

# 盐酸黄连素纳米微乳的制备 及其体外抗菌活性研究\*

孙红武, 欧阳五庆

(西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

**[摘 要]** 用高效液相色谱仪测定了盐酸黄连素在 4 种油(IPM、大豆油、花生油、色拉油)和 3 种表面活性剂(EL 40、大豆卵磷脂和 Tween-80)中的溶解度; 根据纳米微乳的评价标准, 利用序贯设计思想, 采用滴定法绘制了伪三元相图, 确定了纳米微乳的最佳组成, 研制了盐酸黄连素纳米微乳, 并对其基本理化特性(形态、粒度、颜色、澄清度、稳定性和自乳化速度等)及体外抗菌活性进行了研究。结果显示, 盐酸黄连素纳米微乳三相最佳组成是 EL 40-甘油-IPM; 制得的纳米微乳为澄清透明的球状液滴, 其平均粒径为 56.8 nm; 高速离心、高温、强光下无分层, 也无絮凝或药物析出; 与传统片剂、胶囊和水溶液对大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌和无乳链球菌的抗菌活性相比, 纳米微乳的抗菌活性更高。以上研究表明制备的盐酸黄连素纳米微乳是一种质量稳定、高效的抗菌剂。

**[关键词]** 黄连素; 纳米; 微乳; 稳定性; 抗菌活性

**[中图分类号]** R944.1<sup>+</sup>7; R978.1<sup>+</sup>9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9387(2007)01-0054-04

## The preparation and antibacterial activity in vitro of berberine hydrochloric nanometer microemulsion

SUN Hongwu, OU YANG Wuqing

(College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi, 712100, China)

**Abstract:** The solubility of berberine hydrochloric respectively dissolved in four kinds of oil (IPM, soybean oil, peanut oil, salad oil) and three kinds of SF EL 40, soybean phosphatidylcholine, Tween-80 were measured by HPLC. The composition was preliminarily determined using the key evolutionary normal of nanometer microemulsion. The pseudo-tertiary phase diagrams were portrayed by titrating, according to the sequential design theory. The formulations of the berberine nanoemulsion were optimized. The basic physicochemical characteristics including the morphology, diameter, color, defecation and the self-emulsifying speed and stability were studied. The antibacterial pharmacodynamics of the nanometer microemulsion was studied *in vitro*. In this test, the best composition (EL 40-Glycerol-IPM) was determined. The nanometer microemulsion was a kind of clear solution with small spherical drops under electron microscopy with an average diameter of about 56.8 nm. The nanometer microemulsion was stable under high temperature and strong light conditions. Compared with the berberine hydrochloric tablet, capsule, watery solution, blanking nanometer microemulsion to *S. aureus*, *E. coli*, *S. agalactiae*, *Samonella*, berberine hydrochloric nanometer microemulsion had stronger antibacterial action than other dosage-forms. The results show that the nanometer microemulsion is the good antibacterial preparation with stable quality and high efficiency.

**Key words:** berberine hydrochloric; nanometer; microemulsion; stability; antibacterial activity

**[收稿日期]** 2006-07-17

**[基金项目]** 西北农林科技大学校长基金项目(130709)

**[作者简介]** 孙红武(1977-), 男, 重庆垫江人, 在读博士, 主要从事新药开发研究。E-mail: sunhongwu2001@163.com

**[通讯作者]** 欧阳五庆(1960-), 男, 陕西凤翔人, 教授, 博士生导师, 主要从事乳腺细胞及泌乳生理研究。E-mail: oywq506@sina.com

黄连素(俗称为小檗碱 Berberine)是从毛茛科植物(如黄连)的根茎中提取的一种季胺类异喹啉生物碱,临床上多用其盐酸盐<sup>[1]</sup>。盐酸黄连素作为抗菌药在临床上已应用多年,其疗效确切,是一种广谱抗菌药物,对多种革兰氏阳性、阴性菌以及真菌、霉菌、病毒、原虫、线虫等均具有抑制或杀灭作用<sup>[2]</sup>。目前,国内外市场上黄连素的主要制剂是片剂和胶囊等<sup>[3]</sup>。这些传统制剂,具有肝脏对药物的首过效应及水中溶解度低、口服的生物利用度较低(一般在10%左右)、病人用药次数频繁和耐受性差等缺陷,这严重影响了其药效的发挥。

