

# 副溶血弧菌噬菌体的吸附材料选择及其吸附和洗脱作用

胡蝶<sup>1</sup>, 邱德全<sup>2\*</sup>

(1. 湛江腾飞实业有限公司, 广东湛江 524072; 2. 广东海洋大学水产学院, 广东湛江 524025)

**摘要** [目的]选择副溶血弧菌噬菌体的适宜吸附剂,并研究其吸附和洗脱作用。[方法]比较了滑石粉+硅藻土(3:1)、活性炭、蒙脱石、玻璃纤维4种吸附剂对副溶血弧菌噬菌体的吸附固定化效果以及洗脱效果。[结果]蒙脱石和玻璃纤维对噬菌体的吸附效果好。通过单因素试验和正交试验研究蒙脱石用量、吸附时间、吸附液pH对噬菌体固定化的影响,结果发现当蒙脱石用量为0.5g,吸附时间为1h,吸附液pH为6.0时,吸附效果最佳。[结论]将副溶血弧菌噬菌体制成固定化制剂后分别作用于养殖动物和养殖水体,可以达到对养殖动物进行生物防治和改善水体环境的目的。

**关键词** 副溶血弧菌噬菌体;吸附;洗脱;蒙脱石

**中图分类号** S94 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)13-0107-04

## Selection of Adsorption Material for *Vibrio parahaemolyticus* Phage and Its Adsorption and Elution Effects

HU Die<sup>1</sup>, QIU De-quan<sup>2\*</sup> (1. Zhanjiang Tengfei Industrial Co., Ltd., Zhanjiang, Guangdong 524072; 2. College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524025)

**Abstract** [Objective] To select suitable adsorbent for *Vibrio parahaemolyticus* phage and study its adsorption and elution effects. [Method] The adsorption immobilization effect and elution effect of 4 kinds of adsorbents French chalk + diatomite(3:1), active carbon, montmorillonite, and fibreglas on *V. parahaemolyticus* phage were compared. [Result] Montmorillonite and fibreglas had better adsorbability to phage. The effects of montmorillonite quantity, adsorption time and pH of eluant on the phage immobilization were studied by single factor test and orthogonal test, and the results showed that the adsorption effect was the best when the quantity of montmorillonite was 0.5 g, the adsorption time was 1 h, pH of eluant was 6. [Conclusion] After *V. parahaemolyticus* phage was prepared to immobilized preparation, it was used in aquaculture animal and water, to achieve the purpose of biological control and improvement of aquatic environment.

**Key words** *Vibrio parahaemolyticus* phage; Adsorption; Elution; Montmorillonite

随着海水养殖的发展,弧菌病已成为养殖对虾的主要细菌病害之一。其中,副溶血弧菌主要感染对象是对虾、海水鱼类等,感染蟹类、贝类会引起大量死亡<sup>[1]</sup>。由该菌引起的食物中毒具有起病急、发病率高的特点<sup>[2]</sup>。治疗的常用方法有抗菌药物治疗、免疫防治、生物防治等。抗菌药物主要使用抗生素<sup>[3]</sup>,但使用抗生素存在着药物残留、对人体健康造成危害、对环境产生污染等危害,并伴随着耐药菌的大量出现。疫苗免疫接种是免疫防治的主要方式,采用口服、浸泡、注射、喷雾等措施来提高机体的免疫力<sup>[4]</sup>,但制作复杂,周期长和成本高,不合适大范围养殖规模。噬菌体是感染细菌和放线菌的病毒,作为生物防治的主要手段<sup>[5]</sup>,将改变单纯用抗生素治疗细菌性疾病的传统观念,开辟一个全新的治疗领域,将细菌性疾病的治疗推向一个新阶段。固定化微生物技术是20世纪60年代由生物化工中的固定化酶技术发展起来的生物处理技术<sup>[6]</sup>。吸附法在固定化微生物技术中最为常用,利用微生物具有的可吸附到固体物质表面或其他细胞表面的能力,将微生物吸附在附加剂表面的方法,是一种非常廉价和有效的微生物固定化方法,实现简单,操作容易,反应条件温和,对微生物活性影响小,载体可重复使用。多孔陶粒<sup>[7]</sup>、活性炭<sup>[8]</sup>、沸石<sup>[9]</sup>、石英砂<sup>[10]</sup>、硅藻土<sup>[11]</sup>等吸附剂能将微生物吸附在表面,从而使其固定化。笔者对副溶血弧菌噬菌体进行固定化,以期制得可以作用于水体的固定化制剂。然而,由于噬菌体的个体较小,直接将噬菌体包埋成

