

基于“高效薄层色谱法+”的食品分析技术： 应用与展望

席兴军¹, 陈益胜^{2*}, 郑 丹², 侯华铭², 黄彩虹³

(1. 中国标准化研究院农业食品标准化研究所, 北京 100191; 2. 山西农业大学食品科学与工程学院, 太原 030801;
3. 江南大学食品学院, 无锡 214122)

摘 要: 基于“高效薄层色谱法+”分析策略的检测方法已经成为分析化学领域一个新的热点。与传统柱色谱的闭环工作原理不同, 高效薄层色谱法(high performance thin layer chromatography, HPTLC)是一个去中心化、开放的分析系统, 分离结束后, 分离结果停留在色谱板上而非废液瓶中。这一独特的优势使得 HPTLC 的分离结果可以方便地与很多无法与传统柱色谱系统兼容的检测手段实现无障碍融合, 因此 HPTLC 不仅是一种高效的色谱工具, 还可以作为多种离线检测方法高效集成融合的分析平台, 在分析通量、简便性、精密度和适用范围等方面达到了理想的平衡, 随着分析应用多样化的需求不断上升, 多种检测技术手段融合的重要性日益凸显。因此 HPTLC+有望成为新一代多功能一体化食品分析方法体系的基础。本研究综述了近期以 HPTLC 为平台的多种综合联用检测工具在食品分析领域的应用, 并对其前景进行了展望。随着多个与联用检测相关的关键技术和设备的突破性进展, HPTLC 实现了与几乎全部光谱、质谱和生物传感检测技术的联用全覆盖, 因此具有极佳的发展前景。

关键词: 高效薄层色谱法; 光密度; 质谱; 表面增强拉曼光谱; 生物传感器; 图像分析

Application and prospect of food analysis technology based on “high performance thin layer chromatography +”

XI Xing-Jun¹, CHEN Yi-Sheng^{2*}, ZHENG Dan², HOU Huaming², HUANG Cai-Hong³

(1. Institute of Agricultural Food Standardization, China National Institute of Standardization, Beijing 100191, China;
2. College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030801, China; 3. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

ABSTRACT: Analytical methods based on “high performance thin layer chromatography +” strategy has become a new hot spot in the field of analytical chemistry. Completely different from the closed loop working principle of traditional column chromatography, HPTLC is a decentralized and open analysis system, after the separation, all substances of the mixture stay on the chromatographic plate instead of the waste bottle. This featuring advantage enables HPTLC separation results to be easily linked to many detection methods that are not compatible to traditional

基金项目: 国家自然科学基金项目(21804058)、山西省回国留学人员科研资助项目(2021-068)、山西农业大学高层次人才专项(2021XG013)、山西农业大学博士科研启动项目(2021BQ91)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (21804058), the Shanxi Scholarship Council of China (2021-068), the Shanxi Agricultural University High-Level Talent Project (2021XG013), and the Shanxi Agricultural University Ph.D Research Startup Project (2021BQ91)

***通信作者:** 陈益胜, 博士, 教授, 主要研究方向为食品质量与安全防腐保鲜技术。E-mail: yschen@yeah.net

***Corresponding author:** CHEN Yi-Sheng, Ph.D, Professor, College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030801, China. E-mail: chenisheng@sxau.edu.cn

column chromatography systems. Therefore, HPTLC is not only a efficient chromatography tool, but also can be used as a multi-functionalized platform, striking an ideal balance between throughput, simplicity and flexibility. This reviewed article focused on the hyphenation of HPTLC with a large array of detectors, which might be promising tools for food analytical chemistry. With the growing demands of food analysis, the importance of the merge of multi-detector was rapidly increasing. Therefore, HPTLC-plus displayed great potential as the basis for the new generation of all-in-one food analytical methodology.

