

# 基于偏最小二乘法和原子荧光光谱法的食用菌中汞形态分析方法研究

陈展\*, 罗小娟, 吴训

(广西壮族自治区疾病预防控制中心, 广西南宁 530028)

**摘要:** 该研究建立了一种仪器需求小、技术门槛低、检测效率高的汞形态分析方法应用于食用菌的检测, 以偏最小二乘法(PLS)替代常规的色谱分离方法, 结合原子荧光光谱(AFS)实现了二价无机汞( $\text{Hg}^{2+}$ )和甲基汞( $\text{MeHg}^+$ )的准确、便捷、高效检测。以一系列已知浓度的 $\text{Hg}^{2+}$ 和 $\text{MeHg}^+$ 混合标准溶液的原子荧光光谱数据作为训练集建立PLS模型。模型对 $\text{Hg}^{2+}$ 和 $\text{MeHg}^+$ 的检测范围分别为0.2~10 ng/mL和0.5~25 ng/mL, 当提取的主成分数分别为3和2时, 对应最小的预测误差平方和(PRESS)为0.046 6和0.034 8, 对训练集中混合标准溶液预测结果的相关系数平方( $R_{\text{cal}}^2$ )为0.999 2和0.998 9, 对独立预测集预测结果的相关系数平方( $R_{\text{pre}}^2$ )均为0.998 3, 均方根误差(RMSD)为0.127 ng/mL和0.346 ng/mL, 预测相对均方根误差(REP)为2.59%和3.21%, 上述统计学参数说明模型具有较强的预测能力。模型对 $\text{Hg}^{2+}$ 和 $\text{MeHg}^+$ 的检出限可分别达0.021 ng/mL和0.039 ng/mL, 低中高浓度平行实验的相对标准偏差分别为1.7%~3.1%和1.8%~3.1%, 低中高浓度的加标回收率分别为87.5%~109%和96.0%~111%, 模型验证结果表明其灵敏度、精密性、准确度良好。将建立的偏最小二乘法结合原子荧光光谱法应用于多种食用菌的检测, 其结果与液相色谱-原子荧光光谱法高度一致, 证明采用此法进行食用菌检测切实可行。

**关键词:** 偏最小二乘法; 原子荧光光谱法; 二价无机汞; 甲基汞; 食用菌

**中图分类号:** O657.3; O614.24 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2025)12-2564-09

## Mercury Speciation Analysis Method in Edible Mushrooms Base on Partial Least Squares Combined with Atomic Fluorescence Spectrometry

CHEN Zhan\*, LUO Xiao-juan, WU Xun

(Guangxi Zhuang Autonomous Region Center for Disease Control and Prevention, Nanning 530028, China)

**Abstract:** A high efficiency analysis method for mercury speciation analysis in edible mushrooms with low instrument requirements and technical threshold was established. Instead of typical separation methods such as liquid chromatography and gas chromatography, the partial least squares(PLS) with atomic fluorescence spectrometry(AFS) can achieve accurate, convenient and efficient detection of divalent inorganic mercury( $\text{Hg}^{2+}$ ) and methyl mercury( $\text{MeHg}^+$ ). A PLS model was built based on the atomic fluorescence spectral data of a series of  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{MeHg}^+$  mixed standard solutions with known concentrations as the training set. The detection range for  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{MeHg}^+$  were 0.2~10 ng/mL and 0.5~25 ng/mL. The numbers of factors for  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{MeHg}^+$  were set at three and two, and the corresponding minimum prediction error sum of squares(PRESS) were 0.046 6 and 0.034 8. The squared correlation coefficients( $R_{\text{cal}}^2$ ) between predicted concentration and actual concentration of  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{MeHg}^+$  in the training set calculating by the model were 0.999 2 and 0.998 9, and the squared correlation coefficient( $R_{\text{pre}}^2$ ) in the independent prediction set was 0.998 3 both. The root mean square errors of difference(RMSD) were 0.127 ng/mL and 0.346 ng/mL, and the relative errors of prediction(REP) were 2.59% and 3.21%, respectively. All the statistical parameters indicate that the model has strong predictive ability. The detection limits of  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{MeHg}^+$  by the model calculating were 0.021 ng/mL and 0.039 ng/mL, respectively. The relative standard deviations of six parallel experiments at low, medium and high  $\text{Hg}^{2+}$  concentrations was between 1.7% and 3.1%, and

收稿日期: 2025-02-20; 修回日期: 2025-03-18

基金项目: 广西壮族自治区卫生健康委员会课题(Z20200135); 广西壮族自治区疾病预防控制中心科研课题(20201029)

\* 通讯作者: 陈展, 博士, 副主任技师, 研究方向: 元素分析, E-mail: cztangent@foxmail.com

网络首发时间: 2025-08-18

that of  $\text{MeHg}^+$  was between 1.8% and 3.1%. The range of spike recovery value for low, medium and high  $\text{Hg}^{2+}$  concentrations was 87.5%–109%, and that of  $\text{MeHg}^+$  was 96.0%–111%. The model validation results show that the sensitivity, precision and accuracy of the partial least squares model are all excellent. When this method was applied to the mercury speciation analysis in edible mushrooms, the predicting concentrations were highly consistent with results of liquid chromatography–atomic fluorescence spectrometry method. It is proof that the method of partial least squares combined with atomic fluorescence spectrometry is practically feasible for the mercury speciation analysis in Edible Mushrooms.

**Key words:** the partial least squares; the atomic fluorescence spectrometry; divalent inorganic mercury; methylmercury; edible mushrooms

汞是世界范围内公认最毒的元素之一, 无论对于生态系统还是人类健康都具有巨大的危害。低剂量的汞即可抑制光合作用, 导致植物生长迟缓, 并可产生活性氧化脂质膜, 进而造成蛋白质和 DNA 损伤。而通过食物链富集的高剂量的汞则成为人类健康的巨大威胁, 不仅会造成肾功能异常、消化系统问题、心血管疾病, 甚至会对生殖系统、免疫系统和中枢神经系统造成损伤<sup>[1–2]</sup>。1956 年发生在日本水俣湾的怪病和 1972 年发生在伊拉克的麦粒汞中毒事件使人类对于汞的危害有了极为深刻的认识。许多国家都通过颁布法令、建立标准等手段最大限度地减少人为排放的汞进入生态系统。2017 年, 包括中国在内 127 个国家和地区共同签订的《关于汞的水俣公约》生效, 我国全面禁止添汞电池、开关继电器、农药、生物杀虫剂等 9 大类添汞产品的生产和进出口, 停止烧碱、乙醛、聚氨酯、甲醇钠等 7 个行业的用汞工艺<sup>[3]</sup>。2024 年, 我国又进一步明确汞真空泵、荧光灯等 8 种添汞产品的生产、进出口以及牙科汞合金使用的管控要求<sup>[4]</sup>。

