

超声波激活纳米氧化锌损伤牛血清白蛋白的研究

王 君^{*,1,3} 王诗献¹ 张朝红² 张媛媛¹ 张 蕾¹ 王晓芳³ 张向东¹

(¹ 辽宁大学化学系, 沈阳 110036)

(² 辽宁大学环境系, 沈阳 110036)

(³ 辽宁大学药系, 沈阳 110036)

摘要: 利用紫外-可见(UV-Vis)光谱和荧光光谱研究了超声波照射激活纳米氧化锌(ZnO)粒子对牛血清白蛋白(BSA)的损伤, 并考查了超声波照射时间、纳米 ZnO 粉末加入量、溶液酸度和照射功率等因素对 BSA 分子损伤的影响。结果表明, 对于体系温度为 37.0±0.2 和浓度为 1.0×10⁻⁵ mol·L⁻¹ 的 BSA 溶液, BSA 的损伤程度随着超声波照射时间, 纳米 ZnO 粉末加入量, 溶液 pH 值和照射功率的增加而增大。此外, 还初步探讨了超声波照射激活纳米 ZnO 粒子损伤 BSA 分子的机理, 认为是声致发光和高热激发使纳米 ZnO 粒子产生·OH 自由基, 进而损伤 BSA 分子。

关键词: 超声; 纳米氧化锌; 损伤; 牛血清白蛋白

中图分类号: O614.24*1; O657.3 文献标识码: A 文章编号: 1001-4861(2008)03-0461-06

Damage of Bovine Serum Albumin from Nano-sized Zinc Oxide under Ultrasonic Irradiation

WANG Jun^{*,1,3} WANG Shi-Xian¹ ZHANG Zhao-Hong² ZHANG Yuan-Yuan¹

ZHANG Lei¹ WANG Xiao-Fang³ ZHANG Xiang-Dong¹

(¹Chemistry Department, Liaoning University, Shenyang 110036)

(²Environment Department, Liaoning University, Shenyang 110036)

(³Pharmacy Department, Liaoning University, Shenyang 110036)

Abstract: The damage of bovine serum albumin (BSA) under ultrasonic irradiation in the presence of nano-sized zinc oxide (ZnO) particles was studied by UV-Vis and fluorescence spectroscopy. The influences of irradiation time, ZnO addition amount, solution acidity and irradiation power on the damage of BSA in aqueous solution were also studied. The results show that, for BSA solution of 1.0×10⁻⁵ mol·L⁻¹ at 37.0±0.2, the damage degree of BSA is increased with the increase of irradiation time, ZnO addition amount, pH value and irradiation power. In addition, the possible mechanism on the damage of BSA molecule in the presence of nano-sized ZnO powders under ultrasonic irradiation was discussed. It is considered that the damage of BSA molecule is attributed to the formation of ·OH radicals resulted from the sonoluminescence and high-heat excitation.

Key words: ultrasound; nano-sized zinc oxide; damage; bovine serum albumin

氧化锌(ZnO)作为重要的半导体光催化剂已经引起人们的广泛重视^[1-3]。根据一些文献报道, ZnO 与 TiO₂ 具有相同的光催化降解机理, 对某些有机污

染物的处理, 其光催化活性甚至要高于 TiO₂^[4]。因此, 如对纸浆漂白废水、2-苯基苯酚及苯酚等的处理^[5,6], 有可能成为 TiO₂ 的替代物。近年来, 半导体光

收稿日期: 2007-11-06。收修改稿日期: 2008-01-02。

国家自然科学基金资助项目(No.20371023)和辽宁省教育厅自然科学基金资助项目(No.2004C018)。

* 通讯联系人。E-mail: wangjun890@126.com

第一作者: 王 君, 男, 47 岁, 教授, 博士; 研究方向: 无机材料和超声化学。

催化抗肿瘤的方法引起了人们的注意。但这种方法也暴露出很多缺陷,且由于紫外光在生物组织内的穿透能力有限,对于人体内深层肿瘤的治疗往往无能为力。而超声波具有极强的穿透能力,对于人体组织,其穿透能力一般可达 15~20 cm,且超声波聚焦技术也比较成熟。因而采用超声波抑制肿瘤生长和破坏肿瘤细胞,尤其是治疗人体内深层组织的肿瘤,已经引起国内外学者的普遍关注^[7]。由此可见采用超声波代替紫外光激活半导体材料(如纳米 ZnO 等)治疗肿瘤具有一定的可行性。

