

实验技术与方法

姬松茸粉中总汞、甲基汞标准物质的研制

赵馨,赵晓雪,马兰,尚晓虹,赵云峰

(国家食品安全风险评估中心,北京 100022)

摘要:目的 研制姬松茸基质的总汞及甲基汞的标准物质。方法 筛查市售食用菌,选择总汞、甲基汞含量适宜的姬松茸为原料,经干燥、研磨、筛分、混匀等过程制得候选标准物质。通过均匀性检验和稳定性检验后,组织7个实验室协作定值,并分析评估其不确定度。结果 经检验研制的标准物质均匀性、稳定性良好。姬松茸粉中总汞含量为0.586 mg/kg,扩展不确定度为0.026 mg/kg;甲基汞含量为0.022 7 mg/kg,扩展不确定度为0.001 5 mg/kg。结论 该标准物质质量值稳定,准确可靠,可为食品、环境等领域中总汞及甲基汞的量值溯源、分析质量控制等提供技术支持。

关键词:汞;甲基汞;姬松茸;基体标准物质

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2024)06-0667-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2024.06.005

**Development and certification of a reference material for total mercury and methyl mercury in
Agaricus blazei murill Powder**

ZHAO Xin, ZHAO Xiaoxue, MA Lan, SHANG Xiaohong, ZHAO Yunfeng

(China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100022, China)

Abstract: Objective To prepare reference materials of total mercury and methyl mercury in *Agaricus blazei murill*.

Methods *Agaricus blazei murill* with suitable content of total mercury and methylmercury were screening from markets. After drying, grinding, screening, homogenized and packed, the reference materials were obtained. After homogeneity and stability tests, coordinated values were determined by seven laboratories, and the uncertainties were evaluated.

Results The characteristic value of total mercury was 0.586 mg/kg, and the expanded uncertainty was 0.026 mg/kg. The characteristic value of methylmercury was 0.022 7 mg/kg, and the expanded uncertainty was 0.001 5 mg/kg.

Conclusion The reference material has good stability, can be used for traceability and quality control of analyzing.

Key words: Mercury; methyl mercury; *Agaricus blazei murill*; matrix reference material

汞是一种具有持久性、易迁移性和高度生物蓄积性的环境污染物,受到各国的高度重视。甲基汞毒性强,可以通过食物链的生物积累和生物放大作用富集在动植物体内,对人体造成不可逆的损伤。膳食是汞进入人体的主要来源^[1-2],我国《食品安全国家标准 食品中污染物限量》将汞作为食品中重要的污染物限量指标加以控制。科学合理的质量控制是各级实验室在开展汞及其化合物检测和评价实验室检测质量的重要保证,也是分析检测中不可缺少的工作环节。

有证标准物质是实验室质量控制和量值溯源的可靠手段。近些年我国在食品污染风险监测中发现部分野生食用菌中含有较高水平的总汞及甲基汞,我国 GB 2762—2022 新增了食用菌及其制品中甲基汞限量^[3]。为保证食用菌中总汞、甲基汞的检测结果可靠,本研究对不同种类食用菌中总汞、甲基汞含量进行筛查,选择含量适宜的姬松茸为原料,经干燥、研磨、筛分、混匀以及分装制备,按照标准物质研制技术规范,制得姬松茸粉中总汞、甲基汞分析标准物质。

收稿日期:2023-06-07

基金项目:国家重点研发计划(2017YFC1601300)

作者简介:赵馨 女 主任技师 研究方向为理化分析

E-mail:zhaoxin@cfsa.net.cn

通信作者:尚晓虹 女 研究员 研究方向为食品安全

E-mail:shangxh@cfsa.net.cn

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

1260 型高效液相色谱仪、8800 型电感耦合等离子体质谱仪(美国 Agilent);MARS6 微波消解系统(美国 CEM);天平:感量为 0.01 mg(瑞士

METTLER);离心机:最大转速 10 000 r/min(德国 Sigma)。

色谱柱:Venusil[®] MP C₁₈柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm,天津博纳艾杰尔科技有限公司);汞标准溶液(GBW 08617)、汞同位素稀释剂(GBW04443)、甲基汞标准溶液(GBW08675)均购自中国计量科学研究院。