除了人为因素造成的汞污染, 岩石和土壤中的矿物质在风蚀作用、火山活动等因素的自然分解作用下也会造成大量的汞进入生态系统<sup>[2]</sup>。大气中汞主要以单质形式存在, 并在大气环流的作用下影响极广的区域。沉降过程中汞可通过生物转化作用产生各种各样的形态, 最为常见的是二价的无机汞化合物和甲基汞, 二者可在微生物的甲基化和光降解去甲基化作用下达到动态平衡, 广泛存在于地表生态系统之中。不同形态的汞表现出不同的生物利用率、生物性迁移行为、持久性和稳定性, 通常有机汞的毒性高于无机汞, 有机汞之中又以甲基汞的毒性最高。甲基汞具有极强的生物累积效应, 处于食物链末端的一些掠食性鱼类体内的甲基汞浓度可达到周围水体的  $10^6$  倍<sup>[5]</sup>。甲基汞可以轻易穿透细胞屏障, 甚至是血脑屏障, 一旦进入生物体内就难以去除, 从而对生物造成持久性伤害。因此对环境和食品中的甲基汞含量进行监测以阻断其暴露途径十分必要。

从早期总汞含量检测到如今汞形态分析方法的发展, 正是为了满足甲基汞含量监测的需求。只有精确地测定甲基汞含量, 才能准确地评估环境和食品中的潜在风险, 减少汞污染物暴露对人体健康的威胁。食用菌相比于一般植物, 更容易从土壤等环境中吸收并富集包括汞在内的重金属, 极易通过经口摄食的途径引起人体对汞污染物的暴露<sup>[6]</sup>, 因此针对食用菌开展汞形态分析检测十分迫切且关键。汞形态分析方法可分为分离和检测两个阶段, 分离阶段通常采用气相、液相、毛细管电泳等色谱方法及微波萃取、浊点萃取等非色谱方法<sup>[7–8]</sup>, 检测阶段通常采用原子吸收光谱法、原子荧光光谱法、微波诱导等离子体发射光谱法、电感耦合等离子体发射光谱法、电感耦合等离子体质谱法等<sup>[5, 8]</sup>。液相色谱结合电感耦合等离子体质谱法以其高灵敏度和良好的分离效果成为近年来汞形态分析的主流方法<sup>[9–10]</sup>, 但其耗时较长, 设备成本和维护运行成本高昂<sup>[11]</sup>。而非色谱方法和原子荧光光谱法的组合对仪器和试剂的需求少, 成本效率高, 对环境影响小且具有更广泛的实用性和推广性<sup>[12]</sup>。

本研究选取生物体内最为常见的汞污染物——二价无机汞和甲基汞作为研究对象, 采用一种新型策略, 突破了形态分析先分离再检测的定式, 直接在不分离汞形态物质的前提下进行原子荧光光谱检测, 再结合偏最小二乘模型将各形态物质的含量从混合测定的光谱数据中计算出来。偏最小二乘法是在一组预测变量和一个或多个响应变量间建立联系<sup>[13]</sup>的经典多元校正方法, 具有分析精度高、模型参数少和运算速度快等特点<sup>[14]</sup>, 在生物医学<sup>[15]</sup>、科技考古<sup>[16]</sup>、环境监测<sup>[17]</sup>和食品检测<sup>[18]</sup>等领域得到了广泛的应用。其常与红外光谱<sup>[19]</sup>、近红外光谱<sup>[20–21]</sup>、紫外可见光谱<sup>[21]</sup>、X 射线荧光光谱<sup>[22]</sup>、荧光光谱<sup>[23]</sup>、拉曼光谱<sup>[14]</sup>、核磁共振图谱<sup>[24]</sup>、激光诱导击穿光谱<sup>[25]</sup>等技术联用实现复杂基质中的多组分同时测定,

而与原子荧光光谱联用进行形态分析鲜有报道。同一元素的形态物质在原子荧光光谱中的表现极为相似,分辨难度高,本研究基于不同条件下差异化检测的光谱数据,采用偏最小二乘法将不同的汞形态物质响应区分开来,从而实现快速、准确的汞形态物质检测。由于无需采用色谱仪器或萃取操作进行分离,本法可有效降低设备需求和技术门槛,节约维护成本并提高汞形态分析的效率。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与样品

实验试剂盐酸、硼氢化钾、过硫酸钾、氢氧化钾、乙酸铵均为优级纯,甲醇为色谱纯,半胱氨酸盐酸盐、甲基橙为分析纯,汞国家标准物质(GBW08617)和甲基汞国家标准物质(GBW08675)由中国计量科学院研制,均由商业途径购得。实验用超纯水( $18\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ )均取自反渗透纯水系统。

实验样品干制食用菌采购于广西壮族自治区南宁市某超市,香菇粉质控样(P16495)采购于坛墨质检标准物质中心。

### 1.2 仪器

BAF-2000原子荧光光谱仪(北京宝德仪器有限公司);BSA-100A液相-原子荧光形态分析仪(广州谱临晟科技有限公司);AUW220D十万分之一天平(日本岛津公司);KQ-800KDE超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司);3-18K台式高速冷冻离心机(Sigma公司);Arium Pro Basic超纯水装置反渗透水系统(赛多利斯仪器);LH-025全自动无机溶液稀释仪(上海兰博贸易有限公司)。采用MATLAB R2016a进行建模与计算。

### 1.3 方法

所有二价无机汞( $\text{Hg}^{2+}$ )和甲基汞( $\text{MeHg}^+$ )的混合标准溶液,均采用 $1.5\text{ g/L}$ 半胱氨酸盐酸盐溶液配制,以提高 $\text{Hg}^{2+}$ 和 $\text{MeHg}^+$ 在溶液中的稳定性。

**1.3.1 训练集溶液配制** 基于 $\text{Hg}^{2+}$ 的5个浓度水平 $0.2$ 、 $1.0$ 、 $2.0$ 、 $6.0$ 、 $10\text{ ng/mL}$ 和 $\text{MeHg}^{2+}$ 的5个浓度水平 $0.5$ 、 $2.5$ 、 $5.0$ 、 $15$ 、 $25\text{ ng/mL}$ ,根据两因素五水平完全实验设计,配制25份不同浓度的混合标准溶液作为训练集,用于建立模型。

