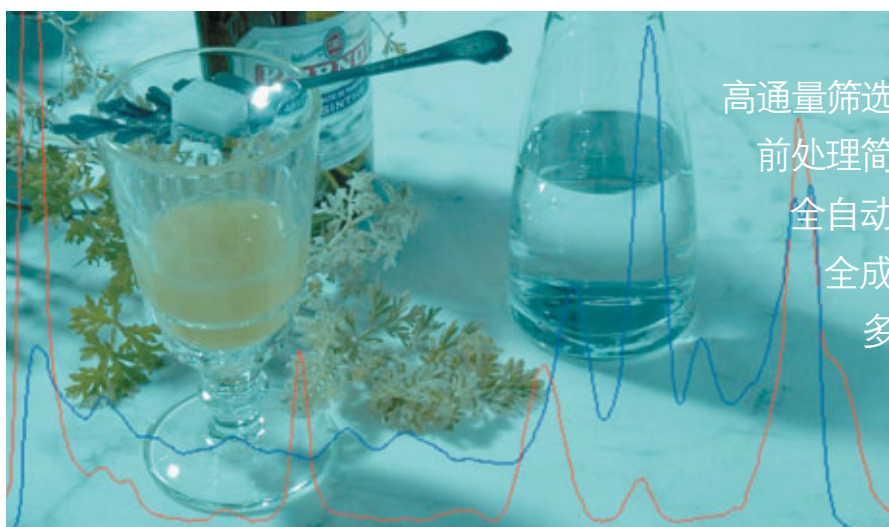




高效薄层色谱
薄层质谱联用
薄层生物自显影
色谱指纹图谱技术
全自动薄层分析系统



食品污染物
非法添加物
食品添加剂
饲料添加剂
保健类食品



高通量筛选
前处理简便
全自动仪器化
全成分检测
多元检测方式
成分活性评估
离线质谱检测



基于 HPTLC 技术的与食品安全有关的危害及风险评估和先进早期预警系统

作为平面色谱的全球领导者，瑞士 CAMAG 将传统的 TLC 引入了仪器化高效化的新纪元。凭借灵活的 HPTLC 技术所具备的高通量、高重现性以及多元化检测及联用分析技术，瑞士 CAMAG 为与食品安全有关的危害及风险评估和先进的早期预警系统提供系统的解决方案，使得样品的高通量、花费少、高灵敏度的初步筛选，乃至事前监管真正成为可能。

HPTLC 技术应用于食品安全领域的优势

高样品通量

通常可同时分析 36 个样品，平均每个样品耗时小于 3 min，试剂消耗小于 1 mL，分析成本花费甚少；



简便的前处理

采用一次性固定相，样品基质的污染问题较少，并可直接使用水溶液样品点样，在满足方法要求的前提下极大地提升工作效率；

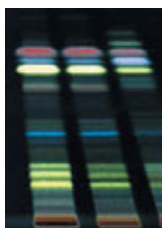


全自动仪器化

采用 CAMAG 全自动点样、梯度色谱展开、衍生化、成像、薄层扫描、生物自显影及质谱接口装置可确保获得极佳的色谱重现性与结果准确性；

全成分检测

TLC 独特的色谱分离机制使得样品中所有化合物均保留在薄层板上并可最终得到有效检测；



多元检测方式

可灵活采用紫外/可见光、荧光、荧光淬灭、衍生化、生物自显影、ELISA、MS 等在内的各类广谱与专属性检测手段，且检测成本甚低；

生物活性检测和毒性评价

HPTLC-生物自显影联用技术首次真正实现将成分的生物活性作为响应值输出的常规色谱检测手段；

HPTLC-MS 联用技术

简便可靠的 HPTLC-MS 接口技术可与任何 LC/MS 系统串联，并在 1 min 内获得所感兴趣成分的质谱图。

HPTLC 技术在食品安全领域的应用实例

食品污染物

真菌毒素 – AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂ 和 AFM₁ 的同时含量测定；DON、OTA、展青霉素的含量及毒性检测；

生物毒素 – 贝毒软骨藻酸毒性检测；

农药残留 – 各类杀虫剂、除草剂及其代谢产物的超痕量分析；

兽药残留 – 各类抗生素、激素类等药物的残留分析；



其他化学污染物

重金属；多环芳烃；异丙基噻吨酮 (ITX)；丙烯酰胺等。



非法添加检测

13 种非法添加偶氮类色素含量测定及结构验证；三聚氰胺的含量测定；蜂蜜中掺入淀粉糖浆的鉴别。

食品添加剂

食品中 25 种水溶性可食用着色剂的同时测定含量；食品禁用色素的检测；食品中防腐剂、甜味剂、增稠剂及抗氧化剂的 DPPH 测定；饮料中各类功能性成分的含量测定；食品中各类低聚糖、糊精及有机酸的测定。

保健食品

绿茶提取物中各类功能性成分的鉴别；人参、红参、西洋参、三七、黄芪、柴胡的 HPTLC 指纹图谱鉴别；天然减肥药蝴蝶



亚的鉴别；巴西人参提取物中 β -蜕皮激素的含量测定。

食品污染物检测

HPTLC 荧光法同时测定食品中黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 和 M1 的含量	1
HPTLC 荧光淬灭法测定苹果和山楂制品中展青霉素的含量	6
HPTLC-生物自发光法检测玉米中的赭曲霉毒素 A	封 I
HPTLC-生物自发光法检测软骨藻酸污染的婴幼儿配方食品	封 II
HPTLC-FLD 测定奶制品中异丙基噻吨酮的含量及 TLC-MS 结构确证	10
HPTLC-生物自发光检测蔬菜中二苯胺类农药残留	封 II
HPTLC 法同时测定鱼类制品中的组胺等 7 种生物胺	13
HPTLC 法测定鲑鱼饲料中的土霉素含量	16
HPTLC 法测定鱼肉和鱼饲料中的喹诺酮类抗生素含量	19

食品添加剂/非法添加检测

HPTLC 法同时测定食品中的 13 种非法添加色素的含量	22
Nano-HPTLC-MS 同时测定食品中 8 种偶氮色素及 TLC-MS 结构确证	25
HPTLC 同时测定食品中 25 种水溶性色素的含量	28
HPTLC 荧光法同时测定食品中 11 种寡糖的含量	32
HPTLC 法测定牛奶中三聚氰胺的含量	36
HPTLC-DPPH 生物自显影技术筛选各类基质中的抗氧化活性成分	38
HPTLC 测定磷脂类食品乳化剂的含量	41
HPTLC 法同时测定葡萄酒中各类有机酸的含量	42
HPTLC 法同时测定饮料中的寡糖和甜味剂的含量	44

