

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240417001

# 超高效液相色谱-串联质谱法测定葡萄果实中的高氯酸盐

宋文龙<sup>1</sup>, 李一晗<sup>2\*</sup>

(1. 山东新佳祥检测技术有限公司, 潍坊 261000; 2. 西北农林科技大学葡萄酒学院, 杨凌 712100)

**摘要:** **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法定量检测葡萄果实中高氯酸盐含量的分析方法。**方法** 以葡萄为基质, 测定了其中高氯酸盐的含量。前处理最终选择 WAX 固相萃取柱作为净化柱; 分析过程使用 Hypercarb 色谱柱, 柱温为 40°C; 流动相采用甲醇-0.2%甲酸水体系, 流速为 0.3 mL/min; 离子源采用电喷雾源负离子模式, 并通过多反应监测模式来测定葡萄果实中高氯酸盐含量。**结果** 经过试验发现当高氯酸盐的质量浓度处于 2~500 ng/mL 范围内, 浓度与对应的峰面积有着优秀的线性, 相关系数大于 0.995。此外, 检出限为 0.1 µg/kg, 定量限为 0.3 µg/kg。在 1、10、20 和 50 µg/kg 的加标浓度水平下, 高氯酸盐回收率为 80.6%~96.8%, 相对标准偏差为 7.6%~8.5%。**结论** 用该方法进行预处理更加方便、快速, 且检测灵敏度高, 可满足葡萄果实中高氯酸盐测定要求。

**关键词:** 葡萄果实; 高氯酸盐; 超高效液相色谱-串联质谱法

## Determination of perchlorate in grapes by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

SONG Wen-Long<sup>1</sup>, LI Yi-Han<sup>2\*</sup>

(1. Shandong Xinjiaxiang Testing Technology Co., Ltd., Weifang 261000, China;  
2. College of Enology, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the determination of perchlorate in grapes by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The content of perchlorate was measured using grapes as the substrate; the pre-treatment ultimately selected WAX solid-phase extraction column as the purification column; the analysis process used a Hypercarb chromatography column at 40°C; the mobile phase used a methanol 0.2% formic acid water system, with a flow rate of 0.3 mL/min; the ion source used negative ion mode of electrospray source, and the content of perchlorate in grapefruits was determined through multiple reaction monitoring mode. **Results** It was found that when the concentration of perchlorate is within the range of 2–500 ng/mL, there was an excellent linearity between the concentration and the corresponding peak area, and the correlation coefficients greater than 0.995. In addition, the limit of detection was 0.1 µg/kg the minimum detection value was 0.3 µg/kg. At concentrations of 1, 10, 20 and 50 µg/kg, the recovery rates of perchlorate ranged from 80.6%–96.8%, with relative standard deviations ranged from 7.6%–8.5%. **Conclusion** The developed methods for preprocessing are more

\*通信作者: 李一晗, 硕士, 主要研究方向为葡萄与葡萄酒学。E-mail: liyihan@nwfafu.edu.cn

\*Corresponding author: LI Yi-Han, Master, College of Enology, Northwest Agriculture and Forestry University, Xinong Road, Yangling District, Xianyang 712100, China. E-mail: liyihan@nwfafu.edu.cn

convenient, rapid, and has high detection sensitivity, which can meet the requirements for the determination perchlorate in grape fruits.

**KEY WORDS:** grapes; perchlorate; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

## 0 引言

现代科学研究发现高氯酸盐具有极强的污染性,并能对环境产生持久的污染,其在自然条件下的物理和化学特性十分稳定<sup>[1]</sup>。虽然研究发现土壤中高氯酸盐的暴露水平极其低微,但是在发射导弹、人造卫星和航天飞船的燃料燃烧时,会产生大量含有高氯酸盐的废气<sup>[2]</sup>。这些太空燃料燃烧产生的含有高氯酸盐的废气,可能会散播至周围环境,导致污染,同时也可能对人类以及其他生物产生威胁。另外高氯酸盐也可以通过自然界含氯化物的分解产生。高氯酸盐可跟随大气循环沉降与水体流动汇集快速进入到河流、湖泊、地表水和地下水之中从而进行大范围内扩散、迁移,通过水体迁移和生物富集<sup>[3]</sup>。高氯酸盐进入人体后,会参与甲状腺对碘的吸收,与其发生抑制性竞争,这可能会对甲状腺的功能造成破坏,进而引发其功能性的失衡,并对人体的正常新陈代谢和生长发育产生负面效果。因此,近些年来,公众对于食物中的高氯酸盐污染问题的关心和重视程度逐渐提升。大量研究表明,在奶制品<sup>[4]</sup>、茶叶<sup>[5]</sup>、饮料<sup>[6]</sup>、水果<sup>[7]</sup>和蔬菜<sup>[8]</sup>中,存在着各种浓度的高氯酸盐。根据欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)的数据查询结果显示,冷却食品和冻结食品中高氯酸盐的含量水平较高,果蔬被污染的比例最高<sup>[9]</sup>。

2022 年全球鲜食葡萄产量约为 2741.7 万公 t,全球鲜食葡萄消费量约为 2688.4 万公 t。从产量分布上看,中国是全球最大的葡萄生产国,根据美国农业部统计数据,2023 年中国产量占全球鲜食葡萄总产量的 46%,连续多年居全球首位<sup>[10]</sup>。但是我国葡萄中高氯酸盐暴露性风险评估还未有专业报道。从水源、土壤和空气环境监测结果来看,目前我国多地区易受到高氯酸盐污染<sup>[11]</sup>,由此推断葡萄中高氯酸盐的污染状况也不容乐观。目前,常用于检测食品中高氯酸盐含量的方法主要包括离子色谱法<sup>[12]</sup>、电感耦合等离子体光谱法<sup>[13]</sup>、离子色谱-串联质谱法<sup>[14]</sup>和液相色谱-串联质谱法<sup>[15]</sup>等。离子色谱法受基质干扰影响较大,且方法灵敏度较低,前处理过程较难处理完全,很容易造成杂质峰掩盖目标峰,现阶段只能做生活饮用水中的含量检测。电感耦合等离子体光谱法容易受到复杂基质样品影响,并且基质产生的多原子离子干扰或强阴离子干扰,尤其是硒元素,影响检测结果准确性,并且质谱检测器容易被污染。离子色谱-串联质谱法虽然响应值高,抗干扰能力相比离子色谱法更强,但设备覆盖率并不广泛,且性价比较低,不利于广泛应用。SN/T 4089—2015《出口食品中高氯酸盐