**1.3.2 预测集溶液配制** 根据表1配制10份混合标准溶液作为预测集用于判断模型的优劣。

表1 预测集混合标准溶液浓度  
Table 1 Concentration of the mixed standard solution in the prediction set

| No.                                                     | 1   | 2   | 3 | 4  | 5  | 6 | 7 | 8 | 9  | 10 |
|---------------------------------------------------------|-----|-----|---|----|----|---|---|---|----|----|
| $\text{Hg}^{2+}$ 质量浓度/ $(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$ | 0.5 | 0.5 | 3 | 3  | 5  | 5 | 7 | 7 | 9  | 9  |
| $\text{MeHg}^+$ 质量浓度/ $(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$  | 2   | 4   | 8 | 16 | 24 | 2 | 4 | 8 | 16 | 24 |

**1.3.3 模型验证相关溶液配制** 配制11份 $1.5\text{ g/L}$ 半胱氨酸盐酸盐溶液作为空白溶液。根据公式(1)计算检出限<sup>[26]</sup>,式中 $L$ 为检出限, $s$ 为空白值的标准偏差。

$$L = 3s \quad (1)$$

配制6份 $\text{Hg}^{2+}$   $0.2\text{ ng/mL}$ 、 $\text{MeHg}^+$   $1.0\text{ ng/mL}$ 的混合标准溶液用于考察低水平精密度,配制6份 $\text{Hg}^{2+}$   $2.5\text{ ng/mL}$ 、 $\text{MeHg}^+$   $6.5\text{ ng/mL}$ 的混合标准溶液用于考察中水平精密度,配制6份 $\text{Hg}^{2+}$   $7.0\text{ ng/mL}$ 、 $\text{MeHg}^+$   $15\text{ ng/mL}$ 的混合标准溶液用于考察高水平精密度。根据公式(2)计算相对标准偏差(RSD)用于评估模型精密度<sup>[26]</sup>,式中 $\bar{X}$ 为平行测量结果的算术平均值, $n$ 为平行测量的次数, $X_i$ 为 $n$ 次平行测量中的第 $i$ 个测量值。

$$\text{RSD} = \frac{1}{\bar{X}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \times 100\% \quad (2)$$

配制12份 $\text{Hg}^{2+}$   $3.0\text{ ng/mL}$ 、 $\text{MeHg}^+$   $6.0\text{ ng/mL}$ 的混合标准溶液 $20\text{ mL}$ ,随机取3份加入 $\text{Hg}^{2+}$   $5\text{ ng}$ 和 $\text{MeHg}^+$   $30\text{ ng}$ 计算低水平加标回收率,随机取3份加入 $\text{Hg}^{2+}$   $70\text{ ng}$ 和 $\text{MeHg}^+$   $140\text{ ng}$ 用于计算中水平加标回收率,随机取3份加入 $\text{Hg}^{2+}$   $175\text{ ng}$ 和 $\text{MeHg}^+$   $350\text{ ng}$ 用于计算高水平加标回收率,剩下3份作为未加标的基底溶液,全部定容至 $25\text{ mL}$ 备用。根据公式(3)计算加标回收率<sup>[26]</sup>,式中 $R$ 为加标回收率, $X_1$ 为加标试样的测定值, $X_0$ 为未加标试样的测定值, $m$ 为加入标准物质的量。

$$R = \frac{X_1 - X_0}{m} \times 100\% \quad (3)$$

**1.3.4 食用菌样品处理** 按现行国家标准方法<sup>[27]</sup>进行前处理, 取干制食用菌 50 g 充分粉碎后采用四分法对角取样得到 0.5 g 左右的粉末。质控样香菇粉直接取样 0.5 g 左右。将样品置于 50 mL 离心管中加入 5 mol/L 盐酸 10 mL, 混匀后超声提取 60 min, 每 15 min 振摇一次; 随后 8 000 r/min 离心 15 min, 充分静置后准确吸取上清液 2.00 mL 于 5 mL 刻度试管中, 加入 2 滴 0.1% 甲基橙溶液作为指示剂, 在冰浴条件下逐滴加入 6 mol/L 氢氧化钾溶液, 直至溶液由橙红变为橙黄。加入 0.1 mL 10 g/L 半胱氨酸盐酸盐溶液, 定容至 5 mL, 采用 0.45  $\mu$ m 滤膜过滤后待测。

**1.3.5 原子荧光光谱数据采集** 仪器条件: 光电倍增管负高压 280 V, 汞空心阴极灯电流 6 mA, 载气流速 400 mL/min, 屏蔽气流速 1 000 mL/min。分别在以下 4 个条件对训练集、预测集、模型验证和食用菌样品溶液进行检测: (1) 以 0.5% 硼氢化钾和 0.5% 氢氧化钾的混合溶液作为还原剂, 5% 盐酸为载流, 原子化器不点火; (2) 以 2.0% 硼氢化钾和 0.5% 氢氧化钾的混合溶液作为还原剂, 5% 盐酸为载流, 原子化器不点火; (3) 以 0.5% 硼氢化钾和 0.5% 氢氧化钾的混合溶液作为还原剂, 5% 盐酸为载流, 原子化温度 200  $^{\circ}$ C; (4) 以 2.0% 硼氢化钾和 0.5% 氢氧化钾的混合溶液作为还原剂, 5% 盐酸为载流, 原子化温度 200  $^{\circ}$ C。得到 4 组差异化检测的原子荧光光谱数据。

**1.3.6 液相色谱-原子荧光光谱(LC-AFS)数据采集** 原子荧光仪器条件同“1.3.5”。色谱柱为艾洁尔 C<sub>18</sub> 分析柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m), 流动相为 4% 甲醇、2 g/L 乙酸铵和 1 g/L 半胱氨酸盐酸盐的混合溶液, 流速 1.0 mL/min, 进样量 100  $\mu$ L。对所有食用菌样品溶液进行检测, 用于方法比对。

