

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.03.010

UPLC-MS/MS 同时测定保健食品中洛伐他汀及其类似物

Simultaneous UPLC-MS/MS analysis of lovastatin and its analogue for functional foods

韩 智^{1,2} 龚 蕾^{1,2} 王会霞^{1,2} 朱晓玲^{1,2}

HAN Zhi^{1,2} GONG Lei^{1,2} WANG Hui-xia^{1,2} ZHU Xiao-ling^{1,2}

王 彬^{1,2} 曹 琦^{1,2} 吴婉琴^{1,2}

WANG Bin^{1,2} CAO Qi^{1,2} WU Wan-qin^{1,2}

(1. 湖北省食品质量与安全监督检验研究院, 湖北 武汉 430070;

2. 湖北省食品质量安全检测工程技术研究中心 湖北 武汉 430070)

(1. Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Wuhan, Hubei 430070, China; 2. Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Quality and Safety Test, Wuhan, Hubei 430070, China)

摘要:建立超高效液相色谱—串联质谱法同时检测保健食品中 5 种降脂类药物(洛伐他汀、辛伐他汀、美伐他汀、去羟基洛伐他汀、洛伐他汀羟酸钠盐)的方法,样品以甲醇超声提取后,用 Waters Acquity HSS T3 色谱柱分离,乙腈—0.1% 甲酸水溶液梯度洗脱,流速为 0.3 mL/min,电喷雾离子源正负离子同时扫描,多反应监测(MRM)方式检测,外标法定量。结果表明:该条件下 5 min 内可准确地定性定量分析 5 种化合物,分离度高,检出限为 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$,加标回收率为 94.6%~105.7%。用此方法检测 17 批市售降血脂保健食品,其中 1 批次样品测出洛伐他汀、洛伐他汀羟酸钠盐、去羟基洛伐他汀。该方法简便、快速、灵敏、准确,适合于保健食品中的洛伐他汀及其类似物的快速测定。

关键词:超高效液相色谱—串联质谱;保健食品;洛伐他汀类似物

Abstract: A ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric (UPLC-MS/MS) assay method has been developed and fully validated for the simultaneous quantification of lovastatin, simvastatin, mevastatin, lovastatin sodium hydroxide, dehydro lovastatin. The samples were extracted with methanol and separated on a Waters Acquity HSS T3 column.

基金项目:国家重点研发计划资助(编号:2018YFC1604000)

作者简介:韩智,男,湖北省食品质量与安全监督检验研究院助理工程师,硕士。

通信作者:王会霞(1973—),女,湖北省食品质量与安全监督检验研究院高级工程师,硕士。E-mail: 972567848@qq.com

收稿日期:2018-11-15

The mobile phase consisting of 0.1% aqueous formic acid solution and acetonitrile using gradient elution at a flow rate of 0.3 mL/min. The positive and negative ions were scanned simultaneously. The multiple reaction monitoring (MRM) mode was used for detection. The results showed that the five compounds were separated well within five minutes. The limits of detection and the limits of quantification were 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The recoveries were between 94.6%~105.7%, and the relative standard deviation of the methods were lower than 10%. 17 batches of hypolipidemic health food were tested by this method, lovastatin, lovastatin sodium hydroxide salt and dehydro lovastatin were detected in one batch of samples. The method was simple, rapid, sensitive and accurate, and it was suitable for the rapid determination of lovastatin and its analogues in functional foods.

Keywords: ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric (UPLC-MS/MS); functional foods; lovastatin and its analogues

保健食品亦称功能性食品,具有调节人体功能的作用,但不以治疗疾病为目的,适于特定人群食用^[1]。据报道^[2],2018 年中国保健品的产值达到 4 000 亿元人民币。高血脂等心脑血管疾病成为严重危害中国人民健康的隐形杀手,降血脂类保健食品在保健食品中占有重要地位。总黄酮、茶多酚、总皂苷、总萜醌、粗多糖是降脂保健食品的主要功能因子,而银杏叶、绞股蓝、山楂、荷叶、泽泻是使用频率最多的原料^[3]。市面上的保健食品名称中常含

