

## 权 利 要 求 书

---

1.一种海洋水体中生物蝶呤的检测方法，其特征在于，包括以下步骤：

1) 前处理：水样过滤后弃滤液，取颗粒物并加入细胞裂解液破碎，得到溶出液；调节所述溶出液的 pH，萃取后得到含有生物蝶呤的水相；

2) 用反相高效液相色谱对所述含生物蝶呤的水相进行检测；

其中，反相高效液相色谱采用等度洗脱，流动相为甲醇和水。

2.根据权利要求 1 所述的检测方法，其特征在于，基于流动相的总体积，甲醇的体积为 5%至 15%，水的体积为 85%至 95%。

3.根据权利要求 1 或 2 所述的检测方法，其特征在于，色谱柱的柱温为 25°C至 30°C，所述流动相的流速为 0.6 mL/min 至 0.8 mL/min。

4.根据权利要求 1 或 2 所述的检测方法，其特征在于，反相高效液相色谱检测时，激发波长为 275 nm 至 285 nm，发射波长为 442 nm 至 446 nm。

5.根据权利要求 1 或 2 所述的检测方法，其特征在于，色谱柱为 C18 反相键合硅胶柱。

6.根据权利要求 1 或 2 所述的检测方法，其特征在于，所述细胞裂解液的组分为 5%甲醇和 95%色谱级纯水，使用盐酸调节至 pH=3.5。

7.根据权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于，前处理过程中调节所述溶出液的 pH 为 6-7。

8.根据权利要求 1 或 2 所述的检测方法，其特征在于，还包括以下步骤：3) 液相色谱-质谱联用：液质联用获得生物蝶呤的质谱信息。

9.根据权利要求 8 所述的检测方法，其特征在于，液相色谱-质谱联用进行质谱分析时，离子源为电喷雾离子源，扫描模式为负离子模式，毛细管电压为 3 KV 至 5 KV，雾化气压力 40 psi 至 50 psi，干燥气温度为 300 °C至 400 °C，干燥气流速为 10 L/min 至 12 L/min，扫描范围为 50 m/z 至 300 m/z。

10.根据权利要求 9 所述的检测方法，其特征在于，液相色谱-质谱联用进行质谱分析时，选择 192 和 147 作为生物蝶呤的定量离子进行分析。

# 说明书

## 海洋水体中生物蝶呤的检测方法

### 技术领域

本发明涉及生物检测技术领域，尤其是涉及一种海洋水体中生物蝶呤的检测方法。

### 背景技术

生物蝶呤 (Biopterin, BTP) 是三磷酸鸟苷 (GTP) 代谢产物，控制 GTP 转化成蝶呤的 GTP 环水解酶 I 在原核生物和真核生物中均有发现。自然界中，从细菌到高等动植物 (除昆虫外) 均可合成生物蝶呤。生物蝶呤作为 70 多种酶类的内源性辅酶因子，参与动植物、细菌和真菌的生命活动过程。生物蝶呤是包括固氮酶类、一氧化氮合成酶、硝酸盐还原酶、亚硫酸氧化酶、一氧化碳氧化还原酶、苯丙氨酸羟化酶、酪氨酸羟化酶、色氨酸羟化酶以及叶酸、维生素等合成代谢过程的必需辅酶因子，具有重要的生理功能，在海洋碳氮循环中至关重要。

医学研究发现，生物蝶呤在生物体内一系列生理和病理过程中起关键作用。还原性生物蝶呤在哺乳类动物中起芳香族氨基酸的辅基作用，此外在人体中还具有抗氧化和清除活性氮氧化物的功能。与生物蝶呤在医学上趋于成熟的研究相比，海洋生物，特别是海洋浮游生物中有关生物蝶呤定量的研究目前在国际上尚未见诸报道。此前研究发现生物蝶呤- $\alpha$ -葡糖苷在蓝藻生长过程中抵御紫外辐射的危害效果显著，为了揭示生物蝶呤在海洋浮游生物中的生命活动的调控过程，加强对海洋化学的理解，有必要提供一种针对海洋水体中微型生物的生物蝶呤的检测方法，而目前的困难之一在于海洋水体中的生物蝶呤含量极低，常规的检测方法难以使用。根据现今存在的问题，提出一种海洋水体中生物蝶呤含量的检测方法成为亟需解决的问题。