固定化小球的效果并不好。因此,笔者先将噬菌体进行吸附法固定,再将吸附过后的物质进行包埋,以制取可以作用于水体的固定化小球。

## 1 材料与方法

**1.1 菌株** 副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)菌株,广东省水产经济动物病原生物学及流行病学重点实验室分离自患红体病凡纳滨对虾,经鉴定为副溶血弧菌<sup>[12]</sup>。

副溶血弧菌噬菌体(*Vibrio parahaemolyticus* phage I,简称为PI),由广东省水产经济动物病原生物学及流行病学重点实验室分离并保存<sup>[13]</sup>。

## 1.2 试验药品及培养基

**1.2.1 试验药品。**滑石粉、硅藻土、活性炭、玻璃纤维、牛肉浸膏均为分析纯;蒙脱石散(商品名思密达 Smecta,法国博福)益普生制药有限公司。

**1.2.2 培养基。**上层琼脂半固体培养基:胰蛋白胨10g,酵母膏5g,琼脂15g,补陈海水至1000mL,pH为7.4~7.8,混匀,高压蒸气灭菌,121℃,20min。下层琼脂固体培养基:胰蛋白胨10g,酵母膏5g,琼脂7g,补陈海水至1000mL,混匀,调整pH至7.4~7.8,高压蒸气灭菌,121℃,20min。

**1.3 副溶血弧菌液和噬菌体悬液的制备** 将一定量的副溶血弧菌液接种LB平板,30℃条件下培养约24h,用无菌海水洗下,并用血球计数板计数,计算副溶血弧菌液浓度。副溶血弧菌噬菌体PI的制备和纯化参照《分子克隆实验指南》<sup>[14]</sup>。副溶血弧菌菌液为 $2 \times 10^7$  CFU/mL,副溶血弧菌噬菌体悬液为 $1.0 \times 10^{13}$  PFU/mL,试验时稀释使用。

**1.4 4种吸附剂吸附和洗脱效果试验** 选择4种吸附剂:滑石粉+硅藻土(3:1)、活性炭、蒙脱石、玻璃纤维。吸附剂的量除了滑石粉2.7g+硅藻土0.9g外,其余都为3g,分别加

**基金项目** 广东海洋经济创新发展区域示范专项(GD2012-A03-012)。

**作者简介** 胡蝶(1981—),女,湖北武汉人,硕士,从事水产动物疾病与控制学研究。\*通讯作者,教授级高级工程师,博士,从事水产动物疾病与控制学研究。

**收稿日期** 2017-02-22

入 20 mL  $1.1 \times 10^{10}$ 、 $4.6 \times 10^9$ 、 $1.1 \times 10^8$ 、 $4.7 \times 10^7$  和  $5.8 \times 10^6$  PFU/mL 的噬菌体 (pH 4.0), 搅拌后吸附 30 min, 3 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 再向沉淀中加入 10 mL 灭菌海水 (pH 4.0), 洗脱 30 min 后 3 000 r/min 离心 10 min, 回收上清液, 合并 2 次上清液。再向沉淀中加入 20 mL 的 3% 的牛肉浸膏 (pH 10.0), 洗脱 30 min, 3 000 r/min 离心 10 min, 收集洗脱液。每组做 3 个平行, 采用双平板法测定上清液和洗脱液的噬菌体量 (噬菌体效价)。洗脱效果用回收率表述, 计算公式如下:

$$\text{吸附率} = \frac{\text{噬菌体量} - \text{上清液噬菌体量}}{\text{噬菌体量}} \times 100\%$$

$$\text{洗脱率} = \frac{\text{洗脱液噬菌体量}}{\text{噬菌体量} - \text{上清液噬菌体量}} \times 100\%$$

