



磁珠固相萃取在食品检测中的应用

刘俊会

吉林省产品质量监督检验院

磁性分离SPE技术优势

- ❧ 磁性固相萃取（MSPE）是一种分散固相萃取技术
- ❧ MSPE具有浓缩富集、净化、提取分离的功能，可广泛应用于食品检验
- ❧ 技术优势：减少有机溶剂的使用，简化样品前处理操作步骤，节省前处理时间，容易实现自动化

食品检验前处理方法

- ❧ 食品中**农药残留、兽药残留、添加剂、污染物、毒素、营养物质**等项目检验大部分都需要进行净化、浓缩富集、分离等操作步骤
- ❧ **净化**方法：SPE、GPC、QuEChERS、分散固相萃取、液液萃取、固液萃取、二维液相
- ❧ **富集**方法：旋转蒸发、氮吹、水浴蒸发
- ❧ **分离提取**方法：震荡、离心、沉淀、过滤；液液萃取、固液萃取；脱脂、除蛋白、脱水。
- ❧ **自动化**仪器：SPE、GPC、QuEChERS、浓缩仪、氮吹仪、稀释、加样、移液、多功能自动前处理平台

MSPE在食品检验中的应用

- ❧ **替代**：QuEChERS、分散固相萃取净化方法
- ❧ **参照**：SPE柱、免疫亲和柱净化方法
- ❧ **改进**：GPC、液液萃取、固液萃取、二维液相净化方法
- ❧ **富集浓缩的自动化**：分散固相萃取富集VS旋转蒸发、氮吹、水浴蒸发
- ❧ **分离提取的自动化**：自动化磁分离VS离心、沉淀、过滤、液液萃取、固液萃取、脱脂、除蛋白、脱水

食品检验项目

- ❧ 农药残留：禁用（不得检出，0.1ppb）、允许使用（标准限量，10ppb）
- ❧ 兽药残留：禁用（不得检出，0.1ppb）、允许使用（标准限量，10ppb）
- ❧ 食品添加剂：防腐剂、甜味剂、色素等（标准限量，1-100ppm）
- ❧ 重金属：铅、砷、汞、镉（0.1ppm）
- ❧ 环境污染物：多氯联苯、二噁英、苯并芘（1ppb）
- ❧ 毒素：真菌毒素、动植物毒素、生物毒素（10ppb）
- ❧ 加工贮藏迁移物质：全氟辛酸、塑化剂（10ppb）
- ❧ 营养物质：维生素、脂肪酸、氨基酸、皂甙
- ❧ 加工产生：亚硝胺、氯丙醇、溴酸盐、丙烯酰胺（10ppb）
- ❧ 微生物：致病菌、诺如病毒
- ❧ 其它：非法添加物、矿物油、染料、罂粟壳、增白剂、香精、甾醇、甲醛、亚硝酸盐

食品检验实验室特点

- ❧ 实验室通过**认证认可**；严格按照**标准**执行（强制）；政府**指令性检验**任务为主；结果再现性、可比性要求高；**政府实验室**，财政经费支持。
- ❧ 中等规模实验室：检验业务3万批次，人员50人，试剂耗材300万（进口量大），仪器5000万（进口为主） LC（10）、GC（10）、IC（2）、GC-MS（3）、LC-MSMS（6）、ICPMS（2）、GC-MSMS（2）、ICPOES、GPC
- ❧ **前处理工作量大**（2/3）、操作繁琐、自动化程度低、对检验结果影响大、污染问题。
- ❧ 样品**基质复杂、检验项目多，涉及标准多**。

