

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00813

## 海洋盐单胞菌属微生物的鉴定及生物学活性分析

赵贵成<sup>△</sup>, 张 韬<sup>△</sup>, 高 云, 卢小玲, 龙 聪, 刘军华, 刘小宇\*, 焦炳华\*

第二军医大学基础部生物化学与分子生物学教研室, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 对36株海洋盐单胞菌进行16S rDNA的序列测定和生物学活性的初步分析。**方法** 用PCR方法扩增36株细菌的16S rDNA序列, 将获得的全部序列运用Clustal X1.8软件进行多序列比对并用MEGA4.1软件绘制进化树。利用MTT法测定菌株发酵液的细胞毒性; 采用DPPH和ABTS抗氧化模型检测菌株发酵液的抗氧化活性; 采用人白细胞弹性蛋白酶(human leukocyte elastase, HLE)抑制剂筛选模型检测菌株发酵液对HLE的抑制率。**结果** 经与GenBank数据库比对, 36株菌均与盐单胞菌属有很高的相似性(96%~99%)。菌株发酵液有不同程度的细胞毒活性、抗氧化活性和HLE抑制活性。11株菌对HepG2细胞有抑制作用, 抑制率为(4.40±1.2)%~(24.90±3.5)%; 20株菌对HL-60细胞有抑制活性, 抑制率为(1.70±1.1)%~(50.90±4.2)%。7株菌对ABTS自由基有清除能力, 清除率为(4.49±2.1)%~(58.43±4.4)%; 3株菌对DPPH自由基有清除能力, 清除率为(5.68±3.7)%~(59.06±3.2)%; 3株菌具有HLE抑制活性, 抑制率为(12.71±1.81)%~(71.19±5.62)%。**结论** 36株海洋盐单胞菌属微生物表现出不同程度的细胞毒活性、抗氧化活性和HLE抑制活性, 部分高活性菌株具有潜在的药用研究价值。

**[关键词]** 盐单胞菌科; 鉴定; 细胞毒素类; 抗氧化剂; 白细胞弹性蛋白酶

**[中图分类号]** R 931.77 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2011)08-0813-05

### Identification and bioactivities analysis of *Halomonas* sp. from seawater

ZHAO Gui-cheng<sup>△</sup>, ZHANG Tao<sup>△</sup>, GAO Yun, LU Xiao-ling, LONG Cong, LIU Jun-hua, LIU Xiao-yu\*, JIAO Bing-hua\*

Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To determine the 16S rDNA sequences of 36 strains of *Halomonas* sp. isolated from the seawater of the East China Sea and to study their bioactivities. **Methods** The 16S rDNA sequences of all isolated strains were amplified by PCR, and the obtained sequences were subjected to phylogenetic analyses using MEGA4.1 and multiple sequence alignment with Clustal X1.8 software. MTT assay was applied to assess the cytotoxic activities of their fermentation broth; ABTS and DPPH antioxidant models were applied to test the antioxidation activities of their fermentation broth. The HLE inhibition activities of the fermentation broth were tested by a stable HLE inhibitor screening model. **Results** Analysis of 16S rDNA sequences showed that the 36 strains had a high affinity (96%~99%) to the *Halomonas* sp. Fermentation broth of the 36 strains showed different degrees of cytotoxic activities, antioxidation activities, and HLE inhibition activities. Eleven strains inhibited the growth of HepG2 cells, with the inhibition rate ranging (4.40±1.2)% to (24.90±3.5)%; 20 strains inhibited the growth of HL-60 cells, with the inhibition rate ranging (1.70±1.1)% to (50.90±4.2)%; 7 strains showed ABTS radical scavenging capacity, with the scavenging rate ranging (4.49±2.1)% to (58.43±4.4)%; 3 strains showed DPPH radical scavenging capacity, with the scavenging rate ranging (5.68±3.7)% to (59.06±3.2)%, and 3 strains showed HLE inhibition activities, with the inhibition rate ranging (12.71±1.81)% to (71.19±5.62)%. **Conclusion** All the 36 *Halomonas* sp. strains show different degrees of cytotoxic effects, antioxidation activities, and HLE inhibition capacities. Several strains with high activities possess the potential for medicinal application.

