

## 改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜对腐败希瓦氏菌生物被膜的抑制作用

杨峻乙<sup>1</sup>, 张家涛<sup>1,2</sup>, 刘亮军<sup>1</sup>, 李秀霞<sup>1</sup>, 王莉丽<sup>1</sup>, 杨旭<sup>3</sup>, 孙彤<sup>1\*</sup>, 励建荣<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>渤海大学食品科学与工程学院 海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心 辽宁锦州 121013

<sup>2</sup>内蒙古农业大学食品科学与工程学院 呼和浩特 010018

<sup>3</sup>民泽龙羊峡生态水殖有限公司 青海海南藏族自治州 811800)

**摘要** 为获得对水产品中腐败希瓦氏菌生物被膜具有优良抑制性能的水性聚氨酯(WPU)涂膜,以不同微观形貌的 SiO<sub>x</sub> 微纳米粒子为粗糙度构建因子,采用滴涂法制备 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜,测定改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面的疏水疏油性能、表面能、微观形貌和热稳定性,揭示改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜对腐败希瓦氏菌生物被膜的抑制机制。结果表明,以十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)改性的 SiO<sub>x</sub> 颗粒为粗糙度构建因子制备的 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜,尽管表面氟含量最高,但其水和正十六烷接触角分别为 139.0°±3.5°和 0°,仅表现为疏水超亲油性,热稳定性和抗细菌黏附性最差;改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表现为超疏水超亲油性,热稳定性最好,且可以抑制腐败希瓦氏菌的初期黏附;以改进的 Stöber 法在同一溶剂体系中制备和改性 SiO<sub>x</sub> 微纳米粒子为粗糙度构建因子制备的改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜为超双疏表面,热稳定性较高,对腐败希瓦氏菌不可逆黏附的抑制最好,可有效降低生物被膜的代谢活性,减少胞外多糖(EPS)的分泌,培养 24 h 后其表面刚开始形成微菌落。本研究的超双疏性改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜可用于制备食品包装材料,为抗生物被膜材料在食品包装领域的应用提供技术支持。

**关键词** SiO<sub>x</sub>; 水性聚氨酯; 超双疏; 涂膜; 腐败希瓦氏菌; 生物被膜

**文章编号** 1009-7848(2023)10-0216-13 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.10.022

细菌生物被膜(Biofilm, BF)是一种复杂的细菌聚集膜,由细菌分泌的胞外多糖、纤维蛋白、脂质蛋白等物质组成,是地球上分布最广、最成功的生命模式,被定义为“微生物的聚集体”,是细菌生长过程中形成的一种天然保护状态<sup>[1-2]</sup>。物体表面 99.9% 的细菌以生物被膜形式存在<sup>[3]</sup>。生物被膜使菌体成为结构复杂的高度组织化群体,其形成包括黏附期、生长期、成熟期、分散期 4 个阶段的动态过程<sup>[1,4]</sup>,对细菌菌体具有强烈的保护作用。

1997 年,Neinhuis 等<sup>[5]</sup>和 Barthlott 等<sup>[6]</sup>发现,植物表面的微观结构粗糙度及表皮蜡的疏水特性的结合使植物具有自清洁和超疏水性能,称之为“莲花效应”。基于生物界的这种发现,人们制备出水接触角大于 150°,滚动角小于 10°的超疏水表面,具有低表面能和特殊的浸润性,能够有效减少细

菌细胞与材料表面之间的黏附<sup>[7-8]</sup>。由于超疏水表面具有独特的浸润性能,使其在自清洁、抗细菌黏附、防冰、油水分离等领域有广泛的应用前景<sup>[9]</sup>。然而,有研究表明,超疏水表面长期暴露于潮湿环境后仍有被浸润的风险,随着时间的推移,细菌会在材料表面附着,使其失去抗菌性能,这种现象在超疏水材料表面较为常见<sup>[7,10]</sup>。基于此,人们通过对超疏水表面制备原理的认识与研究,制备出超双疏表面,然而其在实际应用中的范围较窄,这是由于其表面性能不太稳定<sup>[11-12]</sup>。

