



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115812700 A

(43) 申请公布日 2023. 03. 21

(21) 申请号 202111679830.8

(22) 申请日 2021.12.31

(71) 申请人 中山大学

地址 510275 广东省广州市新港西路135号

(72) 发明人 纪红兵 杨祖金 韦彩凤

(74) 专利代理机构 广州市科丰知识产权代理事

务所(普通合伙) 44467

专利代理师 王海曼

(51) Int. Cl.

A01N 25/10 (2006.01)

A01N 43/90 (2006.01)

A01N 51/00 (2006.01)

A01N 43/56 (2006.01)

C08B 37/08 (2006.01)

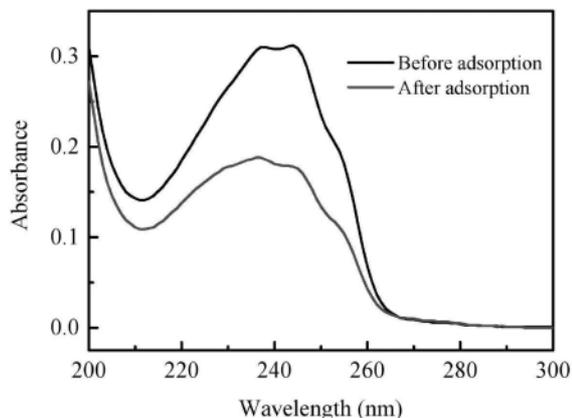
权利要求书1页 说明书7页 附图9页

(54) 发明名称

一种纳米农药及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种纳米农药及其制备方法；该方法首先制备荧光素标记的生物多糖作为载体；再将农药原药溶解在溶剂中，在pH为2~12、20~80℃，加入步骤11) 制备荧光素标记的生物多糖振荡吸附10~72h；通过氢键、静电相互作用等作用力吸附农药原药，从而形成纳米农药；该方法合成工艺简单、条件和、成本低、绿色环保、延长药物持效期，降低药物毒性优点。



1. 一种纳米农药的制备方法,其特征在于,依次包括通过下述方法:

1) 制备荧光素标记的生物多糖;

2) 将农药原药溶解在溶剂中,在pH为2~12、20~80℃,加入步骤1)制备荧光素标记的生物多糖振荡吸附10~72h;

所述的荧光素标记的生物多糖与农药原药的固液比为10g:1mL~1g:10mL。

2. 根据权利要求1所述的纳米农药的制备方法,其特征在于,所述的荧光素标记的生物多糖为异硫氰酸荧光素标记的壳聚糖或者荧光素钠标记的壳聚糖。

3. 根据权利要求2所述的纳米农药的制备方法,其特征在于,所述的荧光素钠标记的壳聚糖制备方法为:

1) 将1.5-2.5g壳聚糖分散在100mLDMF中,得到白色颗粒分散液;

2) 再向步骤1)中加入100mL分别含0.8-1.2gN,N'-二环己基碳二亚胺和1.4-2.2g荧光素钠,得到橙色悬浊液;

3) 混合物在室温下搅拌25-35min,搅拌结束后静置,离心收集下层沉淀,用大量水洗涤,最后在环境条件下干燥产物荧光素钠标记的壳聚糖。

4. 根据权利要求2所述的纳米农药的制备方法,其特征在于,所述的异硫氰酸荧光素标记的壳聚糖的制备方法为:

1) 在15-25mL含400-600mg壳聚糖的0.1mol/L的乙酸水溶液中,加入5-15mL无水甲醇,搅拌溶解;

2) 加入4-6mL,1.5-2.5mg/mL的异硫氰酸荧光素甲醇溶液,室温黑暗下搅拌反应2-6h,使壳聚糖上的氨基与FITC上的异硫氰酸基反应,生成硫脲键;

3) 加入50-150mL,0.15-0.25mol/L的NaOH溶液,沉淀标记产物,混合液离心12-18min,所得沉淀用去离子水溶液洗涤若干次,直至上清液中无荧光检出,收集沉淀物得到异硫氰酸荧光素标记的壳聚糖。

5. 根据权利要求1所述的纳米农药的制备方法,其特征在于,步骤1)所述的溶剂为水、乙醇、甲醇、二氯甲烷、乙腈、乙酸乙酯的其中之一。

6. 一种纳米农药,其特征在于,由权利要求1至5任一所述的方法制备得到的。

## 一种纳米农药及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种形成纳米农药的方法,具体的说涉及一种利用荧光素标记的生物多糖用于形成纳米农药的方法。

### 背景技术

[0002] 农药种类繁多,但多数农药原药为难溶性固体,具有较差的分散性,且在施用过程中容易出现粉尘飘移等问题,影响药效的充分发挥,通常情况下难以直接应用。20世纪50年代,农药企业认识到对农药进行剂型加工能够明显提高有效成分的利用率、降低毒性和提高安全性,因此在农药有效成分中添加各类助剂制成不同形式的剂型,以便在不同的使用情况下充分发挥药效。目前已使用的剂型有,粉剂、水悬浮剂、水乳剂、水分散粒剂、缓释剂等。农药的过量和低效使用导致了一系列问题,包括食品安全、生态环境和人体健康造成等。因此在确保农药对靶标生物防治效果的前提下,提高农药的有效利用率,降低使用量迫在眉睫。而常规农药剂型存在使用效率低下的关键问题,因此需要对目前农药剂型和使用过程中存在的问题,利用前沿科技手段,大力发展先进的剂型加工技艺,提高农药的有效利用率,降低农药在非靶标生物和环境中的转移量及残留污染。

[0003] 纳米药物具有粒径小、比表面积大、附着力好、药效发挥快等优点,将纳米技术用于农药剂型的开发中,可以提高制剂的质量和有效利用率,实现农药有效成分的增效和减量,进而减弱其对生态环境所造成的污染,为我国的粮食和生态环境安全提供保障。目前为止,国际上对纳米农药并没有形成统一的定义。Kah等将以“纳米”作为前缀,或具有小尺寸效应,或粒径小于1000nm的农药制剂定义为纳米农药。纳米农药制剂的种类繁多。纳米技术在农业上的研究起步较晚,且研究较弱,因此仍存在着很多问题制约着纳米农药的发展,如:报道的大部分纳米农药都只是处于实验室研究阶段,制备方法复杂多样,产品数量有限且难以保证工艺和产品的稳定性;纳米粒子之间由于小尺寸与比表面积效应,容易自发团聚,导致稳定性降低,需要选择合适的助剂;农药在施用过程中,需要喷洒在靶标生物表面,纳米级农药由于粒径小,比表面积大可以增加生物利用度,但同时也会造成其更容易被光氧分解、水解等问题;纳米TiO<sub>2</sub>复合农药在杀死有害生物的同时,也会抑制对作物生长有益的菌类等。