其他化学污染/饮用水/水质监测

HPTLC-生物自发光联用技术同时测定饮用水中重金属、农药残留及甾醇类激素	封 VI
HPTLC-生物自发光联用技术测定自来水中重金属污染（二价汞）的含量	封 VI
HPTLC 法同时测定饮用水中的 6 种多环芳烃（PAHs）的含量	49
HPTLC-生物自发光联用技术监测处理水水质	52
HPTLC 高效薄层色谱法对饮用水中丙烯酰胺的超痕量分析	55
HPTLC-AMD 对饮用水中草甘膦和氨甲基磷酸的超痕量分析	57
HPTLC-AMD 对饮用水和地表水中杀草敏及其代谢物的超痕量分析	60
HPTLC-AMD 对饮用水中杀草强的痕量分析	64

保健食品

植物药 HPTLC 定性鉴别的方法学验证	69
HPTLC 定性鉴别绿茶及绿茶提取物中各类有效成分	71
HPTLC 测定银杏叶中的银杏内酯 A、B、C 及白果内酯	75
各类大蒜制品的 HPTLC 指纹图谱及质量控制	插页
HPTLC 指纹图谱鉴别流行天然减肥药蝴蝶亚（ <i>Hoodia gordonii</i> ）	78
HPTLC 测定巴西人参（ <i>Pfaffia glomerata</i> ）提取物中 β -蜕皮激素的含量	81
HPTLC 指纹图谱鉴别人参、红参、西洋参药材	84

HPTLC 指纹图谱鉴别蒙古黄芪和膜荚黄芪药材.....	87
HPTLC 指纹图谱鉴别三七药材.....	90
HPTLC 指纹图谱鉴别柴胡属药材皂苷类成分.....	93

化妆品

HPTLC-生物自发光联用技术分析经光辐照后的防晒霜成分.....	97
HPTLC-DPPH 生物自显影技术筛选各类基质中的抗氧化活性成分.....	38
HPTLC/AMD 测定皮肤角质层中 7 类神经酰胺的含量.....	101
HPTLC 测定磷脂类化合物的含量.....	41
HPTLC 法定性和定量分析多肽中各类氨基酸.....	106

HPTLC-生物自显影联用技术 (BioTLC)

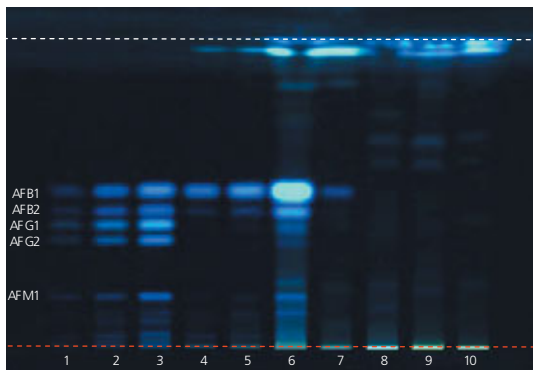
一种简便高效的检测混合物中活性成分的生物筛选技术.....	109
含生物碱类成分中药的 BioTLC 活性筛选.....	112
HPTLC – 生物自显影 – 质谱联用技术对海绵次生代谢产物的生物活性分析.....	114

HPTLC-MS 联用技术

HPTLC-化学原料药分析中的问题解决技术.....	118
HPTLC/MS 联用技术对药物合成过程中未知有关物质的快速鉴别.....	121

食品污染物检测

HPTLC 荧光法同时测定食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 和 M₁ 的含量



▲ 玉米、花生及大米样品黄曲霉毒素检测 HPTLC 荧光色谱图

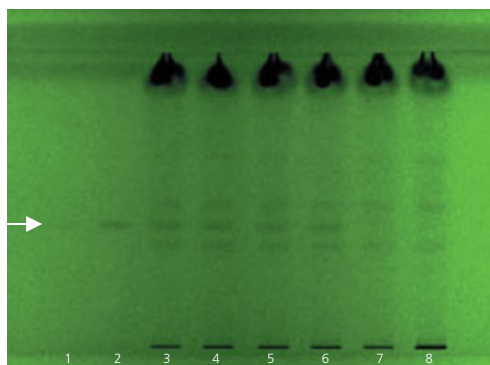
样品：轨道 1-3，Rf 值由上至下：黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 和 M₁ 混标各 5、20 及 50 μL (5 μL 点样量含 B₁ 5.6 ng、B₂ 1.6 ng、G₁ 5.2 ng、G₂ 1.6 ng 及 M₁ 0.4 ng)；轨道 4-7：受真菌毒素污染的玉米、花生及大米样品，点样量 1~70 μL；轨道 8-10：未检出黄曲霉毒素的样品（各黄曲霉毒素含量小于 220 pg）。

色谱条件：Merck 硅胶 60 HPTLC 高效预制薄层板，CAMAG ATS 4 条带状点样。于 ADC 2 全自动展开仪中以无水乙醚展开 85 mm，再用三氯甲烷 - 乙酸乙酯 - 甲醇 (100 : 50 : 3) 展开 85 mm。TLC Visualizer 设备成像，并置 SCANNER 3 薄层色谱扫描仪中在 366nm 下进行荧光模式扫描，计算含量。

该方法所确定的黄曲霉毒素最低检测限为：黄曲霉毒素 B₁ 0.278 μg/Kg、B₂ 0.082 μg/Kg、G₁ 0.260 μg/Kg、G₂ 0.080 μg/Kg、M₁ 0.265 μg/Kg。各成分的含量测定工作曲线相关系数 r > 0.9996。

- 特点：
- 1、高通量分析，每个样品的分析成本极低，且耗时极短；
 - 2、灵敏的荧光检测法，皮克级 LOD 检测限；
 - 4、对大多数含复杂基质的样品都适用的稳健分析方法；
 - 5、可采用色谱后衍生化或 TLC-MS 接口对结果进行快速确证。