**1.5 考察蒙脱石吸附效果的因素试验及正交试验** 向吸附剂蒙脱石 (用量分别为 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 和 4.5 g) 中加入噬菌体液 20 mL (pH 4.0, 浓度  $4.6 \times 10^9$  PFU/mL), 吸附 30 min 后, 3 000 r/min 离

心 10 min, 回收上清液; 将离心后的蒙脱石置于 100 mL 的灭菌海水 (pH 4.0) 中搅拌均匀, 洗脱 30 min, 3 000 r/min 离心 10 min, 回收洗脱液。采用双平板法测定上清液和洗脱液的噬菌体量。通过改变蒙脱石的量、吸附时间和吸附 pH 等参数进行考察蒙脱石吸附效果的因素试验及正交试验。试验时每组做 3 个平行。

**1.6 数据统计与分析** 使用 SPSS 17.0 软件分析样品之间指标的差异。差异显著水平  $\alpha = 0.05$ , 结果均以平均值  $\pm$  标准差表示。

## 2 结果与分析

**2.1 4 种吸附剂的吸附效果** 由表 1 可知, 4 种吸附剂的吸附率从高到低依次为: 活性炭、蒙脱石、滑石粉 + 硅藻土、玻璃纤维。由表 2 可知, 玻璃纤维的洗脱效果最好, 洗脱率达 91.6667%, 吸附噬菌体效果不好, 回收率仅 21.8182%; 蒙脱石的洗脱效果次之, 活性炭最差。因此, 选择蒙脱石作为吸附材料进行进一步研究。

表 1 4 种吸附剂的吸附率比较

Table 1 The adsorption rate comparison of four kinds of sorbents

吸附剂 Sorbents	噬菌体量 Concentration of phage//PFU/mL				
	$1.1 \times 10^{10}$	$4.6 \times 10^9$	$1.1 \times 10^8$	$4.7 \times 10^7$	$5.8 \times 10^6$
滑石粉 + 硅藻土 French chalk + diatomite	99.980 9 $\pm$ 0.000 4 a	99.987 6 $\pm$ 0.000 1 a	99.934 5 $\pm$ 0.000 2 a	99.857 4 $\pm$ 0.000 6 b	99.934 5 $\pm$ 0.000 5 a
活性炭 Active carbon	99.998 5 $\pm$ 0.000 2 a	99.998 0 $\pm$ 0.000 2 a	99.998 8 $\pm$ 0.000 1 a	99.999 5 $\pm$ 0.000 3 a	99.999 9 $\pm$ 0.000 0 a
蒙脱石 Montmorillonite	99.989 1 $\pm$ 0.000 1 a	99.937 0 $\pm$ 0.000 6 b	99.800 0 $\pm$ 0.020 0 b	99.887 2 $\pm$ 0.014 8 b	99.910 3 $\pm$ 0.000 7 a
玻璃纤维 Fiberglass	46.363 6 $\pm$ 0.021 2 b	54.347 8 $\pm$ 0.023 8 c	21.818 2 $\pm$ 0.439 1 c	27.659 6 $\pm$ 0.019 4 c	20.689 7 $\pm$ 0.047 4 b

注: 同列不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )

Note: Different small letters in the same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ )

表 2 4 种吸附剂洗脱率的比较

Table 2 The elution rate comparison of four kinds of sorbents

吸附剂 Sorbents	噬菌体量 Concentration of phage//PFU/mL				
	$1.1 \times 10^{10}$	$4.6 \times 10^9$	$1.1 \times 10^8$	$4.7 \times 10^7$	$5.8 \times 10^6$
滑石粉 + 硅藻土 French chalk + diatomite	2.000 4 $\pm$ 0.010 0 b	0.826 2 $\pm$ 0.030 0 c	2.911 0 $\pm$ 0.130 0 bc	7.670 5 $\pm$ 0.070 0 b	3.968 1 $\pm$ 0.080 0 c
活性炭 Active carbon	0.181 8 $\pm$ 0.001 2 c	0.197 8 $\pm$ 0.000 1 c	0.019 1 $\pm$ 0.000 1 c	0.017 0 $\pm$ 0.000 1 c	0.011 9 $\pm$ 0.000 1 c
蒙脱石 Montmorillonite	81.827 1 $\pm$ 0.070 0 b	78.310 2 $\pm$ 0.270 0 b	80.160 3 $\pm$ 0.023 1 b	85.202 5 $\pm$ 0.061 2 b	87.147 1 $\pm$ 0.093 0 b
玻璃纤维 Montmorillonite	50.980 4 $\pm$ 0.030 0 a	48.000 0 $\pm$ 0.031 2 a	91.666 7 $\pm$ 0.120 0 a	84.615 4 $\pm$ 0.162 1 a	91.666 7 $\pm$ 0.013 2 a