## 2 结果与讨论

### 2.1 原子荧光光谱检测条件的选择

根据原子荧光光谱仪的工作原理, Hg<sup>2+</sup>和 MeHg<sup>+</sup>均会被还原为 Hg 蒸气, 随后通过 Hg 空心阴极灯在 253.7 nm 激发 Hg 原子产生荧光。二者产生原子荧光的机理并无差异, 不同之处在于还原为 Hg 蒸气的难易程度。通过调节不同的原子化温度、还原剂浓度等检测条件, 可以使同浓度的 Hg<sup>2+</sup>和 MeHg<sup>+</sup>产生原子荧光强度的比例发生改变。如图 1 所示, 在紫外线照射、氧化剂辅助、还原剂过量的条件下, 可将 MeHg<sup>+</sup>氧化成 Hg<sup>2+</sup>再充分还原为 Hg 蒸气, 同浓度的 Hg<sup>2+</sup>和 MeHg<sup>+</sup>产生的原子荧光强度近乎相同; 而在不点火、低还原剂浓度下, 由于 Hg<sup>2+</sup>极易被还原为 Hg 蒸气, 而 MeHg<sup>+</sup>仅有少部分能还原成 Hg 蒸气, 因此 MeHg<sup>+</sup>产生的原子荧光强度将远低于同浓度的 Hg<sup>2+</sup>。基于上述特性, 虽然 Hg<sup>2+</sup>和 MeHg<sup>+</sup>产生原子荧光的机理相同, 但差异化的检测条件, 可使二者原子荧光强度的比例差异性变化, 进而可通过偏最小二乘法对混合溶液在不同条件下的光谱数据进行分析, 预测二者的浓度。

选择还原剂浓度作为第一个差异化检测条件。以不同浓度的硼氢化钾(KBH<sub>4</sub>)溶液作为还原剂, 在其它条件保持不变的情况下, 对训练集中 5 个浓度水平的 Hg<sup>2+</sup>和 MeHg<sup>+</sup>单标溶液进行检测, 并使用最小二乘法对原子荧光强度与浓度进行线性拟合, 拟合方程的斜率代表单位浓度的 Hg<sup>2+</sup>和 MeHg<sup>+</sup>所引起的原子荧光强度变化, 二者的比值可以作为检测条件差异化的判断依据。

如图 2 所示, MeHg<sup>+</sup>和 Hg<sup>2+</sup>的斜率比随着 KBH<sub>4</sub>百分浓度的增大而升高, 并逐渐趋近于 1。在 KBH<sub>4</sub>浓度达到 1.0% 后增长趋于平缓, 说明此时还原剂处于过量状态。仅就差异化显著而言, 应选择最高

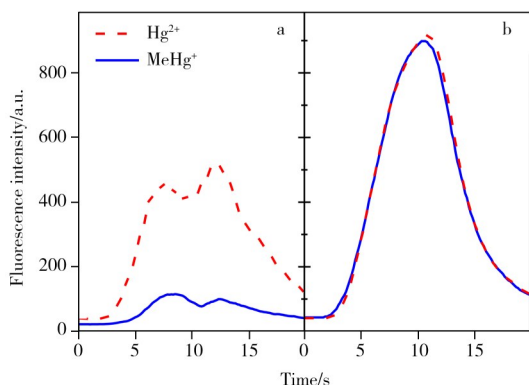


图 1 5 ng/mL 的 Hg<sup>2+</sup>和 MeHg<sup>+</sup>在不同条件下的原子荧光光谱图

Fig. 1 Atomic fluorescence spectra of 5 ng/mL Hg<sup>2+</sup> and MeHg<sup>+</sup> in different conditions

a. the reducing agent: 0.1% potassium borohydride solution, the atomization temperature: room temperature; b. the reducing agent: 2.0% potassium borohydride solution, the atomization temperature: 200  $^{\circ}$ C, 0.001 g/mL potassium persulfate assisted oxidation and ultraviolet irradiation (a. 还原剂: 0.1% 硼氢化钾溶液, 原子化温度: 室温; b. 还原剂: 2.0% 硼氢化钾溶液, 原子化温度: 200  $^{\circ}$ C, 0.001 g/mL 过硫酸钾辅助氧化, 紫外线照射)

2.5%和最低0.1%浓度的 $\text{KBH}_4$ 进行检测,但实验过程中发现,2.5% $\text{KBH}_4$ 条件下的斜率比相较于2.0% $\text{KBH}_4$ 虽然略有提升,但基线显著升高,原子荧光强度下降,因而选择2.0% $\text{KBH}_4$ 作为高水平的还原剂浓度。而 $\text{KBH}_4$ 浓度过低会导致原子荧光信号的稳定性欠佳,通过考察平行配制的3份 $\text{Hg}^{2+}$  2.0 ng/mL、 $\text{MeHg}^+$  5.0 ng/mL混合标准溶液在不同浓度 $\text{KBH}_4$ 条件下检测结果的RSD,发现 $\text{KBH}_4$ 浓度低于1.0%后,RSD随 $\text{KBH}_4$ 浓度的降低迅速增大,精密度受到较大影响,如图3所示。因此,为保证RSD在5%以内,选择0.5% $\text{KBH}_4$ 作为低水平的还原剂浓度。

以紫外灯照射、向溶液中加入过硫酸钾将 $\text{MeHg}^+$ 氧化为 $\text{Hg}^{2+}$ 作为差异化检测的条件,可将2.0% $\text{KBH}_4$ 条件下的斜率比0.887进一步提升至0.954,但该检测条件引起的差异化不够显著,且需要额外操作和反应时间。而将原子化温度作为第二个差异化检测条件,可使操作更加便捷高效。参考冷原子荧光光谱法和原子荧光光谱法的检测条件,选择室温和200℃两个温度点,其在2.0% $\text{KBH}_4$ 条件下对应的斜率比分别为0.427和0.887,差异性显著。结合两个还原剂浓度和两个原子化温度共进行4种不同条件下的差异化检测。

## 2.2 建立偏最小二乘(PLS)模型

以训练集的25份混合标准溶液4次差异化检测得到的原子荧光光谱数据作为自变量矩阵,对应的 $\text{Hg}^{2+}$ 和 $\text{MeHg}^+$ 浓度作为因变量矩阵。在MATLAB中,按照偏最小二乘回归方法,建立4个自变量对2个因变量的模型。标准化后依次提取成分并计算对应的得分向量,通过舍一交叉验证<sup>[28]</sup>得到模型的预测误差平方和(PRESS),并以此判断模型提取的最佳主成分数(隐变量数),以免因过度拟合引入噪音<sup>[29]</sup>。

PRESS随提取主成分数的变化情况如图4所示,当主成分数达到2后, $\text{Hg}^{2+}$ 和 $\text{MeHg}^+$ 的PRESS均趋于平缓,二者分别选择最小PRESS对应的主成分数3和2,并以此计算因变量对所有成分的最小二乘回归方程,再进一步还原成因变量对自变量的PLS模型。