食品检验方法标准-农药残留

∞ GB 23200.24-2016 食品安全国家标准
粮谷和大豆中11种除草剂残留量的测定
气相色谱-质谱法

目标物：乙草胺、氟酰胺、二甲戊灵等

前处理：氧化铝、弗罗里硅土SPE柱净化，氮吹浓缩

∞ NY/T 1379-2007 蔬菜中334-种农药多
残留的测定气相色谱质谱法和液相色谱
质谱法

目标物：有机磷、有机氯、杀菌剂、除草剂等

前处理：石墨炭黑、丙氨基SPE柱净化，氮吹浓缩

食品检验方法标准-农药残留

☞ GB 23200.33-2016 食品安全国家标准 食品中解草啉、莎稗磷、二丙烯草胺等110种农药残留量的测定 气相色谱-质谱法

目标物：有机磷、有机氯、杀菌剂、除草剂、菊酯、氨基甲酸酯类

前处理：Envi-Carb（SUPELCO, 默克）、硅胶SPE柱，GPC净化，氮吹浓缩

☞ GB 23200.54-2016 食品安全国家标准 食品中甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂残留量的测定 气相色谱-质谱法

目标物：嘧菌酯、醚菌酯、啞菌胺等杀菌剂，产品：水果、粮食、肉、牛奶等

前处理：GPC净化，氮吹浓缩

食品检验方法标准-农药残留

☞ GB 23200.15-2016 食品安全国家标准 食用菌中503种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法

目标物：有机磷、有机氯、杀菌剂、除草剂、菊酯、氨基甲酸酯类

前处理：Sep-Pak Carbon NH₂ SPE柱（WATERS）净化，
旋转蒸发浓缩

☞ GB 23200.9-2016 食品安全国家标准 粮谷中475种农药及相关化学品残留量测定 气相色谱-质谱法

目标物：有机磷、有机氯、杀菌剂、除草剂、菊酯、氨基甲酸酯类

前处理：Sep-Pak NH₂（WATERS）、Envi-Carb（SUPELCO）SPE柱净化，旋转蒸发浓缩

食品检验方法标准-农药残留

❧ GB/T 23204-2008 茶叶中519种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法

目标物：有机磷、有机氯、杀菌剂、除草剂、菊酯、氨基甲酸酯类

前处理：Sep-Pak Carbon NH₂ SPE柱 (WATERS) 净化，旋转蒸发浓缩

❧ GB 23200.9-2016 食品安全国家标准 粮谷中475种农药及相关化学品残留量测定 气相色谱-质谱法

目标物：有机磷、有机氯、杀菌剂、除草剂、菊酯、氨基甲酸酯类

前处理：Cleanert TPT SPE柱 (AGELA) 净化，旋转蒸发浓缩

食品检验方法标准-农药残留

☞ GB 23200.13-2016 食品安全国家标准 茶叶中448种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-质谱法

目标物：有机磷、有机氯、杀菌剂、除草剂、菊酯、氨基甲酸酯类

前处理：Cleanert TPT (AGELASPE) SPE柱
净化，旋转蒸发浓缩

☞ GB/T 20700-2008 粮谷中486种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

目标物：有机磷、有机氯、杀菌剂、除草剂、菊酯、氨基甲酸酯类

前处理：GPC净化，旋转蒸发浓缩

食品检验方法标准-农药残留

∞ GB/T 20769-2008 水果和蔬菜中450种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

目标物：有机磷、有机氯、杀菌剂、除草剂、菊酯、氨基甲酸酯类

前处理：Sep-Pak Vac SPE柱（SUPELCO, 默克）净化，旋转蒸发浓缩

∞ NY/T 1380-2007 蔬菜、水果中51种农药多残留的测定 气相色谱-质谱法

目标物：有机氯、杀菌剂、菊酯

前处理：分散固相萃取（QuEChERS）净化，涡旋、离心

食品检验方法标准-兽药残留

∞ GB 31660.1-2019 食品安全国家标准
水产品中大环内酯类药物残留量的测定
液相色谱-串联质谱法

目标物：阿奇霉素、红霉素等

前处理：氧化铝SPE柱净化，旋转蒸发浓缩

∞ GB31660.5-2019 《动物性食品中金刚
烷胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱
法

目标物：金刚烷胺

前处理：PSA SPE柱净化，氮吹浓缩

食品检验方法标准-兽药残留

❧ GB 31660.2-2019 食品安全国家标准 水产品中辛基酚、壬基酚、双酚A、己烯雌酚、雌酮、17 α -乙炔雌二醇、17 β -雌二醇、雌三醇残留量的测定 气相色谱-质谱法

