

两种海胆矿质元素的ICP-MS法测定分析

刘小芳, 薛长湖*, 王玉明, 薛勇, 王超

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003)

摘要:利用电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定马粪海胆和紫海胆中K、Ca、Mg、Fe、V、Cr、Mn、Al、Co、Ni、Cu、Zn、As、Se、Mo、Cd、Hg、Pb共18种元素,并以内标元素补偿基体效应,选择适当的待测元素同位素克服质谱干扰,优化实验条件。用HNO₃+HClO₄(4:1)混酸作为消化液处理样品,各元素在实验范围内线性良好,相关系数均大于0.9984,加标回收率93.11%~116.91%,相对标准偏差(RSD)小于5%。结果表明:马粪海胆和紫海胆中K、Mg、Ca含量较高,且均含有Zn、Fe、Cu、V、Mn、Se等对人体非常有益的微量元素,为海胆的科学合理利用提供理论依据。

关键词:马粪海胆,紫海胆,电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS),矿质元素

Determination of mineral elements in two kinds of sea urchin by ICP-MS method

LIU Xiao-fang, XUE Chang-hu*, WANG Yu-ming, XUE Yong, WANG Chao

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Eighteen kinds of mineral elements in sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus* and *Anthocardia crassispina*, were detected and analyzed by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). ⁶Li, ⁴⁵Sc, ⁷²Ge, ⁸⁹Y, ¹¹⁵In, ¹⁵⁹Tb, ²⁰⁹Bi were selected as the internal standard elements. The matrix effect was compensated and the MS interference was corrected by selecting the suitable isotope of the elements. The experimental conditions were optimized. The samples were digested with HNO₃+HClO₄(4:1). All the detected elements showed a good linear relationship within the working curves, the correlation coefficients were all above 0.9984. The precisions and recoveries were good, the range of recoveries (n=3) was 93.11%~116.91% and the RSDs were all lower than 5%. The results indicated that there were abundant nutritional elements for people in the two kinds of sea urchin. They were all rich in the elements K, Mg, Ca and some trace elements which are beneficial to humans such as Zn, Fe, Cu, V, Mn, Se. This study will provide some useful evidence for the effective exploitation of sea urchin.

Key words: *Hemicentrotus pulcherrimus*; *Anthocardia crassispina*; inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS); mineral elements

中图分类号: TS207.5+1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)03-0313-04

海胆 (*sea urchin*), 棘皮动物门 (*Echinodermata*) 海胆纲 (*Echinoidea*) 的统称, 分2亚纲、22目。化石种约5000种, 现生种800种, 分隶于225个属^[1], 中国已知约100种, 常见的如马粪海胆、大连紫海胆、心形海胆和刻肋海胆等。《本草纲目》中曾记载, 海胆有“治心痛”的功效^[2]。近代中医药学认为, 海胆性味咸平, 有制酸止痛、软坚散结、化痰消肿、清热消炎、健脾强

肾、舒筋活血和滋阴补阳等功效^[3]。海胆卵中含有很高的脂肪酸, 可降低人体内甘油三酸酯和胆固醇的含量, 抗凝血和阻止血栓形成等, 用海胆卵制成食品食用, 能提高机体免疫力, 安神补血和促进性功能。另外, 海胆卵所含的较高蛋白质, 易被人体吸收, 加上它本身的味道特别鲜美, 促进唾液分泌, 能刺激食欲, 有较好的滋补作用^[4]。目前, 金属元素的测定方法主要有分光光度法、极谱法、原子吸收法(AAS)、电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)等^[4]。这些方法或样品前处理复杂, 或不能用于多组分、多元素分析, 耗时费力; 且仪器的灵敏度或检出限达不到指标要求, 并存在元素干扰、光谱干扰等缺陷。电感耦合等离子体(ICP)作为离子化源的质谱(MS)分析是

