

检测分析

雨生红球藻中虾青素含量快速测定方法

王书妍¹, 曹旭鹏², 孟迎迎³, 刘 娇², 薛 松²

(1. 内蒙古民族大学 化学化工学院, 内蒙古 通辽 028000; 2. 中国科学院 大连化学物理研究所, 辽宁 大连 116023; 3. 山东师范大学 化学化工与材料科学学院, 济南 250014)

摘要:雨生红球藻中虾青素以虾青素单酯、二酯以及少量游离虾青素的形式存在, 为了准确测定虾青素含量, 通常需要将提取的虾青素酯水解转化为游离虾青素, 再利用 HPLC 进行定量, 操作耗时, 不利于生产过程的快速监测。基于系统研究分光光度法直接测定细胞提取物中的混合虾青素含量和提取-酶解-HPLC 法测定的关系, 发现分光光度法估算的虾青素含量与 HPLC 法测定的准确含量之间具有良好的线性关系($r^2 = 0.997$)。基于此建立了雨生红球藻虾青素快速测定方法, 并对提取条件进行了优化。雨生红球藻粉(约 5 mg)利用 1 mL 二甲基亚砜和 6 mL 丙酮进行 1 次提取, 准确定容后, 测定 474 nm 处的吸光度, 根据吸光度与 HPLC 法虾青素含量间线性关系计算雨生红球藻中虾青素的含量。该方法操作简单, 仅需 10~20 min, 测定准确, 适于生产和流通环节的所需要的快速测定领域。

关键词:雨生红球藻; 虾青素; 快速测定; 分光光度法

中图分类号: Q819; O657

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2018)12-0144-05

A rapid determination method for astaxanthin content in *Haematococcus pluvialis*

WANG Shuyan¹, CAO Xupeng², MENG Yingying³, LIU Jiao², XUE Song²

(1. Chemistry and Chemical Engineering College, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028000, Inner Mongolia, China; 2. Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, Liaoning, China; 3. College of Chemistry, Chemical Engineering and Materials Science, Shandong Normal University, Jinan 250014, China)

Abstract: Astaxanthin existed in the forms of astaxanthin esters and a small amount of free astaxanthin in *Haematococcus pluvialis*. The astaxanthin esters should be hydrolyzed to free astaxanthin before quantitation by HPLC, which was time consuming process and not conducive to the rapid monitoring of the production process. The relationship of determination of astaxanthin content direct by spectrophotometry and extraction-enzymatic hydrolysis-HPLC method was studied systematically. It was found that there was a good linear relationship between astaxanthin content estimated by spectrophotometry and determined by HPLC ($r^2 = 0.997$). A rapid determination method for astaxanthin content in *Haematococcus pluvialis* was established, and the extraction conditions were optimized. The powder of *Haematococcus pluvialis* (about 5 mg) was extracted by 1 mL dimethylsulfoxide (DMSO) and 6 mL acetone. After constant volume, it was

determined at 474 nm by spectrophotometry, and the astaxanthin content was calculated according to the linear relationship between absorption and astaxanthin content determined by HPLC. The method had advantages of simple operation and accurate measurement, which only needed 10-20 min and only used spectrophotometry. The method was suitable for rapid determination in the production and circulation links.

收稿日期: 2018-04-12; 修回日期: 2018-08-24

基金项目: 国家海洋局海洋公益性行业科研专项经费项目(201505030-1); 内蒙古教育厅项目(NJZY168)

作者简介: 王书妍(1971), 女, 副教授, 主要从事分析化学研究工作(E-mail) tl_wsy@163.com; 曹旭鹏(1978), 男, 研究员, 主要从事能源生物化工研究工作(E-mail) c_x_p@dicp.ac.cn。王书妍、曹旭鹏同为第一作者。

通信作者: 薛 松, 研究员(E-mail) xuesong@dicp.ac.cn。

Key words: *Haematococcus pluvialis*; astaxanthin; rapid determination; spectrophotometry

虾青素,是类胡萝卜素的一种。虾青素是自然界中存在的抗氧化性最强的色素类化合物,为最强的天然抗氧化剂之一^[1]。虾青素可以高效去除氧自由基,因此在提高免疫力、延缓衰老、预防肿瘤及心血管疾病、预防紫外损伤、促进皮肤健康等方面有积极的作用^[2-6]。同时,已有研究证明虾青素是少有的能够穿透血脑屏障^[7]、具有健脑护眼功能的天然化合物之一。

