

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A01N 43/80 (2006.01)
A01P 1/00 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 98808300.0

[45] 授权公告日 2006 年 11 月 29 日

[11] 授权公告号 CN 1286370C

[22] 申请日 1998.8.20 [21] 申请号 98808300.0

[30] 优先权

[32] 1997.8.20 [33] EP [31] 97114397.9

[86] 国际申请 PCT/EP1998/005310 1998.8.20

[87] 国际公布 WO1999/008530 德 1999.2.25

[85] 进入国家阶段日期 2000.2.18

[71] 专利权人 托尔化学有限公司

地址 德国施派尔

[72] 发明人 D·安东尼-金莫曼 R·鲍姆

T·翁德 H-J·施密德

审查员 白优爱

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 陈文平

权利要求书 3 页 说明书 42 页

[54] 发明名称

协同作用的生物杀害剂组合物

[57] 摘要

本发明涉及在可能受有害微生物感染的物质中用作添加剂的生物杀害剂组合物。本发明的生物杀害剂组合物至少包含两种活性生物杀害剂，其中之一为 2-甲基异噻唑啉-3-酮，其特征在于，还包含另一种活性生物杀害物质 1,2-苯并异噻唑啉-3-酮，该生物杀害剂组合物不包含 5-氯-2-甲基异噻唑啉-3-酮。

1. 向可被有害微生物感染的物质中加入的生物杀害剂组合物, 其中, 所述组合物至少包含两种活性生物杀害物质, 其中之一为 2-甲基异噻唑啉-3-酮, 其特征在于, 生物杀害剂组合物还包含另一种活性生物杀害物质 1, 2-苯并异噻唑啉-3-酮, 该生物杀害剂组合物不包含 5-氟-2-甲基异噻唑啉-3-酮。
2. 根据权利要求 1 的生物杀害剂组合物, 其特征在于, 它以 (50-1): (1-50) 的重量比包含 2-甲基异噻唑啉-3-酮和 1, 2-苯并异噻唑啉-3-酮。
3. 根据权利要求 1 的生物杀害剂组合物, 其特征在于, 它以 (15-1): (1-8) 的重量比包含 2-甲基异噻唑啉-3-酮和 1, 2-苯并异噻唑啉-3-酮。
4. 根据权利要求 1-3 任一项的生物杀害剂组合物, 其特征在于, 以生物杀害剂组合物总重量计, 2-甲基异噻唑啉-3-酮和 1, 2-苯并异噻唑啉-3-酮的总浓度为 1-20wt%。
5. 根据权利要求 1-3 任一项的生物杀害剂组合物, 其特征在于, 其包含极性和/或非极性液体介质。
6. 根据权利要求 5 的生物杀害剂组合物, 其特征在于, 极性液体介质为水、1-4 个碳原子的脂族醇、二醇、二醇醚、二醇酯、聚乙二醇、聚丙二醇、N, N-二甲基甲酰胺或这些物质的混合物。
7. 根据权利要求 6 的生物杀害剂组合物, 其特征在于, 极性液体介质为水, 组合物的 pH 值为 7 至 9。

8. 根据权利要求5的生物杀害剂组合物，其特征在于，组合物包含作为非极性液体介质的二甲苯和/或甲苯。
9. 根据权利要求1-3或6-8任一项的生物杀害剂组合物，其特征在于，组合物还包含3-碘-2-丙炔基-N-丁基氨基甲酸酯作为活性生物杀害物质。
10. 根据权利要求9的生物杀害剂组合物，其特征在于，2-甲基异噻唑啉-3-酮和1,2-苯并异噻唑啉-3-酮的组合与3-碘-2-丙炔基-N-丁基氨基甲酸酯的重量比为1:10至100:1。
11. 根据权利要求1-3、6-8或10任一项的生物杀害剂组合物，其特征在于，组合物还包含2-正辛基异噻唑啉-3-酮作为活性生物杀害物质。
12. 根据权利要求11的生物杀害剂组合物，其特征在于，2-甲基异噻唑啉-3-酮和1,2-苯并异噻唑啉-3-酮的组合与2-正辛基异噻唑啉-3-酮的重量比为1:10至100:1。
13. 根据权利要求1-3、6-8、10或12任一项的生物杀害剂组合物，其特征在于，组合物还包含甲醛或产生甲醛的物质作为活性生物杀害物质。
14. 根据权利要求13的生物杀害剂组合物，其特征在于，2-甲基异噻唑啉-3-酮和1,2-苯并异噻唑啉-3-酮的组合与甲醛或产生甲醛的物质的重量比为1:100至10:1。
15. 根据权利要求1-3、6-10、10、12或14任一项的生物杀害剂组合物，

其特征在于，组合物还包含 2-溴-2-硝基丙烷-1,3-二醇作为活性生物杀害物质。

16. 根据权利要求 15 的生物杀害剂组合物，其特征在于，2-甲基异噻唑啉-3-酮和 1,2-苯并异噻唑啉-3-酮的组合与 2-溴-2-硝基丙烷-1,3-二醇的重量比为 1:10 至 10:1。
17. 根据权利要求 1-3、6-8、10、12、14 或 16 任一项的生物杀害剂组合物，其特征在于，2-甲基异噻唑啉-3-酮与 1,2-苯并异噻唑啉-3-酮的重量比为 1:1。
18. 权利要求 1-3、6-8、10、12、14、16 或 17 任一项的生物杀害剂组合物在控制有害微生物中的用途。

协同作用的生物杀害剂组合物

本发明涉及向可被有害微生物感染的物质中加入的生物杀害剂组合物。具体而言，本发明涉及一种具有至少两种相互间起协同作用的活性生物杀害物质的生物杀害剂组合物，其中活性物质之一为 2-甲基异噻唑啉-3-酮。

生物杀害试剂在许多领域中得到广泛应用，例如，用来控制有害的细菌、真菌或藻类。长久以来，人们已公知在此类组合物中使用 4-异噻唑啉-3-酮(其也被命名为 3-异噻唑啉酮)，因为这其中有非常有效的生物杀害化合物。

这些化合物之一即为 5-氯-2-甲基异噻唑啉-3-酮。这种物质的确显示出优异的生物杀害活性，但其存在各种在实际使用时碰到的缺陷。例如，该化合物常常会引起使用者过敏。同时，在许多国家还受到对工业废水中 AOX 值的法律限制，即可吸附至活性炭的有机氯、溴和碘化合物在水中的浓度不过量。这在一定程度上限制了 5-氯-2-甲基异噻唑啉-3-酮的应用。进而，这种化合物的稳定性在某些情况下也不太好，如高 pH 值下或存在亲核试剂或还原剂时。

另一种已知具有生物杀害活性的异噻唑啉-3-酮为 2-甲基异噻唑啉-3-酮。这种化合物可避免 5-氯-2-甲基异噻唑啉-3-酮的上述各种缺点，如过敏的高危险性，但是，其生物杀害活性相对低很多。因此，不可能简单地用 2-甲基异噻唑啉-3-酮代替 5-氯-2-甲基异噻唑啉-3-酮。

各种异噻唑啉-3-酮的组合使用或至少一种异噻唑啉-3-酮与其它化合物的组合使用也是公知的。例如，EP 0676140A1 即描述了含有 2-甲基异噻唑啉-3-酮(2-甲基-3-异噻唑啉酮)和 2-正辛基异噻唑啉-3-酮(2-正辛基-3-异噻唑啉酮)的协同作用生物杀害组合物。