的测定》建立了液相色谱-质谱法检测食品中的高氯酸盐,虽然此方法灵敏度高,能在相对较短的时间内完成多种阴离子化合物的定量分析,但是此方法容易对质谱仪造成污染,逐渐降低质谱对负离子监测的响应值<sup>[16]</sup>。

鉴于此,本研究参照现有高氯酸盐在葡萄中暴露情况及检测技术相关研究,结合当前国内外最新发表食品中高氯酸盐含量检测技术研究进展<sup>[17-18]</sup>,根据葡萄基质富含水分和糖分等水溶物多的特性以及高氯酸根的理化性质,使用 WAX 固相萃取柱对葡萄样品进行净化,采用超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)进行检测,为提高葡萄的质量提供更可靠、简便的技术支持。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料和试剂

巨峰葡萄为市售样品。

高氯酸盐标准品[1000 μg/mL(以高氯酸根计),坛墨质检科技股份有限公司];甲酸、甲醇、乙腈(色谱纯,美国赛默飞科技世尔公司);试验用水均为屈臣氏蒸馏水。

### 1.2 仪器与设备

LC-MS/MS 8050 高效液相色谱质谱联用仪(配有电喷雾离子源,日本岛津公司); T25 均质器(德国 IKA 公司); GM200 组织捣碎机(德国莱驰公司); BSM-520.3 千分之一电子天平(上海卓精电子科技有限公司); SK7200HP 超声波提取仪(上海科导超声仪器有限公司); TDL-40B 离心机(上海安亭科学仪器厂); C<sub>18</sub> 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 2.2 μm, 日本岛津公司); C<sub>18</sub> 固相萃取柱、WAX 固相萃取柱(6 mL, 150 mg, 深圳逗点科技有限公司); Hypercarb 分析柱(100 mm×2.1 mm, 5 μm, 美国赛默飞科技世尔公司)。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 标准溶液的配制

用蒸馏水配制标准工作溶液。高氯酸盐质量浓度分别为: 2.0、5.0、10.0、15.0、20.0、50.0、100.0、150.0、200.0 以及 500.0 ng/mL, 现用现配。

#### 1.3.2 样品处理

提取: 采集葡萄的可食部位,剥除外壳和内核,将其切割成细小的片段,然后使用组织破碎器将其破碎。精确的称重 4 g(精度达到 0.001 g),然后将其置于 50 mL 塞式离心管内,精确的添加 10.0 mL 的水,涡旋混匀 5 min。之后,精确的添加 10.0 mL 的乙腈,使其完全混合,然后进行 30 min

的振动式超声提取,最后在室温下以 4000 r/min 速度下离心 10 min。收集上层的澄清液以便于进一步净化。

净化:选取新鲜葡萄样品分成 3 平行,并分别添加 10、50、100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的标准物质,对 WAX 固相萃取柱进行预处理(分别使用 6.0 mL 的甲醇和 6.0 mL 0.2% 的甲酸水进行活化),接着取 5 mL 的上清液通过 WAX 固相萃取柱,再次使用 5.0 mL 的水和 5.0 mL 的甲醇对固相萃取柱依次进行冲洗,并将其完全抽干。最后,使用 5 mL 5% 的氨水甲醇对其进行洗脱至刻度氮吹管内。把氮吹仪水温设置为 40 $^{\circ}\text{C}$ ,使用氮气吹至近干,最后使用蒸馏水将其定容到 1 mL。溶液用 0.22  $\mu\text{m}$  针式过滤器过滤后进样分析。 $\text{C}_{18}$  固相萃取柱需要依次用 5 mL 甲醇、5 mL 水活化,然后吸取 2 mL 提取上清液通过柱子,将流出液弃去,再吸取 6 mL 提取上清液通过柱子,将流出液过尼龙膜后上机测定。WAX 固相萃取柱分别用甲醇、0.2% 甲酸水活化,然后吸取 5 mL 上清液过柱子,用 5 mL 水淋洗柱子,最后用 5 mL 3% 氨水甲醇洗脱,氮吹洗脱液近干后用水定容至 1 mL,过尼龙膜后上机测

定。因 HLB 固相萃取柱特殊的填料性质无需活化,吸取 2 mL 提取上清液通过柱,将流出液弃去,再吸取 6 mL 提取上清液通过柱子,将流出液过尼龙膜后上机测定。

### 1.3.3 液相色谱条件

色谱柱为 Hypercarb 分析柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相 A 是 0.2% 的甲酸水,流动相 B 为甲醇;柱温箱温度设为 40 $^{\circ}\text{C}$ ;泵流速设置为 0.3 mL/min;进样体积 5  $\mu\text{L}$ 。流动相为梯度洗脱: 0~5 min, 甲醇 2%; 5.5 min, 甲醇 90%; 5.5~8.5 min, 甲醇保持 90%; 9 min, 甲醇 2%; 9~12 min, 甲醇 2%。

### 1.3.4 质谱条件

电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI),多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM),脱溶剂管(cdl pipe assy, DL)温度设定为 250 $^{\circ}\text{C}$ ,加热块温度设定为 400 $^{\circ}\text{C}$ ,接口温度设定为 300 $^{\circ}\text{C}$ ,雾化器流量设定为 2.5 L/min,加热器流量设定为 10 L/min,干燥气流量设定为 10 L/min,高氯酸盐的定性定量离子对、碰撞能量、偏转电压见表 1。