血清白蛋白是哺乳动物血浆中含量最丰富的蛋白质,它能够储存和转运众多的内源性和外源性物质。由于血清白蛋白在生理上的重要性以及易于分离、提纯而常被用作模型球蛋白^[8-11]。此前曾有过关于微米 TiO₂ 在超声波照射下对 BSA 损伤的报道^[12],由于 ZnO 比 TiO₂ 具有更高的安全性,在此基础上,我们采用纳米 ZnO 代替微米 TiO₂,研究了在超声波照射下对 BSA 的损伤作用,为进一步探索杀灭肿瘤细胞的新方法和推动纳米药物的研发提供有价值的参考。

1 实验部分

1.1 仪器设备

超声波照射装置(KQ-100 型,频率 40 kHz,功率(可调)10~50 W,昆山市超声仪器有限公司)。实验装置如文献^[12]。实验过程中用温度计监测体系温度(37.0±0.2)。紫外-可见(UV-Vis)光谱仪(Cary50,美国 VARIAN 公司);荧光光谱仪(Cary300,美国 VARIAN 公司);台式离心机(80-2B,上海医用分析仪器厂)。

1.2 试剂

牛血清白蛋白(BSA,北京奥博星生物技术责任有限公司),使用时未经进一步纯化,在 0~4 溶于 NaCl-Tris-HCl 缓冲溶液配成浓度为 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的储备液,准确浓度由 278 nm 处的吸光度确定;纳米氧化锌(ZnO,粒径 30~40 nm,比表面积 $60 \pm 10 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$,杭州万景新材料有限公司)。酸性桃红 B(SRB,分析纯,上海盛嘉染料化工有限公司)和亮绿 SF(LGSF,分析纯,上海迈坤化工有限公司),分别配成浓度为 $5.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的水溶液。NaCl-Tris-HCl 缓冲溶液(pH=7.4,NaCl 浓度为 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,Tris-HCl 浓度为 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$);实验用水为二次蒸馏水。其余试剂均为市售分析纯试剂。

1.3 实验方法

1.3.1 ·OH 自由基的鉴定

参照文献^[13,14],分别利用 UV-Vis 光谱和荧光光谱鉴定超声波激活纳米 ZnO 时·OH 自由基的生成。方法一,向 2 个 50 mL 的锥形瓶中加入 25.00 mL 的 SRB 溶液,其中一个加入 $0.025 \text{ g}(1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1})$ 纳米 ZnO,另一个作为对照则不加,用 HCl 调节 pH=2.5。超声波照射 40 min 后测其 UV-Vis 光谱。方法二,同样向 2 个 50 mL 锥形瓶中加入 25.00 mL 的 LGSF 溶液,一个加入 $0.025 \text{ g}(1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1})$ 纳米 ZnO,而另一个不加。超声波照射 40 min 后测其荧光光谱(激发波长 275 nm)。

1.3.2 BSA 的损伤

取 4 个锥形瓶,分别标记为 a, b, c 和 d,准确量取 4 份 25 mL 浓度为 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH=7.4 的 BSA 溶液放入 a, b, c 和 d 中,其中 b 和 d 分别加入 $0.025 \text{ g}(1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1})$ 纳米 ZnO。将 c 和 d 放入超声波照射装置中。照射功率 50 W,照射 3.0 h 后取样,离心后测定 4 个样品的 UV-Vis 和荧光光谱,以此判断纳米 ZnO 与 BSA 的相互作用以及在超声波照射下对 BSA 分子的损伤作用。另外,改变照射时间、ZnO 加入量、溶液酸度和照射功率等影响因素,考察这些因素对 BSA 分子损伤的影响。