注: 同列不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )

Note: Different small letters in the same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ )

## 2.2 蒙脱石的吸附效果

**2.2.1 蒙脱石用量对吸附效果的影响。**从图 1 可以看出, 随着蒙脱石用量的逐渐增加, 其洗脱液噬菌体量也逐渐增大, 当蒙脱石用量增至 0.5 g 时, 其洗脱液噬菌体量达到最大值, 为  $5.1 \times 10^8$  PFU/mL, 同时其上清液噬菌体量为  $2.2 \times 10^7$  PFU/mL, 当蒙脱石用量继续增大时, 洗脱液噬菌体量则不断降低, 因此蒙脱石最佳用量为 0.5 g。

**2.2.2 吸附时间对吸附效果的影响。**从图 2 可以看出, 当吸附时间为 0.5 h 时洗脱液噬菌体量为  $6.7 \times 10^8$  PFU/mL, 此后随着吸附时间的增加, 洗脱液噬菌体量不断减少; 当吸附时间为 2 h 时, 洗脱液噬菌体量达到最大值 ( $7.8 \times 10^8$  PFU/mL)。洗脱液噬菌体量随着吸附时间的不断延长而减小。由此可见, 当吸附时间为 2 h 时吸附效果最佳。

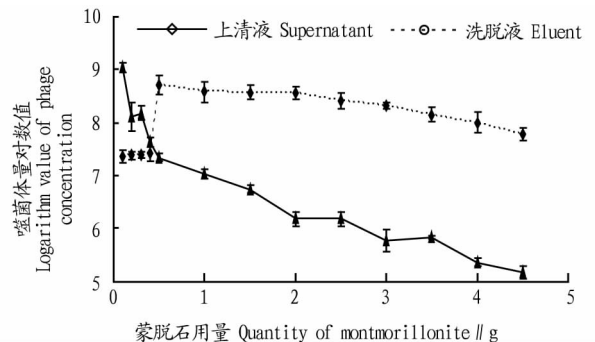


图 1 不同蒙脱石用量对吸附效果的影响

Fig. 1 Influences of different quantity of montmorillonite on the adsorption effects