## 2.3 PLS模型的预测能力

将训练集的原子荧光光谱数据输入模型进行计算得到预测浓度,并与真实浓度进行比较。模型预测的 $\text{Hg}^{2+}$ 和 $\text{MeHg}^+$ 浓度与真实浓度的相关系数( $R_{\text{cal}}^2$ )分别为0.999 2和0.998 9,由于模型是基于训练集数据建立的,实现训练集数据准确预测说明此模型的自洽性良好,但对模型预测能力的证明有限。将未参与建模的预测集原子荧光光谱数据输入模型计算,模型预测的 $\text{Hg}^{2+}$ 和 $\text{MeHg}^+$ 浓度与真实浓度的相关系数平方( $R_{\text{pre}}^2$ )均为0.998 3,线性拟合的斜率分别为0.994 8和1.003 6,如图5A所示。斜率越接近于1,则预测浓度和真实浓度越接近。图5B为模型预测值与真实值的相对偏差,所有偏差均在8%以内。根据预测集中的数据计算模型均方根误差(RMSD)和预测相对均方根误差(REP),上述模型的统计学参

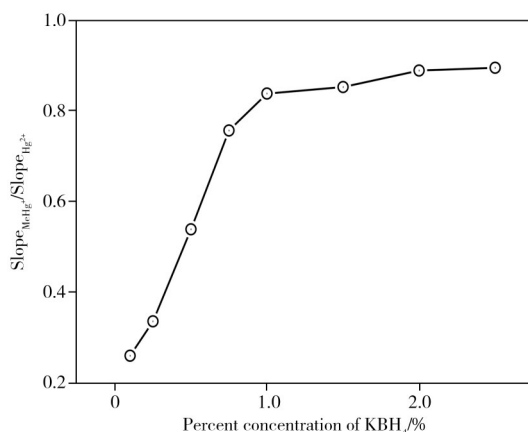


图2 线性拟合斜率比随 $\text{KBH}_4$ 百分浓度的变化情况  
Fig. 2 The  $\text{MeHg}^+/\text{Hg}^{2+}$  linear regression slope ratio against different percent concentrations of  $\text{KBH}_4$

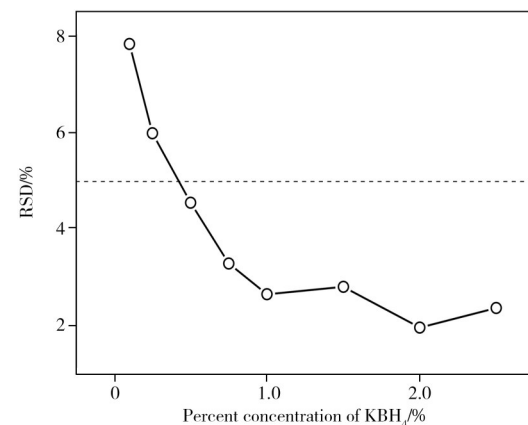


图3 平行检测的RSD随 $\text{KBH}_4$ 百分浓度的变化情况  
Fig. 3 The relative standard deviation of parallel detections against different percent concentrations of  $\text{KBH}_4$   
 $\rho(\text{Hg}^{2+}) = 2.0 \text{ ng/mL}$ ,  $\rho(\text{MeHg}^+) = 5.0 \text{ ng/mL}$

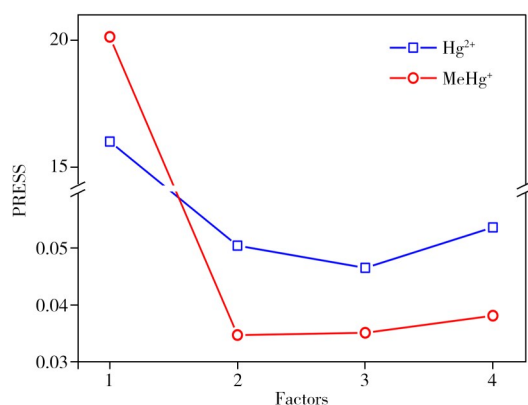


图4 PRESS随主成分数的变化情况  
Fig. 4 The PRESS as a function of number of factors for  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{MeHg}^+$

数<sup>[28, 30]</sup>如表 2 所示, 结果显示, 模型的预测能力较强, 预测浓度和真实浓度具有较高的相关性和准确度, 且模型对于 Hg<sup>2+</sup> 的预测能力强于 MeHg<sup>+</sup>。

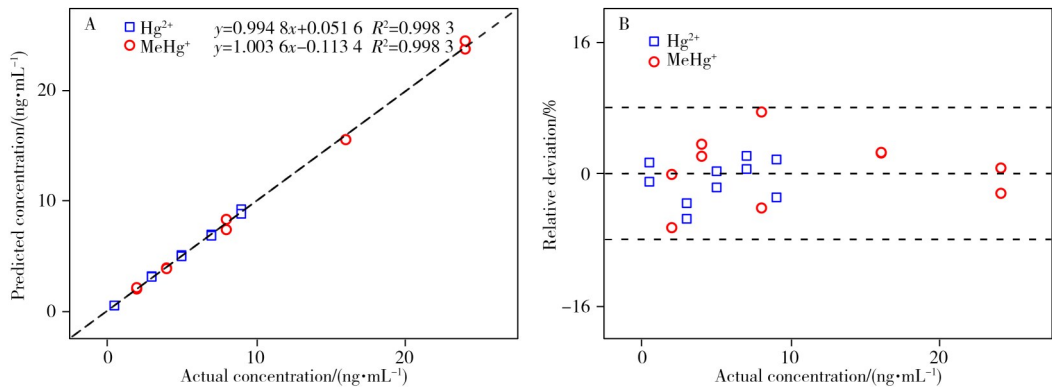


图 5 PLS 模型预测浓度与真实浓度的相关性(A)和相对偏差(B)

Fig. 5 The correlation analysis(A)and relative deviation(B) between the predicted concentration of the PLS model and actual concentration for Hg<sup>2+</sup> and MeHg<sup>+</sup>

表 2 PLS 模型的统计学参数

Table 2 Statistical parameters of the PLS model

| Component         | Range/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | Factor number | PRESS    | $R_{cal}^2$ | $R_{pre}^2$ | RMSD/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | REP/% |
|-------------------|------------------------------|---------------|----------|-------------|-------------|-----------------------------|-------|
| Hg <sup>2+</sup>  | 0. 2~10                      | 3             | 0. 046 6 | 0. 999 2    | 0. 998 3    | 0. 127                      | 2. 59 |
| MeHg <sup>+</sup> | 0. 5~25                      | 2             | 0. 034 8 | 0. 998 9    | 0. 998 3    | 0. 346                      | 3. 21 |