有螺旋藻、大豆磷脂、鱼油、沙蒜、红曲等名词,带给消费者营养健康的感觉,受到目标人群的青睐。然而,一些不法分子通过在保健食品中非法添加化学药物,使其功效显著,从而达到获取高额利润的目的,此类非法添加物的含量往往具有随意性,甚至超过相应药品的推荐服用剂量,可能导致消费者发生轻微中毒,严重的甚至危及自身生命^[4]。2018年5月,中国市场监督管理总局公布了2017年7月以来全国各地保健食品整治案件信息,非法经营行为占全部案件总数高达45.19%,其中又以非法添加药物为主^[2]。他汀类药物是目前最有效的降血脂药物,是不法商家非法添加的首选。他汀类药物通过阻断羟甲戊酸代谢途径,促使细胞内的胆固醇合成变少,从而刺激细胞膜表面低密度脂蛋白受体活性增加,加速清除血清胆固醇,从而达到降低血脂和治疗动脉粥样硬化的目的^[5-6]。

为保证降血脂类保健食品行业的良性发展,中国有关部门发布一系列保健食品监督抽检细则,降低保健食品的安全风险。2018版《国家食品安全监督抽检实施细则》^[7]中明确将烟酸、洛伐他汀、辛伐他汀3种药物列为日常监督抽检项目,对应的检测方法为食药监办许[2010]114号^[8],定量方法为高效液相色谱法。2018年10月,中国食品保健食品欺诈和虚假宣传整治工作领导小组办公室发布《食品保健食品欺诈和虚假宣传整治》问答^[9],将美伐他汀、洛伐他汀羟酸钠盐、去羟基洛伐他汀作为辅助降血脂食品抽检风险监测项目,未公布具体检验方法。在文献报道中,他汀类化合物常用的检测方法有薄层色谱法^[10]、高效液相色谱法^[11]、气相色谱—质谱联用法(GC-MS/MS)^[12]、液相色谱—质谱联用法^[13-15]。这些检测方法涵盖洛伐他汀、辛伐他汀等常见的药物,但是对去羟基洛伐他汀及羟基洛伐他汀羟酸钠盐的研究较少。于泓等^[16]、钮正睿等^[17]采用超高效液相色谱—四级杆—飞行时间串联质谱(UPLC/Q-TOF-MS)测定保健食品中的去羟基洛伐他汀及羟基洛伐他汀羟酸钠盐,但使用LC-MS/MS的检测方法鲜有报道。相比于LC-TOF-MS而言,LC-MS/MS仪器价格相对廉价,方便快捷,许多实验室都有配备。因此开发一种同时检测洛伐他汀及其类似物的方法对促进保健食品行业健康发展,保障食品安全具有重要意义。

本试验拟以5种常见辅助降血脂药物为目标,采用UPLC-MS/MS,以多反应监测模式,建立定性、定量检测辅助降血脂保健食品中5种降血脂药物的方法。并对17批市售的辅助降血脂功能保健食品进行检测,为降血脂类保健食品的安全风险监控提供一定理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

洛伐他汀、辛伐他汀、美伐他汀:规格为100 μg/mL,

1 mL,美国 First Standard 公司;

去羟基洛伐他汀:纯度为98.0%,1 mg,美国 First Standard 公司;

洛伐他汀羟酸钠盐:纯度为95.2%,10 mg,美国 First Standard 公司;

甲醇、乙腈:HPLC级,美国 Merck 公司;

17种辅助降血脂保健食品:市售。

1.2 仪器与设备

液质联用仪:Waters TQD型,美国 Waters 公司;

色谱柱:ACQUITY UPLC HSS T3型,50 mm × 2.1 mm,1.8 μm,美国 Waters 公司;

超纯水器:Milli-Q型,法国密理博公司;

孔径滤膜:0.22 μm,天津市津腾实验设备有限公司;

涡旋振荡器: Talboys 型,上海安谱实验科技股份有限公司;

高速离心机:Avanti JXN-30型,美国 Beckman Coulter 公司;

电子天平:ME204型,梅特勒-托利多仪器有限公司;

数控超声波清洗器:S 180H型,德国 Elma 公司。

1.3 方法

1.3.1 相关溶液的配制 分别精密量取800 μL浓度为100 μg/mL的洛伐他汀、辛伐他汀、美伐他汀于10 mL容量瓶,用甲醇稀释并定容至10 mL,配制浓度为8 μg/mL的单标溶液。用甲醇溶解1 mg去羟基洛伐他汀,并转移到10 mL容量瓶,定容,配制浓度为100 μg/mL标准溶液;称取洛伐他汀羟酸钠盐4 mg,用甲醇溶解,并定容到10 mL,配制浓度为400 μg/mL标准溶液。标准工作液根据需要稀释。

