

## 分析测试

# 常用生物素测定方法的简介

王欣,王燕,高晓娟,杨平平

(山东轻工业学院食品与生物工程学院,山东 济南 250353)

**摘要:**生物素作为B族维生素,在机体代谢、医药、化学等工业已经广泛应用,生物素测定方法的研究也取得了迅速发展,总结了6种生物素的测定方法。随着检测技术的提高以及对检测结果精细度要求的提高,这些较为传统的方法也在适应现代检测技术的发展中有了新的提高与改进。对这几种方法的应用实例、适用范围、优缺点等做了简单介绍,提出了适用条件的选择,使得人们能够根据其实验要求,更好地选择理想的检测方法。对生物素检测新方法进行了展望。

**关键词:**生物素;研究;测定方法

中图分类号:O657

文献标识码:A

文章编号:0253-4320(2011)02-0089-06

## Introduction of biotin determination methods

WANG Xin, WANG Yan, GAO Xiao-juan, YANG Ping-ping

(School of Food and Biology Engineering, Shandong Institute of Light Industry, Jinan 250353, China)

**Abstract:** As a kind of B-complex vitamins, biotin has been widely used in industries as metabolism, pharmaceutical, chemistry, and so on. The research on biotin determination methods has also made rapid progress. In this paper, six methods of biotin determination are summarized. With the development of examination technology and the demand on more accurate testing result, the six traditional approaches have been improved. The application examples, application scope, advantages and disadvantages of the six methods are present in the paper. For researchers finding some appropriate, easy and ideal methods is presented. Finally, the development direction of biotin determination is suggested.

**Key words:** biotin; research; determination method

生物素(biotin)又名维生素H、维生素B7,作为羧化、脱羧和脱氢反应酶系的辅助因子,参与机体的脂类、蛋白质、碳水化合物跟核酸的代谢,是参与机体三大代谢的重要物质。由于生物素的独特功能,已被广泛应用于畜禽类饲养、医药、维生素制剂、饮料食品等行业中。

近几年,生物素的发展越来越多地受到人们的关注。生物素检测方法的研究,更是成为很多行业的研究焦点。生物素的测定方法众多,但作用原理、检测时效、针对范围各不相同。所以,在实际应用中,针对自身研究需要选择合适的生物素测定方法至关重要。这不仅需要以现有的实验条件为基础,还要根据实验目的和对原料中生物素含量的估计(毫克或微克级)以及操作人员对实验流程的熟识度来进行选择,以达到准确、快速解决生产及实验问题的目的。

## 1 常用生物素检测方法进展

生物素测定方法众多,找到简便高效的测定方法,对生产研究意义重大。微生物法、高效液相色谱法、自动浊度分析法、荧光法、酶联免疫法以及毛

细管电泳法是目前生物素测定方法中应用较为普遍的方法,也是在实际应用中常被选择的方法。随着检测技术的提高以及对检测结果精细度要求的提高,这些较为传统的方法也在适应现代检测技术的发展中有了新的提高与改进。根据最近的一些文献报道,本文对这几种方法的应用实例、适用范围、优缺点等做了简单介绍。

### 1.1 微生物法

微生物法是应用比较广泛的方法,主要用于检测少量的生物素,是利用生物素营养缺陷型菌株的特点建立起来的简便检测天然有机物中生物素含量的方法。微生物法中包括平板生长圈法、管碟法和液体培养管法等。

#### 1.1.1 平板生长圈法

微生物生长圈法可以成为检测复杂有机样品中生物素含量的一种简便方法。如若得出较好的生物素浓度与菌体生长量之间的关系,就能为工业生产提供很好的指导作用。

王丽丽等<sup>[1]</sup>用生物素缺陷型菌株(北京棒杆菌AS 1.299)进行试验,探讨生物素与菌体生长量的直接对应关系。此实验在加有供试菌的培养基上放置

收稿日期:2010-12-15

作者简介:王欣(1985-),女,硕士生,emmaxin1@163.com;杨平平(1961-),男,博士,教授,研究方向为生物制药,通讯联系人,jiangnanypp@163.com。

