

中图分类号: R917; R978.1 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)05-0068-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.05.016



土霉素原料及片剂中有关物质测定*

杨天凤¹, 张少萌², 高燕霞¹, 张冬^{1△}

(1. 河北省药品医疗器械检验研究院, 河北 石家庄 050200; 2. 河北省药品审评中心, 河北 石家庄 050011)
摘要:目的 建立测定土霉素原料及片剂中有关物质含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Thermo Hypersil GOLD SinoChrom C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相 A 为醋酸铵溶液[0.25 mol/L 醋酸铵-0.05 mol/L 乙二胺四乙酸二钠溶液-三乙胺(100:10:1, V/V/V)], 用醋酸调 pH 至 7.5-乙腈(88:12, V/V), 流动相 B 为乙腈进行梯度洗脱, 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 254 nm, 柱温为 30 °C, 进样量为 10 μL。结果 土霉素的质量浓度在 0.5~20 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 8, n=6$); 检测限为 1.4 ng, 定量限为 5.0 ng; 精密度和稳定性试验结果的 RSD 均小于 2.0%; 专属性试验与强力破坏试验中, 土霉素与强制破坏的降解产物及与其他 8 种已知杂质对照品均可实现有效分离。土霉素片中 2-乙酰-2-去酰胺土霉素检出量为 1.62%~2.73%, 其他杂质总含量为 1.20%~1.84%。结论 该方法操作简便、专属性好、灵敏度高, 可用于土霉素原料及片剂中有关物质的测定。拟订土霉素片中有关物质 2-乙酰-2-去酰胺土霉素的限度为不得过对照溶液主峰面积的 3.5%, 其他各杂质峰面积之和不得过对照溶液主峰面积的 2.0%。
关键词:土霉素; 高效液相色谱法; 有关物质; 2-乙酰-2-去酰胺土霉素

Determination of Related Substances in Oxytetracycline Active Pharmaceutical Ingredients and Oxytetracycline Tablets

YANG Tianfeng¹, ZHANG Shaomeng², GAO Yanxia¹, ZHANG Dong¹

(1. Hebei Institute of Drug and Medical Device Inspection, Shijiazhuang, Hebei, China 050200; 2. Hebei Drug Evaluation Center, Shijiazhuang, Hebei, China 050011)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the content determination of related substances in oxytetracycline active pharmaceutical ingredients (API) and Oxytetracycline Tablets. **Methods** The chromatographic column was Thermo Hypersil GOLD SinoChrom C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase A was ammonium acetate solution [0.25 mol/L ammonium acetate-0.05 mol/L disodium ethylenediaminetetraacetate solution-triethylamine (100:10:1, V/V/V)], pH was adjusted to 7.5 with acetic acid-acetonitrile (88:12, V/V), the mobile phase B was acetonitrile with gradient elution, the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 254 nm, the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 10 μL. **Results** The linear range of oxytetracycline was 0.5-20 μg/mL ($r=0.999\ 8, n=6$). The limit of detection was 1.4 ng, and the limit of quantification was 5.0 ng. The RSDs of precision and stability test results were all lower than 2.0%. In the specificity test and the strong destructive test, oxytetracycline could be effectively separated from the degradation products of strong destruction and other eight known impurities. The detection rate of 2-acetyl-2-deamidothetracycline in Oxytetracycline Tablets was in the range of 1.62%-2.73%, and the total content of other impurities was in the range of 1.20%-1.84%. **Conclusion** The method is simple, has good specificity and high sensitivity, which can be used for the content determination of related substances in oxytetracycline API and Oxytetracycline Tablets. The limit for the relevant substance 2-acetyl-2-deamidothetracycline in the formulation of Oxytetracycline Tablets shall not exceed 3.5% of the main peak area of the reference solution, and the sum of peak areas of other impurities shall not exceed 2.0% of the main peak area of the reference solution.