纳米 SiO<sub>x</sub> 是一种无毒、无味的无机非金属材料,易制备、易改性、粒径可控,可作为抗拮剂加入脱水蛋制品、饮料、乳制品等食品中<sup>[13-15]</sup>。聚氨酯(Polyurethane, PU)是一种新兴高分子聚合物,其链段结构由软段和硬段交替构成,且主链中含有氨基甲酸酯(-NHCOO-)结构单元<sup>[16]</sup>。水性聚氨酯(Waterborne polyurethane, WPU)是以水代替有机溶剂为分散相的二元胶态体系,无毒、无污染,在纺织、皮革、涂层、生物医药等领域被广泛应用<sup>[17-18]</sup>。水性聚氨酯涂料化学性质稳定,无毒、无味,是一种环保型高分子聚合物弹性防水材料<sup>[19]</sup>。

**收稿日期:** 2022-10-15

**基金项目:** 辽宁省教育厅科研项目(LJKMZ20221488);国家重点研发计划蓝色粮仓科技创新重点专项(2019YFD0901702)

**第一作者:** 杨峻乙,女,硕士生

**通信作者:** 孙彤 E-mail: jzsuntong@sina.com

腐败希瓦氏菌(*Shewanella putrefaciens*)为耐冷革兰氏阴性菌,能够还原氧化三甲胺(TMAO)产生硫化氢、三甲胺(TMA)及氨基酸代谢产物等,易黏附于材料表面,从而形成生物被膜,有很强的致腐能力,是一种典型的水产品优势腐败菌<sup>[20-22]</sup>。

本文采用 Stöber 法在同一溶剂体系中制备和改性 SiO<sub>x</sub> 微纳米粒子,然后以水性聚氨酯为成膜材料,制备改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜。研究该涂膜对水产品中腐败希瓦氏菌生物被膜的抑制机制,以拓宽超双疏涂膜在食品保鲜领域的应用,并提供技术支持。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

疏水气相纳米 SiO<sub>x</sub> 颗粒、微米级 SiO<sub>x</sub> 颗粒,上海凇恩科技发展有限公司;腐败希瓦氏菌(*Shewanella putrefaciens*, ATCC 8071) 为渤海大学食品安全实验室保存;超微量 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP 酶测定试剂盒、碱性磷酸酶(AKPase)测定试剂盒,南京建成生物工程研究所;考马斯亮蓝试剂盒,国药集团化学试剂有限公司;去离子水为实验室自制,电导率<15 μS/cm;其它试剂均为分析纯级。

### 1.2 仪器与设备

电子分析天平(型号:FA2204C),上海天美天平仪器有限公司;磁力搅拌器(型号:SN-MS-3D),上海尚普仪器设备有限公司;真空干燥箱(型号:DZF-1B),郵城威瑞科教仪器有限公司;场发射扫描电镜(型号:S-4800),日本日立公司;原子力显微镜(型号:XE-70),韩国 Park Systems 公司;差示扫描量热仪(型号:Q2000),上海蔡睿科学仪器有限公司;傅里叶变换红外光谱仪(型号:Scimitar 2000 Near FT-IR Spectrometer),美国安捷伦公司;X 射线粉末衍射仪(型号:Rigaku Ultima IV),日本理学株式会社;视频光学接触角测量仪(型号:OCA 25),德国数据物理仪器有限公司;X 射线光电子能谱仪(XPS)(型号:Thermo Scientific K-Alpha),赛默飞世尔科技公司;鼓风干燥箱(型号:DHA-9423A),上海精宏实验设备有限公司;立式高压灭菌锅(型号:MLS-3030CH),日本三洋有限公司;生化培养箱(型号:LRH-150),上海一恒科技有限公司;台式恒温振荡箱(型号:THZ-

D),太仓市实验设备厂;酶标仪(型号:Victor X3),上海珀金埃尔默仪器有限公司。

### 1.3 改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的制备及表征

1.3.1 改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的制备 将 0.2400 g CTAB、24.00 mL 无水乙醇和 3.00 mL 氨水(28%)依次加入 24.00 mL 去离子水中,搅拌溶解后逐滴加入 3.00 mL 正硅酸乙酯(TEOS),常温继续搅拌 3 h,得 SiO<sub>x</sub> 混悬液。过滤混悬液并用去离子水和无水乙醇分别洗涤滤渣 3 次,滤渣在 60 °C、0.6 MPa 条件下真空干燥 2 h,得 C-SiO<sub>x</sub> 颗粒。