**[Key words]** Halomonadaceae; identification; cytotoxins; antioxidants; leukocyte elastase

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(8): 813-817]

**[收稿日期]** 2011-05-31 **[接受日期]** 2011-06-23

**[基金项目]** 国家高技术研究发展计划(“863”计划, 2011AA09070302). Supported by National High-tech R&D Program (“863” Program, 2011AA09070302).

**[作者简介]** 赵贵成, 第二军医大学临床医学专业 2007 级本科学员. E-mail: yxy20080803@live.cn; 张 韬, 第二军医大学临床医学专业 2007 级本科学员. E-mail: zt89\_Scotty@hotmail.com

<sup>△</sup>共同第一作者(Co-first authors).

\* 通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-81870970-8004, E-mail: biolxy@163.com; Tel: 021-81870965, E-mail: jiaobh@live.cn

盐单胞菌(*Halomonas*)属于 $\gamma$ 变形菌纲盐单胞菌科(*Halomonadaceae*)的7个菌属之一,是一群能在含有0~5.13 mol/L NaCl的环境中生长的革兰阴性、需氧、杆状耐盐细菌,大多分布在盐碱地、盐湖、盐场、海冰和海洋极端环境中<sup>[1-2]</sup>。盐单胞菌除了因其独特的结构特征和特殊的生理机制而具有很强的生存适应能力外,还具有一些其他微生物所没有的生理特征,如可降解芳香族化合物,具有反硝化作用(denitrification),可产生表多糖(exopolysaccharide)、聚羟基丁酸酯(polyhydroxybutyrate)等。近年来国内外相继发现了一些盐单胞菌属新种<sup>[3-6]</sup>,并对这些新种进行了详细的分子鉴定和生理生化特征方面的研究,还克隆了该属的耐盐相关基因<sup>[7-9]</sup>,但目前有关盐单胞菌的生物学活性物质研究报道较少。

本实验通过对保存菌株的活性筛选,发现了多株具有不同生物学活性的盐单胞菌,对这些盐单胞菌进行16S rDNA序列测定以确定其分类地位,并对其细胞毒活性、抗氧化活性和人白细胞弹性蛋白酶(human leukocyte elastase, HLE)抑制活性等生物学活性进行初步分析,为活性物质的分离纯化等后续研究奠定基础。

## 1 材料和方法

1.1 菌株来源 36株盐单胞菌均是从2009年4月采集的中国东海海域(东经120.9°~122.8°,北纬27.5°~30.9°)海水样品中分离得到的,现保存于本实验室菌种库。

1.2 菌株16S rDNA序列测定及分析 采用菌落PCR的方法进行菌株的16S rDNA序列测定。选取菌株于Zobell 2216E培养基(酵母膏1g,蛋白胨5g,磷酸铁0.1g,人工海水1L, pH 7.2~7.6)中28℃培养2~3d,平板划线3次,挑取单菌落于100 $\mu$ l灭菌水中变性(99℃, 10 min)后离心取上清作为模板,采用TaKaRa 16S rDNA Bacterial Identification PCR Kit (Code No. D310)进行PCR扩增目的片段。反应体系和反应条件按照公司说明书进行。PCR产物取5 $\mu$ l进行1%琼脂糖电泳,紫外灯下切下与Marker对应约1.5 kb的目标条带,使用琼脂糖凝胶回收试剂盒(Code No. DV805A, TaKaRa)切胶回收目的片段送宝生物工程(大连)有限公司进行DNA测序。测序结果在GenBank上进行相似性检索,Clustal X1.8软件进行多序列比较,并用MEGA 4.1软件绘制进化树。