Key words: oxytetracycline; HPLC; related substance; 2-acetyl-2-deamidothetracycline

土霉素又名氧四环素、地霉素等, 属第 1 代生物发酵的四环素类抗菌药物^[1]。FINLAY 等于 1950 年自龟裂链霉菌的培养液中分离制得^[2]。土霉素作用机制主要为阻止氨酰 tRNA 与细菌核糖体结合, 抑制细菌蛋白质合成, 对革兰阳性菌和革兰阴性菌均有抑制作用, 对立克次体、螺旋体、某些原虫等亦有抑制作用^[3-4]。1950 年,

美国食品和药物管理局(FDA)批准土霉素上市, 我国于 1952 年开始生产, 临床常用剂型为片剂。土霉素原料收载于《中华人民共和国卫生部药品标准: 抗生素药品(第一册)》WS_{1-C₂-0002-89}^[5](《简称部颁标准》)、《英国药典》(BP2020)^[6]、《欧洲药典 10.2》(EP10.2)^[7]及《美国药典 42》(USP42)^[8]; 片剂收载于《部颁标准》及

*基金项目: 河北省科学技术厅中央引导地方科技发展资金项目[216Z4802G]。

第一作者: 杨天凤, 女, 大学本科, 初级工程师, 研究方向为药物分析, (电子信箱)70107219@qq.com。

△通信作者: 张冬, 女, 硕士, 主任药师, 研究方向为药物分析, (电子信箱)kafeipian@sina.com。

USP42。土霉素对光、热敏感,遇光后颜色逐渐变暗,在pH过低或过高和加热条件下易失活。而我国现行质量标准中未对有关物质进行控制,产品存在一定安全隐患。为此,本研究中建立了测定土霉素原料及片剂中有关物质含量的高效液相色谱法^[9-13],在实现有效分离的基础上,对杂质进行定性及限量控制;并根据国家计划抽验工作的部署和要求^[14-15],以该方法作为主要评价方法,对全国抽取的192批次土霉素片剂进行了综合评价。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

LC-20AT型高效液相色谱仪(配有紫外检测器),UV-2450型紫外分光光度计,均购自日本Shimadzu公司;XS205型电子天平(瑞士Mettler公司,精度为0.01 mg)。

1.2 试药

土霉素对照品(批号为130487-200703,含量为88.8%),四环素对照品(批号为130306-201419,含量为969 IU/mg),美他环素对照品(批号为130499-200101,含量为90.1%),脱水四环素对照品(批号为130402-200203),脱水差向四环素对照品(批号为130403-200204),4-差向四环素对照品(批号为130401-200209),均购自中国食品药品检定研究院;4-差向土霉素对照品(EPure,批号为E200712-1020); α -阿扑土霉素对照品(编号为A1220000), β -阿扑土霉素对照品(编号为A1230000),均购自EP Reference Standard;乙腈(色谱纯,赛默飞世尔科技<中国>有限公司);醋酸铵、乙二胺四乙酸二钠、三乙胺(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);土霉素(原料,X,Y,Z生产企业;制剂,18家生产企业,编号为1-18,共192批次)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Thermo Hypersil GOLD SinoChrom C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μ m);流动相:A为醋酸铵溶液[0.25 mol/L醋酸铵-0.05 mol/L乙二胺四乙酸二钠溶液-三乙胺(100:10:1,V/V/V),用醋酸调pH至7.5]-乙腈(88:12,V/V),B为乙腈,梯度洗脱(程序见表1);流速:1.0 mL/min;检测波长:254 nm;柱温:30℃;进样量:10 μ L。

表1 流动相梯度洗脱程序(%)

Tab.1 Gradient elution program of the mobile phase (%)

时间	流动相A	流动相B	时间	流动相A	流动相B
0 min	88	12	46 min	88	12
25 min	88	12	60 min	88	12
45 min	70	30			

2.2 溶液制备

系统适用性溶液:取土霉素对照品(约含3% 2-乙酰-2-去酰胺土霉素)适量,精密称定,加0.1 mol/L盐酸溶液适量溶解,用水稀释成每1 mL含土霉素0.5 mg的溶液,即得。

供试品溶液:取样品细粉适量(约相当于土霉素50 mg),精密称定,置100 mL容量瓶中,加0.1 mol/L盐酸溶液溶解并定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