表 1 高氯酸盐质谱参数  
Table 1 Perchlorate mass spectrum parameters

化合物	母离子	子离子	保留时间/min	Q1 偏转电压/V	CE/V	Q3 偏转电压/V	ESI 模式
高氯酸盐	99.20	82.90	2.31	15.0	22.0	10.0	ESI <sup>-</sup>
	101.20	84.90		23.0	24.0	12.0	ESI <sup>-</sup>

## 1.4 数据处理

采用 Office Excel 2016 和相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)数据计算器对所得数据进行统计与分析,使用 Labsolution 5.83 对图谱进行采集与分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 质谱条件优化

高氯酸盐具有较强的吸电子能力,所以高氯酸盐在 ESI 离子源中容易失去氢原子而带负电荷<sup>[19]</sup>。高氯酸盐的这种性质决定了只能采用负离子模式对其进行检测。采用负离子扫描模式对高氯酸盐进行扫描而得到一级质谱图, $m/z=99.20$  和  $m/z=101.20$  是高氯酸盐的母离子和其同位素母离子。对母离子和同位素母离子进行碰撞解离,二级扫描获得了裂解的子离子碎片(图 1),通过方法优化进行电压和子离子的优化,选取响应值高、干扰小的离子碎片用于定量分析和定性分析。优化后的质谱参数参考表 1。

### 2.2 色谱条件

#### 2.2.1 色谱柱的选择

高氯酸盐属于极性化合物,本方法采用 0.2% 甲酸水-

甲醇为流动相,采用梯度洗脱。这次试验分别在  $\text{C}_{18}$  色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 2.2  $\mu\text{m}$ )和 Hypercarb (100 mm $\times$ 2.1 mm, 5  $\mu\text{m}$ )色谱柱上分析样品从保留时间来看在  $\text{C}_{18}$  色谱柱上高氯酸盐几乎没有保留时间,而 Hypercarb 色谱柱保留时间为 2.34 min,从响应值来看 Hypercarb 色谱柱明显高于  $\text{C}_{18}$  色谱柱(图 2)。

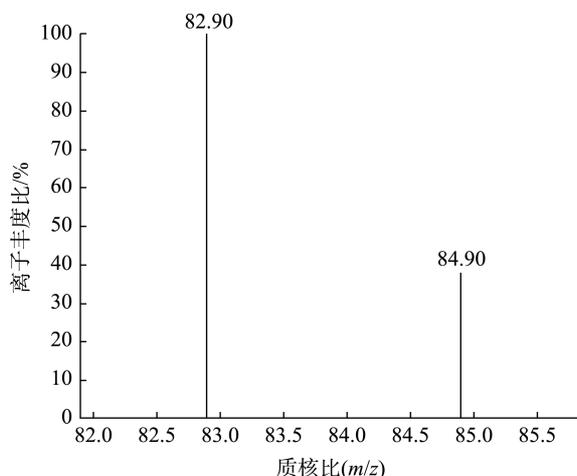
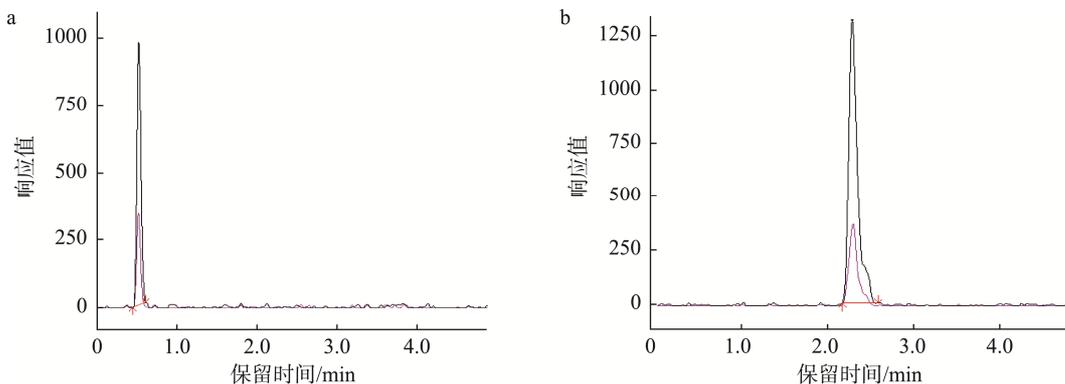


图 1 高氯酸盐子离子质谱图

Fig.1 Mass spectrum of perchlorate ion



注: a: 高氯酸盐在 $C_{18}$ 色谱柱中的保留时间和响应值; b: 高氯酸盐在Hypercarb色谱柱中的保留时间和响应值。

图2 高氯酸盐在 $C_{18}$ 和Hypercarb色谱柱中的保留时间和响应值

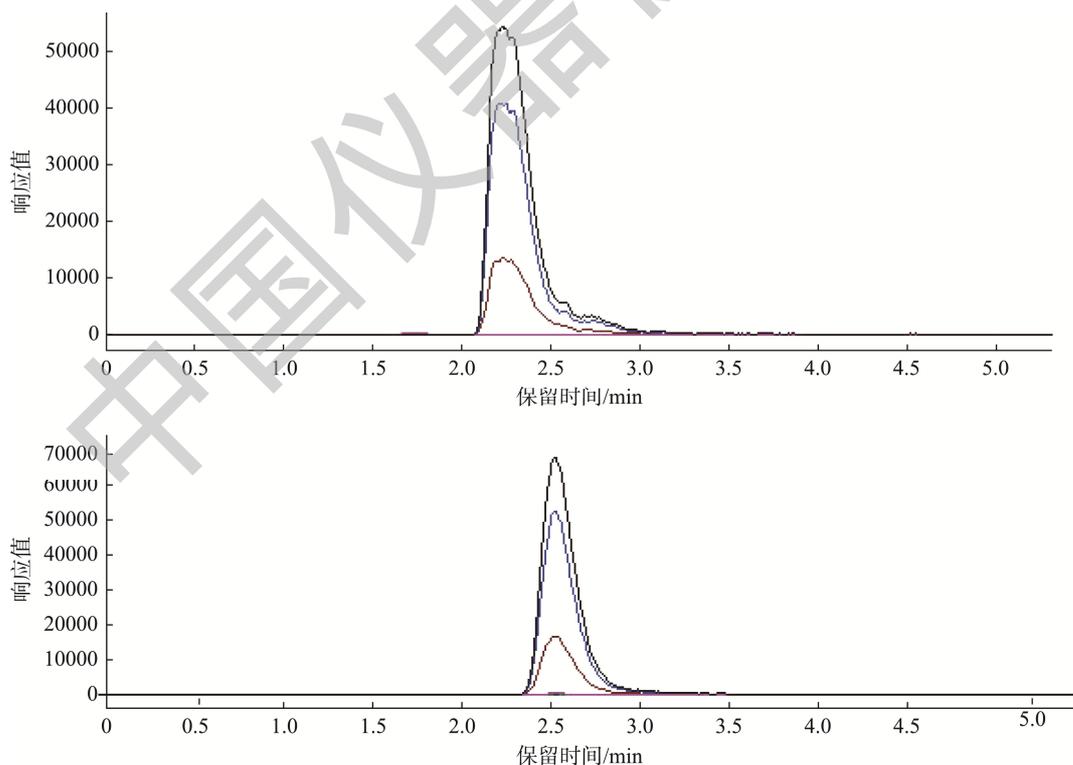
Fig.2 Retention time and response of perchlorate in  $C_{18}$  and Hypercarb columns