KEY WORDS: high performance thin layer chromatography; densitometry; mass spectrometry; surface enhanced Raman spectroscopy; biosensor; graphic analysis

0 引言

高效薄层色谱(high performance thin layer chromatography, HPTLC)基于传统薄层色谱(thin layer chromatography, TLC)发展而来。HPTLC 以自动化和仪器化设备为载体,使用标准化的预制板作为固定相,在继承传统薄层色谱分析方法固有优点的同时,也突破了精密度和重现性差等瓶颈的限制。以 HPTLC 为平台的检测工具,具有出色的分离分析通量、兼容性和灵活性,使得其在食品分析领域有了广泛的应用。

与传统 TLC 相对比, HPTLC 的优势主要体现在以下 3 个方面:

(1)运行仪器化。目前, HPTLC 已具备一整套完整的仪器化操作平台,在点样、展开、浸渍衍生和扫描定量过程中均实现了半自动甚至全自动化,显著扩展了应用范围。其中,半自动薄层点样仪在高压氮气流的支持下,点样针内的液体样品以微液流形式被吹扫至色谱板上。通过非接触吹扫法进行条带状点样,可以显著提高分离后相邻斑点的分辨率^[1]。

(2)色谱固定相标准化。传统 TLC 使用的薄层板通常为手工制板,导致结果重现性和精密度较差。目前,高效能的商业化预制板已经普及。不仅如此,随着固定性材料合成技术的不断创新,相继解决了薄层板厚度不均、易碎和易崩裂等问题,使得薄层板在实用性和坚固性方面得到了很大的提升,为 HPTLC 分析方法提供了更加可靠的分析载体。

(3)色谱固定相材料种类多元化。作为常用的色谱分析工具,高效液相色谱仪(high performance liquid chromatography, HPLC)和气相色谱仪(gas chromatography, GC)的色谱柱具有种类多样化的固定相,如 NH_2 -硅胶、 C_2 -硅胶、 C_{18} -硅胶等、改性纤维素、氧化铝、金属有机框架材料和树脂等。因此,分析中可以根据筛检目标分子的结构和理化特性灵活选取合适的固定相,显著拓展 HPTLC 分析方法的应用范围^[2-3]。

食品检测的样本量对结果的统计学意义十分重要。建

立在大量样本基础上的分析结果的权威性和真实性更加可信。若直接用液相色谱-质谱仪,等高端仪器直接对大量样品进行分析,不但效费比低,而且难以满足现实需要。如图 1 所示, HPTLC 不但是一种通量大、操作简便和灵活性高的色谱工具,而且是多种离线检测方法高效集成融合的综合分析平台,因此兼备了高效分离与灵活联用的最佳平衡。HPTLC 作为分离-检测一体化平台将多维检测手段高效集成融合,特别是对很多无法与常规柱色谱联用的离线分析方法表现出无障碍的兼容性,尤其适用食品分析样品基质复杂、目标化合物结构差异大等情况^[4]。常见的与 HPTLC 连用的检测手段主要有 5 种: 光密度、质谱、生物传感、表面增强拉曼和图像分析。这种联用检测策略迥异于常规的柱色谱分析,极大地提升了检测的灵活性和实用范围。

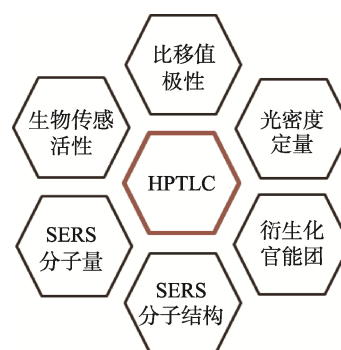


图 1 基于 HPTLC+食品分析技术

Fig.1 Food analysis technology based on HPTLC plus strategy

1 HPTLC+光密度法

目测直读分离结果是 HPTLC 技术的传统优势,可以得到直观、简洁的定性和半定量结果。分子中电负性较强的官能团会对荧光产生猝灭效应,为了使目标条带可视化,可以选择具有荧光背景的 F_{254} 薄层板作为固定相进行分析,目标条带会在薄层板上形成黑斑,方便目测检视,但是仅通过肉眼检视,无法获得准确定量和光谱表征等分析数据。使用光密度扫描可以有效解决这一问题,在微量残留分析中具有很好的实用性。光密度扫描仪可以选用