自身对照溶液:精密量取供试品溶液2 mL,置100 mL容量瓶中,加0.01 mol/L盐酸溶液稀释并定容,摇匀,即得。

土霉素对照品溶液:取土霉素对照品25.01 mg,精密称定,置50 mL容量瓶中,加0.01 mol/L盐酸溶液溶解并定容,摇匀;精密量取2 mL,置100 mL容量瓶中,加0.01 mol/L盐酸溶液定容,摇匀,即得。

混合杂质对照品溶液:取四环素、美他环素、脱水四环素、脱水差向四环素、4-差向四环素、4-差向土霉素、 α -阿扑土霉素、 β -阿扑土霉素及土霉素对照品各适量,精密称定,加0.01 mol/L盐酸溶液溶解并定容,制成每1 mL分别含0.1 mg的混合溶液,摇匀,滤过,即得。

阴性对照品溶液:按处方工艺制备不含土霉素的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备溶液,即得。

2.3 系统适用性试验

取2.2项下系统适用性溶液适量,按2.1项下色谱条件进样测定,土霉素峰的保留时间为12 min,土霉素峰与2-乙酰-2-去酰胺土霉素峰(与土霉素峰相对保留时间约为1.1)的分离度为2.0。详见图1。

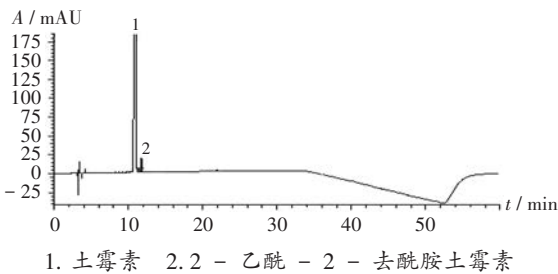


图1 系统适用性试验高效液相色谱图

1. Oxytetracycline 2. 2-Acetyl-2-deamidothetracycline

Fig.1 HPLC chromatogram of the system suitability test

2.4 方法学考察

强力破坏试验:1)酸破坏。取土霉素对照品10 mg,精密称定,置10 mL容量瓶中,加2 mL 1 mol/L盐酸溶液使溶解,60℃水浴20 min,取出,加2 mL 1 mol/L氢氧化钠溶液中和,用0.01 mol/L盐酸溶液定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得酸破坏试验溶液。2)碱破坏。取土霉素对照品10 mg,精密称定,置10 mL容量瓶中,加2 mL 1 mol/L氢氧化钠溶解,60℃水浴3 min,取出,加2 mL