2 结果与讨论

2.1 SRB 溶液的吸光度(A)和 LGSF 溶液的荧光强度(I)的变化

与文献报道的结果相似。经过超声波的照射,与纳米 ZnO 混合的 SRB 溶液在 565 nm 处的吸光度(A(a.u.))明显降低,由照射前的 0.64 变为照射后的 0.43,而未加纳米 ZnO 的 SRB 溶液的吸光度则几乎不变。与此相类似,纳米 ZnO 存在时的 LGSF 溶液,在超声波的照射下出现了明显的荧光猝灭现象,荧光强度(I(a.u.))由原来的 536 下降到 374,而作为对照的 LGSF 溶液的荧光强度则下降很少。这些说明溶液中的有色染料-SRB 和荧光染料-LGSF 都是由于·OH 自由基的氧化而减少。

2.2 BSA 溶液的 UV-Vis 光谱和荧光光谱

从图 1 可以看出,与原液(a)相比,在超声波照射下,加入纳米 ZnO 的 BSA 溶液(d)的 UV-Vis 光谱表现出明显的增色效应。产生增色效应的原因主要是超声波激发纳米 ZnO 粒子产生·OH 自由基,进攻 BSA 分子中的二硫键,氧化硫原子使其断裂,导致

BSA 分子二级结构破坏, 芳香环暴露, 吸光度增强^[19]。不加纳米 ZnO 时, 单纯超声波照射也能使 BSA 溶液(c)表现出一定程度的增色效应, 但明显小于前者。没有超声波照射时, 纳米 ZnO 则使 BSA 溶液(b)的吸光度微弱减色, 说明纳米 ZnO 对 BSA 分子有极小的吸附。

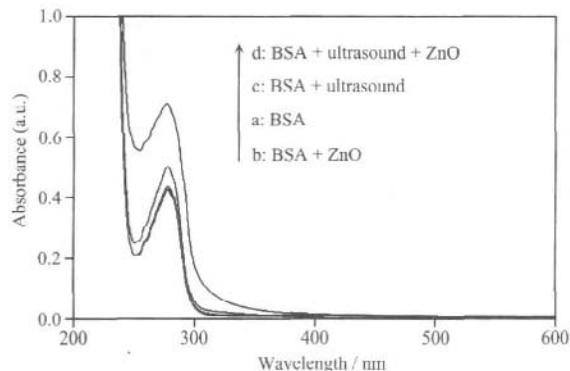


图1 BSA 溶液的 UV-Vis 光谱
Fig.1 UV-Vis spectra of BSA solutions

BSA 溶液的荧光光谱(图 2)也证明了这一点。同样的原因使 BSA 溶液的荧光强度顺序依次为: 原液(a), 单纯 ZnO(b), 单纯超声(c)和超声+ZnO(d)。超声波和 ZnO 的联合作用一方面使 BSA 中的荧光性物质(如色氨酸和酪氨酸等残基)破坏, 导致 BSA 溶液的荧光强度下降。另一方面使 BSA 分子结构变化, 破坏了 BSA 分子的荧光体系, 使其荧光发生猝灭。综合结果导致 BSA 溶液的荧光强度大幅度下降。

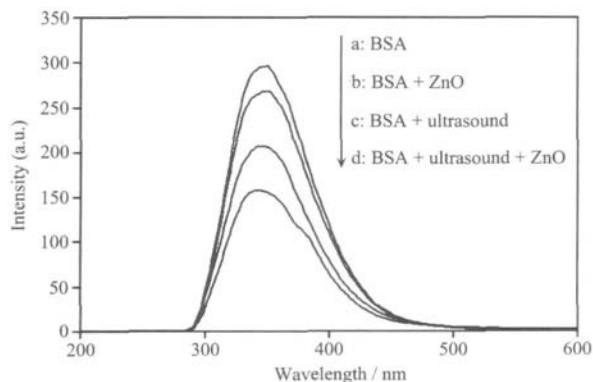


图2 BSA 溶液的荧光光谱
Fig.2 Fluorescence spectra of BSA solutions ($\lambda_{em}=282$ nm)