190~800 nm 范围内任意波长作为入射光,根据工作原理将检测模式分为两类:吸光模式和荧光模式^[5-9]。对色谱后衍生反应的强大兼容性是 HPTLC 所独有的优点。对于分子结构中无生色团的目标物,可以利用 HPTLC 的开放特性进行色谱柱后衍生化反应,实现分离结果的可视化^[10-14]。目前已有大量研究报道显示,光密度扫描在精密度、准确性和灵敏度方面达到或者超过传统液相色谱的性能。CHEN 等^[15]研究建立了 HPTLC-光密度法检测米粉中营养强化剂核黄素的方法,以传统的高效液相色谱分析为基准,该方法在简单性、检测性、效率和可靠性之间达到了良好的平衡。CHEN 等^[16]建立的高效薄层色谱法-荧光检测器方法对小麦和米粉样品中的荧光增白剂进行定量检测,结果显示线性良好,检出限(limit of detection, LOD)显著低于欧盟标准规定的残留限量(0.6 mg/kg)。WANG 等^[17]通过高效薄层色谱法-荧光检测,技术成功筛选出奶酪中的酪胺。与液相色谱-质谱联用方法相比,该方法的制备、分离、定性、定量等步骤更简便、高效,成功确立了一种基于高效薄层色谱-荧光密度计和表面增强拉曼光谱法相结合的简便、特异的食品中叶酸定量测定方法。CHEN 等^[6]通过将 HPTLC 分离得到的色谱板碘染色,再联用光密度扫描仪对食品中的 3 种乳化剂进行检测,通过 Kubelka-Munk 模型实验验证了该方法的定量预测能力,表明该方法可用于缺乏发色团的脂质定量,为快速同时定量缺乏光谱特征的饱和油脂分子提供了一种有价值的解决方案。由此可见,HPTLC+光密度法为食品分析提供了一种快速高效的定量工具。

2 HPTLC+质谱法

MS 是通过将原子或分子离子化并按质量电荷比(质荷比)的大小将其分离并测量的一种分析方法,MS 同时具备高特异性和高灵敏度,是已得到了广泛应用的普适性方法。其检测信号包含丰富的分子结构信息,在有机分子的鉴定方面发挥非常重要的作用。因此,与 MS 直接联用可以很好地弥补 HPTLC 在定性能力方面的不足,满足食品分析对灵敏度和可靠性方面的苛刻要求。长期以来,无法与质谱仪直接连接是制约 HPTLC 在有机分子鉴定领域发展进步的瓶颈。针对这一问题,研究人员发明了基于柱头液流洗脱技术的质谱接口装置,实现了对 HPTLC 分离结果进行质谱鉴定“所见即所得”的取样方式^[4,18-19]。简言之,HPTLC 对样品的分离可以近似地看作一种“平面固相萃取”,可以有效地排除食品中复杂基质的干扰作用,降低其对 MS 分析结果的影响,保证检测方法的准确性和可靠性。例如,WANG 等^[20]使用 HPTLC 与 MS 联用方法快速测定了食用油中人为添加的 2 种主要酚类抗氧化剂,通过 TLC-MS 接口方便地实现了对阳性结果的分子层面鉴别和确认,达到了目标的准确定量和可靠定性的目的;CHEN

等^[2]通过 HPTLC 与 MS 联用方法快速筛选了牛奶中 7 种抗生素,同样是使用基于 TLC-MS 接口洗脱头,解决了牛奶基质对定性结果的干扰;RANI 等^[21]以 HPTLC 为分离检测平台进行定量分析,联用 MS 快速定性筛选牛奶中三聚氰胺掺假,实现了对可疑样品的快速确证。由此可见,HPTLC+MS 的分析手段可以成为复杂样品中目标分子确证的有力工具。