1.3.2 样品前处理 参考《国食药监办许[2010]114号》^[8]的前处理方法并加以改进。油状胶囊:刺破胶囊,将内容物挤出,混匀。口服溶液:取同一批次口服液混匀。固体颗粒:用研钵将片剂研磨成粉状,混匀。精密称取混匀的样品1.0 g,置于50 mL容量瓶中,加入甲醇约40 mL,混匀,超声处理(功率800 W,频率37 kHz)30 min,取出,放冷,用甲醇定容到刻度,取续滤液,过0.22 μm滤膜,备用。

空白基质:精密称取空白样品适量,使用与样品同样的前处理方式,得到空白基质。

1.3.3 超高效液相色谱条件 采用ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(50 mm × 2.1 mm,1.8 μm)为固定相;流动相A为乙腈,流动相B为0.1%甲酸水溶液,洗脱梯度为:0.0~0.5 min,B相保持90%,0.5~1.5 min,B相90%~5%,1.5~3.0 min,B相保持5%,3.0~3.1 min,B相5%~90%,3.1~5.0 min,B相90%。柱温35℃;进样量5 μL;流速0.3 mL/min。

1.3.4 质谱条件 离子源:电喷雾离子源;扫描模式:正

负离子同时扫描;毛细管电压:3 000(ESI+),-2 500 V (ESI-);源温度:150 ℃;脱溶剂温度:350 ℃;脱溶剂气流速:800 L/h;锥孔气流量:50 L/h;采集模式:多反应监测(MRM)。各化合物的质谱参数见表 1。

表 1 5 种化合物的质谱参数[†]

Table 1 Parameters of MS/MS for five compounds

化合物名称	电离模式	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
洛伐他汀	正离子	405.2	199.1*, 285.1	24	12/10
辛伐他汀	正离子	419.2	199.0*, 243.0	26	12/12
美伐他汀	正离子	391.2	229.1*, 185.2	32	16/12
去羟基洛伐他汀	正离子	387.3	199.1*, 285.2	28	10/8
洛伐他汀羟酸钠盐	负离子	421.3	319.2*, 100.9	48	16/26

† *. 定量离子。

2 结果与讨论

2.1 质谱条件优化

采用蠕动泵分别将浓度为 1 μg/mL 的 5 种标准品注入离子源,在全扫描模式下分别对 5 种化合物进行一级质谱分析,发现洛伐他汀、辛伐他汀、美伐他汀、去羟基洛伐他汀采用正离子扫描模式响应高,洛伐他汀羟酸钠盐采用正负离子扫描响应均高,但后续试验发现采用负离子扫描干扰小,故采用负离子扫描。分别对分子离子进行二级质谱分析,选取丰度强且干扰少的 2 对子离子,通过优化锥孔电压、碰撞能量等质谱参数,使相应离子响应达到最大值,得出最佳质谱条件,见表 1。

2.2 液相条件优化

流动相的组成会影响色谱峰形、分离度及灵敏度。LC-MS/MS 分析中正离子模式通过添加甲酸,负离子通过添加氨水或易挥发缓冲盐来提高离子化效率,通过改变流动相洗脱梯度来分离化合物。本试验考察了水+乙腈、0.1% 甲酸水溶液+乙腈、水+甲醇、0.1% 甲酸水+甲醇作为流动相时,5 种目标化合物离子对的响应强度及色谱峰形。结果表明以 0.1% 甲酸水溶液+乙腈作为流动相时,5 种化合物的响应最高,峰形尖锐且对称。还考察了流速为 0.2,0.3,0.4 mL/min 时的色谱图,发现 0.4 mL/min 时峰形最尖锐,但系统压力高,且灵敏度低于 0.3 mL/min 条件下的灵敏度,因此本试验采用 0.3 mL/min 流速。5 种化合物的总离子流图见图 1。

