

文章编号:1673-1689(2005)05-0055-05

二溴海因/二氧化硅复合粒子的 制备及其杀菌性能评价

刘腊芹^{1,2}, 华兆哲^{1,2}, 王重辉³, 陈坚^{1,2*}

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214036; 2. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214036; 3. 日本伯东株式会社四日市研究所, 日本 Yokkaichi 510-0007)

摘要: 通过实验室制备, 合成了二溴海因/二氧化硅复合粒子。运用扫描电镜(SEM)与红外光谱(IR)进行了表征, SEM 结果显示, 在 SiO_2 的表面覆合了二溴海因, 红外光谱图表明, 复合粒子中二溴海因和二氧化硅之间以物理作用方式结合。将单纯二溴海因与二溴海因/二氧化硅复合粒子溶解于水, 测定其在水中的释放速度, 结果表明: 二溴海因/二氧化硅复合粒子中的二溴海因在水中释放的速度明显慢于纯二溴海因, 且能维持较长的作用时间。比较纯二溴海因与含等量二溴海因的复合粒子对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑制效果, 发现在二溴海因含量高于有效抑菌浓度时, 复合粒子对菌体的抑制效果高于纯二溴海因。

关键词: 抗菌剂; 二溴海因; 复合粒子; 缓释性

中图分类号: R 123.6

文献标识码: A

Preparation and Evaluation of Composite Antibacterial Particle of $\text{C}_5\text{H}_6\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2/\text{SiO}_2$

LIU La-qin^{1,2}, HUA Zhao-zhe^{1,2}, WANG Chong-hui³, CHEN Jian^{1,2*}

(1. Key Lab of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036; 3. Yokkaichi Laboratory, Hakuto Co., Ltd. Yokkaichi 510-0007, Japan)

Abstract: A novel composite antibacterial particle of $\text{C}_5\text{H}_6\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2/\text{SiO}_2$ was prepared with SiO_2 and hydantoin as raw materials. Characteristics of the composite particles were investigated by the means of SEM and IR. The micrographs showed that $\text{C}_5\text{H}_6\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2$ was covered at the surface of SiO_2 . Furthermore, $\text{C}_5\text{H}_6\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2$ in the composite particle released into water slower than that of pure $\text{C}_5\text{H}_6\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2$. In evaluation test of the composite particle, it was found that the growth inhibition of $\text{C}_5\text{H}_6\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2/\text{SiO}_2$ (the DBDMH content $\geq 0.008\text{g}$) against *E. coli*, *White staphylococcus*, *Bacillus subtilis* and *Stanphylococcus aureus* was higher than that of pure BCDMH.

Key words: antibacterial; DBDMH; composite particle; sustained release

收稿日期: 2004-09-16; 修回日期: 2004-12-12.

基金项目: 江南大学—日本伯东株式会社合作项目资助课题。

作者简介: 刘腊芹(1972-), 女, 江苏盐城人, 环境工程硕士研究生; * 通讯作者。

二溴海因是近年来兴起的一种有机卤素类消毒剂,它对水体中各类有害的微生物具有良好的杀灭作用,同时具有使用量小、价格低、对养殖生物安全性高等特点,且使用过程中对环境无毒害作用,是一种新型绿色抗菌材料.二溴海因化学名为 1,3-二溴-5,5-二甲ethyl 乙内酰脲(1,3-dimethyl hydantoin,英文简称 DBDMH),外观为白色或淡黄色粉末,在水中水解生成次溴酸^[1].二溴海因的杀菌作用主要是水解产物次溴酸与菌体接触,破坏菌体的蛋白质,由于微生物对其不产生抗药性,因而被广泛用于水产养殖等各类水体的杀菌消毒.二溴海因属高效、广谱、快速的新型氧化型杀菌剂,随着在应用中的不断扩大,它的缺陷也逐渐显现.目前的二溴海因普通剂型为粉剂,通常的使用方式为全池泼洒,因而其效果受风向、泼洒的均匀性、水层的深度等因素的影响.文献报道的主要方法是改变二溴海因的剂型,如无锡中顺生物技术有限公司研制的颗粒型二溴海因,提高了二溴海因的利用率,但该方法只是改变二溴海因的比重而减轻受风力的影响,在提高其在水体中的均匀度以及杀菌效果方面没有本质的改进.