根据试验结果,推测  $C_{18}$  色谱柱在反相色谱中,化合物流出色谱的顺序遵循的原则是按照极性大小,极性大的先出峰,极性小的后出峰<sup>[20]</sup>。而高氯酸根为负离子极性物质所以在  $C_{18}$  色谱柱上无保留。Hypercarb 色谱柱填料是一种独特结构的固定相,这种固定相的结构中碳原子以平面六边形结构紧密结合形成石墨极化表面<sup>[21]</sup>。在这个石墨极化表面上,极性物质受到电荷诱导作用的影响,从而形成了强烈的保留效果<sup>[22]</sup>。相比较于传统的  $C_{18}$  色谱柱,Hypercarb 色谱柱在结构和保留性方面都有所不相同,并

且在任何 pH 条件下都能保持稳定<sup>[23]</sup>。综上本研究选用 Hypercarb 色谱柱。

### 2.2.2 流动相的选择

本研究对比了甲醇-水、乙腈-水流动相体系。结果表明甲醇-水做流动相时高氯酸盐响应值更高,但是甲醇-水体系的色谱峰有明显的分叉和拖尾。为了进一步优化分离效果和色谱峰分叉情况,在水相中加入甲酸改善峰型,分别试验甲醇-0.1%甲酸水和甲醇-0.2%甲酸水(图 3),结果表明,用甲醇-0.2%甲酸水做流动相,不仅色谱峰分叉和拖尾



注: a: 甲醇-0.1%甲酸水做流动相色谱图; b: 甲醇-0.2%甲酸水做流动相色谱图。

图3 甲醇-0.1%甲酸水和甲醇-0.2%甲酸水做流动相色谱图

Fig.3 Mobile phase chromatography of methanol-0.1% formic acid water and methanol-0.2% formic acid water

情况有所改善, 响应值也有增强。这是因为 Hypercarb 色谱柱是一种新型色谱柱, 分离高氯酸盐并非离子交换作用, 而是多孔石墨碳表面的自由移动电子与高氯酸盐阴离子电子层间的相互作用, 并且还在分离过程中伴有诱导偶极作用<sup>[24]</sup>。甲酸溶液的冲洗能够提高 Hypercarb 色谱柱对高氯酸盐阴离子的保留与分离作用效果, 未经过足量甲酸冲洗的 Hypercarb 色谱柱, 具有一定的分离能力, 但分离效果欠佳。所以选用甲醇-0.2%甲酸水体系作为流动相。

### 2.3 样品提取液的选择

乙腈具有较低的黏度和较高的溶解能力并且具有较宽的极性范围, 有极强的组织穿透能力, 对葡萄果实中的糖、蛋白质和一些芬芳类的化合物提取效率低<sup>[25]</sup>, 有一定的净化作用, 同时高氯酸盐的极性比较强<sup>[26]</sup>, 水溶性较好, 因此本研究采用乙腈和水的混合溶液作为提取溶剂。以添加高氯酸盐含量为 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的巨峰葡萄作为样品基质, 首先对直接加入 50% 的乙腈水提取和先加水振荡再加入乙腈提取处理进行比较, 结果显示, 直接加入 50% 乙腈水的回收率为 62%, 先加水振荡再加入乙腈提取的回收率为 84%。所以本研究采用先加水振荡, 再加入乙腈提取的方法。分别比较了纯水提取、水-乙腈(3:1, V:V, 下同)体系、水-乙腈(1:1)体系、水-乙腈(1:3)体系、纯乙腈体系作为提取液的提取效果。结果表明, 使用水-乙腈(1:1)体系提取时, 高氯酸盐的回收率最高。

### 2.4 样品净化方法的选择

目前, 针对高氯酸盐的净化有  $\text{C}_{18}$  固相萃取柱、WAX 固相萃取柱以及 HLB 固相萃取柱<sup>[27]</sup>, 试验基质为葡萄时, 主要干扰成分有糖类、醇类、水溶性维生素和色素<sup>[28]</sup>等。本研究考虑采用  $\text{C}_{18}$  固相萃取柱、WAX 固相萃取柱以及 HLB 固相萃取柱进行比较<sup>[29-30]</sup>。通过比较, 过  $\text{C}_{18}$  固相萃取柱回收率为 74%, WAX 固相萃取柱回收率为 86%, HLB 固相萃取柱回收率为 64%(图 4)。此外, WAX 固相萃