2.3 基质效应

UPLC-MS/MS 是定性定量检测保健食品中非法添加药物的常用检测方式,但这种检测方式可能有基质效应,造成检测方法不稳定,结果不准确。在实际检测中,当基质效应为 80%~120%时可忽略。本试验研究了 3 种不同类型的降血脂保健食品(油状胶囊、口服溶液、固体颗粒)的基质效应。试验结果表明,5 种化合物在 3 种不同基质中的基质效应均为 80%~120%,基质效应可以忽略。

2.4 方法学验证

2.4.1 线性范围、检出限及定量限 配制一系列质量浓度的标准溶液在 1.3 的条件下进行测定,以响应为纵坐标,化合物质量浓度为横坐标,绘制线性方程,得出 5 种物质在一定线性范围内呈现出良好的线性关系,相关系数均>0.99,以 3 倍信噪比确定目标化合物的检出限,10 倍信噪比确定目标物的定量限,结果见表 2。

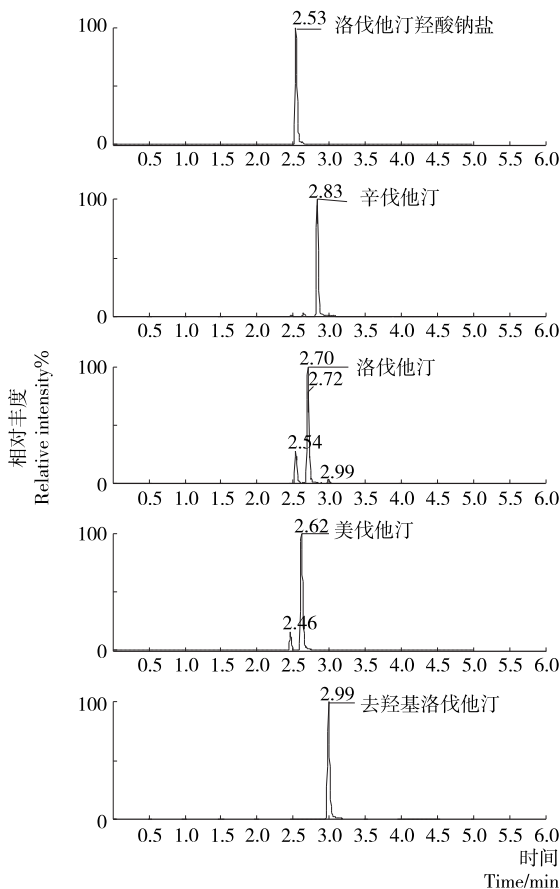


图 1 5 种化合物的总离子流图

Figure 1 Total ion chromatograms (TIC) of five compounds

表 2 5种化合物的线性范围、线性方程、相关系数、检出限和定量限

Table 2 Linear ranges, linear equations, correlation coefficients (r), limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) of the nine hormones ($n=6$)

化合物名称	线性范围/ ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	校准曲线方程	相关系数	检出限 LOD/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	定量限 LOQ/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
洛伐他汀	1.0~500.0	$y=2\ 056.8x+113.1$	0.997 15	15	50
辛伐他汀	1.0~500.0	$y=897.81x-18.5$	0.994 88	15	50
美伐他汀	1.0~500.0	$y=3\ 234.1x+567.1$	0.997 33	15	50
去羟基洛伐他汀	1.0~500.0	$y=3\ 117.0x+250.5$	0.997 48	15	50
洛伐他汀羟酸钠盐	1.0~500.0	$y=262.8x+0.61$	0.996 97	15	50

表 3 5种化合物的加标回收率及相对标准偏差

Table 3 Spiked recoveries and relative standard deviations (RSDs) of five compounds

化合物名称	添加水平/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	油状胶囊		口服溶液		固体颗粒	
		平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%
洛伐他汀	0.05	97.3	4.5	99.4	4.2	96.8	2.8
	0.50	97.8	2.2	98.8	3.9	97.4	1.8
	1.00	99.7	3.2	98.7	3.5	98.5	4.4
辛伐他汀	0.05	96.4	4.8	102.6	4.7	98.3	1.9
	0.50	98.6	4.3	98.5	3.7	95.7	2.3
	1.00	96.8	2.4	96.4	4.5	98.0	4.1
美伐他汀	0.05	96.5	4.1	98.5	3.5	96.9	1.8
	0.50	97.4	4.3	97.0	3.4	94.6	4.9
	1.00	97.0	5.0	99.4	4.6	92.2	3.6
去羟基洛伐他汀	0.05	95.1	1.7	97.8	3.8	100.8	5.7
	0.50	96.2	4.4	98.9	3.6	99.8	1.9
	1.00	98.7	5.6	99.8	1.5	102.6	2.0
洛伐他汀羟酸钠盐	0.05	99.1	1.9	99.8	2.8	100.7	1.7
	0.50	98.2	3.4	97.9	1.6	99.2	2.9
	1.00	105.7	3.6	101.9	1.9	102.6	1.0

