DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251212002
引用格式: 罗永成, 王星, 户国, 等. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定林蛙油中 19 种元素含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(9): 53–60.
LUO YC, WANG X, HU G, *et al*. Determination of 19 kinds of elements content in *Oviductus ranae* by microwave digestion-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(9): 53–60. (in Chinese with English abstract).

微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定林蛙油中 19 种元素含量

罗永成[1], 王　星[1*], 户　国[2], 汤施展[2]
(1. 辽东学院农学院, 丹东　118003; 2. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 哈尔滨　150070)

摘　要: 目的　建立了一种电感耦合等离子体质谱法(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)同步测定林蛙油中 19 种金属元素的分析方法。**方法**　采用 HNO_3-H_2O_2 (5:2, *V*:*V*)混合体系微波消解样品, 结合八极杆碰撞/反应池系统消除质谱干扰, 优化仪器参数以提高灵敏度和准确性, 内标法定量。**结果**　通过标准物质(GSB-28)验证及加标回收实验, 结果显示 19 种元素(钒、铬、锰、铁、钴、镍、铜、锌、镓、砷、硒、锶、银、镉、铯、钡、铊、铅、铀)的回收率为 87.8%~108.6%, 相对标准偏差小于 10%, 检出限为 0.1~48.3 μg/kg。实际样品检测表明, 林蛙油中铁、锰、铜、锌、锶等元素含量较高, 而铬、砷、镉等元素含量较低。**结论**　该方法具有前处理简便、灵敏度高、稳定性好等优点, 适用于林蛙油中多种微量元素的快速同步检测, 为相关质量控制和标准制定提供技术支持。

关键词: 电感耦合等离子体质谱法; 八极杆碰撞/反应池系统; 林蛙油; 微量元素

Determination of 19 kinds of elements content in *Oviductus ranae* by microwave digestion-inductively coupled plasma mass spectrometry

LUO Yong-Cheng[1], WANG Xing[1*], HU Guo[2], TANG Shi-Zhan[2]
(1. *College of Agriculture*, *Liaodong University*, *Dandong* 118003, *China*; 2. *Heilongjiang River Fishery Research Institute*, *Chinese Academy of Fishery Sciences*, *Harbin* 150070, *China*)

ABSTRACT: Objective　To establish an analytical method for the simultaneous determination of 19 kinds of metal elements in *Oviductus ranae* by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). **Methods**　Samples were digested using a microwave-assisted digestion system with a HNO_3-H_2O_2 (5:2, *V*:*V*) mixed acid system. Spectral interferences were eliminated using an eight-stage rod collision/reaction cell system, and instrument parameters were optimized to improve sensitivity and accuracy. Quantification was performed using the internal standard method.

收稿日期: 2025-12-12
基金项目: 黑龙江省特色水产动物种质资源鉴定评价及良种创制项目
第一作者: 罗永成(1977—), 男, 硕士, 讲师, 主要研究方向为水生动物疾病。E-mail: luoyongcheng@liaodongu.edu.cn
***通信作者:** 王星(1972—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为特种经济动物饲养。E-mail: wangxing@liaodongu.edu.cn

Results Method validation using certified reference material (GSB-28) and spiked recovery tests showed that the recoveries for the 19 kinds of elements (V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Sr, Ag, Cd, Cs, Ba, Tl, Pb, U) ranged from 87.8% to 108.6%, with relative standard deviations less than 10%. The limits of detection ranged from 0.1 to 48.3 μg/kg. Analysis of actual samples indicated higher content of elements such as Fe, Mn, Cu, Zn and Sr, while levels of Cr, As and Cd were relatively low. **Conclusion** The established method is simple in sample preparation, highly sensitive and exhibits good stability. It is suitable for the rapid and simultaneous detection of multiple trace elements in *Oviductus ranae*, providing technical support for quality control and standard formulation.

KEY WORDS: inductively coupled plasma mass spectrometry; eight-stage rod collision/reaction cell system; *Oviductus ranae*; trace elements

0 引 言

林蛙油(*Oviductus ranae*)又称哈蟆油，是我国传统名贵动物源性药材与食品，其药用部位为林蛙(*Rana dybowskii*)雌蛙的干燥输卵管，已被 2020 年版《中华人民共和国药典》收录[1]。自古以来，林蛙油不仅是重要的滋补类中药，也常作为药食同源的高价值天然食材，广泛应用于膳食调理与日常养生。随着健康消费观念的普及，林蛙油及其相关制品在食品与保健品市场中的需求持续增长，逐渐从传统药用向大众化保健食品延伸[2–3]。在营养与功能成分方面，研究表明林蛙油富含优质蛋白质、多种不饱和脂肪酸、磷脂及微量元素，具有免疫调节、抗氧化、缓解疲劳等多重生理活性，体现出较高的食用与保健价值[4–6]。然而，当前研究多集中于其药理活性与药用开发，对林蛙油作为食品原料的系统性品质分析与安全性评估仍较为缺乏，尤其是其元素组成特征及其对食品安全的影响尚未得到充分重视。近年来，由于工业化进程加速，环境污染问题日益凸显，养殖环境中可能存在的金属元素易通过生物富集作用进入林蛙体内，并最终转移至林蛙油产品中。肖井雷等[7]通过测定中国林蛙栖息地的生态环境质量发现土壤中砷(As)超出 GB 15618—2018《土壤环境质量农用地土壤污染风险管控标准》要求，镉也存在一定的土壤污染风险。韩曦英等[8]对中国林蛙体内重金属与环境的相关性分析研究发现，林蛙体内铜含量与其生存的水环境有显著的相关关系。张立娜等[9]研究发现，东北林蛙、黑龙江林蛙肝脏中的铜含量处于轻微污染水平，镉处于重度污染状态。基于重金属生物富集特性，长期或过量摄入含有害金属元素的林蛙油，可能存在健康风险，因此开展其元素含量分析与安全性评价具有重要的现实意义。