作者的研究目的是获得分散性好、释放效果适宜、杀菌能力稳定的新型颗粒型二溴海因,在制备二溴海因的起始阶段,在反应体系中加入亲水性二氧化硅,使二溴海因在生成的过程中沉降在二氧化硅的表面,从而获得二溴海因/二氧化硅复合粒子.该二溴海因/二氧化硅复合粒子不仅可以提高二溴海因的缓释性,延长其杀菌时间,而且利用二氧化硅的亲水性,使二溴海因能够在水中自然润湿下降而不浮在水面,使二溴海因在水体中分散更加均匀,最终提高杀菌效果.

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

海因:纯度 97%~99%,无锡美华化工有限公司产品;二氧化硅:白色粉末,纯度 95.5%,上海化学试剂厂产品;溴:纯度 99.5%,分析纯;氢氧化钠,分析纯.

1.2 仪器和设备

HYG-II 回转式恒温调速摇瓶柜:上海新星自动化控制设备厂产品;SX-40 扫描电子显微镜:日本 JEOL 公司产品;5DX 傅立叶红外光谱仪:美国 NTCOLET 仪器公司产品.

1.3 菌种

大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白葡萄球菌、枯草

芽孢杆菌;江南大学生物工程学院微生物研究室提供.

1.4 培养基

营养肉汤培养基(液体),牛肉膏蛋白胨培养基(固体)^[7].

1.5 实验方法

1.5.1 二溴海因的制备 参照文献[8],称取 32 g 的海因加入到装有电动搅拌机的 1 000 mL 的四口烧瓶中,加入 500 mL 的蒸馏水搅拌待其完全溶解后,用 5 mL 的移液管量取 5 mL 的液溴加入到四口烧瓶中,用滴液漏斗慢慢向烧瓶中滴加质量分数 20%的氢氧化钠溶液 100 mL,烧瓶用冰水浴冷却使反应物系温度维持在 10 ℃ 以下,400 r/min 搅拌使液溴与氢氧化钠均匀反应,当反应体系变淡黄色时,关闭装有氢氧化钠溶液的滴液漏斗,再加入 5 mL 液溴,然后继续滴加氢氧化钠溶液,如此反复 5 次直到 25 mL 液溴完全加入体系并生成淡黄色产物后,再保持搅拌反应 1 h.反应产物用布氏漏斗过滤,以去离子水洗涤至产物呈白色为止,在 37 ℃ 下干燥得到白色晶体.

1.5.2 二溴海因/二氧化硅复合粒子的制备 在 1 000 mL 的烧瓶中加入 32 g 的海因,电动搅拌机搅拌待其完全溶解后分别加入 8,11,16,32,64 g 的二氧化硅,其余步骤同 2.5.1,可得到含不同量二氧化硅的二溴海因/二氧化硅复合粒子.

1.5.3 二溴海因与二溴海因/二氧化硅复合粒子抗菌性能的测定 从斜面挑取供试菌到装有 50 mL 液体培养基的 250 mL 锥形瓶中,在 200 r/min,37 ℃ 的条件下培养 24 h.用灭菌后的移液管分别吸取 0.3 mL 培养液,加入到装有 50 mL 液体培养基的 250 mL 各个锥形瓶中;称取纯二溴海因 0.004,0.006,0.008 g 以及制备的复合粒子(二溴海因与二氧化硅的质量比为 1:1)分别加入到上述锥形瓶中,每个样品 3 个平行样,在 200 r/min,37 ℃ 下培养,每隔 2 h 取 5 mL 培养液在 620 nm 处测定其 OD 值^[4,5],以去离子水为空白,未加杀菌剂的样品作为对照组.抑菌效率由以下公式计算得到:
抑菌效率(%)=(对照组 OD 值-试验组 OD 值)×对照 OD 值×100%

1.6 产物结构的初步分析

二溴海因粒子与复合粒子的样品用溴化钾压片后,测定二者的红外光谱图,以对产物的结构进行初步分析^[2,3].