3 HPTLC+生物传感器

基质物质引起的噪音信号和干扰是传统的生物传感器在食品分析领域应用的瓶颈问题之一。HPTLC 的优势是基质耐受性强,可以有效排除生物传感过程中复杂基质的干扰作用。与 HPTLC 联用的生物传感器按照其结构分为分子生物传感器和全细胞生物传感器^[22-27]。酶分子是 HPTLC+体系中最常用的生物传感器,其原理是底物可以被酶分子催化而改变其光谱特征,利用被检测化合物对酶分子活性的抑制,通过目标物斑点和背景之间的颜色差异而实现检测结果的显影。因为酶分子催化具有特异性,故检测方法特异性强,具有很好的抗干扰能力。此外,全细胞生物传感器因具有更好的应用范围而备受关注。例如来自海洋的 *Vibrio fischeri* 细菌细胞,传感检测具有非靶向性,其传感原理不是对特定化学结构的识别,而是基于发光抑制程度表征目标物毒性高低^[28-33]。因此,该方法可呈现直观明了的视觉效果,通过初步筛选有效排除大多数合格样品,从而显著降低后续确证分析的工作量。

HPTLC 与基于全细胞或酶分子的生物传感器联用技术为生物活性化合物高效筛选的方法学发展开拓了新的空间,目前已广泛应用于食品分析领域。相较于传统试管法,基于 HPTLC 的色谱分离技术可以从根本上解决检测过程中背景干扰性强及选择性差的问题,具有显著的基质耐受优势。CHEN 等^[34]建立了一种 HPTLC 平台与发光生物传感器联用系统,用于筛选食品中克菌丹残留,以苹果、梨、李子、杏、樱桃和桃子[(回收率 75%~96%,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)<11.8%)]验证了所建方法的有效性和普遍适用性。GALARCE-BUSTOS 等^[30]将 HPTLC 的分离结果与 α -葡萄糖苷酶催化的显色反应相结合,实现了樱桃皮中淀粉酶阻断生物活性因子的非靶向快速筛选。AKKAD 等^[35]将多种酶分子与 HPTLC 分离相结合,建立了果汁中有机磷和有机氯杀虫剂的快速检测方法。在此基础上,AKKAD 等^[36]进一步使用氧化的手段提升色谱分离后停留在 HPTLC 板上杀虫剂的酶活性抑制能力,建立了灵敏度更高的杀虫剂筛选方法。由此可见,HPTLC+生物传感的联用检测技术为食品分析中的基质耐受问题提供可靠的解决方案。

4 HPTLC+表面增强拉曼光谱

拉曼光谱是一种分子光谱,可以反映分子结构振动-转动信息。固体样品通常可直接用于拉曼测定,具有无需制样、操作简便、抗干扰能力强等优势^[37-39]。不过大部分化合物的拉曼散射信号强度较弱,比入射光强低 6~9 个数量级,实用价值不高。1974 年英国科学家 Fleischmann 发现并提出表面增强拉曼光谱(surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)效应。SERS 属于分子振动光谱,继承了传统拉曼光谱结构信息丰富的优点。较之常规的光谱检测手段,SERS 在以下两个重要方面的优势显著:

首先,SERS 检测灵敏度高。目前,SERS 效应的理论解释分为电磁增强机理和化学增强机理。电磁场增强机理属于物理增强机制,与金属表面局域电磁场性质相关;化学增强机理属于化学增强机制,与分子和金属作用后的极化率变化相关^[40-42]。无论哪一种解释,SERS 检测的基础都是纳米尺度的金属颗粒结构对目标物的吸附和电磁相互作用。这些被称为活性基底的金属颗粒结构与目标物通过吸附作用引起后者的等离子共振或电荷位移,造成拉曼散射信号强度显著上升。尤其,当纳米金属颗粒的空间构型和距离符合“热点”形成的条件,目标物的拉曼散射信号会被进一步增强,增幅可达 10~15 个数量级,甚至实现对单个分子的探测^[43]。

其次,图谱结构信息丰富。SERS 图谱的信号峰位置和排布特点与目标分子结构高度相关,与人体指纹的独特性相类似。不仅如此,SERS 信号峰丰富且形状尖锐,因此指纹信息容量空间潜力大。SERS 图谱这种“结构-指纹”严格对应的特点使其可以方便地对目标化合物的分子结构进行推导和解析^[37,44-47]。因此,SERS 可以为色谱分离结果提供极其可靠的分子识别信息。