滤纸片,滴加待测样品及生物素的标准样品,通过检测标准生物素生长圈直径大小及时校正回归方程的方法以及根据生物素浓度与生长圈直径之间的关系图,确定选择平板生长圈直径大小在 1.0 ~ 2.0 cm 时,检测结果最为精确。

此实验的重点在于固体平板生长圈直径与生物素含量关系的确定,由此才能绘制准确的生物素标准曲线。此方法的检测极限为 1 ~ 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,适用于复杂天然有机物中生物素的检测。

### 1.1.2 管碟法

管碟法测生物素含量与平板生长圈法的操作较为相似,都以测定固体平板生长圈为基本方法。管碟法的测定相对更为准确,但操作步骤较平板生长圈法复杂。

郑巍振等<sup>[2]</sup>通过探讨生物素浓度的对数值与生长圈直径的线性关系,建立了一种快速简便检测生物素含量的方法。试验以产氨短杆菌(*Corynebacterium ammoniagenes*)为指示菌,在涂有供试菌的平板上,放置 4 只牛津杯,以相对位置的牛津杯中加入质量浓度 75  $\mu\text{g}/\text{L}$  的生物素标准液为中心浓度来检测一系列生物素浓度的生长圈,绘制生物素标准曲线。试验关键是减少不同培养皿及不同批次检测的误差,需采用修正直径  $D_i$ ,  $D_i$  的计算方法为  $D_i = d_i + (T - t_i)$  ( $T$  为全部培养皿中心圈直径平均值;  $t_i$  为一种浓度下中心圈平均直径;  $d_i$  为生物素标准液的平均直径)。生物素质量浓度为 15 ~ 90  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,测定方法的平均回收率值一般在 95% ~ 105%,总平

均回收率为 101.0%,准确率较好。此方法的检测极限为微克级,可用于饲料级生物素等含量的测量。

管碟法检测生物素具有操作简单、重复性好、灵敏度高、抗杂质干扰等特点,为微生物法检测生物素含量提供了一种新的选择,也可为那些采用一般理化方法检测困难,但可以为微生物生长因子的活性物质的定量检测提供参考。

### 1.1.3 液体培养管法

液体培养管法利用检测生物素标准样品系列吸光度值的方法绘制生物素标准曲线,在操作中更为简便。

汤水平等<sup>[3]</sup>采用液体培养管法测定了婴幼儿配方乳粉中游离生物素的含量。试验利用植物乳杆菌对生物素有很高灵敏性的特异性,通过其生长情况来测出乳粉中游离生物素的含量。样品通过 0.3 mol/L 硫酸溶液酸化处理,进行测定即可得出良好的测定结果。基本流程:配制生物素标准溶液若干 $\rightarrow$ 以试管盛装 $\rightarrow$ 铝箔纸盖口 $\rightarrow$ 高温灭菌 $\rightarrow$ 毛细管滴加菌悬液(1 d) $\rightarrow$ 培养 $\rightarrow$ 于 550 nm 检测吸光度 $\rightarrow$ 绘制生物素标准曲线图。结果显示生物素质量浓度在 0.1 ~ 0.6 ng/mL 时呈良好线性关系,加标平均回收率在 102.15% ~ 102.28%。该实验的重现性好,方法简便,检测数量级为微克级,为食品工业测定游离生物素做了指导。

从以上实验可以看出,平板生长圈法、管碟法和液体培养管法,都是基于细菌的培养以及绘制生物素标准曲线法进行生物素测定的微生物法。此法的

(上接第 88 页)

关注。微反应器内,由于分子扩散和热传导使反应在很短时间内发生,与其他反应器相比能够更精密地控制反应,可以精确合成目标产物。微反应器内发生的反应是连续性的,所以可以合成比反应器体积量大得多的产物,同时在实际工业生产中已经开始使用这种微反应器。