US 5328926 也公开了一种 1,2-苯并异噻唑啉-3-酮与碘代炔丙基化合物(碘代丙炔基化合物)组合的协同生物杀害剂组合物。例如，3-

碘代炔丙基-N-丁基氨基甲酸酯即为此种化合物。但是,在所述文献中,除1,2-苯并异噻唑啉-3-酮与3-碘代炔丙基-N-丁基氨基甲酸酯外,未描述其它的活性生物杀害物质。

JP 01224306 (化学文摘, 112卷, 11期, 1990.3.12, 文摘号 93924) 描述了一种生物杀害剂组合物, 其由2-甲基异噻唑啉-3-酮、1,2-苯并异噻唑啉-3-酮和5-氯-2-甲基异噻唑啉-3-酮组成。

JP 06092806 (化学文摘, 121卷, 11期, 1994.9.12, 文摘号 127844) 涉及包含异噻唑啉酮、1,2-苯并异噻唑啉-3-酮和丙醇或丙醇衍生物的生物杀害剂组合物。异噻唑啉酮例如为2-甲基异噻唑啉-3-酮, 丙醇衍生物例如为2-溴-2-硝基丙烷-1,3-二醇。但是,还没有文献报导具体包含2-甲基异噻唑啉-3-酮、1,2-苯并异噻唑啉-3-酮和2-溴-2-硝基丙烷-1,3-二醇并且同时不包含5-氯-2-甲基异噻唑啉-3-酮的组合物。

本发明的目的是提供一种组分的相互协同作用增强,从而相对于在单独组分使用情形下必需的浓度,可在同时使用时以低浓度使用的生物杀害剂组合物。因此,人与环境受到更少的污染,并可减少控制有害微生物的费用。

通过本发明的生物杀害剂组合物可实现上述目的,所述组合物至少包含两种活性生物杀害物质,其中之一为2-甲基异噻唑啉-3-酮。该组合物的特征还在于,其还可包含活性生物杀害物质1,2-苯并异噻唑啉-3-酮,该生物杀害剂组合物不包含5-氯-2-甲基异噻唑啉-3-酮。

本发明生物杀害剂组合物的优点是,其可代替目前实际中采用的活性物质,这些物质存在对健康与环境均不利的缺点,例如5-氯-2-甲基异噻唑啉-3-酮。进而,需要时,本发明的生物杀害剂组合物可用水作为首选介质来生产。因此,不必另加乳化剂、有机溶剂和/或稳定剂。此外,本发明通过加入其他活性物质可使组合物针对具体的目标,例如增加生物杀害活性,改善被微生物感染的物质的长期保护,改善与被保护物质的相容性或改善毒理学或生态毒理学性能。

本发明的生物杀害剂组合物包含 2-甲基异噻唑啉-3-酮和 1,2-苯并异噻唑啉-3-酮, 其重量比通常为 (50-1):(1-50), 优选 (15-1):(1-8), 更优选 (4-1):(1-4), 首选 1:1.

在生物杀害剂组合物中, 以生物杀害剂组合物总重量计, 2-甲基异噻唑啉-3-酮和 1,2-苯并异噻唑啉-3-酮的总浓度优选为 0.5-50wt%, 优选 1-20wt%, 特别优选 2.5-10wt%.

本发明的生物杀害剂组合物与极性或非极性液体介质组合使用是适宜的。所述介质例如可在生物杀害剂组合物中和/或被保护的物质中提供。

优选的极性液体介质为水, 1-4 个碳原子的脂族醇如乙醇和异丙醇, 二醇如乙二醇、二甘醇、1,2-丙二醇、一缩二丙二醇和二缩三丙二醇 (tripropylene glycol), 二醇醚如丁基二醇和丁基二甘醇, 二醇酯如二甘醇乙酸丁酯或 2,2,4-三甲基戊二醇单异丁酸酯, 聚乙二醇, 聚丙二醇, N,N-二甲基甲酰胺或这些物质的混合物。极性液体介质特别为水, 而相应生物杀害剂组合物的 pH 值优选被调节至中性或弱碱性, 例如 pH 值为 7 至 9. 因此, 2-甲基异噻唑啉-3-酮以溶解形式存在, 而 1,2-苯并异噻唑啉-3-酮以微细分散形式存在, 或两种活性物质均溶解。

非极性液体介质的实例为芳族化合物, 优选二甲苯和甲苯。

本发明的生物杀害剂组合物也可同时与极性和非极性液体介质一起结合。

除了 2-甲基异噻唑啉-3-酮和 1,2-苯并异噻唑啉-3-酮外, 本发明的生物杀害剂组合物可包含一种或多种其它的活性生物杀害物质, 它们根据应用场合进行选择。这种附加活性生物杀害物质的具体实例如下:

苯甲醇

2,4-二氯苯甲醇

2-苯氧基乙醇

2-苯氧基乙醇半缩甲醛

苯乙醇

5-溴-5-硝基-1,3-二噁烷

甲醛和产生甲醛的物质

二羟甲基二甲基乙内酰脲

乙二醛

戊二醛

山梨酸

苯甲酸

水杨酸

对羟基苯甲酸酯

氯乙酰胺

N-羟甲基氯乙酰胺

苯酚类，如对氯间甲酚和邻苯基苯酚

N-羟甲基脲

N, N'-二羟甲基脲

苄基缩甲醛

4, 4-二甲基-1, 3-噁唑烷

1, 3, 5-六氢三嗪衍生物

季铵化合物，如

N-烷基-N, N-二甲基苄基氯化铵

二正癸基二甲基氯化铵

鲸蜡基氯化吡啶鎓

二胍

聚双胍

chlorohexidine

1, 2-二溴-2, 4-二氰基丁烷

3, 5-二氯-4-羟基苯甲醛

乙二醇半缩甲醛

四(羟甲基)磷盐

二氯芬

2, 2-二溴-3-硝基丙酰胺

3-碘-2-丙炔基-N-丁基氨基甲酸酯
 N-苯并咪唑-2-基氨基甲酸甲酯
 2-正辛基异噻唑啉-3-酮
 4,5-二氯-2-正辛基异噻唑啉-3-酮
 4,5-三亚甲基-2-甲基异噻唑啉-3-酮
 2,2'-二硫代二苯甲酸二-N-甲基酰胺
 苯并异噻唑啉酮衍生物
 2-硫代氰酸基甲硫基苯并噻唑
 C 缩甲醛, 如

2-羟甲基-2-硝基-1,3-丙二醇

2-溴-2-硝基丙烷-1,3-二醇

亚甲基二硫氰酸酯

尿囊素的反应产物。

优选 3-碘-2-丙炔基-N-丁基氨基甲酸酯、2-正辛基异噻唑啉-3-酮、甲醛或产生甲醛的物质及 2-溴-2-硝基丙烷-1,3-二醇作为其它活性生物杀害物质。

产生甲醛的物质的实例为 N-缩甲醛, 如

N,N'-二羟甲基脲

N-羟甲基脲

二羟甲基二甲基乙内酰脲

N-羟甲基氯乙酰胺

尿囊素的反应产物

二醇缩甲醛, 如

乙二醇缩甲醛

丁基二甘醇缩甲醛

苄基缩甲醛

本发明的生物杀害剂组合物也可包含在生物杀害剂领域中技术人

员公知的用作添加剂的其它常规成分。这些成分例如为增稠剂、消泡剂、调节 pH 值的物质、香料、分散剂和着色物质。

2-甲基异噻唑啉-3-酮和 1,2-苯并异噻唑啉-3-酮均为已知物质。2-甲基异噻唑啉-3-酮可按照 US5466818 所述方法制备。所得到的反应产物可通过例如柱色谱进行纯化。

1,2-苯并异噻唑啉-3-酮有商品供应,例如来自 Thor Chemie GmbH 公司,商品名 Acticide[®] BW20 和 Acticide[®] BIT。