目前，相关研究仍存在以下不足：一方面，多数报道仅关注常量元素或少数几种重金属，对包括必需微量元素、有害元素及稀土元素在内的多元素同步分析研究较少；另一方面，传统检测方法如原子吸收光谱法等在灵敏度、多元素同时检测能力及分析效率上存在局限，难以满足复杂生物基质中痕量元素的准确测定需求。电感耦合等离子体质谱法(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)具有高灵敏度、宽线性范围及多元素同步检测优势，已成为食品和生物样品中元素分析的强有力工具[10–12]。结合微波消解前处理技术，可有效提高样品消解效率，减少挥发性元素损失及基质干扰，为复杂食品样品中多元素的准确测定提供可靠方法支持[13–15]。陈海英[16]采用微波消解-电感耦合等离子体发射光谱法测定了林蛙油中 16 种常量和微量元素，检出限为 0.050 mg/kg。文献[17–19]采用 ICP-MS 测定了中华绒螯蟹、克氏原螯虾等物种中 16~28 种常量和微量元素，为甲壳类水产品的食品安全风险评估及产地溯源体系建设提供参考和技术支持。ICP-MS 虽具备高灵敏度与多元素同步检测优势，但其分析结果的准确性高度依赖于高效的样品前处理与优化的仪器条件，微波消解技术能有效分解有机基质并减少元素损失[20–21]。值得注意的是，林蛙油作为传统中药材，同时以“药食同源”滋补品的身份在食品和保健品市场广泛流通，其质量监管横跨药品与食品两大领域[2–3]。然而，当前针对林蛙油的市场监管标准多侧重于其药材属性的真伪鉴别与理化指标[1]，对于其作为大众化食品原料的安全性评价，特别是金属及类金属元素的污染物监测，尚缺乏明确、统一且高效的标准方法。随着林蛙油及其深加工产品的消费量逐年递增，其潜在的重金属暴露风险已成为食品安全监管中不可忽视的新议题。因此，建立一种快速、准确测定林蛙油中多种元素含量的分析方法，对于完善其“药食同源”产品的质量安全标准、满足日益增长的市场监管需求、保障消费者健康具有较强的紧迫性。

鉴于此，本研究将微波消解-ICP-MS 联用技术系统应用于林蛙油中 19 种元素的综合分析，涵盖人体必需微量元素[如锌(Zn)、铁(Fe)、硒(Se)]、潜在有害元素[如 As、镉(Cd)、铅(Pb)]及稀土元素。通过优化样品前处理与仪器检测条件，建立快速、准确、稳定的多元素同步分析方法，旨在为林蛙油作为食品与保健品原料的质量控制、安全性评价及后续功能产品开发提供科学依据，同时也为类似动物源性食品的元素检测提供可借鉴的分析策略。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

本研究所用林蛙样本于 2022 年 9 月至 10 月采集自黑龙江省 6 个主要产区的 54 个采样点, 见表 1。采样时正值成年林蛙从山林返回山下越冬栖息地的迁移季节。共采集健康成年雌性林蛙 1080 只, 平均体重为(40.0±4.5) g。样品采集后, 立即解剖分离雌蛙输卵管(即林蛙油), 经冷冻干燥后, 置于室温条件下干燥保存备用。

表 1　黑龙江省林蛙油采样点
Table 1　Sampling regions of *Oviductus ranae* in the Heilongjiang Province

地区	经度/E	纬度/N	采样点/个	样品量/只
黑龙江省阿城区	127.19~127.71	45.14~45.59	9	20
黑龙江省五常市	127.68~128.15	44.34~44.57	9	20
黑龙江省通河县	128.20~129.10	46.21~46.57	9	20
黑龙江省铁力市	128.39~128.63	46.87~47.30	9	20
黑龙江省鹤北市	130.20~130.53	47.84~48.22	9	20
黑龙江省虎林市	132.99~133.60	46.28~46.60	9	20

多元素混合标准储备溶液: 钒(V)、铬(Cr)、锰(Mn)、Fe、钴(Co)、镍(Ni)、铜(Cu)、Zn、镓(Ga)、As、Se、锶(Sr)、银(Ag)、Cd、铯(Cs)、钡(Ba)、铊(Tl)、Pb、铀(U)(质量浓度 1000 μg/mL, 国家有色金属及电子材料分析测试中心); 标准参考物质 GSS-3 (GBW-07403, 国家标准物质研究中心); 65%硝酸(HNO_3, 优级纯, 德国默克公司); 过氧化氢(H_2O_2, 优级纯, 国药集团化学试剂有限公司); 内标溶液[锂(Li)、钪(Sc)、锗(Ge)、铑(Rh)、铟(In)、钆(Tb)、镥(Lu)、铋(Bi)](质量浓度 100 μg/mL)、调谐液[铈(Ce)、钴(Co)、锂(Li)、铊(Tl)、钇(Y)](质量浓度 10 μg/L)(美国安捷伦科技公司); 实验用水为一级水。

1.2　仪器与设备

ICP-MS 7500cx 电感耦合等离子体质谱仪[配置八极杆碰撞/反应池系统, 美国安捷伦科技公司]; MARS5 型微波消解仪(美国 CEM 公司); XS 205 分析天平[精度 0.1 mg, 梅特勒-托利多国际贸易(中国)有限公司]; Milli-Q 纯水器(电阻率≥18.2 MΩ • cm, 美国 Millipore 公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　标准溶液制备

准确量取金属元素混合标准溶液适量, 用 5% HNO_3 溶液配制成质量浓度为 0、0.5、1.0、5.0、10.0、25.0、50.0、100.0、250.0、500.0 ng/mL 的混合标准工作液; 另准确量取金属元素混合内标溶液适量, 用 5% HNO_3 溶液配制成质量浓度为 100 ng/mL 的内标工作液。

