



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103261886 B

(45) 授权公告日 2015.08.19

(21) 申请号 201180061237.5

A01N 59/00(2006.01)

(22) 申请日 2011.11.18

(56) 对比文件

(30) 优先权数据

10-2010-0115886 2010.11.19 KR

CN 101475173 A, 2009.07.08, 说明书第2页第2段、第5页倒数第2段、实施例6、附图3-6.

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013.06.19

CN 101475173 A, 2009.07.08, 说明书第2页第2段、第5页倒数第2段、实施例6、附图3-6.

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/KR2011/008854 2011.11.18

CN 101679802 A, 2010.03.24, 说明书第3页第3段、第4页第1段、第7页倒数第2-4段.

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/067469 K0 2012.05.24

CN 101520425 A, 2009.09.02, 权利要求1.

(73) 专利权人 韩国生产技术研究院

地址 韩国忠清南道

US 6660363 B1, 2003.12.09, 全文.

(72) 发明人 李成浩 李度勋 李相昊 李洛圭  
金相龙

KR 20080026776 A, 2008.03.26, 全文.

(74) 专利代理机构 北京路浩知识产权代理有限公司 11002

JP 2008542208 A, 2008.11.27, 全文.

代理人 王朋飞 刘成春

KR 20090013413 A, 2009.02.05, 全文.

KR 20080004410 A, 2008.01.09, 全文.

JP 2001231815 A, 2001.08.28, 全文.

审查员 吴菲

(51) Int. Cl.

G01N 33/18(2006.01)

权利要求书2页 说明书10页 附图8页

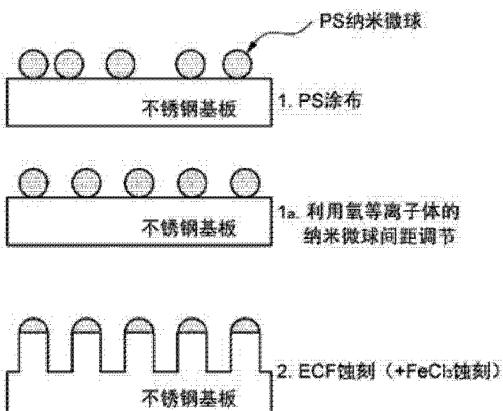
A01N 25/08(2006.01)

## (54) 发明名称

使用胶体纳米颗粒的用于防止生物膜形成的基板及其制备方法

## (57) 摘要

本发明涉及一种使用胶体纳米颗粒的用于防止生物膜形成的基板的制备方法，由该方法制备的基板及包括所述基板的水质检测传感器，更详细地涉及一种用于防止生物膜形成的基板的制备方法，所述制备方法将胶体纳米颗粒排列在基板上，然后在所述基板上部形成孔及多孔性结构物；使用上述方法制备的用于防止生物膜形成的基板：包括基板、在基板上部形成的多个孔及在所述基板的整个上表面和所述孔中形成的多孔性结构物；以及包括所述基板的水质检测传感器。



1. 用于防止生物膜形成的基板的制备方法, 其特征在于, 该方法包括下述步骤 :1) 在基板的上部排列胶体纳米颗粒 ;2) 对所述步骤 1) 中基板的上部已排列的胶体纳米颗粒间距进行调节, 以及 3) 在上述步骤 2) 中的基板上部形成孔和多孔性结构物。

2. 用于防止生物膜形成的基板的制备方法, 其特征在于, 该方法包括下述步骤 :1) 在基板的上部排列胶体纳米颗粒 ;2) 在上述步骤 1) 的基板上涂布保护物质 ;3) 从上述步骤 2) 的基板上去除胶体纳米颗粒 ; 及 4) 在上述步骤 3) 的基板上部中的已去除胶体纳米颗粒的部分形成孔和多孔性结构物。

3. 根据权利要求 2 所述的用于防止生物膜形成的基板的制备方法, 其中, 在所述步骤 1) 和步骤 2) 之间还包括对已排列的胶体纳米颗粒间距进行调节的步骤 (步骤 1a)。

4. 根据权利要求 1 或 3 所述的用于防止生物膜形成的基板的制备方法, 其中, 所述间距调节通过使用氧等离子体来实施。

5. 根据权利要求 1 或 2 所述的用于防止生物膜形成的基板的制备方法, 其中, 在所述基板的上部排列胶体纳米颗粒的步骤通过在基板上涂布含有胶体纳米颗粒分散液的方法来实施。

6. 根据权利要求 1 或 2 所述的用于防止生物膜形成的基板的制备方法, 其中, 所述胶体纳米颗粒具有  $100\text{nm} \sim 100\mu\text{m}$  的大小。

7. 根据权利要求 1 或 2 所述的用于防止生物膜形成的基板的制备方法, 其中, 所述胶体纳米颗粒为聚苯乙烯、二氧化硅、 $\text{Si}_3\text{N}_4$  或它们的组合。

8. 根据权利要求 2 所述的用于防止生物膜形成的基板的制备方法, 其中, 所述保护物质使用氧化膜、氮化膜或它们的组合。

9. 根据权利要求 1 或 2 所述的用于防止生物膜形成的基板的制备方法, 其中, 所述形成孔和多孔性结构物的步骤, 通过电化学制备方法对基板进行蚀刻来实施。

10. 根据权利要求 9 所述的用于防止生物膜形成的基板的制备方法, 其中, 使用  $\text{FeCl}_3$  溶液对所述已被蚀刻的基板进行进一步蚀刻。

11. 由权利要求 1 或 2 所述的制备方法制备的用于防止生物膜形成的基板, 其包括基板、在所述基板上部形成的多个孔及在所述基板的整个上表面和所述孔中形成的多孔性结构物。

12. 根据权利要求 11 所述的用于防止生物膜形成的基板, 其中, 所述孔的间距为  $10\text{nm} \sim 10\mu\text{m}$ 。

13. 根据权利要求 11 所述的用于防止生物膜形成的基板, 其中, 所述孔的深度为  $10\text{nm} \sim 50\mu\text{m}$ 。

14. 防止由微生物引起的生物膜形成的方法, 所述方法使用权利要求 11 所述的用于防止生物膜形成的基板。

15. 根据权利要求 14 所述的防止生物膜形成的方法, 其中, 所述微生物选自绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*)、海洋红藻 (*Delisea pulchra*)、抗甲氧西林金黄色葡萄球菌 (*Methicillin resistant staphylococcus aureus*)、嗜肺军团菌 (*Legionella pneumophila*)、沙雷氏菌 (*Serratia*)、费氏弧菌 (*Vibrio fischeri*)、哈氏弧菌 (*Vibrio harveyi*)、产酸克雷伯氏菌 (*Klebsiella oxytica*)、阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*) 及白念珠菌 (*Candida albicans*) 中的一

种以上。

16. 一种水质检测传感器, 其包括权利要求 11 所述的用于防止生物膜形成的基板。

## 使用胶体纳米颗粒的用于防止生物膜形成的基板及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种使用胶体纳米颗粒的用于防止生物膜形成的基板的制备方法,由该方法制备的基板及包括所述基板的水质检测传感器,更详细地涉及一种用于防止生物膜形成的基板的制备方法,所述制备方法将胶体纳米颗粒排列在基板上,然后在所述基板上部形成孔及多孔性结构物;使用所述方法制备的用于防止生物膜形成的基板:包括基板、在基板上部形成的多个孔及在所述基板的整个上表面和所述孔中形成的多孔性结构物;以及包括所述基板的水质检测传感器。

### 背景技术

[0002] 菌膜 (Biofilm) 是通常在水相体系 (aqueous system) 中,在物质表面上附着及增值的微生物所形成的结构物,也被称为生物膜。这种生物膜的形成会诱发微生物带来的危险,因此在多个工业领域中诱发问题。例如,在工厂管道上形成的生物膜被剥离而混合到该工厂的生产物中的情况下,不仅会污染生产物,而且在所述生产物为食品的情况下,会作为对人体致命的危险因子起作用。此外,在热交换器表面生成的生物膜会降低热传递效率。进而在金属表面等结构物表面形成生物膜的情况下,会导致金属的腐蚀,诱发设备的腐蚀。特别是由多种金属及混凝土等物质的腐蚀引起的损伤不仅带来不便,而且为了重建需要耗费大量费用,是经济上的一大难点。

