



## (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104310795 B

(45)授权公告日 2016.11.02

(21)申请号 201410513141.3

WO 2005/058288 A2,2005.06.30,

(22)申请日 2014.09.29

CN 103509396 A,2014.01.15,

(65)同一申请的已公布的文献号

审查员 姜旭峰

申请公布号 CN 104310795 A

(43)申请公布日 2015.01.28

(73)专利权人 北京师范大学

地址 100875 北京市海淀区新街口外大街  
19号北京师范大学环境学院

(72)发明人 全向春 武亚川 王昕睿

(51)Int.Cl.

*C03C 17/28*(2006.01)

*G23C 26/00*(2006.01)

(56)对比文件

US 6387379 B1,2002.05.14,

CN 1557756 A,2004.12.29,

权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54)发明名称

一种基材表面抗菌涂层的制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种基材表面制备Nafion-溴代呋喃酮复合抗菌涂层的方法,其特征在于所述方法包括以下步骤:(1)基材预处理;(2)在基材表面制备Nafion-溴代呋喃酮复合抗菌涂层。该方法具有操作简单、适用性强、成本低且无污染等优点,是一种基于非杀菌机制的生物膜控制方法,克服了传统抗菌剂导致的细菌耐药性增强的问题,并且对混合菌生物膜和纯菌生物膜都具有良好的抗菌效果。

1. 一种基材表面抗菌涂层的制备方法,其特征在于,该方法包括以下步骤:

(1)基材预处理;

(2)通过步骤i)或者步骤ii)在基材表面制备复合抗菌涂层:

i)经预处理的基材首先浸渍在0.1%-2% Nafion乙醇溶液中30min-12h,取出基材后空气干燥,然后再浸渍于1-30mg/L BBF乙醇溶液中,30min-12h后取出后空气中干燥备用;

ii)经预处理的基材浸渍在含有0.1%-2%Nafion和1-30mg/L BBF的混合溶液中,30min-12h后取出,空气中干燥备用。

2. 根据权利要求1所述的一种基材表面抗菌涂层的制备方法,其特征在于,(1)中所述的基材为玻璃基材及金属基材中的一种。

3. 根据权利要求1所述的一种基材表面抗菌涂层的制备方法,其特征在于,(1)中所述的基材预处理,当基材为玻璃基材时,首先用清洁剂清洁、去离子水润洗、甲醇润洗后氮气干燥,然后用氨基丙基三乙氧基硅烷进行硅烷化处理。

4. 根据权利要求1所述的一种基材表面抗菌涂层的制备方法,其特征在于,(1)中所述的基材预处理,当基材为金属基材时,首先进行表面抛光,然后依次用蒸馏水、丙酮和无水乙醇超声清洗,最后真空干燥。

## 一种基材表面抗菌涂层的制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种在基材表面制备Nafion-溴代呋喃酮复合抗菌涂层的方法,属于生物膜控制技术领域。

### 背景技术

[0002] 生物膜(biofilm)是由附着于惰性或者活性实体表面的微生物和包裹着微生物的水合性基质所组成的结构性微生物群落构成。生物膜内的细菌通过其自身分泌的胞外聚合物(EPS)将细胞结合在一起,形成复杂的微生物细胞群落。有害生物膜的形成会引起很多问题。在医学领域,大约80%的人体细菌感染是由生物膜引起。在环境领域,膜生物反应器表面生物膜形成会增大跨膜压,引起出水水质恶化,严重阻碍了膜技术的广泛应用。生物膜污染还存在于给排水管网系统中。有研究表明,95%的饮用水处理系统都受到细菌生物膜的污染,对饮用水安全带来了潜在风险。因此,有效抑制有害生物膜的形成是很多领域面临的严峻挑战之一。

[0003] 以往对于生物膜的控制多采用杀菌剂来杀死细菌,如采用抗生素、银和氯等抗菌剂。虽然抗菌剂在一定程度上能够抑制生物膜的生长,但是同时也存在着很多问题。由于浮游细菌形成生物膜后表型发生改变,使得生物膜对传统抗菌剂的抗药性是浮游细菌的1000倍,所以使用传统的抗菌剂很难对生物膜内部的细菌起作用。长期过度使用抗生素还会导致细菌的抗药性增加,使耐药细菌蔓延。一些氧化型抗菌剂(如氯、臭氧等)会对膜系统造成损害,而且有可能形成消毒副产物。因此,有必要建立一种全新的生物膜控制方法。