2.3 超声波照射时间对 BSA 损伤的影响

BSA 溶液浓度 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH=7.4, 纳米 ZnO 加入量 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 超声波照射功率 50 W, 改变超声波照射时间(0.0~5.0 h), 考察超声波照射时间对 BSA 分子损伤的影响。结果见图 3 和图 4。

图 3 表明, 纳米 ZnO 存在时, 随着超声波照射

时间的增加, BSA 溶液的吸光度越来越大, 即增色效应越来越明显。说明 BSA 分子结构的破坏越来越严重, 肽链伸展, 包围在 BSA 分子内部的色氨酸和酪氨酸残基的芳香环疏水基团不断地裸露出来, 从而使吸收峰增强。而在单纯超声波照射下 BSA 溶液的吸光度略有增加, 说明单纯超声波照射不会对 BSA 分子造成明显的损伤。图 4 的荧光光谱也证明了这种现象的发生。在单纯超声波照射下, BSA 溶液表现出轻微的荧光猝灭现象, 加入 ZnO 后荧光强度明显降低。这说明随着 BSA 分子的损伤, 这些具有内源性荧光的氨基酸残基也逐渐被破坏, 不再具有荧光性, 荧光强度也随之降低。

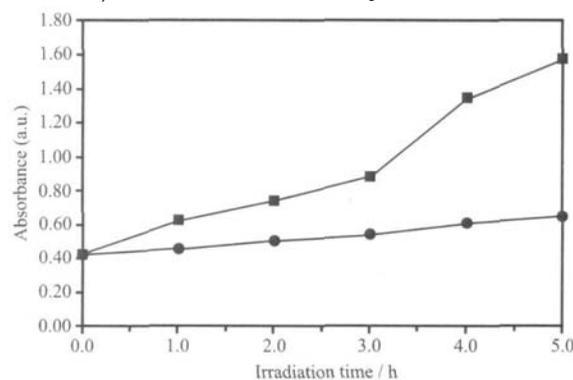


图3 照射时间对 BSA 溶液吸光度的影响
Fig.3 Influence of irradiation time on absorbance of BSA ($\lambda_{nm}=278$ nm)

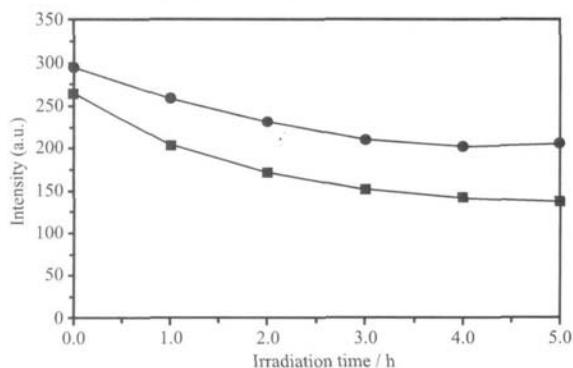


图4 照射时间对 BSA 溶液荧光的影响
Fig.4 Influence of irradiation time on fluorescence of BSA ($\lambda_{em}=350$ nm)

2.4 ZnO 加入量对 BSA 损伤的影响

BSA 溶液浓度 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH=7.4, 超声波照射功率 50 W, 超声波照射 3.0 h, 改变 ZnO 的加入量(0.0~2.5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), 考察 ZnO 加入量对 BSA 分子损伤的影响。结果见图 5 和图 6。