近年来,国内外以微乳载体的药物传递系统的研究正在蓬勃兴起<sup>[4]</sup>。纳米微乳的主要优点是不良反应少、安全性高,可极大增加药物的溶解度,提高药物的稳定性和生物利用度,并能增强药物的疗效。

本试验选择适宜的油相、表面活性剂和助表面活性剂,根据伪三元相图制备盐酸黄连素纳米微乳,并对其基本理化特性(形态学、粒度、颜色、澄清度、稳定性和自乳化速度等)及体外抗菌活性进行了系统研究,以期研制出一种质量稳定、抗菌活性高的盐酸黄连素新剂型。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 主要仪器 UV-2102 型紫外分光光度计(尤尼柯仪器有限公司生产);HZ8802S 恒温水浴震荡床(化利达实验设备有限公司生产);Incubator SK IP 02 420 电热恒温培养箱(杭州仪器厂生产);TGL-16B 台式高速冷冻离心机(湖南新星科学仪器有限公司生产);BN icomp 388/ZetaPALS 激光粒度测定仪(美国 Particle Sizing System 公司产品);H-TACHI 高效液相色谱仪(日本日立电子公司生产)。

1.1.2 主要试剂 盐酸黄连素(含量 98.4%,陕西宝鸡永嘉公司产品,生产批号 20050928);盐酸黄连素标准品(中国生物检定所产品);食用一级大豆油(西安邦淇制油科技公司产品,生产批号 20051024);食用鲁花一级花生油(山东鲁花集团有限公司产品,生产批号 20050828);肉豆蔻酸异丙酯(IPM,上海高维实业有限公司产品,生产批号 20050625);金龙鱼食用色拉调和油(西安嘉里油脂工业有限公司产品,生产批号 20000829);聚氧乙烯蓖麻油(Cremophor EL 40,德国 BASF 公司产品);大豆卵磷脂(德国 Degussa 公司产品);聚山梨酯 80(Tween-80)等。

1.1.3 试验菌种 试验所用的大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、无乳链球菌和沙门氏菌,均由西北农林科技大学动物科技学院微生物教研室提供。

### 1.2 盐酸黄连素纳米微乳油相的选择

取 IPM (C14)、大豆油(C16~C18)、花生油和色拉油等 4 种碳链长短不同的油相(其黏度大小依次为大豆油>IPM>花生油>色拉油)适量,分别置于具塞锥形瓶中,加入过量的盐酸黄连素,37℃水浴震荡 24 h。用高效液相色谱法(HPLC)测定黄连素在各种油相中的溶解度。

### 1.3 盐酸黄连素纳米微乳表面活性剂和助表面活性剂的确定

用 1.2 节的方法测定黄连素在 EL 40、大豆卵磷脂和 Tween-80 3 种非离子表面活性剂(SF)中的溶解度。取 SF 和乙醇、甘油、丙二醇和正丁醇 4 种短链助表面活性剂(CoSF),分别按 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8 和 1:9(SF 与 CoSF 的质量比)的比例称取 SF 和 CoSF,加入到 1.2 节所选择的油相中,涡旋震荡,滴加水,观察各组液体的变化,判断是否有纳米微乳形成,从而确定盐酸黄连素纳米微乳的 SF 和 CoSF。纳米微乳的评价标准<sup>[4-5]</sup>为:制备的液体呈澄清透明或半透明,有蓝色乳光,高速离心(13 000 r/min, 30 min)后稳定不分层,平行光入射后有丁达尔现象,透射电子显微镜和激光粒度仪检测乳滴在 10~100 nm;若制备的混合液体呈乳白色,平行光入射后有散射现象,则为乳剂;若澄清透明、稠厚,则为凝胶<sup>[5]</sup>。

### 1.4 盐酸黄连素纳米微乳的研制

根据序贯设计思想<sup>[6]</sup>,以油-SF-CoSF 为三相,采用滴定法绘制伪三元相图,选择离心(13 000 r/min, 30 min)稳定,乳剂粒径在 10~100 nm 的微乳区为盐酸黄连素纳米微乳配方候选区。取乳化剂 EL 40、助乳化剂甘油和油相,按一定比例混合均匀,精确称取适量盐酸黄连素加入到混合液体中,最后逐步加入少量的注射用水,搅拌均匀,即得澄清透明的盐酸黄连素纳米微乳液。