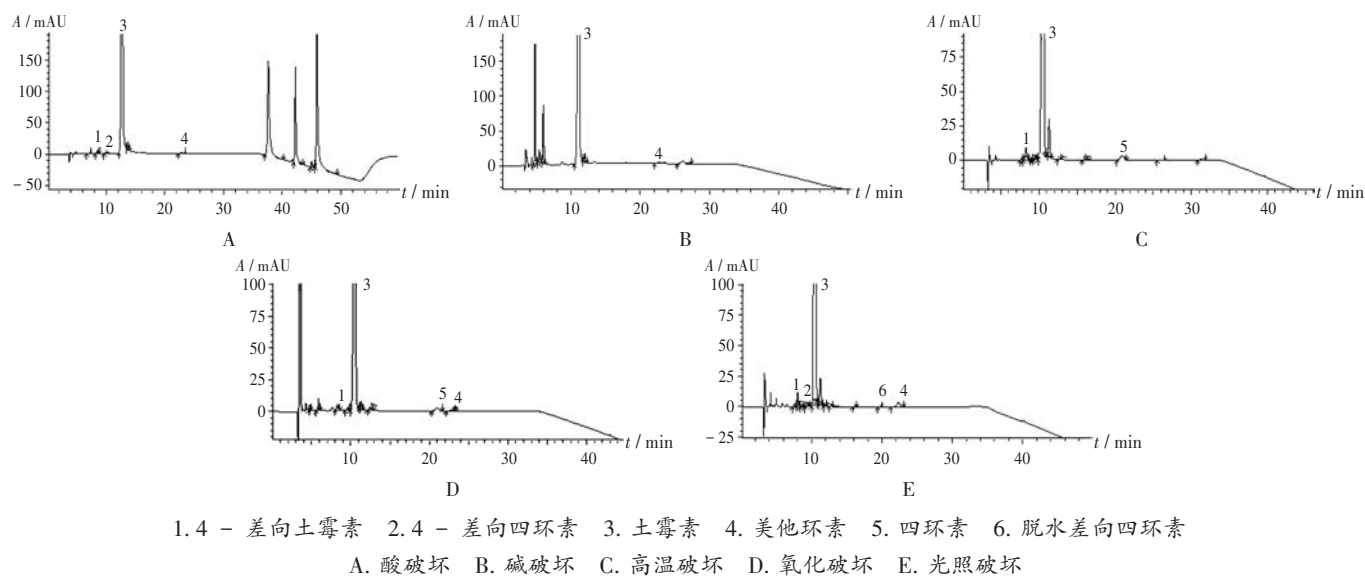


图2 强力破坏试验高效液相色谱图

1. 4 - Epioxytetracycline 2. 4 - Epitetracycline hydrochloride 3. Oxytetracycline 4. Methicycline 5. Tetracycline 6. Anhydrotetracycline
A. Acid damage B. Alkali damage C. High-temperature damage D. Oxidative damage E. Light damage

Fig. 2 HPLC chromatograms of the strong destructive test

1 mol/L 盐酸溶液中和,用0.01 mol/L 盐酸溶液定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得碱破坏试验溶液。3) 高温破坏。取土霉素对照品适量,120℃放置3 h,取10 mg,精密称定,置10 mL容量瓶中,加0.01 mol/L 盐酸溶液溶解并定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得高温破坏试验溶液。4) 氧化破坏。取土霉素对照品10 mg,精密称定,置10 mL容量瓶中,加30% H₂O₂溶液2 mL,室温放置50 min,加0.01 mol/L 盐酸溶液溶解并定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得氧化破坏试验溶液。5) 光照破坏。取土霉素对照品10 mg,精密称定,置10 mL容量瓶中,加0.01 mol/L 盐酸溶液溶解并定容,4 000 lx光照48 h,摇匀,滤过,取续滤液,即得光照破坏试验溶液。取上述5种溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定。结果样品经酸、碱、高温、氧化、光照破坏后,个别杂质增加明显,提示样品在酸、碱、高温、氧化、光照条件下不稳定;主峰与杂质峰及杂质峰间的基线分离,且未知杂质不干扰主成分的测定。色谱图见图2。

专属性试验:精密量取2.2项下混合杂质对照品溶液和阴性对照品溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定。结果9种成分均可实现基线分离,四环素与美他环素的分离度为1.5,其他各峰间的分离度均大于2.0,且阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。色谱图见图3。

线性关系考察:取土霉素对照品11.26 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,加0.01 mol/L 盐酸溶液溶解并定容,摇匀,作为对照品贮备液;分别精密吸取对照品贮备液0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20 mL,置100 mL容量瓶中,加

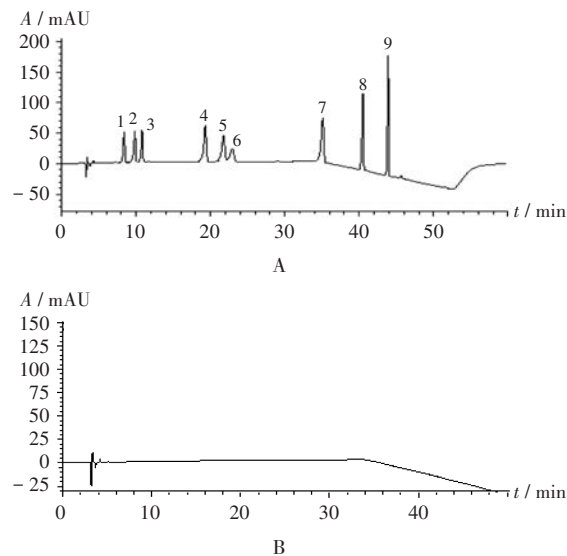


图3 专属性试验高效液相色谱图

1. 4 - Epioxytetracycline 2. 4 - Epitetracycline hydrochloride
3. Oxytetracycline 4. Anhydrotetracycline 5. Tetracycline 6. Methicycline
7. α - Apooxytetracycline 8. Anhydrotetracycline 9. β - Apooxytetracycline
A. Mixed impurity reference solution B. Negative reference solution