3-碘-2-丙炔基-N-丁基氨基甲酸酯也有商品供应,例如来自 Troy 化学公司,商品名 Polyphase[®], Polyphaes[®] AF-1 和 Polyphase[®] NP-1, 来自 Olin 公司,商品名 Omacide IPBC[®] 100。

2-正辛基异噻唑啉-3-酮也有商品供应,例如来自 Thor Chemie GmbH 公司,商品名 Acticide[®] OIT。

2-溴-2-硝基丙烷 1,3-二醇也有商品供应,例如来自 Boots 公司,商品名 Myacide[®] AS。

按照本发明的第一个实施方案,本发明的生物杀害剂组合物为 2-甲基异噻唑啉-3-酮与 1,2-苯并异噻唑啉-3-酮组合的体系,它们的协同作用使其生物杀害活性大于这两种化合物单独显示出的活性。

另外,就本发明另一个实施方案的生物杀害剂组合物而言,除包含 2-甲基异噻唑啉-3-酮与 1,2-苯并异噻唑啉-3-酮的两成分组合外,还包含活性生物杀害物质 3-碘-2-丙炔基-N-丁基氨基甲酸酯、2-正辛基异噻唑啉-3-酮、甲醛或产生甲醛的物质或 2-溴-2-硝基丙烷-1,3-二醇,它们的协同作用使其生物杀害活性大于上述两组分组合达到的活性,也大于这些化合物单独显示出的活性。

当这种两组分组合与上述其它活性生物杀害物质之一一起使用时,其优选以 1:1 的重量比包含 2-甲基异噻唑啉-3-酮与 1,2-苯并异噻唑啉-3-酮 1:1。就所要实现的协同活性而言,也可以选择其它重量比。

本发明生物杀害剂组合物可应用于各种不同的领域。例如,其适用于油漆、灰泥、磺化油、白垩悬浮液、粘合剂、光化学品、含酪蛋白的产品、含淀粉的产品、沥青乳液、表面活性剂溶液、发动机燃料、

清洁剂、化妆品、水循环系统、聚合物分散液和冷却润滑剂，用于防止诸如细菌、丝状真菌、酵母和藻类的侵蚀。

实际使用时，生物杀害剂组合物可为即时使用的混合物，或者将生物杀害剂与组合物的其它组分分别加至被保护的物质中。

以下实施例用于说明本发明。

在所有实施例中，采用 MIT 和 BIT 的以及其它的活性生物杀害物质的活性物质混合物，MIT 与 BIT 的重量比为 1:1。

实施例 1

本实施例显示出在本发明的生物杀害剂组合物中两种基本活性物质的协同效果。

制备各种浓度的 2-甲基异噻唑啉-3-酮 (MIT) 和 1,2-苯并异噻唑啉-3-酮 (BIT) 的含水混合物，测试这些混合物对大肠杆菌 (International Mycological Institute, 菌株号 IMI 362054) 的活性。

除了生物杀害剂组分和水外，含水混合物包含了营养培养基，即 Muller-Hinton 肉汤 (商品，“Merck No.10393”)。大肠杆菌的细胞密度为 10^6 细胞/mL。培养时间为 25°C 下 72h。每一个试样于 120rpm 下于培养摇床中进行培养。

表 I 显示所采用的 MIT 和 BIT 的浓度。该表也显示了是否发生微生物生长，符号“+”和“-”表示生长和未生长。

表 I 还显示了最小抑制浓度 (MIC)。结果表明，当单独采用 MIT 时，MIC 值为 17.5ppm，当单独采用 BIT 时，MIC 值为 25ppm。与此相对照，MIT 和 BIT 的混合物的 MIC 值则低很多，即当它们合在一起时，MIT 与 BIT 起到协同作用的效果。

表 I
在培养 72h 时对大肠杆菌的 MIC 值

MIT 浓度 (ppm)	BIT 浓度 (ppm)												
	35	30	25	20	17.5	15	12.5	10	7.5	5	2.5	1	0
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
12.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
7.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
5	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
2.5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

在表 II 中给出了通过计算协同指数由数值表示的协同效果。协同指数按照下述文献所述方法计算：F. C. Kull 等，应用微生物学 (Applied Microbiology)，第 9 卷(1961)，538 页。协同指数采用下式计算：

$$\text{协同指数 SI} = Q_a/Q_A + Q_b/Q_B$$

当该式用于这里测试的生物杀害剂体系时，在式中的各数量具有下述含义：

Q_a = 在 BIT 和 MIT 的生物杀害剂混合物中 BIT 的浓度

Q_A = BIT 单独作为生物杀害剂的浓度

Q_b = 在 BIT 和 MIT 的生物杀害剂混合物中 MIT 的浓度

Q_B = MIT 单独作为生物杀害剂的浓度

当协同指数大于 1 时，表示存在拮抗作用。当该值为 1 时，表示

存在两种生物杀害剂活性加和。当协同指数小于1时，表示存在两种生物杀害剂的协同作用。

表 II

在培养 72h 时时对大肠杆菌的协同指数计算

MIC		总浓度	浓度		Q_a/Q_A	Q_b/Q_B	协同指数
BIT 浓度	MIT 浓度	BIT+MIT	BIT	MIT			$Q_a/Q_A +$
Q_a (ppm)	Q_b (ppm)	Q_a+Q_b (ppm)	(wt%)	(wt%)			Q_b/Q_B
0	17.5	17.5	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00
1	15	16	6.3	93.8	0.04	0.86	0.90
2.5	10	12.5	20.0	80.0	0.10	0.57	0.67
7.5	7.5	15	50.0	50.0	0.30	0.43	0.73
12.5	5	17.5	71.4	28.6	0.50	0.29	0.79
20	2.5	22.5	88.9	11.1	0.80	0.14	0.94
25	0	25	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00

从表 II 可以看出，最佳协同作用，即 (MIT/BIT) 混合物最低协同指数 (0.67) 出现在 80wt% MIT 与 20wt% 的 BIT 的混合物中。

实施例 2

如实施例 1 那样，显示了两种活性物质 MIT 和 BIT 对微生物恶臭假单胞菌的协同作用。

实验采用 Müller-Hinton 肉汤作为营养培养基。细胞密度为 10^6 细胞/mL。培养时间为 25℃ 下 48h。每一个试样于 120rpm 下在培养摇床中进行培养。

表 III 显示了试验生物杀害剂组合物的 MIC 值。当单独采用 MIT 时，MIC 值为 12.5ppm，当单独采用 BIT 时，MIC 值为 60ppm。

表 III
在培养 48h 时对恶臭假单胞菌的 MIC 值
BIT 浓度 (ppm)

MIT 浓度 (ppm)	80	70	60	50	40	30	25	20	15	10	7.5	5	2.5	1	0.5	0
17.5	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
7.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

同时采用 MIT 和 BIT 产生协同作用。表 IV 显示了协同指数的计算。据此，对恶臭假单胞菌而言，最低协同指数(0.50)出现在 3.8wt% MIT 与 96.2 wt%的 BIT 的混合物中。

表 IV
在培养 48h 时对假单胞菌的协同指数计算

MIC		总浓度 BIT+MIT Q _a +Q _b (ppm)	浓度		Q _a /Q _A	Q _b /Q _B	协同指数 Q _a /Q _A + Q _b /Q _B
BIT 浓度 Q _a (ppm)	MIT 浓度 Q _b (ppm)		BIT (wt%)	MIT (wt%)			
0	12.5	12.5	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00
2.5	10	12.5	20.0	80.0	0.04	0.80	0.84
5	7.5	12.5	40.0	60.0	0.08	0.60	0.68
15	5	20	75.0	25.0	0.25	0.40	0.65
20	2.5	22.5	88.9	11.1	0.33	0.20	0.53
25	1	26	96.2	3.8	0.42	0.08	0.50
40	0.5	40.5	98.8	1.2	0.67	0.04	0.71
60	0	60	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00