1.7 复合粒子中二溴海因在水中的缓释性能评价 二溴海因溶解于水后,迅速水解为次溴酸,次

溴酸在 260 nm 处有最大吸收峰,通过测定其水溶液在 260 nm 的吸光度,可以计算出水中溶解的二溴海因的浓度^[6],从而间接反映二溴海因溶解的速度.作者以二溴海因纯含量 64 g 为基准,分别称取 8,11,16,32,64 g 二氧化硅,将复合的二溴海因/二氧化硅复合粒子,加入到 100 mL 水中,400 r/min 搅拌,然后在不同时间点取样测定其吸光度.

2 结果与讨论

2.1 二溴海因/二氧化硅复合粒子合成前后的形态比较

首先,对复合前后的各组分进行了扫描电镜拍摄,图 1 与图 2 分别为单纯的二氧化硅与二溴海因的扫描电镜照片,图 3 为二氧化硅与二溴海因复合后的扫描电镜照片.比较这 3 张照片可发现,图 1 的二氧化硅表面较光滑,图 2 的二溴海因则呈紧密的颗粒状,图 3 中的复合粒子则与单纯的二氧化硅明显不同,原先光滑且无定型状的表面变得模糊,有絮状物包裹,这是溴和海因反应生成的二溴海因沉淀吸附在二氧化硅表面的结果.

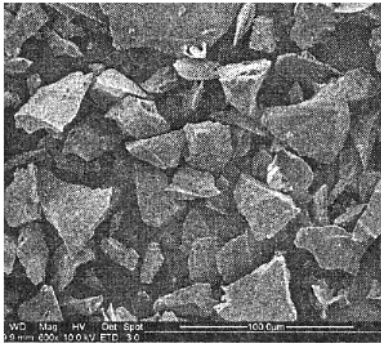


图 1 二氧化硅的扫描电镜照片

Fig. 1 Micrograph of SiO₂ taken by SEM

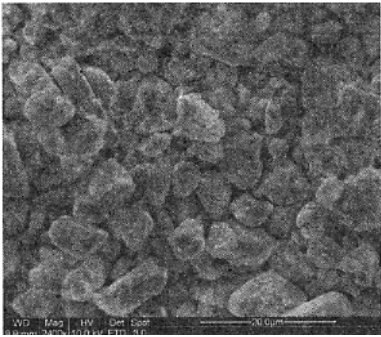


图 2 二溴海因的扫描电镜照片

Fig. 2 Micrograph of DBDMH taken by SEM

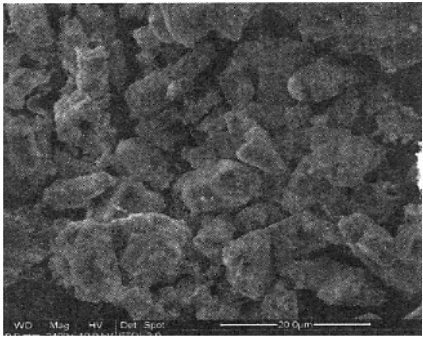


图 3 干燥的粉态二溴海因/二氧化硅复合粒子的扫描电镜照片

Fig. 3 Micrograph of DBDMH/SiO₂ composite particle taken by SEM

2.2 海因、二溴海因、二溴海因/二氧化硅复合粒子合成前后的红外光谱分析

为了更进一步地了解海因(DMH)、二溴海因(DBDMH)、二溴海因与二氧化硅(SiO₂-DBDMH)之间的结构状态,分别对复合前后的各组分进行了红外光谱分析.