获奖者在表明微反应器特性的同时,也证明其是环境协调友好的合成反应器。苯等芳香族化合物引入有机阳离子和卤素的反应,可以有选择性地引入 1 个基团,而引入 2 个或 2 个以上的基团非常困难,使用微反应器显示出非常高的选择性,这样的结果表明微反应器中的分子扩散在很短的时间内发生。基于这一概念,获奖者对 JST 进行了“资源循环型有机碘化合物功能材料的电解过程”研究。此外,这一概念,它可以有效地控制合成聚合物的分子

质量及分子质量的分布,在微反应器中的阳离子聚合、自由基聚合、阴离子聚合中得以证实。特别是阳离子聚合,聚合反应中不添加任何添加剂,结果也表明,无需超低温条件就可以很容易地进行阴离子聚合。

在精细化学品合成中,以及实验室中经常用保护措施和辅助手段,实际生产中,从资源和成本来看不是最好的。利用微反应器可以精确控制反应条件,不使用任何保护措施简单地直接合成目标产物。例如:酯与有机锂化物发生剧烈的反应,通过精确控制微反应器中反应物的滞留时间,在没有任何保护措施的条件下,酯与有机锂化物可以共存。同时,有机锂化物反应的工业化瓶颈是超低的反应温度(-78 $^{\circ}\text{C}$ ),而在微反应器中只需要在室温或者 0 $^{\circ}\text{C}$  下就可以发生该反应。因此,微反应器今后有可能大大改变传统意义上的化学合成。■

局限性在于虽然该方法的灵敏性较高,但是由于大多数菌株都不是专一性的,因此会带来较大的检测误差,并且整个操作流程费时、费力,需18~24 h的细菌培养来处理样品<sup>[4]</sup>。

## 1.2 高效液相色谱法

### 1.2.1 高效液相色谱法

高效液相色谱(HPLC)法由于具有测定速度快、分辨率和灵敏度高等特点,而成为生物素测定的首选方法,一些学者已用该方法测定了多维制剂和饲料中的生物素含量,并取得了满意的结果。通过对样品的前处理、富集、检测波长的确立等步骤,对HPLC过程的流动相进行讨论,可直接检测出生物素的含量。

刘加庆等<sup>[5]</sup>利用高效液相色谱仪对生物素的检测进行研究,在215 nm条件下,利用0.05 mol/L的 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ /乙腈质量比为9/1的流动相,获得生物素较好的峰形和滞留时间。利用此方法制作了生物素标准品的线性回归曲线,对糖蜜中的生物素进行了定量检测。此法的局限性在于所被测定的原料中,生物素含量不能太少,这使得高效液相色谱法在测定生物素含量的应用上欠缺高灵敏性。

肖晶等<sup>[6]</sup>把HPLC法应用于保健食品中生物素含量的测定,使用Hypersil ODS色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),以乙腈+0.05 mol/L磷酸二氢钾(15+85, pH=3.5)为流动相,检测波长200 nm进行检测。该实验中,试样中生物素提取是关键。试样的提取选择水、甲醇、流动相3种提取剂进行分析,用流动相溶解超声提取的试样,生物素提取较完全,提取率达到80%以上,效果良好。分析检出极限为0.5 mg/kg。该方法对于市售的一般片剂、胶囊、胶丸、粉剂、口服液都适用,但不适用于某些成分复杂、含油脂、色素较多、杂质干扰大的保健食品。

### 1.2.2 反相高效液相色谱(RP-HPLC)法

根据被测样品所含成分的不同发展的RP-HPLC法已经应用于发酵、乳品等行业的检测。

蒲跃进等<sup>[7]</sup>利用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定发酵液中的生物素含量。实验过程:发酵液→100℃水浴1 h→离心→制成待测样品→以安捷伦Zorbax SB-C18(4.6 cm × 250 cm, 5 μm)为色谱柱,以体积分数91.5%的 $\text{K}_2\text{HPO}_4$ (0.04 mmol/L)与体积分数8.5%的 $\text{CH}_3\text{CN}$ 混合液为流动相,调pH为2.5,紫外检测波长215 nm→柱层析。此方法获得的生物素吸收峰面积与质量浓度的线性相关系数达0.9999,测定结果较为可靠。