实施例 3

如实施例 1 那样，显示了两种活性物质 MIT 和 BIT 对微生物司徒茨假单胞菌的协同作用。

实验采用 Müller-Hinton 肉汤作为营养培养基。细胞密度为 10⁶ 细胞/mL。培养时间为 25℃ 下 72h。每一个试样于 120rpm 下在培养摇床中进行培养。

表 V 显示了所测试生物杀害剂组合物的 MIC 值。当单独采用 MIT 时，MIC 值为 12.5ppm，当单独采用 BIT 时，MIC 值为 20ppm。

表 V
在培养 72h 时对司徒茨假单胞菌的 MIC 值

MIT 浓度 (ppm)	BIT 浓度 (ppm)											
	30	25	20	15	10	7.5	5	2.5	1	0.5	0	
30												
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
7.5	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
5	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
2.5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
1	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
0.5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

同时采用 MIT 和 BIT 产生协同作用。表 VI 显示了协同指数的计算。据此，对司徒茨假单胞菌而言，最低协同指数 (0.65) 出现在 50wt% MIT 与 50 wt% 的 BIT 的混合物中。

表 VI
在培养 72h 时对司徒茨假单胞菌的协同指数计算

MIC		总浓度 BIT+MIT Q _a +Q _b (ppm)	浓度		Q _a /Q _A	Q _b /Q _B	协同 指数 Q _a /Q _A + Q _b /Q _B
BIT 浓度 Q _a (ppm)	MIT 浓度 Q _b (ppm)		BIT (wt%)	MIT (wt%)			
0	12.5	12.5	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00
0.5	10	10.5	4.8	95.2	0.03	0.80	0.83
5	5	10	50.0	50.0	0.25	0.40	0.65
10	2.5	12.5	80.0	20.0	0.50	0.20	0.70
15	1	16	93.8	6.3	0.75	0.08	0.83
20	0	20	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00

实施例 4

如实施例 1 那样，显示了两种活性物质 MIT 和 BIT 对微生物肺炎克雷伯氏菌的协同作用。

实验采用 Müller-Hinton 肉汤作为营养培养基。细胞密度为 10^6 细胞/mL。培养时间为 25℃ 下 72h。每一个试样于 120rpm 下在培养摇床中进行培养。

表 VII 显示了测试的生物杀害剂组合物的 MIC 值。当单独采用 MIT 时，MIC 值为 20ppm，当单独采用 BIT 时，MIC 值为 25ppm。

表 VII
在培养 72h 时对肺炎克雷伯氏菌的 MIC 值

MIT 浓度 (ppm)	BIT 浓度 (ppm)											
	35	30	25	20	15	10	7.5	5	2.5	1	0	
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	
12.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	
10	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	
7.5	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	
5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
2.5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
1	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
0	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	

同时采用 MIT 和 BIT 产生协同作用。表 VIII 显示了协同指数的计算。据此，对肺炎克雷伯氏菌而言，最低协同指数(0.68)出现在 50wt% MIT 与 50 wt% 的 BIT 的混合物中。

表 VIII
在培养 72h 时对肺炎克雷伯氏菌的协同指数计算

MIC		总浓度	浓度		Q_a/Q_A	Q_b/Q_B	协同指数
BIT 浓度 Q_a (ppm)	MIT 浓度 Q_b (ppm)	BIT+MIT Q_a+Q_b (ppm)	BIT (wt%)	MIT (wt%)			$Q_a/Q_A + Q_b/Q_B$
0	20	20	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00
2.5	12.5	15	16.7	83.3	0.10	0.63	0.73
5	10	15	33.3	66.7	0.20	0.50	0.70
7.5	7.5	15	50.0	50.0	0.30	0.38	0.68
15	5	20	75.0	25.0	0.60	0.25	0.85
25	0	25	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00

实施例 5

如实施例 1 那样，显示了两种活性物质 MIT 和 BIT 对微生物铜绿假单胞菌的协同作用。

实验采用 Müller-Hinton 肉汤作为营养培养基。细胞密度为 10^6 细胞/mL。培养时间为 25℃ 下 48h。每一个试样于 120rpm 下在培养摇床中进行培养。

表 IX 显示了所测试的生物杀害剂组合物的 MIC 值。当单独采用 MIT 时，MIC 值为 30ppm，当单独采用 BIT 时，MIC 值为 150ppm。

表 IX
在培养 48h 时对铜绿假单胞菌的 MIC 值

MIT 浓度 (ppm)	BIT 浓度 (ppm)										
	200	175	150	125	100	75	50	25	10	5	0
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
10	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
2.5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
1	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
0	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+

同时采用 MIT 和 BIT 产生协同作用。表 X 显示了协同指数的计算。据此，对铜绿假单胞菌而言，最低协同指数 (0.67) 出现在 16.7wt% MIT 与 83.3wt% 的 BIT 的混合物中。

表 X
在培养 48h 时对铜绿假单胞菌的协同指数计算

MIC		总浓度	浓度		Q_a/Q_A	Q_b/Q_B	协同指数
BIT 浓度	MIT 浓度	BIT+MIT	BIT	MIT			$Q_a/Q_A +$
Q_a (ppm)	Q_b (ppm)	Q_a+Q_b (ppm)	(wt%)	(wt%)			Q_b/Q_B
0	30	30	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00
10	20	30	33.3	66.7	0.07	0.67	0.73
50	10	60	83.3	16.7	0.33	0.33	0.67
100	5	105	95.2	4.8	0.67	0.17	0.83
125	2.5	127.5	98.0	2.0	0.83	0.08	0.92
150	0	150	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00

实施例 6

制备了具有下述组分的生物杀害剂组合物：

<u>组分</u>	<u>含量 wt%</u>
2-甲基异噻唑啉-3-酮 (98wt%)	5.1
1,2-苯并异噻唑啉-3-酮 (为 74.6wt%的 BIT 与 25.4wt%水的混合物； Thor Chemie GmbH 的商品“Acticide [®] BIT”)	6.7
聚乙二醇(平均分子量 400g/mol)	<u>88.2</u>
	100.0

该即时使用的生物杀害剂组合物制剂为澄清的溶液，其可分布于聚乙二醇中。该溶液适于在油漆、聚合物分散液、灰泥体系和冷却润滑剂中使用，用于防止诸如细菌、丝状真菌和酵母的侵蚀。

实施例 7

制备了具有下述组分的生物杀害剂组合物：

<u>组分</u>	<u>含量 wt%</u>
-----------	---------------

2-甲基异噻唑啉-3-酮(MIT的20wt%水溶液)	25
1,2-苯并异噻唑啉-3-酮(BIT的20wt%水溶液; Thor Chemie GmbH的商品“Acticide® BW 20”)	25
基于黄原胶的增稠剂 (Rhone-Poulenc公司的商品“Rhodopol 50 MD”)	0.4
消泡剂 (Drew Ameroid公司的商品“Drewplus T 4202”)	0.1
水	<u>49.5</u>
	100.0

在该即时使用的生物杀害剂组合物制剂中，BIT以微细悬浮形式存在。该制剂适用于上述说明书中给出的应用。

实施例 8

制备了具有下述组分的生物杀害剂组合物：

<u>组分</u>	<u>含量 wt%</u>
1,2-苯并异噻唑啉-3-酮(为74.6wt%的BIT与 25.4wt%水的混合物)	3.35
水	92.8
50wt%的氢氧化钠水溶液	1.3
2-甲基异噻唑啉-3-酮(98wt%)	<u>2.55</u>
	100.0