以 HPTLC 为平台可以显著提高 SERS 检测的选择性。SERS 信号强度主要依赖分子与活性基底表面吸附作用^[48]。因此,对活性基底具有较强亲和力的食品基质物质会对共存的目标分子的微弱信号产生强烈的屏蔽效应。HPTLC 分离实现了混合物中目标化合物核黄素和谷物样品中干扰基质的物理分离,因此后者噪音信号对前者检测的屏蔽效应可以被排除。由此可见,以 HPTLC 为平台的 SERS 检测具有极强的基质耐受性,在食品快速分析领域有十分广阔的应用前景。WANG 等^[17]和 CHEN 等^[15]所建方法的验证,是通过原位获得的表面增强拉曼光谱指纹来明确识别目标化合物的,以排除假阳性结果。同时,SERS 技术不仅可以用来验证检测方法的可靠性,还可以用来进行目标物定量分析。XIE 等^[49]建立基于拉曼图谱中峰面积与薄层板组胺浓度线性关系的 HPTLC-SERS 方法检测鱼肉中组胺,通过对不同鱼类样品中组胺浓度的测定,进一步验证了该方法的广泛适用性,并通过实验对比发现 TLC-SERS 结果与

HPLC-DAD 结果基本一致,证明了该方法的有效性。由此可见,与 SERS 联用不仅弥补了 HPTLC 在检测灵敏度方面的缺陷,而且显著提高了检测的特异性。

5 HPTLC+图像分析

检测结果的图像化和可视化是 HPTLC 分析技术特有的优势。目前,应用较为广泛的以像素灰度模拟扫描为基础的专业图像定量分析软件有两种,包括 Videoscanner 和 ImageJ。Videoscanner 软件由瑞士 CAMAG 公司研制,可以直接对可见光、荧光和生物发光等多种成像模式的照片进行直接数字转化和积分运算;同时,该软件提供了强大的图像基线平滑降噪、峰形识别和自动数据采集功能,但该软件被设计为高度的硬件依赖性,只能读取处理 CAMAG 公司成像系统拍摄的特殊格式图像,应用范围有限。ImageJ 由美国国立卫生院开发,相较于 Videoscanner,其优势在于可以免费获取使用。该软件中集成的像素灰度转化-积分功能可以方便地实现基于 HPTLC 数字化图像的定量分析。同时,ImageJ 也集成了丰富的图像预处理功能,能够通过简洁的步骤实现色谱图降噪、基线校正和峰面积直读等任务。不仅如此,作为一款开源性软件,ImageJ 具有编程能力,可以实现面向不同图像分析任务的程序个性化定制,有利于分析过程的自动化和智能化。IBRAHIM 等^[50]的研究将 HPTLC 色谱板用福林酚试剂衍生后,与 DPPH 分析法联用,成功应用于测定苜蓿种子萌发过程中多酚含量与自由基清除能力的相关性,并比较研究了 3 种不同的图像分析软件的性能,结果表明采用 ImageJ 软件进行图像的定量分析在精确度、准确度和灵敏度方面有着较明显的优势。CHEN 等^[34]在获得生物发光抑制图像的基础上,应用 ImageJ 实现了水果中农药克俊丹的快速定量(图 2)。由此可见,以数字化图片为对象,以像素扫描软件为工具的计算机辅助的 HPTLC 定量分析技术日趋成熟,已可以替代昂贵的光谱分析仪器,成为 HPTLC 科学发展的新方向。

6 展望

HPTLC 与其他高端检测方法和模式的完美融合突破了传统食品检测方法和思路的局限性。本文综述了以 HPTLC 为分离-分析一体化平台,通过集成融合光密度扫描、质谱、细胞生物传感、表面增强拉曼光谱、图像分析等 5 种分析检测技术,在食品有害物残留和非法添加快速筛选与可靠确证领域的应用,与传统的基于柱色谱或者单纯光谱的分析方法相比,HPTLC 技术虽然在分离能力和检测灵敏度上仍存在一定差距,但是其简单可靠和灵活高效的特点使得其成为轻简食品分析技术的一个重要发展方向。在此基础上开发建立的面向高通量筛选的食品分析方法,为基于 HPTLC 平台的食品方法学研究奠定基础。特别