雨生红球藻(*Haematococcus pluvialis*)中虾青素含量可达细胞干重的1%~5%,且以具有高生物活性的全反式虾青素为主要类型,成为天然虾青素最理想的来源。利用雨生红球藻生产虾青素,需要在高光和营养胁迫条件下实现虾青素的快速积累,因此需要对培养过程进行有效的监控,以获得最大化的时空产率,而细胞内虾青素含量是重要的评价指标。同时,下游收集和加工过程中,虾青素含量的测定也是重要的过程参数和产品质控指标。现有虾青素检测方法主要有GB/T 31520—2015《红球藻中虾青素的测定 液相色谱法》、GB/T 23745—2009《饲料添加剂10%虾青素》、Boussiba等^[8]的方法,以及美国Cyanotech公司和日本富士公司提取流程等^[9]。其中国标法中采用皂化方式对虾青素酯进行水解,存在严重的虾青素降解,致使测定含量偏低,Boussiba等的方法为二甲基亚砜(DMSO)提取雨生红球藻色素,采用含5% KOH的30%甲醇溶液破坏叶绿素后,再利用分光光度法进行虾青素含量的测定。美国Cyanotech公司和日本富士公司提取流程为采用DMSO提取,酶解后用HPLC进行虾青素的准确测定,需要使用专有细胞破碎试剂和复杂提取试剂,而且测定耗时长。由于雨生红球藻生产企业大多缺乏复杂测试设备和专有技术人员,因此需要新的方法用于实际生产和质控环节。

虾青素以游离虾青素和不同酰基链连接的虾青素酯的形式存在,在470~480 nm之间具有特征吸收峰。直接的液相色谱进行分离测定,一方面难以将各个虾青素酯间达到基线分离,不能准确定量,另一方面,对分离色谱柱及分离条件要求较高。因此,常规方法为首先进行虾青素酯的水解,测定水解后的游离虾青素。分光光度法为最简便、快速、易在培养及生产中实现的分析测定方法,但提取的色素溶液中存在其他类胡萝卜素及叶绿素对虾青素含量测定的干扰,如果直接利用分光光度法特征吸收峰测定虾青素含量与用HPLC精确测定的含量间存在定

量关系,则利用分光光度法有望大大简化测定流程,可以作为生产过程评价方法。

成熟的雨生红球藻细胞壁具有3层结构,富含胶鞘和多糖成分,常规的提取溶剂如氯仿、丙酮、甲醇等,难以进入细胞将目标物提出,通常需要复杂的操作才能进行有效地破碎,使其内容物被释放出来。DMSO是一种优良细胞膜通透剂,常用于细胞裂解的辅助溶剂。丙酮是常用色素提取剂,但是直接使用丙酮容易引起细胞膜蛋白变性,降低提取效率。本文在充分考虑雨生红球藻虾青素存在形式和理化特征以及藻细胞理化特征的基础上,基于分光光度法特征吸收峰测定的虾青素含量与用HPLC精确测定的含量间的线性关系,通过优化溶剂提取和操作流程,建立了以虾青素特征波长吸光度测定为基础的快速方法,将测定时间减少到10~20 min,实现微藻中虾青素含量的快速测定。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

具有不同虾青素含量的雨生红球藻藻粉,由云南保山泽元藻业健康科技有限公司和国投微藻生物科技公司提供,作为评测的实际样品。

虾青素标准品(96%),上海麦克林生化科技有限公司;胆固醇酯酶生物试剂,南京都莱生化科技有限公司;三羟甲基氨基甲烷(Tris)、二甲基亚砜(DMSO)、丙酮、磷酸、氢氧化钠、甲醇、二氯甲烷等,均为分析纯,天津科密欧公司;二氯甲烷、甲醇、乙腈,均为色谱纯,德国默克公司。

1.1.2 仪器与设备

JASCO V-650 分光光度计,日本分光;Agilent 1200 液相色谱仪,美国安捷伦;Hettich 4605 离心机,Hettich 1204 离心机,德国 Hettich;MX-S 旋涡振荡器;MSE125P 分析天平,德国赛多利斯;Vivoi Therm 水浴锅,德国 Julabo。