商允鹏等<sup>[8]</sup>使用HyperSep C18固相萃取柱进行纯化、浓缩。通过样品前处理、固相微萃取等步骤,并确定了柱温为50℃时检测波长:Ex为340 nm,Em为395 nm,标定了生物素的标准曲线,建立了反相高效液相色谱、荧光检测器测定婴儿配方乳粉中生物素含量的方法。

### 1.2.3 超高效液相色谱-质谱联用

单纯的HPLC法的限制在于生物素没有典型紫外(UV)发色团,用紫外检测器必须在低UV波长下测定,因此高效液相色谱法的灵敏度比较低,对于一些生物素含量比较低的样品不能检测。结合超高效液相色谱和质谱的优点,建立的超高效液相色谱-质谱联用的检测方法,克服了单纯HPLC法的缺点,使得其应用范围更广,灵敏度更高。

刘进玺等<sup>[9]</sup>通过对生物素标准样品的测定,以生物素的质量浓度和峰面积为纵横坐标,绘制线性关系曲线。测得生物素质量浓度在0.010~5.000 μg/mL线性良好。样品通过超声提取并通过0.45 μm滤膜后待测。以Acquity UPLC BEH C18柱(2.1 × 50 mm, 1.7 μm)为色谱柱分离,以电喷雾电离串联质谱在正离子选择反应监测(SRM)模式下进行测定。流动相为V(乙腈):V(0.1%甲酸)=15:85,流速为0.2 mL/min,色谱柱温度为40℃,进样量为2 μL;定量离子为227.1,定性离子为227.1、97.1、123.0,二级碰撞室内对应的碰撞能量分别为:11、22、37 V。该方法检测极限0.2 mg/kg。

由以上具体实验可以看出,HPLC法具有方便、准确等优点,应用范围较广,涵盖食品、保健品、乳品、饲料、工厂原材料等领域。结合质谱法联用,可达到灵敏度高、试样供试范围广的实用优点。但与微生物法相比,HPLC法对样品的前处理要求较高,要求样品纯度高,无杂质,复杂化了前期人工处理样品的工序,但后期样品检测过程不需大量人力物力,且准确方便,此法也成为一种测定生物素含量的广泛应用的方法。

## 1.3 自动浊度微生物分析仪法

应用自动浊度微生物分析仪对样品进行自动稀释,自动检测标准溶液和样品溶液中的菌体生长浊度,通过测定细菌生长和繁殖强度可间接地测定出样品中的生物素含量。

黎旭茹等<sup>[10]</sup>参考美国公职分析化学家协会(AOAC)的微生物分析法,应用自动浊度微生物分析仪,准确定量测定维生素营养片剂中的痕量生物素。试验采用植物乳杆菌标准菌株Laetobaeillus

plantarum(ATCC 8014)作为供试菌。在一定生长条件下,Lactobacillus plantarum 的生长与繁殖强度与外部溶液中生物素的含量呈现线性关系。因此利用分光光度计测定接种培养后的标准溶液和样品溶液的透光度,可间接地测定出食物样品中的生物素含量。试验过程:用标准生物素制作的标准系列管→650 nm 下测定吸光度→绘制标准生物素曲线→制作标准样品管→121℃下灭菌 5 min,样品管→接种供试菌→35℃培养 18 h→650 nm 波长下检测吸光度值→与标准生物素曲线进行对比→得出样品中生物素含量。确定此方法的线性质量浓度范围 0.05~0.90 ng/mL,检测结果可精确至微克级。试验中应注意油脂与残留生物素的影响,保持试验器皿清洁。

与 HPLC 法相比,此法需要对供试菌进行培养,所以检测时间较长,但其操作简单、灵敏度高、处理量大,适合生产企业的批量质量控制和检测<sup>[11]</sup>。该法也适用于准确测定多种维生素营养片中生物素的含量,已被营养保健食品生产企业采用于日常质量控制和检验,并且这是一种可以达到痕量级的生物素检测方法。