取柱能够有效地分离干扰物, 并且能够富集目标物增强对目标物的检测能力, 因此, 与  $\text{C}_{18}$  固相萃取柱和 HLB 固相萃取柱相比, WAX 固相萃取柱对基质的影响较小, 峰型较好, 并且具有较高的响应值(图 5)。此外, WAX 固相萃取柱的填充物使用了混合型弱阴离子交换吸附剂, 这使得它在处理含有强酸基团的化合物时展现出了出色的选择性和敏感性<sup>[31]</sup>。由以上结果可知, WAX 固相萃取柱的提取效果最好, 因此在预处理阶段选择 WAX 固相萃取柱处理样品。

### 2.5 标准曲线、线性范围、检出限与定量限的测定

将标准曲线用空白葡萄基质逐级稀释至 2~500  $\text{ng}/\text{mL}$  质量浓度范围内, 以定量离子峰面积  $Y$  为纵坐标, 质量浓度  $X$  为横坐标, 建立线性回归方程, 为  $Y=0.920640X-0.0379851$ , 相关系数为 0.9998。说明高氯酸盐在此质量浓度范围时具有良好的线性关系和较好的响应范围。以基线噪音  $S>3N$ 、 $S>10N$  来确定检出限和定量限, 得出当称样量为 2.0 g 时, 葡萄中高氯酸盐的检出限为 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限为 0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

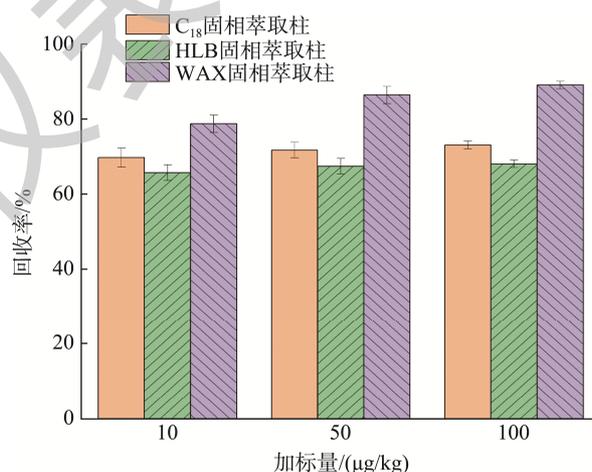
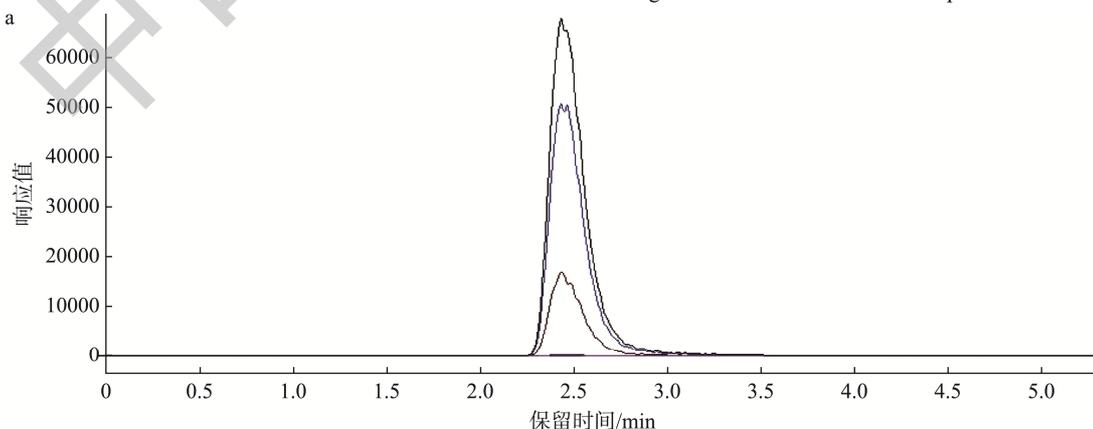


图 4 不同固相萃取柱的回收率

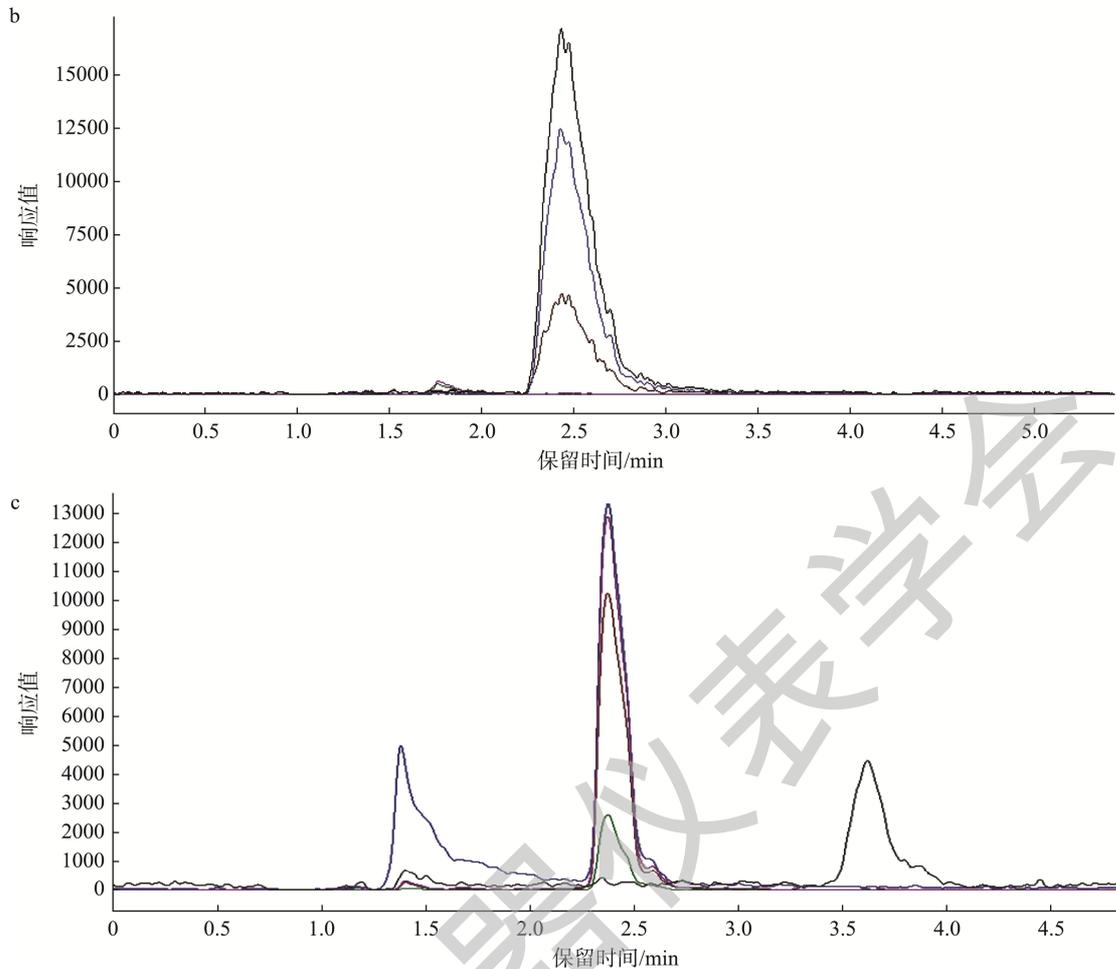
Fig.4 Recoveries of different solid phase extraction columns