是近年以来, 多个与联用检测相关的关键技术和设备有了突破性进展, 实现了 HPTLC 与几乎全部光谱、质谱和生物传感检测技术的联用全覆盖, 快速提升了其应用价值, 因此具有极佳的发展前景。

参考文献

- [1] BERNARD-SAVARY P, POOLE CF. Instrument platforms for thin-layer chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2015, 1421: 184–202.
- [2] CHEN Y, SCHWACK W. High-performance thin-layer chromatography screening of multi class antibiotics in animal food by bioluminescent bioautography and electrospray ionization mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1356: 249–257.
- [3] CHEN Y, HUANG C, JIN Z, *et al.* HPTLC-bioautography/SERS screening nifedipine adulteration in food supplement based on ginkgo biloba [J]. *Microchem J*, 2020, 154: 104647.
- [4] MORLOCK G, SCHWACK W. Coupling of planar chromatography to mass spectrometry [J]. *TrAC-Trends Anal Chem*, 2010, 29(10): 1157–1171.
- [5] CHEN Y, SCHWACK W. Planar chromatography mediated screening of tetracycline and fluoroquinolone antibiotics in milk by fluorescence and mass selective detection [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1312: 143–151.
- [6] CHEN Y, YANG K, JIN Z, *et al.* HPTLC determination of food emulsifiers by iodine staining and densitometry [J]. *Chromatographia*, 2010, 71(11): 1143–1146.
- [7] OELLIG C, LINK K, SCHWACK W. Characterization of E 472 food emulsifiers—Determination of bound and free fruit acids, free glycerol and ash content [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1619: 460946.
- [8] SURESHKUMAR V, SARATHCHANDRA G. A HPTLC-fluorescent densitometry assay for simultaneous detection of enrofloxacin and ciprofloxacin in broiler chicken tissues [J]. *Food Anal Methods*, 2018, 11(4): 1076–1085.
- [9] OELLIG C. Screening for ricinoleic acid as a chemical marker for secale cornutum in rye by high-performance thin-layer chromatography with fluorescence detection [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(43): 8246–8253.
- [10] CHEN Y, SCHWACK W. Rapid and selective determination of multi-sulfonamides by high-performance thin layer chromatography coupled to fluorescent densitometry and electrospray ionization mass detection [J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1331: 108–116.
- [11] WANG P, CHEN Y, XU X, *et al.* HPTLC screening of folic acid in food: In situ derivatization with ozone-induced fluorescence [J]. *Food Anal Methods*, 2019, 12(2): 431–439.
- [12] KIRCHERT S, MORLOCK GE. Simultaneous determination of mono-, di-, oligo- and polysaccharides via planar chromatography in 4 different prebiotic foods and 60 naturally degraded inulin samples [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1569: 212–221.
- [13] OELLIG C, RADOVANOVIC J. Screening for 16-O-methylcafestol in roasted coffee by high-performance thin-layer chromatography -fluorescence detection-determination of *Coffea canephora* admixtures to *Coffea arabica* [J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1525: 173–180.
- [14] OELLIG C. Lysergic acid amide as chemical marker for the total ergot alkaloids in rye flour—Determination by high-performance thin-layer chromatography-fluorescence detection [J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1507: 124–131.