另加水至BIT/水混合物(重量比74.6/25.4)中，然后，通过加入氢氧化钠溶液将混合物转化成一种溶液，这种溶液的形成归因于相应钠盐的形成。最后，加入MIT。该即时使用的制剂为澄清的溶液，其pH值约为8.2。

该即时使用的生物杀害剂组合物配方适用于上述说明书中给出的应用。

实施例 9

本发明的生物杀害剂组合物被掺入适用于涂敷建筑表面的涂料组合物 A 中。这种涂料组合物为基于水性聚合物分散液的灰泥，可购自 Steinwerke Kupferdreh GmbH 公司，各为“Granol KR 3.0”。加入本发明的生物杀害剂组合物可保护在使用前即在其贮藏过程中于包装筒内的涂料组合物。

表 XI 所示的生物杀害剂分别加至 50g 的涂料组合物 A 中。生物杀害剂的起始量是相对于涂料组合物 A 的量。在 MIT/BIT 混合物中，两种生物杀害剂的重量比为 1:1。

除不加生物杀害剂的空白试验之外，向每一种涂料组合物 A 的试样中加入包含下述细菌菌株的标准细菌接种物：

腐败希瓦氏菌
粪产碱杆菌
液化沙雷氏菌
克雷伯氏菌属细菌
彭氏变形菌/普通变形菌
雷氏普罗威登斯菌
荧光假单胞菌
铜绿假单胞菌
司徒茨假单胞菌
大肠杆菌
假白喉棒状杆菌
产黄纤维单胞菌
棒状杆菌属细菌

接种物的细胞密度为 10^{10} 至 3×10^{10} 细胞/mL，试样的细胞密度为 2×10^8 至 6×10^8 细胞/g。试样在 30℃ 下保温 7 天。然后，在营养琼脂板上产生每种试样的划线，并在 30℃ 下保温 48h，此后，对细菌生长

进行评价。采用下述评价等级：

0 = 无生长

1 = 微量生长，10 个菌落以下

2 = 轻微生长，100 个菌落以下

3 = 中等生长，300 个菌落以下

4 = 均匀生长，单个菌落仍可识别

5 = 强劲生长，菌落数太多不能计数，但未覆盖整个表面

6 = 广泛生长，几乎无单独的菌落，长满整个条纹表面

当细菌生长评价为低于 6 时，将上述类型的第二个细菌接种物加至相应的初始 50g 试样中，再将其于 30℃ 下保温 7 天。然后，再在营养琼脂板上进行划线，在 30℃ 下保温 48h 后再对细菌生长进行评价。

当对试样的划线细菌生长评价为 6 时，这种试样的实验终止。只要试样未达到该值，就按照上述方式再加入细菌接种物并将试样通过划线进行保温和测试。按需要重复该过程，每个试样最多加入 4 次细菌接种物。

下表 XI 列出了涂料组合物 A 的结果。

表 XI
涂料组合物 A

生物杀害剂 (wt%)	细菌生长 (7 天 + 在第 4 次接种后 48h)
无	(在第 1 次接种后已生长)
BIT 0.005	(在第 1 次接种后已生长)
0.01	(在第 1 次接种后已生长)
0.015	(在第 2 次接种后已生长)
0.02	(在第 2 次接种后已生长)
0.03	(在第 3 次接种后已生长)
MIT 0.005	6

0.01	5
0.015	5
0.02	4
0.03	0
MIT/BIT 0.005	5
0.01	0
0.015	0
0.02	0
0.03	0

从表 XI 可以看出, 未加生物杀害剂的试样在第 1 次接种后细菌生长已很充分。

当单独加入 BIT 时, 在 BIT 浓度为 0.005wt% 时, 于第 1 次接种后已达到细菌充分生长; 在 BIT 浓度为 0.015wt% 时, 于第 2 次接种后达到细菌充分生长; 在 BIT 浓度为 0.03wt% 时, 于第 3 次接种后达到细菌充分生长。

当单独加入 MIT 时, 事实上, 在最小生物杀害剂含量 0.005wt% 时, 仅在第 4 次接种后达到细菌充分生长, 在 MIT 浓度 0.01、0.015 和 0.02wt% 的较高生物杀害剂浓度下也发现了从均匀至强劲的细菌生长。仅在 MIT 0.03wt% 的最高浓度时即使在第 4 次接种后也未观察到细菌生长。

与此相对照, 本发明的 MIT 和 BIT 组合的生物杀害剂组合物则证明是非常有效的。在 4 次接种后, 仅在 MIT/BIT 最低浓度 0.005wt% 时出现明显的细菌生长。在 MIT/BIT 的浓度范围为 0.01-0.03wt% 的较高浓度下, 可完全防止涂料组合物 A 中的细菌生长。

实施例 10

重复实施例 9, 只是采用涂料组合物 B 代替涂料组合物 A。

涂料组合物 B 为基于聚合物分散液的低挥发性灰泥，可购自 Steinwerke Kupferdreh GmbH 公司，各为“Granol KR 3.0 LF”。

下表 XII 列出了使用涂料组合物 B 的结果。

表 XII
涂料组合物 B

生物杀害剂 (wt%)	细菌生长 (7 天 + 在第 4 次接种后 48h)
无	(在第 1 次接种后已生长)
BIT 0.005	(在第 1 次接种后已生长)
0.01	(在第 1 次接种后已生长)
0.015	(在第 2 次接种后已生长)
0.02	(在第 2 次接种后已生长)
0.03	(在第 3 次接种后已生长)
MIT 0.005	4
0.01	1
0.015	1
0.02	0
0.03	0
MIT/BIT 0.005	5
0.01	0
0.015	0
0.02	0
0.03	0

涂料组合物 B 的结果大体与涂料组合物 A 的结果相当。

在涂料组合物 B 的情形下，在第 1 次接种后也已发生细菌的充分生长。

当单独采用 BIT 时，最迟在第 3 次接种后可观察到细菌完全侵蚀。

当单独采用 MIT 时，仅在最高浓度 0.02 和 0.03wt% 时第 4 次接种后完全防止细菌生长。

与此相对照，采用本发明的 MIT/BIT 组合即使在相对低浓度的 0.01wt% 时也能够完全抑制细菌生长。

实施例 11

如实施例 1 那样，显示了两种活性物质 MIT 和 BIT 对微生物黑曲霉的协同作用。

实验采用萨布罗氏 (Sabouraud) 麦芽糖肉汤作为营养培养基。孢子浓度为 10^6 /mL。培养时间为 25℃ 下 96h。每一个试样于 120rpm 下在培养摇床中进行培养。

表 XIII 显示了所测试生物杀害剂组合物的 MIC 值。当单独采用 MIT 时，MIC 值为 750ppm，当单独采用 BIT 时，MIC 值为 100ppm。

表 XIII
在培养 96h 时对黑曲霉的 MIC 值

MIT 浓度 (ppm)	BIT 浓度 (ppm)							
	150	100	75	50	25	10	5	0
750	-	-	-	-	-	-	-	-
500	-	-	-	-	-	-	+	+
250	-	-	-	-	-	+	+	+
100	-	-	-	-	+	+	+	+
75	-	-	-	-	+	+	+	+
50	-	-	-	+	+	+	+	+
25	-	-	-	+	+	+	+	+
10	-	-	+	+	+	+	+	+
0	-	-	+	+	+	+	+	+

同时采用 MIT 和 BIT 产生协同作用。表 XIV 显示了协同指数的计算。据此，对黑曲霉而言，最低协同指数(0.57)出现在 50wt% MIT 与 50wt% BIT 的混合物中。