HPTLC 荧光淬灭法测定苹果和山楂制品中展青霉素的含量



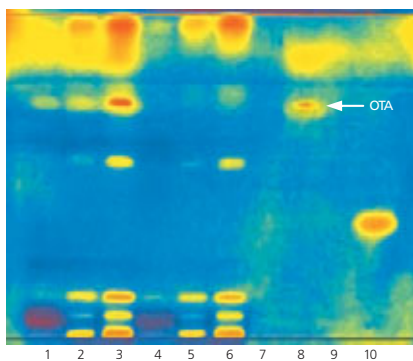
▲ 苹果样品中展青霉素的 HPTLC 荧光淬灭色谱图

样品：轨道 1-2：展青霉素对照品 2 μL 和 6 μL (浓度为 9.38 ng/μL)；轨道 3-6：受真菌毒素污染的苹果样品 (浓度为 95.10 μg/Kg)；轨道 7-8：低于定量限的苹果样品 (浓度 < 12 μg/Kg)。

色谱条件：Merck GF₂₅₄ HPTLC 高效预制薄层板，CAMAG ATS 4 条带状点样。于 ADC 2 全自动展开仪中以三氯甲烷 - 乙酸乙酯 - 甲酸 (40 : 10 : 1) 展开 85 mm。TLC Visualizer 设备成像，并置 SCANNER 3 薄层色谱扫描仪中在 282nm 以紫外吸收模式扫描，计算含量。

结果与讨论：该方法所确定的展青霉素定量限 LOQ 为 12 μg/Kg，完全满足国标对展青霉素浓度限量 (不得高于 50 μg/Kg) 的检测。阳性结果可通过进一步的色谱后衍生化的方法予以确证。还通过 TLC-MS 接口装置对化合物结构进行快速确证，检测限更可下延至 pg 级别。

HPTLC-生物自发光联用技术检测玉米中的赭曲霉毒素 A



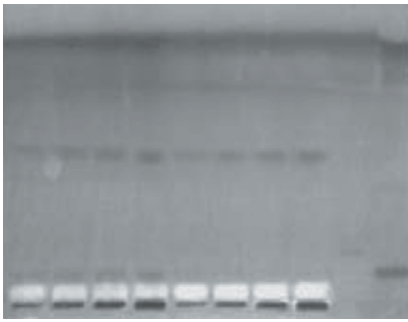
▲ 含赭曲霉毒素 A 的玉米提取物样品的 TLC-生物自发光图谱

样品：轨道 1-3：分别含有 0.5 μg、1.5 μg 及 3.0 μg 赭曲霉毒素 A 对照品的玉米提取物样品 (1 g 冻干玉米粉的 10 mL 甲醇溶液)。轨道 4-6：相同点样量的未掺标玉米提取物样品。轨道 7：空白。轨道 8：2.0 μg 赭曲霉毒素 A 对照品。轨道 9-10：4 μg 和 8 μg 的阴性与阳性对照。

色谱条件：Merck GF₂₅₄ HPTLC 高效预制薄层板，CAMAG ATS 4 条带状点样。于 CAMAG ADC 2 全自动展开仪中以乙酸乙酯：甲醇：甲酸：水 (50:2:5:3) 展开。采用 Bioluminex™ 试剂显影，CAMAG Bioluminizer 设备成像。

结果与讨论：该色谱方法采用了基于所分离成分的生物活性为检测依据的 TLC-生物自发光技术，在未知急性毒性成分的生物检测方面具有独特的优势。

受软骨藻酸污染的婴幼儿配方食品 HPTLC-生物自发光检测

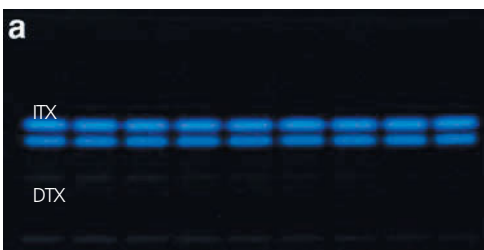


▲ 不同浓度受软骨藻酸污染的婴幼儿配方食品的 TLC-生物自发光图谱

样品: 轨道 1-4: 掺入软骨藻酸的婴幼儿配方食品样品 (经过 1: 1 乙腈沉淀除蛋白及二醇基 SPE 小柱除糖), 分别含 0.2、0.3、0.4 及 0.5 μg 软骨藻酸。轨道 5-8: 未掺标婴幼儿配方食品样品。轨道 9: 阴性对照; 轨道 10: 软骨藻酸对照品 1 μg 。

色谱条件: 乙酸乙酯: 甲醇: 甲酸: 水(50:2.5:3) 为展开剂。采用 Bioluminex™ 试剂显影。显影时间 2 min。

HPTLC-FLD 测定奶制品中异丙基噻吨酮 (ITX) 的含量及 HPTLC-ESI/MS 结构确证



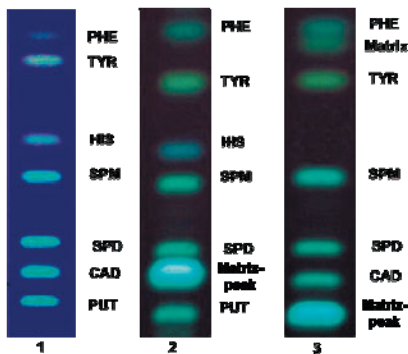
▲ 异丙基噻吨酮 (ITX) 与内标 (DTX) 的 HPTLC 荧光图谱 (366nm)

样品制备: 采用加速溶剂萃取仪提取牛奶及酸奶中的 ITX; 以乙腈直接萃取大豆油及人造黄油中的 ITX。

色谱条件: Merck HPTLC 硅胶 60 高效薄层板, 以甲苯-正己烷 (4:1) 为展开剂。在 7 分钟内完成 36 个样品的分离。在 254nm 下荧光扫描进行定量。

结果与讨论: ITX 在薄层板上的最低检测限为 64 μg , 在含有油脂性基质的样品中, 最低检出限为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。20-200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的多项式回归相对标准偏差为 $\pm 1.51\%$ ($r=0.99981$)。正向分离方式的重现性好、基质干扰少、易于与质谱联用、花费少。本分析方法可用于快速测定食品中的外源性污染等问题。