❧ 目标物：雌激素

前处理：HLB SPE柱或GPC净化，旋转蒸发或氮吹浓缩

❧ GB 31660.4-2019 食品安全国家标准 动物性食品中醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

❧ 目标物：激素

前处理：混合阳离子SPE柱净化，涡旋、离心脱脂

食品检验方法标准-兽药残留

❧ GB 31660.6-2019 食品安全国家标准 动物性食品中5种 α 2-受体激动剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

目标物：替扎尼定、赛拉嗪、溴莫尼定、安普乐定和可乐定

前处理：MCX SPE柱净化，旋转蒸发浓缩

❧ GB 31660.8-2019 食品安全国家标准 牛可食性组织及牛奶中氮氨菲啶残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

❧ 目标物：长效抗锥虫药

前处理：液液萃取净化，涡旋、离心，旋转蒸发浓缩

食品检验方法标准-兽药残留

∞ GB/T 22286-2008 动物源性食品中多种 β -受体激动剂残留量的测定 液相色谱串联质谱法

∞ 目标物：瘦肉精

前处理：阳离子交换SPE柱净化，震荡离心沉淀除蛋白、液液萃取、氮吹浓缩

∞ GB/T 21316-2007 动物源性食品中磺胺类药物残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

∞ 目标物：磺胺脒等23种

前处理：液液萃取净化，涡旋、离心，氮吹浓缩

食品检验方法标准-亚硝酸胺

∞ GB 5009.26-2016 食品安全国家标准
食品中N-亚硝酸胺类化合物的测定

目标物： N-二甲基亚硝酸胺

前处理： 水蒸馏提取，液液萃取净化，旋转蒸发浓缩

食品检验方法标准-食品添加剂

❧ GB 5009.32-2016 食品安全国家标准 食品中9种抗氧化剂的测定

目标物： 没食子酸酯类等

前处理： C18 SPE柱净化，涡旋、离心、旋转蒸发浓缩

❧ GB 5009.97-2016 食品安全国家标准 食品中环己基氨基磺酸钠的测定

目标物： 甜蜜素

前处理： 液液萃取净化脱脂

食品检验方法标准-食品添加剂

❧ GB5009. 141 — 2016食品安全国家标准食品中诱惑红的测定

目标物： 色素

前处理： 固液萃取脱脂、钨酸钠沉淀除蛋白、聚酰胺粉吸附解吸净化、水浴蒸发浓缩

❧ GB 5009. 35-2016 食品安全国家标准 食品中合成着色剂的测定

目标物： 赤藓红、柠檬黄等7种。方法：液相色谱法

液-液分配法前处理：样品溶液放入分液漏斗中，加2mL盐酸、三正辛胺-正丁醇溶液10mL~20mL，**振摇提取**，分取有机相；**重复提取**，直至有机相无色，合并有机相，用饱和硫酸钠溶液**洗涤**2次，每次10mL，分取有机相，放蒸发皿中，**水浴加热浓缩**至10mL，转移至分液漏斗中，加10mL正己烷，混匀，加氨水溶液**提取**2次~3次，每次5mL，合并氨水溶液层，用正己烷洗2次，氨水层加乙酸调成中性，**水浴加热蒸发**至近干，加水定容至5mL。

食品检验方法标准-维生素

GB5009.82—2016食品安全国家标准食品中维生素A、D、E的测定（液相色谱法）

皂化：称取2g试样于50mL具塞离心管中，加入10mL水，恒温振荡器30min，取出放入冷水浴降温，加入0.4g抗坏血酸、12mL乙醇，涡旋30s，再加入6mL氢氧化钾溶液，涡旋30s后放入恒温振荡器中混匀后于80℃恒温水浴振荡皂化30min，皂化后立即用冷水冷却至室温。

提取：将皂化液用30mL水转入250mL的分液漏斗中，加入50mL石油醚-乙醚混合液，振荡萃取5min，将下层溶液转移至另一250mL的分液漏斗中，加入50mL的混合醚液再次萃取，合并醚层。