注: a: 过 WAX 固相萃取柱; b: 过  $\text{C}_{18}$  固相萃取柱; c: 过 HLB 固相萃取柱。

图 5 使用不同固相萃取柱后样品谱图

Fig.5 Sample spectra after using different solid phase extraction columns



注: a: 过WAX固相萃取柱; b: 过C<sub>18</sub>固相萃取柱; c: 过HLB固相萃取柱。

图5(续) 使用不同固相萃取柱后样品谱图

Fig.5 Sample spectra after using different solid phase extraction columns

## 2.6 回收率和精密度

以市售巨峰葡萄作为样品, 均分 5 份, 将 1、10、20、50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  4 个质量水平的高氯酸盐分别加入其中 4 份葡萄样品, 另 1 份作为空白对照, 按照本研究处理方法处理进行回收率试验, 每个质量水平做 5 次平行实验, 回收率在 80.6%~96.8%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)在 7.6%~8.5%(表 2), 表明该方法具有良好的稳定性和重现性。

## 2.7 实际样品检测

抽取市售巨峰葡萄 10 批, 用本研究方法对实际样品

进行检测分析, 其中 3 批次有检出(表 3)。说明本方法可以在葡萄中检出高氯酸, 具有一定的适用性。

表 3 葡萄中高氯酸盐样品检测  
Table 3 Detection of perchlorate samples in grapes

样品编号	测定值/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	样品编号	测定值/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$
1	—	6	0.39
2	3.58	7	—
3	—	8	—
4	—	9	1.08
5	—	10	—

注: —表示未检出。

表 2 精密度和回收率( $n=5$ )  
Table 2 Precision and recovery rates ( $n=5$ )

加标量/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	回收率/%	RSDs/%
1	80.6~86.2	8.5
10	82.7~90.6	7.9
20	83.0~92.6	7.6
50	89.8~96.8	8.1

## 3 讨论与结论

本研究在选择色谱环境时, 选择 C<sub>18</sub> 色谱柱体系和 Hypercarb 色谱柱体系进行比较。C<sub>18</sub> 色谱柱是一种十八烷基硅烷键合硅胶填料, 是常用的反相色谱柱之一, 极性较小, 根据相似相溶的原理, 小极性的物质更容易吸附在 C<sub>18</sub>

柱子上, 所以大极性的物质更容易从柱子中流出。高氯酸盐属于阴离子极性无机盐类, 所以无法有效在  $C_{18}$  色谱柱体系上实现有效保留。Hypercarb 色谱柱面没有其他的功能接枝基团, 而且坚硬平整, 并且使用 pH 范围为 1~14, 如分析强酸碱性物质, 可在较高酸性流动相环境中进行分离。而且 Hypercarb 色谱柱分离高氯酸盐分离机制为电子相互作用与疏水作用的共同结果, 流动相酸浓度可以改变对高氯酸盐保留的影响情况, 所以 Hypercarb 色谱柱适用于高氯酸盐的分析, 并且还通用于其他阴离子无机盐类、极性物质与非极性物质的分离与分析, 具有更广的使用范围。

本研究中, 在样品提取阶段比较了不同体积的水-乙腈提取体系, 最终选择了水-乙腈(1:1)体系作为提取液。在样品预处理阶段, 本研究对固相萃取柱的选择进行了比较。虽然  $C_{18}$  固相萃取柱在高氯酸盐检测中被广泛使用, 但其应用范围有一定的局限性, 仅能去除提取液中的色素、糖醇和其他大分子干扰物质。HLB 固相萃取柱虽然不用活化柱子本体, 但是由于其填料为亲水-亲脂共聚物, 也会对高氯酸盐产生微量吸附, 并且对色素和磷脂类的吸附效果不如  $C_{18}$  固相萃取柱。WAX 固相萃取柱不仅能够分离干扰物质, 还能够富集目标化合物, 因此, 它的检测灵敏度得到了提升, 这可能归因于 WAX 固相萃取柱的填充材料是三级氨基改良的混合阴离子交换吸附剂, 其中苯环具备很好的疏水性, 三级胺则赋予了它阴离子交换的功能。特别是对于含有强酸基团的化合物, 它们的选择性极高, 可以从溶液中分离出强阴离子和弱阴离子。 $C_{18}$  的内部填料包括十八碳硅烷以及不规则的硅胶微粒, 这类无极性、无封闭的吸附材料赋予表面硅醇基特殊的反应, 可以有效地捕获蛋白质、脂质等高分子物质, 而对极性分子则没有很好的保留。因此 WAX 固相萃取柱更适合高氯酸盐的萃取。