[0004] 群体感应(quorum sensing, QS)也称为自诱导,是指细菌调节自身菌体密度的一种环境感应系统,通过扩散性信号小分子(又称为自诱导剂, autoinducer, AI)与转录活化蛋白的相互作用表达与细胞群体密度有关的基因。这些信号分子从细菌细胞扩散到环境中,当达到一个临界浓度(或者说达到某一特定的群体密度)时就可诱导调节一系列目标基因的转录,包括酶的合成、生物膜的形成、抗生素的生物合成及生物表面活性剂的产生等等。因此,阻断细菌之间的信号交流有可能成为抑制生物膜形成的一种新方法。群体感应抑制剂(quorum sensing inhibitors, QSIs)是一种能够干扰细菌QS系统的物质。天然或人工合成的溴代呋喃酮(BFs)是目前研究最为广泛的一类QSI,它们可以与N-酰基-高丝氨酸内酯(AHL)竞争其胞内特异受体-LuxR家族蛋白,从而阻断细菌的QS系统。也有研究表明一些溴代呋喃酮可以干扰AI-2QS系统,从而抑制生物膜的形成。

[0005] 控制基材表面生物污染的方法包括基材表面改性及负载抗菌/抑菌涂层。专利申请号200710016018.0通过化学键合的方式将纳米银颗粒固定在生产设备的表面,获得了长效、具有缓释特性的纳米抗菌涂层,实现了对啤酒设备内生物膜的控制。Chuang等(2008)将抗菌剂(硝酸银或溴棕三甲铵)负载到了聚丙烯酸和聚乙烯亚胺中形成聚合电解质涂层。Schmidt等(2010)将抗菌剂庆大霉素组装到了可降解的聚氨酯、玻尿酸或聚丙烯酸形成的聚合电解质涂层中,随着聚合物的降解,庆大霉素被释放出来,有效地抑制了金黄色葡萄球菌生物膜的形成。Thierry等(2005)将抗菌剂紫杉醇成功地负载到玻尿酸和抗菌糖中形

成聚合电解质涂层。但是,这些负载有杀菌剂的涂层缺点是随着细菌耐药性的增加,其抑菌抗菌功效会大大降低。为了解决这些问题,本专利提出了利用一种群体感应信号分子抑制剂,用Nafion聚合物将其负载制备抑菌/抗菌涂层,通过非杀菌方式抑制生物膜形成。Nafion是一种磺化四氟乙烯共聚物,由一个碳氟化合物骨架和其侧链上的磺酸基团构成。Nafion的水通道模型理论提出其结构内部排列着一系列亲水通道,每个通道大约2.5nm,可以运输小离子。在溶液中Nafion侧链上的磺酸基团会水解出 $H^+$ 从而使其表面带负电。由于大部分的细菌带负电的,所以Nafion与细菌之间存着静电斥力,可以阻碍细菌在其表面的附着。利用Nafion与溴代呋喃酮耦合制备抑菌/抗菌涂层的方法尚未见相关报道。

## 发明内容

[0006] 本发明的目的在于提出一种基材表面抗菌涂层的制备方法。本发明将一种溴代呋喃酮,(Z)-4-溴-5-(溴乙烯)-2(5H)-呋喃酮(BBF)负载到Nafion聚合物的水通道里,在基材表面构建一个Nafion-BBF复合抗菌涂层。所构建的Nafion-BBF复合抗菌涂层抑制生物膜形成的机理是:Nafion侧链上的磺酸基团在溶液中水解出 $H^+$ 使得涂层表面带负电,产生的静电斥力能够阻碍细菌在其表面粘附;BBF是一种信号分子淬灭剂,当其从Nafion聚合物的水通道里缓慢释放出来后,会与细菌的信号分子竞争其胞内受体蛋白,阻碍与生物膜形成相关基因的表达,干扰细菌的QS系统,从而抑制生物膜的形成。利用溴代呋喃酮和Nafion耦合制备抗菌涂层的方法,具有生物膜抑制效果显著、操作简单、适用性强、成本低且无污染等优点。由于这种方法是一种基于非杀菌机制的生物膜控制方法,它克服了传统抗菌剂导致的细菌耐药性增强的问题。该方法的提出为生物膜的控制提供了新的思路,具有重要的理论价值和实践意义,有望用于解决环境、医学等领域中的生物膜污染难题。