[0003] 在环境、水处理、保健及医疗领域等多个领域中,人们认识到为解决上述这些问题而进行的技术开发已成为技术问题,虽然在过去的数十年间进行了多种研究,但因在水分存在的表面上,由微生物自然形成的生物膜一旦形成,用现有的物理方法和投入高分子药品等化学方法不能完全去除,因此对生物膜引起的污染的防止及控制,到目前为止没有开发出令人满意的解决方法。

[0004] 作为用于减少这种由生物膜引起的结构物表面的腐蚀及污染的方法,已研究出在腐蚀敏感性物质(例如,金属)上抑制或防止生物膜的生长的方法。例如,为了防止构成所述生物膜的微生物增殖,虽然实施了 pH 调节、氧化还原电位调节、无机物涂布、阴极保护及杀生物剂涂布等多种方法,但涂料和环氧树脂等保护涂布剂在应用和维持上消耗过多的费用,因此无法作为有效的抗 - 生物膜制剂使用。

[0005] 此外,与防止生物膜相关的技术有 1) 使用微生物或特定化学物质对表面进行涂布处理,从而抑制生物膜的形成的方法;2) 使用特定生物或化合物来分解所形成的生物膜的方法;3) 对形成生物膜的微生物生长进行阻碍或搅乱的方法等;但通过对表面本身应用特定的形状来防止生物膜形成本身的技术的研究尚有不足。

[0006] 考虑到上述问题,本发明人研究出了不依靠涂布特定化学物质或微生物,或用上述多种物质处理而重整表面的方法,而只用改变表面的形状的方法来对生物膜生成本身进行防止的方法及包括由该方法制备的结构物的基板,并对此曾申请过专利,其专利申请号为第 10-2009-0135754 号。

[0007] 由此,本发明人确认了以下内容,即,不依靠涂布特定化学物质或微生物,或用所述多种物质处理而重整表面的方法,而使用只对表面进行变形的方法就可以制得可防止生物膜生成本身的基板,并确认了将所述基板结合到水质检测传感器上,能够提高水质检测传感器的灵敏度及再现性,从而完成了本发明。

## 发明内容

[0008] 要解决的技术问题

[0009] 本发明的目的在于,提供一种用于防止生物膜形成的基板的制备方法,所述制备方法将胶体纳米颗粒排列在基板上,然后在所述基板 上部形成孔及多孔性结构物。

[0010] 本发明的另一个目的在于,提供一种通过上述方法制备的用于防止生物膜形成的基板 :包括基板,在基板上部形成的多个孔及在所述基板的整个上表面(상부 전면)和所述孔中形成的多孔性结构物。

[0011] 本发明的再一目的在于,提供一种防止生物膜形成的方法,其将所述用于防止生物膜形成的基板用作表面。

[0012] 本发明的又一个目的在于,提供一种水质检测传感器,其包括所述用于防止生物膜形成的基板。

[0013] 技术方案

[0014] 为了解决上述问题,本发明提供一种用于防止生物膜形成的基板的制备方法,其包括下述步骤。

[0015] 1) 在基板的上部排列胶体纳米颗粒 ;及

[0016] 2) 在上述步骤的基板上部形成孔和多孔性结构物。

[0017] 此外,本发明在所述制备方法中的所述步骤 1) 和步骤 2) 之间还可以包括对已排列的胶体纳米颗粒间距进行调节的步骤(步骤 1a)。

[0018] 包括本发明结构物的基板的制备过程可分为以下步骤 :1) 将胶体纳米颗粒排列在基板上 ;及 2) 对排列有所述胶体纳米颗粒的基板进行蚀刻处理,从而形成孔及多孔性结构物 ;在所述步骤 1) 和步骤 2) 之间还可以选择性地包括对已排列的胶体纳米颗粒间距进行调节的步骤(步骤 1a)。

[0019] 所述步骤 1 作为在基板的上部排列胶体纳米颗粒的步骤,可以不受限制地使用本领域中通常所使用的方法,优选地,可以通过在基板上涂布含有胶体纳米颗粒分散液的方法进行实施。

[0020] 本发明中,考虑到胶体纳米颗粒之间的斥力及凝聚等,胶体纳米颗粒的大小优选为 100nm ~ 100 μ m。

[0021] 本发明中,可以使用聚苯乙烯、二氧化硅、 $Si_3N_4$ 等氮化物、氧化物或它们的组合作为胶体纳米颗粒。

[0022] 在本发明的一个实施例中,将 PS 纳米微球颗粒(nano bead particle)用作胶体纳米颗粒。为了使用 PS 纳米微球颗粒实施胶体纳米蚀刻工序,需要将基板转变成亲水性状态。此外,使用二氧化硅( $SiO_2$ ) 和氮化物( $Si_3N_4$ ) 颗粒等的情况下,可以维持合适的表面状态来调节间距。

[0023] 所述步骤 2 作为在所述步骤 1 的基板上部形成孔和多孔性结构物的步骤,可以不

受限制地使用本领域中通常所使用的方法,所述孔和多孔性结构物优选可以用蚀刻方法来实施。蚀刻方法根据基板的材料和材质特性的不同,可以通过本领域通常使用的方法形成蚀刻,本发明的孔和多孔性结构物根据情况的不同,需要形成  $\mu\text{m}$  单位的微细结构,因此使用普通的蚀刻方法可能会存在困难。本发明人为了形成本发明的多孔性结构物,在本领域公知的多种方法中,通过使用化学蚀刻法、电化学蚀刻法、放电加工法或电解加工法来形成所需的多孔性结构物。

[0024] 在上述方法中,化学蚀刻法作为使用多种蚀刻液进行蚀刻的方法,可以根据目的和本领域技术人员的需要制备出具有合适组成的蚀刻液。电化学蚀刻法是本说明书实施例中所实施的方法,放电加工法(EDM, Electro-Discharge Machining)是利用两电极间放电时产生的物理、机械或电气作用实施的方法。这种放电加工可以不受材料强度的限制实施,是一种易加工成平面和立体等复杂形状的方法。此外,放电加工法为表面加工的情况下,可以加工至  $0.1 \mu\text{m} \sim 0.2 \mu\text{m}$ ,从不会因热而导致表面变质的这一方面来看,放电加工法可以实现其它加工法无法实现的目的。在电化学溶解金属材料时,会产生妨碍其进行的作为阳极生成物的金属氧化物膜,最后的电解加工法(ECM, Electro-Chemical Machining)就是在去除所述金属氧化物膜的同时进行加工的方法。电解加工法是将按照要加工成的形状制作的工具作为阴极,将材料作为阳极,再将其两端浸入电解液中,然后通电,材料就会被加工成与阴极表面相同的形状,这种方法可以在普通工具难以加工的超轻合金、耐热钢等的加工中使用。而且,因为工具不旋转,还可以用于非圆形的特殊形状的钻孔上。使用电解加工法的情况下,阴极需要加工成镜面,而且在作为工具的阴极和作为制作物的阳极之间需要维持充分的电流密度。本发明的基板可以通过实施上述方法来形成所需的孔和多孔性结构物。

[0025] 在本发明的具体实施例中确认了以下内容。即,为了在基板上应用孔和多孔性结构物,在实施 ECF (电化学制备, Electro Chemical Fabrication) 方法,对排列在基板上部的胶体纳米颗粒位置以外的其余部分进行蚀刻,从而能够在基板上部形成孔。而且,将由上述方法制备的形成孔结构的基板再次使用  $\text{FeCl}_3$  溶液进行蚀刻后,能够得到本发明所需的孔和多孔性结构物结构。此外,在由该方法制备的基板上应用形成生物膜的微生物的情况下,其结果为能够有效地抑制生物膜。