[0004] 因此,开发一种合成工艺简单、条件温和、成本低、绿色环保、延长药物持效期,降低药物毒性的农药形具有重要的现实意义和应用前景。

### 发明内容

[0005] 针对上述不足,本发明提供的第一个技术方案在氢键、 $\pi$ - $\pi$ 等作用力下通过吸附作用将农药原药负载在荧光素标记的生物多糖纳米材料上,从而形成纳米农药。

[0006] 本发明提供的第二个技术方案是上述纳米农药的制备方法。

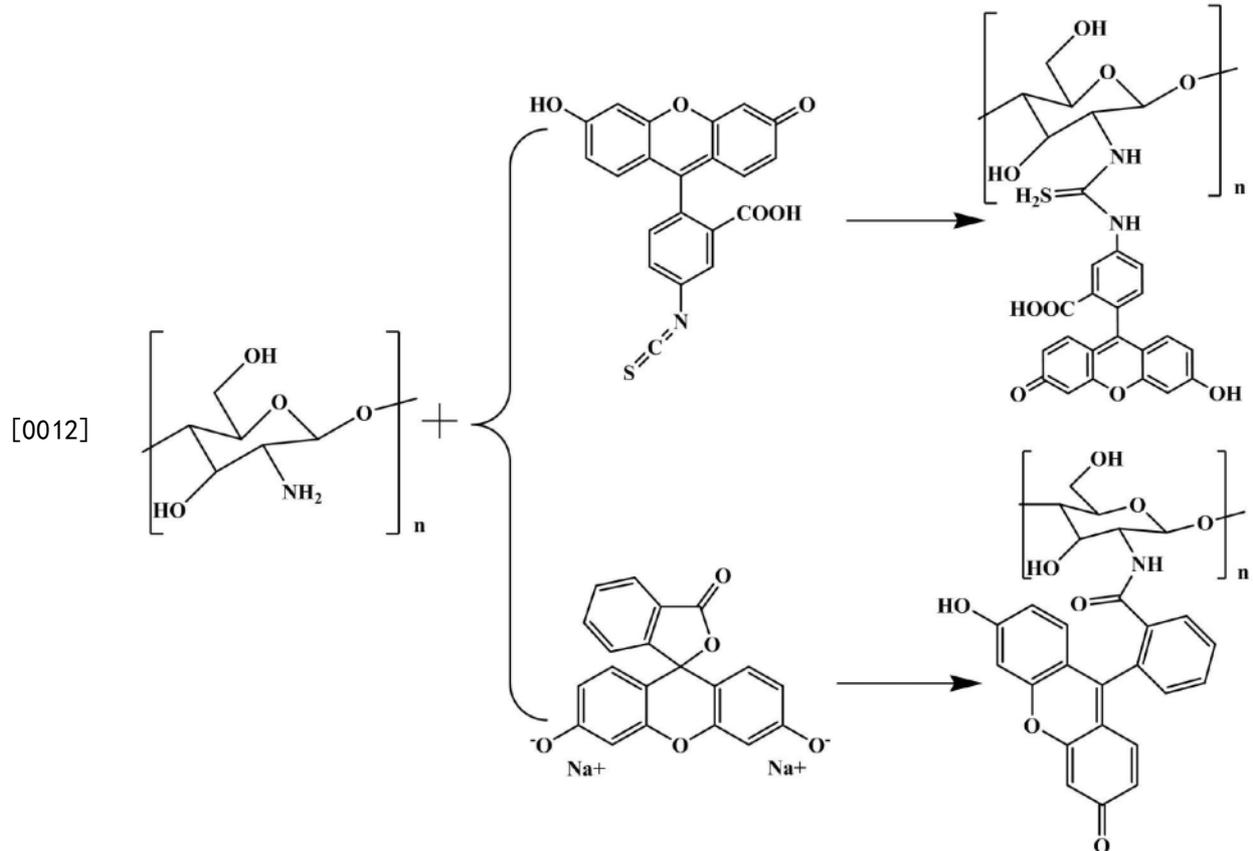
[0007] 一种纳米农药的制备方法,依次包括通过下述方法:

[0008] 1) 制备荧光素标记的生物多糖;

[0009] 2) 将农药原药溶解在溶剂中,在pH为2~12、20~80℃,加入步骤1) 制备荧光素标记的生物多糖振荡吸附10~72h;

[0010] 所述的荧光素标记的生物多糖与农药原药的固液比为10g:1mL~1g:10mL;

[0011] 进一步的,上述的纳米农药的制备方法,所述的荧光素标记的生物多糖为异硫氰酸荧光素标记的壳聚糖或者荧光素钠标记的壳聚糖。



[0013] 进一步的,上述的纳米农药的制备方法,所述的荧光素钠标记的壳聚糖制备方法为:

[0014] 1) 将1.5-2.5g壳聚糖分散在100mL DMF中,得到白色颗粒分散液;

[0015] 2) 再向步骤1) 中加入100mL分别含0.8-1.2g N,N'-二环己基碳二亚胺和1.4-2.2g 荧光素钠,得到橙色悬浊液;

[0016] 3) 混合物在室温下搅拌25-35min,搅拌结束后静置,离心收集下层沉淀,用大量水洗涤,最后在环境条件下干燥产物荧光素钠标记的壳聚糖。

[0017] 进一步的,上述的纳米农药的制备方法,所述的异硫氰酸荧光素标记的壳聚糖的制备方法为:

[0018] 1) 在15-25mL含400-600mg壳聚糖的0.1mol/L的乙酸水溶液中,加入5-15mL无水甲醇,搅拌溶解;

[0019] 2) 加入4-6mL,1.5-2.5mg/mL的异硫氰酸荧光素甲醇溶液,室温黑暗下搅拌反应2-6h,使壳聚糖上的氨基与FITC上的异硫氰酸基反应,生成硫脲键;

[0020] 3) 加入50-150mL,0.15-0.25mol/L的NaOH溶液,沉淀标记产物,混合液离心12-18min,所得沉淀用去离子水溶液洗涤若干次,直至上清液中无荧光检出,收集沉淀物得到异硫氰酸荧光素标记的壳聚糖。

[0021] 进一步的,上述的纳米农药的制备方法,步骤1)所述的溶剂为水、乙醇、甲醇、二氯甲烷、乙腈、乙酸乙酯的其中之一。

[0022] 与现有技术相比,本发明具有如下有益效果:

[0023] 1、本发明将农药原药负载在纳米材料上的方式为吸附作用,条件温和、工艺简单、易操作、负载量大。

[0024] 2、本发明采用生物多糖壳聚糖为原料,资源丰富、廉价易得、环境友好,具有很好的应用前景。

[0025] 3、本发明以生物多糖壳聚糖为原料,通过简单步骤合成了两种纳米材料FITC@Ch和FS@Ch。两种材料在上述溶剂(水、乙醇、甲醇、二氯甲烷、乙腈、乙酸乙酯)中均不溶解,而农药原药溶解于溶剂(水、乙醇、甲醇、二氯甲烷、乙腈、乙酸乙酯)中。因此,在氢键、 $\pi$ - $\pi$ 等作用下通过简单的吸附作用将农药原药负载在纳米材料上,从而形成纳米农药,纳米制剂由于尺寸小、比表面积大、附着力强、药效高等优点,可以提高农药的有效性,达到减量、增效的要求。