HPTLC 法测定鱼类制品中的生物胺



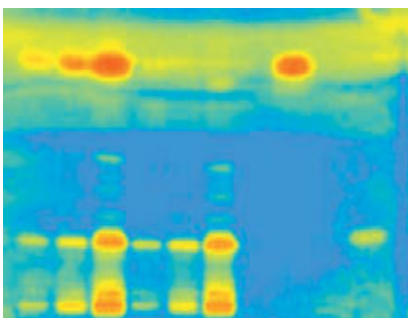
▲ 7 种生物胺混标及鱼类制品样品的 HPTLC 荧光图谱 (366nm)

样品: 轨道 1: 盐酸化后的腐胺、尸胺、亚精胺、精胺、组胺、酪胺和 β -苯乙胺对照品; 轨道 3: 油浸金枪鱼样品 (10% 的三氯乙酸 (TCA) 萃取后丹磺酰氯衍生化); 轨道 3: 烟熏鲭鱼样品。

色谱条件: Merck 硅胶 60 HPTLC 高效预制薄层板, 以甲苯-氯仿-三乙胺 (10: 6: 7) 为展开剂展开。在紫外 365 nm 下通过目视进行半定量检测以及 TLC Scanner 3 在 365 nm 下定量分析。

结果与讨论: 各组胺的线性范围为 50-250 mg/kg , LOD 17.5 mg/kg , LOQ 56 mg/kg 。该方法减少了样品基质对于分析的干扰, 使用于鱼类样品中组胺的限量检查, 结果可以媲美 HPLC、ELISA 和荧光分析方法, 且大大减轻了工作量。

蔬菜中二苯胺类农药残留的 HPTLC-生物自发光检测



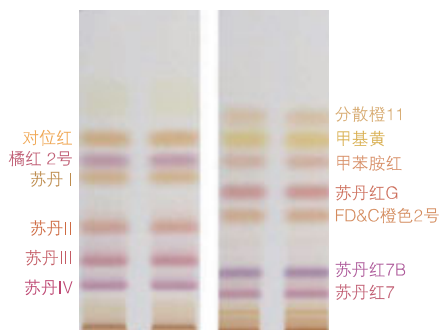
▲ 生菜样品中的二苯胺的 HPTLC-生物自发光检测图谱

轨道 1-3: 含二苯胺的生菜提取物样品, 分别含有 10 ng、20 ng 和 60 ng 二苯胺。轨道 4-5: 生菜提取物阴性对照。轨道 6: 空白; 轨道 7: 二苯胺对照品 50 ng; 轨道 8-9: 阴性与阳性对照。

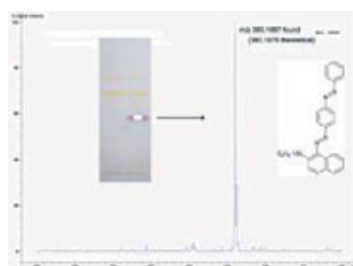
色谱条件: 甲苯: 乙酸乙酯: 甲酸: 水(7:5:1.1:0.2)为展开剂。采用 Bioluminex™ 试剂显影, 显影时间 2 min。

食品添加剂/非法添加物检测

HPTLC 同时测定食品中的 13 种非法添加偶氮类色素的含量及 HPTLC-MS 结构验证



▲ 13 种偶氮类色素混合对照品的 HPTLC 图谱



▲ 苏丹红 7B 阳性样品的 TLC-MS 结构确证

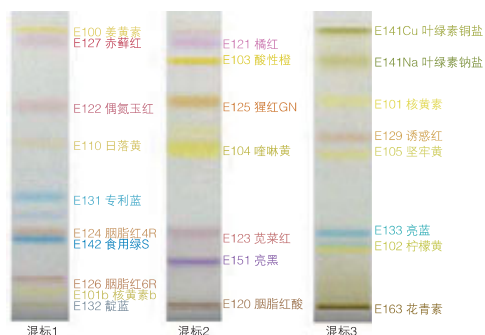
色谱条件: Merck HPTLC RP18 F254 高效预制薄层板。CAMAG Linomat 5 条带状点样, 在 ADC 2 全自动展开仪中以乙腈-25%氨水为展开剂, 展开距离 60 mm。TLC Visualizer 薄层成像系统在白光下以反射模式进行拍照。采用 CAMAG TLC Scanner 3 多波长扫描模式, 通过 winCATS 工作站在各色素的最大吸收波长下进行扫描, 计算含量。

质谱进样采用串联在 Agilent 1100 LC/MSD 系统中的配备椭圆形探头的 TLC-MS 接口装置, 以 ESI 正离子模式进行。精确分子量通过 MassWorks 软件计算获得。

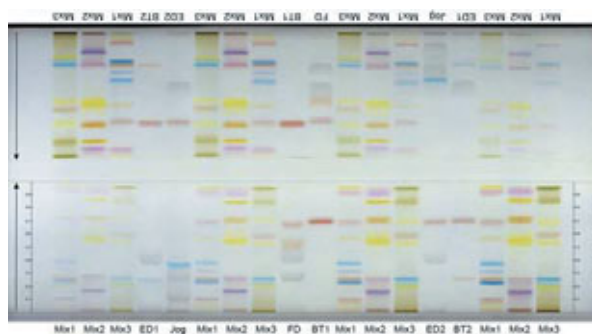
结果与讨论: 该方法是瑞士苏黎世州国家食品检测中心针对食品特别是各种调味品中脂溶性偶氮类非法添加色素的日常检测方法。

该含量测定方法经过了方法学验证, 分别建立了低浓度和高浓度的工作曲线。各染料的最低检测限范围在 1-17 mg/kg。光密度扫描的 LOD 值要比肉眼观察灵敏 1 倍。可疑的成分斑点通过 TLC-MS 接口装置获得的质谱图通过 MassWorks 软件进行精确分子量计算, 作为化合物存在的确证证据。

HPTLC 同时测定食品中 25 种水溶性可食用色素的含量



▲ 25 种水溶性可食用色素混合对照品的 HPTLC 图谱



▲ 食品样品中 25 种水溶性食品色素的对向展开色谱图

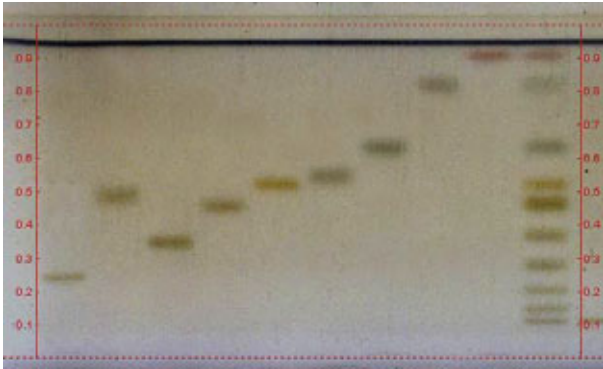
样品点样轨道: MIX1、2、3: 混标; ED: 能量饮料, JOG: 酸奶, FD: 果汁, BT: 面包上色浆。