2.4 检出限计算

将 11 份空白溶液的原子荧光光谱数据输入模型, 根据 11 个结果的 3 倍和 10 倍标准偏差分别计算 Hg<sup>2+</sup> 和 MeHg<sup>+</sup> 的检出限和定量下限, 得到 Hg<sup>2+</sup> 的检出限为 0. 021 ng/mL, 定量下限为 0. 069 ng/mL; MeHg<sup>+</sup> 的检出限为 0. 039 ng/mL, 定量下限为 0. 129 ng/mL。参照“1. 3. 4”的前处理过程, 当称量样为 0. 5 g, 定容体积为 10 mL, 稀释因子为 2. 5 时, Hg<sup>2+</sup> 的检出限为 0. 001 mg/kg, MeHg<sup>+</sup> 的检出限为 0. 002 mg/kg, 均低于现行国家标准方法<sup>[27]</sup>中 Hg<sup>2+</sup> 的检出限(0. 003 mg/kg)和 MeHg<sup>+</sup> 的检出限(0. 008 mg/kg)。

2.5 精密度评估

低中高三水平的精密度测试结果如表 3 所示, 每个浓度水平配制 6 份 Hg<sup>2+</sup> 和 MeHg<sup>+</sup> 的混合标准溶液, 检测得到 Hg<sup>2+</sup> 的相对标准偏差为 1. 7%~3. 1%, MeHg<sup>+</sup> 的相对标准偏差为 1. 8%~3. 1%, 均满足现行国家标准不超过 10% 的要求。

表 3 低中高三水平的测定精密度

Table 3 The precision in measurements of low, medium and high mass concentrations

|        | Hg <sup>2+</sup>                     |                                              |       | MeHg <sup>+</sup>                    |                                              |       |
|--------|--------------------------------------|----------------------------------------------|-------|--------------------------------------|----------------------------------------------|-------|
|        | Concentration/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | Average concentration/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | RSD/% | Concentration/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | Average concentration/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | RSD/% |
| Low    | 0. 218                               | 0. 214                                       | 3. 1  | 0. 873                               | 0. 898                                       | 1. 8  |
|        | 0. 223                               |                                              |       | 0. 885                               |                                              |       |
|        | 0. 206                               |                                              |       | 0. 905                               |                                              |       |
|        | 0. 210                               |                                              |       | 0. 912                               |                                              |       |
|        | 0. 210                               |                                              |       | 0. 911                               |                                              |       |
|        | 0. 218                               |                                              |       | 0. 903                               |                                              |       |
| Medium | 2. 726                               | 2. 673                                       | 2. 3  | 6. 500                               | 6. 591                                       | 2. 0  |
|        | 2. 745                               |                                              |       | 6. 391                               |                                              |       |
|        | 2. 680                               |                                              |       | 6. 635                               |                                              |       |
|        | 2. 691                               |                                              |       | 6. 560                               |                                              |       |
|        | 2. 593                               |                                              |       | 6. 720                               |                                              |       |
|        | 2. 604                               |                                              |       | 6. 738                               |                                              |       |
| High   | 6. 942                               | 7. 008                                       | 1. 7  | 15. 50                               | 15. 53                                       | 3. 1  |
|        | 6. 973                               |                                              |       | 15. 66                               |                                              |       |
|        | 7. 230                               |                                              |       | 15. 14                               |                                              |       |
|        | 7. 030                               |                                              |       | 15. 21                               |                                              |       |
|        | 6. 901                               |                                              |       | 16. 42                               |                                              |       |
|        | 6. 973                               |                                              |       | 15. 22                               |                                              |       |

### 2.6 加标回收实验

对 12 份  $\text{Hg}^{2+}$  和  $\text{MeHg}^+$  的混合标准溶液进行加标回收实验, 其中 3 份作为基底溶液, 其理论质量浓度为  $\text{Hg}^{2+}$  2.4 ng/mL、 $\text{MeHg}^+$  4.8 ng/mL, 实际测定质量浓度为  $\text{Hg}^{2+}$  2.357、2.435、2.400 ng/mL,  $\text{MeHg}^+$  4.630、4.660、4.683 ng/mL, 以平均值  $\text{Hg}^{2+}$  2.397 ng/mL、 $\text{MeHg}^+$  4.657 ng/mL 作为二者在基底溶液中的含量, 并以此计算低中高三水平的加标回收率, 如表 4 所示。

表 4 低中高三水平的加标回收率

Table 4 The spiked recoveries of low, medium and high concentrations

|        | $\text{Hg}^{2+}$                   |                                   |      | $\text{MeHg}^+$                    |                                   |      |
|--------|------------------------------------|-----------------------------------|------|------------------------------------|-----------------------------------|------|
|        | Theoretical/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | Calculated/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | R/%  | Theoretical/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | Calculated/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | R/%  |
| Low    | 2.597                              | 2.646                             | 102  | 5.857                              | 6.473                             | 111  |
|        |                                    | 2.620                             | 101  |                                    | 6.147                             | 105  |
|        |                                    | 2.599                             | 100  |                                    | 6.183                             | 106  |
|        |                                    | 5.045                             | 97.1 |                                    | 10.42                             | 102  |
| Medium | 5.197                              | 5.656                             | 109  | 10.26                              | 9.850                             | 96.0 |
|        |                                    | 5.513                             | 106  |                                    | 10.54                             | 103  |
|        |                                    | 8.649                             | 92.0 |                                    | 19.77                             | 106  |
| High   | 9.397                              | 8.293                             | 88.2 | 18.66                              | 20.26                             | 109  |
|        |                                    | 8.223                             | 87.5 |                                    | 20.10                             | 108  |

$\text{Hg}^{2+}$  的回收率为 87.5%~109%, 而  $\text{MeHg}^+$  的回收率为 96.0%~111%, 二者均满足食品理化检测国家标准<sup>[31]</sup>对回收率的要求。表 4 结果显示, 加标回收率受加标浓度的影响, 其中  $\text{Hg}^{2+}$  在低浓度的加标回收率最佳,  $\text{MeHg}^+$  则在中浓度的加标回收率最佳。

### 2.7 食用菌样品检测方法对比

为了考察模型对食用菌样品的检测能力, 分别对 3 份不同的市售干制食用菌和香菇粉质控样采用相同的前处理步骤进行超声提取, 提取液采用 PLS 结合原子荧光光谱法进行检测, 光谱图如图 6 所示, 其与常规 LC-AFS 方法检测结果的对比如表 5 所示。