1.2 实验方法

1.2.2 虾青素提取及待测样制备

1.2.2.1 DMSO-丙酮法提取虾青素

将5~10 mg 雨生红球藻藻粉与1 mL DMSO 混合均匀,在40~70 °C 加热3~15 min 后,通过静置沉降或离心分离固体与DMSO相,将DMSO相取出转移到棕色刻度瓶或容量瓶中。向微藻提取残余物中加入一定体积的丙酮,混合均匀后,静置沉降或离心分离固体与丙酮相,将丙酮相取出与上一步操作获

得的 DMSO 相合并,并重复本步操作 2~3 次。向收集的萃取液中加入丙酮进行定容,最终萃取液体积为初始 DMSO 体积的 30~50 倍,过 0.22 μm 滤膜后,得到虾青素提取液。

1.2.2.2 国标法(二氯甲烷-甲醇法)提取虾青素
按照 GB/T 31520—2015 提取虾青素。

1.2.2.3 酶解法制备虾青素待测样

按照行业内常用方法^[6],移取 DMSO-丙酮法提取的虾青素溶液 1 mL 于 5 mL 离心管,加入 400 μL Tris-HCl (7.88 mg/mL) 缓冲液及 300 μL 5 U/mL 的胆固醇酯酶 Tris-HCl 缓冲液 (7.88 mg/mL),36 $^{\circ}\text{C}$ 酶解 30 min,每隔 10 min 摇匀 1 次。酶解后加入 2 mL 石油醚,混合振荡,转移有颜色的上层至 10 mL 试管中,注意不要转移出水相。重复加入石油醚萃取 2 次,至无虾青素残留。使用氮气吹干,溶于甲醇-丙酮(体积比 1:1)中,用于 HPLC 法虾青素含量测定。

1.2.2.4 国标法制备虾青素待测样

按照 GB/T 31520—2015 规定方法进行皂化,待测样使用 HPLC 法进行虾青素含量测定。

1.2.3 虾青素含量测定

1.2.3.1 HPLC 法

将待测样进行 HPLC 分析,色谱条件为:反相 C18 色谱柱(150 mm \times 4.6 mm,5 μm),等度洗脱,流动相采用二氯甲烷-甲醇-乙腈-水(体积比 5.0:85.0:5.5:4.5),柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,流速 1 mL/min,进样量 10 μL ,检测波长 474 nm。

1.2.3.2 分光光度法

虾青素标准工作液配制:称取 5.28 mg 虾青素标准品,使用丙酮溶解,并定容至 50 mL。准确移取 5 mL 再次用丙酮定容至 50 mL,并按照逐级等倍稀释,分别获得 10.56、5.28、2.64、1.32、0.66 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的虾青素标准工作液,室温存放。

在 474 nm 处以丙酮为参比对虾青素标准工作液进行吸光度的测定,并绘制吸光度-质量浓度标准曲线。

虾青素提取液在 474 nm 处以丙酮为参比测定吸光度,利用下式计算虾青素在微藻生物质中含量(P)。 $P = AV / (10b\epsilon m)$,式中: A 为待测样 474 nm 处的吸光度; V 为最终定容体积,mL; b 为比色池的光路长度,取 1 cm; ϵ 为虾青素的吸光系数,0.191 $\text{cm}^2/\mu\text{g}$; m 为藻粉质量,mg。

2 结果与讨论

2.1 HPLC 法和分光光度法测定虾青素含量的关系

虾青素标准品经不同提取处理方法的虾青素含

量测定结果对比见表 1。GB/T 31520—2015 采用的是二氯甲烷-甲醇研磨提取后,经皂化反应将虾青素酯进行转化,HPLC 对虾青素的含量进行测定,皂化的结果相比酶解方法低约 30%,说明皂化的方法碱处理环境下存在严重的虾青素降解。相比之下,由分光光度法测定的虾青素含量由于存在其他类胡萝卜素及叶绿素的干扰,测定值比酶解-HPLC 法高。但是实际生产过程中,当雨生红球藻进入胁迫积累虾青素阶段,其色素中虾青素占了主要比例,含量范围为 65%~90%,因此选择不同虾青素含量的实际样品进行了对比分析,对于虾青素的提取采用 DMSO 溶液 40 $^{\circ}\text{C}$ 加热 15 min 后 2 mL 丙酮进行提取,重复提取 3 次,直至藻渣中无色素。之后分别进行分光光度法和酶解-HPLC 法测定虾青素含量。将两种方法测定结果进行对比,发现两种方法测定结果间具有良好的线性相关性(见图 1)。