### 附图说明

[0026] 图1是实施例3中FITC@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图;

[0027] 图2是实施例4中FITC@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图;

[0028] 图3是实施例5中FITC@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图;

[0029] 图4是实施例6中FITC@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图;

[0030] 图5是实施例7中FITC@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图;

[0031] 图6是实施例8中FITC@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图;

[0032] 图7是实施例9中FS@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图;

[0033] 图8是实施例10中FS@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图;

[0034] 图9是实施例11中FS@Ch吸附噻虫嗪前后的紫外吸收光谱图;

[0035] 图10是实施例12中FITC@Ch吸附噻虫嗪前后的紫外吸收光谱图;

[0036] 图11是实施例13中FS@Ch吸附氯虫苯甲酰胺前后的紫外吸收光谱图;

[0037] 图12是实施例14中FITC@Ch吸附氯虫苯甲酰胺前后的紫外吸收光谱图;

[0038] 图13是EB电镜图;

[0039] 图14是FS@Ch+EB电镜图;

[0040] 图15是FITC@Ch+EB电镜图;

[0041] 图16是甲维盐水溶液的标准曲线图;

[0042] 图17是噻虫嗪水溶液的标准曲线图;

[0043] 图18是氯虫苯甲酰胺乙醇溶液的标准曲线图。

### 具体实施方式

[0044] 为使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白,以下举出优选的实施例,对本发明进一步详细说明,但本发明的保护范围并不局限于实施例表示的范围。

[0045] 实施例1

[0046] 本实施例提供的荧光素钠标记的壳聚糖制备方法:2.0g壳聚糖分散在100mL DMF

中,为白色颗粒分散液,加入100mL分别含1.0gN,N'-二环己基碳二亚胺和1.8g荧光素钠,为橙色悬浊液,混合物在室温下搅拌30min。搅拌结束后静置,离心收集下层沉淀,用大量水洗涤,最后在环境条件下干燥产物(FS@Ch)。

#### [0047] 实施例2

[0048] 本实施例提供的异硫氰酸荧光素标记的壳聚糖的制备方法:在20mL含500mg壳聚糖的0.1mol/L的乙酸水溶液中,加入10mL无水甲醇,搅拌溶解。加入5mL,2mg/mL的异硫氰酸荧光素(FITC)甲醇溶液。室温黑暗下搅拌反应4h,使壳聚糖上的氨基与FITC上的异硫氰酸基反应,生成硫脲键。加入100mL,0.2mol/L的NaOH溶液,沉淀标记产物,混合液以8000r/min的转速离心15min,所得沉淀用去离子水溶液洗涤和离心操作若干次,直至上清液中无荧光检出,收集沉淀异硫氰酸荧光素标记的壳聚糖FITC@Ch。

#### [0049] 实施例3

[0050] 配制100mg/L的甲维盐水溶液。分别稀释至5,10,15,20,25,30mg/L,分别用紫外测试不同浓度甲维盐水溶液的紫外吸收光谱,确定不同浓度下甲维盐水溶液的吸光度。以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线,通过线性拟合可得标准曲线为 $y=0.03058x-0.00453$ , $R^2=0.9999$ 。甲维盐水溶液的标准曲线如图16所示。

#### [0051] 实施例4

[0052] 在10mL,100mg/L,pH=5的甲维盐水溶液中,加入2mg实施例2提供的FITC@Ch,在25℃条件下振荡反应12h,经紫外吸附前后吸光度,根据实施例3提供的标准曲线可以计算前后浓度变化,通过负载量计算公式 $q = \frac{(C_0 - C)V}{m}$ , $C_0$ 和 $C$ 分别为负载前后甲维盐水溶液的

浓度(mg/L), $V$ 和 $m$ 分别为甲维盐水溶液体积(mL)和加入的FITC@Ch质量(mg),经计算,甲维盐的负载量为215.71mg/g。FITC@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图如图1所示。

#### [0053] 实施例5

[0054] 在10mL,100mg/L,pH=6的甲维盐水溶液中,加入2mg实施例2提供的FITC@Ch,在25℃条件下振荡反应12h,经紫外吸附前后吸光度,根据实施例3提供的标准曲线可以计算前后浓度变化,通过负载量计算公式 $q = \frac{(C_0 - C)V}{m}$ , $C_0$ 和 $C$ 分别为负载前后甲维盐水溶液的

浓度(mg/L), $V$ 和 $m$ 分别为甲维盐水溶液体积(mL)和加入的FITC@Ch质量(mg),经计算,甲维盐的负载量为135.22mg/g。FITC@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图如图2所示。

#### [0055] 实施例6

[0056] 在10mL,100mg/L,pH=7的甲维盐水溶液中,加入2mg实施例2提供的FITC@Ch,在25℃条件下振荡反应12h,经紫外吸附前后吸光度,根据实施例3提供的标准曲线可以计算前后浓度变化,通过负载量计算公式 $q = \frac{(C_0 - C)V}{m}$ , $C_0$ 和 $C$ 分别为负载前后甲维盐水溶液的

浓度(mg/L), $V$ 和 $m$ 分别为甲维盐水溶液体积(mL)和加入的FITC@Ch质量(mg),经计算,甲维盐的负载量为66.00mg/g。FITC@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图如图3所示。

#### [0057] 实施例7

[0058] 在10mL,100mg/L,pH=10的甲维盐水溶液中,加入2mg实施例2提供的FITC@Ch,在25℃条件下振荡反应12h,经紫外吸附前后吸光度,根据实施例3提供的标准曲线可以计算

前后浓度变化,通过负载量计算公式  $q = \frac{(C_0 - C)V}{m}$ ,  $C_0$ 和 $C$ 分别为负载前后甲维盐水溶液的浓度 (mg/L),  $V$ 和 $m$ 分别为甲维盐水溶液体积 (mL) 和加入的FITC@Ch质量 (mg), 经计算, 甲维盐的负载量为45.07mg/g。FITC@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图如图4所示。

[0059] 实施例8

[0060] 在10mL, 100mg/L的甲维盐水溶液中, 加入1mg实施例2提供的FITC@Ch, 在35℃条件下振荡反应12h, 经紫外吸附前后吸光度, 根据实施例3提供的标准曲线可以计算前后浓度变化, 通过负载量计算公式  $q = \frac{(C_0 - C)V}{m}$ ,  $C_0$ 和 $C$ 分别为负载前后甲维盐水溶液的浓度 (mg/L),  $V$ 和 $m$ 分别为甲维盐水溶液体积 (mL) 和加入的FITC@Ch质量 (mg), 经计算, 甲维盐的负载量为113.76mg/g。FITC@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图如图5所示。