[0026] 在本发明的实验例中,对 ECF 单独处理和用 ECF、 $\text{FeCl}_3$  的组合处理之间的生物膜形成抑制效果进行了比较,其结果为,确认了 ECF、 $\text{FeCl}_3$  的组合处理在抑制生物膜形成方面更加有效。此外,在实施 ECF 后,实施  $\text{FeCl}_3$  处理时,将  $\text{FeCl}_3$  处理时间按照 1-5 分钟进行实施,从而对抑制生物膜形成效果进行比较,其结果为,在 ECF 后,用  $\text{FeCl}_3$  处理 1 分钟的情况下,在抑制生物膜形成方面最为有效。

[0027] 此外,本领域技术人员可以根据需要或要防止的生物膜的种类的不同,可以改变多孔性结构物的接触角,此时,可以实施多种方法来改变接触角,其中包括用蚀刻液进行处理的方法。本领域技术人员可以根据目的的不同来决定所使用的蚀刻液的种类及浓度,而暴露在蚀刻液的时间和次数可根据常规的方法决定是显而易见的。本发明人通过实验确认,暴露在蚀刻液的时间和次数增加的情况下,可以增加多孔性结构物的接触角。此外,本发明人通过多次实验进行深入研究的结果,确认了随着接触角的增大,微生物附着减少,从而能够更好地抑制生物膜。

[0028] 此外,本发明提供一种用于防止生物膜形成的基板的制备方法,所述制备方法包括以下步骤。

[0029] 1)在基板的上部排列胶体纳米颗粒;

[0030] 2)在上述步骤的基板上涂布保护物质;

[0031] 3)从上述步骤的基板上去除胶体纳米颗粒;及

[0032] 4)在上述步骤的基板上部中的已去除胶体纳米颗粒的部分形成孔和多孔性结构物。

[0033] 此外,在本发明的所述制备方法中,在所述步骤1)和步骤2)之间还可以包括对已排列的胶体纳米颗粒间距进行调节的步骤(步骤1a)。

[0034] 包括本发明结构物的基板的制备过程可分为如下步骤:1)在基板的上部排列胶体纳米颗粒;2)在上述步骤的基板上涂布保护物质;3)从上述步骤的基板上去除胶体纳米颗粒;及4)在上述步骤的基板上部中的已去除胶体纳米颗粒的部分形成孔和多孔性结构物;在所述步骤1)和步骤2)之间还可以选择性地包括对已排列的胶体纳米颗粒间距进行调节的步骤(步骤1a)。

[0035] 所述步骤1和1a与以上用于防止生物膜形成的基板的制备方法中的说明相同。

[0036] 所述步骤2作为在基板上涂布保护物质的步骤,是为了保护基板而使用保护物质对基板进行涂布的步骤,用于在之后实施的形成孔和多孔性结构物的步骤中不形成孔和多孔性结构物。

[0037] 本发明中的保护物质可以使用氧化膜或氮化膜,但并不限于此。

[0038] 所述步骤3作为从基板上去除胶体纳米颗粒的步骤,是为了确保用于形成孔和多孔性结构物的区域,而从基板上去除胶体纳米颗粒的步骤。

[0039] 本发明中用于去除胶体纳米颗粒的方法有使用化学溶液进行去除的方法等,但并不限于此。

[0040] 所述步骤4作为在所述基板上部中的已去除胶体纳米颗粒的部分形成孔和多孔性结构物的步骤,具体的实施方法与所述用于防止生物膜形成的基板的制备方法中的步骤2的说明相同。

[0041] 如上所述,本发明人在基板上排列胶体纳米颗粒后,涂布保护物质,再去除所述胶体纳米颗粒后,在已去除所述胶体纳米颗粒的部分形成孔和多孔性结构物,并在由所述方法制备的基板上应用生物膜形成微生物,其结果,确认能够有效地抑制生物膜。

[0042] 此外,本发明提供一种用于防止生物膜形成的基板,其包括基板、在所述基板上部形成的多个孔,以及在所述基板的整个上表面和所述孔中形成的多孔性结构物。优选地,包括本发明的孔及多孔性结构物的基板,由于所述结构性特征,使得该基板能够形成具有超疏水性表面的微细结构,并具有纳-微多尺度的复合结构物,从而能够防止或抑制因微生物的生长及增殖导致的生物膜形成。

[0043] 本发明的“基板”只要是能够形成本发明的孔及多孔性结构物的材料就不受限制,使用的材料或材质只要是通过将表面处理成所述结构物而具有能够防止生物膜形成的结构,就不受限制。优选地,作为所述材料的例子有金属、聚合物、玻璃等,能够应用于本发明的表面结构物的材料的种类不受上述例子的限制。

[0044] 优选地,所述基板可以是能够塑造成各种形状的挠性基板。具体地,所述基板可以

是不锈钢,在本发明的优选实施例中使用水管等日常生活中广泛使用的不锈钢来形成本发明的结构物,而且确认了包括该结构物的基板能够抑制生物膜的形成。

[0045] 优选地,所述基板可以通过将基板卷成圆筒形形状来实现。圆筒形基板具有容易应用在水质检测传感器等上的优点。此外,所述圆筒形结构物的基板作为具有纳米和微米多孔质结构物的不锈钢,在圆筒内部具有应用 ECF、 $\text{FeCl}_3$  蚀刻方法而形成的纳米和微米多孔质结构。圆筒形基板的厚度可以为数  $\mu\text{m}$  ~ 数百  $\text{mm}$ 。

[0046] 优选地,本发明的“孔”指在基板表面上形成的孔状的结构物,本领域技术人员可以根据需要对孔的直径、间距及深度适当地进行调整。优选地,这些范围朝着对构成生物膜的微生物的生长进行抑制的方向设定。而且,应用在基板上的孔的大小可以均匀或不均匀,只要是能够抑制生物膜的形成,优选形成多种大小和结构的孔。此外,在基板上形成的孔的间距可以均匀或不均匀,可以使用氧等离子体来调节。所述孔的间距优选为  $10\text{nm} \sim 10\mu\text{m}$ ,孔的深度优选为  $10\text{nm} \sim 50\mu\text{m}$ 。对于孔的直径,重要的是将其设定成使微生物无法渗透到该孔的内部,从而使微生物无法生长,因此,优选地,下部直径的大小小于等于所要防止生物膜形成的对象微生物的大小。通常,已知的能形成生物膜的微生物的大小为  $0.1\mu\text{m} \sim 10\mu\text{m}$ ,已知大多数的微生物的大小为  $1\mu\text{m} \sim 3\mu\text{m}$ ,因此,优选地,本领域技术人员可以将下部直径在上述范围内进行适当地调整。

[0047] 本发明的“多孔性结构物”指存在于基板表面上的形状,所述多孔性结构物可根据本领域的技术人员的需要,在表面的整体或一部分上形成。已知的形成生物膜的多种微生物附着于基板表面进行增殖,所述多孔性结构物只要是能够防止或抑制上述微生物的增殖,对所述结构物的形态和数量没有限制。多孔性结构物和孔一样可以构成为规则分布或不规则分布等任何形状。这种结构物可以形成为无法使微生物及其它微生物的生长条件所需的水珠等物质停滞的结构,优选地,所述多孔性结构物的直径可以为  $100\text{nm} \sim 100\mu\text{m}$ ,多孔性结构物之间的间距为  $10\text{nm} \sim 10\mu\text{m}$ ,形成的深度可以为  $1\mu\text{m} \sim 1000\mu\text{m}$ 。

[0048] 如上所述,在基板、基板表面上形成的孔,以及在包括孔的整个表面上形成的多孔性结构物,其能够防止微生物的生存所需要的水珠附着在该基板上,即,通过诱导形成具有超疏水性表面的微细组织,最终能够从源头上阻断微生物自身在基板的表面上附着、生长并增殖的过程。