### 1.3 活性筛选

1.3.1 发酵液制备 菌株接种于5 ml Zobell

2216E培养液中28℃ 150转/min摇床培养1d进行活化,在无菌条件下将活化的菌液移入50 ml的新鲜培养液中继续摇床培养1d,再将菌液移入500 ml的新鲜培养液中,摇床培养7d后将发酵液离心(4℃, 1 800 $\times$ g, 5 min)去除菌体,取5 ml上清液用0.45 $\mu$ m微孔滤膜过滤,留存滤液进行细胞毒活性测试。其余上清液用乙酸乙酯等量萃取3次,浓缩萃取液至干后分别用甲醇配制成1 mg/ml溶液留作抗氧化活性检测,用DMSO配制成5 mg/ml溶液留作HLE抑制活性分析。

1.3.2 细胞毒活性筛选 细胞毒活性指示细胞株:人肝癌细胞HepG2和人急性淋巴细胞性白血病细胞HL-60,均保存于本实验室。

细胞悬液配置:HepG2和HL-60用RPMI 1640培养液(另加2.0 mg/ml NaHCO<sub>3</sub>, 10 mmol/L HEPES, 100 $\mu$ g/ml链霉素, 100 U/ml青霉素和10%新生小牛血清),于CO<sub>2</sub>孵箱中37℃、5%二氧化碳条件下培养。贴壁细胞用含0.02% EDTA的0.25%胰蛋白酶消化传代。将对数生长期的肿瘤细胞制成单细胞悬液,调整密度至0.8 $\times$ 10<sup>5</sup>/ml。

采用MTT比色法<sup>[10]</sup>测定发酵液的细胞毒活性。取96孔培养板,设实验组、对照组和空白调零组,实验组中每孔接种180 $\mu$ l细胞悬液,转板6h后加入待测菌株发酵液20 $\mu$ l,对照组每孔只加入细胞悬液200 $\mu$ l,空白调零组只加入RPMI 1640培养液200 $\mu$ l。将加完样的96孔板置培养箱中于37℃、5%二氧化碳条件下培养48h后加入5 mg/ml MTT溶液10 $\mu$ l,在相同条件下继续培养4h后终止培养。仔细吸去上清,悬浮细胞先离心再吸去上清。每孔加入150 $\mu$ l DMSO,轻轻振荡,1h后用酶标仪测定波长570 nm(630 nm参比波长)处光密度( $D_i$ )值,以空白孔调零,并计算抑制率。平行测定3次,取平均值。根据测定的光密度值计算发酵液对肿瘤细胞的抑制率,抑制率(%) =  $(D_0 - D_i)/D_0 \times 100\%$ ,  $D_0$ 为空白溶液的光密度; $D_i$ 为菌株发酵液与MTT溶液作用后的光密度。

1.3.3 抗氧化活性筛选 二苯代苦味酰基自由基(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH $\cdot$ )在有机溶剂中是一种较稳定的以氮为中心的自由基,在乙醇溶液中呈深紫色,最大吸收波长为517 nm。2,2'-联氨-双(3-乙基苯噻唑啉-6-磺酸)[2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS]被氧化后生成的自由基ABTS $\cdot$ ,其最大吸收波长为734 nm。当有自由基清除剂存在时,会导致DPPH $\cdot$ 溶液或ABTS $\cdot$ 溶液的光密值变小,且与自由基清除

剂的清除能力及数量呈定量关系<sup>[11-12]</sup>。因此,可通过测定 DPPH· 和 ABTS· 溶液光密度值的降低程度来评价自由基清除剂的活性。

(1)DPPH 自由基清除实验:用乙醇将 DPPH 配制成浓度为  $6 \times 10^{-5}$  mol/L 的溶液,0~4℃ 避光静置 8 h。取 0.3 ml 菌株发酵液甲醇溶液与 0.5 ml DPPH 溶液混合,震荡摇匀后室温下避光静置 20 min,测定溶液在 517 nm 处的光密度  $D_i$ ,以槲皮素为阳性对照,甲醇为空白对照,平行测定 3 次,取平均值,计算菌株发酵液对 DPPH 自由基的清除率。菌株发酵液对 DPPH 自由基的清除率(%) =  $(D_0 - D_i)/D_0 \times 100\%$ 。 $D_0$  为空白溶液的光密度; $D_i$  为发酵液甲醇溶液与 DPPH 反应后的光密度。