1.2 试验方法

1.2.1 候选物的制备

本标准物质的研制主要参照 JJF 1006—1994《一级标准物质技术规范》^[4]和 JJF 1343—2012《标准物质定值的通用原则及统计学原理》^[5]进行。将筛选的市售姬松茸样品,去除杂质后粉碎过 60 目筛,充分混匀后 80 °C干燥 4 h,均匀性初检合格后塑料瓶充氮气分装,每个包装单元 10 g,制备 500 瓶,制备后在室温下(25 °C)保存。

1.2.2 检测方法

采用 GB 5009.17—2021《食品安全国家标准食品中总汞及有机汞的测定》^[6]中液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用法检测甲基汞。参照 JJF 1267—2010 同位素稀释质谱基准方法^[7],采用同位素稀释-电感耦合等离子质谱法测定总汞。

1.2.3 均匀性检验

均匀性是标准物质的基本属性之一,根据 JJF 1006—1994《一级标准物质技术规范》^[4]和 JJF 1343—2012《标准物质定值的通用原则及统计学原理》^[5]的要求,对于已知均匀性很好的样品,总体单元<500 时,抽取单元数≥10 个;当总体单元数>500 时,抽取单元数≥15 个。本研究制备的样品数为 500 个,因此随机抽取 15 瓶样品,每瓶样品取 3 份在相同条件下进行总汞、甲基汞含量检测。采用 *F* 检验进行均匀性检验数据的统计分析处理,评价瓶间均匀性及引入的不确定度。

1.2.4 稳定性检验

短期稳定性主要考察模拟运输过程对样品中目标物的影响。本研究考察了姬松茸粉标准物质在模拟极端运输条件下(60 °C)的稳定性情况。随机抽取 3 瓶样品,放置于相应的温度环境中,分别在第 0、1、3、5、7 天进行检测分析。长期稳定性检验按照 JJF 1006—1994 一级标准物质技术规范对标准物质在室温下(25 °C)进行为期 12 个月的监测。按先密后疏的原则,采用前述方法分别在标准物质制备完成的第 0、0.5、1、3、6、12 个月进行总汞、甲基汞含量测定。随机选取 5 瓶待考察样品,每瓶样品平行测定 3 次,取平均值作为稳定性检验结果。采用 *t* 检验法评价标准物质的稳定性以及引入的不确定度。

1.2.5 标准物质的定值

采用多家实验室协作方式,筛选国内具有相关检测资质、专业权威的实验室对姬松茸粉中总汞、甲基汞标准物质进行联合定值。总汞定值方法有原子荧光光谱法(Atomic fluorescence spectroscopy, AFS)(GB 5009.17—2021)^[6]、电感耦合等离子体质谱法(Inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)(GB 5009.268—2016)^[8]、同位素稀释-电感耦合等离子体质谱法(Isotope dilution-inductively coupled plasma mass spectrometry, ID-ICP-MS)(依据 JJF 1267—2010 方法)^[7]。甲基汞定值方法有液相色谱-原子荧光光谱联用方法(Liquid chromatography-atomic fluorescence spectrometry, LC-AFS)^[6]和液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用方法(Liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry, LC-ICP-MS)(GB 5009.17—2021)^[6]。为确保联合定值工作的规范性和可操作性,向各实验室发出定值工作作业指导书及质控样品。要求每个定值实验室每个检测项目最少提供 8 个定值数据。

2 结果

2.1 均匀性检验分析

15 瓶姬松茸粉样品分别称取 3 份平行样品,经前处理后分别上机测定总汞、甲基汞含量。经 *F* 检验表明样品均匀性良好,总汞及甲基汞的瓶间均匀性检验统计分析结果见表 1。

表 1 姬松茸粉中总汞及甲基汞瓶间均匀性检验统计分析
Table 1 Results of homogeneity assessment of total mercury and methylmercury in *Agaricus blazei murill* powder