**2.2.3 吸附液 pH 对吸附效果的影响。**从图 3 可以看出, 当

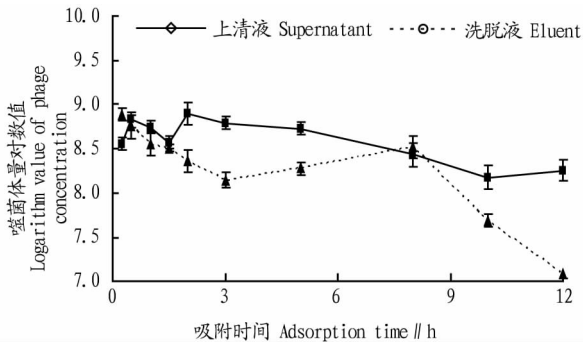


图2 不同吸附时间对吸附效果的影响

Fig.2 Influences of different adsorption time on the adsorption effect

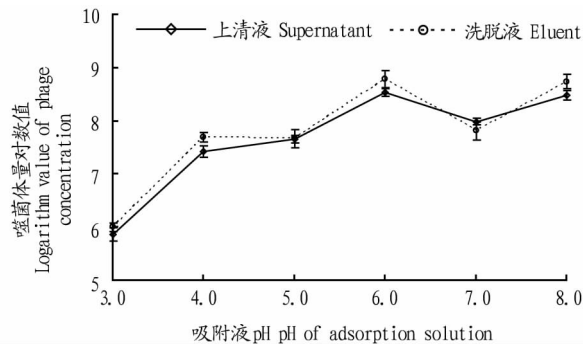


图3 不同 pH 对吸附效果的影响

Fig.3 Influences of different pH on adsorption effect

吸附液 pH 为 6.0 时,洗脱液噬菌体量达到最大值 ( $6.0 \times 10^8$  PFU/mL),此时吸附效果较好。

根据以前的研究成果<sup>[13]</sup>可知,此噬菌体的最适 pH 范围为 7.5~8.5,其存活的 pH 范围较宽,除了 pH 9.0 外,在 pH 6.0~11.0 时均比较稳定,其成活率在 80% 以上。当 pH 在 8.0 左右时最为稳定,存活率最高,活性最强。对 pH 4.0 以下的酸性环境耐受性较差,对存活率有明显影响。

该试验结果表明,当吸附液的 pH 为 6.0 时,洗脱液噬菌体量为  $6.0 \times 10^8$  PFU/mL,与吸附液的 pH 为 8.0 时的洗脱液中噬菌体的量 ( $5.9 \times 10^8$  PFU/mL) 基本相同,究其原因可能与此噬菌体的 pH 耐受有关。

**2.3 正交试验** 通过以上单因素试验,在正交试验中选择 3 个因素:吸附液 pH、吸附时间、蒙脱石用量。对每个因素分别设置 3 个水平,进行正交试验。正交试验因素与水平设计如表 3 所示。正交试验结果见表 4。

表 3 正交试验因素与水平设计

Table 3 The factors and the levels design of the orthogonal test

水平 Level	因素 Factor		
	吸附液 pH pH of adsorption solution	吸附时间 Adsorption time/h	蒙脱石用量 Quantity of montmorillonite/g
1	4.0	0.5	0.2
2	6.0	1.0	0.4
3	8.0	2.0	0.5

由表 4 可知,根据各因素极差大小可知,各因素对吸附效果的影响从大到小依次为吸附液 pH、蒙脱石用量和吸附时间。当吸附液 pH 为 6.0、吸附时间为 1 h、蒙脱石用量为 0.5 g 时,综合得分最高,吸附效果最好。

表 4 正交试验结果

Table 4 The results of orthogonal test

试验号 Test No.	吸附液 pH pH of adsorption solution	吸附时间 Adsorption time	蒙脱石用量 Quantity of montmorillonite	吸附率 P Adsorption rate/%	洗脱率 Q Elution rate/%	综合得分 Comprehensive score (P+Q)
1	1	1	1	69.57	78.13	147.69
2	1	2	2	92.83	20.37	113.20
3	1	3	3	98.30	19.46	117.76
4	2	1	2	88.26	49.26	137.52
5	2	2	3	93.26	74.59	167.85
6	2	3	1	63.04	48.28	111.32
7	3	1	3	95.00	19.68	114.68
8	3	2	1	41.30	45.79	87.09
9	3	3	2	92.61	28.17	120.78
$k_1$	42.07	44.43	38.46			
$k_2$	46.30	40.90	41.28			
$k_3$	35.84	38.87	44.48			
R	10.46	5.56	6.02			

### 3 结论与讨论

**3.1 吸附材料的选择** 笔者选取滑石粉+硅藻土(3:1)、活性炭、蒙脱石和玻璃纤维作为吸附剂,进行噬菌体的吸附法固定。滑石粉-硅藻土水体病毒浓缩方法是张楚瑜等<sup>[15]</sup>在 1983 年发展起来的,该方法测得的病毒回收率为 54.2%~98.2%,平均回收率为 83.5%。赵淑敏等<sup>[16]</sup>用滑石粉-硅藻土浓缩法测得病毒回收率为 35.48%~50.12%,发现试验操作时间长、结果稳定性差、需设备复杂。该试验采用滑石

粉-硅藻土吸附噬菌体所得到的回收率远远低于张楚瑜等<sup>[15]</sup>和赵淑敏等<sup>[16]</sup>测得的回收率,故排除滑石粉-硅藻土这种吸附材料。Jothikumar 等<sup>[17]</sup>用颗粒状活性炭(GAC)填充的滤柱成功吸附饮用水样中的肠道病毒、戊型肝炎病毒(HEV)和轮状病毒,结果表明活性炭对不同浓度噬菌体的吸附作用的回收率一直较低,故也予以排除。