### 发明内容

本发明旨在至少解决现有技术中存在的技术问题之一。为此，本发明提出一种海洋水体中生物蝶呤的检测方法。

第一方面，本发明的一个实施例提供了一种海洋水体中生物蝶呤的检测方法，包括以下步骤：

1) 前处理：水样过滤后弃滤液，取颗粒物并加入细胞裂解液破碎，得到溶出液；调节所述溶出液的 pH，萃取后得到含有生物蝶呤的水相；

2) 用反相高效液相色谱对所述含生物蝶呤的水相进行检测；

其中，反相高效液相色谱采用等度洗脱，流动相为甲醇和水。

本发明实施例的海洋水体中生物蝶呤含量的检测方法至少具有如下有益效果：

本发明实施例开发建立了一种针对性的生物蝶呤测定方法，通过特定条件的前处理，有效提升检测灵敏度，使检测限进一步缩小，能够适应海洋水体含量较低的现状，具有较高的精准性，同时结合高通量的反相高效液相色谱有利于获得真实、准确的数据，对于揭示生物蝶呤在海洋浮游生物中尤其是微型生物生命活动的调控过程、加强对海洋化学的理解具有重要意义。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，基于流动相的总体积，甲醇的体积为 5%至 15%，水的体积为 85%至 95%。通过特定比例范围条件的流动相设置，使得流动相系统粘度较小，过柱时具有更好的柱效，样品中的生物蝶呤具有更高的分离效率。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，流动相中甲醇和水的体积比为 10: 90。依此比例设置的流动相能够进一步提高检测灵敏度和精度。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，等度洗脱时，色谱柱柱温为 25°C至 30°C，流动相的流速为 0.6 mL/min 至 0.8 mL/min。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，等度洗脱时，流动相的流速为 0.7 mL/min。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，检测时设置激发波长为 275~285 nm，发射波长为 442~446 nm。通过对激发波长和发射波长的调整设置能够采集到更强的信号从而提高检测精度。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，检测时设置激发波长为 280 nm，发射波长为 444 nm。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，色谱柱为 C18 反相键合硅胶柱。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，前处理过程中调节溶出液的 pH 为 6-7。通过对溶出液 pH 的调节限定，使得检测过程中生物蝶呤具有更高的提取效率。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤含量的检测方法，还包括以下步骤：3) 液相色谱-质谱联用：液质联用获得生物蝶呤的质谱信息。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，液相色谱-质谱联用进行质谱分析时，离子源为电喷雾离子源，扫描模式为负离子模式，毛细管电压为 3 KV 至 5 KV，雾化气压力 40 psi 至 50 psi，干燥气温度为 300 °C至 400 °C，干燥气流速为 10 L/min 至 12 L/min，扫描范围为 50 m/z 至 300 m/z。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，液相色谱-质谱联用进行质

谱分析时，选择 192 和 147 作为生物蝶呤的定量离子进行分析。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，前处理时过滤用的滤膜的孔径为 0.2  $\mu\text{m}$  至 0.3  $\mu\text{m}$ 。以该孔径进行过滤保证海洋水体中微型生物都能够予以保留，提高生物蝶呤含量检测的准确度。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，滤膜为聚碳酸酯膜。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，等度洗脱时进样量为 30  $\mu\text{L}$  至 50  $\mu\text{L}$ 。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，在进行等度洗脱时，间歇性冲洗色谱柱。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，细胞裂解液可以使用本领域所熟知的具有裂解功能的细胞裂解液配方。优选地，细胞裂解液的组分为 5% 甲醇，95% 色谱级纯水，使用盐酸调节 pH 为 3 到 4，更进一步将其 pH 调节为 3.5。通过该配方的细胞裂解液，使得海洋水体中微型生物的细胞都能够最大程度的破壁，使得内容物流出以进行检测。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，加入有机溶剂进行萃取除去有机物时，可以使用本领域所熟知的任意有机萃取剂，例如，氯仿、二氯甲烷、乙酸乙酯、正己烷等。通过萃取分离其中的脂类化合物。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，在得到含生物蝶呤的水相后，需要进一步过滤从而进行反相高效液相色谱。

根据本发明的一些实施例的海洋水体中生物蝶呤的检测方法，液相进样盘的温度为 2-6 $^{\circ}\text{C}$ 。

本发明方法灵敏性好、测定精度高、检出限低（1.86ng/L），可实现大批量样品的处理检测，优化的色谱方法提高了数据测定质量，特别适用于自然水环境中微型生物样本中生物蝶呤的测定需求。

## 附图说明

图 1 为本发明的一个实施例的生物蝶呤检测方法的流程图。

图 2 为本发明的一个实施例根据生物蝶呤标准品经反向高效液相色谱结果。

图 3 是本发明的一个实施例中液质联用的质谱图。

图 4 是本发明的一个实施例中液质联用的质谱优化图。

图 5 是本发明的另一个实施例的条件优化实验中样品不同 pH 条件下对不同浓度样品的检测结果。

图 6 是本发明的另一个实施例的条件优化实验中样品不同 pH 条件下不同浓度样品的回收率结果。

图 7 是本发明的另一个实施例的条件优化实验中流动相不同甲醇-水比例下样品中生物蝶呤检测值比较结果。

图 8 是本发明的另一个实施例的条件优化实验中流动相不同甲醇-水比例下样品的回收率结果。

图 9 是本发明的又一个实施例的回收率测试的样品色谱图与膜空白色谱图。

## 具体实施方式

以下将结合实施例对本发明的构思及产生的技术效果进行清楚、完整地描述，以充分地理解本发明的目的、特征和效果。显然，所描述的实施例只是本发明的一部分实施例，而不是全部实施例，基于本发明的实施例，本领域的技术人员在不付出创造性劳动的前提下所获得的其他实施例，均属于本发明保护的范围。

### 实施例 1

一种分析测定海洋微型生物体内生物蝶呤的方法，具体步骤如下：

#### 1) 前处理

①采集水样，使用量筒准确量取 150 mL，使用 0.22  $\mu\text{m}$  聚碳酸酯膜过滤，过滤完毕后取滤膜置于 25 mL 离心管中， $-80^{\circ}\text{C}$  冷冻避光保存。