样品编号	总汞含量/(mg/kg)	甲基汞含量/(mg/kg)
平均值	0.589	0.022 7
组间自由度 v_1	14	14
组内自由度 v_2	30	30
组间差方和 Q_1	2.87×10^{-3}	1.06×10^{-5}
组内差方和 Q_2	4.13×10^{-3}	1.88×10^{-5}
组间方差 S_1^2	2.05×10^{-4}	7.54×10^{-7}
组内方差 S_2^2	1.38×10^{-4}	6.25×10^{-7}
临界值	$F_{0.05(14,30)}=2.04$	$F_{0.05(14,30)}=2.04$
计算值	$F=S_1^2/S_2^2=1.49$	$F=S_1^2/S_2^2=1.21$
检验结果	$F < F_{0.05(14,30)}$, 数据组间无	$F < F_{0.05(14,30)}$, 数据组间无明
	明显差异,样品均匀	显差异,样品均匀

2.2 稳定性检验分析

2.2.1 短期稳定性

在烘箱模拟高温环境条件下进行姬松茸粉标准物质短期储存稳定性试验。总汞及甲基汞含量在 7 d 内没有发生显著变化,量值能够保持稳定。因此可以满足标准物质在国内大部分地区的运输需要。短期稳定性数据及 *t* 检验结果见表 2。

表2 姬松茸粉中总汞、甲基汞短期稳定性检验结果

Table 2 Results of short-term stability assessment of total mercury and methylmercury in *Agaricus blazei* murill powder

统计量	总汞含量/(mg/kg)					甲基汞含量/(mg/kg)				
	0 d	1 d	3 d	5 d	7 d	0 d	1 d	3 d	5 d	7 d
测定平均值(mg/kg, n=3)	0.575	0.577	0.587	0.585	0.588	0.022 3	0.022 5	0.022 3	0.022 1	0.022 6
标准偏差	0.012 1	0.003 4	0.006 5	0.008 9	0.008 0	0.000 69	0.000 43	0.000 60	0.000 60	0.000 37
总平均值	0.582					0.022 4				
组间方差 S_1^2	2.61×10^{-4}					5.03×10^{-7}				
组内方差 S_2^2	6.87×10^{-5}					3.05×10^{-7}				
$t = \frac{ \bar{X}_i - \bar{X} }{s/\sqrt{n}}$	1.002	2.547	1.332	0.584	1.299	0.251	0.401	0.289	0.867	0.946
$t_{\alpha(n-1)}$	$t_{0.05(2)} = 4.3$					$t_{0.05(2)} = 4.3$				
检验结果	t 计算值均小于 $t_{\alpha(n-1)}$ 表值, 表明短期稳定性良好					t 计算值均小于 $t_{\alpha(n-1)}$ 表值, 表明短期稳定性良好				

2.2.2 长期稳定性

姬松茸粉标准物质在室温(25 °C)储存条件下, 一年内不同时间(6次)测定总汞、甲基汞含量,

测定结果未发现统计学差异, 表明标准物质长期稳定性良好。长期稳定性数据及 t 检验结果见表3。

表3 姬松茸粉中总汞、甲基汞长期稳定性检验

Table 3 Results of long-term stability assessment of total mercury and methylmercury in *Agaricus blazei* murill powder

统计量	总汞含量/(mg/kg)						甲基汞含量/(mg/kg)					
	0个月	0.5个月	1个月	3个月	6个月	12个月	0个月	0.5个月	1个月	3个月	6个月	12个月
测定平均值(mg/kg, n=5)	0.593	0.583	0.596	0.584	0.592	0.588	0.022 3	0.022 3	0.022 5	0.022 7	0.022 2	0.022 7
标准偏差	0.009 9	0.010 2	0.006 3	0.004 6	0.007 1	0.006 0	0.000 74	0.000 69	0.000 62	0.000 69	0.000 52	0.000 73
总平均值	0.589						0.022 4					
组间方差 S_1^2	2.47×10^{-4}						5.31×10^{-7}					
组内方差 S_2^2	5.70×10^{-5}						2.50×10^{-7}					
$t = \frac{ \bar{X}_i - \bar{X} }{s/\sqrt{n}}$	0.903	1.315	2.485	2.430	0.945	0.373	0.302	0.324	0.361	0.972	0.860	0.919
$t_{\alpha(n-1)}$	$t_{0.05(4)} = 2.78$						$t_{0.05(4)} = 2.78$					
检验结果	t 计算值均小于 $t_{\alpha(n-1)}$ 表值, 表明长期稳定性良好						t 计算值均小于 $t_{\alpha(n-1)}$ 表值, 表明长期稳定性良好					