分别取 0.3000 g 的气相纳米 SiO<sub>x</sub> 颗粒、微米级 SiO<sub>x</sub> 颗粒和 C-SiO<sub>x</sub> 颗粒与 30.00 mL 无水乙醇超声后的悬浊液,逐滴加入 3.00 mL 的 TEOS 后依次加入 6.00 mL 氨水(28%)和 300 μL <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H, <sup>2</sup>H, <sup>2</sup>H-全氟辛基三氯硅烷(PFOTS),室温条件下搅拌 6 h,再次加入 150 μL PFOTS,室温条件下继续搅拌 2 h,反应结束后过滤,并用 10.00 mL 无水乙醇洗涤滤渣,重复 3 次,随后在 55 °C、0.6 MPa 的条件下真空干燥 2 h,分别得改性气相纳米 SiO<sub>x</sub> 颗粒、改性微米级 SiO<sub>x</sub> 颗粒和 C-SiO<sub>x</sub> 颗粒。

将 4.0%(m/V) 的改性 SiO<sub>x</sub> 颗粒与 0.1800 g WPU、2.30 mL 无水乙醇和 2.70 mL 乙酸乙酯超声混合溶液在室温条件下搅拌 1 h,得改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜液。采用滴涂法在 5 cm×5 cm 的聚氯乙烯(PVC)薄片上滴涂 1.20 mL 的涂膜液,室温晾干后,于 55 °C 烘箱烘干 6 h,得改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜。

1.3.2 SiO<sub>x</sub> 颗粒及涂膜的表征分析 采用场发射扫描电子显微镜(SEM)观察改性 SiO<sub>x</sub> 颗粒及改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的微观结构。喷金条件为:20 kV, 3 min;测定电压为:1.5 kV 或 1.0 kV。

在 40 kV, 50 mA, CuKα 辐射,步宽 0.02°,扫描范围 5°~40°条件下,采用 X 射线粉末衍射仪(XRD)对改性 SiO<sub>x</sub> 微纳米粒子及改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜样品进行晶型分析。

采用傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR)对改性后的 SiO<sub>x</sub> 颗粒进行 FT-IR 光谱扫描,波长范围为 4 000~500 cm<sup>-1</sup>,步宽为 2 cm<sup>-1</sup>。

将滴涂有改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的 PVC 薄片裁成 5 mm×5 mm 大小,在 15 kV 和 150 W 的条件下,以与样品表面呈 90°的起飞角收集光电子,采用 X 射线光电子能谱(XPS)对样品进行元素分析。

SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面的 3D 轮廓形貌及其平均粗糙度采用原子力显微镜(AFM)进行表征。

称取 3~8 mg 样品,采用差示扫描量热仪(DSC)测定涂膜的热稳定性,测定条件:升温速率为 10.00 °C/min,升温范围为 20~250 °C,氮气环境。

称取 5~10 mg 样品,采用热重分析仪(TGA)在 20.0 mL/min 的氮气流量,10.00 °C/min 的加热速率下测定涂膜的热稳定性,测定温度范围为 30~650 °C。

1.3.3 浸润性能和表面能测定 参考《纳米材料超双疏性能检测方法》(GB/T 26490-2011)<sup>[23]</sup>,测定改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的水接触角和正十六烷接触角。用 Owens-Wendt-Rabel-Kaelble (OWRK)法计算表面自由能<sup>[24]</sup>。

#### 1.4 腐败希瓦氏菌生物被膜相关指标测定

##### 1.4.1 涂膜表面腐败希瓦氏菌生长曲线的测定

取在 28 °C、OD<sub>595nm</sub> 值约为 0.5 的腐败希瓦氏菌菌悬液中培养一定时间的涂膜,用 1 mL 无菌 PBS 溶液(0.1 mol/L, pH=7.4)洗 3 次,以除去其表面的浮游菌,随后将涂膜置于装有 10 mL 无菌 PBS 的离心管中,224 W 53 kHz 超声处理 10 min,以剥离涂膜表面的生物被膜。取 1 mL 超声后的菌悬液加入到 9 mL 无菌 PBS(0.1 mol/L, pH=7.4)中进行 10 倍梯度稀释,按照 GB 4789.2-2016 的方法进行平板计数<sup>[25]</sup>。