[0007] 本发明提出了一种在基材表面利用溴代呋喃酮和Nafion耦合制备抗菌涂层的方法,其特征在于,所述方法包括以下步骤:

[0008] (1)基材预处理

[0009] 所述的基材可选自玻璃基材(如载玻片、盖玻片)、金属基材(如铜片、钛板、钢片)等中的一种;

[0010] 玻璃基材的预处理步骤包括:用清洁剂清洁,去离子水润洗,甲醇润洗后氮气干燥,然后用氨基丙基三乙氧基硅烷进行硅烷化处理;

[0011] 金属基材的预处理步骤包括:表面抛光,然后依次用蒸馏水、丙酮和无水乙醇超声清洗,最后真空干燥。

[0012] (2)制备复合抗菌涂层

[0013] 复合抗菌涂层的制备采用逐层沉积方法,通过步骤i)或者步骤ii)在基材表面制备复合抗菌涂层:

[0014] i)经预处理的基材首先浸渍在0.1%-2%Nafion乙醇溶液中30min-12h,取出基材后空气干燥,然后再浸渍于1-30mg/L BBF乙醇溶液中,30min-12h后取出后,空气中干燥备用;

[0015] ii)经预处理的基材浸渍在含有0.1%-2%Nafion和1-30mg/L BBF的混合溶液中,30min-12h后取出,空气中干燥备用。

[0016] 有益效果

[0017] (1)本发明提出的Nafion-BBF抗菌涂层制备方法,具有简单易行、操作方便、适用基材广泛等优点;

[0018] (2)本发明提出的Nafion-BBF复合抗菌涂层对纯菌及混合菌生物膜都具有良好的抑制效果,对污水系统中混合菌生物膜的抑制率为50-70%,对纯菌铜绿假单胞菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌生物膜的抑制率为30-60%;

[0019] (3)本发明制备的复合抗菌涂层中的抗菌成分是Nafion和BBF,不同于基于杀菌机制的传统的抗菌剂,比如抗生素、银和氯等,它克服了基于杀菌机制的生物膜控制方法可能产生的微生物耐药性问题。

#### 附图说明

[0020] 图1是本发明实施例1中制备的复合抗菌涂层的扫描电镜图。

[0021] 图2是本发明实施例3中制备的复合抗菌涂层的原子力显微镜图。

[0022] 图3是本发明实施例3中制备的复合抗菌涂层对混合菌生物膜的抑制效果。

[0023] 图4是本发明实施例5中制备的复合抗菌涂层对纯菌生物膜的抑制效果。

#### 具体实施方式

[0024] 为了更好地理解本发明,下面结合实施例进一步阐明本发明的内容,但本发明的内容不仅仅局限于下面的实施例:

[0025] 实施例1

[0026] (1)钛板首先进行表面抛光,然后依次用蒸馏水、丙酮和无水乙醇超声清洗,最后真空干燥;

[0027] (2)将预处理的钛板浸渍在含1%Nafion和10mg/L BBF的混合溶液中,12h后取出,空气干燥后保存备用;

[0028] (3)图1是本实施例制备的抗菌涂层的扫描电镜图。对本实施例制备的抗菌涂层进行抗菌性能实验,取自污水处理厂的活性污泥制备的混合菌菌悬液作为实验对象,结果表明,生物膜培养一天后,抗菌涂层对混合菌生物膜的抑制率为61%。

[0029] 实施例2

[0030] (1)钛板首先进行表面抛光,然后依次用蒸馏水、丙酮和无水乙醇超声清洗,最后真空干燥;

[0031] (2)将预处理的钛板浸渍在含0.5%Nafion和10mg/L BBF的混合溶液中,12h后取出,空气干燥后保存备用;

[0032] (3)对本实施例制备的抗菌涂层进行抗菌性能实验,取自污水处理厂的活性污泥制备的混合菌菌悬液作为实验对象,结果表明,生物膜培养一天后,抗菌涂层对混合菌生物膜的抑制率为49%。