#### 1.4 荧光分光光度法

荧光分光光度法测定生物素灵敏度高,方法简便快速,检出量可达  $10^{-6}$  级甚至  $10^{-9}$  级,可供微量分析。但此方法对供分析试样要求高,试样应无色、无浑浊<sup>[12]</sup>。而且,由于荧光分析法测定生物素是基于色氨酸荧光,高色氨酸含量将对检测有影响。所以该法不适用于生物材料的生物素检测<sup>[13]</sup>。

王福荣等<sup>[12]</sup>应用于谷氨酸发酵研究,通过对生物素试样(玉米浆)离心、上清经 D4006 大孔吸附树脂处理、除杂后,用分光光度法测定了生物素含量。生物素回收率达 90%,检测灵敏度为 1 ng/mL,测定质量浓度范围为 5~40 ng/mL。

荧光分光光度法测定生物素含量较简便,每个试样只需几分钟左右,可用 96 孔板做同步测定。但需要掌握好试样的反应时间,反应时间对试样的测定结果影响较大。由于其原理是基于生物素与亲和素的结合,亲和素的市场造价较高,所以虽然其检测方法简便,但推广还有待进一步发展。

#### 1.5 酶联免疫法

ELISA 法即酶联免疫法,测定原理基于抗原-抗体反应。生物素和亲和素的结合反应快而专一,由此建立的 ELISA 法具有高度的特异性和准确度。与 HPLC 法相比,ELISA 法省去了样品冗长而烦琐

的前处理过程,更适合于成分较为复杂难于分离处理的样品检测。

徐幼平等<sup>[14]</sup>用该法测定微生物发酵液中生物素的含量,试验过程:生物素→用聚苯乙烯微孔板包被→4℃过夜→PBST 洗涤→加牛血清封闭液→37℃反应→PBST 洗涤→加样品→37℃反应 30 min→每孔加入 100 μL 一定浓度的 HRP-BSABNHS 交联物→37℃,30 min 反应→用邻苯二胺底物液显色。此方法的关键在于,HRP 应先与 BSA 结合,再与 BNHS 交联;另一方面,HRP-BSA 与 BNHS 交联反应首先要求有合适的摩尔比,然后对 PBS 透析,最后经饱和硫酸铵沉淀,尽量使游离生物素减少到最低程度,否则将严重影响检测结果。此方法回收率保持在 93% 左右。

Yang<sup>[15]</sup>发展了一种测定基因转殖酵母菌培养液中生物素的灵敏 ELISA 竞争测定法。酶标板先用猪肺炎支原体包被,再依次用兔抗猪肺炎支原体抗血浆、羊抗兔 IgG-生物素温育形成固态生物素,同溶液中的生物素(标准液或试样)竞争有限量的链霉亲和素-HRP。建立了在 50~2 000 ng/L 范围内生物素的标准曲线。检测限为 83 ng/L,比文献报告的 ELISA 法测生物素的最低测定浓度小 1 000 倍。该实验重点在于选择了合适的包被蛋白,用猪肺炎支原体作包被蛋白,提高了 ELISA 结果的精确度和准确度,可供测定其他介质中生物素的参考。

ELISA 法的简便性跟准确性尤为突出,选择更廉价、准确度高的包被蛋白,有助于 ELISA 法的推广与发展。

#### 1.6 毛细管电泳法与毛细管电色谱法

##### 1.6.1 毛细管电泳(CE)法

毛细管电泳又叫高效毛细管电泳(HPCE),是近年来发展最快的分析方法之一。毛细管电泳除了比其他色谱分离分析方法具有效率更高、速度更快、样品和试剂耗量更少、应用面同样广泛等优点外,其仪器结构也比高效液相色谱法简单,造价更低。已广泛地应用于小分子、小离子、多肽及蛋白质的分离分析研究。

Schiewe 等<sup>[16]</sup>用毛细管区带电泳法测定了生物素的含量。实验采用装有熔融硅毛细管和圆柱状二极阵列检测器的 Hewlett-Packard<sup>3D</sup> CE 系统,将标样溶解到 2 倍水中,经滤膜抽滤后进行检测。检测条件为 -30 kV、25℃,检测极限为 3.37 μg/mL。