(2)ABTS 自由基清除实验:用 pH=7.4 的 PBS 将 ABTS 配制成浓度为 0.25 mol/L 的水溶液,取 5 ml 加入 88  $\mu$ l 2 mmol/L 的过硫酸钾,25 倍体积的乙醇稀释处理后避光静置保存 13 h。取 0.1 ml 菌株发酵液甲醇溶液与 0.9 ml ABTS 溶液混合,震荡摇匀后室温下避光静置 20 min,测定溶液在 734 nm 处的光密度  $D_i$ ,平行测定 3 次,取平均值,计算菌株发酵液对 ABTS 自由基的清除率。菌株发酵液对 ABTS 自由基的清除率(%) =  $(D_0 - D_i)/D_0 \times 100\%$ 。 $D_0$  为空白溶液的光密度; $D_i$  为菌株发酵液的甲醇溶液与 ABTS 反应后的光密度。

1.3.4 HLE 抑制活性筛选 采用 HLE 抑制剂高通量筛选模型<sup>[13]</sup>检测菌株发酵液的 HLE 抑制率。采用 0.2 U/ml 的 HLE 30  $\mu$ l,加入浓度 50 mmol/L 的底物 STANA 100  $\mu$ l,再加入菌株发酵液 DMSO 溶液 10  $\mu$ l,混合于 20 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 7.5,含 1.0 mol/L NaCl)中,反应 24 h 后,进行重氮化衍生,用酶标仪测定波长 545 nm 处光密度  $D_i$ ,以 DMSO 空白溶液作对照,平行测定 3 次,取平均值,计算菌株发酵液对 HLE 的抑制率。菌株发酵液对 HLE 的抑制率(%) =  $(D_0 - D_i)/D_0 \times 100\%$ 。 $D_0$  为 DMSO 空白溶液的光密度; $D_i$  为菌株发酵液的 DMSO 溶液与 HLE 反应后的光密度。

1.4 统计学处理 计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 2 结果

2.1 16S rDNA 序列测定及比对结果 将 36 株菌株的 16S rDNA 序列与 GenBank 上已知的菌株系列进行比对,结果表明,全部 36 个菌株的 16S rDNA 序列均与 *Halomonas* sp. 具有很高的相似性,相似度 96%~99%,其中 MZ0306A1 已被 GenBank 收录,收录号为 EU124745。将这 36 株菌进行多序列

比对(Clustal X1.8)并绘制进化树,结果见图 1。

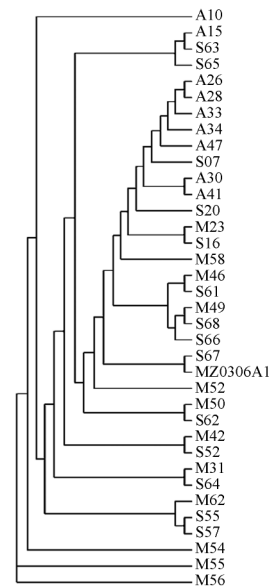


图 1 36 株盐单胞菌的多序列比对结果

Fig 1 Multiple sequence alignment of 36 *Halomonas* strains

从图 1 中可以看出,36 株盐单胞菌可在进化树上聚为 5 个基本部分,它们虽然均为盐单胞菌,但不同菌株的亲缘关系还是不同的。由于 16S rDNA 序列测定仅能将菌株的分类地位确立到属,对于后续实验研究中发现的高活性菌株,我们还需要采用其他的方式对其进行详细的分类。