[0061] 实施例9

[0062] 在10mL, 100mg/L的甲维盐水溶液中, 加入5mg实施例2提供的FITC@Ch, 在35℃条件下振荡反应12h, 经紫外吸附前后吸光度, 根据实施例3提供的标准曲线可以计算前后浓度变化, 通过负载量计算公式  $q = \frac{(C_0 - C)V}{m}$ ,  $C_0$ 和 $C$ 分别为负载前后甲维盐水溶液的浓度 (mg/L),  $V$ 和 $m$ 分别为甲维盐水溶液体积 (mL) 和加入的FITC@Ch质量 (mg), 经计算, 甲维盐的负载量为104.53mg/g。FITC@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图如图6所示。

[0063] 实施例10

[0064] 在10mL, 100mg/L的甲维盐水溶液中, 加入1mg实施例1提供的FS@Ch, 在35℃条件下振荡反应12h, 经紫外吸附前后吸光度, 根据实施例3提供的标准曲线可以计算前后浓度变化, 通过负载量计算公式  $q = \frac{(C_0 - C)V}{m}$ ,  $C_0$ 和 $C$ 分别为负载前后甲维盐水溶液的浓度 (mg/L),  $V$ 和 $m$ 分别为甲维盐水溶液体积 (mL) 和加入的FS@Ch质量 (mg), 经计算, 甲维盐的负载量为94.44mg/g。FS@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图如图7所示。

[0065] 实施例11

[0066] 在10mL, 100mg/L的甲维盐水溶液中, 加入2mg实施例1提供的FS@Ch, 在35℃条件下振荡反应12h, 经紫外吸附前后吸光度, 根据实施例3提供的标准曲线可以计算前后浓度变化, 通过负载量计算公式  $q = \frac{(C_0 - C)V}{m}$ ,  $C_0$ 和 $C$ 分别为负载前后甲维盐水溶液的浓度 (mg/L),  $V$ 和 $m$ 分别为甲维盐水溶液体积 (mL) 和加入的FS@Ch质量 (mg), 经计算, 甲维盐的负载量为52.05mg/g。FS@Ch吸附甲维盐前后的紫外吸收光谱图如图8所示。

[0067] 实施例12

[0068] 配制100mg/L的噻虫嗪水溶液。分别稀释至2, 5, 8, 10, 12, 15mg/L, 分别用紫外测试不同浓度噻虫嗪水溶液的紫外吸收光谱, 确定不同浓度下噻虫嗪水溶液的吸光度。以浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线, 通过线性拟合可得标准曲线为  $y = 0.05742x - 0.00106$ ,  $R^2 = 0.9999$ 。噻虫嗪水溶液的标准曲线如图17所示。

[0069] 实施例13

[0070] 在10mL,100mg/L的噻虫嗪水溶液中,加入5mg实施例1提供的FS@Ch,在25℃条件下振荡反应12h,经紫外吸附前后吸光度,根据实施例12提供的标准曲线可以计算前后浓度变化,通过负载量计算公式 $q = \frac{(C_0 - C)V}{m}$ , $C_0$ 和 $C$ 分别为负载前后甲维盐水溶液的浓度(mg/L), $V$ 和 $m$ 分别为甲维盐水溶液体积(mL)和加入的FS@Ch质量(mg),经计算,噻虫嗪的负载量为2.786mg/g.FS@Ch吸附噻虫嗪前后的紫外吸收光谱图如图9所示。

[0071] 实施例14

[0072] 在10mL,100mg/L的噻虫嗪水溶液中,加入5mg实施例2提供的FITC@Ch,在25℃条件下振荡反应12℃,经紫外吸附前后吸光度,根据实施例12提供的标准曲线可以计算前后浓度变化,通过负载量计算公式 $q = \frac{(C_0 - C)V}{m}$ , $C_0$ 和 $C$ 分别为负载前后甲维盐水溶液的浓度(mg/L), $V$ 和 $m$ 分别为甲维盐水溶液体积(mL)和加入的FITC@Ch质量(mg),经计算,噻虫嗪的负载量为1.393mg/g.FITC@Ch吸附噻虫嗪前后的紫外吸收光谱图如图10所示。

[0073] 实施例15

[0074] 配制100mg/L的氯虫苯甲酰胺乙醇溶液。分别稀释至5,10,15,20,25,30mg/L,分别用紫外测试不同浓度氯虫苯甲酰胺乙醇溶液的紫外吸收光谱,确定不同浓度下氯虫苯甲酰胺乙醇溶液的吸光度。以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线,通过线性拟合可得标准曲线为 $y = 0.03824x - 0.08887$ , $R^2 = 0.9999$ 。氯虫苯甲酰胺乙醇溶液的标准曲线如图18所示。

[0075] 实施例16

[0076] 在10mL,100mg/L的氯虫苯甲酰胺乙醇溶液中,加入5mg实施例1提供的FS@Ch,在25℃条件下振荡反应48h,经紫外吸附前后吸光度,根据实施例15提供的标准曲线可以计算前后浓度变化,通过负载量计算公式 $q = \frac{(C_0 - C)V}{m}$ , $C_0$ 和 $C$ 分别为负载前后甲维盐水溶液的浓度(mg/L), $V$ 和 $m$ 分别为甲维盐水溶液体积(mL)和加入的FS@Ch质量(mg),经计算,氯虫苯甲酰胺的负载量为2.877mg/g.FS@Ch吸附氯虫苯甲酰胺前后的紫外吸收光谱图如图11所示。

[0077] 实施例17

[0078] 在10mL,100mg/L的氯虫苯甲酰胺乙醇溶液中,加入5mg实施例2提供的FITC@Ch,在25℃条件下振荡反应48h,经紫外吸附前后吸光度,根据实施例15提供的标准曲线可以计算前后浓度变化,通过负载量计算公式 $q = \frac{(C_0 - C)V}{m}$ , $C_0$ 和 $C$ 分别为负载前后甲维盐水溶液的浓度(mg/L), $V$ 和 $m$ 分别为甲维盐水溶液体积(mL)和加入的FS@Ch质量(mg),经计算,氯虫苯甲酰胺的负载量为1.831mg/g.FITC@Ch吸附氯虫苯甲酰胺前后的紫外吸收光谱图如图12所示。

[0079] 实施例18

[0080] 为了更好地说明本申请提供的技术方案效果,下面给出甲维盐电镜图、FS@Ch+EB电镜图、FITC@Ch+EB电镜图。

[0081] 甲维盐电镜图,参阅图13,从13可知,甲维盐本身形貌为表面粗糙、大小不一的块

状,尺寸较大,为微米级。FS@Ch负载甲维盐 (FS@Ch+EB) 电镜图,参阅图14,其本身形貌为表面粗糙、大小不一的颗粒,尺寸较小,为纳米级。FITC@Ch负载甲维盐 (FITC@Ch+EB) 电镜图,参阅图15,其本身形貌为表面粗糙、大小不一的颗粒,尺寸较小,为纳米级。