##### 1.6.2 毛细管电色谱(CEC)法

毛细管电色谱是新近发展起来的一种高效的

微分离技术。它作为一种新型微柱分离技术,具有高效、高选择性、高分辨率和快速分离等特点。CEC技术结合了毛细管电泳电渗流驱动的高效性和高效液相色谱溶质保留的高选择性。激光诱导荧光检测器(LIF)是目前检测方法中灵敏度最高的一种方法,其浓度检出限为 $10^{-10} \sim 10^{-12}$  mol/L。毛细管电色谱与荧光检测器联用,增强了检测的灵敏度。高灵敏度检测对CEC有着重要的意义,这意味着可以使用更小内径的毛细管,外加更高电场强度,获得更高的分离效率;同时也可以处理更小量样品,使高效、快速分离技术成为超痕量样品分离检测的有力工具<sup>[17]</sup>。

Thomas等采用在线免疫亲和电色谱(IACEC)选择性富集了异硫氰酸荧光素(FITC)衍生化的生物素,经过洗脱后通过CE-LIF实现检测,从而建立了IACEC-CE-LIF定量分析FITC-生物素的新方法。该方法的加标回收率高达89.4%,相对标准偏差(RSD)小于1.8%,显示出具有良好的灵敏度和重现性。

毛细管电色谱与各种检测器的联用,满足了生产实际中的检测要求,为生物素检测方法的发展提供了强有力的空间。

## 2 生物素测定方法展望

生物素测定方法发展迅速,涵盖的检测领域也越来越广。但是新兴的生物素检测技术在应用中还不是很广泛,技术不是十分的成熟,但是其研究思想与方向为生物素测定的方法带来冲击与更大的发展空间。这些检测方法主要以仪器分析法为主,检测范围通常在微克级以上。新方法中有报道的微分脉冲伏安法、质谱法、气相色谱法等方法。

微分脉冲伏安法也是一种近年来发展很快的生物素测定方法。湛英武等<sup>[18]</sup>利用微分脉冲阳极伏安法研究了生物素的电化学性质。该实验室用金电极作为工作电极,在pH 3.59的HAc-NaAc介质中,生物素的峰电位为0.46 V,生物素浓度在 $1.0 \times 10^{-6} \sim 2.0 \times 10^{-5}$  mol/L范围内与峰高呈线性关系<sup>[19]</sup>。

质谱法多与其他方法连用,色-质联用是目前用于测定生物素的最常用的方法,尤其在食品工业中,最为常用。应用质谱可以解决食品工业中单用色谱无法检测的难题,使得检测问题从定性的角度上得以解决。Yomota等<sup>[20]</sup>将生物素经过2-硝基苯肼(2-nitrophenylhydrazine)衍生后,再经高效液相色

谱-电喷雾质谱联用检测,其检出限可达pmol水平<sup>[21]</sup>。

气相色谱(GC)法应用于生物素研究的报道不多,商允鹏等<sup>[22]</sup>对GC法做了总结,即生物素由于自身熔点为232~233℃而难于被气化。因此,生物素在测定中要转化为易挥发的硅烷。De Leen-heel<sup>[23]</sup>采用2% OV-17柱,用双乙酰胺(BSA)和三甲基氯硅烷(TMCS)将生物素硅烷化后测定。Gaudiano测定药物制剂中生物素含量,将生物素转化为亚硝基生物素,经氯仿萃取、40%硫酸铵盐析、TLC法进行提纯后与BSA、TMCS所用,形成硅烷后用22烷作内标,进行测定,得出了较为准确的结果。可见,此法对生物素的烷基化过程使得测定样品的前处理过程较为复杂,不适合工业化应用。

## 3 生物素测定方法的评价

生物素检测方法繁多,使我们选择起来有些无从下手,生产实践中,要根据具体实验环境和条件选择适当的方法进行测定。笔者根据文献总结,在常用的几种方法中对其优缺点做了分类介绍,并总结如下。