2.2 细胞毒活性筛选结果 36 株测试菌对于 HepG2 细胞和 HL-60 细胞具有不同程度的抑制活性。11 株菌株表现出对 HepG2 细胞的抑制活性,抑制率  $(4.40 \pm 1.2)\% \sim (24.90 \pm 3.5)\%$ ;20 株菌对 HL-60 细胞有抑制作用,抑制率  $(1.70 \pm 1.1)\% \sim (50.90 \pm 4.2)\%$ 。其中 11 株菌株对测试的 2 种肿瘤细胞株均有不同程度的抑制活性,9 株菌株特异性地抑制 HL-60 细胞的增殖,M56 菌株对 HL-60 细胞的抑制率高达 50.9%(图 2)。

2.3 抗氧化活性筛选结果 在所有测试的盐单胞菌中,具有自由基清除活性的菌株仅有 8 株。A30、M54、M49 菌株发酵液对 DPPH 自由基有清除作用,清除率分别为  $(59.06 \pm 3.2)\%$ 、 $(9.82 \pm 3.5)\%$  和  $(5.68 \pm 3.7)\%$ ;7 株菌株发酵液对 ABTS 自由基有清除活性,清除率为  $(4.49 \pm 2.1)\% \sim (58.43 \pm 4.4)\%$ 。另外从图 3 中还可以看出,A30 菌株的发酵液对 ABTS 和 DPPH 自由基均有中等清除活性。5 株菌株表现出对 ABTS 自由基清除能力的特异性,它们的发酵液对 ABTS 自由基有清除活性而对 DPPH 自由基则完全没有作用(图 3)。

2.4 HLE 抑制活性筛选结果 36 株测试菌中只有

S62、M62、M52 等 3 株菌株的发酵液对 HLE 有抑制活性,其抑制率分别为(71.19±5.62)%、(12.77±

1.88)%、(12.71±1.81)%。

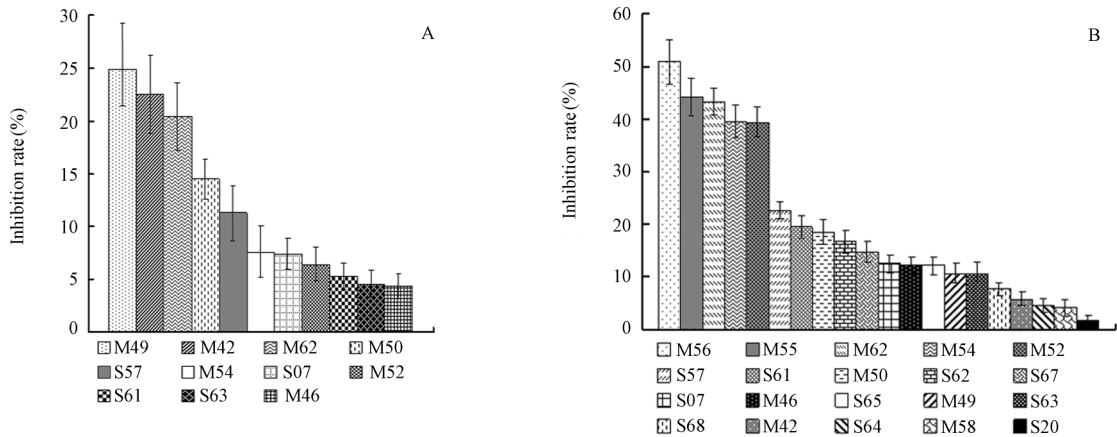


图 2 菌株发酵液对 HepG2(A)和 HL-60(B)的抑制率

Fig 2 Inhibition of HepG2(A) and HL-60(B) cell growth by fermentation broth of bacteria

n=3,  $\bar{x} \pm s$

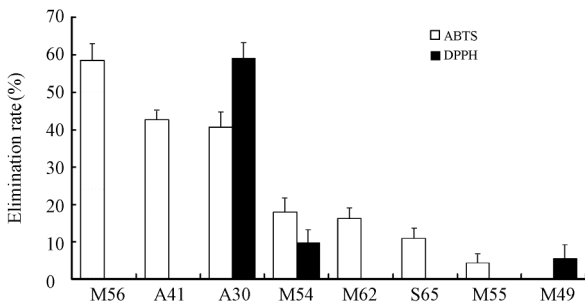


图 3 菌株发酵液对 ABTS、DPPH 自由基的清除作用

Fig 3 ABTS and DPPH radical scavenging capacities of fermentation broth of bacteria