[0049] 此外,本发明涉及将所述用于防止生物膜形成的基板用作表面,从而防止生物膜形成的方法。

[0050] 在使用本发明的包括孔及多孔性结构物的基板的情况下,能够抑制或防止已知的会形成生物膜的多种微生物或微生物引起的污染和腐蚀。

[0051] 本发明能够抑制的形成生物膜的微生物的种类包括所有本领域已知的形成生物膜的微生物,例如包括绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、海洋红藻(*Delisea pulchra*)、抗甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA, *Methicillin resistant staphylococcus aureus*)、嗜肺军团菌(*Legionella pneumophila*)、沙雷氏菌(*Serratia*)、费氏弧菌(*Vibrio fischeri*)、哈氏弧菌(*Vibrio harveyi*)、产酸克雷伯氏菌(*Klebsiella oxytica*)及阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)等微生物;以大肠菌为首的肠内细菌;白色念珠菌(*Candida albicans*)等真菌(fungi)类;还包括作为海洋有机体的蔓足亚纲(藤壶埃姆皮特里特(줄따개비 엠피트리트))、

巴拉怒斯埃姆皮特里特柯缪尼斯(발라누스 엠파트리트 커뮤니스)、巴拉怒斯乌阿里得伽土斯(발라누스 우아리데가투스)、攻伽巴拉怒斯安替连西斯(메가발라누스 안틸렌시스)、克塔马尔路斯马尔拉安西斯(크타말루스 말라엔시스)、克塔马尔路斯于得西(크타말루스 위더시)及拉帕斯阿那替培拉(라파스 아나티페라)等)、藻类(硅藻类:杜氏藻属、菱形藻属、骨条藻属、卡艾苏瑟路斯(카에소세로스)属及杜氏藻属太尔替乌雷塔(두날리엘라 테르티오렉타)、中肋骨条藻种)、斑纹蚌类、管形端足类、红藻类、软体类、贝类、红色和褐色苔藓虫类、海鞘属(ascidian)、多毛虫、蚌、水螅虫、苔藓动物、蚝、乌尔巴(ulba)、浒苔(enteromorpha)、埃托克鲁布斯(액토코르푸스(ectocorpus))、牡蛎属(ostrea)、贻贝属(mytilus)、史莱姆(slime);海洋莴苣(sea lettuce)、青海菜(green laver)及海洋绿藻(marine spirogyra)等生物,但本发明可抑制的生物膜种类并不限于上述例子。即,本发明的抑制方法在于通过物理结构来防止生物的生存及繁殖,而不是使用与形成生物膜的微生物反应的化学物质或其它微生物的方法,因此可以不受这些微生物种类的限制,而有效地抑制其生长及增殖。

[0052] 此外,本发明提供一种包括所述用于防止生物膜形成的基板的水质检测传感器。

[0053] 本发明中,将用于防止生物膜形成的基板结合到水质检测传感器内的方法,可以不受限制地使用本领域中通常所使用的方法。

[0054] 优选地,作为所述基板,通过使用能够塑造成各种形状的挠性基板,可以将所述基板卷成圆筒形形状,而且应用ECF、FeCl<sub>3</sub>方法在圆筒形不锈钢内壁上形成纳米及微米多孔结构,制备具有所述纳米及微米多孔结构的圆筒形形状的基板,从而能够容易地将其结合到水质检测传感器中。

[0055] 所述圆筒形基板作为具有纳米及微米多孔质结构的不锈钢,可以应用ECF、FeCl<sub>3</sub>蚀刻方法在圆筒内部制作纳米及微米多孔质结构。圆筒形基板的厚度可以为数μm~数百mm。

#### [0056] 有益效果

[0057] 将本发明的用于防止生物膜形成的基板结合到水质检测传感器中,能够从源头阻断及抑制该水质检测传感器表面上形成生物膜,从而防止或抑制微生物或海洋生物体引起的污染和腐蚀,由此能够提高检测水质污染的传感器的灵敏度和再现性。

#### 附图说明

[0058] 图1是在挠性不锈钢基板的表面上涂布PS纳米微球工序的简略示意图。

[0059] 图2是在挠性不锈钢基板上所涂布的PS纳米微球形态的示意图。

[0060] 图3是不去除PS纳米微球来对挠性不锈钢基板进行蚀刻的工序的简略工序图。

[0061] 图4是去除PS纳米微球来对挠性不锈钢基板进行蚀刻的工序的简略工序图。

[0062] 图5是使用本发明的用于防止生物膜形成的挠性基板制作的水质检测传感器结构的简略示意图。此时,(a)是不锈钢基板被一体化封装在水质检测传感器上的结构的整体形态的简略示意图,(b)是对用作所述传感器保护网的基板的表面结构进行扩大的示意图。

[0063] 图6是表示本发明用于防止生物膜形成的挠性基板表面形态的SEM影像。此时,

(a) 为不去除 PS 纳米微球, 只进行 ECF 蚀刻处理的情况下的形态, (b) 为不去除 PS 纳米微球, 实施 ECF 和 FeCl<sub>3</sub>蚀刻处理情况下的形态, (c) 为去除 PS 纳米微球, 只进行 ECF 蚀刻处理情况下的形态, (d) 为去除 PS 纳米微球, 实施 ECF 和 FeCl<sub>3</sub>蚀刻处理情况下的形态。

[0064] 图 7 表示对实施例 4~6 的用于防止生物膜形成的挠性基板实施微生物培养及生物膜形成实验结果, 通过流管(异管)进行观察的形态。此时, (a) 为实施例 4, (b) 为实施例 5, (c) 为实施例 6 的用于防止生物膜形成的挠性基板的形态。

[0065] 图 8~图 10 表示对下述三种基板实施微生物培养及生物膜形成实验的结果, 分别用 50 倍率(图 8)、150 倍率(图 9)及 600 倍率(图 10)的光学显微镜观察的形态, 所述三种基板为实施例 4~6 的用于防止生物膜形成的挠性基板; 作为对照组的不使用纳米微球而没有形成图案, 且没有进行蚀刻处理的挠性基板; 用 FeCl<sub>3</sub>分别进行 1 分钟、3 分钟及 5 分钟蚀刻处理的挠性基板。此时, (1) 为没有进行蚀刻处理的非图案化基板, (2) 为用 FeCl<sub>3</sub>进行 1 分钟蚀刻处理的非图案化基板, (3) 为用 FeCl<sub>3</sub>进行 3 分钟蚀刻处理的非图案化基板, (4) 为用 FeCl<sub>3</sub>进行 5 分钟蚀刻处理的非图案化基板, (5) 为实施例 4, (6) 为实施例 5, (7) 为实施例 6 的用于防止生物膜形成的挠性基板的形态。

[0066] 图 11 是表示随接触角变化的微生物附着程度的图。

## 具体实施方式

[0067] 下面, 参照下述实施例具体说明本发明。但是, 下述实施例是为了有助于理解本发明, 本发明的范围并不限于下述实施例。

### 实施例 1. 用于防止生物膜形成的挠性基板的制作

[0069] 首先, 通过化学机械研磨(CMP)工序将不锈钢(SUS304)制品研磨成数十微米厚度来制作挠性基板。

[0070] 之后, 准备分散有 100nm ~ 100 μm 大小的 PS (聚苯乙烯, Polystyrene) 纳米微球颗粒(胶体纳米颗粒)的 200nm 乙醇水溶液。

[0071] 将所述分散有纳米微球颗粒的分散液涂布在上述制作好的挠性基板上, 从而将纳米微球颗粒排列成单层。之后, 用丙酮洗涤, 并使用 D. I 和氮对挠性不锈钢表面进行干燥。在挠性不锈钢基板的表面上涂布 PS 纳米微球的工序如图 1 所示, 在挠性不锈钢基板上涂布的 PS 纳米微球的形态如图 2 所示。