本研究构建了一种用于测量葡萄中的高氯酸盐含量的 UPLC-MS/MS 技术。经过对质谱条件、色谱条件以及前处理过程的精心优化, 确认该 UPLC-MS/MS 技术的定量限是  $0.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ , 回收率在 80.6%~96.8% 范围内。这种检测手段的操作简单、敏感度高、应用广泛, 而且相对于  $C_{18}$  与 HLB 净化手段, 它能更有效地聚集目标物质, 从而提升了检测的准确性和精确度。通过实际样本的检测, 发现这种方法能够满足葡萄中高氯酸盐的检测要求, 并且可以应用在日常监测任务中, 为有效控制葡萄质量安全提供了更安全、可靠、简便的技术支持。

## 参考文献

- [1] 董淼鑫. 中国部分地区粮食中高氯酸盐的污染水平与人体暴露水平研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学, 2023.  
DONG MX. Study on the contaminations of perchlorate in grain and human exposure in some regions of China [D]. Harbin: Harbin Normal University, 2023.
- [2] 刘金鑫, 肖淑敏, 刘思达, 等. 我国水大气和土壤环境中高氯酸盐污染现状分析[J]. 天津城建大学学报, 2023, 29(6): 407-411.
- [3] LIU JX, XIAO SM, LIU SD, *et al.* Analysis of perchlorate pollution water, atmosphere and soil environments in China [J]. J Tianjin Chengjian Univ, 2023, 29(6): 407-411.
- [4] CHLOSSER PM. Revision of the affinity constant for perchlorate binding to the sodium iodide symporter based on *in vitro* and human *in vivo* data [J]. J Appl Toxicol, 2016, 36(12): 1531-1535.
- [5] LEOTERIO DM, PAIM AP, BELIAN MF, *et al.* Potentiometric perchlorate determination at nanomolar concentrations in vegetables [J]. Food Chem, 2017, 227: 166-172.
- [6] 闻自强, 郑雯静, 沈昊宇, 等. 高氯酸盐的危害, 水污染现状与去除技术研究进展[J]. 环境化学, 2019, (1): 1-7.  
WEN ZQ, ZHENG WJ, SHEN HY, *et al.* Research progress on the hazards, water pollution status and removal technique of perchlorate [J]. Environ Chem, 2019, (1): 1-7.
- [7] 文静, 张志军, 郭同军, 等. 乳及乳制品中高氯酸盐、氯酸盐的危害和原因分析[J]. 中国乳业, 2024, (3): 57-64.  
WEN J, ZHANG ZJ, GUO TJ, *et al.* Harm and cause analysis of perchlorate and chlorate in milk and dairy products [J]. Dairy Ind China, 2024, (3): 57-64.
- [8] 华永有, 李宇翔, 林宏琳, 等. 茶叶中高氯酸盐检测与污染情况分析[J]. 海峡预防医学杂志, 2018, 24(1): 4-12.  
HUA YY, LI YX, LIN HL, *et al.* Detection and analysis on contamination with perchlorate in tea [J]. Strait J Prev Med, 2018, 24(1): 4-12.
- [9] 余婷婷, 张莉, 万旭刚, 等. 液相色谱-串联质谱法测定饮用水中的卤氧化物[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(2): 651-656.  
YU TT, ZHANG L, WANG XG, *et al.* Determination of oxyhalides in drinking water by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(2): 651-656.
- [10] 邹森, 刘顺鑫, 冯静, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定蔬菜中氯酸盐和高氯酸盐[J]. 化学分析计量, 2024, (2): 62-66.  
ZOU M, LIU SX, FENG J, *et al.* Simultaneous determination of chlorate and perchlorate in vegetables by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chem Anal Metrol, 2024, (2): 62-66.
- [11] 搜狐网. 华经产业研究院重磅发布 2023 年中国葡萄行业深度研究报告 [EB/OL]. [2023-08-07]. <https://www.sohu.com/a/709646675120928700> [2024-04-02].  
Sohu net. China by heavy industry institute, issued the 2023 China grape industry depth study [EB/OL]. [2023-08.07]. <https://www.sohu.com/a/709646675120928700> [2024-04-02].
- [12] 陈秋宇, 梁江, 王小丹, 等. 我国重点和非重点地区居民膳食中高氯酸盐暴露风险概率评估[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(12): 1740-1748.  
CHEN QY, LIANG JG, WANG XD, *et al.* Risk probability assessment of dietary perchlorate exposure in residents of key and non-key areas in China [J]. Chin J Food Hyg, 2019, 35(12): 1740-1748.
- [13] CALDERON R, GODOY F, ESCDEY M, *et al.* A review of perchlorate ( $\text{ClO}_4^-$ ) occurrence in fruits and vegetables [J]. Environ Monitor Assess, 2017, 189: 82.
- [14] KETTLITZ B, KEMENDI G, THORGRIMSSON N, *et al.* Why chlorate occurs in potable water and processed foods: A critical assessment and challenges faced by the food industry [J]. Food Addit Contam Part A: Chem Anal Control Exp Risk Assess, 2016, 33(6): 968-982.
- [15] 黄雨榴, 李小倩, 方玲, 等. 改进离子色谱法测定水样中高氯酸盐、高氯酸盐和亚高氯酸盐[J]. 环境科学与技术, 2017, 40(5): 126-130.  
HUANG YL, LI XQ, FANG L, *et al.* Improvement of ion chromatography for the determination of high perchlorate, perchlorate and subperchlorate