②使用时取出保存的滤膜至离心管，加入细胞裂解液，涡旋振荡 30min 后超声破碎 5min、随后超声恒温水浴 30min，使细胞完全破碎，颗粒物中的有机物溶出，得到溶出液；其中，细胞裂解液的组分为 5% 甲醇和 95% 色谱级纯水，使用盐酸调节至  $\text{pH}=3.5$ ；低温 ( $4^{\circ}\text{C}$ ) 冷藏后，样品加入量为 4 mL。

③在溶出液中加入 1mol/L 的氢氧化钠，将 pH 调至 6.5。

④加入氯仿，涡旋振荡 3min 后高速离心 (5000rpm, 10min)，使其中的脂类化合物与生物蝶呤分离。

⑤取上层含有生物蝶呤的水相过 0.22 $\mu\text{m}$  聚碳酸酯膜后上机进行反相高效液相色谱分析。

#### 2) 反相高效液相色谱

将前处理分离得到的含有生物蝶呤的水相由高效液相色谱-荧光检测器进行测试分析，液相上机条件如下：

色谱柱：C18 反相键合硅胶柱 (岛津 Shim-pack VP-ODS 150 $\times$ 4.6mm 5 $\mu\text{m}$ )；

流动相：A 相甲醇，B 相为纯水，甲醇与纯水体积比 10: 90，流速为 0.7 mL/min 进行等

度洗脱；

色谱柱柱温为 25~30°C，液相进样盘的温度为 2~6°C；

进样量为 40 $\mu$ L。

液相反向洗脱时，间歇性冲洗色谱柱。

检测条件为：激发波长为 280 nm，发射波长为 444 nm。

3) 液相色谱-质谱联用 (LC-MS) 化合物鉴定

质谱仪：Agilent 6490 QQQ 系统，三重串联四极杆液质联用仪，配有 Agilent 1290 Infinity LC 系统和 Agilent MassHunter 数据处理软件。

色谱柱为 Thermo Sientific 的 25003-102130 hypersil gold 1.9 $\mu$ m 100x2.1mm column。

柱温：25°C

流动相：甲醇-纯水 (10: 90, V: V)

流速：0.4 mL/min

进样量：10 $\mu$ L

离子源：电喷雾离子源

扫描模式：负离子模式

毛细管电压：4.0 KV

雾化气压力：45 psi

干燥气温度：350°C

干燥气流速：11 L/min

扫描范围：50-300m/z。

采用上述条件通过 LC-MS 质谱扫描对化合物进行鉴定，包括以下：

确定目标物色谱峰的保留时间，确定质谱及 m/z 测定数据，从而鉴定化合物的离子谱；

同时进行定量分析：根据标准品浓度对应的峰面积，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，并得到相应的回归方程。根据鉴定的生物蝶呤的峰面积，通过回归方程得到对应的量。

图 2 是本发明的一个实施例根据生物蝶呤标准品经反向高效液相色谱结果。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，得到的标准曲线和回归方程 ( $y=64407x+731.77$ )，其中， $R^2=0.9997$ ，表明该回归方程具有极高的拟合度。

图 3 是本发明的一个实施例中液质联用的质谱图，图 4 是本发明的一个实施例中液质联用的质谱优化图。离子谱的鉴定时，目标物生物蝶呤的分子量为 237，负离子模式下母离子

为 236，一级子离子为 192，一级最优碰撞能 10；二级子离子为 147，二级最优碰撞能 24；最终选用 192 和 147 作为生物蝶呤的定量离子进行分析。

参考图 1，图 1 为本实施例的生物蝶呤检测方法的流程图。

## 实施例 2

### 检测条件的优化

#### 1. 样品 pH

称取已知生物蝶呤浓度分别为 1 $\mu$ g/L、10 $\mu$ g/L 和 38 $\mu$ g/L 的标准样品若干份，分别加入盐酸与氢氧化钠调整样品溶液 pH 分别为 3、4、5、6、7、8、9，定容后经超声及离心后提取上清液 2mL，经 0.22  $\mu$ m 水相滤膜过滤后，采用实施例 1 中的步骤 2) 反相高效液相色谱，上机得到待测样品浓度。

结果如图 5 和图 6 所示，图 5 是本发明的另一个实施例的条件优化实验中样品不同 pH 条件下对不同浓度样品的检测结果。图 6 是本发明的另一个实施例的条件优化实验中样品不同 pH 条件下不同浓度样品的回收率结果。从图 5 和图 6 可以看出，样品的 pH 在 6 和 7 时回收率最好，低浓度 1 $\mu$ g/L 回收率均大于 100%，pH 为 3 和 4 回收率最差，pH 为 8 和 9 次之，因而确定样品最优测试 pH 为 6.5。

#### 2. 流动相比例

称取已知生物蝶呤浓度分别为 1 $\mu$ g/L、10 $\mu$ g/L 和 38 $\mu$ g/L 的标准样品若干份，分别加入甲醇与纯水体积比分别为 1: 9、2: 8、3: 7、4: 6、5: 5 的混合溶液作为萃取溶剂，定容后经超声及离心后提取上清液 2 mL，经 0.22  $\mu$ m 水相滤膜过滤后，采用实施例 1 中的步骤 2) 反相高效液相色谱，上机得到待测样品浓度。

结果如图 7 和图 8 所示及表 1 所示，图 7 是本发明的另一个实施例的条件优化实验中流动相不同甲醇-水比例下样品中生物蝶呤检测值比较结果。图 8 是本发明的另一个实施例的条件优化实验中流动相不同甲醇-水比例下样品的回收率结果。下表 1 为流动相不同甲醇-水比例下样品中生物蝶呤回收率的部分数据。