2.3 标准物质的定值

汇总7个实验室对姬松茸标准物质中总汞、甲基汞的定值结果。首先采用狄克逊法和格鲁布斯法对定值数据进行可疑值检验, 未发现可疑值。然后采用戈斯提诺法(D'Agostino)进行定值数据的正态性检验, 统计量 Y 值($P=0.95$)总汞为0.93($n=64$), 甲基汞为-0.65($n=64$), 均介于 $a-a$ 之间

(-2.64~1.19), 表明总汞含量数据、甲基汞含量数据的分布均符合正态分布。再采用科克伦法进行等精度检查, $C_{总汞}$ 为0.297 9, $C_{甲基汞}$ 为0.215 2, 均小于科克伦检验临界值表中数值 $C_{(0.01, 8, 7)} = 0.370 4$, 表明总汞甲基汞的定值数据均为等精度。7家实验室定值结果见表4。姬松茸粉标准物质中甲基汞的液相色谱分离谱图如图1所示。

表4 姬松茸粉标准物质中总汞、甲基汞定值($n=7$)

Table 4 Results of total mercury and methylmercury in *Agaricus blazei* murill powder ($n=7$)

实验室编号	定值方法	总汞		定值方法	甲基汞	
		平均值/(mg/kg)	标准差		平均值/(mg/kg)	标准差
Lab 1	AFS	0.586	0.016 9	LC-AFS	0.022 1	0.000 32
Lab 2	AFS	0.577	0.013 6	LC-AFS	0.023 0	0.000 67
Lab 3	AFS	0.607	0.017 8	LC-ICPMS	0.023 1	0.000 80
Lab 4	AFS	0.595	0.004 9	LC-AFS	0.023 3	0.000 61
Lab 5	ICP-MS	0.576	0.006 9	LC-ICPMS	0.022 4	0.000 69
Lab 6	AFS	0.580	0.010 3	LC-ICPMS	0.022 8	0.000 15
Lab 7	ID-ICP-MS	0.583	0.007 7	LC-ICPMS	0.022 3	0.000 53

2.4 不确定度评估与结果表述

标准物质定值结果的不确定度由3部分组成: 即标准物质均匀性引入的不确定度 u_{bb} ; 标准物质长期稳定性及短期稳定性引入的不确定度 u_{lts} 、 u_{sts} ; 以及标准物质定值引入的不确定度 $u_{char}^{[9]}$ 。 u_{char} 包含由多家联合定值引入的A类不确定度(u_A)及检测方

法(包含标准曲线、标准溶液配制等)引入的B类不确定度(u_B)。

对于姬松茸标准物质中总汞含量的检测, 由均匀性带来的结果的相对不确定度 $u_{rel(bb)}$ 为0.81%; 由短期稳定性和长期稳定性导致的相对不确定度分别为 $u_{rel(sts)} = 1.37\%$ 、 $u_{rel(lts)} = 1.05\%$; 由标准物

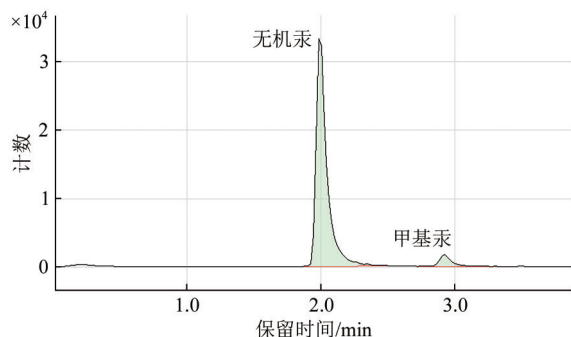


图1 姬松茸粉标准物质的液相色谱图

Figure 1 Liquid chromatography of standard substances for *Agaricus blazei* powder