1.3.2　样品的制备和消解

实验前, 所有器皿经 10% (*V*:*V*) HNO_3 浸泡过夜, 超纯水冲洗 3 次, 烘干备用。林蛙油样品冷冻干燥 48 h, 研磨过 0.5 mm 尼龙筛, 筛下物保存于 4 ℃待测。

精确称取 0.5 g 样品置微波消解罐内, 加入 HNO_3 5 mL、H_2O_2 2 mL 和超纯水 3 mL, 静置 30 min 后, 按表 2 程序进行微波消解。消解后赶酸至 0.5 mL, 超纯水定容至 10 mL, 加入 0.1 mL 内标溶液(100 μg/L), 混匀后上机测定, 同步制备空白样品。

表 2　样品消解程序
Table 2　Procedures of sample digestion

步骤	功率/W	升温时间/min	控制温度/℃	稳定时间/min
1	1600	5	120	5
2	1600	5	150	10
3	1600	5	180	25

1.3.3　仪器分析条件

ICP-MS 工作参数见表 3。采用 He 碰撞模式消除多原子离子干扰, 优化射频功率(1500 W)、载气流量(1.00 L/min)等参数, 确保灵敏度($^{59}Co^+$和 $^{89}Y^+$响应值大于 10000/s)及稳定性(氧化物干扰小于 3%)。

表 3　ICP-MS 工作参数
Table 3　Operating parameters of ICP-MS

工作参数	设定值	工作参数	设定值
射频功率/W	1500	采集模式	跳峰
等离子体气流量/(L/min)	15	定量方式	全定量
载气流量/(L/min)	1.00	积分时间/s	0.3~1.0
辅助气流量/(L/min)	0.23	重复次数	3
氦气流量/(mL/min)	4.0	泵转速/(r/s)	0.1
采样深度/mm	8.0	提升速率/(r/s)	0.5

1.4　数据处理

样品含量及差异性分析使用 GraphPad Prism 8.0 版和 SPSS 23.0 版软件进行, 结果以平均值±标准偏差表示, 采用卡方检验及 *t* 检验对各微量元素在林蛙油中的差异性进行分析。$P<0.05$ 认为有统计学意义, 其中*表示 $P<0.05$, **表示 $P<0.01$。

2　结果与分析

2.1　样品前处理优化

食品中元素分析的关键步骤在于将有机基质完全分解并转化为稳定的无机离子溶液, 目前常用方法包括干灰

化法、湿法消解法及微波消解法等[13−15]。干灰化法虽然酸试剂用量少，但存在灰化时间冗长、高温条件下易导致待测元素(如 As、Se、Pb 等)因挥发或坩埚吸附而损失，且易引入环境与器皿污染，影响测定准确度。湿法消解虽能缩短消解时间，但通常需使用大量强酸(如 HNO_3、$HClO_4$、H_2SO_4 等)，在敞开式高温加热过程中极易造成 Hg、As 等挥发性/半挥发性元素的逸失，同时也存在酸雾污染严重、操作危险性高等问题。针对上述问题，微波消解技术采用高功率的微波对密闭消解管内的样品进行快速均匀加热，可在更高的压力与温度下完成消解。该技术不仅酸用量极少，可显著降低试剂空白与污染风险；而且消解效率与安全性高，密闭体系有效防止了挥发性元素的损失和酸雾泄漏。基于以上优势，本研究针对林蛙油高蛋白质、高脂肪的复杂基质特性，对微波消解的前处理条件进行了系统性优化。

消解酸体系优化：摒弃可能导致 As、Se 等元素形成挥发性氯化物(如 $AsCl_3$)的盐酸(HCl)体系，创新性地采用 HNO_3-H_2O_2 (5:2, *V*:*V*)混合酸体系。HNO_3 提供强氧化环境，而 H_2O_2 能有效分解油脂与长链有机物，两者协同作用可实现对高脂林蛙油基质的快速、彻底氧化。同时，将传统的室温预消解过夜过程优化为 30 min 的短时预反应，大幅提升前处理通量。

消解程序参数优化：为确定最佳消解条件，本研究比较了不同消解温度(170、180、190 ℃)和高温保持时间(15、25、35 min)对样品消解效果及元素回收率的影响。结果显示，在 180 ℃保持 25 min 的条件下，样品消解液不仅清亮透明，且 19 种元素的综合回收率最优(87.8%~108.6%)。当温度升至 190 ℃或时间延长至 35 min 时，As 和 Se 的回收率出现下降趋势(分别下降约 5%~8%)。该条件在确保有机质完全消解的同时，显著降低了因长时间高温导致的 As、Se 等易挥发元素的潜在损失风险，实现了消解效率与元素回收率的最佳平衡。

后处理条件优化：虽然微波消解后通常无需进行赶酸处理，但为彻底消除过量氮氧化物对质谱测定的潜在干扰，进一步提高方法的检测灵敏度，本研究增设了温和的赶酸步骤。通过考察 120、130、140 和 150 ℃的赶酸温度发现，当温度低于 140 ℃时，赶酸效率较低，通常需要 90 min 以上方可完成。如图 1 所示，140 ℃和 150 ℃的赶酸处理均会导致 As、Se、Tl、Pb 等低温挥发性元素的回收率呈下降趋势。其中，150 ℃条件下，各元素的回收率下降幅度为 5%~28%；而 140 ℃条件下，上述元素的平均回收率下降幅度可控制在 1.0%~12.2%范围内，其余元素的回收率下降幅度均低于 5%，满足 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》的技术要求。此外，赶酸处理可将方法检出限降低一个数量级以上，这对于痕量元素的准确测定具有重要意义。综合考虑赶酸效率与元素回收率，最终确定最佳赶酸温度为 140 ℃，在此条件下将样液赶酸至约 0.5 mL 约需 50 min。本研究通过精确控制赶酸温度，在有效驱除残余 HNO_3 的同时，最大限度地降低了挥发性元素因高温所致的损失风险。