微生物法是应用比较普遍的生物素测定方法,此法适合实验室进行分析测定,工厂也可以采用,因为此法原理简单,灵敏性高,需要成本较低。但是此法要求需要有稳定的试验菌株,且耗时长,对操作人员的技术要求较高,不适合产品周期短的工厂适用,所以高效液相色谱法是现在许多工厂应用较多的方法,如果有较完整的前期样品处理方案,将会使高效液相色谱法的应用更为稳定快速。但是高效液相色谱法的缺点在于仪器设备造价过高,且样品的前处理较为复杂,不适合样品较为复杂的生物素测定。自动浊度微生物仪法、荧光分光光度法、ELISA法与高效液相色谱法的共同点是都借助高精密的仪器来进行后期的样品测定,其特点为前期样品处理量大,后期检测较为方便简单<sup>[24]</sup>。毛细管电泳法的检测方法较为简便,其突出特点是不需要对样品进行烦琐的预处理,而且毛细管电泳法发展的趋势是可以与更多的反应器联用,如质谱、荧光反应器等,可以结合实验要求与样品的特点更有针对性的进行检测,提高检测的灵敏度与稳定性,具有广阔的发展空间。

## 参考文献

[1] 王丽丽,仪宏,王瑞果,等.微生物生长法检测生物素含量方法

- 的研究[J]. 中国调味品, 2008(2): 58-60.
- [2] 郑巍振, 裘娟萍, 赵春田, 等. 一种简捷的生物素测定方法[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(10): 135-137.
- [3] 汤水平, 李冰, 彭灿, 等. 微生物法测定婴幼儿配方乳粉中游离生物素含量的研究[J]. 食品与机械, 2008, 24(5): 96-98.
- [4] 李兰. 高效液相色谱电化学检测维生素预混料中生物素含量[J]. 国外畜牧学: 饲料, 1998(4): 26-27.
- [5] 刘加庆, 周丽, 田勇. HPLC 检测生物素的方法研究[J]. 发酵科技通讯, 2008, 37(2): 17-20.
- [6] 肖晶, 杨大进, 张馨之. 高效液相色谱法测定保健食品中的生物素[J]. 中国食品卫生杂志, 2006, 18(3): 234-236.
- [7] 蒲跃进, 周占琴, 杨明明, 等. 利用反相高效液相色谱法测定发酵液中的生物素含量[J]. 西北农林科技大学学报, 2007, 35(5): 73-76.
- [8] 商允鹏, 张志国, 韩建春, 等. SPE-HPLC 法检测婴幼儿配方乳粉中生物素的质量分数[J]. 中国乳品工业, 2009(2): 53-56.
- [9] 刘进玺, 钟红舰, 董小海, 等. 超高效液相色谱-质谱联用测定维生素预混合饲料中生物素含量[J]. 分析实验室, 2010, 29(7): 62-64.
- [10] 黎旭茹, 张沁, 刘春丽. 应用自动浊度微生物分析仪测定维生素片剂中的生物素[J]. 广州医药, 2006, 37(6): 57-60.
- [11] 杨大进, 方从容. 进口保健食品中维生素检测方法现状及展望[J]. 中国食品卫生杂志, 2004, 16(1): 62-65.
- [12] 王福荣, 张琳, 俞津婷. 生物素测定法的研究[J]. 中国酿造, 1994(1): 17-19.
- [13] 刁立兰, 李秀珍, 王燕. 生物素测定方法的应用现状[J]. 饲料工业, 2007, 28(16): 46-47.
- [14] 徐幼平, 陈正贤, 吴建祥, 等. 微生物发酵液中生物素含量的 ELISA 测定[J]. 微生物学通报, 2000, 27(1): 47-50.
- [15] Yang Hong. A sensitive competitive ELISA determination of biotin in transformed yeast culture media[J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2003, 12(4): 201-206.
- [16] Schiewe J, Gobel S, Schwarz M, et al. Application of capillary zone electrophoresis for analyzing biotin in pharmaceutical formulations—a comparative study[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 1996, 14: 435-439.
- [17] 林子庵, 庞纪磊, 黄慧, 等. 毛细管电色谱联用技术的研究进展[J]. 色谱, 2010, 28(3): 273-283.
- [18] 湛英武, 陈静. 微分脉冲伏安法测定生物素[J]. 分析试验室, 1997, 16(6): 54-56.
- [19] 湛英武. 可可碱的微分脉冲伏安行为及测定[J]. 武汉化工学院学报, 1989(1).
- [20] Yomota C, Ohnishi Y. Determination of biotin following derivatization with 2-nitrophenyl-hydrazine by high-performance liquid chromatography with on-line UV detection and electrospray-ionization mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2007(1142): 231-235.
- [21] 殷晓红, 杨金宝, 张潇宇, 等. 婴儿配方食品中生物素测定[J]. 中国乳品工业, 2002, 30(5): 117-119.
- [22] 商允鹏, 张志国, 韩建春, 等. 食品中生物素分析方法现状及发展趋势[J]. 中国乳品工业, 2009, 37(6): 35-37.
- [23] DE L A. Modern Chromatographic Analysis of the Vitamins[M]. New York: Marcot Dekoker, 1985: 447.
- [24] 王福荣, 俞津婷, 张琳. 利用异硫氰酸荧光素标记亲合素荧光法测定生物素含量[J]. 氨基酸和生物资源, 1994(3): 47-49. ■