从图 5 可以看出, 在超声波照射下, 随着 ZnO 加入量的增加, BSA 溶液的吸光度逐渐增加, 这说

明 BSA 分子受损伤程度越来越严重。当增加到 $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 增色效应开始减弱, 其主要原因是因为部分裸露的芳香环被破坏, 导致 BSA 分子部分降解, 吸收峰不再增加。相反, 在没有超声波的照射下, BSA 溶液的吸光度略微下降, 这是因为 ZnO 的增加导致溶液中 BSA 分子数略有减少。图 6 的荧光强度变化也说明没有超声波照射时, BSA 溶液的荧光强度随着 ZnO 加入量的增加而略有降低, 反之, 有超声波照射时, 荧光强度则随之大幅度下降。

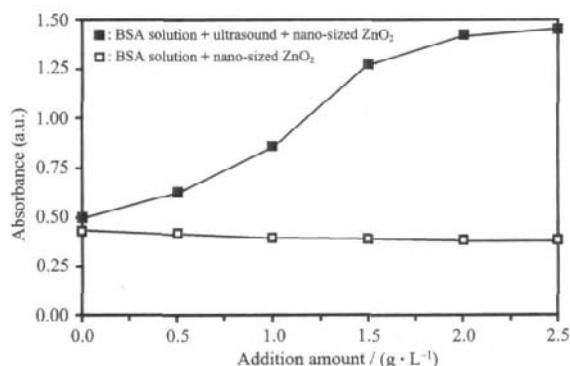


图5 ZnO 加入量对 BSA 溶液吸光度的影响

Fig.5 Influence of ZnO addition amount on absorbance of BSA ($\lambda_{\text{max}}=278 \text{ nm}$)

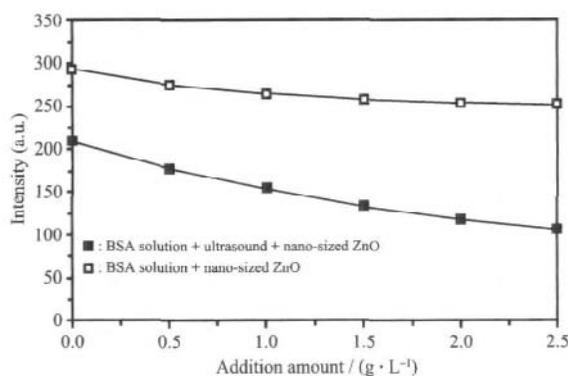


图6 ZnO 加入量对 BSA 溶液荧光的影响

Fig.6 Influence of ZnO addition amount on fluorescence of BSA ($\lambda_{\text{em}}=350 \text{ nm}$)

2.5 溶液酸度对 BSA 损伤的影响

人体正常组织液的 pH 值为 7.35~7.45, 但在发生病变时细胞周围微环境中组织液的 pH 值会发生微小的改变。考虑到这一因素, 分别用 $1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 溶液和 $1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Tris 溶液调节 BSA 的酸度, 以改变其 pH 值, 测定 BSA 溶液的 UV-Vis 和荧光光谱, 考察溶液酸度对 BSA 分子损伤的影响。其它条件为 BSA 溶液浓度 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 纳米 ZnO 加入量 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 超声波照射功率 50 W, 照射 3.0 h。结果见图 7 和图 8。

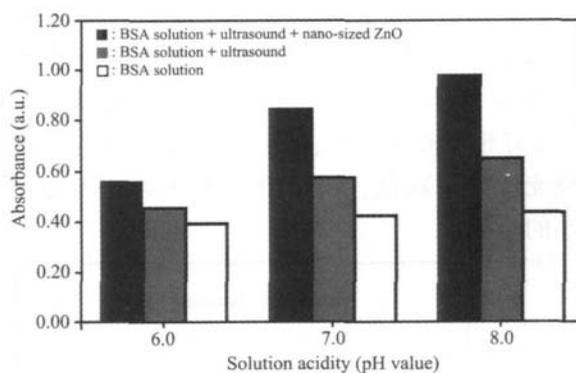


图7 酸度对 BSA 溶液吸光度的影响

Fig.7 Influence of acidity on absorbance of BSA ($\lambda_{\text{max}}=278 \text{ nm}$)