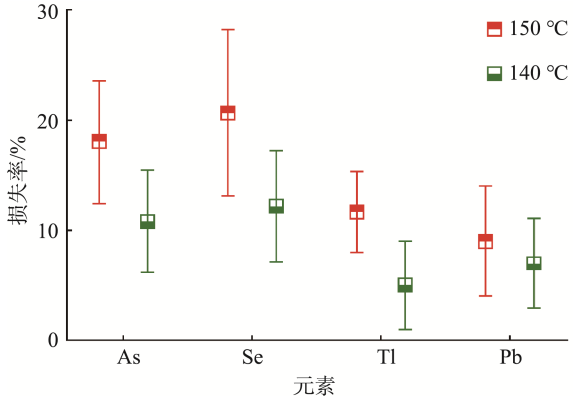


图 1 140 ℃及 150 ℃赶酸温度对元素损失率的影响(n=3)

Fig.1 Effects of the acid evaporation temperature of 140 ℃ and 150 ℃ on the loss rate of elements (n=3)

通过上述系统性的条件优化，本研究建立了一套针对林蛙油基质的稳定、高效、低损失的微波消解前处理方法。该方法不仅保证了复杂有机基质的完全分解，更最大限度地保留了包括易挥发重金属在内的所有目标元素的完整性，为后续采用 ICP-MS 进行高灵敏度、高准确度的多元素同步测定提供了可靠保障。优化后的消解样品清亮透明，无任何残留颗粒或碳化现象，具体消解程序详见表 2。

2.2 仪器参数优化

对 ICP-MS 仪器工作参数的优化主要通过使用 10 μg/L 调谐液调谐，调整射频功率、载气流速、碰撞反应池条件等参数，观测调谐液中质荷比为 59、89、205 的响应强度大于 10000/s，156/140、70/140 的氧化物干扰小于 3%；以最大程度降低多原子离子干扰，确保 19 种目标元素(涵盖必需微量元素如 Zn、Fe、Se，潜在毒性元素如 As、Cd、Pb，及稀土元素)同时获得最佳的信号响应与分离度；最后通过样品的酸体系保持与标准曲线一致和内标校正减少基质干扰，具体参数详见表 3。

2.3 标准曲线及灵敏度

在设定的分析条件下，19 种元素在 0~500 μg/L 范围内的标准曲线相关系数(r)均大于等于 0.9970，大部分为 0.9999 和 1.0000。基于样品质量为 0.5 g，定容体积为 10 mL，参考 JJF 1159—2006《四极杆电感耦合等离子体质谱仪校准规范》计算各元素的检出限(limits of detection, LODs)，即平行测定 11 次空白样品计算标准偏差，以 3 倍标准偏差为 LODs，10 倍标准偏差为定量限(limits of quantitation, LOQs)，结果见表 4。LODs 为 0.1~48.3 μg/kg，LOQs 为 0.3~160.8 μg/kg，方法检测灵敏度较高，可以满足样品分析要求。

表 4　仪器分析条件、曲线方程、线性相关性、LODs 和 LOQs

Table 4　Instrumental analysis conditions, curve equation, linear correlation, LODs and LOQs

元素	内标	分析模式	相关系数(r)	曲线方程	LODs/(μg/kg)	LOQs/(μg/kg)
^{51}V	^{45}Sc	He	0.9999	Y=1.621X+6.07×10^{-1}	0.1	0.3
^{53}Cr	^{45}Sc	He	0.9999	Y=2.22×10^{-1}X+1.12×10^{-1}	1.9	6.3
^{55}Mn	^{45}Sc	He	0.9996	Y=2.169X–2.55×10^{-1}	0.3	1.0
^{56}Fe	^{45}Sc	He	0.9997	Y=2.233X+17.97	48.3	160.8
^{59}Co	^{45}Sc	He	0.9997	Y=2.858X–4.12×10^{-1}	0.1	0.3
^{60}Ni	^{72}Ge	He	0.9999	Y=6.30×10^{-1}X+3.29×10^{-1}	4.8	16.0
^{63}Cu	^{72}Ge	He	0.9999	Y=1.516X+6.29×10^{-1}	2.7	9.0
^{64}Zn	^{72}Ge	He	0.9998	Y=4.65×10^{-1}X–3.18×10^{-1}	15.6	51.9
^{71}Ga	^{72}Ge	He	0.9999	Y=1.202X+1.16×10^{-1}	0.8	2.7
^{75}As	^{72}Ge	He	0.9999	Y=1.98×10^{-1}X+5.06×10^{-2}	3.2	10.7
^{82}Se	^{72}Ge	He	0.9999	Y=1.43×10^{-3}X+3.66×10^{-4}	10.9	36.3
^{88}Sr	^{72}Ge	He	0.9999	Y=2.92×10^{-1}X+1.11×10^{-1}	0.3	1.0
^{107}Ag	^{103}Rh	He	1.0000	Y=1.51×10^{-1}X–1.10×10^{-2}	1.7	5.7
^{111}Cd	^{103}Rh	He	1.0000	Y=3.58×10^{-2}X–3.18×10^{-3}	0.8	2.7
^{133}Cs	^{103}Rh	He	0.9999	Y=3.99×10^{-1}X+5.05×10^{-2}	0.1	0.3
^{137}Ba	^{103}Rh	He	1.0000	Y=5.37×10^{-2}X–1.67×10^{-4}	1.8	6.0
^{205}Tl	^{209}Bi	He	0.9977	Y=3.05×10^{-1}X–3.14×10^{-1}	0.1	0.3
^{208}Pb	^{209}Bi	He	0.9970	Y=2.04×10^{-1}X–2.20×10^{-1}	1.1	3.7
^{238}U	^{209}Bi	He	1.0000	Y=2.68×10^{-1}X+2.39×10^{-2}	0.2	0.7