从图 4 海因的红外光谱图发现,它在 3 218.55 cm⁻¹,1 381.26 cm⁻¹和 1 428.99 cm⁻¹处有较强的吸收峰,该吸收峰来自于 N-H 的伸缩振动与弯曲振动.比较海因与溴反应后产物二溴海因的红外光谱图,可发现海因的 3 个特征吸收峰 3 218.55 cm⁻¹、1 381.26cm⁻¹和 1 428.99 cm⁻¹发生了改变,可以推测由于溴与海因反应,溴原子取代了海因 N-H 上的 H 原子生成了二溴海因.

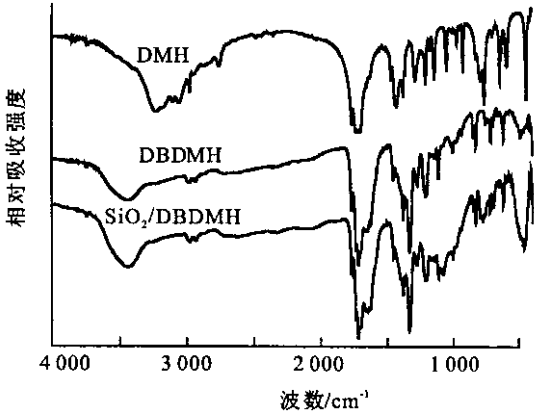


图 4 海因、二溴海因、二溴海因/二氧化硅复合粒子的红外光谱图比较

Fig. 4 Comparison of IR micrographs of DMH, DBD-MH and DBDMH/SiO₂

观察二溴海因/二氧化硅复合粒子的红外光谱图,并与二溴海因比较,可以发现,两条谱线在 3 450 cm⁻¹,2 970 cm⁻¹均有特征吸收峰,该吸收峰分别是 O-H 与 CH₃中的 C-H 伸缩振动引起的;另一处共同吸收峰在 1 720 cm⁻¹,1 200 cm⁻¹,则分别是 C

=O 双键和 C-N 的伸缩吸收峰. 两条谱线不同的是,复合粒子在 1 080.36 cm⁻¹ 处有一个特征吸收峰,这是 SiO₂ 中 Si-O-Si 的伸缩振动吸收峰,其余吸收峰的峰高也变小,但整条谱线没有发生平移,说明在复合过程中,没有新的化学键或官能团生成,不生成新物质,可以推测复合粒子的分子间作用力是物理方式(范德华力或静电引力).

2.3 复合粒子中二溴海因的缓释效果

以单纯二溴海因为对照,对含不同二氧化硅含量的复合粒子中二溴海因在水中的释放过程进行了考察,结果如图 5 所示.

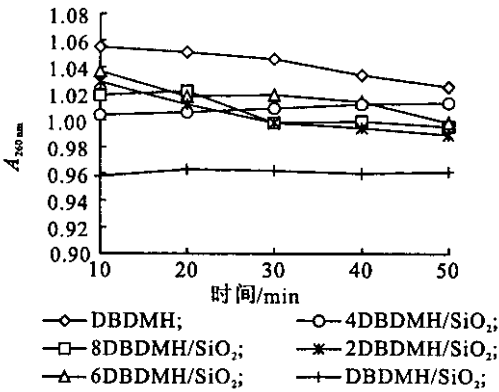


图 5 纯二溴海因与复合粒子中的二溴海因释放速度的比较

Fig. 5 Comparison of release rate of pure DBDMH and composite particle of DBDMH/SiO₂ in water

由图 5 可以看出,复合粒子中的二溴海因水解生成次溴酸的吸光度在 50 min 内均比单纯二溴海因样品的吸光度小,这说明复合粒子中二溴海因溶解到水中的速度较慢,是一个缓释放的过程.从图中还可以看出单纯二溴海因的曲线下降幅度比复合粒子大,不能在水中维持较为稳定的浓度.而复合粒子在水中所释放的二溴海因在实验时间内没有明显的下降趋势,这种稳定释放效果主要是因为复合粒子中的二溴海因需要克服与二氧化硅之间结合的阻力才能释放到水中,所以从总体上降低了二溴海因的释放速度,释放速度的减慢又有利于其在水中维持较为稳定的浓度.另外,复合粒子中二氧化硅的含量与二溴海因释放到水中浓度成反比.