质定值引入的 A 类相对不确定度 $u_{rel}(A)$ 为 1.0%, B 类相对不确定度 0.05%, 合成标准物质定值引入的不确定度 $u_{rel}(char)$ 为 1.0%。综上, 得到姬松茸粉中总汞定值结果的相对不确定度为:

$$\begin{aligned} u_{rel}(CRM) &= \sqrt{u_{rel}(char)^2 + u_{rel}(bb)^2 + u_{rel}(lts)^2 + u_{rel}(sts)^2} \\ &= \sqrt{(1.0\%)^2 + (0.81\%)^2 + (1.37\%)^2 + (1.05\%)^2} \\ &= 2.2\% \end{aligned}$$

姬松茸粉中总汞定值结果的扩展不确定度 ($k=2$) 为:

$$\begin{aligned} U_{CRM} &= U_{rel}(CRM) \times 0.586 = u_{rel}(CRM) \times k \times 0.586 \\ &\approx 0.026 \text{ mg/kg} \end{aligned}$$

对于姬松茸标准物质中甲基汞含量的检测结果, 由均匀性带来的相对不确定度 $u_{rel}(bb)$ 为 0.91%; 由短期稳定性和长期稳定性导致的相对不确定度分别为 $u_{rel}(sts)=1.15\%$ 、 $u_{rel}(lts)=1.05\%$; 由标准物质定值引入的 A 类相对不确定度 $u_{rel}(A)$ 为 1.53%, B 类相对不确定度为 1.92%, 合成标准物质定值引入的不确定度 $u_{rel}(char)$ 为 2.47%。综上, 得到姬松茸粉中甲基汞定值结果的相对不确定度为:

$$\begin{aligned} u_{rel}(CRM) &= \sqrt{2.47\%^2 + 0.91\%^2 + 1.15\%^2 + 1.05\%^2} \\ &\approx 3.1\% \end{aligned}$$

姬松茸粉中甲基汞定值结果的扩展不确定度 ($k=2$) 为:

$$\begin{aligned} U_{CRM} &= U_{rel}(CRM) \times 0.0227 \\ &= u_{rel}(CRM) \times k \times 0.0227 \\ &= 0.0015 \text{ mg/kg} \end{aligned}$$

依据测定结果, 姬松茸粉中总汞的标准值为 0.586 mg/kg, 扩展不确定度为 0.026 mg/kg (置信区间为 95%, $k=2$); 姬松茸粉中甲基汞的标准值为 0.0227 mg/kg, 扩展不确定度为 0.0015 mg/kg (置信区间为 95%, $k=2$)。

3 结论

本研究研制的姬松茸粉中总汞、甲基汞标准物质, 均匀性、稳定性良好, 定值准确, 通过了国家二级标准物质评审, 证书编号为 GBW(E)100762。该标准物质可为食用菌中总汞、甲基汞检测的量值溯源、分析质量控制、分析仪器校准、分析方法的准确性评估提供技术支持。

参考文献

- [1] 焦君杰, 张昆, 张黎. 汞污染的环境效应及人体暴露研究进展[J]. 四川地质学报, 2018, 38(3): 484-487, 492. JIAO J J, ZHANG K, ZHANG L. Advances in research into environmental effects of mercury pollution and its hazards to exposed humans [J]. Acta Geologica Sichuan, 2018, 38(3): 484-487, 492.
- [2] 蔡文洁, 江研因. 甲基汞暴露健康风险评价的研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2008, 25(1): 77-81. CAI W J, JIANG Y Y. Research advance of health risk assessment on methylmercury exposure [J]. Journal of Environment and Health, 2008, 25(1): 77-81.
- [3] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中污染物限量: GB 2762—2022 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2022. National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. National food safety standard for Maximum Levels of Contaminates in Foods: GB 2762—2022 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2022.
- [4] 国家技术监督局. 一级标准物质技术规范: JJF 1006—1994 [S]. 北京: 中国质检出版社, 1994. The State Bureau of Quality and Technical Supervision. Technical norm of primary reference material: JJF 1006—1994 [S]. Beijing: China Quality Press, 1994.
- [5] 国家质量监督检验检疫总局. 标准物质定值的通用原则及统计学原理: JJF 1343—2012 [S]. 北京: 中国质检出版社, 2012. General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. General and statistical principles for characterization of reference materials: JJF 1343—2012 [S]. Beijing: China Quality Press, 2012.
- [6] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定: GB 5009.17—2021 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2021. National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. National food safety standard-Determination of total mercury and organic-mercury in foods: GB 5009.17—2021 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2021.
- [7] 国家质量监督检验检疫总局. 同位素稀释质谱法: JJF 1267—2010 [S]. 北京: 中国质检出版社, 2011. General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Primary method of isotope dilution mass spectrometry: JJF 1267—2010 [S]. Beijing: China Quality Press, 2011.
- [8] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局.