洗涤：用约100mL水洗涤醚层，约需重复3次，直至将醚层洗至中性。

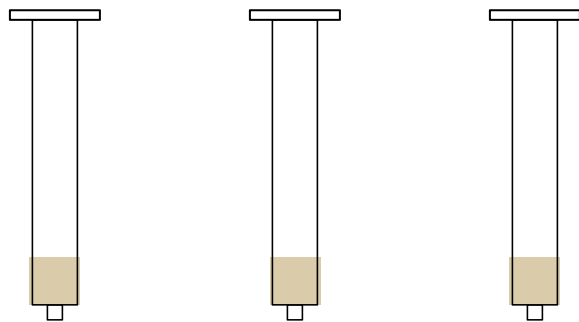
浓缩：将洗涤后的醚层经无水硫酸钠滤入250mL旋转蒸发瓶，用约15mL石油醚冲洗分液漏斗及无水硫酸钠2次，并入蒸发瓶内，并将其接在旋转蒸发器，于40℃水浴中浓缩，待瓶中醚剩下约2mL时，取下蒸发瓶，氮吹至干。用正己烷定容至2mL。

制备液相净化：将500μL待测液注入半制备液相色谱仪中净化，根据维生素D标准溶液保留时间收集维生素D馏分于试管中。将试管置于40℃水浴氮气吹干，取出准确加入1.0mL甲醇，残渣振荡溶解。

食品中黄曲霉毒素检测方法标准

- ❧ 国家标准：《食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素B族和G族的测定》（GB 5009.22）、《食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素M族的测定》（GB5009.24）
- ❧ 检测方法：液相色谱-荧光、液相色谱质谱
- ❧ 前处理：免疫亲和柱净化
- ❧ 存在问题：前处理时间长、自动化程度低、免疫亲和柱价格昂贵

AFT免疫亲和柱方法过程和时间



进样体积：**4ml**大米提取液稀释至**50ml**
AFTB1含量：**5ng**
萃取柱规格：**3ml**，**AFTB1**容量**250ng**；
回收率**85%**
洗脱液：**2ml**甲醇
进样分析体积：**5ul**