n=3,  $\bar{x} \pm s$

### 3 讨论

本实验对前期分离自东海海水的一批微生物菌株样品进行了 16S rDNA 序列测定及比对分析发现,有 36 株菌属于盐单胞菌,占已测序菌株的 10% (数据未列出),是主要的优势菌种,说明在海洋这种高盐度的条件下,盐单胞菌显然比其他种属的菌株更易于生存。但是,通过多序列比对我们也发现,虽然同属于盐单胞菌,但这 36 株菌株在进化关系上还是有所差别的,比如 A10、M54、M55、M56 这 4 株菌,与其他菌株的亲缘关系较远。由于 16S rDNA 序列测定本身的局限性,只能将菌株分类到属,所以,对于后期活性筛选中挑选到的高活性菌株,我们将结合生理生化性质、基因组 G+C 含量测定以及胞壁脂肪酸组成等多种手段进一步鉴定。

前期对于盐单胞菌的研究报道主要集中于耐盐基因的克隆,生理生化性质的研究及种属的确定上,对于盐单胞菌属的生物学活性,还未见有较系统的研究。本实验采用了多种方法对这 36 株盐单胞菌进行了多种生物学活性测定。MTT 实验结果表明,在测试的盐单胞菌中,有超过一半的菌株(21 株/36 株)具有不同程度的细胞毒活性,近 1/3 的菌株(11 株/36 株)对两种肿瘤细胞株均有不同程度的抑制活性。总体来讲,对 HL-60 细胞株的抑制程度要高于对 HepG2 的抑制程度。DPPH 和 ABTS 自由基清除模型的实验结果显示,盐单胞菌的代谢产物中,仅有很少的具有抗氧化活性,但是,M56 对于 ABTS 的抑制率及 A30 对 DPPH 的抑制率都接近 60%,说明其中的抗氧化物质活性很高。利用本实验室前期建立的体外 HLE 抑制剂筛选模型<sup>[13]</sup>,本研究还对盐单胞菌代谢产物的 HLE 抑制活性进行了筛选,发现虽然仅有 3 株菌的代谢产物能抑制 HLE 的活性,但 S62 的抑制活性很强,达到了 70% 以上。

通过上述这些活性筛选方法,本实验对自行分离得到的盐单胞菌进行了多方面的生物学活性测试,从测试结果中,我们获得了 2 株高细胞毒活性的菌株(M49 和 M56)、2 株高抗氧化活性菌株(M56 和 A30)以及 1 株具有很强 HLE 抑制活性的菌株(S62)。今后将主要展开这些高活性菌株的多相分类学鉴定及活性代谢产物的鉴定。