2.4　方法验证

针对林蛙油复杂基质可能引起的质谱与非质谱干扰, 本研究通过多维度校正策略对 ICP-MS 分析过程进行了系统性优化, 以保障 19 种元素测定的准确性与可靠性。首先, 在干扰评估与模式选择方面, 根据目标元素的质荷比及可能形成的多原子离子干扰(如 ^{35}Cl^{16}O 对 ^{51}V, ^{40}Ar^{12}C 对 ^{52}Cr, ^{40}Ar^{35}Cl、^{40}Ca^{35}Cl 对 ^{75}As, ^{40}Ca^{16}O 对 ^{56}Fe, ^{40}Ar^{38}Ar 对 ^{78}Se, ^{38}Ar^{16}O 对 ^{55}Mn 的干扰), 系统比较了标准模式、碰撞模式与反应模式的消除效果。结果表明, 采用氦气碰撞模式可有效消除绝大多数多原子离子干扰, 尤其对 As、Se、V 等易受干扰元素的信号纯化效果显著, 故选定为该研究的主要测定模式。其次, 在仪器参数与校正策略方面, 针对仪器漂移及信号抑制效应, 选用 ^{45}Sc、^{75}Ge、^{103}Rh、^{209}Bi 等作为混合内标, 分别在线监测轻、中、高质量数范围的信号变化, 实现实时校正。同时, 通过严格匹配样品溶液与标准系列溶液的酸介质及酸度(均控制为 5% HNO_3), 有效消除了由基质差异引起的进样与雾化过程偏差。最后, 采用标准物质 GBW10050 (GSB-28)验证方法准确度、精密度, 并开展加标回收实验(加标量 50 μg/kg), 结果见见表 5。所有元素回收率为 87.8%~108.6%, 其中 Se 和 As 的回收率略低分别为 87.8%、89.2%, 其他元素回收率均在 90%以上, RSDs 在 1.84%~8.74%, 满足分析要求。

2.5　样品分析

林蛙油样品中待测元素的信号响应值, 代入标准曲

表 5　标准物质和加标样品的检测结果(n=6)

Table 5　Results of the standard material and additive sample tests (n=6)

元素	标准值/(mg/kg)	测定值/(mg/kg)	RSDs/%	回收率/%
Mn	8.90±0.30	8.87±0.16	1.84	99.7
Fe	112.0±12.0	112.0±6.2	5.51	100.0
Zn	76.0±4.0	75.7±2.4	3.20	99.6
Cu	10.30±0.70	9.97±0.36	3.57	96.8
Sr	20.0±2.0	20.2±1.5	7.30	101.0
Ba	2.30±0.30	2.37±0.18	7.44	103.0
Se	5.10	4.48±0.30	6.70	87.8
Ni	0.23	0.22±0.01	6.74	95.7
Cr	0.35±0.11	0.38±0.03	7.63	108.6
As	2.50	2.23±0.13	5.98	89.2
Cd	0.039±0.002	0.041±0.003	6.36	105.1
Ga	0.050*	0.049±0.004	7.87	98.0
V	0.24±0.07	0.25±0.02	7.16	104.2
Co	0.044±0.005	0.045±0.003	6.29	102.3
Cs	0.027±0.002	0.026±0.001	4.47	96.3
Ag	0.017	0.017±0.002	8.74	96.3
Pb	0.20±0.05	0.18±0.01	4.97	90.0
Tl	0.0020±0.0005	0.0019±0.0001	6.49	95.0
U	0.0097±0.0008	0.0100±0.0005	5.48	103.1

注: *加标样品的标准值为加标量; 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs); 标准物质证书中数据组不少于 6 组且精度良好者为认定值, 并给出偏差, 否则以参考值(无偏差信息)给出。

线，得到内标校正后的待测元素浓度，由样品量和定容体积计算出样品中待测元素的质量浓度。对于检测含量超出曲线范围的 Fe 和 Mn 元素先进行稀释再测定。结果显示，黑龙江省林蛙油中 Fe、Mn、Cu、Zn、Sr 等元素的平均含量较为丰富。Fe、Mn、Cu、Zn、Sr、Ba、Se、Ni 和 Cr 等元素在林蛙油中检出率为100.0%，含量在0.1~50.0 mg/kg之间，而 Cr、As、Cd、Ga、V、Co、Cs、Ag、Pb、Tl、U 等元素在此次检测林蛙油中含量较低。结果见表 6。