2.4 二溴海因/二氧化硅复合粒子的抑菌性能评价

为较好地评价复合粒子的抑菌性能,以单纯二溴海因为对照,根据菌体在不同抗菌剂浓度下的生长过程曲线变化来确定复合粒子的抑菌效果.在本实验中共考察了 4 种水中常见微生物,分别为:大肠杆菌、白葡萄球菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌. 万方数据

表 1 为两种粒子在不同杀菌剂质量浓度条件下对大肠杆菌的抑制率比较.由图可见,复合粒子对大肠杆菌生长的抑制要比单纯二溴海因明显强,而且随二溴海因质量浓度的增加,这种差别也越明显.这表明复合粒子对大肠杆菌的抑制比单纯二溴海因更有效和持久.此外,比较二溴海因与复合粒子的抑菌效率,可以发现:当二溴海因质量浓度为 80 g/mL 时,复合粒子的抑菌效果达 19.04%,并在 6 h 内保持 15.0% 以上的抑菌率,而单纯二溴海因抑菌率最高只有 10.70%,并只能维持 2 h;当二溴海因质量浓度为 120 mg/L 时,单纯二溴海因抑菌率在 6 h 内为 31.4%,而复合粒子抑菌率达 71.4%,且在 6 h 内的抑制效果高于 64.0%,10 h 内的抑菌率维持在 30.0% 以上;当二溴海因质量浓度为 160 mg/L 时,单纯二溴海因的抑菌率最高为 54.3%,只在 6 h 内维持 30.0% 以上的抑菌率,而复合粒子在 10 h 内保持高达 70.0% 以上的抑制效率,最高达 88.5%.

表 1 复合粒子与纯粒子在不同时间内对大肠杆菌的抑制率(%)的比较

Tab. 1 Comparison of inhibition efficiencies of DBDMH/SiO₂ composite and DBDMH against *E. coli.* in different times

测定 时间/ h	培养液中二溴海因的质量浓度/(mg/L)						/%
	80		120		160		
	DBDMH	DBDMH/ SiO ₂	DBDMH	DBDMH/ SiO ₂	DBDMH	DBDMH/ SiO ₂	
2	10.70	17.85	17.85	35.71	35.71	35.71	
4	2.56	15.78	23.94	67.10	38.68	73.68	
6	9.52	19.04	31.42	71.42	54.28	88.47	
8	0	5.12	10.25	64.61	28.2	83.58	
10	0	2.32	9.30	32.56	9.30	73.49	

表 2 为两种粒子在不同杀菌剂质量浓度条件下对白葡萄球菌的抑制率比较.与大肠杆菌不同的是,在二溴海因质量浓度较低时(80 g/mL),复合粒子抑菌效果效果不如二溴海因,且抑制有效时间均很短.但当二溴海因质量浓度增加到 120 mg/L 与 160 mg/L 时,复合粒子对菌体生长抑制率明显高于二溴海因.这是可能因为白葡萄球菌对二溴海因的抗药性比大肠杆菌强,当加入的二溴海因量较低时,由于复合粒子的缓释出的二溴海因质量浓度较低,所以不能有效地抑制菌体生长.当二溴海因质量增加到一定程度后(如 120 g/mL),复合粒子释放到水中的量达到抑菌所需的有效剂量,并且由于

复合粒子较大的比表面积与良好的分散性作用,使其与菌体进行有效充分接触,所以复合粒子对菌体的抑制率明显高于单纯二溴海因。

表 2 复合粒子与纯粒子在不同时间内对白葡萄球菌的抑制率(%)的比较

Tab. 2 Comparison of inhibition efficiencies of DBDMH/SiO₂ composite and DBDMH against *White staphylococcus* in different times