表 1. 流动相不同比例下两种 pH 生物蝶呤回收率

样品 pH	pH=6			pH=7		
	1 $\mu$ g/L	10 $\mu$ g/L	38 $\mu$ g/L	1 $\mu$ g/L	10 $\mu$ g/L	38 $\mu$ g/L
甲醇: 水=1: 9	121.1 $\pm$ 13.08	99.7 $\pm$ 0.2	99.4 $\pm$ 0.36	105.3 $\pm$ 1.16	100.5 $\pm$ 0.51	101.4 $\pm$ 0.61
甲醇: 水=2: 8	92 $\pm$ 0.1	95.8 $\pm$ 0.01	97.4 $\pm$ 0.06	73 $\pm$ 0.32	98.3 $\pm$ 0.09	101.3 $\pm$ 0.11
甲醇: 水=3: 7	89.3 $\pm$ 0.47	94 $\pm$ 0.2	96 $\pm$ 0.06	71.6 $\pm$ 0.67	97.3 $\pm$ 0.24	100.7 $\pm$ 0.1

甲醇：水=4：6	102.9±2.48	95.4±0.05	96.4±0.06	87±1.01	99.3±1	102.3±0.14
甲醇：水=5：5	94.9±0.59	92.6±0.27	94.5±0.09	78.8±0.7	96.8±0.1	99.2±0.1

从图 5~8 和表 1 中可以看出，加入甲醇与纯水体积比为 1：9 效果最好，pH=7 样品回收率大于 100%，pH=6 样品回收率在 10  $\mu\text{g/L}$  和 38  $\mu\text{g/L}$  时接近 100%，但低浓度 1  $\mu\text{g/L}$  时为 120%，进一步最优 pH 在 6~7 之间。

### 实施例 3

本实施例基于实地调研的海洋水体中生物蝶呤的检测。

#### 1.海洋微型生物样品收集与保存

2017 年 4 月份，对九龙江口和厦门湾的自然水体进行调查。九龙江口及厦门湾航次使用 GO-FLO 采水器采集水深 0.5-1.0 米处表层水。量筒准确量取水样 150mL，首先使用 10 $\mu\text{m}$  筛绢进行预过滤，再次通过 0.22 $\mu\text{m}$  聚碳酸酯膜过滤，过滤完毕后取滤膜置于 25mL 离心管中，-80 $^{\circ}\text{C}$  冷冻避光保存。

#### 2.颗粒物样品前处理

(1) 破碎：取滤膜至 10mL 离心管，加入 4mL 细胞裂解液（5%甲醇、95%纯水，盐酸调节至 pH=3.5），振荡 5min，置于碎冰中冷却 30 秒，如此反复六次，振荡结束后，每个样品超声破碎五分钟，每更换一个样品，超声探头置于甲醇中超声清洗 30 秒，防止样品间的污染。超声结束后，将离心管置于超声波清洗器中，恒温 30 $^{\circ}\text{C}$  超声水浴 30 min，使细胞完全破碎溶出有机物；

(2) 中和：超声水浴后，样品加入 1mol/L 的氢氧化钠 10 $\mu\text{L}$ ，将 pH 调至 6.5；

(3) 分离：样品中加入 4mL 氯仿，用于分离脂类化合物，随后振荡 3min，5000r/min 离心 10min；

(4) 提取：离心后分离水相和有机相，目标分析物位于上层水相；

(5) 过滤：取上清液过 0.22 $\mu\text{m}$  水相滤膜上机分析。

#### 3.样品检测

液相上机条件

色谱柱：岛津 Shim-pack VP-ODS（150 $\times$ 4.6 mm 5 $\mu\text{m}$ ）；

流动相 A=甲醇

流动相 B=纯水

洗脱方式：流动相 A 与 B 体积比 1：9，等度洗脱

检测条件：激发波长为 280 nm，发射波长为 444 nm



柱温：25-30°C

进样量：40 $\mu$ L

流速：0.7mL/min

保留时间：8.9 $\pm$ 0.1min。

本实施例中的质控结果如下表 2 所示：

表 2. 分析精度与线性范围结果

	方法检出限 LOD (ng/L)	方法定量限 LOQ (ng/L)	线性范围 AMR (ng/L)
生物蝶呤	1.86	6.20	6.20-20000

测定细胞内生物蝶呤时，会进行膜空白及回收率的检测，将已知浓度的生物蝶呤作为外标物质，并设置流程空白样品和膜空白样品，以相同预处理流程同时同地进行实验，以计算检出限和评估该方法的回收率。结果如下表 3 所示，本实施例中生物蝶呤的回收率在 89.1%-96.3%之间，满足 85%-115%的要求，方法重现性及准确性良好。

表 3. 回收率验证结果

设定值 ( $\mu$ g/L)	检测值 ( $\mu$ g/L)	回收率 (%)	回收率均值 (%)	RSD(%)
空白 1	未检出	-	-	-
空白 2	未检出	-	-	-
空白 3	未检出	-	-	-
2.51	2.31	92.0		
2.48	2.21	89.1	90.8	0.02
2.51	2.29	91.2		
4.9	4.72	96.3		
4.99	4.79	96.0	95.9	0.01
4.91	4.69	95.5		