2.6 方法的创新性与技术优势

本研究采用 HNO_3-H_2O_2 消解体系替代传统 HCl、H_2SO_4 或 HF 体系，不仅有效避免了 Cl^-、S^+等多原子离子对 As、Se 等关键元素的质谱干扰，防止了 HF 酸对雾化系统的腐蚀，还因其溶液黏度低、挥发性适中的物理特性，显著提升了 ICP-MS 进样系统的雾化效率与长期稳定性。同时，该体系在相对温和条件下即可实现林蛙油高脂高蛋白基质的完全消解，且其反应产物洁净、酸度易于精确控制，为后续多元素同步准确定量奠定了低背景、低基质干扰的分析基础[20–21]。结合八极杆碰撞/反应池技术及 He 碰撞模式，显著降低了质量数在 51~88 之间的元素质谱干扰。其他元素如 Ag、Cd、Pb、Tl 和 U 等元素则基本不受多原子离子干扰，主要是因为它们的优选监测同位素(如 ^{111}Cd、^{208}Pb)位于质谱图的“清洁质量数窗口”。在这个高质量数区域，由等离子体气(Ar)与样品基质中常见的氧(O)、氢(H)、氯(Cl)、硫(S)、磷(P)等轻元素形成的多原子离子，其质量数通常较低，难以与这些目标元素的质量数精确重叠[22]。尽管这些元素本身离子干扰较少，但在高脂肪、高蛋白的林蛙油检测工作中，为其选择氦气碰撞模式的主要为了普适性地降低背景噪声、消除潜在未知干扰、稳定信号并降低 LOD，从而极大增强了整个分析方法在面对复杂多变食品基质时的稳健性、灵敏度和高通量分析能力。与文献报道的 H_2 碰撞模式相比，本方法在 Fe 和 Mn 的高浓度样品中仍能保持稳定的检测性能[22–23]。此外，在线内标(Ge、Rh、Lu)的引入有效校正了基体效应和信号漂移，进一步提升了方法的精密度(RSD<10%)和回收率(87.8%~108.6%)，与国内外同类研究的结果一致[15–16]。

2.7 林蛙油中元素的分布特征与安全性评估

本研究采集了黑龙江省林蛙 6 个主产区的样本，检测结果显示，黑龙江省林蛙油中 Fe、Mn、Cu、Zn 和 Sr 等元素的平均含量较高(Fe: 239000 μg/kg; Mn: 412000 μg/kg)，可能与其生理代谢过程中的酶活性或环境富集作用相关[24–25]。Cr、Cd 和 Pb 等有毒元素的平均含量分别为 113.00、42.60 和 8.98 μg/kg，均显著低于 GB 2762—2022《食品安全国家标准 食品中污染物限量》中水产品限值(Cr 2000 μg/kg、Pb 500 μg/kg、Cd 100 μg/kg)[17–18]。Cd、Mn 与 Zn 的含量与来

表 6 样品分析结果

Table 6 Results of sample analysis

分类	元素	最小值/(μg/kg)	最大值/(μg/kg)	平均值/(μg/kg)	标准偏差	检出率/%
常量元素	Mn	2.25E+04	6.58E+04	4.12E+04	8.24E+03	100.0
	Fe	8.21E+03	4.13E+04	2.39E+04	7.41E+03	100.0
微量元素	Zn	6.04E+03	2.32E+04	1.08E+04	4.29E+03	100.0
	Cu	3.90E+03	8.29E+03	5.92E+03	1.13E+03	100.0
	Sr	2.38E+03	6.67E+03	3.95E+03	1.16E+03	100.0
	Ba	2.15E+02	1.96E+03	8.77E+02	5.16E+02	100.0
	Se	7.39E+01	1.19E+03	5.92E+02	2.60E+02	100.0
	Ni	3.81E+01	1.02E+03	2.94E+02	1.67E+02	100.0
痕量元素	Cr	71.0	193.0	113.0	25.3	100.0
	As	ND	161.0	67.0	37.6	98.0
	Cd	ND	132.0	42.6	33.7	89.0
	Ga	ND	106.0	40.3	22.1	98.0
	V	ND	84.3	37.6	15.6	94.0
	Co	ND	57.8	32.4	10.4	98.0
	Cs	ND	79.1	15.9	23.2	74.0
	Ag	6.28	20.40	13.90	3.65	100
	Pb	ND	27.20	8.98	7.09	76.0
	Tl	ND	14.70	3.23	4.63	35.0
	U	ND	ND	ND	ND	0

注: ND 表示样品检测含量低于 LODs。

自吉林产地的林蛙油检测结果相一致, Fe 略低于吉林的样本, Se 略高于吉林的样本, Pb、As 和 Cu 元素含量均低于吉林产地林蛙油[2,26–27]。U 是一种具有化学毒性的天然存在的放射性核素, 源自通过复杂过程形成的矿床。本研究发现 U 在所有样品中均未检出(LOD=0.2 μg/kg), 这可能主要归因于环境背景与检测方法两方面因素。黑龙江省土壤和水体中 U 的天然背景值普遍较低, 其分布受地质构造控制, 省内广泛分布的第四纪沉积物和火山岩基底中U含量通常低于全国平均水平[28], 低环境背景值直接限制了U通过食物链在林蛙体内的富集。另一方面, 本研究所用 ICP-MS 对铀的检出能力虽已处于痕量分析水平, 但仍有其他检测技术可实现更高的灵敏度[29]。因此, 后续研究中可结合区域环境背景值调查, 进一步系统评估林蛙油中 U 元素的赋存状态。可以看出, 黑龙江省林蛙油的潜在重金属污染风险相对较低。

目前, 我国相关标准尚未对食品中总 As 含量设定统一限量, 鉴于无机砷(iAs)毒性远强于有机 As 形态, 且通常在总 As 中贡献一定比例, 本研究中检出的总 As 最高值(161 μg/kg)已超过 GB 2762—2022 中水产品 iAs 的限值(100 μg/kg)。这一发现提示, 需结合林蛙油的具体用途(药用或食用), 对其总 As 含量及 As 形态分布进行深入研究, 以科学评估其潜在健康风险。值得注意的是, 中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)也被报道过 As 污染情况, iAs 含量通常只占总 As 的 15%左右[17], 由此推算林蛙油中 As 含量未达到污染程度。众所周知, 在所有 As 物种中, iAs 包括亚砷酸盐[As(III)]和砷酸盐(AsV)是最具毒性的形式, 长期暴露于低水平的 iAs 可能会导致癌变和对人类的其他健康危害[30–31]。最新的研究表明, 淡水杂食性鲫鱼具有富集 As(III)并将其转化为有机 As 形式(MMA、DMA)的能力, 从而导致了 As 的高生物积累, 离开 As(III)胁迫环境后各种形态 As 会被迅速排出体外[32]。尽管 As 在生物体内的代谢途径已较为明确, 但林蛙作为两栖动物, 其生活史跨越水生与陆生环境, 且处于食物链关键位置, 依然使其存在通过多重环境途径富集包括 As 在内的多种重金属的潜在风险[33–34]。因此, 未来有必要扩大对林蛙油中 As 及其他重金属的持续监测范围与监测频率, 并深入探究其形态分布与生物转化机制, 从源头上科学评估和有效控制林蛙油产品的重金属暴露风险。