2.4.2 方法的回收率及精密度 按 0.05,0.50,1.00 mg/kg 3个质量浓度水平对空白样品进行添加回收试验,每个添加水平平行测定 6 次,按照本方法进行检测,计算平均回收率及标准偏差。结果(表 3)显示,5 种化合物平均回收率为 94.6%~105.7%,相对标准偏差均 $<10\%$,该方法的回收率和相对标准偏差均具有较好的准确度和精密度,满足分析要求。

2.5 实际样品检测结果

本试验共检测辅助降血脂类保健食品 17 批次。结果发现某品牌大豆磷脂胶囊检出洛伐他汀、洛伐他汀羟酸钠盐、去羟基洛伐他汀,其含量分别为 1 800.00,11.13,0.12 mg/kg。

3 结论

本试验用 UPLC-MS/MS 同时测定保健食品中 5 种

洛伐他汀及其类似物,方法简便、快速,系统的方法学评价结果表明该方法操作简便、回收率好、灵敏度高、定量准确,能满足降血脂类保健食品中洛伐他汀及其类似物的测定要求。但本试验没有对临床上常用的其它他汀类药物同时检测,今后可以进一步对保健食品中风险较大的他汀类药物进行 UPLC-MS/MS 检测。

参考文献

- [1] 张李伟, 赵洪静, 白鸿, 等. 中国保健食品法律法规体系发展与现状研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(3): 232-235.
- [2] 张雪艳, 王素珍. 保健食品市场乱象成因分析及对策[J]. 中国食品药品监管, 2018(8): 49-53.
- [3] 王晶, 李冰, 奚茜, 等. 我国 2003 年以来注册的降脂保健茶