表 1 不同提取处理方法虾青素含量测定结果对比

提取方法	分光光度法	HPLC 法	
		酶解	皂化
DMSO-丙酮	5.83 \pm 0.26	5.56 \pm 0.07	3.69 \pm 0.37
二氯甲烷-甲醇	6.13 \pm 0.07	-	3.88 \pm 0.06

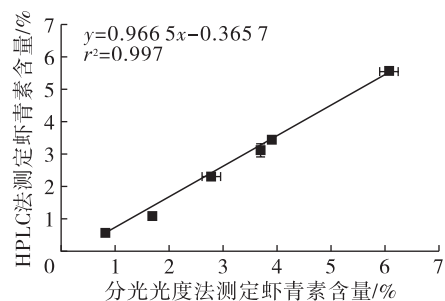


图 1 HPLC 法和分光光度法测定样品虾青素含量的关系

结合分光光度法和 HPLC 测定相关公式与基于分光光度法的测定公式,可以获得基于分光光度法的虾青素含量等效公式,即虾青素含量 = 0.5026AV/m - 0.3657。利用该公式对虾青素含量在 0.7%~6.0% 的实际藻粉进行测定,基于公式计算值与 HPLC 测定标准值之间对比见表 2。以国标 GB/T 31520-2015 规定精密度要求,即独立平行测定值差值不超过算术平均值的 15% 为标准,HPLC 法和分光光度法测定的结果均符合这一规定。由表 2 可知,除了虾青素含量较低时(样品 5 和样品 6)两种方法有较大差异,其他样品两种测定方法间差异均在 5% 以内。考虑到实际生产过程中藻粉中虾青素含量在 2% 以上,因此分光光度法能够满足实际生产过程中的测定需要。

由于分光光度法测定结果与 HPLC 法测定的虾青素含量具有良好的相关性,那么基于分光光度法即可建立一种快速检测为目标的虾青素含量测定方法,还需要进一步对提取过程进行优化,在一定精准度下实现快速、简易操作。

表2 分光光度法和 HPLC 标准方法结果对比

样品	虾青素含量/%	
	HPLC 法	分光光度法
1	5.56 ± 0.07	5.51 ± 0.13
2	2.30 ± 0.10	2.33 ± 0.16
3	3.14 ± 0.17	3.21 ± 0.04
4	3.45 ± 0.03	3.41 ± 0.04
5	1.13 ± 0.06	1.26 ± 0.01
6	0.58 ± 0.03	0.43 ± 0.03

2.2 不同样品制备条件对虾青素含量测定的影响

2.2.1 DMSO 处理温度和时间对虾青素含量测定的影响

称取 5 mg 左右藻粉,加入 1 mL DMSO, 不同温度下水浴加热一定时间,分离后残余物用 1 mL 丙酮重复提取,考察 DMSO 处理温度和时间对虾青素含量测定的影响。每个样品进行 3 次独立重复测定,计算其含量的平均值。结果如表 3 所示。

表3 DMSO 处理温度与时间对虾青素含量测定的影响

样品	温度/℃	时间/min	丙酮提取次数	含量/%
1	40	15	3	5.36 ± 0.13
2	40	5	3	5.29 ± 0.08
3	50	5	3	5.46 ± 0.07
4	60	5	2	5.57 ± 0.08
5	70	3	2	5.61 ± 0.09

由表 3 可知,随着温度的升高,虾青素含量由 40℃ 加热 5 min 时的 5.29% 上升至 70℃ 加热 3 min 时的 5.61%,在上述不同条件下测定结果相对差值在 6% 以内。考虑到时效因素,选择 60℃ 加热 5 min 为优选条件。

2.2.2 丙酮对虾青素含量测定的影响

提取过程中使用了 DMSO 和丙酮两种溶剂,如果能够使用单一溶剂将有助于简化操作,但是其效果需要评估,因此以不同虾青素含量的雨生红球藻为对象,60℃ 加热 5 min 后,分别测定直接 1 mL DMSO 或者 1 mL DMSO + 1 mL 丙酮时得到结果的差异。每个样品进行 3 次独立重复测定,计算其含量的平均值。DMSO 及其与丙酮组合方式对虾青素含量测定的影响见表 4。