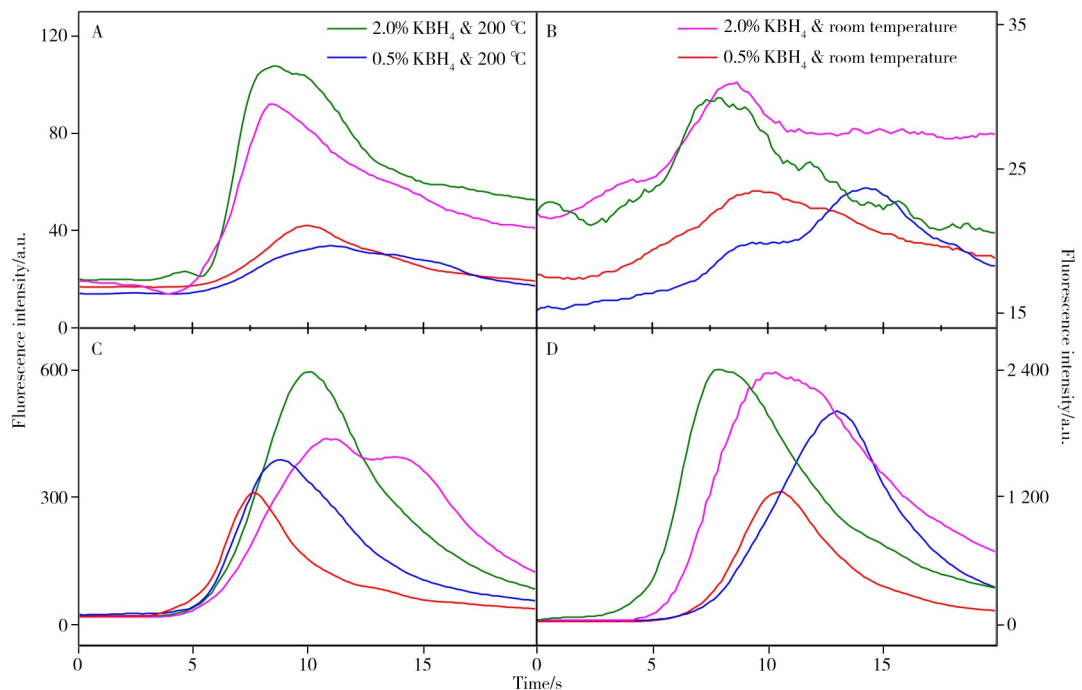


图 6 姬松茸(A)、平菇(B)、鹿茸菇(C)、香菇粉质控样(D)提取液在不同检测条件下的原子荧光光谱图

Fig. 6 Atomic fluorescence spectra of agaricus blazei murill(A), oyster mushroom(B), lyophyllum decastes(C), shiitake mushroom powder for quality control(D) in different conditions

对于平菇和鹿茸菇中 LC-AFS 方法未检出的成分, PLS 模型预测得到的结果同样小于模型检出限。姬松茸和香菇粉质控样中  $\text{Hg}^{2+}$  的浓度较低, 两种方法检测结果的相对偏差为 4% 左右。对于  $\text{MeHg}^+$  浓度的检测结果, 两种方法的相对偏差为 2% 左右。香菇粉质控样的称样量( $m$ )为 0.549 8 g, “1.3.4” 方法

中, 定容体积( $V$ )为 10 mL, 稀释因子( $f$ )为 2.5, 根据两种方法检测得到  $\text{MeHg}^+$  的浓度( $c$ ), 并通过公式 (4) 计算香菇粉质控样中  $\text{MeHg}^+$  的含量( $X$ ):

$$X = \frac{c \times V \times f}{m} \quad (4)$$

LC-AFS 方法得到的  $\text{MeHg}^+$  含量为 1.299 mg/kg, PLS 模型预测得到的  $\text{MeHg}^+$  含量为 1.270 mg/kg, 质控样的标示值为  $(1.36 \pm 0.24)$  mg/kg, 二种方法得到的结果均在标示值范围内。以上结果说明 PLS 模型的预测结果与 LC-AFS 方法检测结果的相对偏差较小, 结果准确, 因此采用 PLS 模型辅助原子荧光光谱法对食用菌样品进行检测切实可行。此外, 采用 LC-AFS 方法检测一个样品约需 300 s, 而对一个样品进行 4 次差异化的原子荧光检测仅需 120 s, 故相较于液相色谱分离, PLS 模型辅助在仪器需求和检测效率方面均有较大优势。

表 5 方法比对结果

Table 5 The results of method comparison

|        | LC-AFS                                            |                                                    | PLS model assisted AFS                            |                                                    | Relative deviation/% |                 |
|--------|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------|-----------------|
|        | $\text{Hg}^{2+}/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$ | $\text{MeHg}^+ / (\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$ | $\text{Hg}^{2+}/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$ | $\text{MeHg}^+ / (\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$ | $\text{Hg}^{2+}$     | $\text{MeHg}^+$ |
| 姬松茸    | 0.518                                             | 1.802                                              | 0.541                                             | 1.768                                              | 4.3                  | 1.9             |
| 平菇     | Not detected                                      | Not detected                                       | -0.028                                            | -0.033                                             | -                    | -               |
| 鹿茸菇    | Not detected                                      | 3.800                                              | -0.013                                            | 3.721                                              | -                    | 2.1             |
| 香菇粉质控样 | 0.550                                             | 28.58                                              | 0.528                                             | 27.94                                              | 4.1                  | 2.3             |

### 3 结 论

本研究采用偏最小二乘法替代常规形态分析方法中的液相色谱分离, 结合原子荧光光谱检测, 建立了一种新型的食用菌中汞形态分析方法。经过对不同原子荧光检测条件的考察, 筛选出差异性显著的 4 个条件, 并基于 4 个条件下得到的原子荧光光谱数据建立了偏最小二乘法快速预测模型。通过独立预测集数据进行完全外部验证以检验模型的预测能力, 并结合检出限计算、精密度评估和加标回收等一系列验证实验, 证明模型具有良好的预测能力、灵敏度、精密度和准确度。最后采用不同种类的食用菌进行方法对比实验, 结果表明此方法与国标方法检测结果具有高度一致性, 对质控样品的检测结果在标示值范围之内, 且此法的检测效率高于国标方法, 能够满足对食用菌样品进行高效准确检测的需求。