表 XIV
在培养 48h 时对黑曲霉的协同指数计算

MIC		总浓度 MIT+BIT Q _a +Q _b (ppm)	浓度		Q _a /Q _A	Q _b /Q _B	协同指数 Q _a /Q _A + Q _b /Q _B
MIT 浓度 Q _a (ppm)	BIT 浓度 Q _b (ppm)		MIT (wt%)	BIT (wt%)			
0	100	100	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00
25	75	100	25.0	75.0	0.03	0.75	0.78
50	75	125	40.0	60.0	0.07	0.75	0.82
50	50	100	50.0	50.0	0.07	0.50	0.57
75	75	150	50.0	50.0	0.10	0.75	0.85
75	50	125	60.0	40.0	0.10	0.50	0.60
100	50	150	66.7	33.3	0.13	0.50	0.63
250	50	300	83.3	16.7	0.33	0.50	0.83
250	25	275	90.9	9.1	0.33	0.25	0.58
500	25	525	95.2	4.8	0.67	0.25	0.92
500	10	510	98.0	2.0	0.67	0.10	0.77
750	0	750	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00

实施例 12

如实施例 1 那样，显示了两种活性物质 MIT 和 BIT 对微生物绳状青霉的协同作用。

实验采用萨布罗氏麦芽糖肉汤作为营养培养基。孢子浓度为

10^6 /mL。培养时间为 25℃ 下 96h。每一个试样于 120rpm 下在培养摇床中进行培养。

表 XV 显示了所实验的生物杀害剂组合物的 MIC 值。当单独采用 MIT 时，MIC 值为 200ppm，当单独采用 BIT 时，MIC 值为 40ppm。

表 XV
在培养 96h 时对绳状青霉的 MIC 值

MIT 浓度 (ppm)	BIT 浓度 (ppm)							
	75	50	40	30	20	15	10	0
200	-	-	-	-	-	-	-	-
150	-	-	-	-	-	-	-	+
100	-	-	-	-	-	-	-	+
75	-	-	-	-	-	-	+	+
50	-	-	-	-	-	+	+	+
25	-	-	-	-	-	+	+	+
10	-	-	-	-	-	+	+	+
5	-	-	-	+	+	+	+	+
0	-	-	-	+	+	+	+	+

同时采用 MIT 和 BIT 产生协同作用。表 XVI 显示了协同指数的计算。据此，对绳状青霉而言，最低协同指数 (0.55) 出现在 33.3wt% MIT 与 66.6 wt% BIT 的混合物中。

表 XVI

在培养 96h 时对黑曲霉的协同指数计算

MIC		总浓度 MIT+BIT Q _a +Q _b (ppm)	浓度		Q _a /Q _a	Q _b /Q _b	协同指数 Q _a /Q _a + Q _b /Q _b
MIT 浓度 Q _a (ppm)	BIT 浓度 Q _b (ppm)		MIT (wt%)	BIT (wt%)			
0	40	40	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00
10	30	40	25.0	75.0	0.05	0.75	0.80
10	20	30	33.3	66.7	0.05	0.50	0.55
25	30	55	45.5	54.5	0.13	0.75	0.88
25	20	45	55.6	44.4	0.13	0.50	0.63
50	20	70	71.4	28.6	0.25	0.50	0.75
75	20	95	78.9	21.1	0.38	0.50	0.88
75	15	90	83.3	16.7	0.38	0.38	0.75
100	15	115	87.0	13.0	0.50	0.38	0.88
100	10	110	90.9	9.1	0.50	0.25	0.75
200	0	200	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00

实施例 13

如实施例 1 那样, 显示了除 MIT 和 BIT 外还包含 3-碘-2-丙炔基-N-丁基氨基甲酸酯 (IPBC) 的活性物质混合物对微生物黑曲霉的协同作用。

实验采用萨布罗氏麦芽糖肉汤作为营养培养基。孢子浓度为 10^6 /mL。培养时间为 25℃ 下 72h。每一个试样于 120rpm 下在培养摇床中进行培养。

表 XVII 显示了所实验的生物杀害剂组合物的 MIC 值。当单独采用 MIT/BIT 时, MIC 值为 150ppm, 当单独采用 IPBC 时, MIC 值为 2.5ppm。

表 XVII
在培养 72h 时对黑曲霉的 MIC 值

MIT/BIT 浓度 (ppm)	IPCB 浓度 (ppm)										
	5	4.5	4	3.5	3	2.5	2	1.5	1	0.75	0
250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
225	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
175	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
50	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
25	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
10	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
0	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

当采用上述 MIT 和 BIT 的混合物及加入 IPBC 时均产生协同作用。表 XVIII 显示了协同指数的计算。据此，对黑曲霉而言，最低协同指数 (0.80) 出现在 99.0wt% 的 MIT/BIT 与 1.0 wt% IPBC 的混合物中。

表 XVIII
在培养 72h 时对黑曲霉的协同指数计算

MIC		总浓度	浓度		Q _a /Q _A	Q _b /Q _B	协同指数
MIT/BIT 浓度	IPBC 浓度	BIT/MIT+IPBC	MIT/BIT	IPBC			Q _a /Q _A + Q _b /Q _B
Q _a (ppm)	Q _b (ppm)	Q _a +Q _b (ppm)	(wt%)	(wt%)			
150	0	150	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00
75	0.75	75.75	99.0	1.0	0.50	0.30	0.80
75	1	76	98.7	1.3	0.50	0.40	0.90
50	1.5	51.5	97.1	2.9	0.33	0.60	0.93
0	2.5	2.5	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00

实施例 14

如实施例 1 那样,显示了除 MIT 和 BIT 外还包含 IPBC 的活性物质混合物对微生物绳状青霉的协同作用。

实验采用萨布罗氏麦芽糖肉汤作为营养培养基。孢子浓度为 10^6 /mL。培养时间为 25℃ 下 72h。每一个试样于 120rpm 下在培养摇床中进行培养。

表 XIX 显示了所实验的生物杀害剂组合物的 MIC 值。当单独采用 MIT/BIT 时, MIC 值为 20ppm, 当单独采用 IPBC 时, MIC 值为 0.75ppm。

表 XIX
在培养 72h 时对绳状青霉的 MIC 值

MIT/BIT 浓度 (ppm)	IPC B 浓度 (ppm)										
	2	1.75	1.5	1.25	1	0.75	0.5	0.3	0.2	0.1	0
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
12.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
7.5	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

当采用上述 MIT 和 BIT 的混合物及加入 IPBC 时均产生协同作用。

表 XX 显示了协同指数的计算。据此，对绳状青霉而言，最低协同指数 (0.77) 出现在 98.0wt% 的 MIT/BIT 与 2.0wt% IPBC 的混合物中。

表 XX

在培养 72h 时对绳状青霉的协同指数计算

MIC		总浓度 MIT/BIT +IPBC Q _a +Q _b (ppm)	浓度		Q _a /Q _A	Q _b /Q _B	协同指数 Q _a /Q _A + Q _b /Q _B
MIT/BIT 浓度 Q _a (ppm)	IPBC 浓度 Q _b (ppm)		MIT/ BIT (wt%)	IPBC (wt%)			
0	0.75	0.75	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00
10	0.3	10.3	97.1	2.9	0.50	0.40	0.90
10	0.2	10.2	98.0	2.0	0.50	0.27	0.77
12.5	0.2	12.7	98.4	1.6	0.63	0.27	0.89
15	0.1	15.1	99.3	0.7	0.75	0.13	0.88
20	0	20	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00