上样：体积50ml，时间30min

淋洗：5ml，15min

洗脱：2ml，2min

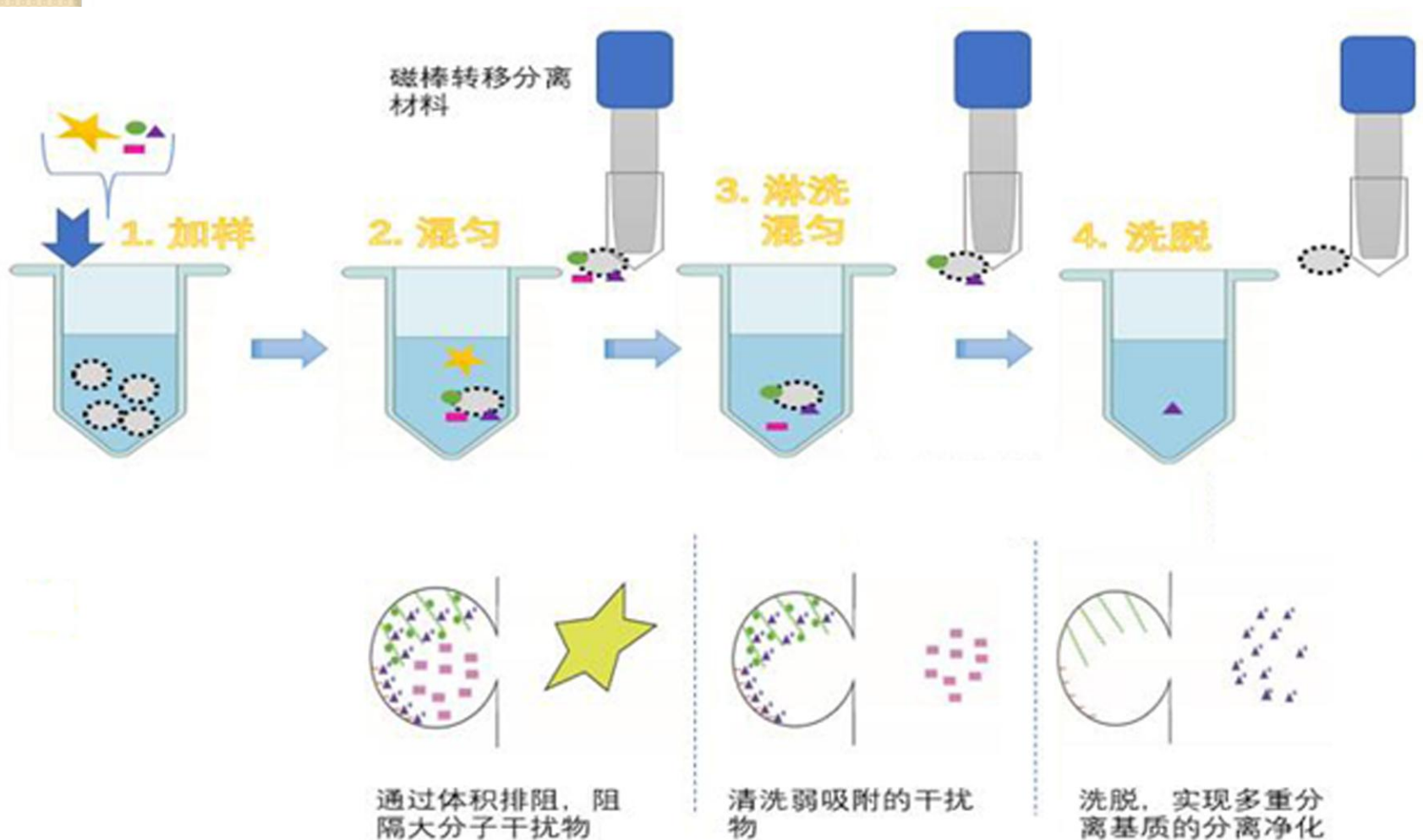
氮气吹干：20min

复溶：3min

过滤：2min

总计：**70-80min**

AFT磁性固相萃取过程



AFT磁性固相萃取时间

进样体积：**100ul**大米提取液稀释至**800ul**