- [15] CHEN Y, HUANG C, HELLMANN B, *et al.* HPTLC-densitometry determination of riboflavin fortified in rice noodle: Confirmed by SERS-fingerprint [J]. *Food Anal Methods*, 2020, 13(3): 718–725.
- [16] CHEN Y, HUANG C, XU X. HPTLC-densitometry screening and mass identification of fluorescent whitening agents contamination in cereal flour [J]. *Food Anal Methods*, 2021, 14(4): 814–822.
- [17] WANG L, XU XM, CHEN YS, *et al.* HPTLC-FLD-SERS as a facile and reliable screening tool: Exemplarily shown with tyramine in cheese [J]. *J Food Drug Anal*, 2018, 26(2): 688–695.
- [18] TUZIMSKI T. Application of different modes of thin-layer chromatography and mass spectrometry for the separation and detection of large and small biomolecules [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218(49): 8799–8812.
- [19] KIM HJ, JEE EH, AHN KS, *et al.* Identification of marker compounds in herbal drugs on TLC with DART-MS [J]. *Arch Pharm Res*, 2010, 33(9): 1355–1359.
- [20] WANG L, CHEN Y, YE Z, *et al.* Screening of phenolic antioxidants in edible oils by HPTLC-DPPH assay and MS confirmation [J]. *Food Anal Methods*, 2018, 11(11): 3170–3178.
- [21] RANI R, MEDHE S, SRIVASTAVA M. HPTLC-MS analysis of melamine in milk: Standardization and validation [J]. *Dairy Sci Technol*, 2015, 95(2): 257–263.
- [22] DEWANJEE S, GANGOPADHYAY M, BHATTACHARYA N, *et al.* Bioautography and its scope in the field of natural product chemistry [J]. *J Pharm Anal*, 2015, 5(2): 75–84.
- [23] CHOMA IM, GRZELAK EM. Bioautography detection in thin-layer chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218(19): 2684–2691.
- [24] ADHAMI HR, SCHERER U, KAEHLIG H, *et al.* Combination of bioautography with HPTLC-MS/NMR: A fast identification of acetylcholinesterase inhibitors from galbanum [J]. *Phytochem Anal*, 2013, 24(4): 395–400.
- [25] BUCHINGER S, SPIRA D, BRÖDER K, *et al.* Direct coupling of thin-layer chromatography with a bioassay for the detection of estrogenic compounds: applications for effect-directed analysis [J]. *Anal Chem*, 2013, 85(15): 7248–7256.
- [26] MARSTON A. Thin-layer chromatography with biological detection in phytochemistry [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218(19): 2676–2683.
- [27] MÓRICZ AGM, OTT PTG, HABE TT, *et al.* Effect-directed discovery of bioactive compounds followed by highly targeted characterization, isolation and identification, exemplarily shown for *Solidago virgaurea* [J]. *Anal Chem*, 2016, 88(16): 8202–8209.
- [28] AGATONOVIC-KUSTRIN S, MORTON DW. High-performance thin-layer chromatography-direct bioautography as a method of choice for alpha-amylase and antioxidant activity evaluation in marine algae [J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1530: 197–203.
- [29] KRÜGER S, BERGIN A, MORLOCK G. Effect-directed analysis of ginger (*Zingiber officinale*) and its food products, and quantification of bioactive compounds via high-performance thin-layer chromatography and mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2018, 243: 258–268.
- [30] GALARCE-BUSTOS O, PAVÓN-PÉREZ J, HENRÍQUEZ-AEDO K, *et al.* An improved method for a fast screening of α -glucosidase inhibitors in cherimoya fruit (*Annona cherimola* Mill.) applying effect directed analysis via high performance thin layer chromatography bioassay mass

- spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2019, 1608: 460415.
- [31] ZADOROZHNYA O, KIRSANOV D, BUZHINSKY I, *et al.* Water pollution monitoring by an artificial sensory system performing in terms of *Vibrio fischeri* bacteria [J]. Sens Actuat B-Chem, 2015, 207: 1069–1075.
- [32] CHEN Y, MORLOCK GE. Layer-induced sensitivity enhancement in planar chromatography-bioluminescence-mass spectrometry: Application to alkaloids [J]. Chromatographia, 2016, 79(1-2): 89–96.
- [33] JAMSHIDI-AIDJI M, MORLOCK GE. From bioprofiling and characterization to bioquantification of natural antibiotics by direct bioautography linked to high-resolution mass spectrometry: Exemplarily shown for *Salvia miltiorrhiza* root [J]. Anal Chem, 2016, 88(22): 10979–10986.
- [34] CHEN Y, HUANG C, HELLMANN B, *et al.* A new HPTLC platformed luminescent biosensor system for facile screening of captan residue in fruits [J]. Food Chem, 2020, 309: 125691.
- [35] AKKAD R, SCHWACK W. Multi-enzyme inhibition assay for the detection of insecticidal organophosphates and carbamates by high-performance thin-layer chromatography applied to determine enzyme inhibition factors and residues in juice and water samples [J]. J Chromatogr B, 2010, 878(17-18): 1337–1345.
- [36] AKKAD R, SCHWACK W. Effect of bromine oxidation on high-performance thin-layer chromatography multi-enzyme inhibition assay detection of organophosphates and carbamate insecticides [J]. J Chromatogr A, 2011, 1218(19): 2775–2784.
- [37] LI D, QU L, ZHAI W, *et al.* Facile on-site detection of substituted aromatic pollutants in water using thin layer chromatography combined with surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Environ Sci Technol, 2011, 45(9): 4046–4052.
- [38] BERNAT A, SAMIWALA M, ALBO J, *et al.* Challenges in SERS-based pesticide detection and plausible solutions [J]. J Agric Food Chem, 2019, 67(45): 12341–12347.
- [39] CHENG D, HE M, RAN J, *et al.* Depositing a flexible substrate of triangular silver nanoplates onto cotton fabrics for sensitive SERS detection [J]. Sens Actuat B-Chem, 2018, 270: 508–517.
- [40] CHEN X, GU H, SHEN G, *et al.* Spectroscopic study of surface enhanced Raman scattering of caffeine on borohydride-reduced silver colloids [J]. J Mol Struct, 2010, 975(1-3): 63–68.
- [41] DONG X, GU H, KANG J, *et al.* Comparative study of surface-enhanced Raman scattering activities of three kinds of silver colloids when adding anions as aggregating agents [J]. Colloid Surf A, 2010, 368(1-3): 142–147.
- [42] KANG J, GU H, ZHONG L, *et al.* The pH dependent Raman spectroscopic study of caffeine [J]. Spectrochim Acta A, 2011, 78(2): 757–762.
- [43] NIE S, EMORY SR. Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering [J]. Science, 1997, 275(5303): 1102–1106.
- [44] LI H, XIA ZHU Q, SIAN CHWEE T, *et al.* Detection of structurally similar adulterants in botanical dietary supplements by thin-layer chromatography and surface enhanced Raman spectroscopy combined with two-dimensional correlation spectroscopy [J]. Anal Chim Acta, 2015, 883: 22–31.
- [45] TAY LL, POIRIER S, GHAEMI A, *et al.* Paper-based surface-enhanced Raman spectroscopy sensors for field applications [J]. J Raman Spectrosc, 2021, 52(2): 563–572.
- [46] MARTINEZ L, HE L. Detection of mycotoxins in food using surface-enhanced Raman spectroscopy: A Review [J]. ACS Applied Bio Mater, 2020, 4(1): 295–310.
- [47] MARKINA NE, MARKIN AV, WEBER K, *et al.* Liquid-liquid extraction-assisted SERS-based determination of sulfamethoxazole in spiked human urine [J]. Anal Chim Acta, 2020, 1109: 61–68.
- [48] LEE P, MEISEL D. Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols [J]. J Phys Chem, 1982, 86(17): 3391–3395.
- [49] XIE Z, WANG Y, CHEN Y, *et al.* Tuneable surface enhanced Raman spectroscopy hyphenated to chemically derivatized thin-layer chromatography plates for screening histamine in fish [J]. Food Chem, 2017, 230: 547–552.
- [50] IBRAHIM RS, KHAIRY A, ZAATOUT HH, *et al.* Digitally-optimized HPTLC coupled with image analysis for pursuing polyphenolic and antioxidant profile during alfalfa sprouting [J]. J Chromatogr B, 2018, 1099: 92–96.

(责任编辑: 郑丽 张晓寒)

作者简介

席兴军, 博士, 研究员, 主要研究方向为农产品质量安全评价与检测标准化。
E-mail: xixj@cnis.ac.cn

陈益胜, 博士, 教授, 主要研究方向为食品质量与安全防腐保鲜技术。
E-mail: yschen@yeah.net