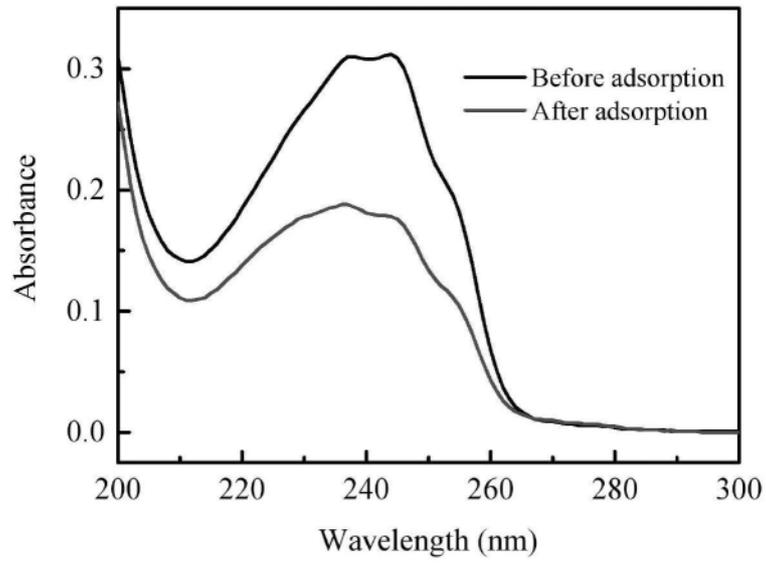


图1

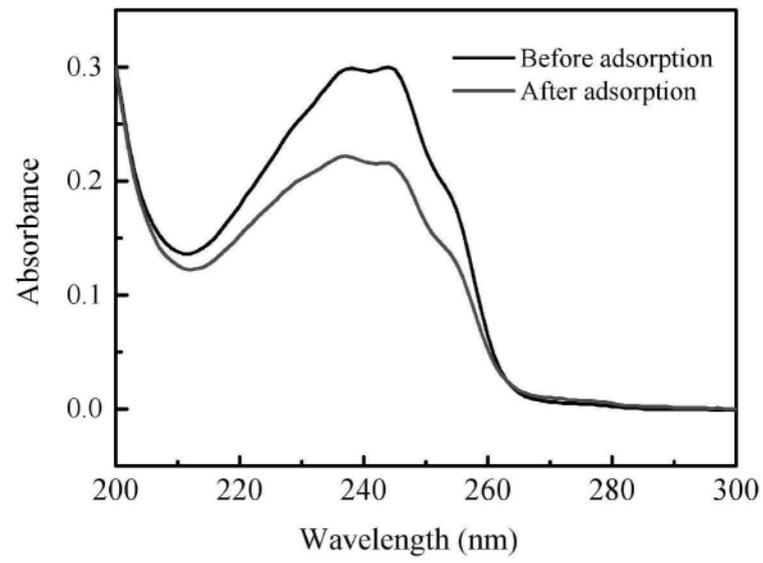


图2

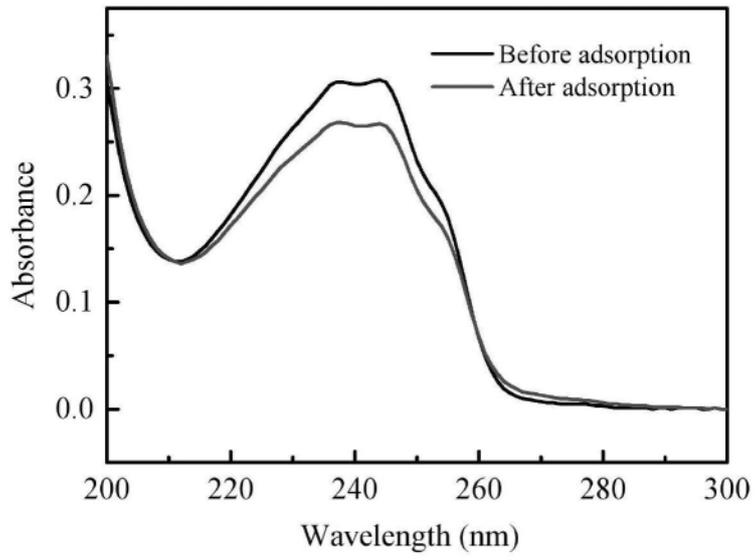


图3

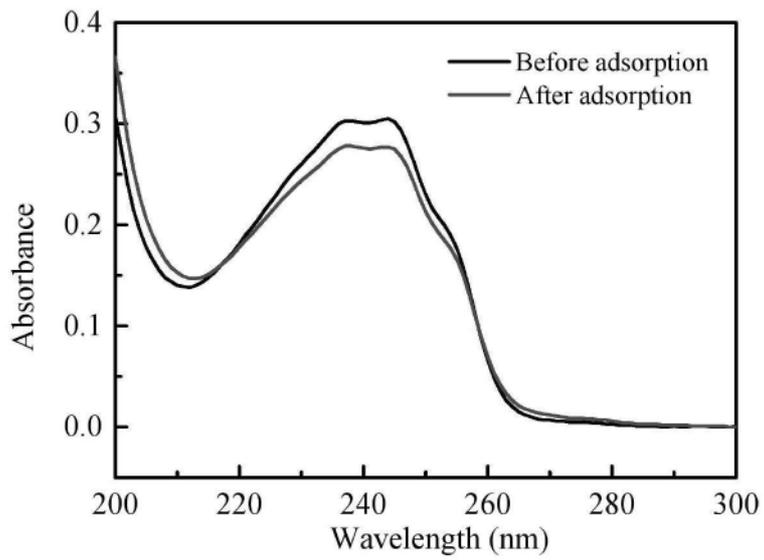


图4

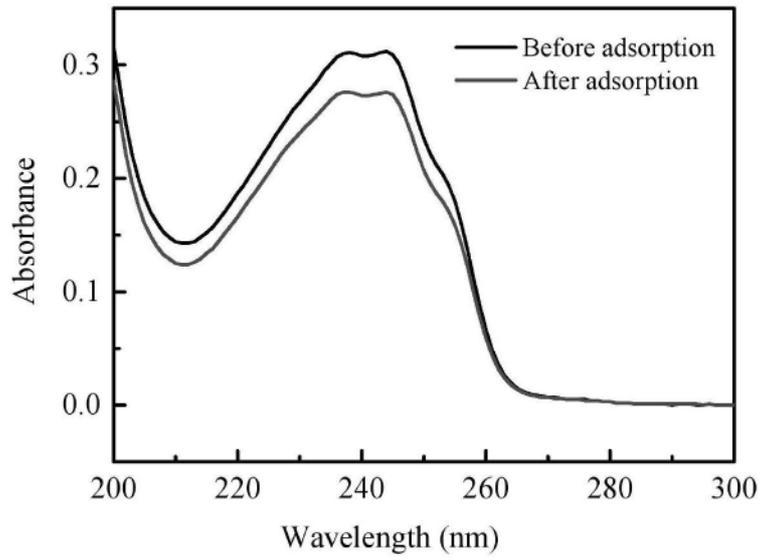