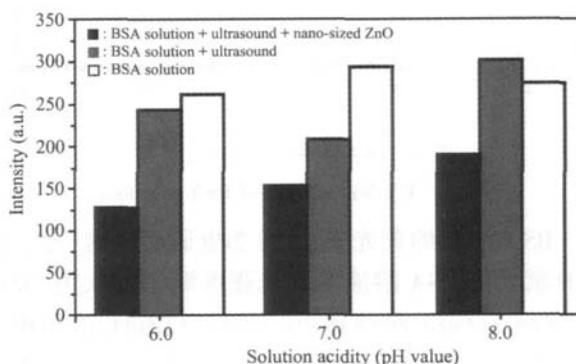


图8 酸度对 BSA 溶液荧光强度的影响

Fig.8 Influence of acidity on fluorescence intensity of BSA ($\lambda_{\text{em}}=350 \text{ nm}$)

从图 7 可以看出, pH 值的改变对单纯 BSA 溶液吸光度的影响较小, 只是使其略有升高。但无论有无纳米 ZnO 的存在, 在超声波照射下, pH 值的升高都会使 BSA 溶液的吸光度明显增加, 但前者的增色效应要远远大于后者。这说明弱碱条件下有利于 BSA 分子的损伤。另一方面, 纳米 ZnO 的等电点为 $\text{pH}=9.3$, 远高于 BSA 的等电点 ($\text{pH}=4.71$), 导致在较宽的 pH 值范围内 BSA 分子表面带更多负电荷, 而 ZnO 粒子的表面带更多正电荷, 二者容易相互靠近, 导致 BSA 分子的损伤。另外, Hoffman 机理认为, OH^- 可以充当半导体价带空穴的捕获剂^[16], 因此, 在碱性溶液中, 过多的 OH^- 在超声波和 ZnO 联合作用下产生更多的 $\cdot\text{OH}$ 自由基, 切断 BSA 分子中的二硫键从而削弱氢键作用。同时碱的加入会破坏 BSA 分子中的盐键, 起到协同破坏 α -螺旋结构的作用, 致使更多的芳香环暴露出来, UV-Vis 光谱的增色效应更加显著^[12]。

与 BSA 溶液的吸光度变化相对应, 图 8 显示出随着 pH 值的升高, 超声波和纳米 ZnO 的联合作用

使 BSA 溶液的荧光猝灭现象减弱。这说明在碱性条件下以破坏 BSA 分子的二级结构为主。没有或有超声波照射时,则随着 pH 值的升高 BSA 溶液的荧光强度变化较为复杂,分别为先升高后降低和先降低后升高。

2.6 超声波功率对 BSA 损伤作用的影响

BSA 溶液浓度 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH=7.4, 纳米 ZnO 加入量 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 改变超声波照射功率, 照射 3.0 h, 测定 BSA 溶液的 UV-Vis 和荧光光谱, 考察照射功率对 BSA 分子损伤的影响。结果见图 9 和图 10。

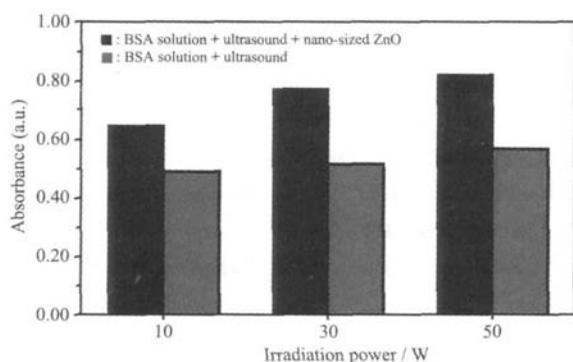


图 9 照射功率对 BSA 溶液吸光度的影响

Fig.9 Influence of irradiation power on absorbance of BSA ($\lambda_{\text{max}}=278 \text{ nm}$)