食品安全国家标准 食品中多元素的测定: GB 5009.268—2016[S].北京: 中国标准出版社, 2017.

National Health and Family Planning Commission, National Food and Drug Administration. National food safety standard—Determination of multiple elements in food: GB 5009.268—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.

[9] 国家质量监督检验检疫总局. 测量不确定度评定与表示: JJF 1059.1—2012[S].北京: 中国标准出版社, 2013.

General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Evaluation and expression of uncertainty in measurement: JJF 1059.1—2012[S]. Beijing: Standards Press of China, 2013.

(上接第 645 页)

匡 华(江南大学食品学院)

朱心强(浙江大学医学院)

刘 弘(上海市疾病预防控制中心)

刘长青(河北省疾病预防控制中心)

刘成伟(江西省疾病预防控制中心)

刘兆平(国家食品安全风险评估中心)

刘守钦(济南市疾病预防控制中心)

刘烈刚(华中科技大学公共卫生学院)

刘爱东(国家食品安全风险评估中心)

孙长颢(哈尔滨医科大学)

李 宁(国家食品安全风险评估中心)

李 黎(中华预防医学会)

李凤琴(国家食品安全风险评估中心)

李业鹏(国家食品安全风险评估中心)

李国梁(陕西科技大学食品与生物工程学院)

李静娜(武汉市疾病预防控制中心)

杨 方(福州海关技术中心)

杨 钧(青海省卫生健康委员会卫生监督所)

杨大进(国家食品安全风险评估中心)

杨小蓉(四川省疾病预防控制中心)

杨杏芬(南方医科大学公共卫生学院)

肖 荣(首都医科大学公共卫生学院)

吴永宁(国家食品安全风险评估中心)

何更生(复旦大学公共卫生学院)

何来英(国家食品安全风险评估中心)

何洁仪(广州市疾病预防控制中心)

赵贵明(中国检验检疫科学研究院)

钟 凯(科信食品与营养信息交流中心)

姜毓君(东北农业大学食品学院)

聂俊雄(常德市疾病预防控制中心)

贾旭东(国家食品安全风险评估中心)

徐 娇(国家卫生健康委员会食品标准与监测评估司)

徐海滨(国家食品安全风险评估中心)

高志贤(军事科学院军事医学研究院)

郭云昌(国家食品安全风险评估中心)

郭丽霞(国家食品安全风险评估中心)

唐振柱(广西壮族自治区疾病预防控制中心)

黄 薇(深圳市疾病预防控制中心)

黄锁义(右江民族医学院药学院)

常凤启(河北省疾病预防控制中心)

崔生辉(中国食品药品检定研究院)

章 宇(浙江大学生物工程与食品学院)

章荣华(浙江省疾病预防控制中心)

梁进军(湖南省疾病预防控制中心)

程树军(广州海关技术中心)

傅武胜(福建省疾病预防控制中心)

谢剑炜(军事科学院军事医学研究院)

赖卫华(南昌大学食品学院)

裴晓方(四川大学华西公共卫生学院)

廖兴广(河南省疾病预防控制中心)

熊丽蓓(上海市疾病预防控制中心)

樊永祥(国家食品安全风险评估中心)