郑耀通等<sup>[18]</sup>开发并优化钠化蒙脱石吸附病毒浓缩方法,对肠道病毒 PV1、大肠杆菌噬菌体、植物病毒 TMV 在 3

种不同水体环境中的回收率分别为 90.5%、88.3%、94.1%。樊志成等<sup>[19]</sup>研究表明蒙脱石原料药制剂对大肠杆菌、霍乱弧菌、空肠弯曲菌、金黄色葡萄糖球菌和轮状病毒以及胆盐都有较好的吸附作用,对细菌毒素也有固定作用。该试验中蒙脱石吸附噬菌体的回收率(87.15%)与郑耀通等<sup>[18]</sup>研究结果相差不大,所以可以考虑蒙脱石作为吸附材料。

玻璃纤维对噬菌体的吸附效果较好,回收率也较高,故也可考虑将其作为一种吸附材料。该试验结果表明,由于吸附同样多的噬菌体,需要玻璃纤维的量远远大于蒙脱石的量,且玻璃纤维操作较为繁琐,因而,从成本及可行性来看,选取蒙脱石作为后续试验的吸附剂。

**3.2 蒙脱石的吸附作用** 该试验选取吸附液 pH、吸附时间及吸附剂用量 3 个因素对蒙脱石吸附噬菌体进行了研究。结果表明,随着蒙脱石用量的逐渐增加,其洗脱液噬菌体量逐渐增大,当蒙脱石用量增至 0.5 g 时,其洗脱液噬菌体量达到最大值;当蒙脱石用量继续增加时,洗脱液噬菌体量不断减小,因而确定蒙脱石最佳用量为 0.5 g。在其他条件确定的情况下,当吸附时间为 0.5 h 时洗脱液噬菌体量较大,此后随着吸附时间的增加,洗脱液噬菌体量不断减少;当吸附时间为 2 h 时,洗脱液噬菌体量达到最大值,此后随着吸附时间的不断延长,洗脱液噬菌体量不断减小,因而,当吸附时间为 2 h 时,吸附效果最佳。该试验结果与韩秀山等<sup>[20]</sup>关于 Bt 原毒素在蒙脱石上的吸附 0.5~1.0 h 就能达到平衡的结论相差不大。该试验结果表明,在其他条件一定的情况下,当吸附液 pH 为 6.0 时洗脱液噬菌体量达到最大值,此时吸附效果较好。熊正为等<sup>[21]</sup>在蒙脱石吸附铀试验中发现,当溶液 pH 为 5.0~6.0 时,蒙脱石对铀的吸附率最大,与该试验结果相一致。此噬菌体的最适 pH 为 7.5~8.5,其存活的 pH 范围较宽,除 pH 9.0 外,当 pH 为 6.0~11.0 时均比较稳定,成活率在 80% 以上,pH 8.0 左右时最稳定,存活率最高,活性最强,对 pH 4.0 以下的酸性环境的耐受性较差,对存活率有明显影响<sup>[13]</sup>。该试验结果表明,当吸附液的 pH 为 6.0 和 8.0 时,洗脱液噬菌体量基本相同,究其原因可能与此噬菌体的 pH 耐受有关。