### 1.5 盐酸黄连素纳米微乳理化特性的测定

以下各理化参数均在(25±1)℃条件下测定。

1.5.1 形态学 取盐酸黄连素纳米微乳适量,用水稀释 1 倍后,滴在覆有支持膜的铜网上,静止 10 min 后用滤纸片吸干,再滴加 2% 磷钨酸(pH 为 7.4)溶液于铜网上负染 3 min,自然挥干,用透射电子显微镜观察并摄制照片。

1.5.2 溶液颜色与澄清度 根据《中国药典》(2005

年版) II 部附录 IXA 溶液颜色和 IXB 澄清度检测方法,对溶液的颜色和澄清度进行检测。

1.5.3 粒径 取黄连素微乳适量,用蒸馏水稀释后用激光粒度仪进行测定。

1.5.4 自乳化速度 按照《中国药典》(2005 年版)溶出度第 3 法(小法)。取蒸馏水 100 mL, 37 °C 水浴, 50 r/min 离心, 加入纳米微乳液适量, 从样品接触液面时计时, 分别于 10, 20, 30, 45 和 60 min 取样 4 mL, 冷却后, 用紫外分光光度计在 (340±1) nm 处测定其吸收值。

1.5.5 稳定性 将纳米微乳(熔封于安瓶中)分别置于高温(40 °C, 60 °C)、低温(4 °C)及光照(4 500±500 lx)条件下, 于第 5 天和第 10 天对纳米微乳的分层、絮凝或药物析出情况进行检测。

## 1.6 盐酸黄连素纳米微乳体外抗菌活性检测

1.6.1 试验分组及培养基的配制 试验分正常组、盐酸黄连素片组、盐酸黄连素胶囊组、盐酸黄连素水溶液组、空白纳米微乳组和盐酸黄连素纳米微乳组 6 个组, 每组每种菌重复 3 次。培养基和药敏纸片的制备参考文献[7]。

1.6.2 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、无乳链球菌和沙门氏菌悬浮液的制备 分别取 0.2 mL 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、无乳链球菌和沙门氏菌液溶于 20 mL 无菌水中, 振荡得菌悬液。

1.6.3 抗菌活性测定 在无菌操作下, 分别将大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、无乳链球菌和沙门氏菌的悬浮液接种 12 个培养皿中(0.2 mL/皿)。再将制好的药敏纸片贴于已接菌的培养皿中, 将培养皿置于恒温培养箱中, 于 37 °C 饱和湿度下培养 24 h 后, 测量抑菌圈直径(cm), 将测得的抑菌圈直径用 SSPP 11.0 软件进行分析。抑菌圈的直径越大, 则抑菌效果越好。

## 2 结果与分析

### 2.1 盐酸黄连素纳米微乳的油相选择

试验结果表明, 黄连素在大豆油(C16~C18)、花生油、色拉油中的溶解度分别为 0.383, 0.375, 0.241 mg/g, 在 IPM 中的溶解度最大, 为 1.5 mg/g, 这可能与 IPM 的碳链长短及黏度有关。故选择 IPM 作为黄连素纳米微乳的油相。

### 2.2 盐酸黄连素纳米微乳的表面活性剂和助表面活性剂

试验结果表明, 黄连素在 EL 40 中的溶解度较大(> 2.0 mg/g), 可以满足给药要求。在 IPM -

EL 40-水的体系中逐滴加入 4 种 CoSF, 记录溶液澄清和变混浊时的加入量, 发现 4 种 CoSF 均能形成微乳。但与乙醇、正丁醇和 1, 2-丙二醇相比, 甘油在较少用量时即可形成微乳, 因此甘油较其他 CoSF 更易形成纳米微乳, 故选择甘油作为盐酸黄连素纳米微乳的 CoSF。

### 2.3 盐酸黄连素纳米微乳的理化特性

2.3.1 形态 电镜观察结果表明, 纳米微乳在电镜下均呈圆球形(图 1), 内部为油相。

从电镜下随机选取 500 个液滴, 根据电镜照片上标示的比例尺进行纳米乳液滴直径测量, 并计算平均粒径。结果表明, 乳滴粒径大多为 10~100 nm, 平均粒径为 56.8±4.3 nm。