1.4.2 涂膜表面腐败希瓦氏菌生物被膜的微观结构观察 取培养 4, 12, 24 h 后的涂膜,超声剥离生物被膜,在 4 °C, 3 000×g 条件下离心 10 min,弃去上清液,立即加入 1 mL 2.5%(体积分数)戊二醛溶液固定 2 h。1 mL 无菌水离心洗涤 2 次后,依次用 1 mL 50%, 70%, 80%, 90%(体积分数)的乙醇溶液脱水处理 30 min,最后用 1 mL 无水乙醇脱水处理 1 h。将已固定的被膜菌无水乙醇溶液少量多次的滴到细胞爬片上,室温晾干后,于 37 °C 干燥 12 h。用 SEM 观察被膜菌的微观形貌和黏附团聚状况。

##### 1.4.3 涂膜表面腐败希瓦氏菌生物被膜相关指标的测定

1) 胞外多糖(EPS)的测定 取在菌悬液中培养一定时间的涂膜,用 1 mL 的无菌 PBS(0.1 mol/

L, pH=7.4)洗 3 次,随后加入 2 mL 无菌 PBS 超声剥离生物被膜(224 W 53 kHz, 10 min),取 1 mL 超声后的菌悬液在 4 °C, 20 000×g 条件下离心 20 min,用 Millipore® 0.22 μm 膜过滤器过滤,根据 EPS 酶联免疫分析试剂盒操作步骤测定上清液中胞外多糖含量。用酶标仪测定 450 nm 波长下的吸光度,利用标准曲线计算样品中的 EPS 浓度。

2) 代谢活性的测定 取在菌悬液中培养一定时间的涂膜,用 1 mL 无菌 PBS (pH=7.4, 0.1 mol/L)洗 3 次后,用 100 μL LB 肉汤和 50 μL XTT 试剂进行培养,用酶标仪测定 28 °C 恒温培养箱中培养 3 h 后的 OD<sub>490nm</sub> 值。

3) 总蛋白的测定 参照张家涛<sup>[26]</sup>和王多宁等<sup>[27]</sup>的方法,绘制标准曲线。取在菌悬液中培养 24 h 的涂膜,超声处理以剥离生物被膜。取 1 mL 超声后的菌悬液,加入 200 μL RIPA 裂解液,混匀后于 4 °C 下静置 20 min, 53 kHz 224 W 冰浴超声处理 40 min。4 °C, 10 000×g 条件下离心 15 min,于 -20 °C 保存备用。将 10 μL 上清液与 200 μL 考马斯亮蓝染色液混匀,用酶标仪测定静置 5 min 后溶液的 OD<sub>595nm</sub> 值。生物被膜中的总蛋白浓度根据所绘标准曲线计算。

##### 4) Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP 酶活力和 AKP 酶活力的测定

将超声剥离生物被膜的菌悬液转移至 10 mL 无菌离心管中,在冰浴条件下用超声波细胞破碎仪进行超声处理,细胞破碎液于 -20 °C 保存。参照试剂盒试验步骤分别测定 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP 的酶活力和 AKP 的酶活力。

#### 1.5 数据分析

接触角分析测定样品的 6 个不同位置,其余试验重复 3 次。使用 Origin 9.1 软件绘图,采用 SPSS 20.0 软件中单因素方差分析的 Duncan 多重比较法进行显著性分析。结果均以“平均值±标准偏差”表示,  $P < 0.05$  时有显著差异。