3　结　论

本研究建立了一种基于ICP-MS同步测定林蛙油中19种元素的分析方法, 采用 HNO_3-H_2O_2 (5:2, *V*:*V*)混合酸体系, 在 180 ℃保持 25 min 的消解条件下, 经 140 ℃赶酸, 可将 LOD 降低到原来的十分之一, 方法准确度和精密度良好。应用该方法对黑龙江省林蛙油中元素含量进行检测, 结果表明, 该地区林蛙油潜在重金属污染风险相对较低, 但部分元素(如 As)仍需结合其赋存形态及具体用途进一步评估安全性。尽管本方法在灵敏度和抗干扰能力上表现优异, 但仍存在以下局限性: (1) Se (87.8%)和 As (89.2%)的回收率略低, 可能与消解过程中部分元素的挥发损失或基质干扰有关, 建议引入更适配的内标(如 In 或 Bi)或进一步缩减高温消解时间; (2) Cs、Pb 和 Tl 的检出率较低, 可能因其在林蛙油中含量极低, 可通过增加样品量、赶酸等手段提高 LOD; (3) U 在所有样品中未检出(LOD=0.2 μg/kg), 可能与区域环境背景值较低有关, 需进一步优化仪器参数以提升痕量元素的检测能力, 最后扩大采样范围验证其普遍性。

本研究为林蛙油的质量控制及安全性评估提供了可靠的技术支持, 未来可结合代谢组学或毒理学研究, 探讨元素含量与其药用功效或毒性效应的关联性。此外, 该方法可扩展应用于其他两栖动物产品或高有机质样品中多元素的同步检测, 为环境污染物监测和食品溯源提供新思路。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2020 版一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Volume I (2020 ed) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.

[2] 姜希红, 张爽, 刘树民. 林蛙油化学成分及其鉴别方法研究进展[J]. 化学工程师, 2021, 35(2): 52–56.
JIANG XH, ZHANG S, LIU SM. Research process on chemical composition and identification methods of *Oviductus ranae* [J]. Chemical Engineer, 2021, 35(2): 52–56.

[3] 李孟, 吕邵娃, 管庆霞, 等. 林蛙油冻干粉抗疲劳、抗衰老药理作用研究[J]. 中医药学报, 2021, 49(2): 12–16.
LI M, LV SW, GUAN QX, *et al*. Pharmacological effects of *Oviductus ranae* lyophilized powder on anti-fatigue and anti-aging [J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2021, 49(2): 12–16.

[4] WEI HJ, GENG LW, SHANG XC, *et al*. Background color preference of amphibian *Rana dybowskii* [J]. Applied Animal Behaviour Science, 2023, 268: 106079.

[5] WANG ZY, ZHOU Y, RUAN PY, *et al*. Impact of breeding environments on the fatty acid composition of *Rana chensinensis* ovum from Changbai Mountain based on UPLC-Q/TOF-MS analysis [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2023, 123: 105599.

[6] ZHANG WQ, GUO S, ZHOU L, *et al*. Multi-omics analysis reveals the healthy functions of *Oviductus ranae* [J]. Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine, 2024. 10: 100369.

[7] 肖井雷, 于洋洋, 姜大成. 重金属在中国林蛙体内富集特征研究[J]. 吉林中医药, 2014, 34(1): 68–70.
XIAO JL, YU YY, JIANG DC. Study accumulation characteristics of the heavy metals in *Rana temporaria* chensinensis david [J]. Jilin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2014, 34(1): 68–70.

[8] 韩曦英, 朱健勋, 于澎. 中国林蛙体内重金属与环境的相关性分析[J]. 野生动物学报, 2018, 39(3): 633–638.
HAN XY, ZHU JX, YU P. Correlation analysis of heavy metals in *Rana*

chensinensis and their environment [J]. Chinese Journal of Wildlife, 2018, 39(3): 633–638.

[9] 张立娜, 安富宇, 任帅, 等. 东北林蛙及黑龙江林蛙体内重金属离子含量测定[J]. 特种经济动植物, 2020, 23(8): 8–13.
ZHANG LN, AN FY, REN S, *et al*. Determination of heavy metal ions in Northeastern forest frog and Heilongjiang forest frog [J]. Special Economic Animals and Plants, 2020, 23(8): 8–13.

[10] 谢旭, 张元, 鹿传磊, 等. 稀硝酸-过氧化氢微波消解-电感耦合等离子体发射光谱法测定植物中 8 种矿物质元素[J]. 岩矿测试, 2026, 45(2): 475–483.
XIE X, ZHANG Y, LU CL, *et al*. Determination of 8 mineral elements in plants by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry after microwave digestion with dilute nitric acid-hydrogen peroxide [J]. Rock and Mineral Analysis, 2026, 45(2): 475–483.

[11] SIM KS, KIM H, HUR SH, *et al*. Geographical origin discriminatory analysis of onions: Chemometrics methods applied to ICP-OES and ICP-MS analysis [J]. Food Research International, 2024, 175: 113676.

[12] 赵英飞, 王小龙, 李凯, 等. 关于电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法在科学、技术、产品、应用方面的思考[J]. 中国无机分析化学, 2025, 15(3): 382–388.
ZHAO YF, WANG XL, LI K, *et al*. Reflections on ICP-MS in science technology engineering and applications [J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2025, 15(3): 382–388.