样品制备: 市售食品样本采用甲醇-乙酸铵缓冲液(pH 6.8) 1:1进行均质、稀释、离心, 即得。

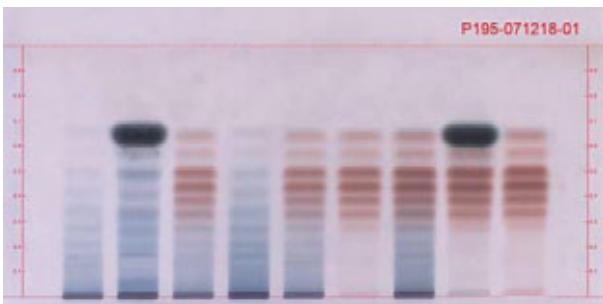
色谱条件: Merck HPTLC 硅胶60 F254高效薄层色谱板 (Merck)。CAMAG ATS 4条带状点样。以乙酸乙酯-甲醇-水-醋酸 (65:23:11:1) 进行展开, 展开距离50 mm。CAMAG TLC Visualizer在白光下成像。采用TLC Scanner 3和winCATS软件记录可见光光谱图(400-800 nm)和计算光谱相似度(样品和对照品), 采用TLC-MS质谱接口装置取样, 测定HPTLC/ESI 质谱图。含量测定结果以UV/可见范围内的多波长扫描或数字图像方式进行定量。

结果与讨论: 对比现有的食品色素分析方法, 该HPTLC方法是一种更可靠、快速和低成本含量测定替代方案。它允许在较低成本下进行高达1000个样品/天的高通量筛选, 平均每个样品的分析时间仅为1.5 min, 溶剂消耗200 μL。对结果的判定可根据需要有针对性地展开, 譬如从薄层板的肉眼鉴别到吸收光谱的相似度计算直至 HPTLC-ESI/MS质谱分析依次进行。

HPTLC 荧光法同时测定食品中 11 种寡糖的含量



▲ 各类糖混合对照品 HPTLC 薄层图谱 (衍生化后可见光)



▲ HPTLC 法鉴别抗性糊精 (蓝色) 与寡果聚糖浆 (棕色)

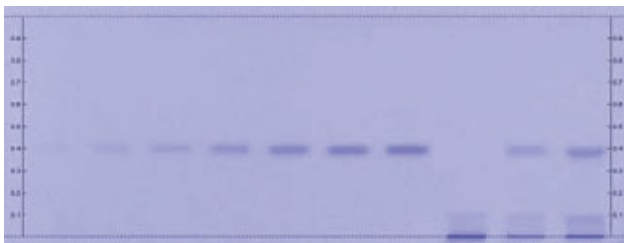
色谱条件: Merck HPTLC Sil NH₂ 氨基高效预制薄层板。采用CAMAG 色谱浸渍装置将薄层板浸入于0.4 M的磷酸二氢钾水溶液15 min。采用CAMAG 全自动TLC点样仪ATS 4进行条带状点样。供试品溶液2 μL, 对照品溶液1-10μL。

采用CAMAG ADM2 薄层色谱全自动梯度展开系统进行展开, 乙腈-丙酮-水的15步梯度展开。每步递增3 mm, 每步间干燥时间10 min。将展开后的薄层板在150- 160 °C加热3-6 min。在白光和UV 366 nm 下检视, 并于Scanner 3 TLC薄层扫描仪上在366nm 扫描荧光图谱, 计算含量。

结果与讨论:

- 不需要样品净化步骤
- 理想的糖类成分分离效果
- 低纳克级别检测限
- 高样品通量, 低成本耗费
- 采用本方法可分离的寡糖包括但不限于: 麦芽六糖, 麦芽五糖, 麦芽四糖, 麦芽三糖, 麦芽糖, 木糖, 阿拉伯糖, 果糖, 葡萄糖, 蔗糖, 乳糖, 鼠李糖, 核糖, 脱氧核糖等。

HPTLC 法测定牛奶中三聚氰胺的含量



▲ 三聚氰胺及牛奶样品衍生化后的薄层图谱 (白光)

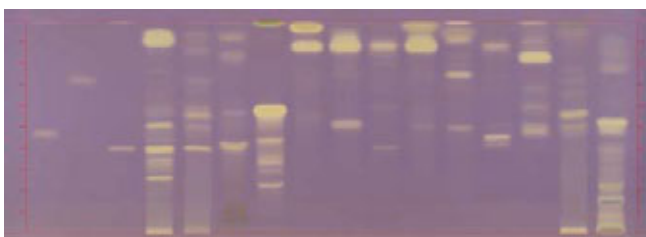
样品: 1-7: 不同浓度三聚氰胺对照品 8. 牛奶样品; 9. 掺标牛奶样品 (掺标水平 0.01%), 点样量 1 μL; 10. 掺标牛奶样品点样量 2 μL。

样品制备: 将 45 mL 牛奶样品与 105 mL 甲醇混合, 加入 0.05 mL 37% 盐酸。静置 30 min, 将混合物以离心 5 min, 取上清液作即得。

色谱条件: HPTLC 高效预制薄层板 Si 60 F₂₅₄ (Merck), 条带状点样。乙腈-水-乙酸乙酯 (3:1:1) 为展开剂。加滤纸饱和 20 min, 于双槽展开槽中展开 55 mm。采用 TLC Scanner 3 薄层扫描仪在 195 nm 吸收模式下进行测定, 以峰高或峰面积多项式回归计算工作曲线。