由表 4 可知,不使用丙酮时测定虾青素含量是使用丙酮时的 50.0% ~ 92.1%, 具有较大的差异

性。DMSO 是一种常用的细胞膜通透剂和溶剂,上述结果表明其独立作用不能完全替代丙酮。

表4 DMSO 及其与丙酮组合方式对虾青素含量测定的影响

样品	虾青素含量/%		DMSO 提取效率/%
	DMSO 提取	DMSO + 丙酮提取	
1	4.40 ± 0.18	5.32 ± 0.24	82.7
2	2.32 ± 0.04	2.52 ± 0.02	92.1
3	2.39 ± 0.18	3.10 ± 0.10	77.1
4	3.03 ± 0.02	3.32 ± 0.02	91.3
5	0.92 ± 0.18	1.16 ± 0.20	79.3
6	0.06 ± 0.01	0.12 ± 0.01	50.0

2.2.3 提取次数对虾青素含量测定的影响

常规的提取方法中,通过对样品进行多次提取来增加提取率,但是同时也增加了操作时间和复杂性,因此考察了经过 1 次 1 mL DMSO + 6 mL 丙酮提取后,再对藻渣进行 1 次 1 mL DMSO + 1 mL 丙酮提取对测定结果的影响。每个样品进行 3 次独立重复测定,计算其含量的平均值,并以 2 次提取的结果为基准,计算 1 次提取的效果,结果见表 5。

表5 提取次数对虾青素含量测定的影响

样品	虾青素含量/%		一次提取效率/%
	提取 2 次	提取 1 次	
1	5.57 ± 0.08	5.38 ± 0.07	96.6
2	2.64 ± 0.09	2.53 ± 0.03	95.8
3	3.19 ± 0.03	3.04 ± 0.05	95.3
4	3.44 ± 0.07	3.31 ± 0.02	96.2
5	1.40 ± 0.06	1.33 ± 0.06	95.0
6	0.19 ± 0.01	0.17 ± 0.01	89.5

由表 5 可知,按照设定的提取比例,提取 1 次与提取 2 次之间没有明显差异,从操作角度来说,提取 1 次能够满足快速检测的需要。

2.2.4 离心与静置处理对虾青素含量测定的影响

称取 5 mg 左右藻粉,加入 1 mL DMSO, 60℃ 水浴加热 5 min,静置或 4 000 g 离心 5 min,上清转移到 50 mL 棕色容量瓶中;藻渣加入 7 mL 丙酮到离心管中,剧烈混合,静置或 4 000 g 离心 5 min,上清转移至上述容量瓶中,丙酮定容,测定 474 nm 吸光度,计算提取虾青素含量。每个条件进行 3 次独立重复测定,计算虾青素含量的平均值,结果见表 6。

表6 离心与静置处理对虾青素含量测定的影响

组别	虾青素含量/%
静置组	5.14 ± 0.00
离心组	5.12 ± 0.08

由表 6 可知,提取后静置或者离心不会对最终

测定结果带来显著的影响,静置操作简单,利于实际生产中的快速测定。

通过对提取过程的优化,5 mg 左右雨生红球藻藻粉仅需用 1 mL DMSO 60 °C 水浴加热 5 min 处理,静置分离后,残余物用 6 mL 丙酮进行 1 次提取,静置分离,萃取液用丙酮定容后即可利用分光光度计测定 474 nm 吸光度,利用吸光度与 HPLC 法虾青素含量间的线性关系进行换算,获得准确的虾青素含量。

3 结论

建立了一种雨生红球藻中虾青素含量的快速测定方法,通过优化提取溶剂组合、提取流程以及利用分光光度法与 HPLC 法之间的相关性,实现了虾青素含量 10 ~ 20 min 内的快速测定,具有操作简单、设备要求低、快速且结果稳定的特点,能够满足快速取样测定的需要。

参考文献:

- [1] NISHIDA Y, YAMASHITA E, MIKI W. Quenching activities of common hydrophilic and lipophilic antioxidants against singlet oxygen using chemiluminescence detection system[J]. *Carotenoid Sci*, 2007, 11: 16 - 20.
- [2] NAGUIB Y M. Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids[J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48: 1150 -

(上接第 143 页)

参考文献:

- [1] 许雨玥. 中国人口老龄化影响及对策研究[J]. *现代经济信息*, 2016(2): 12, 14.
- [2] CESA S, CASADEI M A, CERRETO F, et al. Influence of fat extraction methods on the peroxide value in infant formulas[J]. *Food Res Int*, 2012, 48(2): 584 - 591.
- [3] FIELD C J, ANGEL A, CLANDININ M T. Relationship of diet to the fatty acid composition of human adipose tissue structural and stored lipids[J]. *Am J Clin Nutr*, 1985, 42(6): 1206 - 1220.
- [4] SIMOPOULOS A P. Essential fatty acids in health and chronic disease[J]. *Am J Clin Nutr*, 1999, 70(3S): 560S - 569S.
- [5] GONG Q, ZHU P, ZHANG B, et al. Safety and efficacy of n - 3 fatty acid - based parenteral nutrition in patients with obstructive jaundice: a propensity - matched study [J]. *Eur J Clin Nutr*, 2018, 72: 1159 - 1166.
- [6] BECKER N, ILLINGWORTH D R, ALAUPOVIC P, et al. Effects of saturated, monounsaturated, and *omega* - 6 polyunsaturated fatty acids on plasma lipids, lipoproteins, and apoproteins in humans [J]. *Am J Clin Nutr*, 1983, 37(3): 355 - 360.

1154.

- [3] 曹秀明, 高越, 徐德林. 虾青素保护活性氧所致线粒体损伤的作用[J]. *食品与药品*, 2010, 12(11): 412 - 414.
- [4] SILA A, KAMOUN Z, GHLISSI Z, et al. Ability of natural astaxanthin from shrimp by - products to attenuate liver oxidative stress in diabetic rats [J]. *Pharmacol Reports*, 2015, 67(2): 310 - 316.
- [5] SAW C L L, YANG A Y, GUO Y, et al. Astaxanthin and *omega* - 3 fatty acids individually and in combination protect against oxidative stress via the Nrf2 - ARE pathway [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 62(12): 869 - 875.
- [6] LEE S J, BAI S K, LEE K S, et al. Astaxanthin inhibits nitric oxide production and inflammatory gene expression by suppressing I(kappa)B kinase dependent NF - kappa B activation [J]. *Mol Cells*, 2003, 16(1): 97 - 105.
- [7] TSO M O M, LAM T T. Method of retarding and ameliorating central nervous system and eye damage: US 05527533 [P]. 1996 - 06 - 18.
- [8] BOUSSIBA S, FAN L, VONSHAK A. Enhancement and determination of astaxanthin accumulation in green algae *Haematococcus pluvialis* [J]. *Method Enzymol*, 1992, 213: 386 - 391.
- [9] 陈晓飞, 严小军. 红球藻虾青素含量测定方法的探讨 [J]. *宁波大学学报(理工版)*, 2007, 20(4): 441 - 445.
- [7] VEERMAN J L. Dietary fats: a new look at old data challenges established wisdom [J]. *BMJ*, 2016, 353: 1 - 2.
- [8] 鲁丽, 刘赫. 脂肪肝、脂代谢紊乱与糖尿病及其临床对策 [J]. *实用糖尿病杂志*, 2015(1): 6 - 7.
- [9] 中国营养学会. 中国居民膳食营养素参考摄入量 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2014.
- [10] FAO. Fats and fatty acids in human nutrition: report of an expert consultation: 10 - 14 November 2008, Geneva [M]. Italy Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010.
- [11] 钱叶芳. 成年人脂肪肝与血脂水平、体重指数的相关性分析 [J]. *现代诊断与治疗*, 2013, 24(6): 1356 - 1357.
- [12] 朱静芬, 施榕. 膳食脂肪含量与 2 型糖尿病的发病风险 [J]. *上海交通大学学报*, 2005, 25(6): 643 - 646.
- [13] 欧阳雁丽, 王瑞淑. 菜籽油芥酸含量对大鼠肾上腺、心脏和生长的影响 [J]. *现代预防医学*, 1989(3): 1 - 6.
- [14] 卢跃鹏, 金绍明, 江小明, 等. 部分省份食用植物油中脂肪酸氯丙醇酯含量水平调查分析 [J]. *中国油脂*, 2015, 40(11): 79 - 84.
- [15] 王月华, 孙冬梅, 温江涛, 等. 玉米油生产过程中对玉米赤霉烯酮及呕吐毒素的影响 [J]. *粮食与食品工业*, 2015, 22(4): 19 - 22.