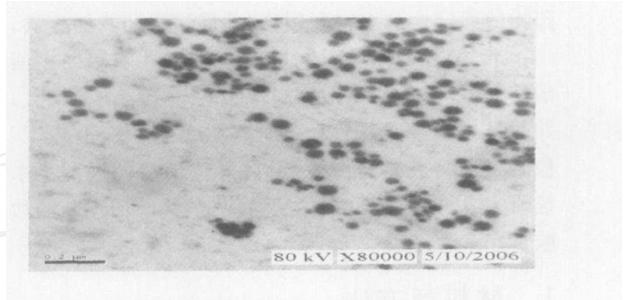


图 1 盐酸黄连素纳米微乳透射电镜照片(×80 000)

Fig 1 Electron microscope of berberine hydrochloride nanometer microemulsion (80 000 times)

2.3.2 粒径 测定结果表明, 制备的黄连素纳米微乳平均粒径为 56.8 nm, < 60 nm 的粒子占 75%, < 70 nm 的粒子占 90%, 可见制得的纳米微乳的粒径范围窄, 分布比较均匀。

2.3.3 颜色与澄清度 制备的盐酸黄连素纳米微乳液均为浅黄色澄清透明、均一的液体, 溶液颜色较《中国药典》(2005 年版) II 部的黄绿色调 1 号比色液浅; 经注射用水稀释后, 即出现明显的淡蓝色的乳光。表明制备的盐酸黄连素纳米微乳符合《中国药典》(2005 年版)标准。

2.3.4 自乳化速度 盐酸黄连素纳米微乳在 20 min 时的吸光度值最大, 表明其在 20 min 内即乳化完全, 自乳化速度较快。

2.3.5 稳定性 盐酸黄连素纳米微乳在上述条件下均未出现分层、絮凝或药物析出等现象, 表明其稳定性较好。

### 2.4 盐酸黄连素纳米微乳的体外抗菌活性

从表 1 可以看出, 传统的片剂、胶囊、水溶液对细菌均具有一定的抑制作用, 抑菌圈的直径> 1.0

cm, 传统剂型之间差异不显著; 空白的纳米微乳组间的差异达极显著水平; 盐酸黄连素纳米微乳的抑菌对 4 种细菌均具有较强的抑制作用, 与传统制剂之菌活性极显著高于其他制剂, 抑菌圈直径> 3 0 cm。

表 1 盐酸黄连素纳米微乳体外抗菌活性统计( $\bar{X} \pm SD, n=3$ )

| Table 1 Statistic results of the antibacterial phamacodynamics in vitro ( $\bar{X} \pm SD, n=3$ ) |                             |                        |                              |                            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------|------------------------------|----------------------------|
| 菌种<br>Genus                                                                                       | 金黄色葡萄球菌<br><i>S. aureas</i> | 大肠杆菌<br><i>E. coli</i> | 无乳链球菌<br><i>S. agalactae</i> | 沙门氏菌<br><i>Sam onellal</i> |
| 正常组 Blank group                                                                                   | - (0 D)                     | - (0 D)                | - (0 D)                      | - (0 D)                    |
| 盐酸黄连素片组 Tablet group                                                                              | + (1 2±0 5 C)               | + (1 2±0 2 C)          | + (1 2±0 3 C)                | + (1 2±0 1 C)              |
| 盐酸黄连素胶囊组 Capsule group                                                                            | + (1 2±0 6 C)               | + (1 2±0 3 C)          | + (1 2±0 4 C)                | + (1 2±0 1 C)              |
| 黄连素水溶液组 Watery solution group                                                                     | + (1 2±0 7 C)               | + (1 2±0 4 C)          | + (1 2±0 1 C)                | + (1 2±0 3 C)              |
| 空白纳米微乳组 Blank nanometer microemulsion group                                                       | +++ (3 2±0 4 B)             | +++ (3 2±0 3 B)        | +++ (3 2±0 4 B)              | +++ (3 2±0 2 B)            |
| 盐酸黄连素纳米微乳组 Berberine nanometer microemulsion group                                                | +++ (4 8±0 3 A)             | +++ (4 6±0 2 A)        | +++ (4 6±0 3 A)              | +++ (4 4±0 1 A)            |