多次检测膜空白均低于检出限 (1.86 ng/L)，回收率测试样品色谱图与膜空白色谱图如图 9。

本实施例在 2017 年 4 月调查了福建九龙江口和厦门湾航次的样品，研究发现，不同区域间，生物蝶呤的时空分布存在较大差异。通过对比实验发现，九龙江口生物蝶呤的浓度高于厦门湾，表现出河口大于海湾的结果。

表 4. 调查区域海洋微型生物体内生物蝶呤实际浓度

九龙江口 站位	经度 (E°)	纬 度 (N°)	生 物 蝶 呤(ng/L)	厦 门 湾 站 位	经 度 (E°)	纬 度 (N°)	生 物 蝶 呤 (ng/L)
A3	117.7861	24.4762	20.24	X1	118.1454	24.4098	6.03
A4	117.8063	24.4603	22.77	X2	118.1031	24.4149	9.25
A5	117.8243	24.4448	30.36	X3	118.0744	24.4348	11.38
A6	117.8483	24.4304	28.33	X4	118.0506	24.4500	2.09
A7	117.8894	24.4075	32.30	X5	118.0532	24.4736	10.13
A8	117.9201	24.3961	12.87	X6	118.0699	24.5041	7.90
A9	117.9655	24.4011	18.94	X7	118.0704	24.5327	9.13
A9-1	117.9885	24.4093	22.35	X8	118.1099	24.5633	4.78
JY1	118.0358	24.4212	13.46	X9	118.1358	24.5691	1.70
JY2	118.0683	24.4181	8.52	X10	118.1669	24.5827	2.68
JY3	118.0992	24.3936	10.87	X11	118.1728	24.5455	0.38
KM2	118.1300	24.3654	10.12	X12	118.2202	24.4926	0.40
				X13	118.1883	24.4449	0.40

注：水体样品过滤体积为 150 mL，以上结果均换算为环境浓度。

上面结合附图对本发明实施例作了详细说明，但是本发明不限于上述实施例，在所述技术领域普通技术人员所具备的知识范围内，还可以在不脱离本发明宗旨的前提下作出各种变化。此外，在不冲突的情况下，本发明的实施例及实施例中的特征可以相互组合。

## 说明书摘要

---

本发明提供一种海洋水体中生物蝶呤的检测方法，包括以下步骤：前处理：水样过滤后弃滤液，取颗粒物并加入细胞裂解液破碎，得到溶出液；调节所述溶出液的 pH，萃取后得到含有生物蝶呤的水相；2) 用反相高效液相色谱对所述含生物蝶呤的水相进行检测；其中，反相高效液相色谱采用等度洗脱，流动相为甲醇和水。本发明实施例所提供的海洋水体中生物蝶呤含量的检测方法通过特定条件的前处理，有效提升检测灵敏度，使检测限进一步缩小，能够适应海洋水体含量较低的现状，具有较高的精准性，对于揭示生物蝶呤在海洋浮游生物中尤其是微型生物生命活动的调控过程、加强对海洋化学的理解具有重要意义。