实施例 15

如实施例 1 那样，显示了除 MIT 和 BIT 外还包含 2-正辛基异噻唑啉-3-酮 (OIT) 的活性物质混合物对微生物黑曲霉的协同作用。

实验采用萨布罗氏麦芽糖肉汤作为营养培养基。孢子浓度为 10^6 /mL。培养时间为 25℃ 下 72h。每一个试样于 120rpm 下在培养摇床中进行培养。

表 XVII 显示了实验的生物杀害剂组合物的 MIC 值。当单独采用 MIT/BIT 时，MIC 值为 100ppm，当单独采用 OIT 时，MIC 值为 5ppm。

表 XXI
在培养 72h 时对黑曲霉的 MIC 值

MIT/BIT 浓度 (ppm)	OIT 浓度 (ppm)							
	10	7.5	5	2.5	1	0.5	0.25	0
200	-	-	-	-	-	-	-	-
150	-	-	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-	-	-
80	-	-	-	-	-	-	-	+
60	-	-	-	-	-	+	+	+
40	-	-	-	-	+	+	+	+
30	-	-	-	-	+	+	+	+
20	-	-	-	+	+	+	+	+
10	-	-	-	+	+	+	+	+
0	-	-	-	+	+	+	+	+

当采用上述 MIT 和 BIT 的混合物及加入 OIT 时均产生协同作用。表 XXII 显示了协同指数的计算。据此，对黑曲霉而言，最低协同指数 (0.80) 出现在 92.3wt% 的 MIT/BIT 与 7.7 wt% OIT 的混合物中，以及在 98.4wt% 的 MIT/BIT 与 1.6 wt% OIT 的混合物中。

表 XXII
在培养 72h 时对黑曲霉的协同指数计算

MIC		总浓度	浓度		Q_a/Q_A	Q_b/Q_B	协同指数 $\frac{Q_a/Q_A + Q_b/Q_B}{2}$
MIT/BIT 浓度 Q_a (ppm)	OIT 浓度 Q_b (ppm)	MIT/BIT+OIT Q_a+Q_b (ppm)	MIT/BIT (wt%)	OIT (wt%)			
0	5	5	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00
30	2.5	32.5	92.3	7.7	0.30	0.50	0.80
40	2.5	42.5	94.1	5.9	0.40	0.50	0.90
60	1	61	98.4	1.6	0.60	0.20	0.80
80	0.5	80.5	99.4	0.6	0.80	0.10	0.90
100	0	100	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00

实施例 16

如实施例 1 那样，显示了除 MIT 和 BIT 外还包含 OIT 的活性物质混合物对微生物绳状青霉的协同作用。

实验采用萨布罗氏麦芽糖肉汤作为营养培养基。孢子浓度为 10^6 /mL。培养时间为 25℃ 下 72h。每一个试样于 120rpm 下在培养摇床中进行培养。

表 XXIII 显示了所实验的生物杀害剂组合物的 MIC 值。当单独采用 MIT/BIT 时，MIC 值为 50ppm，当单独采用 OIT 时，MIC 值为 5ppm。

表 XXIII

在培养 72h 时对绳状青霉的 MIC 值

MIT/BIT 浓度 (ppm)	OIT 浓度 (ppm)					
	5	2.5	1	0.5	0.25	0
75	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	+
15	-	-	-	+	+	+
10	-	-	+	+	+	+
5	-	-	+	+	+	+
0	-	+	+	+	+	+

当采用上述 MIT 和 BIT 的混合物及加入 OIT 时均产生协同作用。表 XXIV 显示了协同指数的计算。据此，对绳状青霉而言，最低协同指数 (0.50) 出现在 93.8wt% 的 MIT/BIT 与 6.2wt%OIT 的混合物中。

表 XXIV

在培养 72h 时对绳状青霉的协同指数计算

MIC		总浓度 MIT/BIT+OIT Q _a +Q _b (ppm)	浓度		Q _a /Q _A	Q _b /Q _B	协同指数 Q _a /Q _A + Q _b /Q _B
MIT/BIT 浓度 Q _a (ppm)	OIT 浓度 Q _b (ppm)		MIT /BIT (wt%)	OIT (wt%)			
0	5	5	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00
5	2.5	7.5	66.7	33.3	0.10	0.50	0.60
10	2.5	12.5	80.0	20.0	0.20	0.50	0.70
15	2.5	17.5	85.7	14.3	0.30	0.50	0.80
15	1	16	93.8	6.2	0.30	0.20	0.50
25	1	26	96.2	3.8	0.50	0.20	0.70
25	0.5	25.5	98.0	2.0	0.50	0.10	0.60
25	0.25	25.25	99.0	1.0	0.50	0.05	0.55
50	0	50	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00

实施例 17

如实施例 1 那样，显示了除 MIT 和 BIT 外还包含 OIT 的活性物质混合物对微生物酿酒酵母的协同作用。

实验采用萨布罗氏麦芽糖肉汤作为营养培养基。细胞密度为 10^6 细胞/mL。培养时间为 25℃ 下 72h。每一个试样于 120rpm 下在培养摇床中进行培养。

表 XXV 显示了所实验的生物杀害剂组合物的 MIC 值。当单独采用 MIT/BIT 时，MIC 值为 50ppm，当单独采用 OIT 时，MIC 值为 5ppm。

表 XXV
在培养 72h 时对酿酒酵母的 MIC 值

MIT/BIT 浓度 (ppm)	OIT 浓度 (ppm)										
	20	15	12.5	10	7.5	5	2.5	1	0.5	0.25	0
100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
20	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
10	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
5	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
0	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

当采用上述 MIT 和 BIT 的混合物及加入 OIT 时均产生协同作用。表 XXVI 显示产生了协同指数的计算。据此，对绳状青霉而言，最低协同指数 (0.80) 出现在 99.2wt% 的 MIT/BIT 与 0.8wt%OIT 的混合物中。

表 XXVI
在培养 72h 时对酿酒酵母的协同指数计算

MIC		总浓度	浓度		Q_a/Q_A	Q_b/Q_B	协同指数
MIT/BIT 浓度	OIT 浓度	MIT/BIT+OIT	MIT/BIT	OIT			$Q_a/Q_A + Q_b/Q_B$
Q_a (ppm)	Q_b (ppm)	Q_a+Q_b (ppm)	(wt%)	(wt%)			
0	5	5	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00
30	1	31	96.8	3.2	0.75	0.20	0.95
30	0.5	30.5	98.4	1.6	0.75	0.10	0.85
30	0.25	30.25	99.2	0.8	0.75	0.05	0.80
40	0	40	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00

实施例 18

如实施例 1 那样，显示了除 MIT 和 BIT 外还包含 OIT 的活性物质混合物对微生物铜绿假单胞菌的协同作用。

实验采用 Müller-Hinton 肉汤作为营养培养基。细胞密度为 10^6 细胞/mL。培养时间为 25℃ 下 144h。每一个试样于 120rpm 下在培养摇床中进行培养。

表 XXVII 显示了所实验的生物杀害剂组合物的 MIC 值。当单独采用 MIT/BIT 时，MIC 值为 30ppm，当单独采用 OIT 时，MIC 值超过 800ppm。

表 XXVII
在培养 144h 时对铜绿假单胞菌的 MIC 值

MIT/BIT 浓度 (ppm)	OIT 浓度 (ppm)														
	800	700	600	500	400	300	200	100	75	50	25	10	7.5	5	0
75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
15	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

当采用上述 MIT 和 BIT 的混合物及加入 OIT 时均产生协同作用。表 XXVIII 显示产生了协同指数的计算。据此，对微生物铜绿假单胞菌而言，最低协同指数(0.53)出现在 44.4wt% 的 MIT/BIT 与 55.6wt%OIT 的混合物中。