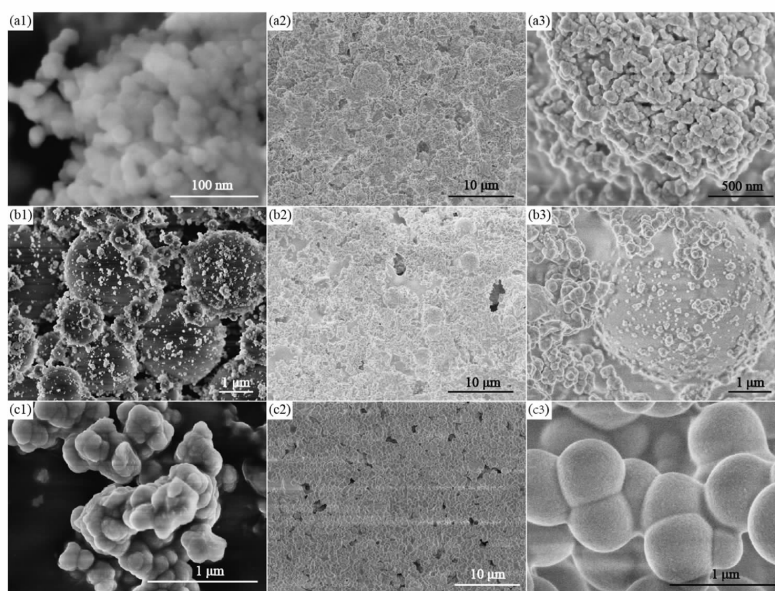
## 2 结果与分析

### 2.1 改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的表征分析

2.1.1 改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的微观结构表征 未改性的 SiO<sub>x</sub> 颗粒及改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面的微观形貌如图 1 所示。由图 1(a1)可见,气相纳米 SiO<sub>x</sub> 颗粒呈球形,粒径约为 10 nm;而改性气相纳

米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面 SiO<sub>x</sub> 颗粒粒径增加至 30~50 nm, 出现明显的团聚现象(图 1(a2-a3))。由图 1(b1)可见, 微米级 SiO<sub>x</sub> 颗粒由微纳米两种级别的颗粒构成, 以直径约 1~3 μm 的颗粒为主; 改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面微纳米粒子交互存在, 形成了微纳米复合结构(图 1(b2-b3))。图 1

(c1)表明, 由于制备过程中高浓度的表面活性剂起到了模板导向剂的作用, 使 C-SiO<sub>x</sub> 颗粒发生交联, 从而形成了六方相胶束<sup>[28]</sup>; 而改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面均匀分布粒径约为 400 nm 的 SiO<sub>x</sub> 颗粒(图 1(c2-c3))。



注: (a1) 气相纳米 SiO<sub>x</sub> 颗粒; (a2, a3) 改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜; (b1) 微米级 SiO<sub>x</sub> 颗粒; (b2, b3) 改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜; (c1) C-SiO<sub>x</sub> 颗粒; (c2, c3) 改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜。

图 1 未改性 SiO<sub>x</sub> 颗粒(a1~c1)及其改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜(a2~c2, a3~c3)表面的 SEM 图

Fig.1 SEM images of unmodified SiO<sub>x</sub> particles (a1~c1) and their modified SiO<sub>x</sub>/WPU coatings (a2~c2, a3~c3)