收稿日期: 2011-02-12 * 通讯联系人

作者简介: 刘小芳(1987-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 水产品加工与贮藏工程。

基金项目: 海洋公益性行业科研专项(201105029); 国际科技合作项目(2010DFA31330)。

近十年发展最快的无机痕量分析技术之一,具有易于进行多元素分析、线性范围宽、检出限低、应用范围广等特点,因此ICP-MS可以作为矿质元素检测的有力手段之一^[5-6]。矿质元素是人体中酶、激素、维生素等活性物质的核心成分,对人体的正常代谢和健康起着重要作用。现代医学证明,人体所含微量元素的多少与癌症、心血管疾病及人类的寿命有着密切的关系^[7]。国内外对海胆矿质元素分析的研究报道极少,研究对象均为紫海胆^[8-9]。本文采用ICP-MS法对马粪海胆、紫海胆两种海胆中的K、Ca、Mg、Fe、V、Cr、Mn、Al、Co、Ni、Cu、Zn、As、Se、Mo、Cd、Hg和Pb共18种元素进行了测定分析,为海胆的科学合理利用及深度开发提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

供试马粪海胆、紫海胆 购于青岛市南山鲜活水产品市场;硝酸、高氯酸 北京化工厂,优级纯;10mg·L⁻¹多元素标准溶液、10μg·L⁻¹ Li、Co、Y、Ce和Tl的调谐液、10mg·L⁻¹内标溶液 Agilent公司,色谱纯;实验用水 均为超纯水。

Agilent 7500a型电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS) 美国安捷伦公司;MQS50001型Milli-Q超纯水系统 美国MILLIPORE公司;ALPHA1-4LD型冷冻干燥机 德国CHRIST公司;AL204电子天平 梅特勒—托利多仪器上海有限公司。

1.2 样品处理

鲜活海胆经清洗、去壳后,取出黄色内脏部分,真空冷冻干燥后磨粉,置于干燥器,供实验分析用。

准确称量0.5g海胆粉于100mL锥形瓶中,加入10mL混酸(HNO₃:HClO₄=4:1, v/v),静置12h以上,然后在电炉上小心消化至冒浓白烟,消化液为无色透明或淡黄色近干时,加适量超纯水赶酸,冷却后用2% HNO₃溶液定容至50mL。电感耦合等离子体质谱测定时进行适度稀释,并选⁶Li、⁴⁵Sc、⁷²Ge、⁸⁹Y、¹¹⁵In、¹⁵⁹Tb、²⁰⁹Bi作为内标元素补偿基体效应,每个样品做三个平行。

1.3 仪器工作参数

ICP-MS仪器工作参数列于表1。

表1 ICP-MS仪器工作参数

Table 1 Operational instrumental condition for the Agilent 7500a ICP-MS instrument

项目	参数	项目	参数
射频功率(W)	1350	单位质量数采集点数	3
采样深度(mm)	6.8	积分时间(s)	0.1
等离子体气流速(L·min ⁻¹)	16.0	样品提升速率(mL·min ⁻¹)	1.0
辅助气流速(L·min ⁻¹)	1.0	采样锥(Ni)(mm)	1.0
载气流速(L·min ⁻¹)	1.12	截取锥(Ni)(mm)	0.8
数据采集模式	跳峰采集模式	数据采集重复次数	3

1.4 内标溶液的在线引入

分别用2支不同内径的泵管,利用双蠕动泵进样体系在线引入内标溶液,以同样泵速分别将内标溶液

与空白、标准样品、实际样品溶液导入仪器,在进入雾化器前混合。保证内标溶液在整个分析过程中保持恒定,以减少大量的溶液配制工作,节省内标物质。

1.5 仪器校正、干扰及其消除

1.5.1 ICP-MS仪器校正 采用含有⁷Li、⁸⁹Y、²⁰⁵Tl的10μg·L⁻¹调谐液进行灵敏度调谐,使其达到较理想灵敏度;并用含有⁶Li、⁴⁵Sc、⁷²Ge、⁸⁹Y、¹¹⁵In、¹⁵⁹Tb、²⁰⁹Bi 7种元素,质量浓度为50μg·L⁻¹的内标液进行仪器 F/A Factor调谐,使标准溶液在一定的范围内具有较好的线性关系,内标检测30min,其RSD值分别为Li(6) ≤ 5.43%、Sc(45) ≤ 5.62%、Ge(72) ≤ 4.33%、Y(89) ≤ 4.27%、In(115) ≤ 3.71%、Tb(159) ≤ 4.36%、Bi(209) ≤ 5.12%,稳定性较好。