该试验选取吸附液 pH、吸附时间和蒙脱石用量 3 因素

进行正交试验,结果表明,当蒙脱石用量为 0.5 g、吸附时间为 1 h、吸附液 pH 为 6.0 时,蒙脱石对噬菌体的吸附效果最佳。

## 参考文献

- [1] 闫茂仓,陈少波,单乐州,等.海水养殖动物致病弧菌的研究进展[J].水产科学,2009,28(8):475-481.
- [2] 毛雪丹,胡俊峰,刘秀梅.用文献综述法估计我国食源性副溶血性弧菌病发病率[J].中华疾病控制杂志,2013,17(3):265-267.
- [3] 苏振霞,肖辉,陈列欢,等.6种水产常用抗生素对鳃弧菌的抗菌后效应研究[J].中国预防兽医学报,2012,34(10):793-796.
- [4] 李梅芳,毛芝娟,韩雨杉,等.壳聚糖-海藻酸钠包被的副溶血弧菌外膜蛋白 K 微粒疫苗的制备及其口服免疫效果[J].中国生物制品学杂志,2014,27(5):601-606.
- [5] 杨扬.应用噬菌体防治弧菌引发的刺参腐皮综合征[D].大连:大连理工大学,2013.
- [6] 杨旭俊,蔡冠竟,郑伟,等.固定化微生物技术在受污养殖水体和水华水域生物修复中的应用[J].微生物学通报,2015,42(4):712-720.
- [7] 张晨,张培玉,孙梦,等.菌株 qy37 吸附包埋固定化的脱氮效果研究[J].环境科学与技术,2012,35(1):32-37.
- [8] 王敏,尚海涛,顾军农,等.饮用水处理中活性炭微生物风险评估[J].给水排水,2014,40(5):120-124.
- [9] 金春华,陆开宏,郑志明,等.固定化微生物在凡纳滨对虾养成池中的应用[J].水产学报,2010,34(2):285-291.
- [10] 郑志明,陆开宏,蔡惠凤,等.固定化微生物修复养殖池塘污染底泥的围隔试验[J].水产学报,2009,33(3):462-469.
- [11] 乔楠,高明星,张彦福,等.改性硅藻土负载混合微生物处理染料废水的研究[J].硅酸盐通报,2015,34(12):3451-3455.
- [12] 蔺红苹,邱德全,谭龙艳.一株副溶血弧菌的分离和鉴定[J].水产科学,2007,26(5):296-299.
- [13] 邱德全,蔺红苹,谭龙艳.一株副溶血弧菌噬菌体生理特性的研究[J].微生物学通报,2007,34(4):735-739.
- [14] 萨姆布鲁克·J,弗里奇·E·F,曼尼阿蒂斯·T.分子克隆实验指南[M].2版.金东雁,黎孟枫,等译.北京:科学出版社,2002:133-885.
- [15] 张楚瑜,李丕芬,李军,等.滑石粉-硅藻土技术浓缩水中病毒效果的研究[J].环境科学,1983,4(2):54-57.
- [16] 赵淑敏,田勇琴,孟昭英,等.三种浓缩方法在水体病毒分离中的比较研究[J].环境与健康杂志,1996,13(3):120-122.
- [17] JOTHIKUMAR N, KHANNA P, PAULMUMGAN R, et al. A simple device for the concentration and detection of enterovirus, hepatitis E virus and rotavirus from water samples by reverse transcription-polymerase chain reaction[J]. Virol Methods, 1995, 55(3):401-415.
- [18] 郑耀通,林奇英,谢联辉.水体病毒浓缩条件的优化[J].中国病毒学,2004,19(1):62-66.
- [19] 樊志成,薛云丽,李世旭,等.蒙脱石在医药中的应用[J].精细与专用化学品,2007,15(6):29-31.
- [20] 韩秀山,吕大丰,黄周可,等.蒙脱石对细菌吸附作用[J].动物保健,2006(12):37-38,49.
- [21] 熊正为,王清良,郭成林.蒙脱石吸附铀机理实验研究[J].湖南师范大学(自然科学学报),2007,33(3):75-79.

## 名词解释

平均作者数:指来源期刊每一篇论文平均拥有的作者数,是衡量该期刊科学生产能力的一个指标。

地区分布数:指来源期刊登载论文所涉及的地区数,按全国 31 个省市计(不包括港澳台)。这是衡量期刊论文覆盖面和全国影响力大小的一个指标。

机构分布数:指来源期刊论文的作者所涉及的机构数。这是衡量期刊科学生产能力的另一个指标。

海外论文比:指来源期刊中,海外作者发表论文占全部论文的比例。这是衡量期刊国际交流程度的一个指标。

基金论文比:指来源期刊中,各类基金资助的论文占全部论文的比例。这是衡量期刊论文学术质量的重要指标。

引用半衰期:指该期刊引用的全部参考文献中,较新一半是在多长一段时间内发表的。通过这个指标可以反映出作者利用文献的新颖度。