[0033] 实施例3

[0034] (1)载玻片首先用清洁剂清洁、去离子水润洗、甲醇润洗后氮气干燥,然后用氨基丙基三乙氧基硅烷进行硅烷化处理;

[0035] (2)将预处理的载玻片浸渍在含1%Nafion和10mg/L BBF的混合溶液中,12h后取出,空气干燥后保存备用;

[0036] (3)图2是本实施例制备的抗菌涂层的原子力显微镜图。对本实施例制备的抗菌涂层进行抗菌性能实验,取自污水处理厂的活性污泥制备的混合菌悬液作为实验对象,结果如图3所示,生物膜培养6h后,抗菌涂层对混合菌生物膜的抑制率为43%;当培养时间延长到12-72h,抗菌涂层仍旧具有显著的生物膜抑制率(28%-51%)。

[0037] 实施例4

[0038] (1)载玻片首先用清洁剂清洁、去离子水润洗、甲醇润洗后氮气干燥,然后用氨基丙基三乙氧基硅烷进行硅烷化处理;

[0039] (2)将预处理的载玻片浸渍在含1%Nafion和20mg/L BBF的混合溶液中,12h后取出,空气干燥后保存备用;

[0040] (3)对本实施例制备的抗菌涂层进行抗菌性能实验,取自污水处理厂的活性污泥制备的混合菌悬液作为实验对象,结果表明,生物膜培养一天后,抗菌涂层对混合菌生物膜的抑制率为56%。

[0041] 实施例5

[0042] (1)载玻片首先用清洁剂清洁、去离子水润洗、甲醇润洗后氮气干燥,然后用氨基丙基三乙氧基硅烷进行硅烷化处理;

[0043] (2)将预处理的载玻片首先浸渍在1%Nafion溶液中6h,取出载玻片空气干燥后再浸渍于10mg/LBBF溶液中,6h后取出,空气干燥后保存备用;

[0044] (3)对本实施例制备的抗菌涂层进行抗菌性能试验,选择铜绿假单胞菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌为实验对象,结果如图4所示,生物膜培养两天后,抗菌涂层对铜绿假单胞菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌生物膜的抑制率分别为23%,37%和48%。