注:“-”表示抑菌圈直径< 1 0 cm, 药物对细菌无抑制作用;“+”表示抑菌圈直径为 1 0~ 2 0 cm, 药物对细菌有抑制作用;“++”表示抑菌圈直径为 2 0~ 3 0 cm, 药物对细菌具有明显抑制作用;“+++”表示抑菌圈直径> 3 0 cm, 药物对细菌具有极强的抑制作用。 同列数据后不同字母者表示差异极显著( $P<0.01$ )。

Note: - . represents antibacterial diameter is below 1 0 cm. This shows that medicine has no action +. represents its antibacterial diameter is from 1 0 to 2 0 cm. This shows that medicine has action ++. represents antibacterial diameter is from 2 0 to 3 0 cm. This shows that medicine has obvious action +++ . represents antibacterial diameter is above 3 0 cm. This shows that medicine has strong action The different upper letters of same line represents obvious difference ( $P<0.01$ ).

3 讨 论

盐酸黄连素在水中的溶解度低, 口服吸收差(生物利用度为 10%, 小于 25%), 在胃肠道或肝中部分被分解、代谢。纳米微乳对胃肠道淋巴组织具有良好的亲和性, 能使更多的药物由淋巴途径进入血液, 可避开肝、肠的生物转化和吸收, 避免了肝脏对药物的首过效应, 从而提高了药物的抗菌活性, 且其表面张力较低, 易通过胃肠壁的水化层, 能使药物直接与胃肠上皮细胞接触, 促进了药物的吸收<sup>[8]</sup>。本研究利用纳米微乳载体的优势制备了盐酸黄连素纳米微乳, 从而提高了盐酸黄连素的生物利用度。

纳米微乳由 SF、CoSF、油和水组成, 其对药物的增溶作用主要由内核的油相和 SF 的烃链两部分完成。油相的选择至关重要, 这是因为油相的碳链越长, 药物的溶解度越高, 但碳链过长, 纳米微乳的稳定性越差。因此, 纳米微乳的油相选择应结合微乳的稳定性及药物的溶解度综合考虑。本研究以离心稳定性和乳滴粒径作为纳米微乳的主要评价标准, 确定了纳米微乳的 SF 和 CoSF。

有文献报道, 若以常用的乙醇为助乳化剂制备微乳, 由于长时间保存时乙醇容易挥发, 导致助乳化剂乙醇量减少, 进一步降低界面张力, 增加界面的流动性, 从而很难维持乳化剂和助乳化剂共同形成的界面膜, 最终影响微乳的稳定性<sup>[9-10]</sup>。本试验以甘油为助乳化剂, 其挥发性小, 故制剂质量很稳定。

盐酸黄连素纳米微乳的抑菌活性较传统制剂

强, 其原因有三: 一是纳米微乳的粒径在 10~ 100 nm, 药物及其载体极易透过细菌的细胞壁, 从而对细菌产生较强的抑制作用。二是空白纳米微乳具有抗菌活性, 对绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌等均具有较强的杀灭作用<sup>[11]</sup>。本研究也发现, 空白纳米微乳对所选择的细菌(金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、无乳链球菌和沙门氏菌)具有较强抑制作用, 但其具体的抑菌机理尚有待进一步研究。三是纳米微乳中亲水性分散相粒径为纳米级, 远小于细菌的体积, 且连续相是非极性的, 微生物也难以生长。因此, 利用纳米微乳载体对盐酸黄连素进行包合, 可减少盐酸黄连素的剂量和刺激作用, 延长药物的作用时间, 提高药物疗效。由此可见其在制药工程中具有重大的经济和实用价值。

备注: 本研究成果已受专利保护, 专利申请号为 200610104418 2。

[参考文献]

[1] 台卫平: 黄连素与肿瘤关系研究进展[J]. 国外医学肿瘤学分册, 2002, 29(6): 423-425  
[2] Cernakova M , Kostalova D. A ntimicrobial activity of berberine a constituent of *M ahonia aquifolium* [J]. Folia Microbiol, 2002, 47(4): 375-378  
[3] 李敬龙, 张鸿雁, 蒋文强: 黄连及其制剂的成分分析方法综述[J] 山东轻工业学院学报, 2003, 7(4): 33-37.