#### 参考文献:

- [1] Wu Y S, Osman A I, Hosny M, Elgarahy A M, Eltaweil A S, Rooney D W, Chen Z H, Rahim N S, Sekar M, Gopinath S C B, Mat Rani N N I, Batumalaie K, Yap P S. *ACS Omega*, **2024**, 9(5): 5100–5126.
- [2] Natasha S M, Khalid S, Bibi I, Bundschuh J, Khan Niazi N, Dumat C. *Sci. Total Environ.*, **2020**, 711: 134749–134758.
- [3] Ministry of Ecology and Environment. The Effective Bulletin of the Minamata Convention on Mercury (中华人民共和国生态环境部.《关于汞的水俣公约》生效公告). [2017-08-15]. [https://www.mee.gov.cn/gkml/hbb/bgg/201708/t20170816\\_419736.htm](https://www.mee.gov.cn/gkml/hbb/bgg/201708/t20170816_419736.htm).
- [4] Ministry of Ecology and Environment. The Bulletin on Issuing Control Requirements for Eight Types of Mercury-added Products such as Mercury Vacuum Pumps and Dental Amalgams (中华人民共和国生态环境部. 关于发布汞真空泵等 8 种类添汞产品和牙科汞合金管控要求的公告). [2024-10-14]. [https://www.mee.gov.cn/xxgk2018/xxgk/xxgk01/202410/t20241014\\_1089122.html](https://www.mee.gov.cn/xxgk2018/xxgk/xxgk01/202410/t20241014_1089122.html).
- [5] Leopold K, Foulkes M, Worsfold P. *Anal. Chim. Acta*, **2010**, 663(2): 127–138.
- [6] Zhang Y L, Xiao J J, Sun L P, Li P C. *J. Food Sci. Technol.* (庄永亮, 肖俊江, 孙丽平, 李鹏程. 食品科学技术学报), **2019**, 37(3): 19–32.
- [7] Gonzalez A, Cervera M L, Armenta S, de la Guardia M. *Anal. Chim. Acta*, **2009**, 636(2): 129–157.
- [8] Wei L L. *Occup. Health* (韦丽丽. 职业与健康), **2020**, 36(9): 1291–1292.
- [9] Iwai K, Iwai-Shimada M, Tatsuta N, Kobayashi Y, Asato K, Nishimoto M, Nakai K, Nakayama S F. *Microchem. J.*, **2025**, 211: 113142.
- [10] Ladeira P C C, Augusto C C, Rocha B A, Rodrigues J L, Aguiar G F M, Batista B L. *Toxics*, **2024**, 12(6): 424–432.
- [11] Lemos A A, Lujan C E, Oviedo M N, Acha C, Wuilloud R G. *J. Food Compos. Anal.*, **2024**, 136: 106710.

- [12] Zhou T H, Wang X J, Liu L P, Chen S Z. *Cap. J. Public Health* (周天慧, 王晓静, 刘丽萍, 陈绍占. 首都公共卫生), **2022**, 16(1): 59–63.
- [13] Esposito V V, Russolillo G. *Wiley Interdiscip. Rev.: Comput. Stat.*, **2013**, 5: 1–19.
- [14] Ding J M, Wang X, Zhang R L, Zhou L Y, Zhang T L, Tang H S, Li H. *Chin. J. Anal. Chem.* (丁建明, 王鑫, 张容玲, 周利园, 张天龙, 汤宏胜, 李华. 分析化学), **2024**, 52(10): 1581–1590.
- [15] Helmer M, Warrington S, Mohammadi-Nejad A, Ji J L, Howell A, Rosand B, Anticevic A, Sotiropoulos S N, Murray J D. *Commun. Biol.*, **2024**, 7(1): 217–231.
- [16] Lemberge P, De Raedt I, Janssens K H, Wei F Z, Van Espen P J. *J. Chemom.*, **2000**, 14(5/6): 751–763.
- [17] Cheng H. *Environ. Dev. Sustain.*, **2023**, 25(7): 6249–6268.
- [18] Tan H Z, Liu Y, Tang H, Fan W, Jiang L W, Li P. *Foods*, **2024**, 13(23): 3856–3867.
- [19] Li H, Ma X, Xing S S, Xu Z H. *J. Tianjin Univ. Technol.* (李浩, 马旭, 邢少松, 徐智宏. 天津理工大学学报), **2025**, 41(1): 57–63.
- [20] Liu W, Qiu X W, Jiang L W, Fan W, Li P, Zheng Y. *J. Instrum. Anal.* (柳薇, 邱熙文, 蒋立文, 范伟, 李跑, 郑郁. 分析测试学报), **2025**, 44(2): 246–252.
- [21] Zhang W T, Wang K J, Lu Y M, Yang W Y, Xiong Y R, Wu Q, Du Y P. *J. Instrum. Anal.* (张文婷, 王凯君, 路亚梅, 杨吴烨, 熊闾然, 吴琼, 杜一平. 分析测试学报), **2024**, 43(5): 746–754.
- [22] Zhang Y S, Yuan J, Gao R, Zhao Y, Ye Z F, Zhu Z J, Zhang P H, Zhang L, Yin W B, Jia S T. *Talanta*, **2024**, 280: 126747–126754.
- [23] Zhang Y Z, Liu Y H, Lu Y J, Ma C Q, Chen G Q, Wu H. *Spectrosc. Spectral Anal.* (张源哲, 刘宇豪, 陆雨洁, 马超群, 陈国庆, 吴慧. 光谱学与光谱分析), **2022**, 42(8): 2347–2352.
- [24] Wang Y W, Xu Z Y, Wei B Y, Su A X, Yang W J. *J. Food Saf. Qual.* (王怡雯, 徐紫依, 韦博艺, 苏安祥, 杨文建. 食品安全质量检测学报), **2025**, 15(9): 78–83.
- [25] Liu L, Yan C H, Li M G, Zhang T L, Tang H S, Li H. *Metall. Anal.* (刘良, 闫春华, 李茂刚, 张天龙, 汤宏胜, 李华. 冶金分析), **2024**, 44(10): 87–94.
- [26] GB/T 5009.1–2003. Methods of Food Hygienic Analysis—Physical and Chemical Section—General Principles. National Standards of the People's Republic of China (食品卫生检验方法 理化部分 总则. 中华人民共和国国家标准).
- [27] GB 5009.17–2021. National Food Safety Standard—Determination of Total Mercury and Organic-mercury in Foods. National Standards of the People's Republic of China (食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定. 中华人民共和国国家标准).
- [28] Khajehsharifi H, Mousavi M F, Ghasemi J, Shamsipur M. *Anal. Chim. Acta*, **2004**, 512(2): 369–373.
- [29] Zhao L. *Fujian Anal. Test.* (赵丽. 福建分析测试), **2015**, 24(5): 13–17.
- [30] Liu R. *Guangdong Chem. Ind.* (刘蓉. 广东化工), **2018**, 45(16): 183–185.
- [31] GB 27404–2008. Criterion on Quality Control of Laboratories—Chemical Testing of Food. National Standards of the People's Republic of China (实验室质量控制规范 食品理化检测. 中华人民共和国国家标准).

(责任编辑: 盛文彦)