[0072] 之后, 使用氧等离子体将 PS 纳米微球颗粒的间距调节成 10nm ~ 5 μm。

[0073] 之后, 用 ECF 方法对排列有所述 PS 纳米微球颗粒的基板进行蚀刻处理, 从而制得本发明的用于防止生物膜形成的挠性基板。制作用于防止生物膜形成的挠性基板的整个制作工序如图 3 所示。

### 实施例 2. 用于防止生物膜形成的挠性基板的制作

[0075] 首先, 通过化学机械研磨(CMP)工序将不锈钢(SUS304)制品研磨成数十微米厚度来制作挠性基板。

[0076] 之后, 准备分散有 100nm ~ 100 μm 大小的 PS (Polystyrene) 纳米微球颗粒(胶体纳米颗粒)的 200nm 乙醇水溶液。

[0077] 将所述分散有纳米微球颗粒的分散液涂布在上述制作好的挠性基板上, 从而将纳米微球颗粒排列成单层。之后, 用丙酮洗涤, 并使用 D. I 和氮对挠性不锈钢表面进行干燥。

在挠性不锈钢基板的表面上涂布 PS 纳米微球的工序如图 1 所示, 在挠性不锈钢基板上涂布的 PS 纳米微球的形态如图 2 所示。

[0078] 之后, 使用氧等离子体将 PS 纳米微球颗粒的间距调节成  $10\text{nm} \sim 5\mu\text{m}$ 。

[0079] 之后, 用 ECF 方法对排列有所述 PS 纳米微球颗粒的基板进行蚀刻处理, 并使用  $\text{FeCl}_3$  溶液进一步进行 1 分钟蚀刻处理, 从而制得本发明的用于防止生物膜形成的挠性基板。制作用于防止生物膜形成的挠性基板的整个制作工序如图 3 所示。

[0080] 实施例 3. 用于防止生物膜形成的挠性基板的制作

[0081] 首先, 通过化学机械研磨(CMP)工序将不锈钢(SUS304)制品研磨成数十微米厚度来制作挠性基板。

[0082] 之后, 准备分散有  $100\text{nm} \sim 100\mu\text{m}$  大小的 PS 纳米微球颗粒(胶体纳米颗粒)的 200nm 乙醇水溶液。

[0083] 将所述分散有纳米微球颗粒的分散液涂布在上述制作好的挠性基板上, 从而将纳米微球颗粒排列成单层。之后, 用丙酮洗涤, 并使用 D. I 和氮对挠性不锈钢表面进行干燥。在挠性不锈钢基板的表面上涂布 PS 纳米微球的工序如图 1 所示, 在挠性不锈钢基板上涂布的 PS 纳米微球的形态如图 2 所示。

[0084] 之后, 使用氧等离子体将 PS 纳米微球颗粒的间距调节成  $10\text{nm} \sim 5\mu\text{m}$ 。

[0085] 之后, 用氧等离子体对排列有所述 PS 纳米微球颗粒的基板进行处理, 在所述基板上涂布保护物质后, 从所述基板上去除 PS 纳米微球颗粒。

[0086] 之后, 用 ECF 方法对去除了所述 PS 纳米微球颗粒的基板进行蚀刻处理, 从而制得本发明的用于防止生物膜形成的挠性基板。用于防止生物膜形成的挠性基板的整个制作工序如图 4 所示。

[0087] 实施例 4~6. 用于防止生物膜形成的挠性基板的制作

[0088] 首先, 通过化学机械研磨(CMP)工序将不锈钢(SUS304)制品研磨成数十微米厚度来制作挠性基板。

[0089] 之后, 准备分散有  $100\text{nm} \sim 100\mu\text{m}$  大小的 PS 纳米微球颗粒(胶体纳米颗粒)的 200nm 乙醇水溶液。

[0090] 将所述分散有纳米微球颗粒的分散液涂布在上述制作好的挠性基板上, 从而将纳米微球颗粒排列成单层。之后, 用丙酮洗涤, 并使用 D. I 和氮对挠性不锈钢表面进行干燥。在挠性不锈钢基板的表面上涂布 PS 纳米微球的工序如图 1 所示, 在挠性不锈钢基板上涂布的 PS 纳米微球的形态如图 2 所示。

[0091] 之后, 使用氧等离子体将 PS 纳米微球颗粒的间距调节成  $10\text{nm} \sim 5\mu\text{m}$ 。

[0092] 之后, 用氧等离子体对排列有所述 PS 纳米微球颗粒的基板进行处理, 在所述基板上涂布保护物质后, 从所述基板上去除 PS 纳米微球颗粒。

[0093] 之后, 用 ECF 方法对去除了所述 PS 纳米微球颗粒的基板进行蚀刻处理后, 使用  $\text{FeCl}_3$  溶液分别进一步进行 1 分钟、3 分钟及 5 分钟的蚀刻处理, 从而制得实施例 4~6 的本发明的用于防止生物膜形成的挠性基板。用于防止生物膜形成的挠性基板的制作工序如图 4 所示。

[0094] 实施例 7. 包括用于防止生物膜形成的挠性基板的水质检测传感器的制作

[0095] 如图 5 所示, 将所述实施例 1~实施例 6 中任一个实施例中制作的用于防止生物

膜形成的不锈钢基板用作水质检测传感器的保护网,制作水质检测传感器。

[0096] 图 5 中的(a)是不锈钢基板被一体化封装在水质检测传感器上 的结构的整体形态的简略示意图,(b)是对用作所述传感器保护网的基板的表面结构进行扩大的图。

[0097] 实验例 1. 用于防止生物膜形成的不锈钢基板的表面形态调查

[0098] 用扫描电子显微镜(SEM)观察所述实施例 1 ~ 4 制得的用于防止生物膜形成的挠性基板的表面。

[0099] 其结果如图 6 所示。

[0100] 图 6 中,(a)表示实施例 1 的 SEM 影像,(b)表示实施例 2 的 SEM 影像,(c)表示实施例 3 的 SEM 影像,(d)表示实施例 4 的 SEM 影像。

[0101] 通过图 6 可知,实施 ECF 及 FeCl<sub>3</sub>组合处理的实施例 2 及 4 的表面(b 及 d),比只实施 ECF 处理的实施例 1 及 3 的表面(a 及 c)相对粗糙,并可以看到形成有纳米尺寸的气孔。此时,对表面粗糙度进行测定,测定的 Ra 值分别如下:(a)为 0.28 μm、(b)为 2.99 μm、(c)为 0.05 μm、(d)为 2.23 μm。

[0102] 实验例 2. 微生物培养及生物膜的形成

[0103] 对所述实施例 4 ~ 6 的用于防止生物膜形成的挠性基板,实施如下微生物培养及生物膜形成实验。

[0104] 微生物使用绿脓杆菌(KCTC1750)。进行固体培养基(营养琼脂培养基(nutrient agar))培养及单克隆(single colony)分离后,在 37℃下,进行 12 小时的液体培养(M9 介质(M9medium))。为了在基板切片(침)表面上形成生物膜,在培养皿(Petri dish)上放上基板切片后,分别倒入 30ml 微生物培养液(OD ~ 0.1),并在 37℃下,培养 3 ~ 4 天。

[0105] 准备没有使用纳米微球而未形成图案的不锈钢基板作为对照组,并制备没进行蚀刻处理的所述非图案化不锈钢基板和用 FeCl<sub>3</sub>分别进行 1 分钟、3 分钟及 5 分钟蚀刻处理的不锈钢基板,用同样的条件实施微生物培养实验。

[0106] 用流管观察的所述各基板表面的结果如图 7 所示。

[0107] 通过图 7 可知,实施 ECF 后,用 FeCl<sub>3</sub>处理 1 分钟的实施例 4 的用于防止生物膜形成的不锈钢基板,在抑制形成生物膜方面最为有效。