### [参考文献]

[1] Ben Ali Gam Z, Abdelkafi S, Casalot L, Tholozan J L, Oueslati

- R, Labat M. *Modicisalibacter tunisiensis* gen. nov., sp. nov., an aerobic, moderately halophilic bacterium isolated from an oilfield-water injection sample, and emended description of the family *Halomonadaceae* Franzmann et al. 1989 emend Dobson and Franzmann 1996 emend. Ntougias et al. 2007[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2007, 57: 2307-2313.
- [2] Ntougias S, Zervakis G I, Fasseas C. *Halotalea alkalilenta* gen. nov., sp. nov., a novel osmotolerant and alkalitolerant bacterium from alkaline olive mill wastes, and emended description of the family *Halomonadaceae* Franzmann et al. 1989, emend. Dobson and Franzmann 1996[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2007, 57: 1975-1983.
- [3] González-Domenech C M, Martínez-Checa F, Quesada E, Béjar V. *Halomonas cerina* sp. nov., a moderately halophilic, denitrifying, exopolysaccharide-producing bacterium [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2008, 58: 803-809.
- [4] Wu G, Wu X, Wang Y, Chi C, Tang Y, Kida K, et al. *Halomonas daqingensis* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from an oilfield soil[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2008, 58: 2859-2865.
- [5] Arenas M, Bañón P I, Copa-Patiño J L, Sánchez-Porro C, Ventosa A, Soliveri J. *Halomonas ilicicola* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from a saltern[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59: 578-582.
- [6] Li H, Zhang L, Chen S. *Halomonas korlensis* sp. nov., a moderately halophilic, denitrifying bacterium isolated from saline and alkaline soil[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2008, 58: 2582-2588.
- [7] Huang X, Shao Z, Hong Y, Lin L, Li C, Wang F, et al. Cel8H, a novel endoglucanase from the halophilic bacterium *Halomonas* sp. S66-4: molecular cloning, heterogenous expression, and biochemical characterization[J]. *J Microbiol*, 2010, 48: 318-324.
- [8] Sabet S, Diallo L, Hays L, Jung W, Dillon J G. Characterization of halophiles isolated from solar salterns in Baja California, Mexico[J]. *Extremophiles*, 2009, 13: 643-656.
- [9] Tokunaga H, Arakawa T, Tokunaga M. Engineering of halophilic enzymes; two acidic amino acid residues at the carboxy-terminal region confer halophilic characteristics to *Halomonas* and *Pseudomonas* nucleoside diphosphate kinases[J]. *Protein Sci*, 2008, 17: 1603-1610.
- [10] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 1647.
- [11] Milardović S, Iveković D, Grabarić B S. A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical[J]. *Bioelectrochemistry*, 2006, 68: 175-180.
- [12] Magalhães L M, Segundo M A, Reis S, Lima J L, Tóth I V, Rangel A O. Automatic flow system for sequential determination of ABTS • + scavenging capacity and Folin-Ciocalteu index: a comparative study in food products[J]. *Anal Chim Acta*, 2007, 592: 193-201.
- [13] 宋歌, 胡显腾, 孔令超, 刘军华, 刘小宇. 人白细胞弹性蛋白酶抑制剂体外筛选模型的建立及优化[J]. *第二军医大学学报*, 2011, 32: 640-644.
- Song G, Hu X T, Kong L C, Liu J H, Liu X Y. Optimization research on *in vitro* screening model for human leukocyte elastase inhibitor[J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2011, 32: 640-644.

[本文编辑] 尹茶

## • 书 讯 •

## 《实用波谱综合分析》已出版

《实用波谱综合分析》由陈海生主编, 第二军医大学出版社出版, ISBN 978-7-5481-0178-9, 定价 35.00 元。

现代波谱分析是测定有机化合物和天然产物结构十分重要的分析方法。波谱分析方法具有微量、快速、灵敏、准确和重复性好等优点。这些波谱技术方法的应用和迅速发展, 大大推动了有机化学、天然产物化学以及生命科学的发展。

《实用波谱综合分析》介绍了运用波谱分析鉴定有机化合物的一般程序、有机化合物的波谱结构分析、天然产物的波谱结构分析及常见不同类型天然产物的波谱特征, 着重讨论波谱图与分子结构的关系以及波谱在分子结构鉴定中的应用, 结合实例介绍了综合运用多种波谱方法解析有机化合物结构的方法, 列举了综合波谱分析解析化合物过程的实例, 强调培养学生运用波谱综合分析解决有机化学结构的实际能力。书中收录了较多的波谱图, 不仅列举了较多的波谱解析实例, 另配有结构波谱解析过程光盘。

《实用波谱综合分析》内容新颖, 具有相当的理论深度和难度, 可作为药学、化学化工以及相关学科研究生和高年级本科生参考用书, 也可供相关研究工作者参考。

该书由第二军医大学出版社发行科发行, 全国各大书店均有销售。

通信地址: 上海市翔殷路 800 号, 邮编: 200433

邮购电话: 021-65344595, 65493093

<http://www.smmup.com>