AFTB1含量：**1ng**

免疫磁珠用量：**10mg**

洗脱液：**200ul**甲醇

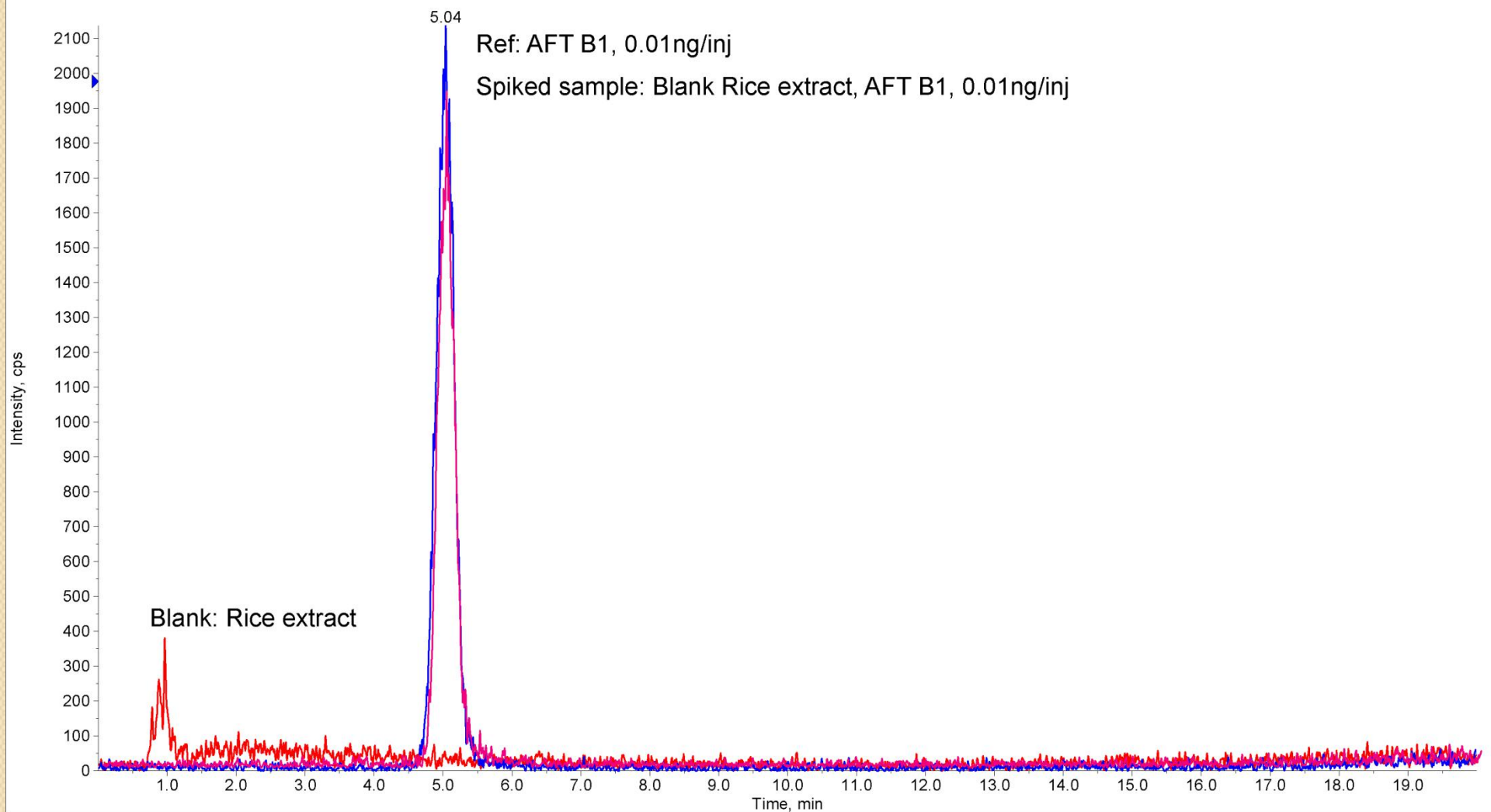
进样分析体积：**5ul**

序号	工序	时间 s	累积 s
1	活化	60	60
2	萃取	300	360
3	淋洗	60	420
4	洗脱	120	540
5	脱磁	30	570 (10min)