[0108] 此外,用光学显微镜观察所述各基板的表面,调查生物膜形成程度。

[0109] 其结果如图 8 (50 倍率)、图 9 (150 倍率) 及图 10 (600 倍率) 所示。

[0110] 通过图 8 ~ 图 10 可知,实施 ECF 后,用 FeCl<sub>3</sub>处理 1 分钟的实施例 4 的用于防止生物膜形成的不锈钢基板,在抑制形成生物膜方面最为有效。

[0111] 实验例 3. 随接触角变化的微生物附着程度调查

[0112] 首先,对 FeCl<sub>3</sub>蚀刻处理时间不同的所述实施例 4 ~ 6 的用于防止生物膜形成的不锈钢基板的接触角进行调查。

[0113] 其结果,实施例 4 为 74.2° (5 次),实施例 5 为 49.8° (6 次),实施例 6 为 22.6° (7 次)。

[0114] 通过所述结果可知,FeCl<sub>3</sub>的蚀刻处理时间越长,接触角减小。

[0115] 为了更为准确地比较随接触角变化的微生物的附着程度,将在所述实验例 2 中调查的生物膜形成程度的照片,图示在表示蚀刻处理时间和接触角之间关系的图表上,如图 11 所示。

[0116] 通过图 11 可知,  $\text{FeCl}_3$  的蚀刻处理时间越短, 从而接触角更大的实施例 4 的用于防止生物膜形成的不锈钢基板中, 微生物的附着程度更低。