1.5.2 ICP-MS干扰及其消除 ICP-MS的干扰分为物理干扰与质谱干扰等,物理干扰主要由离子化温度、雾化效应及采样锥接口和离子透镜处的空间电荷效应等因素引起,实验中利用在线加入多元素内标溶液加以克服;质谱干扰主要有同量异位素和多原子离子干扰等,实验中按照丰度大、干扰小、灵敏度高的原则选择待测元素的同位素元素,同时采用仪器所附有的EPA6020的干扰方程校正。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线

按表1所示仪器工作条件,测定了K、Ca、Mg、Fe、V、Cr、Mn、Al、Co、Ni、Cu、Zn、As、Se、Mo、Cd、Hg和Pb的标准工作液,为保证标准曲线的可靠性,每种元素选定5种不同浓度的标准溶液并做标准空白,以待测元素与内标元素的信号值(CPS)比值x与待测元素质量浓度Y建立标准曲线。测定标准溶液浓度、标准曲线回归方程及相关系数列于表2。结果表明,各元素在检测浓度内,线性良好,相关系数均大于0.9984。

表2 各元素标准工作溶液浓度、回归方程及相关系数

Table 2 Standard solution concentration, regression equation and correlation coefficient of each element

元素	标准溶液浓度(mg·L ⁻¹)	标准曲线回归方程	相关系数
K	0、1、2、5、8、10	Y=661.62x+257.64	1.0000
Ca	0、1、2、5、8、10	Y=1.3868x+0.0868	0.9999
Mg	0、1、2、5、8、10	Y=525.74x+22.932	0.9999
Fe	0、1、2、5、8、10	Y=1378.1x+143.01	1.0000
V	0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.10	Y=1.3089x+0.2238	1.0000
Cr	0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.10	Y=0.1436x+0.4721	0.9991
Mn	0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.10	Y=0.1436x+0.4721	0.9991
Al	0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.10	Y=0.6868x+4.4502	0.9984
Co	0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.10	Y=1.9297x+0.8757	1.0000
Ni	0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.10	Y=0.4675x+0.2840	0.9999
Cu	0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.10	Y=1.3549x+0.6861	0.9999
Zn	0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.10	Y=0.3185x+0.2798	0.9999
As	0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.10	Y=0.2851x+0.0462	1.0000
Se	0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.10	Y=0.0086x+0.0278	1.0000
Mo	0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.10	Y=0.1835x+0.0259	1.0000
Cd	0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.10	Y=0.0852x+0.0341	1.0000
Hg	0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.10	Y=0.8268x+0.1471	0.9985
Pb	0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.10	Y=1.2958x+0.1537	1.0000

2.2 方法的精确度

表4 海胆中矿物质元素的测定结果(干基, n=3)

Table 4 Analytical results of mineral elements in sea urchin (dry weight, n=3)

元素 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	K	Ca	Mg	Fe	V	Cr	Mn	Al	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Mo	Cd	Hg	Pb
马粪海胆	11784.714	265.206	943.978	45.228	2.301	39.666	1.661	7.187	0.063	0.186	2.382	107.543	3.645	1.804	0.081	0.037	0.395	0.672
紫海胆	8497.910	174.199	840.832	70.645	0.315	24.408	1.415	30.520	0.137	0.278	1.709	79.455	2.676	0.950	0.101	0.093	0.348	0.925

为验证方法的准确性, 对各元素的加标回收率和精密度(测定次数n=3)进行测定。由表3可知, 该方法的回收率为93.11%~116.91%, 相对标准偏差(RSD)小于5%, 说明该方法具有良好的准确度和精密度。

表3 方法回收率和相对标准偏差(n=3)

Table 3 The recovery rate and RSD of the method (n=3)