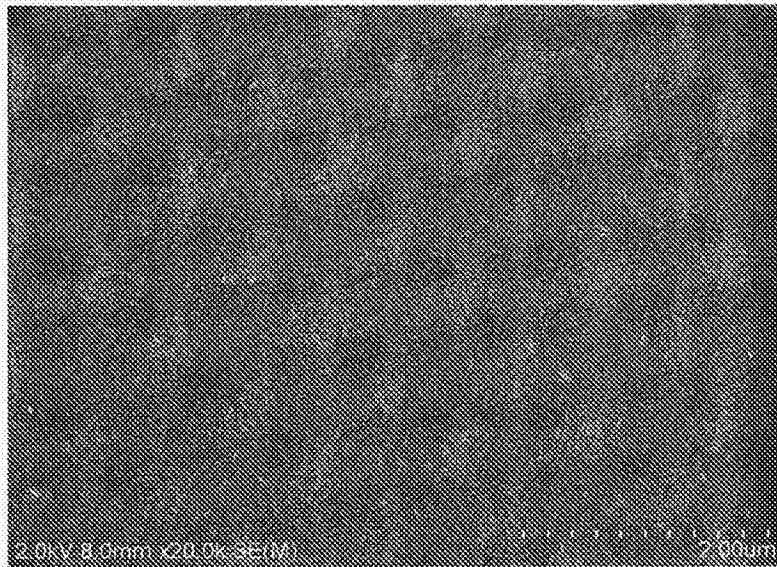


图1

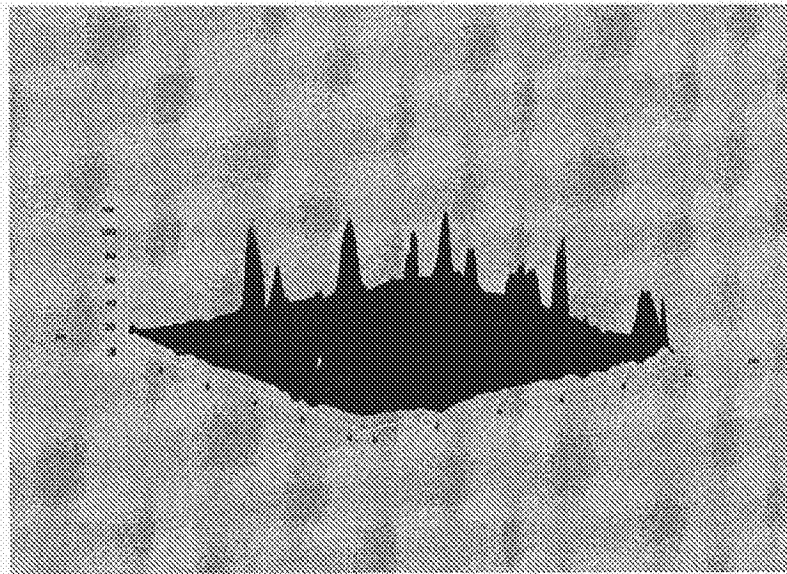


图2

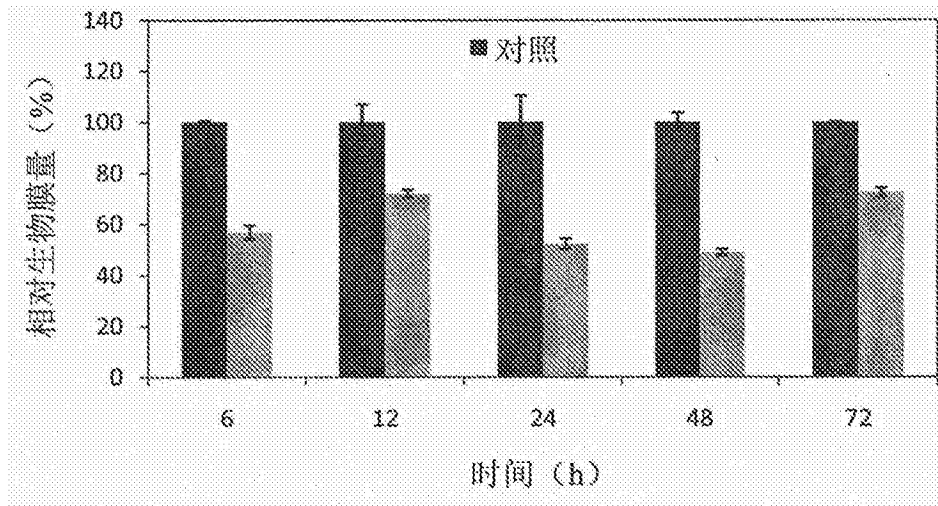


图3

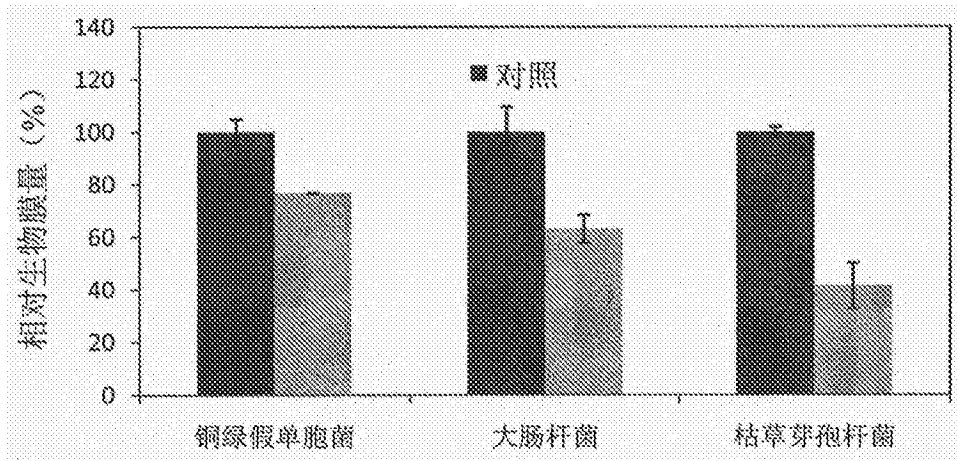


图4