在哪些元素。由于 IntelliQuant 数据是在 He 碰撞池模式下采集的，因此分析物没有常见的多原子离子重叠干扰，从而确保了数据的质量。

本研究使用在 He 模式下运行的 7850 ICP-MS 采集了每个植物性食品样品和 SRM 的 IntelliQuant 数据。数据可以显示为元素周期表热图，如图 4 的植物性“碎牛肉”样品所示。颜色强度热图显示了每个样品中多达 78 种元素的近似浓度，颜色越深表示元素浓度越高。IntelliQuant 数据是一种快速轻松地获得样品的元素含量并确定是否存在任何非预期元素的方法。

从图 4 可以看出，植物性“碎牛肉”样品的 Rb 浓度相对较高。Rb 未在定量研究中进行校准，因此采用 IntelliQuant 的天然同位素模板功能检查快速扫描谱图以确认分析物。图 5 显示 Rb 与天然同位素模板拟合良好，确认样品中存在 Rb。

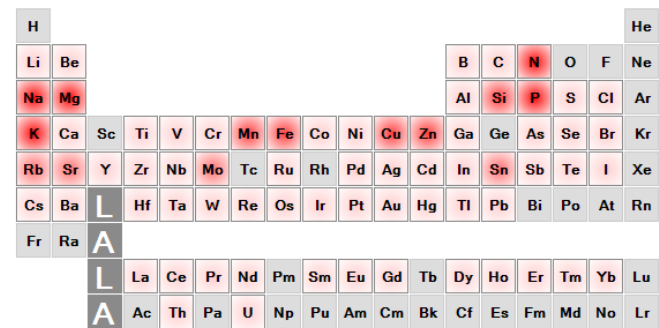


图 4. 从植物性“碎牛肉”样品中采集的 ICP-MS IntelliQuant 数据元素周期表热图

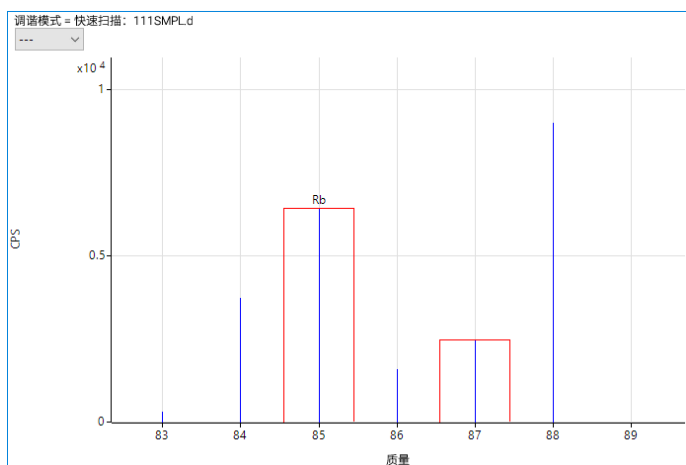


图 5. 使用 IntelliQuant 快速扫描质谱图中的同位素模板拟合功能，确认植物性碎牛肉样品中存在意外高浓度的 Rb

结论

利用 Agilent 7850 ICP-MS 分析了一系列植物性蛋白质食品中的 30 种元素和一系列细胞培养基中的 29 种元素。根据 US FDA 用于食品及相关产品的 EAM 方法 4.7 进行分析，并且包括了 4.7 方法中规定的 12 种元素。所有食品样品均使用同一微波消解法在同一批次中进行处理，而细胞培养基样品仅需进行稀释即可进行分析。

根据先前的 EAM 4.7 食品分析批次对 7850 ICP-MS 方法进行预定义，并且仪器自动调谐，节省了开发时间。所有元素均在同一数据采集模式下进行测量，通过在 He-KED 模式下运行的 ORS⁴ 碰撞池确保有效消除多原子干扰。此外，作为使用 He-KED 模式的定量方法的一部分，采集了每个样品的 IntelliQuant 数据。植物性“碎牛肉”样品的 IntelliQuant 数据以元素周期表热图的形式显示，给出了各种被测元素的近似浓度范围。利用 IntelliQuant 的同位素模板对植物性“碎牛肉”样品中未经校准的元素（例如，铷）进行定性确认。

通过分析四种食品 SRMs 并对植物性“牛肉”样品进行加标回收率测试，对定量方法的准确度进行了评估。两种测试均获得了优异的回收率，符合 EAM 4.7 方法 QC 标准（分别为 $\pm 10\%$ 和 $\pm 20\%$ ）。7850 ICP-MS 超出了 EAM 方法规定的标称检测限要求。此外，使用 UHMI 气溶胶稀释技术，7850 系统在 48 小时的 ISTD 回收率运行中表现出优异的稳定性，证明了该方法的稳定性。

还利用同一 7850 ICP-MS 方法对各种液体细胞培养基样品和加标样品进行了分析。八个样品的加标回收率数据良好，确认该方法可为培养肉制品（食品行业的一个增长市场）的开发提供支持。

参考文献

1. Keren Dopelt, Prina Radon, Nadav Davidovitch, Environmental Effects of the Livestock Industry: The Relationship between Knowledge, Attitudes, and Behavior among Students in Israel, *Int J Environ Res Public Health*, **2019**, 16(8): 1359
2. Patrick J. Gray, William R. Mindak, John Cheng, US FDA Elemental Analysis Manual, 4.7 Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometric Determination of Arsenic, Cadmium, Chromium, Lead, Mercury, and Other Elements in Food Using Microwave Assisted Digestion, Version 1.2 (February 2020), accessed July 2022, <https://www.fda.gov/media/87509/download>
3. 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](#)
4. 八极杆碰撞/反应池和氦气模式, 安捷伦出版物, [5994-1172ZHCN](#)
5. Edward O'Neill, Joshua Ansel, Grace Kwong, Michael Plastino, Jenny Nelson, Keith Baar, David Block. Spent media analysis suggests cultivated meat media will require species and cell type optimization. *NPJ Sci. Food*. Accepted August 2022
6. 超高基质进样技术, 安捷伦 ICP-MS 技术简报, [5994-1170ZHCN](#)
7. Enhanced Helium Mode Cell Performance for Improved Interference Removal in ICP-MS (增强的氦气模式反应池性能可提高 ICP-MS 的干扰去除能力), 安捷伦出版物, [5990-7573EN](#)
8. William C. Cunningham, William R. Mindak, Stephen G. Capar, US FDA Elemental Analysis Manual For Food and Related Products, 3.2 Terminology, 2014, accessed July 2022, <https://www.fda.gov/media/89337/download>

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

DE65046313

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 9 月 8 日, 中国出版
5994-5181ZHCN

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