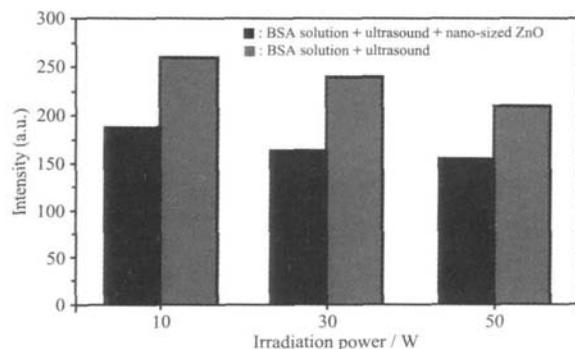


图 10 照射功率对 BSA 溶液荧光的影响

Fig.10 Influence of irradiation power on fluorescence of BSA ($\lambda_{\text{em}}=350 \text{ nm}$)

图 9 表明随着超声波照射功率的增加, 加入 ZnO 的 BSA 溶液的吸光度明显增加。这说明提高照射功率能有效的激活纳米 ZnO, 有利于损伤 BSA 分子。单纯超声波照射时, 照射功率的增加只能使 BSA 溶液的吸光度稍微增加。这进一步说明 BSA 分子的明显损伤主要来自于超声波照射和纳米 ZnO 的协同效应。图 10 也显示出无论有无纳米 ZnO 存在, 在超声波照射下, 随着照射功率的增加, BSA 溶

液的荧光强度都呈现出规律性的变化, 但前者的猝灭程度要远远大于后者。

2.7 超声波照射激活纳米 ZnO 损伤 BSA 机理的探讨

蛋白质分子因为具有特定的空间结构而表现出各种不同的生物活性。维持蛋白质结构稳定的作用力主要有氢键、二硫键、疏水键、盐键和范德华力等。其中二硫键为共价键, 结合比较牢固, 对于稳定蛋白质构象和保持蛋白质活性具有重要作用。 α -螺旋是其二级结构的主要形式。在 α -螺旋中, 氨基酸残基的侧链伸向外侧, 肽键中电负性很强的氮原子上的氢和在它后面的第四个残基的羰基氧形成链内氢键。所有肽键都能参与形成链内氢键, α -螺旋的稳定性就靠这种氢键维持。BSA 为球状蛋白, 由于疏水作用的存在, 使多数疏水性较强的氨基酸残基的侧链位于分子内部, 而亲水性侧链多数位于分子表面。超声波照射激发 ZnO 产生 $\cdot\text{OH}$ 自由基会进攻 BSA 分子中的二硫键, 氧化硫原子使二硫键断裂, 导致 BSA 分子空间结构的破坏, 同时又改变 BSA 分子周围微环境的酸碱度, 进而削弱 BSA 分子中的氢键。随着维系 α -螺旋的氢键作用的削弱, α -螺旋含量减少, 肽链逐步伸展, 包裹在分子内部的疏水性氨基酸残基(如色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸等残基)暴露出来, 从而导致 BSA 生物活性的丧失, UV-Vis 光谱表现为增色效应。但随着强荧光性物质(如色氨酸和酪氨酸等残基)的破坏, 荧光光谱则表现为猝灭现象。

超声波激活纳米 ZnO 损伤 BSA 分子的现象可归结为声致发光机理和高热激发机理。声致发光可以由超声波使水中的照相底片感光这一实验事实证明^[17]。水溶液中的光可以使纳米 ZnO 粉末发挥光催化剂的作用。纳米 ZnO 的能带是不连续的, 在充满电子的低能价带和空的高能导带之间存在一个禁带。当有能量等于或大于禁带宽度(E_g)的光照射时, 价带上的电子被激发越过禁带进入导带, 同时在价带上产生空穴。导带上的电子和价带上的空穴分别与吸附在 ZnO 表面的 O_2 和 H_2O 反应生成氧化性极强的 $\cdot\text{O}_2$ 和 $\cdot\text{OH}$ 自由基。另外, 超声波由于空化效应在水中产生的“热点”温度高达几千 K, 本身就可以使水分子产生 $\cdot\text{OH}$ 自由基, 但效率极低^[18]。纳米 ZnO 获得这部分能量后导致氧原子逃离晶格而产生空穴, 同样可以导致 $\cdot\text{OH}$ 自由基生成^[19]。结果都会使 BSA 分子受到损伤。