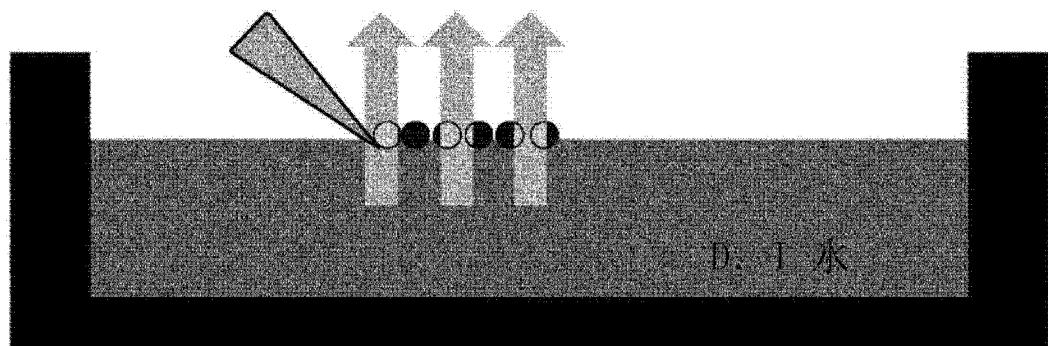


图 1

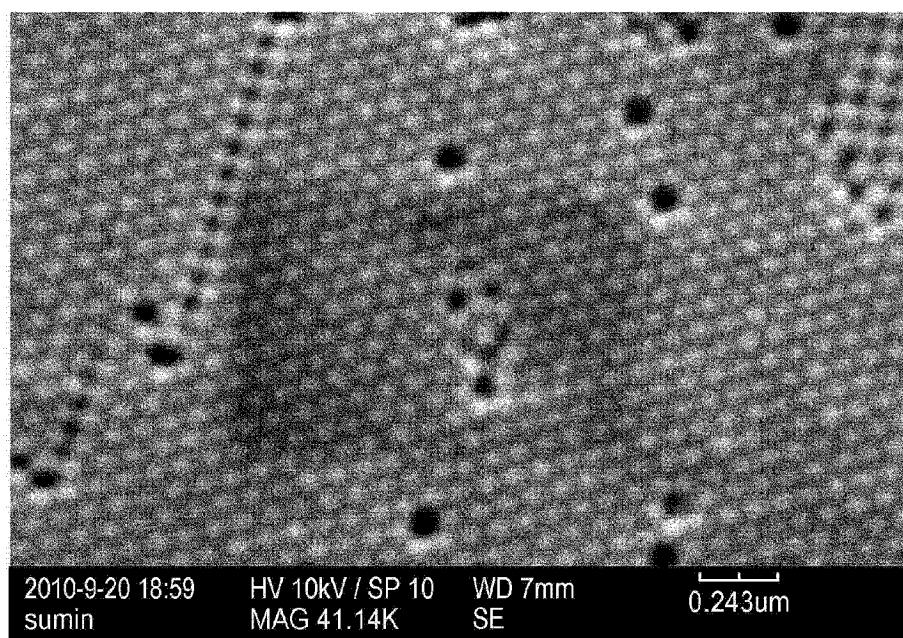


图 2

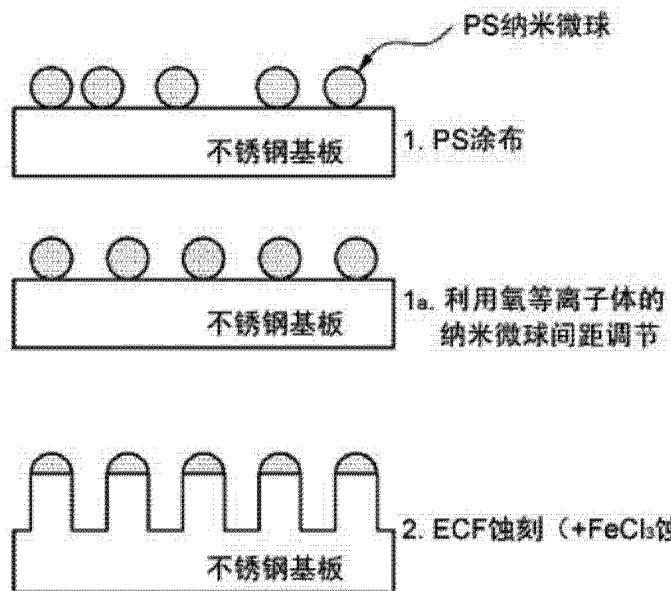


图 3

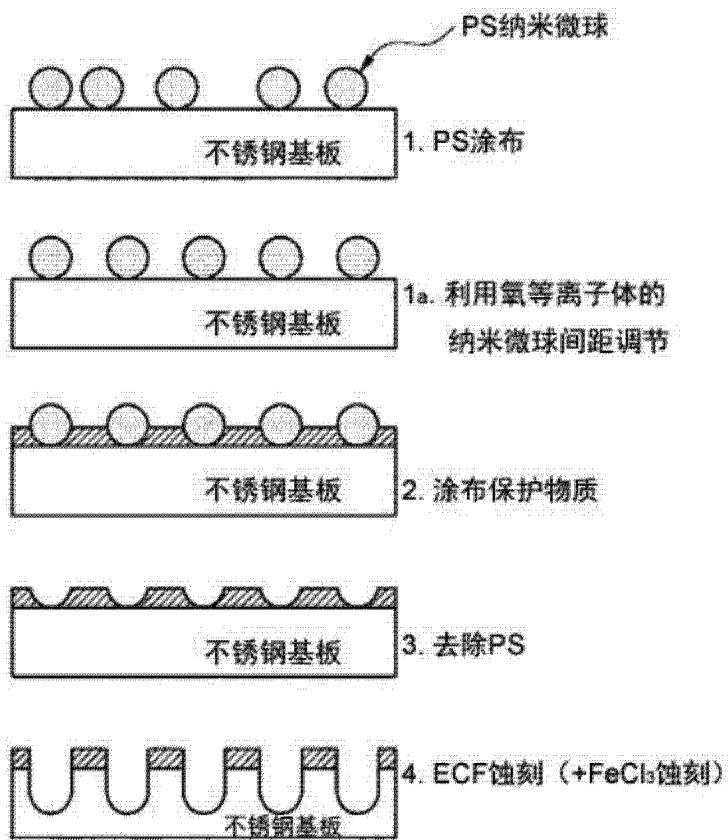


图 4

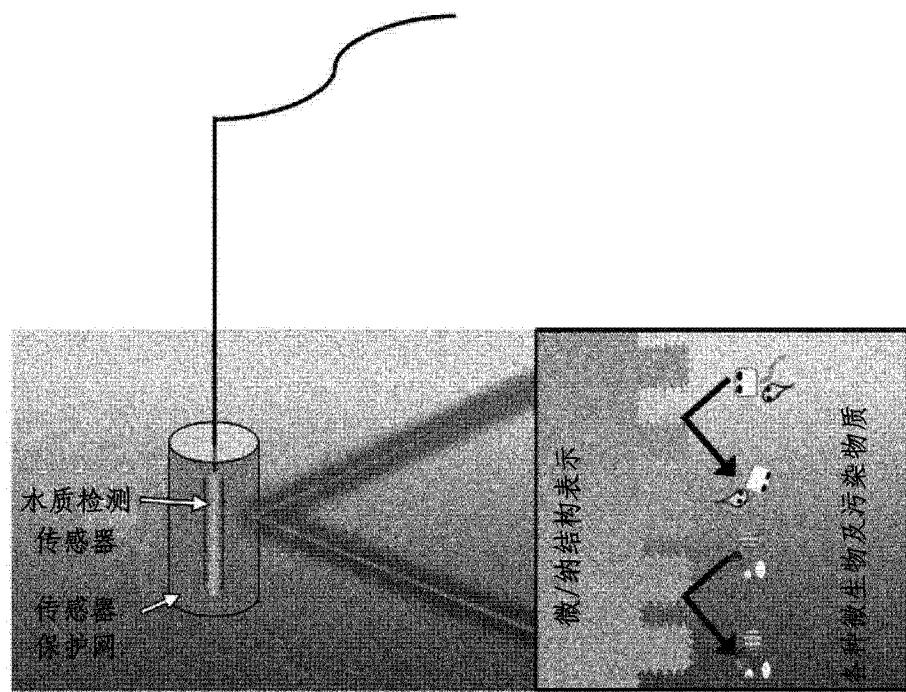


图 5

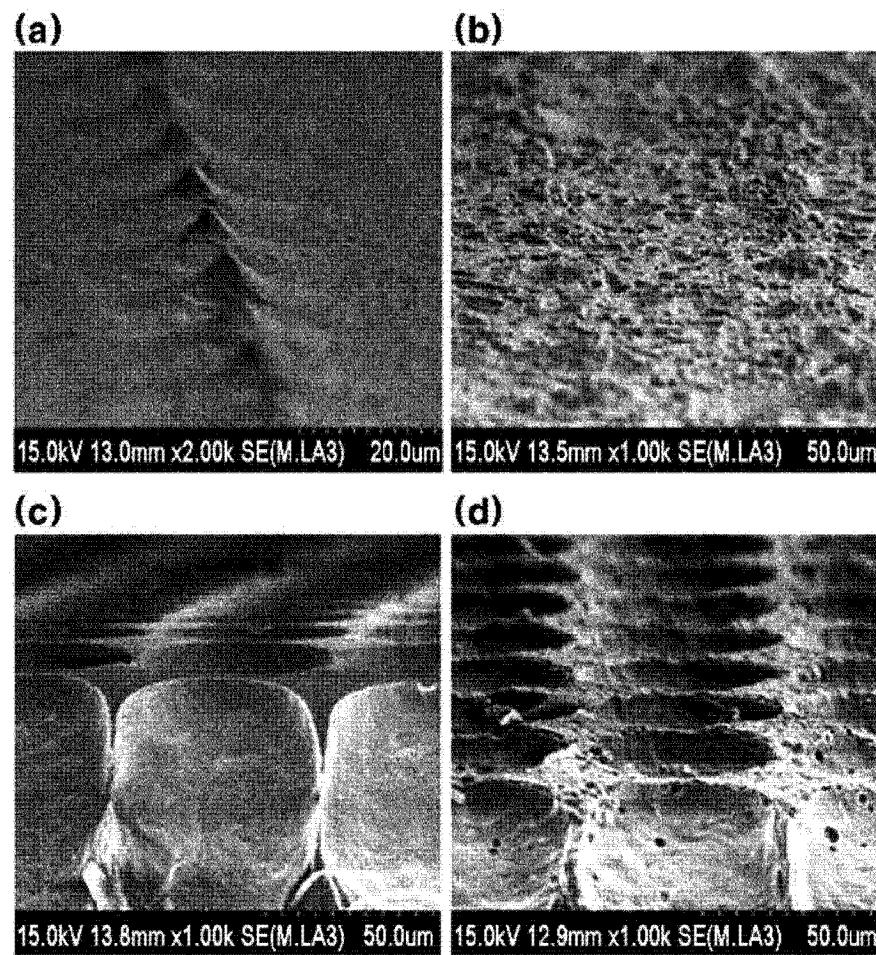