元素	样品含量 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	添加量 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	检测值 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	回收率 (%)	RSD (%)
K	21.34	10.00	33.73	111.94	0.29
Ca	1.75	5.00	7.11	107.17	3.37
Mg	8.45	10.00	18.40	99.47	0.66
Fe	0.71	5.00	5.99	105.70	0.71
V	3.16	0.20	3.36	99.32	0.92
Cr	2.45	3.00	5.65	106.56	1.55
Mn	1.42	0.50	1.93	101.96	0.44
Al	3.06	3.00	6.18	103.90	4.62
Co	1.38	0.10	1.48	101.03	0.85
Ni	0.28	0.20	0.47	93.75	3.28
Cu	1.72	2.00	3.87	107.32	0.5
Zn	7.98	5.00	12.91	98.55	0.27
As	5.70	2.00	8.02	115.93	4.45
Se	1.08	0.20	1.30	110.87	3.79
Mo	1.01	0.10	1.10	93.11	1.00
Cd	0.93	0.10	1.03	102.08	0.60
Hg	0.35	0.20	0.58	116.91	4.05
Pb	0.93	0.20	1.12	93.19	0.79

2.3 样品测定结果

按照上述条件, 对马粪海胆、紫海胆的18种元素进行测定, 结果平均值列于表4。

从测定结果可知, 两种海胆中K、Mg、Ca含量较高, 且均含有丰富的人体所需微量元素, 其中Zn、Fe含量明显高于其他元素, 还含有Cu、V、Mn、Se等对人体非常有益的元素。海胆中含有大量的K, 有利于降低血压, 减少心血管疾病, 促进糖类代谢。动物实验表明, 人体内若长期缺少Mg有可能导致染色体突变, 而此种突变会诱发肿瘤, 缺Mg可能会使免疫功能降低, 使肿瘤细胞得以迅速增殖^[10-11]。Ca既可以促进骨骼和体格发育, 还可以加强大脑皮层的抑制过程, 调节兴奋和抑制过程的平衡失调, 还有消炎、消肿抗过敏作用以及解毒作用, 并与高血压呈负相关^[10]。Zn参与体内100多种酶的合成, 缺乏锌可降低有关酶的活性而影响人体生长发育、免疫防卫、创伤愈合、生殖生育等生理功能。Zn参与人体内糖的代谢, 能促进胰岛素元转变为胰岛素, 并延长胰岛素的作用^[12]。Fe是血红蛋白和肌红蛋白的核心部分, 缺Fe容易导致贫血, 引起氧的运输和储存不足。Cu摄入量过低时, 心血管发病率会显著提高, 缺Cu可导致脑组织萎缩、神经元减少, 精神发育停滞等^[13]。V在参与糖代谢、降低

胆固醇和三酰甘油的含量、抑制或激活体内某些生化反应的酶方面发挥重要作用^[14-16]。Mn可影响胰岛素合成和分泌, 调节糖代谢, 影响造血功能和脑功能, 同时对骨代谢也有一定调节作用。Se同抗癌、抗衰老、抗病毒治疗溃疡性疾病, 提高免疫力、增强创伤组织再生能力等有关, 且还是体内拮抗有毒物质的保护剂^[17-18]。

另外, 在两种海胆中均有检出少量对人体有害的Cd、As、Hg、Pb元素。本实验测定均以海胆干基进行计算, 相关标准均为鲜基限量。通过对比我国水产品相关安全卫生标准(GB2762-200食品中污染物限量, GB2733-2005鲜、冻动物性水产品卫生标准, GB18406.4-2001农产品安全质量 无公害水产品安全要求, GB10144-2005动物性水产干制品卫生标准, NY5073-2006无公害食品 水产品中有毒有害物质限量), 可以看出, 实验用两种海胆, Cd、Hg、Pb虽有检出, 但未超过限量标准, As的含量略微偏高, 推测可能跟水资源受环境污染有关, 需引起注意。

3 结论

本实验测定分析了马粪海胆和紫海胆中K、Ca、Mg、Fe、V、Cr、Mn、Al、Co、Ni、Cu、Zn、As、Se、Mo、Cd、Hg和Pb共18种元素的含量, 在分析浓度范围内, 各元素具有良好的线性相关性, 加标回收率和精密度较好, 加标回收率达到93.11%~116.91%, 相对标准偏差(RSD)小于5%。