结果与讨论: 该方法前处理简便, 适用于多种样品基质, 且每个样品的分析费用甚少。LOQ检测限达纳克级。可对阳性结果以TLC-MS技术进行快速确证。

HPTLC-DPPH 生物自显影技术筛选各类基质中的抗氧化活性成分

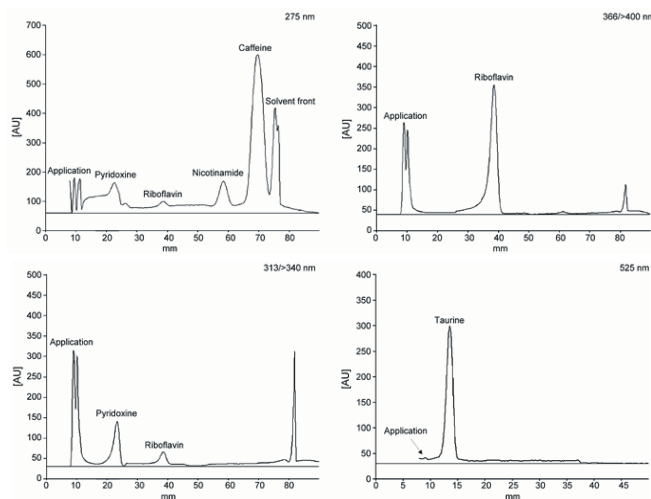


色谱条件: HPTLC 高效预制薄层板硅胶 60 F₂₅₄。供试品与对照品溶液各 1-5 μL。条带状点样。于双槽展开槽中展开, 加滤纸饱和 20 min。展开距离: 自底边起 70 mm。于冷气流下干燥 15 min。

DPPH 检测: 将薄层板浸入 DPPH 试剂中 1 s, 取出, 室温下干燥 1 min。干燥后的薄层板用铝箔包裹后静置反应 30 min。置白光下检视。

结果与讨论：二苯基苦肼基自由基 (DPPH) 适合于对经 HPTLC 色谱分离后的成分以自由基清除率为指标进行抗氧化活性的检测。本方法适用于药用植物提取物中抗氧化活性成分的筛选以及食品和化妆品中抗氧化成分的活性检测。

HPTLC 多重检测技术同时测定饮料中 5 种功能性成分含量及 TLC/ESI-MS 结构验证



▲ 红牛™ 饮料中 6 种功能性成分含量的 HPTLC 多重检测

左上图：VB₃ 和咖啡因；右上图：VB₂；左下图：VB₆；右下图：牛磺酸

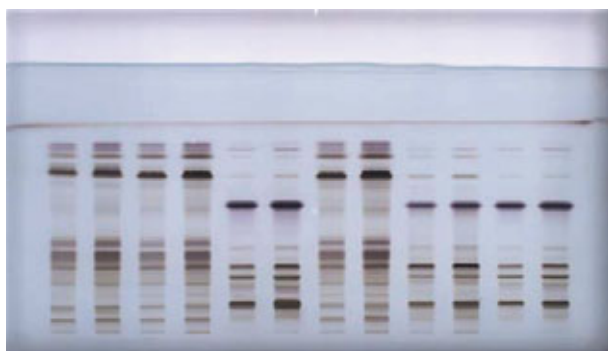
简介：采用 HPTLC 多重检测原理的高通量方法被用来同时对功能饮料红牛™ 中的核黄素 (VB₂)、VB₆、VB₃、咖啡因及牛磺酸进行含量测定。

色谱条件：薄层展开后的图谱以 CAMAG TLC Scanner 3 进行多波长扫描。(1) VB₃ 和咖啡因：261 nm 和 275 nm 处检测紫外吸收；(2) VB₂ 和 VB₆：于 366-400 nm 和 313-340 nm 范围内检测激发荧光；(3) 牛磺酸：水合印三酮衍生化显色后在 525 nm 处检测可见光。

结果与讨论：工作曲线 $r^2 > 0.9990$ 。5 种化合物 3 个浓度水平上的回收率试验结果在 80-106% 范围内，重复性试验 RSD 在 0.8-1.5% 之间。

采用 CAMAG TLC-MS 接口装置，分别在正负离子模式下以单级四级杆电喷雾质谱法对薄层板上成分进行结构确证。该方法简便可靠，为该类样品的常规分析提供了一种新的可替代方法。

磷脂类化合物的 HPTLC 含量测定



化学对照品：神经鞘磷脂、三油酸甘油酯、胆固醇、磷脂酰肌醇、心磷脂 (双磷脂酰甘油)、十五烷醇胆固醇酯、卵磷脂。

食品乳化剂样品制备：将 25 mg 油脂乳化剂中溶解于 25 mL 氯仿-甲醇-水 (70:30:5) 中，过滤，滤液定容至 50 mL。

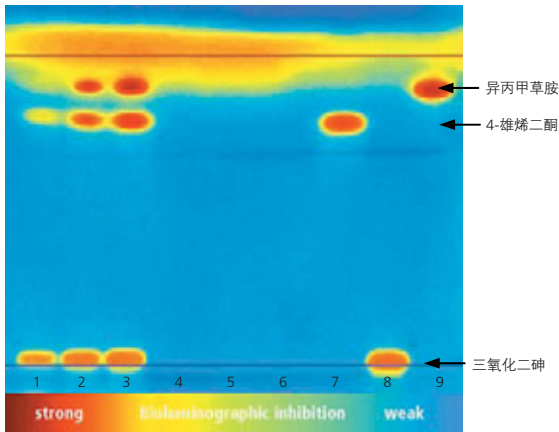
色谱条件：HPTLC 硅胶 60 F₂₅₄ 预制高效薄层板，采用 CAMAG Linomat 5 进行条带状点样。以二氯甲烷-甲醇-正己烷 20 步梯度为展开剂，进行全自动梯度展开。采用氨试液调节展开气相。显色剂：0.4 g 水合二氯化锰溶于 60 mL 水中，再加入 60 mL 甲醇和 4 mL 浓硫酸。将薄层板浸渍于试剂中 5 s，然后于 120°C 加热 20 min。采用 CAMAG TLC Scanner 3 进行薄层扫描定量分析。测定在 550 nm 钨灯和 546 nm 处汞灯的吸收，以峰高进行二阶多项式的工作曲线计算。荧光模式的扫描在 366 nm 下进行。