[13] 冯凯, 段苏然, 李家家, 等. 电感耦合等离子体质谱法测定灵芝中 13 种金属元素含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(19): 231–238.
FENG K, DUAN SR, LI JJ, *et al*. Determination of the content of 13 kinds of metal elements in *Ganoderma lucidum* by inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(19): 231–238.

[14] 许泽勇, 刘国宏, 陈高云, 等. 电感耦合等离子体质谱分析生物样品的研究进展[J]. 分析化学, 2022, 50(12): 1804–1812.
XU ZY, LIU GH, CHEN GY, *et al*. Development of bio-sample analysis by inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2022, 50(12): 1804–1812.

[15] 李俊婕, 刁飞燕, 胡文岳, 等. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定中药材天麻中 37 种元素[J]. 化学分析计量, 2022, 31(12): 17–21.
LI JJ, DIAO FY, HU WY, *et al*. Determination of 37 elements in *Gastrodia elata* Blume by inductively coupled plasma mass spectrometry with microwave digestion [J]. Chemicalanalysis and Meterage, 2022, 31(12): 17–21.

[16] 陈海英. 微波消解-电感耦合等离子体发射光谱法测定林蛙油中的常量和微量元素[J]. 当代化工, 2014, 43(3): 470–473.
CHEN HY. Determination of major and trace elements in forest frog oil with microwave digestion and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) [J]. Contemporary Chemical Industry, 2014, 43(3): 470–473.

[17] TANG SZ, SONG D, BAI, SY, *et al*. Trace elements accumulation and health risk assessment of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) from monoculture and rice-crab co-culture mode [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2023, 123: 105640.

[18] BAI SY, QIN DL, CHEN ZX, *et al*. Geographic origin discrimination of red swamp crayfish *Procambarus clarkii* from different Chinese regions using mineral element analysis assisted by machine learning techniques [J]. Food Control, 2022, 138: 109047.

[19] QIN DL, JIANG HF, BAI SY, *et al*. Determination of 28 trace elements in three farmed cyprinid fish species from Northeast China [J]. Food Control, 2015, 50: 1–8.

[20] SMITH A, BROWN B. Optimization of acid digestion methods for ICP-MS analysis of biological samples [J]. Analytical Chemistry, 2010, 82(5): 1234–1240.

[21] LIU Y. Comparison of microwave-assisted digestion methods for the determination of trace elements in food samples [J]. Food Chemistry, 2015, 173: 889–895.

[22] TANNER SD. Reaction cells and collision cells for ICP-MS: A tutorial review [J]. Spectrochim Acta B, 2002, 57(9): 1361–1452.

[23] NELMS SM. Comparison of H_e and H_2 as collision gases for the removal of matrix-induced interferences in ICP-MS [J]. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 1996, 11(9): 907–912.

[24] NIAZKHANI M, NAVVABI A. Interactions between Zn, Fe, Cu and Mn in various organs of bread wheat at deficiency and adequate of absorbable Zinc [J]. American Journal of Plant Sciences, 2025, 16(2): 232–244.

[25] 吕燕. 重金属铅对峨眉林蛙和中华蟾蜍蝌蚪的生态毒理学研究[D]. 新乡: 河南师范大学, 2023.
LV Y. Ecotoxicology of lead on *Rana omeiensis* and *Bufo gargarizans* tadpoles [D]. Xinxiang: Henan Normal University, 2023.

[26] 刘海惠, 常悦, 孔祎頔, 等. 林蛙营养素含量及其营养需求研究进展[J]. 科学养鱼, 2024, 10(38): 74–77.
LIU HH, CHANG Y, KONG YD, *et al*. Research progress on nutrient content and nutritional requirements of Chinese frog [J]. Scientific Fish Farming, 2024, 10(38): 74–77.

[27] 商云帅, 王东, 温红珊. 不同地区林蛙油无机元素及重金属元素含量特征分析[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(14): 170–175.
SHANG YS, WANG D, WEN HS. Characteristic analysis on inorganic and heavy metal elements contents of different regions of *Oviductus ranae* [J]. Food Research and Development, 2019, 40(14): 170–175.

[28] ZHENG S, GUO D, YANG X, *et al*. Full life cycle of uranium toward ore-soil-root-shoot system: A comprehensive review [J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2024, 55(2): 123–145.

[29] WANG Z, LI C, PEI Y, *et al*. Dual-enhancement electrochemiluminescence device for ultratrace uranium visualized monitoring in fish, hair, and nail samples [J]. Analytical Chemistry, 2024, 96(36): 14604–14611.

[30] SU Q, HE Y, PAN H, *et al*. Toxicity of inorganic arsenic to animals and its treatment strategies [J]. Comparative Biochemistry and Physiology C-toxicology & Pharmacology, 2023, 271: 109654.1–109654.8.

[31] BUNDSCHUH J, NIAZI NK, ALAM MA, *et al*. Global arsenic dilemma and sustainability [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 436: 129197–129207.

[32] TANG SZ, GAO L, QIN DL, *et al*. Toxic effects of arsenic on four freshwater aquatic species and its transformation metabolism in crucian carp (*Carassius auratus*) [J]. Toxics, 2024, 12: 221.

[33] BLAIS JM, YUMVIHOZE E, CHAN HM. Foodweb dynamics affect arsenic speciation and bioaccumulation in lakes affected by gold mines [J]. Environ Pollut, 2025, 372: 125999.

[34] WITKOWSKA D, SLOWIK J, CHILICKA K. Review heavy metals and human health: Possible exposure pathways and the competition for protein binding sites [J]. Molecules, 2021, 19: 26.

(责任编辑: 安香玉 蔡世佳)