Fig. 3 HPLC chromatograms of the specificity test

0.01 mol/L 盐酸溶液定容,按2.1项下色谱条件进样测定,以土霉素质量浓度($X, \mu\text{g/mL}$)为横坐标、峰面积(A)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 1\,991.6 X - 758.75$ ($r = 0.999\,8, n = 6$)。结果表明,土霉素的质量浓度在0.5~20 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

定量限与检测限确定:精密量取2.2项下土霉素对照品溶液适量,加0.01 mol/L盐酸溶液制成质量浓度为10 μg/mL的溶液,逐级稀释,按2.1项下色谱条件进样测定,分别以信噪比(S/N)为10:1和3:1时的进样量为定量限和检测限。结果土霉素的定量限为5.0 ng,检测限为1.4 ng。

精密度试验:取2.2项下土霉素对照品溶液适量,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果峰面积的 RSD 为1.54%($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液适量,分别于室温放置1,2,3,4,5,6,7,8 h时按2.1项下色谱条件进样测定。结果随着放置时间的延长,杂质含量略有增加,但各杂质含量变化的绝对值在0.1%范围内,土霉素峰面积的 RSD 为0.85%($n=8$),表明供试品溶液在室温放置8 h内较稳定,检测有关物质时宜临用现配。

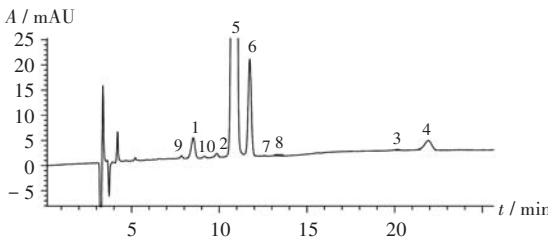
耐用性试验:取2.2项下供试品溶液适量,分别采用不同色谱柱[CAPCELL PAK TYPE MG II柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Diamonsil™ C₁₈柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm), Thermo Hypersil GDL SinoChrom C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)],按2.1项下色谱条件进样测定。结果供试品溶液中杂质含量的 RSD 均在±0.1%范围内,表明方法耐用性良好。

2.5 土霉素原料和制剂中杂质色谱图确立

采用主成分自身对照法,按2.1项下色谱条件进样测定,结果显示,各企业样品中检出杂质含量相近,检出杂质9个,典型供试品溶液有关物质高效液相色谱图见图4。采用已知杂质对照品定性杂质4个,分别为4-差向土霉素、4-差向四环素、脱水差向四环素、四环素;经液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)法初步分析结构,确定杂质1与2-乙酰-2-去酰胺土霉素结构一致,杂质2为蛋白性杂质,杂质3为土霉素氧化降解产物。

2.6 土霉素原料和制剂中有关物质含量测定

原料:取X, Y, Z生产企业的土霉素原料样品,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定。3家生产企业样品中共检出8种杂质,均为制剂



1. 4-差向土霉素 2. 2-差向四环素 3. 脱水差向四环素
4. 四环素 5. 土霉素 6. 杂质1 7. 杂质2 8. 杂质3
9-10. 未知杂质

图4 供试品溶液有关物质高效液相色谱图
1. 4-Epioxytetracycline 2. 4-Epitetracycline hydrochloride
3. Anhydrotetracyclin 4. Tetracycline 5. Oxytetracycline 6. Impurity 1
7. Impurity 2 8. Impurity 3 9-10. Unknown impurities