培养液中二溴海因的质量浓度/(mg/L)							%
测定 时间/ h	80		120		160		
	DBDMH	DBDMH/ SiO ₂	DBDMH	DBDMH/ SiO ₂	DBDMH	DBDMH/ SiO ₂	
2	38.1	39.6	38.8	38.8	39.6	38.8	
4	63.4	47.1	65.5	72.1	76.0	76.6	
6	62.1	46.2	63.5	72.8	75.6	87.9	
8	68.1	57.7	66.3	77.6	77.7	89.9	
10	60.0	47.6	57.8	66.2	68.8	84.8	

表 3 两种粒子在不同杀菌剂质量浓度作用下对金黄色葡萄球菌的抑制率比较,表 4 是两种粒子在不同杀菌剂质量浓度作用下对枯草芽孢杆菌的抑制率比较,可以看到在二溴海因质量浓度较低时(80~120 mg/L),单纯二溴海因对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的抑制率虽高于复合粒子,但总的抑制率都很低,菌体从一开始就生长较好,可能是因为金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌对二溴海因的抗药性比较强的缘故。而当二溴海因质量浓度增加到如 160 mg/L 时,复合粒子的抑制率超过单纯二溴海因。也就是说,对于抗性较强的微生物,复合粒子需在二溴海因质量达到有效抑制浓度时才能体现出比单纯二溴海因的优越性。

表 3 复合粒子与纯粒子在不同时间内对金黄色葡萄球菌的抑制率(%)的比较

Tab. 3 Comparison of inhibition efficiencies of DBDMH/SiO₂ composite and DBDMH against *Stanphylococcus aureus* in different times

测定 时间/ h	培养液中二溴海因的质量浓度/(mg/L)						%
	80		120		160		
	DBDMH	DBDMH/ SiO ₂	DBDMH	DBDMH/ SiO ₂	DBDMH	DBDMH/ SiO ₂	
2	52.6	39.3	51.9	49.6	43.7	37.0	
4	67.3	48.7	73.2	75.4	80.5	75.6	
6	74.7	67.6	78.2	84.2	85.7	90.9	
8	47.8	21.1	61.9	67.5	76.2	81.8	
10	9.3	5.3	17.2	20.7	18.6	44.8	

表 4 复合粒子与纯粒子在不同时间内对枯草芽孢杆菌的抑制率的比较

Tab. 4 Comparison of inhibition efficiencies of DBDMH/SiO₂ composite and DBDMH against *Bacillus subtilis* in different times

培养液中二溴海因的质量浓度/(mg/L)						
测定 时间/ h	80		120		160	
	DBDMH	DBDMH/ SiO ₂	DBDMH	DBDMH/ SiO ₂	DBDMH	DBDMH/ SiO ₂
2	50.0	45.0	50.0	46.6	50.0	41.7
4	66.9	35.7	75.4	68.0	77.2	79.8
6	50.0	28.0	72.0	61.0	78.0	83.9
8	15.0	7.1	53.6	32.1	63.4	67.5
10	1.3	1.3	49.0	5.6	58.7	66.6

3 结 论

1)通过制备实验,使二溴海因在生成的过程中沉降在二氧化硅的表面,可以形成二溴海因/二氧化硅复合粒子.扫描电镜照片与红外光谱图分析表明二溴海因与二氧化硅之间可能通过分子间物理作用力(范德华力,静电引力)而结合。

2)通过释放实验证实了复合粒子中的二溴海因释放到水中的速度明显低于单纯二溴海因,表明复合粒子中的二溴海因具有长时间内的稳定缓释效果。

3)单纯二溴海因与二溴海因/二氧化硅复合粒子对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白葡萄球菌与枯草芽孢杆菌的抑菌试验结果表明,由于复合粒子具有较高的比表面积,且在水中的分散性更好,使得有效杀菌组分与菌体的接触更加充分,因而当二溴海因含量在有效剂量以上时,复合粒子对菌体的抑制率明显高于单纯二溴海因,同时,复合粒子的缓释效果也提高了二溴海因的利用率,延长了抑菌时间。

致谢:衷心感谢高健同学在本论文的研究过程中给予的帮助。

(下转第 63 页)

一个坚实的起点和基础. 本文通过液体培养淘汰了生长较弱的 JN,SY,DA 这 3 个菌株,得到生长较快、产量较高的 H,Y,LS 这 3 个菌株.