- in water samples [J]. *Environ Sci Technol*, 2017, 40(5): 126–130.
- [15] 李骥超, 王小燕, 欧阳荔, 等. 离子色谱-电感耦合等离子体质谱联用测定中成药、水体及饮料中痕量  $\text{BrO}_3^-$  及  $\text{Br}^-$  [J]. *光谱学与光谱分析*, 2010, 30(11): 3136–3139.  
LI JC, WANG XY, OUYANG L, *et al.* Determination of trace  $\text{BrO}_3^-$  and  $\text{Br}^-$  in Chinese medicines, water and beverages by ion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Spectrosc Spectr Anal*, 2010, 30(11): 3136–3139.
- [16] 公丕学, 廉贞霞, 周禹君, 等. UPLC-MS/MS 测定特殊医学用途配方乳粉中氯酸盐和高氯酸盐 [J]. *中国乳品工业*, 2023, (3): 55–60.  
GONG PX, LIAN ZX, ZHOU YJ, *et al.* Determination of chlorate and perchlorate in formula milk powder for Special medical purposes by UPLC-MS/MS [J]. *China Dairy Ind*, 2023, (3): 55–60.
- [17] 孙文闪, 周敏, 刘志成, 等. 同位素稀释离子色谱-串联质谱法同时测定食品中的高氯酸盐和高氯酸盐 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(14): 3679–3685.  
SUN WS, ZHOU M, LIU XC, *et al.* Simultaneous determination of chlorate and perchlorate in food by isotope dilution ion chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(14): 3679–3685.
- [18] 贺巍巍, 杨杰, 王雨昕, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定食品中高氯酸盐 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2017, 29(4): 438–444.  
HE WW, YANG J, WANG YX, *et al.* Determination of perchlorate in food by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hyg*, 2017, 29(4): 438–444.
- [19] 陈东, 李倩, 刘平, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定饮料中高氯酸盐和氯酸盐 [J]. *卫生研究*, 2024, 53(1): 102–108.  
CEHN D, LI Q, LIU P, *et al.* Determination of perchlorate and chlorate in drinks by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Hyg Res*, 2024, 53(1): 102–108.
- [20] 叶凡凡. 多孔石墨化碳对极性化合物吸附和保留的研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2020.  
YE FF. Adsorption and retention of polar compounds by porous graphitized carbon [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2020.
- [21] 刘秀娟, 曹秀, 余明霞, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中利巴韦林 [J]. *食品与发酵科技*, 2022, (6): 127–131.  
LIU XJ, CAO X, YU MX, *et al.* Determination of ribavirin in food of animal origin by ultra-high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *Food Ferment Technol*, 2022, (6): 127–131.
- [22] 贺伟. 多孔石墨化碳柱在离子型化合物中的分析研究 [D]. 上海: 华东理工大学, 2013.  
HE W. Rerearch on the separation of ionic compounds using porous graphite carbon column [D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2013.
- [23] 朱凯, 利婕, 武潇逸, 等. 基于多孔石墨化碳柱-四极杆-飞行时间质谱解析甜菜果胶精细结构 [J]. *高等学校化学学报*, 2022, (6): 143–152.  
ZHU K, LI JIE, WU XY, *et al.* Analysis of the fine structure of sugar beet pectin based on porous graphitized carbon column- quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. *Chem J Chin Univ*, 2022, (6): 143–152.
- [24] 刘海燕. 硅胶基质高效液相色谱固定相的制备及其应用 [D]. 武汉: 武汉大学, 2017.  
LIU HY. Performance and applications of silica-based stationary phases for high preparation liquid chromatography [D]. Wuhan: Wuhan University, 2017.
- [25] 邵洁玲, 单守明, 马军, 等. ‘北玫’‘北全’葡萄果实中酚类物质比较 [J]. *中外葡萄与葡萄酒*, 2023, (6): 33–39.  
SHAO JL, SHAN SM, MA J, *et al.* Comparison of phenolic substances in ‘Beimei’ and ‘Beiquan’ grape fruits [J]. *Sino-Overs Grapev Wine*, 2023, (6): 33–39.
- [26] 张小刚, 徐志华, 孙洪峰. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定水果中高氯酸盐 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, (10): 4216–4220.  
ZHANG XG, XU ZH, SUN HF. QuEChERS-ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of fruit high chlorate [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, (10): 4216–4220.
- [27] 叶明立, 赵国花, 王勇, 等. 离子交换色谱-串联质谱法快速测定茶叶中氯酸盐和高氯酸盐 [J/OL]. *色谱*: 1–6. [2024-07-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1185.O6.20240527.1045.002.html>  
YE ML, ZHAO GH, WANG Y, *et al.* Ion exchange chromatography-tandem mass spectrometry method for rapid determination of perchlorate in tea and perchlorate [J/OL]. *Chin J Chromatogr*: 1–6. [2024-07-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1185.O6.20240527.1045.002.html>
- [28] 李雪瑶, 孔志强, 赵浩然, 等. 赤霞珠葡萄感染霜霉病后的果实品质和挥发性成分变化研究 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, (15): 5035–5043.  
LI XY, KONG ZQ, ZHAO HR, *et al.* Changes in fruit quality and volatile components of cabernet sauvignon after downy mildew infection [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, (15): 5035–5043.
- [29] 李冬桂, 吕丽兰, 陆覃昱, 等. 三种固相萃取柱在农产品高氯酸盐检测中应用比较 [J]. *农业研究与应用*, 2022, 35(6): 44–52.  
LI DG, LV LL, LU XY, *et al.* Comparison of three kinds of solid phase extraction columns in perchlorate determination in agriculture products [J]. *Agric Res Appl*, 2022, 35(6): 44–52.
- [30] 刘欣, 岳艳丽, 黄海涛, 等. 固相萃取净化-离子色谱法测定不同生长期新鲜烟叶中的 7 种无机阴离子 [J]. *中国无机分析化学*, 2023, (2): 183–189.  
LIU X, YUE YL, HUANG HT, *et al.* Determination of 7 inorganic anions in different growth stages of fresh tobacco leaves by solid phase extraction purification and ion chromatography [J]. *J Inorg Anal Chem*, 2023, (2): 183–189.
- [31] 武传香, 魏莉莉, 薛霞, 等. 固相萃取-高效液相色谱法检测食品中酸性大红 GR [J]. *中国食品添加剂*, 2024, (3): 246–253.  
WU CX, WEI LL, XUE X, *et al.* Determination of acid scarlet GR in food by solid phase extraction with high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Food Addit*, 2024, (3): 246–253.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)

## 作者简介



宋文龙, 主要研究方向为农产品药物残留及污染物检测分析。

E-mail: 530600981@qq.com



李一晗, 硕士, 主要研究方向为葡萄与葡萄酒学。

E-mail: liyihan@nwafu.edu.cn