# 说明书附图

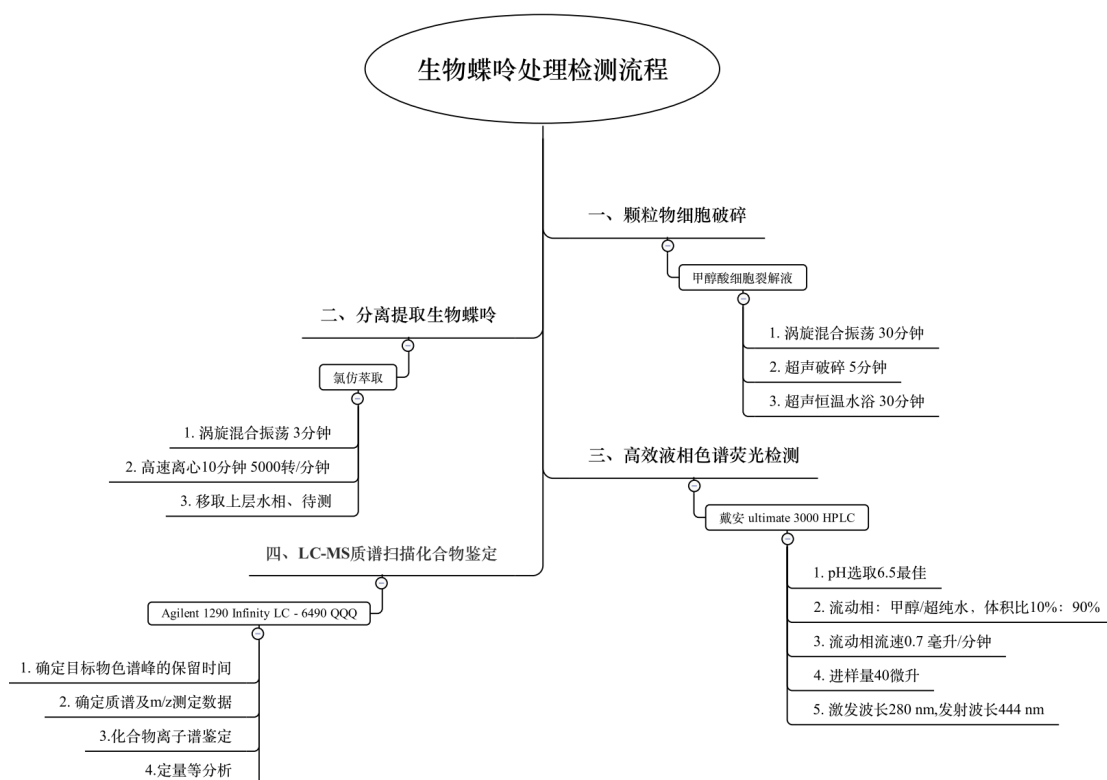


图 1

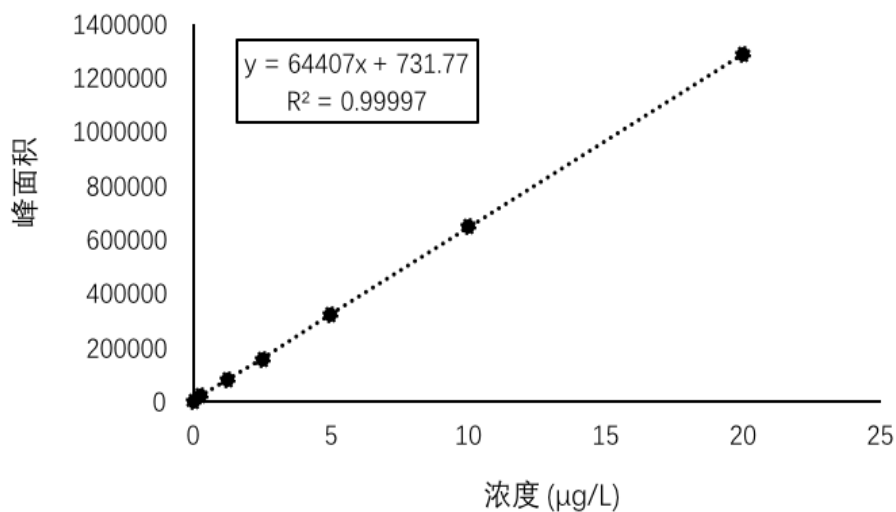


图 2

# 说明书附图

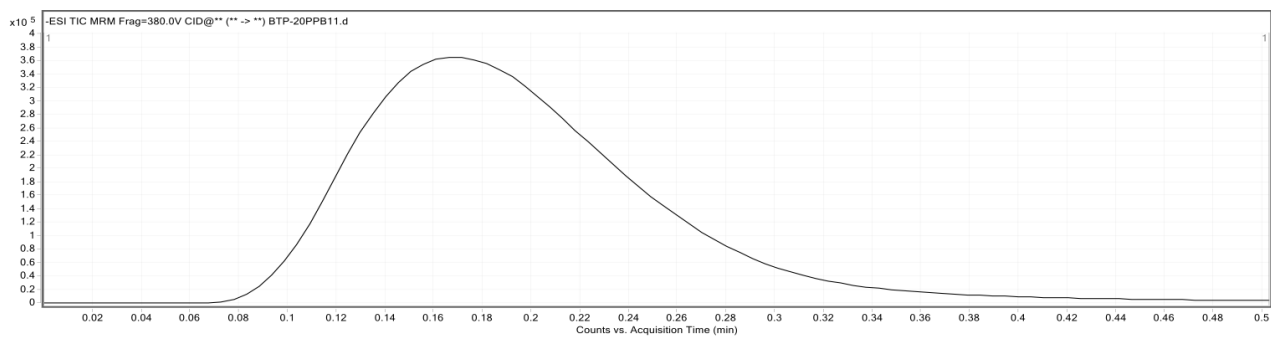


图 3

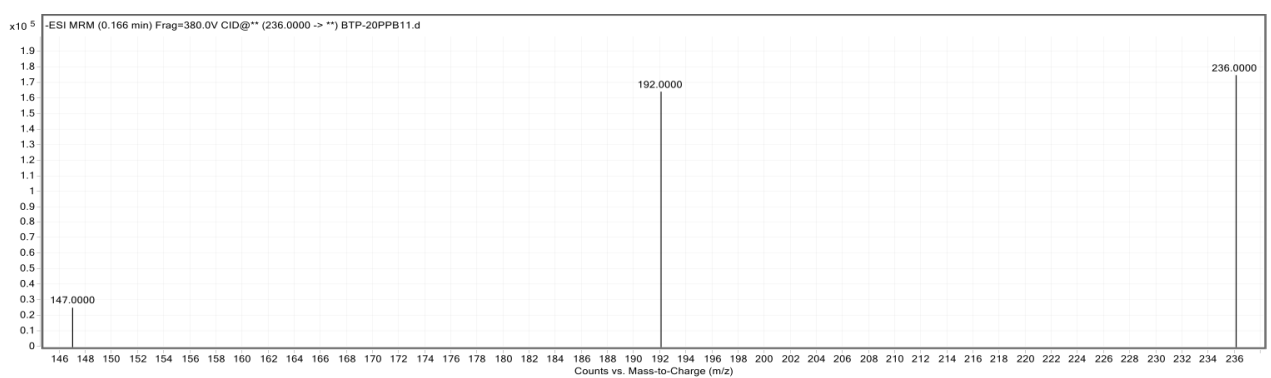