- 的现状分析[J]. 中国食物与营养, 2016, 22(11): 76-80.
- [4] 赵超群. 液相色谱-串联质谱联用技术在测定食品中非法添加物的应用[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2015: 1-2.
- [5] PATEL Misari, CHARMY Kothari. Critical review of statins; A bio-analytical perspective for therapeutic drug monitoring[J]. Trends in Analytical Chemistry, 2017, 86: 206-221.
- [6] LIU Ai-mei, WU Qing-hua, GUO Jing-chao, et al. Statins: Adverse reactions, oxidative stress and metabolic interactions[J]. Pharmacology and Therapeutics, 2018, DOI: 10.1016/j.pharmthera.2018.10.004.
- [7] 国家食品药品监督管理总局.《总局办公厅关于印发国家食品安全监督抽检实施细则(2018年版)的通知:食药监办食监三[2018]14号[EB/OL].(2018-01-18)[2019-01-24].
http://samr.cfda.gov.cn/WS01/CL1605/223270.html.
- [8] 国家食品药品监督管理局.辅助降血脂类保健食品违法添加药物的检测方法:国食药监办许[2010]114号[EB/OL].(2010-04-27)[2019-01-24].
http://www.instrument.com.cn/download/shtml/809955.shtml.
- [9] 国家市场监督管理总局.全国食品保健食品欺诈和虚假宣传整治工作领导小组办公室发布《食品保健食品欺诈和虚假宣传整治问答》[EB/OL].(2018-10-19)[2019-01-24].
http://samr.saic.gov.cn/xw/yw/xwfb/201810/t20181009_276222.html.
- [10] 王铁松, 仝禹, 郑洁, 等. 薄层色谱法快速筛查降脂、降压、止咳平喘类中药制剂中的 29 种添加化学药物[J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(11): 857-861.
- [11] 孙亮, 张蓉, 邬国庆, 等. 高效液相色谱法同时测定保健食品中 9 种非法添加降脂类药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(8): 3 098-3 102.
- [12] HELI Sirén, LAURA Kaijane, SINI Kaartinen, et al. Determination of statins by gas chromatography-EI/MRM-Tandem mass spectrometry: Fermentation of pine samples with *Pleurotus ostreatus*[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2014, 94: 196-202.
- [13] GUO Meng-ran, ZHAO Long-shan, LI Mo, et al. Simultaneous determination of lovastatin and its metabolite lovastatin acid in rat plasma using UPLC-MS/MS with positive/negative ion-switching electrospray ionization: Application to a pharmacokinetic study of lovastatin nanosuspension[J]. Journal of Chromatography B, 2016, 1 023: 55-61.
- [14] SRINIVASA Rao Polagani, NAGESWARA Rao Pilli, RAMAKRISHNA Gajula, et al. Simultaneous determination of atorvastatin, metformin and glimepiride in human plasma by LC-MS/MS and its application to a human pharmacokinetic study[J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2013, 3(1): 9-19.
- [15] ASMA El-Zailik, LILY K Cheung, WANG Yang, et al. Simultaneous LC-MS/MS analysis of simvastatin, atorvastatin, rosuvastatin and their active metabolites for plasma samples of obese patients underwent gastric bypass surgery[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2019, 164: 258-267.
- [16] 于泓, 胡青, 张甦, 等. 超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱法检测中药及保健食品中 21 种非法添加的降脂类药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(7): 2 704-2 709.
- [17] 钮正睿, 王聪, 丁宏, 等. 超高效液相色谱-四极杆/飞行时间高分辨质谱测定保健食品及其原料中洛伐他汀及类似物的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(7): 2 563-2 570.
- [18] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 15038—2006 葡萄酒、果酒通用分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [19] 孙婧超, 刘玉田, 赵玉平, 等. pH 示差法测定蓝莓酒中花色苷条件的优化[J]. 中国酿造, 2011, 30(11): 171-174.
- [20] 徐俊, 雍晓雨, 费文斌, 等. 基于 TTC 染色法的高活力酵母细胞定量筛选[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(7): 1-5.
- [21] 徐本刚, 母应春, 陈虹文, 等. 贵州黑糯米酒曲优良酵母菌分离筛选与鉴定[J]. 中国酿造, 2012, 31(4): 62-67.
- [22] 张陈云, 刘金福, 王娜, 等. 冬枣果酒酿造酵母的分离筛选研究[J]. 中国酿造, 2010, 29(8): 43-47.
- [23] 杨鲁君, 蒋予箭, 李余动. 黄酒酵母优良抗逆菌株的筛选、鉴定及发酵特性研究[J]. 中国食品学报, 2013, 13(9): 71-77.
- [24] 侍崇娟, 吕钰凤, 杜晶, 等. 杨梅酒发酵工艺及其风味变化[J]. 食品工业科技, 2015, 36(6): 166-170.
- [25] 沈颖, 刘晓艳, 白卫东, 等. 果酒中有机酸及其对果酒作用的研究[J]. 中国酿造, 2012, 31(2): 29-32.
- [26] 马勇, 图雅, 陈秀莉, 等. 分光光度法测定高浓度培养液下的产油酵母菌生长曲线[J]. 北方园艺, 2013(8): 116-118.
- [27] 何贝, 王学东, 叶鹏, 等. 几种品牌酵母耐性生长曲线对比研究[J]. 中国酿造, 2014(12): 63-67.
- [28] 阎贺静, 时月, 刘畅, 等. 玫瑰香干葡萄酒自然发酵过程中优势酵母分离鉴定及其应用潜力分析[J]. 食品科学, 2017, 38(22): 117-124.
- [29] 朱宝生, 刘功良, 白卫东, 等. 耐高糖酵母筛选及其高糖胁迫机制的研究进展[J]. 中国酿造, 2016, 35(6): 11-14.
- [30] 王孝荣, 罗佳丽, 潘年龙, 等. 草莓果酒酿造工艺的优化及其香气成分分析[J]. 食品科学, 2014, 35(7): 196-201.
- [31] 尤亮, 丁东栋, 崔志峰. 乙醇耐受性酿酒酵母菌株选育的研究进展[J]. 工业微生物, 2016, 46(3): 51-55.
- [32] 张强, 郭元, 韩德明. 酿酒酵母乙醇耐受性的研究进展[J]. 化工进展, 2014, 33(1): 187-192.

(上接第 47 页)