图 6

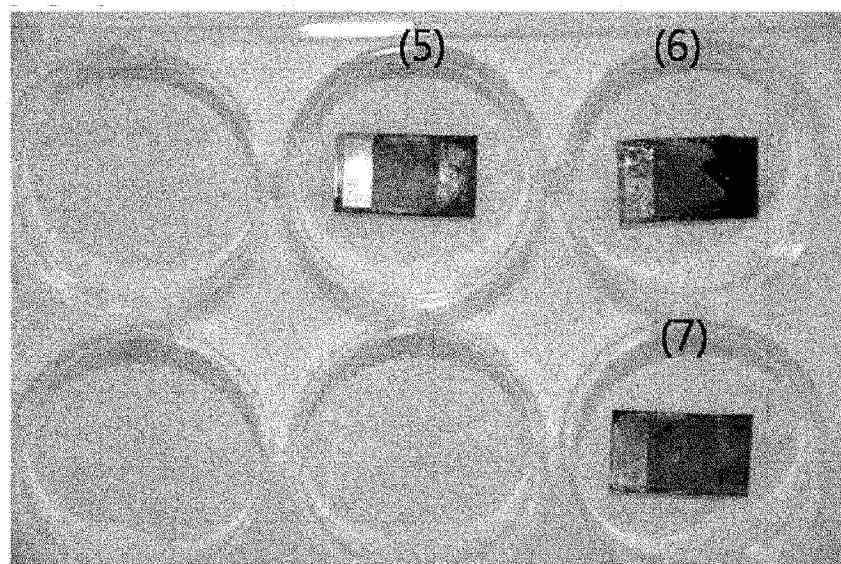


图 7

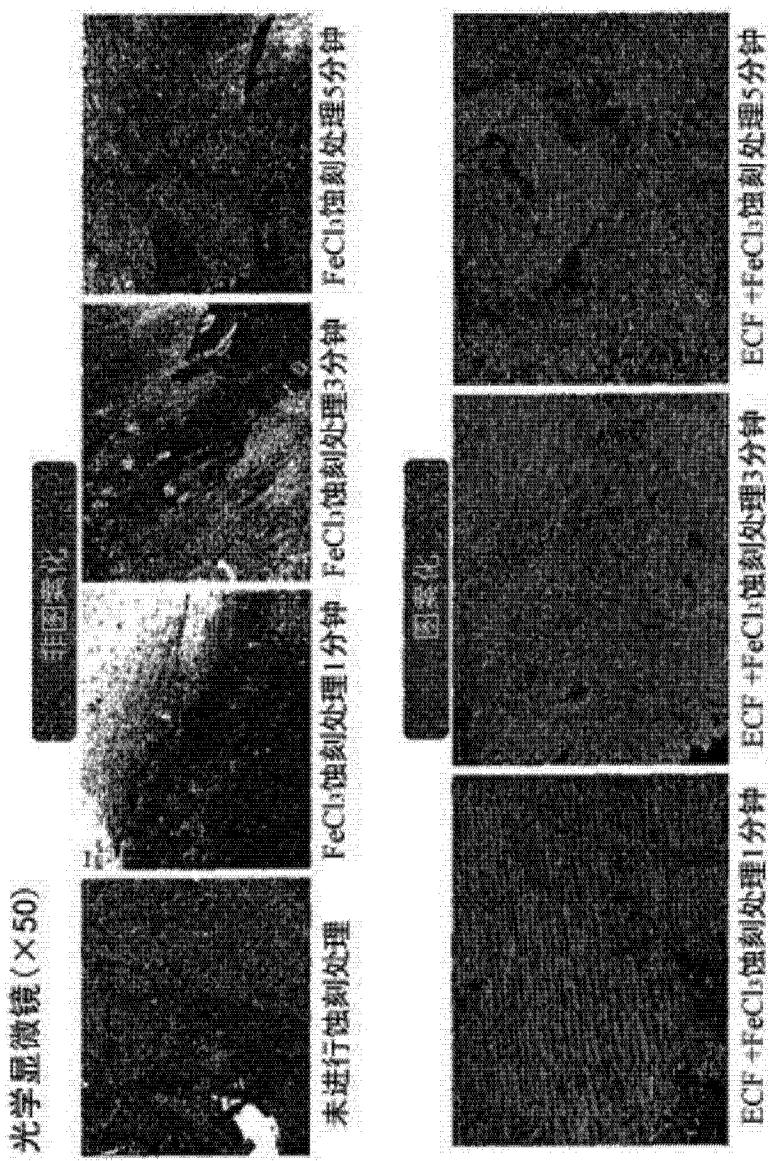


图 8

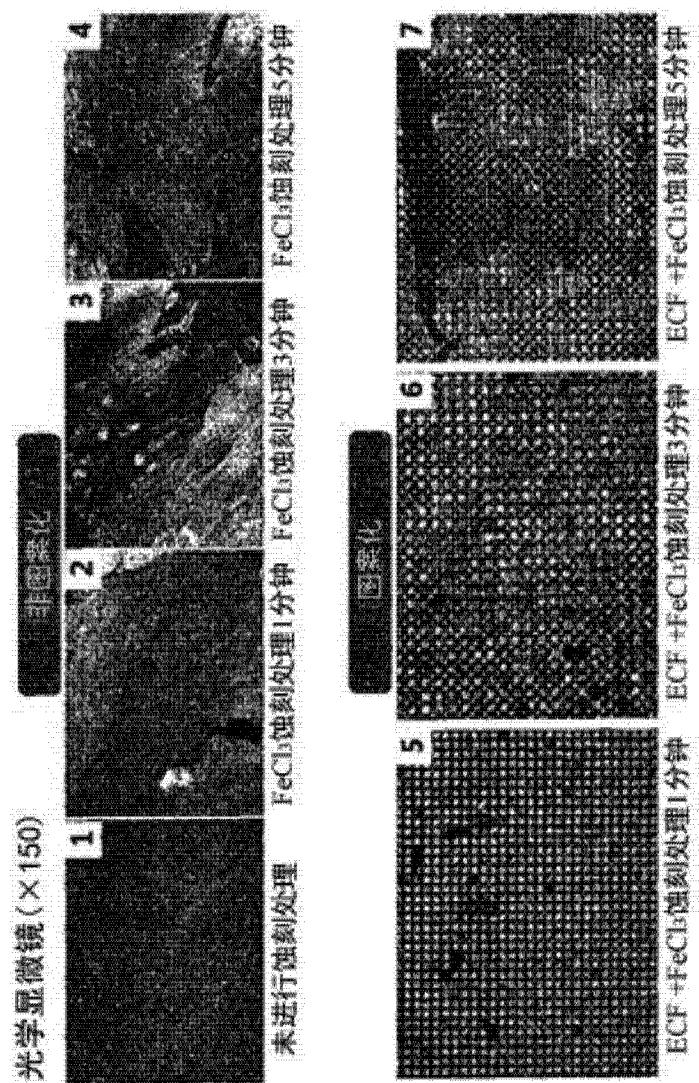


图 9

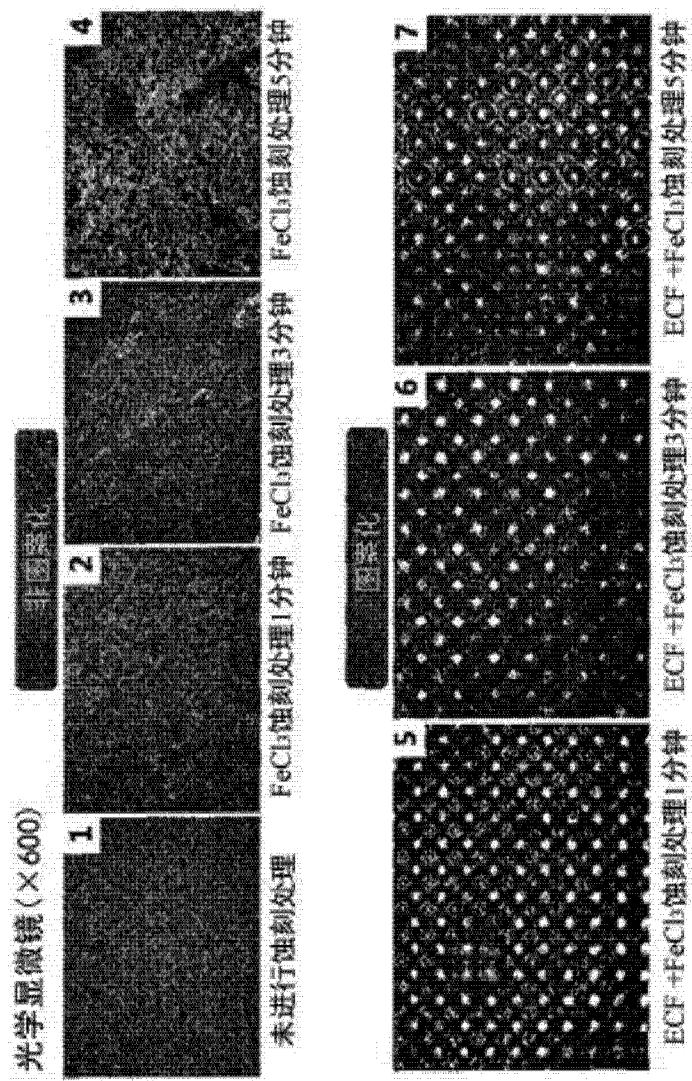


图 10

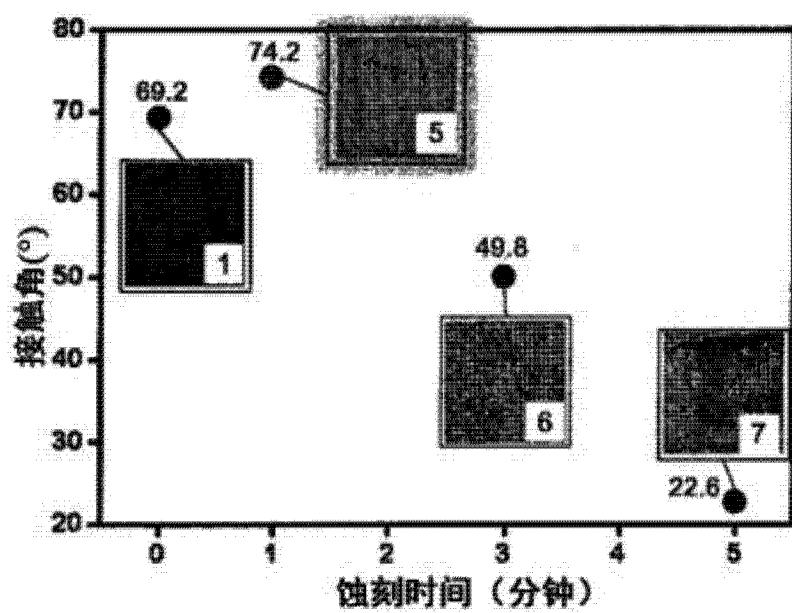


图 11