Fig. 4 HPLC chromatograms of relevant substances in the test solution

杂质谱中的杂质,但未检出脱水差向四环素,检出量有差异。提示不同原料生产企业的生产工艺相近,脱水差向四环素在土霉素制剂生产过程中产生,其他均为原料引入。详见表2。

制剂:取18家生产企业的192批次土霉素制剂样品,每批样品抽验数量不少于5批次,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定。抽验样品中,合格率为100.00%,检出杂质2-乙酰-2-去酰胺土霉素含量在1.62%~2.73%范围内,其他杂质总含量在1.20%~1.84%范围内。故以2-乙酰-2-去酰胺土霉素作为标示指标控制产品质量。拟订有关物质2-乙酰-2-去酰胺土霉素的限度为不得过对照溶液主峰面积的3.5%,其他各杂质峰面积之和不得过对照溶液主峰面积的2.0%。详见表3。

3 讨论

3.1 色谱条件优化

EP10.2土霉素有关物质检测时,流动相需用到三氟乙酸及四氢呋喃,三氟乙酸酸性较强,具有一定挥发性,四氢呋喃长期使用会腐蚀peak管。2020年版《中国药典(二部)》^[16]盐酸土霉素项下有关物质检测中,流动相的选择更优,故以2020年版《中国药典(二部)》盐酸土霉素有关物质所示方法为基础,对杂质对照品溶

表2 不同生产企业土霉素原料中有关物质含量测定结果(%)

Tab. 2 Results of the content determination of related substances in oxytetracycline API from different manufacturers (%)

生产企业	未知杂质1	4-差向土霉素	未知杂质2	4-差向四环素	杂质1	杂质2	杂质3	脱水差向四环素	四环素	其他杂质总和
X	0.04	0.53	0.02	0.03	2.43	0.004	0.02	-	0.47	1.11
Y	0.03	0.58	0.03	0.17	2.52	0.02	0.05	-	0.75	1.63
Z	0.03	0.32	0.01	0.02	2.65	0.01	0.03	-	0.74	1.16

注:- 为未检出。
Note:- refers to not detected.

表3 不同生产企业土霉素制剂中有关物质含量测定结果(%)

Tab.3 Results of the content determination of related substances in oxytetracycline preparations from different manufacturers (%)

生产企业	2-乙酰-2-去 酰胺土霉素	其他杂质总和	生产企业	2-乙酰-2-去 酰胺土霉素	其他杂质总和
1	2.51~2.73	1.55~1.84	10	2.27~2.53	1.38~1.78
2	2.51~2.67	1.32~1.72	11	2.43~2.52	1.20~1.37
3	2.25~2.65	1.39~1.71	12	2.18~2.42	1.33~1.61
4	2.39~2.56	1.33~1.52	13	2.51~2.62	1.33~1.64
5	1.68~2.06	1.31~1.62	14	1.62~1.83	1.47~1.71
6	2.34~2.53	1.28~1.48	15	2.20~2.45	1.36~1.70
7	2.38~2.69	1.27~1.71	16	2.01~2.51	1.35~1.72
8	2.16~2.41	1.34~1.70	17	2.27~2.53	1.35~1.55
9	2.26~2.65	1.36~1.68	18	2.21~2.47	1.36~1.66

液进行预试验,β-阿扑土霉素于104 min出峰,为缩短分析时间,将等度洗脱优化为梯度洗脱,达到快速检验的目的。

BP2020和EP10.2土霉素有关物质项下检测波长为254 nm,2020年版《中国药典(二部)》盐酸土霉素有关物质项下检测波长为280 nm。对土霉素有可能产生的3种杂质(4-差向土霉素、α-阿扑土霉素、β-阿扑土霉素)进行二极管阵列检测器(PDA)全波长扫描,三者的最大吸收均在254 nm波长处,故选择检测波长为254 nm。