表 XXVIII

在培养 144h 时对微生物铜绿假单胞菌的协同指数计算

MIC		总浓度 MIT/BIT+OIT Q_a+Q_b (ppm)	浓度		Q_a/Q_a	Q_b/Q_b	协同指数 Q_a/Q_a+ Q_b/Q_b
MIT/BIT 浓度 Q_a (ppm)	OIT 浓度 Q_b (ppm)		MIT /BIT (wt%)	OIT (wt%)			
0	900	900	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00
5	700	705	0.7	99.3	0.13	0.78	0.90
10	600	610	1.6	98.4	0.25	0.67	0.92
10	500	510	2.0	98.0	0.25	0.56	0.81
10	400	410	2.4	97.6	0.25	0.44	0.69
15	300	315	4.8	95.2	0.38	0.33	0.71
15	200	215	7.0	93.0	0.38	0.22	0.60
20	100	120	16.7	83.3	0.50	0.11	0.61
20	75	95	21.1	78.9	0.50	0.08	0.58
20	50	70	28.6	71.4	0.50	0.06	0.56
20	25	45	44.4	55.6	0.50	0.03	0.53
40	0	40	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00

实施例 19

如实施例 1 那样，显示了除 MIT 和 BIT 外还包含甲醛(HCHO)的活性物质混合物对微生物大肠杆菌的协同作用。

实验采用 Müller-Hinton 肉汤作为营养培养基。细胞密度为 10^6 细胞/mL。培养时间为 25℃ 下 48h。每一个试样于 120rpm 下在培养摇

床中进行培养。

表 XXIX 显示了所实验的生物杀害剂组合物的 MIC 值。当单独采用 MIT/BIT 时，MIC 值为 25ppm，当单独采用 HCHO 时，MIC 值为 300ppm。

表 XXIX
在培养 48h 时对大肠杆菌的 MIC 值

MIT/BIT 浓度 n (ppm)	HClO 浓度 (ppm)											
	1000	900	800	700	600	500	400	300	200	100	50	0
45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
12.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
7.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
5	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

当采用上述 MIT 和 BIT 的混合物及加入 HCHO 时均产生协同作用。表 XXX 显示产生了协同指数的计算。据此，对微生物大肠杆菌而言，最低协同指数 (0.77) 出现在 23.1wt% 的 MIT/BIT 与 76.9wt% HCHO 的混合物中。

表 XXX

在培养 48h 时对大肠杆菌的协同指数计算

MIC		总浓度	浓度		Q_a/Q_b	Q_b/Q_b	协同指数
MIT/BIT 浓度	HCHO	MIT/BIT+HCHO	MIT/BIT	HCHO			Q_a/Q_a+
Q_a (ppm)	浓度 Q_b (ppm)	Q_a+Q_b (ppm)	(wt%)	(wt%)			Q_b/Q_b
0	300	300	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00
7.5	200	207.5	3.6	96.4	0.30	0.67	0.97
12.5	100	112.5	11.1	88.9	0.50	0.33	0.83
15	50	65	23.1	76.9	0.60	0.17	0.77
25	0	25	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00

实施例 20

如实施例 1 那样，显示了除 MIT 和 BIT 外还包含 HCHO 对微生物铜绿假单胞菌的协同作用。

实验采用 Müller-Hinton 肉汤作为营养培养基。细胞密度为 10^6 细胞/mL。培养时间为 25°C 下 48h。每一个试样于 120rpm 下在培养摇床中进行培养。

表 XXXI 显示了实验的生物杀害剂组合物的 MIC 值。当单独采用 MIT/BIT 时，MIC 值为 30ppm，当单独采用 HCHO 时，MIC 值为 300ppm。

表 XXXI
在培养 48h 时对铜绿假单胞菌的 MIC 值

MIT/BIT 浓度 (ppm)	HCHO 浓度(ppm)											
	1000	900	800	700	600	500	400	300	200	100	50	0
45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
12.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
7.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
5	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

当采用上述 MIT 和 BIT 的混合物及加入 HCHO 时均产生协同作用。表 XXXII 显示产生了协同指数的计算。据此，对微生物铜绿假单胞菌而言，最低协同指数 (0.75) 出现在 11.1wt% 的 MIT/BIT 与 88.9wt% HCHO 的混合物中。

表 XXXII

在培养 48h 时对铜绿假单胞菌的协同指数计算

MIC		总浓度	浓度		Q_a/Q_A	Q_b/Q_B	协同指数
MIT/BIT 浓度	HCHO 浓度	MIT/BIT+HCHO	MIT/BIT	HCHO			$Q_a/Q_A +$
Q_a (ppm)	Q_b (ppm)	Q_a+Q_b (ppm)	(wt%)	(wt%)			Q_b/Q_B
0	300	300	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00
7.5	200	207.5	3.6	96.4	0.25	0.67	0.92
12.5	100	112.5	11.1	88.9	0.42	0.33	0.75
15	100	115	13.0	87.0	0.50	0.33	0.83
20	50	70	28.6	71.4	0.67	0.17	0.83
30	0	30	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00

实施例 21

如实施例 1 那样，显示了除 MIT 和 BIT 外还包含 2-溴-2-硝基丙烷-1,3-二醇 (BNPD) 的活性物质混合物对微生物绳状青霉的协同作用。

实验采用萨布罗氏麦芽糖肉汤作为营养培养基。孢子浓度为 $10^6/\text{mL}$ 。培养时间为 25°C 下 72h。每一个试样于 120rpm 下在培养摇床中进行培养。

表 XXXIII 显示了所实验的生物杀害剂组合物的 MIC 值。当单独采用 MIT/BIT 时，MIC 值为 25ppm，当单独采用 BNPD 时，MIC 值为 600ppm。

表 XXXIII
在培养 72h 时对绳状青霉的 MIC 值

MIT/BIT 浓度 (ppm)	BNPD 浓度 (ppm)										
	1000	800	600	400	300	200	150	100	50	25	0
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
12.5	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
10	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
7.5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
0	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+

当采用上述 MIT 和 BIT 的混合物及加入 BNPD 时均产生协同作用。表 XXXIV 显示产生了协同指数的计算。据此,对微生物绳状青霉而言,最低协同指数(0.67)出现在 11.1wt% 的 MIT/BIT 与 88.9wt%BNPD 的混合物中。

表 XXXIV

在培养 72h 时对绳状青霉的协同指数计算

MIC		总浓度	浓度		Q_a/Q_A	Q_b/Q_B	协同指数
MIT/BIT 浓度	BNPD 浓度	MIT/BIT+BNPD	MIT/BIT	BNPD			$Q_a/Q_A +$
Q_a (ppm)	Q_b (ppm)	Q_a+Q_b (ppm)	(wt%)	(wt%)			Q_b/Q_B
25	0	25	100.0	0.0	1.00	0.00	1.00
20	25	45	44.4	55.6	0.80	0.04	0.84
20	50	70	28.6	71.4	0.80	0.08	0.88
15	50	65	23.1	76.9	0.60	0.08	0.68
15	100	115	13.0	87.0	0.60	0.17	0.77
12.5	100	112.5	11.1	88.9	0.50	0.17	0.67
12.5	150	162.5	7.7	92.3	0.50	0.25	0.75
12.5	200	212.5	5.9	94.1	0.50	0.33	0.83
10	200	210	4.8	95.2	0.40	0.33	0.73
7.5	300	307.5	2.4	97.6	0.30	0.50	0.80
7.5	400	407.5	1.8	98.2	0.30	0.67	0.97
0	600	600	0.0	100.0	0.00	1.00	1.00