图5

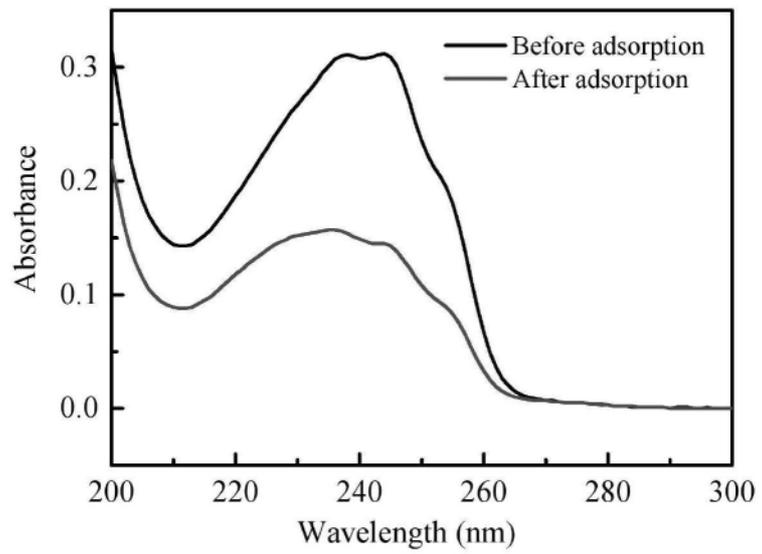


图6

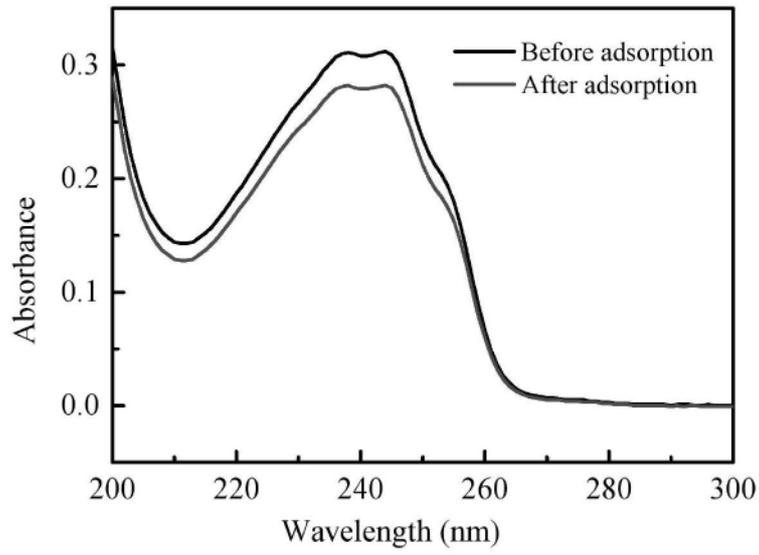


图7

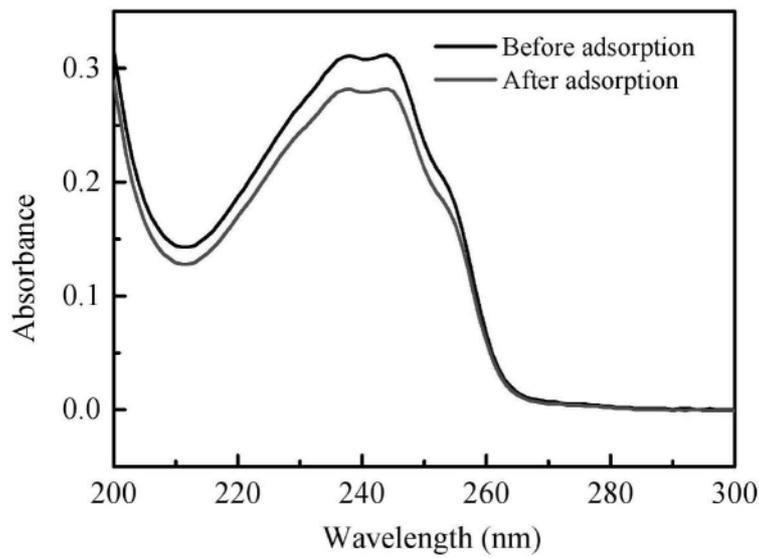


图8

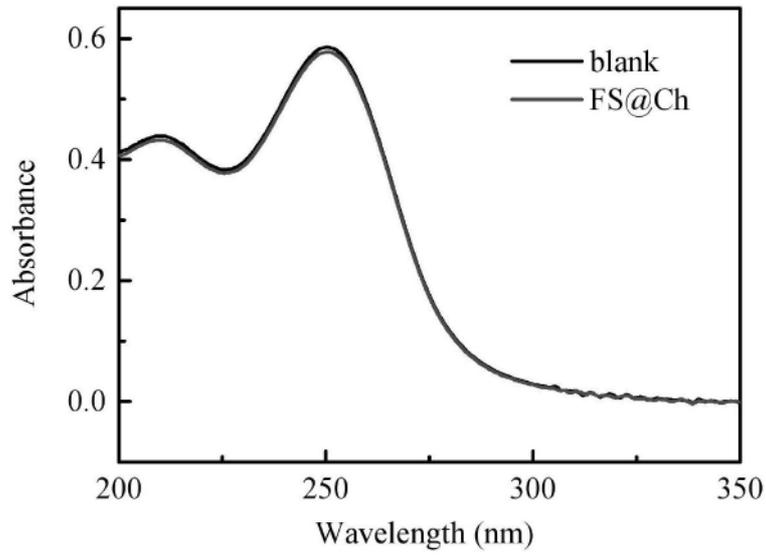


图9