3 结 论

在超声波作用下纳米 ZnO 粒子可以产生·OH 自由基,进而导致 BSA 分子损伤。UV-Vis 光谱表现为增色效应,荧光光谱表现为荧光猝灭。BSA 分子的损伤程度随着超声波照射时间、ZnO 加入量、溶液 pH 值和照射功率的增加而增大。由于纳米 ZnO 粒子被超声波激活对蛋白质分子有明显的损伤作用,那么就有可能造成自然情况下的肿瘤细胞的凋亡,在此基础上深入研究,或许是一种可行的肿瘤治疗方法。

参考文献:

- [1] Chakrabarti S, Dutta B K. *J. Hazard. Mater. B*, 2004,112(3): 269~278
- [2] Akyol A, Bayramoglu M. *J. Hazard. Mater. B*, 2005,124(1~3): 241~246
- [3] Comparelli R, Fanizza E, Curri M L, et al. *Appl. Catal. B. Environ.*, 2005,60(1~2):1~11
- [4] Daneshvar N, Salari D, Khataee A R. *J. Photoch. Photobio. A: Chem.*, 2004,162(2~3):317~322
- [5] Khodja A A, Sehili T, Pilichowski J F, et al. *J. Photoch. Photobio. A: Chem.*, 2001,141(2~3):231~239
- [6] Serpone N, Maruthamuthu P, Pichat P, et al. *J. Photoch. Photobio. A: Chem.*, 1995,85(3):247~255
- [7] Chen L, Rivens I, Ter Haar G, et al. *Ultrasound Med. Biol.*, 1993,19(1):67~74
- [8] Deep S, Ahluwalia J C. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2001,3: 4583~4591
- [9] Vasilescu M, Angelescu D, Almgren M, et al. *Langmuir*, 1999, 15:2635~2643
- [10] Giancola C, De Sena C, Fessas D, et al. *Int. J. Biol. Macromol.*, 1997,20:193~214
- [11] Saboury A A. *J. Chem. Thermodyn.*, 2003,35:1975~1981
- [12] WANG Jun(王 君), ZHAO Hong-Dan (赵红丹), ZHANG Zhao-Hong(张朝红), et al. *Chinese J. Inorg. Chem. (Wuji Huaxue Xuebao)*, 2007,23(3):439~444
- [13] FANG Yan-Fen(方艳芬), HUANG Ying-Ping(黄应平), CHEN He-Chun(陈和春), et al. *Fenxi Huaxue(Chinese Journal of Analytical Chemistry)*, 2006,34(特刊):83-86
- [14] GAO Feng(高峰), TANG Li-Juan(唐莉娟), WANG Lun (王 伦), et al. *Chinese Journal of Applied Chemistry (Yingyong Huaxue)*, 2006,23(4):453~455
- [15] Hidaka H, Horikoshi S, Ajisaka K, et al. *J. Photoch. Photobio. A: Chem.*, 1997,108:197~205
- [16] YUE Lin-Hai(岳林海), ZHOU Yong-Qiu(周永秋). *Environmental Pollution and Prevention(Huanjing Wuran Yu Fangzhi)*, 1998,20(3):5~8
- [17] Al-Ekabi H, Serpone N. *J. Phys. Chem.*, 1988,92:5726~5731
- [18] Kruus P, Burk R, Entezari M, et al. *Ultrason. Sonochem.*, 1997,4(3):229~233
- [19] Augugliaro V, Palmisano L, Sclafani A, et al. *Toxicol. Environ. Chem.*, 1988,16(2):89~109