两种海胆中K、Mg、Ca含量较高, 且含有较为丰富的Zn、Fe、Cu、V、Mn、Se等微量元素, 与其丰富的生物活性密切相关, 具有广泛的开发应用前景。但两种海胆中均检出存在As、Hg、Pb等对人体有害的元素, 含量相对较低, 推测可能由于环境污染导致, 需引起重视。

参考文献

- [1] 廖玉麟. 我国的海胆[J]. 生物学通报, 2001, 35(9): 1-3.
- [2] 陈军, 周群, 郝露, 等. 海刺参及其产品红外光谱的分析与鉴定[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(9): 1723-1726.
- [3] 樊会增. 海胆: 关于海胆及其成分保健医疗功能的研究与开发[J]. 中国海洋药物, 2001(4): 37-44.
- [4] 李景喜, 陈发容, 崔维刚, 等. 不同原油中金属元素的测定及聚类分析[J]. 分析测试学报, 2010, 29(6): 558-563.
- [5] JUVONEN R, LAKOMAA T. Determination of gold and the platinum group elements in geological samples by ICP-MS after nickel sulphide fire assay: difficulties encountered with different types of geological samples[J]. Talanta, 2002, 58(3): 595-603.
- [6] E IHIMRIM, PASTORA, DELA GUARD I A M. Determination of uranium in tap water by ICP-MS[J]. Anal Bioanal Chem, 2000, 367(2): 151-156.

- [7] 周慈由,陈志刚,黄金龙. 海胆水解方法和化学成分研究[J]. 厦门大学学报:自然科学版,2007,46(2):236-238.
- [8] 杨宝灵,姜健,王冰,等. 海胆微量元素的光谱测定[J]. 安徽农业科学,2009,37(2):613-615.
- [9] 刘保金,马秀影,朱龙微. 海胆中微量元素的光谱测定[J]. 大连民族学院学报,2010,12(3):286.
- [10] 韩金土,刘彦明,王辉,等. 原子吸收光谱法测定清热解毒类中草药中的11中微量元素[J]. 光谱学与光谱分析,2006,26(10):1931-1934.
- [11] 刘彦明,王辉,韩金土,等. 原子吸收光谱法测定抗肿瘤中成药中微量元素[J]. 光谱学与光谱分析,2006,26(9):1728-1731.
- [12] 孙瑞霞,周玲妹,薛万钢,等. 原子吸收光谱法测定中成药中微量元素[J]. 光谱学与光谱分析,2002,22(5):853-855.

- [13] 郑文治,王桂芝,姜银花,等. 生命元素铜铁锌及其生理功能[J]. 长春师范学院学报,2000,19(5):12-15.
- [14] 程婉珍. 钒的生物学作用[J]. 生理科学进展,1987,18(2):178-180.
- [15] Dieter Rehder. Biological and medicinal aspects of vanadium[J]. Inorganic Chemistry Communications,2003(6):604-617.
- [16] Katherine H Thompson, Jay Lichter, Carl LeBel, et al. Vanadium treatment of type 2 diabetes: A view to the future[J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 2009, 103: 554-558.
- [17] 谢宗墉. 海洋水产品营养与保健[M]. 青岛:海洋大学出版社,1991:53-57.
- [18] 刘学诗. 硒蛋白分子生物学及其生理功能研究进展[J]. 信阳师范学院学报:自然科学版,2001,14(3):361-364.

(上接第182页)

合参数 $k_1 = -0.01296$, $k_2 = -7.0356 \times 10^{-4}$, $S_0 = 0.2007$, 得到的动力学方程为

$$S = 0.20074 - 1.1264 \left\{ 1 - 1.4448 / [1.342 + 0.1028 \exp(0.1376t)] \right\} - 7.3874 \times 10^{-4} \ln \{ [1.342 + 0.1028 \exp(0.1376t)] / 1.4448 \}$$

式(12)