结果与讨论：磷脂类化合物的分析在生命科学及食品科学中非常普遍。磷脂是细胞膜结构的主要组成部分，也是靶向制剂的重要辅料。在食品工业作为乳化剂用以稳定天然或合成的混合物制品。与脂类一样，该类化合物的 UV 吸收很弱。采用薄层色谱法检测磷脂的优势在于可通过色谱后衍生化来对磷脂类成分进行显色观察。不同磷脂化合物的极性差异较大，且通常与复杂的基质杂质共存。而通过梯度展开并结合色谱后衍生化，可在 500 nm 吸收波长处或以荧光方式对该类成分进行专属性的含量测定。

可见光下大于 100 ng 的磷脂组分可观察到棕色吸收斑点，在 366 nm UV 下的荧光检测限为 10 ng。

其他化学污染物/饮用水/水质检测

HPTLC-生物自发光联用技术同时测定饮用水中重金属、农药残留及甾醇类激素



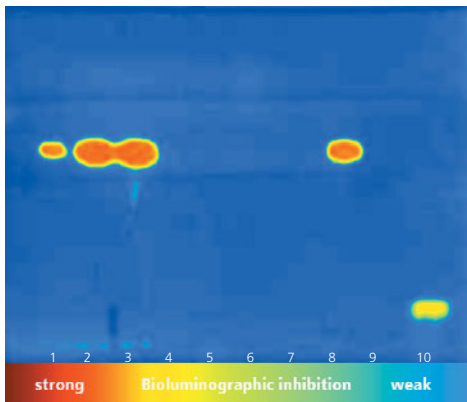
▲ 不同污染物浓度自来水样品的 TLC-生物自发光显影图谱

轨道 1-3: 分别各含有 0.6 μg 、1.1 μg 和 1.6 μg 4-雄烯二酮、三氧化二砷和异丙甲草胺的自来水样品 (点样量为 8 μL 、14 μL 和 20 μL)。轨道 4-6: 相同点样量的未掺标样品。轨道 7: 2 μg 4-雄烯二酮对照品。轨道 8: 2 μg 三氧化二砷对照品。轨道 9: 2 μg 异丙甲草胺对照品。

色谱条件: Merck 硅胶60 HPTLC 高效薄层板, CAMAG ATS 4条带状点样, 甲苯: 乙酸乙酯: 甲酸: 水(4:8:1.1:0.2)为展开剂。采用费氏弧菌 Bioluminex™ 试剂显影, CAMAG Bioluminizer 系统成像。

结果与讨论: 色谱检测采用了基于成分的生物活性为响应值的TLC-生物自发光技术, 不再受限于只能根据化合物的物理及化学属性进行检测的限制, 在未知名急性毒性成分的生物检测方面具有独特的优势。

HPTLC-生物自发光联用技术测定自来水中重金属污染 (二价汞) 的含量



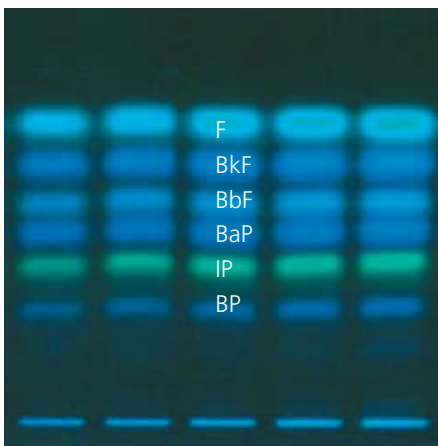
▲ 不同污染物浓度自来水样品的 TLC-生物自发光显影图谱

轨道 1-3: 各含有 1.6 μg 、2.5 μg 和 3.6 μg 二氯化汞的自来水样品 (浓度为均 0.18 mg/mL) ; 轨道 4-6: 相同点样量的未掺标样品; 轨道 7: 空白; 轨道 8: 2 μg 二氯化汞对照品; 轨道 9: 阴性对照; 轨道 10: 4 μg 咖啡因。

色谱条件: Merck 硅胶60 HPTLC 高效薄层板, CAMAG ATS 4条带状点样, 甲苯: 乙酸乙酯: 甲酸(12:2:2)为展开剂。采用费氏弧菌 Bioluminex™ 试剂显影, CAMAG Bioluminizer 系统成像, 曝光时间2 min。

结果与讨论: 色谱检测采用了基于成分的生物活性为响应值的TLC-生物自发光技术, 不再受限于只能根据化合物的物理及化学属性进行检测的限制, 在未知名急性毒性成分的生物检测方面具有独特的优势。

HPTLC 法同时测定饮用水中的 6 种多环芳烃 (PAHs) 的含量



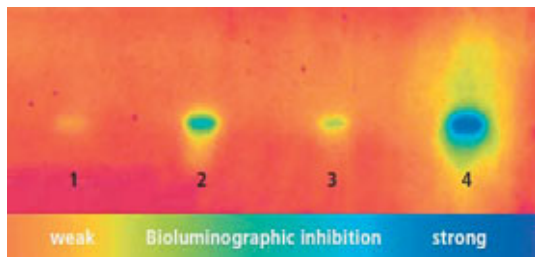
▲ HPTLC 定量图谱 (366nm) 中混标轨道, 2-12 ng/条带

供试品制备: 水样经 C18 固相萃取后, 以 3 mL 的二氯甲烷洗脱, 洗脱液中加入 2-甲基萘作为内标, 氮气浓缩至约 0.1 mL。

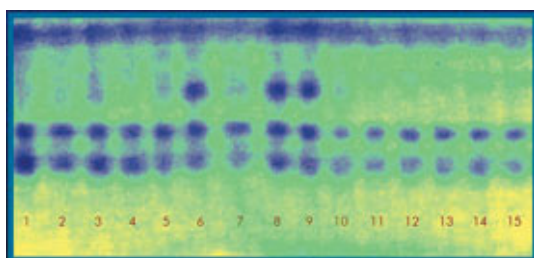
色谱条件: 咖啡因改性的预制 HPTLC 硅胶 G 高效薄层板 (Merck), 采用 Linomat 半自动点样仪进行点样。将薄层板于 -20°C 预平衡 10 min, 然后以乙酸异丙酯为展开剂展开 70 mm, 展开时间约为 25 min。采用 CAMAG TLC Scanner 扫描仪在 366 nm 处测定荧光, 计算含量。

结果与讨论: 本方法在德国国家标准 DIN38407-7 基础上进行了改进。与 DIN 标准中采用二氯甲烷的方法相比, 本文采用的色谱展开系统所引起的基质干扰较小, 方法耐用性更好。