图 4

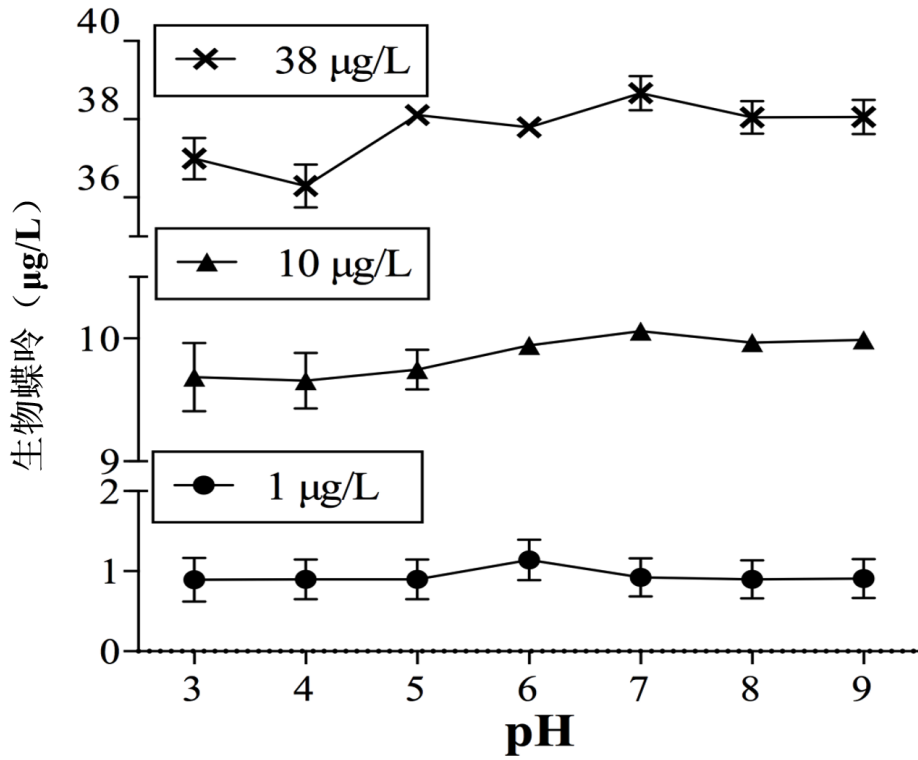


图 5

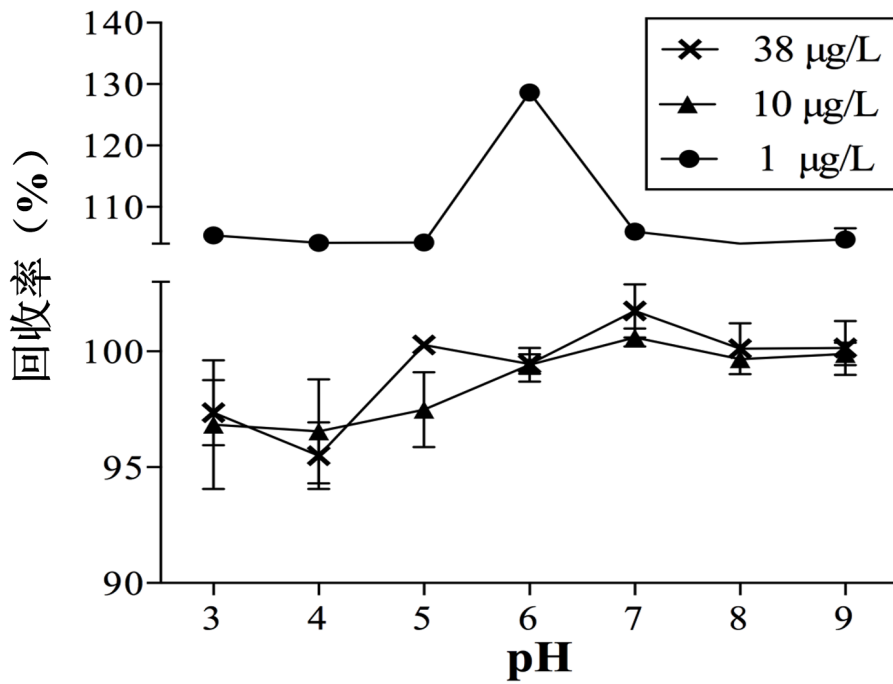


图 6

说明书附图

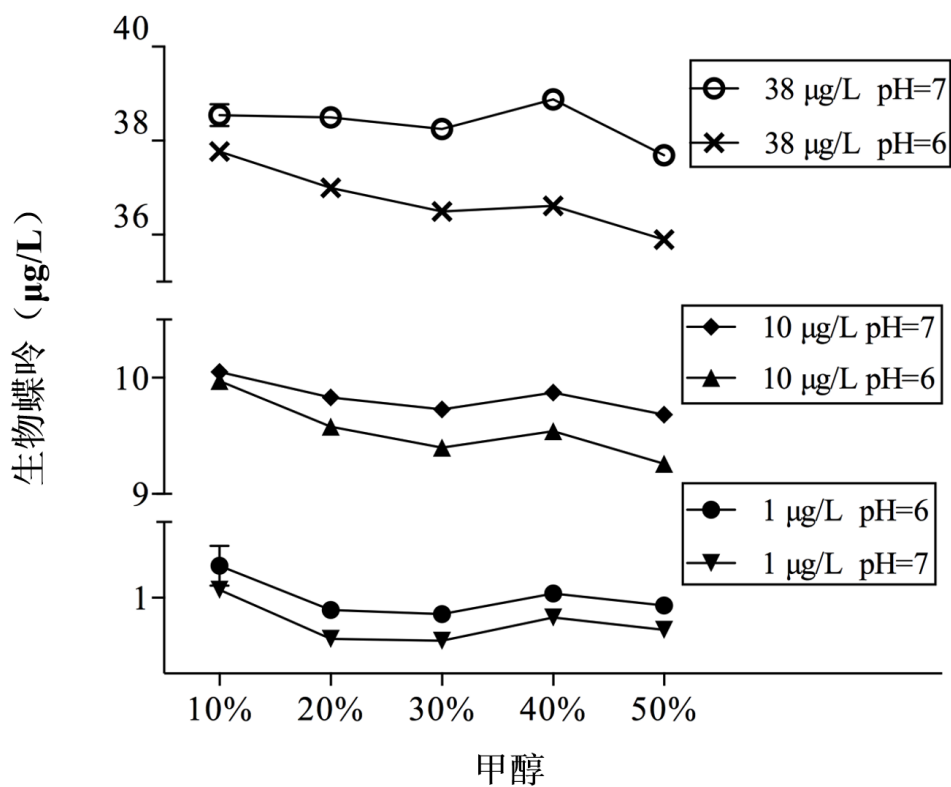


图 7

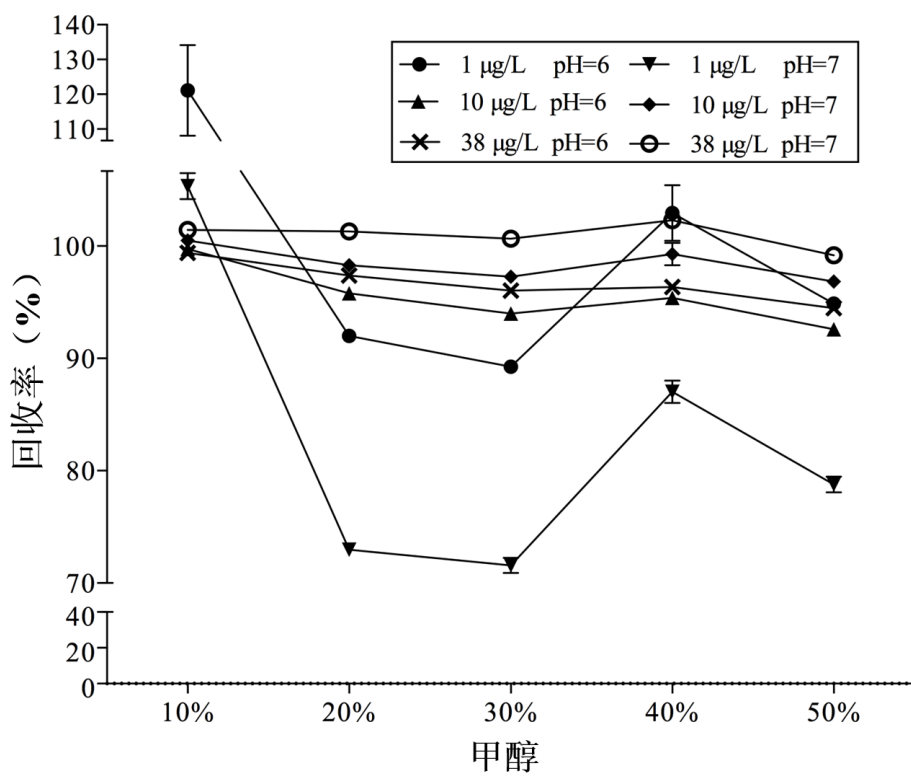