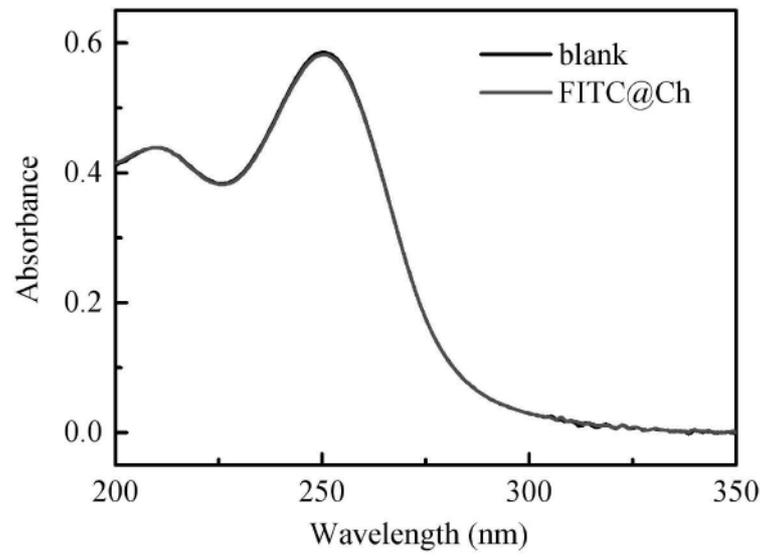


图10

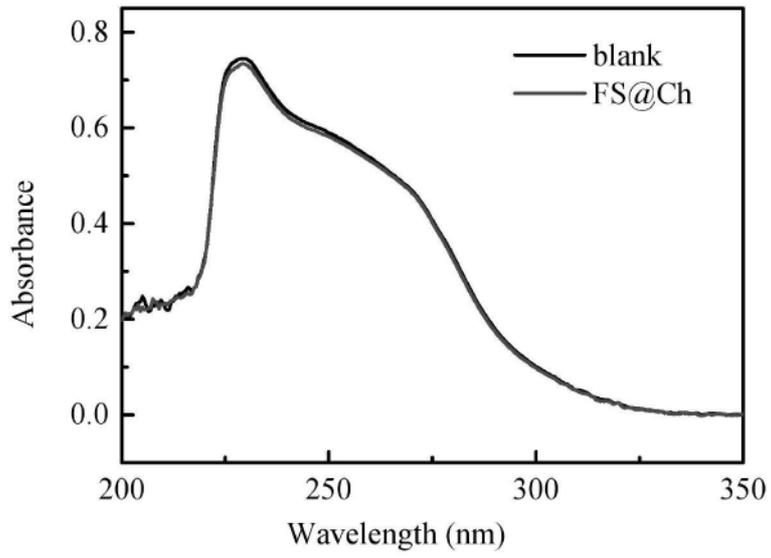


图11

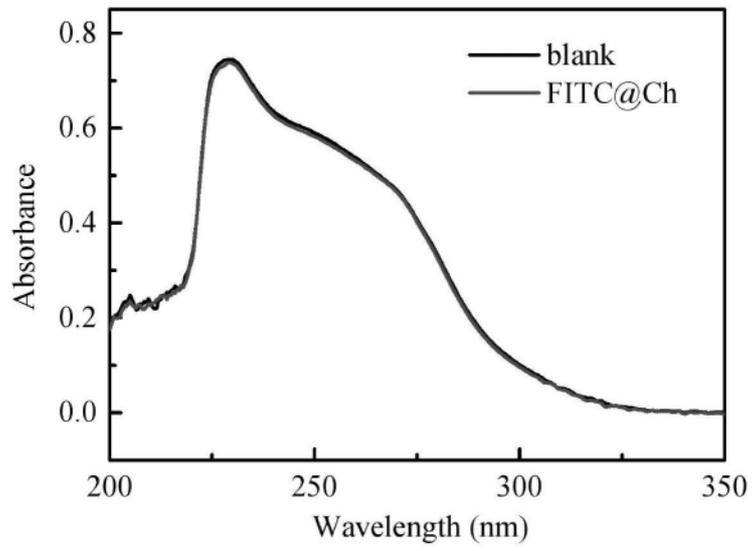


图12

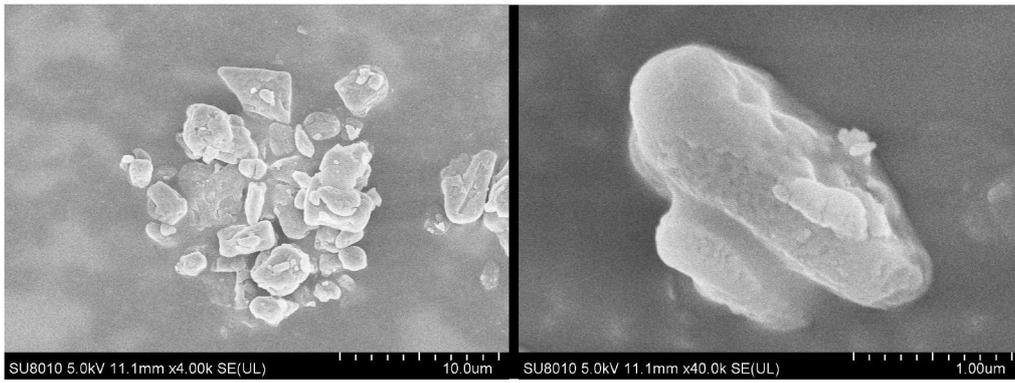


图13

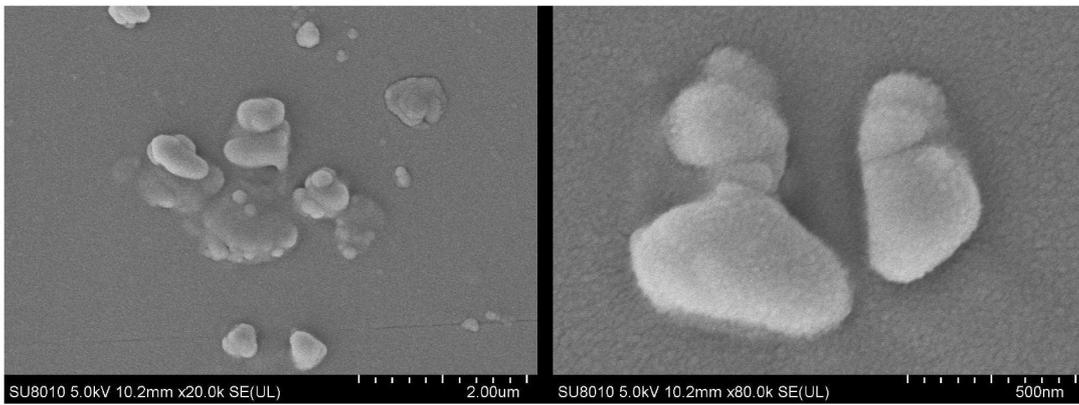