## 58 个化学化工类项目获得 2010 年度国家科学技术奖

材料科学家师昌绪院士获国家最高科技奖, 大庆油田稳产技术获国家科技进步特等奖。

2011 年 1 月 14 日上午, 2010 年度国家科学技术奖励大会在北京人民大会堂隆重举行, 胡锦涛、温家宝等党和国家领导人向获奖者颁奖。本年度共有 349 个通用类项目获得国家科技奖, 其中包括 58 个化学化工类项目。国家最高科学技术奖授予了著名材料科学家师昌绪院士和著名血液学专家王振义院士, 而大庆油田高含水后期 4 000 万 t 以上持续稳产高效勘探开发技术项目则摘得国家科技进步特等奖。

据悉, 师昌绪院士作为我国高温合金材料的开拓者之一, 发明了国内第 1 个铁基高温合金, 领导开发了我国第一代空心气冷铸造镍基高温合金涡轮叶片, 可用作耐热、低温材料和无磁铁锰铝系奥氏体钢等, 具有典型的开创性。他曾多次参加或主持制定我国有关冶金材料、材料科学、新材料全国科技发展规划, 对相关领域发展作出了重要贡献。

大庆油田针对后备资源接替不足、开发难度日益增大等突出问题, 组建成立聚合物驱、复合驱两大项目部, 加快重点项目攻关进程, 在长垣水驱开发技术、三次采油技术、

外围有效开发技术、海塔盆地增储上产技术等一系列工艺上取得突破性进展, 为大庆油田可持续发展提供了强大支撑。这些项目形成的重大科技成果, 被授予本年度国家科技进步特等奖。

此外, 西气东输工程技术及应用等 3 个油气类项目被授予科技进步一等奖, 烟台万华科技创新系统工程等 31 个化工项目被授予科技进步二等奖, 显示出化工科技的集成创新能力稳步提升, 成为推动行业跨越式发展的支撑。其中, 重油催化裂化后反应系统关键装备技术开发与应用项目经过十几年的系统科研攻关, 成功解决了重油催化裂化装置后反应系统中由于油气返混导致目的产品损失等问题。

离子液体的构效关系及其化学工程基础研究等 13 个获国家自然科学基金的化学类项目, 绝大多数都在国际重要刊物上发表论文, 并解决了产业发展所面临的科学和技术问题。催化氧化新材料——空心钛硅分子筛、新型环保复混肥和有机肥的制备技术与应用等 10 个摘得国家技术发明奖的化工类项目, 大都取得了多项国家专利, 许多成果达到国际领先水平。(章敏)