2) 虽然 HPGFC 测定的多糖肽的相对分子质量只是一个相对值,不是一个真正的相对分子质量,但在一定流动相浓度下作为云芝胞内多糖的质量控制还是可取的. 据 Matsunaga K 等报道^[8],云芝多糖抑瘤活性与相对分子质量大小有关,一般活性较强的成分,相对分子质量在 5 000~300 00 间^[8,9]. 故根据对照品的相对分子质量,认为峰 II 应

为有效活性成分峰. 本实验的 H 和 LS 这两个菌株所得云芝胞内多糖的峰 II 相对分子质量均在此范围内,均与对照品符合,但至于它们产生的多糖相对分子质量的差别是否会造成抑瘤活性的差异有待实验证明.

从液体培养和 HPGFC 测定的结果来看,H 和 LS 这两个菌株都不错,但考虑到云芝菌株发酵的目的是收获菌丝体,提取得到云芝胞内多糖,这就要求提高产量,降低成本,所以确定菌株 LS 为下一步的液体发酵实验菌株.

参考文献:

[1] 杨晓彤,糜可,冯慧琴,等. 不同云芝菌株及提取工艺所得结合蛋白多糖的分析比较[J]. 中国医药工业杂志,2000,31(12): 545—548.

[2] 方积年. 多糖研究的现状[J]. 药学学报,1986,21(12):944—949.

[3] 张志花,杨晓彤,方积年. 云芝糖肽在高效液相凝胶柱上色谱行为的研究[J]. 色谱,1997,15(2):150—152.

[4] 张惟杰. 复合多糖生化研究概述[M]. 上海:上海科技技术出版社,1987. 6—7.

[5] 张龙翔,张庭芳,李令媛. 生化实验方法和技术[M]. 北京:高等教育出版社,1981. 6—9.

[6] 蔡武城,袁厚积. 生物物质常用化学分析法[M]. 北京:科技出版社,1982. 93—96.

[7] 李静,左雄军. 水溶性凝胶渗透色谱法测定芸芝多糖组分的分子量及其相对含量[J]. 分析化学,1999,27(8):942—944.

[8] Matsunaga K,Oguchi Y,Ohara M. A glycoprotein ligand for platelet-derived growth factor and transforming growth factor β from *Coriolus*[P]. 欧洲专利:EP:702028,1996—03—20.

[9] Yang MP,Chen G. RNase-CV(*Coriolus versicolor*) [P]. 美国专利:US:5824648,1998—10—20.

(责任编辑:杨 萌)

(上接第 59 页)

参考文献:

[1] 何铁林. 水处理化学手册[M]. 北京:化学工业出版社. 2000. 268—270.

[2] 刘国军,曾汉民. 纳米 $\text{CaCO}_3/\text{SiO}_2$ 核-壳结构复合粒子的制备[J]. 宇航材料工艺,2003,(3):57—61.

[3] 宇海银,杜俊等. 纳米 ZnO 的表面化学修饰及其分析表征[J]. 光谱学与光谱分析,2004,24(2):177—179.

[4] Enzo A Palombo,Susan J Semple. Antibacterial activity of traditional Australian medicinal plants[J]. **Journal of Ethnopharmacology**,2001,77:151—157.

[5] Soo-jin Park,Yu-Sin Jang. Preparation and characterization of activated carbon fibers supported with silver metal for anti-bacterial behavior[J]. **Joural of Colloid and Interface Science**, 2003,261:238—243.

[6] 扬杭生,张培志. 次溴酸氧化葡萄糖反应动力学研究[J]. 杭州大学学报,自然科学版 1996,23(2):168—171.

[7] 诸葛健,王正祥. 工业微生物实验技术手册[M]. 北京:中国轻工业出版社,1994.

[8] 樊能廷,王文艺. 3-溴-1-氯-5,5-二甲基海因及相关化合物的合成[J]. 化学世界,1998,(6):28—31.

(责任编辑:朱 明)