土霉素在乙醇中微溶,在水中极微溶解,在氢氧化钠和稀盐酸中溶解,根据其溶解性,提取溶剂选择0.01 mol/L盐酸溶液。

3.2 线性范围选择

土霉素原料及片剂的主要杂质为2-乙酰-2-去酰胺土霉素,而目前中国食品药品检定研究院尚未提供2-乙酰-2-去酰胺土霉素的对照品,故采用主成分自身对照法对杂质的限量进行控制,此方法是2020年版《中国药典》和其他国家药品标准中应用最多、最广泛的有关物质测定和计算方法。同面积归一化法的思路一致,该方法也是在假定供试品溶液中所有杂质均与主成分分离且各杂质和主成分的响应因子均相同的前提下进行的,故方法验证选择土霉素定量限至2-乙酰-2-去酰胺土霉素的最高限度3.5%的浓度作为线性范围,以保证杂质的响应值位于线性范围内。

主成分自身对照法的优点为操作简单,运算方便,无需杂质对照品;缺点是忽略了各杂质与主成分的响应因子可能不同的事实,导致测得的杂质含量可能与真正的杂质含量存在差异。随着杂质分离和制备技术的不断发展,可采用杂质对照品外标法实现对特定杂质的精准控制。

3.3 特定杂质选择

2-乙酰-2-去酰胺土霉素是土霉素发酵过程中产生的一种共生物杂质,其母环结构与土霉素相同,分子式极接近^[17],是影响土霉素质量的主要因素之一,故选择2-乙酰-2-去酰胺土霉素作为特定杂质。通过对产品关键质量属性的控制,进一步分析影响土霉素原料及制剂总体质量水平的主要产生因素,进而明确产品质量提高的方向。

3.4 方法评价

该方法操作简便、专属性好、灵敏度高,可用于土霉素原料及制剂中有关物质的测定。

参考文献

[1] 裴立忠,王勇平,张 鹏,等. 四环素类抗生素生产状况与市场前景[J]. 中国兽药杂志,2015,49(1):64-68.

[2] 马改彦,邹君彪. 土霉素及其常用制剂研究进展[J]. 国外畜牧学(猪与禽),2017,37(8):103-105.

[3] 洪 权,侯忠良,王兆平,等. 土霉素的物化特性及临床应用案例探究[J]. 养殖与饲料,2020(3):69-70.

[4] 田文霞,宋志勇,邢全福. 土霉素预混剂的体外抑菌及临床疗效试验[J]. 中国动物检疫,2008,25(6):40-41.

[5] WS₁-C₂-0002-89,中华人民共和国卫生部药品标准:抗生素药品(第一册)[S].

[6] British Pharmacopoeia Commission. BP2020[M]. London: The Stationery office,2020: II-512-II-514.

[7] European Pharmacopoeia Commission. EP10.2[M]. Strasbourg: European Directorate Health Care,2020:4678-4680.

[8] The United States. Pharmacopieial Convention. USP42[M]. Rockville: The United States Pharmacopieial Convention,2019: 3331-3332.

[9] 范 柏,袁雯玮,田 钢. 高效液相色谱法测定土霉素及其盐酸盐的含量和有关物质[J]. 药物分析杂志,2001,21(1): 31-33.

[10] 杨开金. HPLC法测定土霉素片的含量[J]. 安徽医药, 2008,12(9):809-810.

[11] 杨开金. HPLC法测定土霉素片含量的研究[J]. 北方药学, 2015,12(5):2-3.

[12] 苑 华,高燕霞,张素平. HPLC测定土霉素片中主药及有关物质的含量[J]. 华西药学杂志,2005,20(5):444-445.

[13] 顾 云,曹晓云. HPLC法测定土霉素二水物的有关物质的方法研究[J]. 天津药学,2015,27(2):14-16.

[14] 胡昌勤. 对抗生素药品评价性抽验基本思路与方法的思考[J]. 中国抗生素杂志,2013,38(1):1-11.

[15] 胡昌勤. 国内抗生素药品的质量现状[J]. 中国抗生素杂志, 2018,43(3):255-261.

[16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社,2020:1047-1048.

[17] 宋世骏. 土霉素生产车间提炼工段工艺设计[D]. 呼和浩特: 内蒙古工业大学,2015.

(收稿日期:2022-02-10;修回日期:2023-09-23)