(下转第 62 页)

皮给药制剂使用,另一方面,外相中的极性环境还可方便地添加其他水溶性的药物,即可以以该复方微乳为基础,再加入其他的有效成分,从而制备出具有更多功能的药物或化妆品用微乳复合物。

通过对 $V_C$ 和 $V_E$ 复方微乳一系列的稳定性和安全性评价,可以看出,该 $V_C$ 和 $V_E$ 复合微乳制备工艺简单,稳定性好,安全性高,从而为其在医药和化妆品工业中的应用提供了依据。另外,本研究也为开发其他药物剂型提供了一条新思路。

#### [参考文献]

- [1] 王 璇,陆征丽,常 红,等. 维生素C、E 对体外血管内皮细胞氧化损伤保护作用的研究[J]. 天津医科大学学报, 2005, 11 (2): 187-194
- [2] 陈 忠,桂 鸣,周秀娟,等. 联用维生素C、E 对高血压病人血管内皮活性物质和舒张功能的影响[J]. 南京医科大学学报, 2001, 21(3): 266-267.
- [3] 张松林,黄 杰,涂中凡,等.  $V_C$ 和 $V_E$ 对移植肺再灌注损伤保护作用的实验研究[J]. 中国急救医学, 2003, 23(4): 215-216
- [4] 陈华兵,翁 婷,常雪灵,等. 布洛芬微乳的制备及其透皮吸收研究[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(1): 43-45
- [5] Rhee Y S, Choi J G, Park E S, et al. Transdermal delivery of ketoprofen using microemulsions[J]. Int J Pharm, 2001, 228: 161
- [6] Kreilgaard M, Pedersen E J, Jaroszewski J W. NMR characterization and transdermal drug delivery potential of microemulsion systems[J]. J Controlled Release, 2000, 69: 421.
- [7] 张建春,李培勋,王 原,等. 环磷酰胺微乳制剂的研制[J]. 中国医院药学杂志, 2003, 23(1): 9-11
- [8] 阎家伟,黄运瑞. 分光光度法测定药片中维生素C 的含量[J]. 南阳师范学院学报, 2005, 4(12): 54-55
- [9] 中国药典委员会. 中国药典[M]. 2000 年版. 北京: 化学工业出版社, 2000: 799
- [10] 林艳琼,甘 莉,甘 勇,等. 地塞米松眼用微乳的研究[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(5): 358-362
- [11] 陆 彬,张正全. 用三角相图法研究药用微乳的形成条件[J]. 药学报, 2001, 36(1): 58-62
- [12] 史同瑞,许腊梅,于万才,等. 微乳基质成乳条件与稳定性研究[J]. 动物医学进展, 2005, 06(27): 97-99
- [13] 王晓黎,蒋雪涛,李干佐,等. 非离子型表面活性剂微乳的基础研究[J]. 解放军药学报, 2001, 17(6): 297-300
- [4] 杨惊宇,严 冬. 新型药物制剂——微乳[J]. 中国医学工程, 2005, 7(4): 378-382
- [5] 林艳群,甘 勇,甘 莉,等. 地塞米松眼用微乳的研究[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(5): 358-361.
- [6] 汪 杨,吴 伟,阙 俐. 油-吐温-醇-水体系伪三元相图在自微乳化制剂研究中的应用[J]. 中国医药工业杂志, 2005, 36 (6): 345-348
- [7] 李健强,李六金. 兽医微生物学实验指导[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1991: 156-165
- [8] XU F. Polysorbate-80 and its pharmaceutical application[J]. Chin Pharm J, 1991, 26(8): 459-462
- [9] 王晓黎,蒋雪涛,刘皋林,等. 环孢素A 微乳口服液的制备及稳定性研究[J]. 中国现代应用药学杂志, 2004, 21(1): 40-43
- [10] Lianli L i, Int ranasal N andi, Kwon H Kim. Development of an ethyllaurate-based microemulsion for rapid-onset intranasal delivery of diazepam[J]. Int J Pharm, 2002, 23(7): 77-85
- [11] Al-A dham I S, Khalil E, Al-Hmoud N D, et al. Microemulsions are membrane active antimicrobial, self preserving systems[J]. J Appl Microbiol, 2000, 89(1): 32-39

(上接第 57 页)