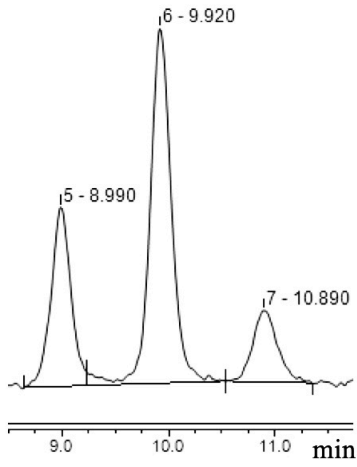
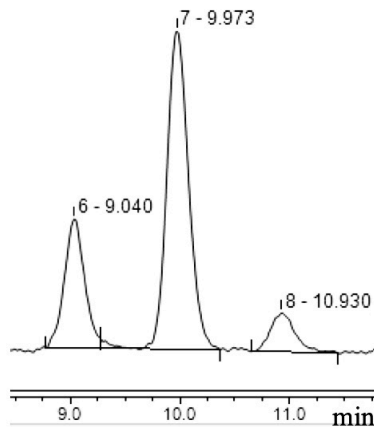


图 8

# 说明书附图

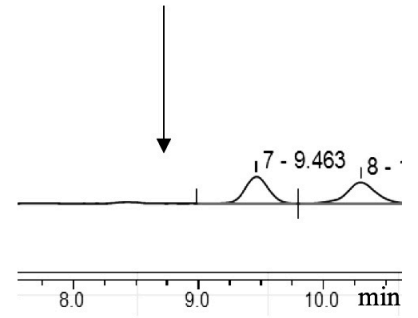


样品谱图1



样品谱图2

在 $8.9 \pm 0.1$  min范围  
无目标物峰



空白对照谱图

图 9