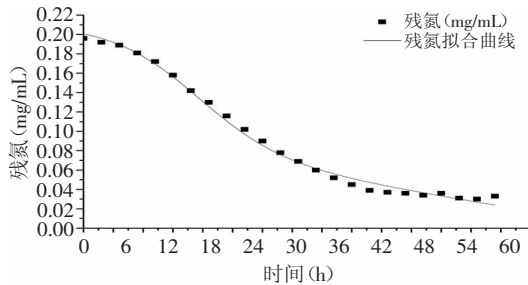


图4 桔青霉发酵基质消耗动力学

Fig.4 Consumption kinetics of substrate consumption

图4为核酸酶P1的发酵基质(N)消耗动力学模型与实验数据的比较曲线。由图可见,底物伴随着细胞的生长和底物的生成迅速消耗,到了生长的稳定期和产酶速率较小的时候,底物消耗量也逐渐减小,最后趋于稳定。拟合的曲线与实验数据比较吻合,两曲线的相关系数为0.9949,拟合出的动力学曲线能较好反映核酸酶P1发酵生产的过程中底物氮素的消耗情况。

底物消耗动力学曲线模型通过方差分析法进行检验(表1),经计算, $F=4727.90212$, $p < 0.01$, 故模型成立,能显著有效地反映发酵底物氮素的消耗情况。

3 结论

综上所述,通过对桔青霉产核酸酶P1发酵过程的分析,结合数学推导模拟出了桔青霉发酵过程中的细胞生长、产物生成及底物消耗的动力学模型及参数。该模型基本上能描述桔青霉的发酵过程,模型的计算值也能与实验数据比较好的拟合。通过方差分析检验,模型可靠。因此,模型可以用来预测发酵过程中细胞、产物和限制性底物的浓度,判断发酵过程的正常与否。根据所建立的发酵动力学模型,能帮助我们认识核酸酶P1发酵过程规律,模拟最优化的发酵工艺流程和发酵工艺参数,实现发酵过程的最

优化控制。

参考文献

- [1] 杨汝德. 工业微生物[M]. 北京:中国化工出版社,1992,24(4):24-29.
- [2] 许剑秋. 核糖核酸生产工业化及其在临床上应用的探讨[J]. 食品科学,1997,18(4):46-48.
- [3] 喻晨,赵劫,张亚雄,等. 桔青霉发酵制备核酸酶P1的研究进展[J]. 食品工业科技,2010,31(11):416-419.
- [4] Dzherbash A, Zakharyan R, Kazaryan P. Effect of dsRNA and polynucleotides on apoptosis[J]. Dok Nats Akad Nauk Arm, 2000, 100(1):60-63.
- [5] Xu Yi. The process research for 5'-Nucleotide preparation [D]. Nanjing: Nanjing University of Technology, 2002.
- [6] 邓义熹,赵劫,张亚雄,等. 麦芽根提取5'-磷酸二酯酶对RNA酶解工艺研究[J]. 食品工业科技,2010,31(1):207-209.
- [7] MiLsuru K, usumu N, Noriho T, et al. Safety evaluation of phosphodiesterase produced from *Penicillium citrinum* summary of toxicological data[J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2001, 33:2-11.
- [8] 张克旭,杜连祥. 核酸发酵[C]. 氨基酸,核酸集谈会. 北京:轻工业出版社,1987:412-424.
- [9] 乔宾福. 核酸工业及其发展对策[J]. 工业微生物,1992,22(4):24-29.
- [10] Guoqing Ying, Shi Lu, Yiyu, et al. Production, purification and characterization of nuclease P1 from *Penicillium citrinum*[J]. Process Biochemistry, 2006, 41: 1276-1281.
- [11] 王正祥. 工业微生物实验技术手册[M]. 北京:中国轻工出版社,1994:386-402.
- [12] 苏拔贤. 生物化学制备技术[M]. 北京:科学出版社,1998:140-156.
- [13] 杜连祥. 工业微生物学实验技术[M]. 天津:天津科学技术出版社,1992:45.
- [14] 张克旭,陈宁,张蓓,等. 代谢控制发酵[M]. 北京:轻工业出版社,1998:13-23.
- [15] 戚以政,汪叔雄. 生化反应动力学与反应器[M]. 第二版. 北京:化学工业出版社,1999:241.