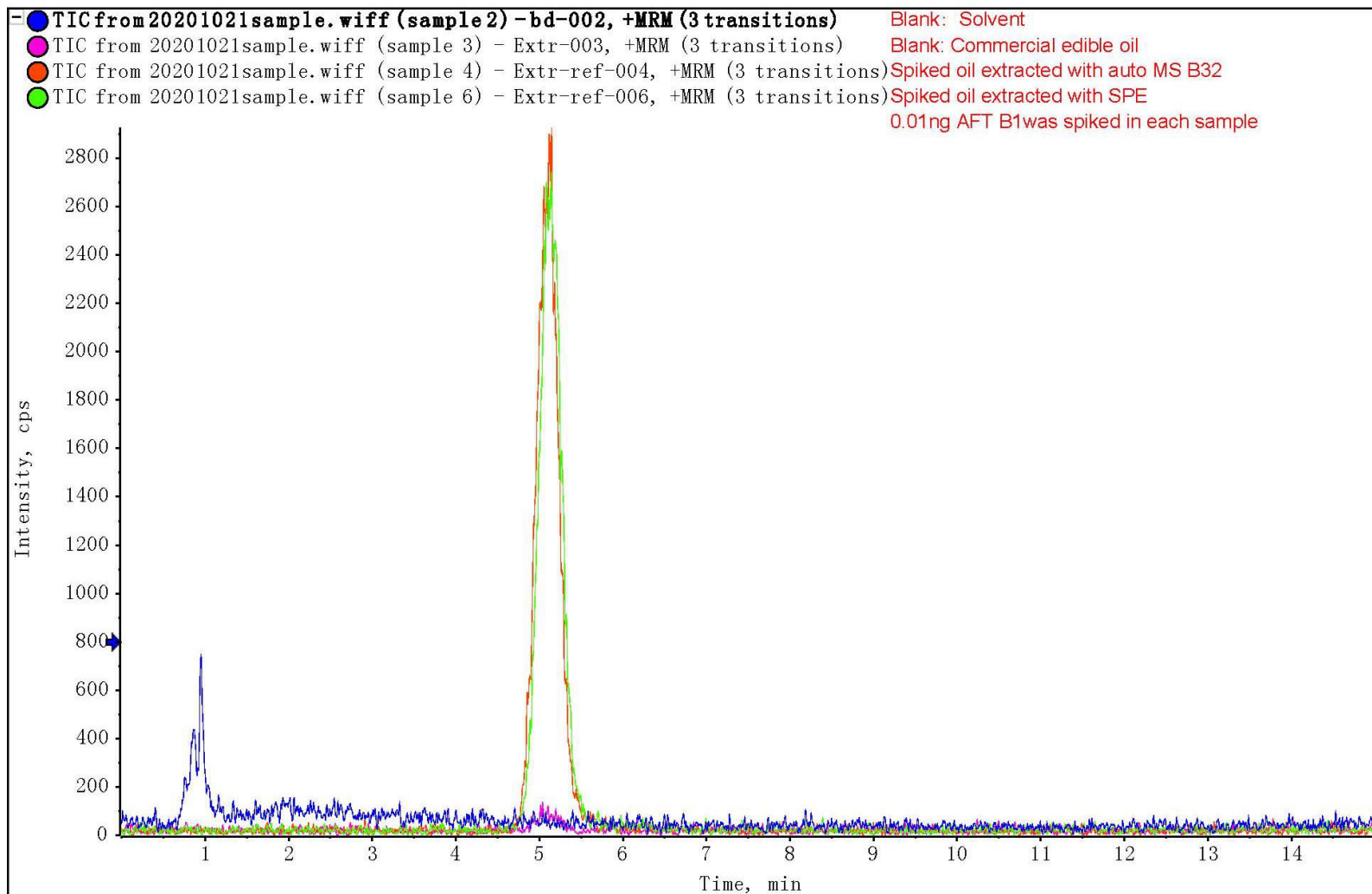
大米中添加AFT B1 LC-MSMS谱图

XIC of +MRM (3 pairs): 313.040/285.100 Da ID: B1 1 from Sample 2 (Ref-002) of 20201017sample.wiff (Turbo Spray),

Max. 2136.1 cps



食用油中添加AFT B1 LC-MSMS谱图



大米中添加AFT B1回收率

	Recovery %				
	1	2	3	Average	SD
MSPE	111.9	103.2	104.2	106.4	4.7
SPE	87.1	82.6	84.3	84.70	2.3

食用油中添加AFT B1回收率

	Recovery %				
	1	2	3	Average	SD
MSPE	82.3	84.7	81.2	82.7	1.9
SPE	83.9	85.6	80.3	83.3	2.1

MSPE与免疫亲和柱方法比较

- ❧ 提取方法和测定方法：一样
- ❧ 回收率、精密度、检出限：符合标准要求
- ❧ 净化效果：相同
- ❧ 时间：MSPE 10min，免疫亲和柱70min
- ❧ 洗脱溶剂量：MSPE 0.2mL，免疫亲和柱2mL
- ❧ 操作步骤：MSPE自动化程度高，操作简便，时间短；免疫亲和柱需要氮吹等步骤，自动化程度低，操作复杂，时间长

总结

- ❧ MSPE方法技术上满足食品中农药残留、兽药残留、污染物等项目检验方法，前处理过程中富集、净化、提取分离等操作的要求
- ❧ MSPE特点：操作步骤简单，时间短，容易实现自动化
- ❧ MSPE方法在食品检验中技术优势显著，具有广泛应用前景
- ❧ 需要解决的问题
参照食品检验方法标准，进行应用方法研究和比对试验，将MSPE方法标准化



谢 ！

谢