图14

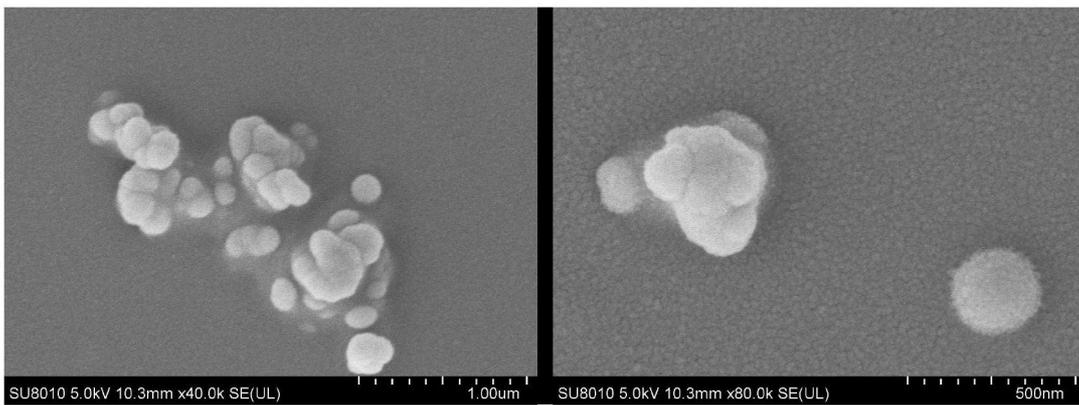


图15

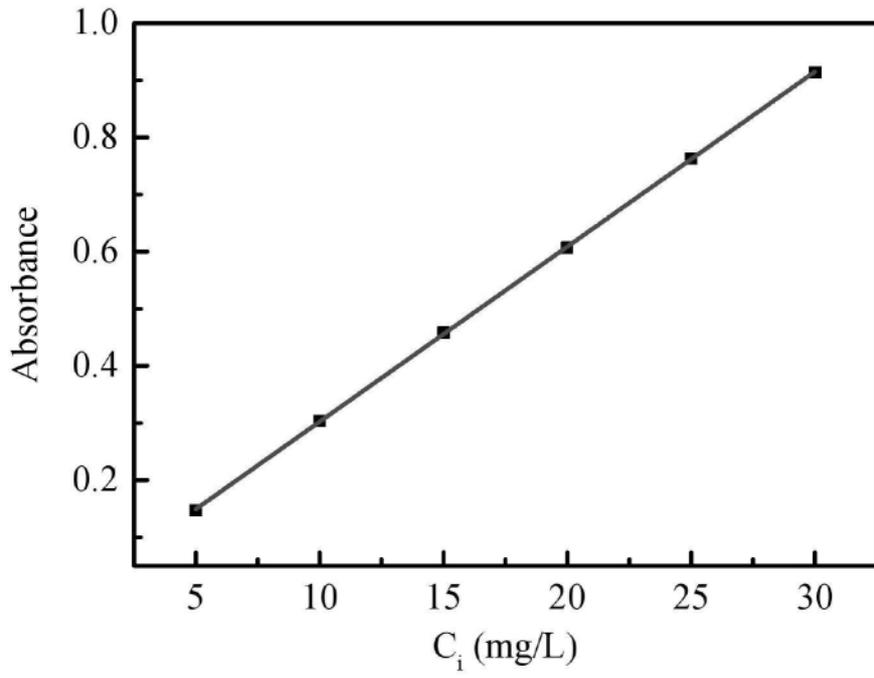


图16

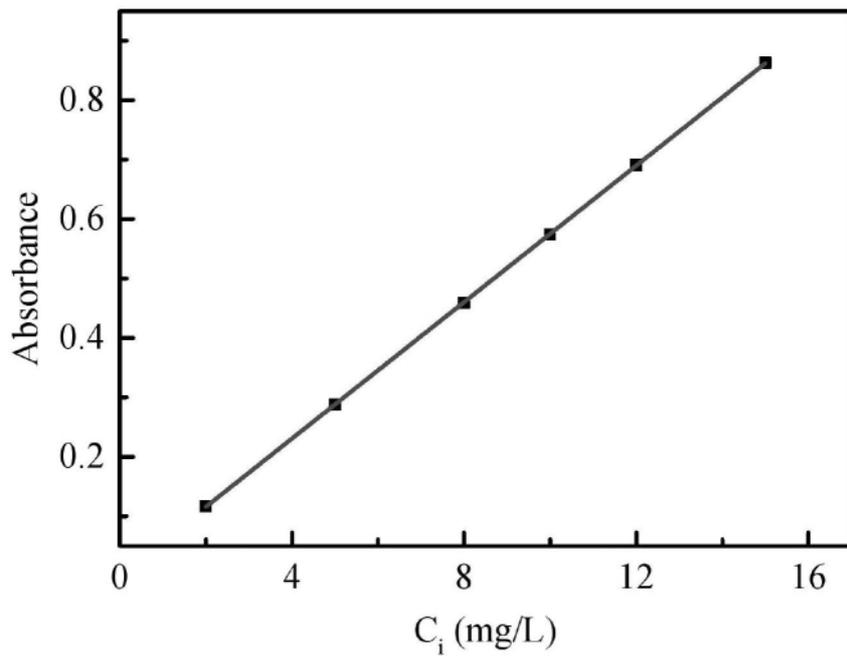


图17

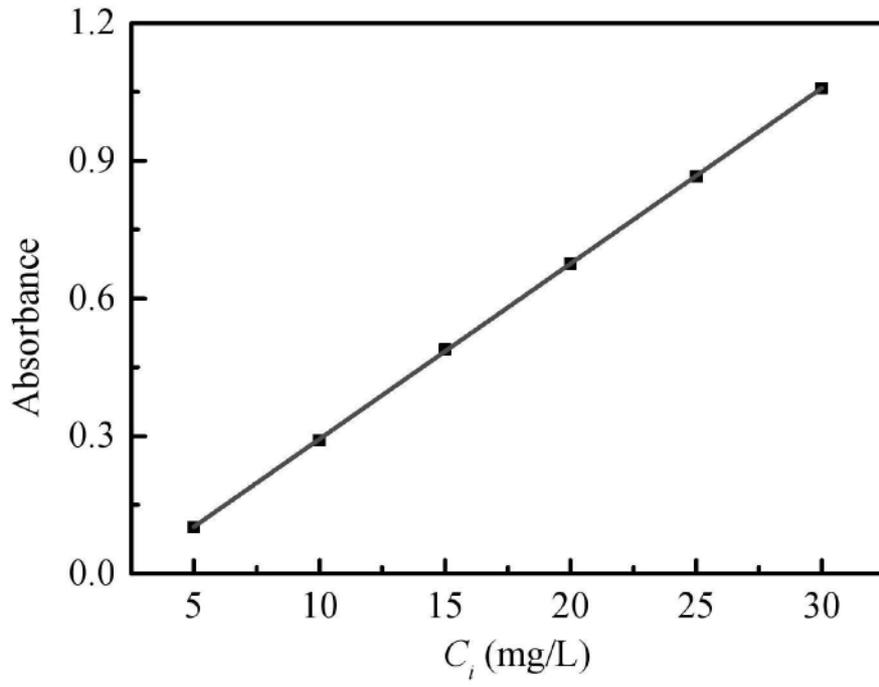


图18