HPTLC-生物自发光联用技术监测处理水水质



▲ 处理水中 4 种不同抗生素在 HPTLC 薄层板上的生物自发光检测



▲ 15 天连续取样的废水样品毒性的 TLC-生物自发光显影图谱

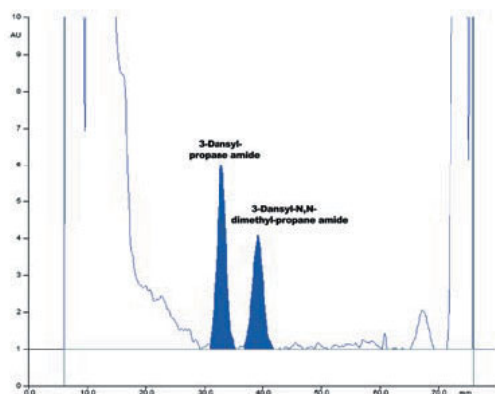
生物自发光检测可测定有毒物质的急性毒性。基于费氏弧菌的生物自发光检测是在废水分析中常用的试管法，其所测定的总活度是样品中各个活性组分活度之和。而新颖的色谱生物发光检测技术在梯度展开后的 HPTLC 薄层板上进行毒性物质的活性检测，可单独评价混合物中每一个组分的生物效应，从而获得毒性成分的活性指纹图谱和可定量数据。

生物测试系统的另一个优势在于对于未知活性物质的检测。对于已知的 3 万余种相关有毒物质及其降解产物而言，采用物理化学方法每次进行某一类成分的检测显然力不从心，因为检出的物质只能是该分析方法有针对性所要检测的，并且是具有参照物质的。

而生物测试系统的检测能力可以在一定范围内达到所有成分全部得到检测，因此对于复杂组分样品的风险评估而言，能够跨越即便采用种类繁多的化学分析方法也不能够充分覆盖的可检测范围。

此外通过对化合物 Rf 值的判断以及对薄层板采用传统衍生化或板上 MS 检测等方法，可使得化合物的大致化学结构可得到初步推定。结果显示经 HPTLC 分离后的混合物通过基于发光细菌的生物活性分析对于浓度低至 ng 级水平的有害物质的检测是可行的。

HPTLC 高效薄层色谱法对饮用水中聚丙烯酰胺的超痕量分析

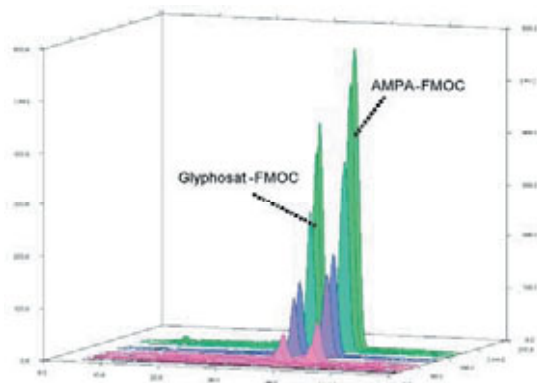


色谱条件：采用 CAMAG ATS4 全自动点样系统进行条带状点样，条带大小 $6 \times 3 \text{ mm}$ ，点样体积 $100 \mu\text{L}$ ，点样速度 350 nL/s ，各条带位置覆盖点上 $20 \mu\text{L}$ 的衍生化试剂。然后置于薄层板加热器上 120°C 加热 1 h。

展开：用甲醇聚焦展开后，用乙酸乙酯展开，展距 70 mm，取出干燥，以 25% 的聚丙二醇正己烷溶液浸渍以增强荧光。在 CAMAG TLC Scanner 3 上以荧光 $366 / > 400 \text{ nm}$ 模式扫描，计算含量。

结果与讨论：本方法定量限为 $0.08 \mu\text{g/L}$ ，满足欧盟指令的限度要求。该方法在测定饮用水中痕量聚丙烯酰胺 HPLC-MS-MS 的方法具有可比性。更具优势的一点在于由于衍生生物产生的分子离子质荷比高 ($m/z \text{ } 307$)，受基质碎片的干扰小 (聚丙烯酰胺 $m/z \text{ } 72$)。所采用的 MS 系统也比德国工业标准 DIN 规定的 LC/MS/MS 系统更加经济简便。

HPTLC 高效薄层色谱法对饮用水中草甘膦和氨甲基膦酸的超痕量分析



样品前处理：在 50 mL 的样品水中加入 8 mL 硼酸盐缓冲液和 50 mL FMOCCI 试剂，反应 30 分钟后，混合液用 30 mL 二氯甲烷：异丙醇(3:1)萃取 3 次，弃去有机相，加入硫酸酸化，再用二氯甲烷：异丙醇(3:1)萃取 2 次，萃取液经蒸发至干，甲醇溶解。

色谱条件：硅胶 60 F254 高效薄层板，用异丙醇预洗板 (浸渍 24h)，然后在氮气流下于加热装置 TLC Heater 3 上 100°C 活化 30 min。于 CAMAG 全自动点样仪 ATS4 上条带状点样，点样量 $80 \mu\text{L}$ ，条带宽 5mm。展开剂：正丁醇 - 水 - 醋酸 (5:4:1) 下层溶液，展距 70mm。采用 CAMAG TLC 薄层扫描仪在荧光模式下于 $268 / > 360 \text{ nm}$ 波长处扫描，计算含量。

结果与讨论：在该方法中，分析物在水中衍生化，以便随后的液-液萃取和荧光检测。通过多个实验室间的平行比对证明该方法简便可靠，克服 HPLC/MS 和 GC/MS 检测此类成分的局限性。除草剂固杀草也可用此方法检测。

HPTLC 食品安全解决方案



瑞士卡玛中国技术支持中心

北京办事处

地址：北京市建国门内大街 8 号
中粮广场 B 座 1426 室 (100005)
电话：010-65278522, 65278582
传真：010-65283903
E-Mail: info@Nikyang.com

上海办事处

地址：上海市南京东路 800 号
新一百大厦 15 楼 F 座 (200001)
电话：021-63511828, 63523826
传真：021-63511931
E-Mail: info@nikyang.com

广州办事处

地址：广州市越秀区白云路 111 号
白云大厦 1111 室 (510100)
电话：021-83292451
传真：021-83292510
E-Mail: info@nikyang.com