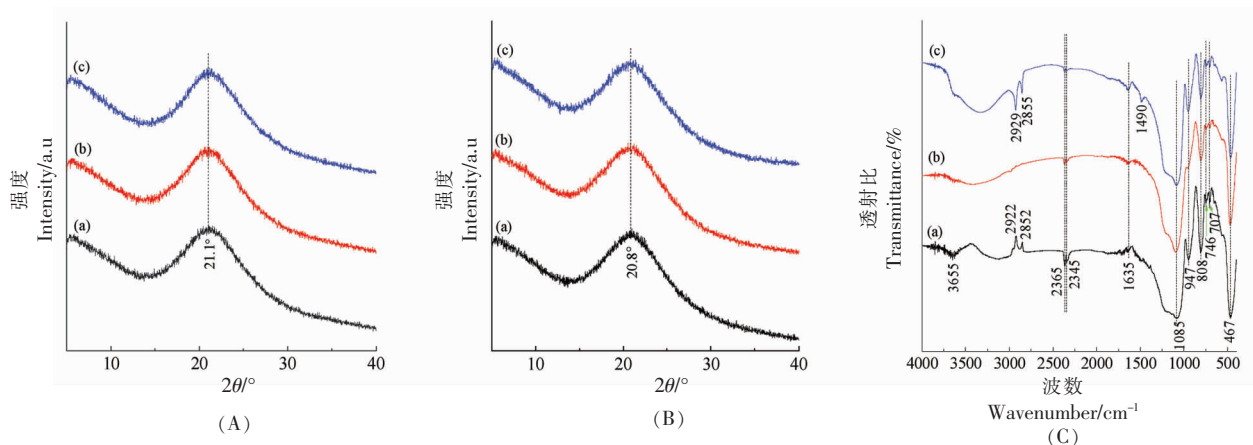
2.1.2 改性 SiO<sub>x</sub> 和 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜 XRD 和 FT-IR 分析 改性 SiO<sub>x</sub> 颗粒及对应的改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的 XRD 谱图如图 2A~2B 所示。改性 SiO<sub>x</sub> 颗粒均在 21.1°处出现 SiO<sub>x</sub> 的非晶衍射峰<sup>[29]</sup>, 表明 SiO<sub>x</sub> 颗粒的微观形貌不会影响其结晶性能。由图 2B 可见, 改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的非晶衍射峰移至 20.8°处, 然而并未出现 WPU 的特征峰, 这可能是由于 WPU 为大分子有机物, 分子链较长, 其非晶态衍射峰与 SiO<sub>x</sub> 颗粒的非晶衍射峰重合。

图 3C 为 3 种改性 SiO<sub>x</sub> 颗粒的 FT-IR 谱图。3 700~3 300 cm<sup>-1</sup> 处的吸收峰为 -OH 的伸缩振动峰, 1 635 cm<sup>-1</sup> 附近的吸收峰为 -OH 的弯曲振动峰, -CH<sub>2</sub> 的反对称和对称伸缩振动峰出现在 2 922 cm<sup>-1</sup> 和 2 852 cm<sup>-1</sup> 处<sup>[30]</sup>; 2 365 cm<sup>-1</sup> 和 2 345 cm<sup>-1</sup> 处的峰为空气中 CO<sub>2</sub> 的吸收峰; 1 085 cm<sup>-1</sup> 处和 808

cm<sup>-1</sup> 处分别属于 Si-O-Si 的不对称伸缩振动和对称伸缩振动, 947 cm<sup>-1</sup> 处的峰归因于 Si-O 的伸缩振动, 在 467 cm<sup>-1</sup> 处为 O-Si-O 的弯曲振动峰<sup>[31]</sup>。由图 2C(a)可见, 改性气相纳米 SiO<sub>x</sub> 颗粒在 3 655 cm<sup>-1</sup> 处出现气相纳米 SiO<sub>x</sub> 颗粒中游离 -OH 的特征峰, 在 1 635 cm<sup>-1</sup> 附近出现 -OH 和 -NH<sub>2</sub> 的弯曲振动峰; 气相纳米 SiO<sub>x</sub> 颗粒中 -CH<sub>2</sub> 的反对称和对称伸缩振动峰出现在 2 922 cm<sup>-1</sup> 和 2 852 cm<sup>-1</sup> 处。由图 2C(b)可见, 改性微米级 SiO<sub>x</sub> 颗粒在 3 700~3 300 cm<sup>-1</sup> 处有较强的宽吸收峰, 且吸收峰的中心位置向低波数移动, 在 1 635 cm<sup>-1</sup> 处有强度较弱的窄吸收峰, 说明样品中存在大量的缔合 -OH, 即改性微米级 SiO<sub>x</sub> 颗粒中有结合水的存在。由图 2C(c)可见, 改性 C-SiO<sub>x</sub> 颗粒在 3 700~3 300 cm<sup>-1</sup> 处出现的肩峰和宽峰分别为 -OH 和

CTAB 中 $-\text{NH}_3$  的伸缩振动峰;  $2\ 929\ \text{cm}^{-1}$  和  $2\ 855\ \text{cm}^{-1}$  处出现的峰与 CTAB 中 $-\text{CH}_2$  的反对称和对称伸缩振动有关。此外, 对于各改性  $\text{SiO}_x$  颗粒

PFOTS 中的 $-\text{CF}_2$  和 $-\text{CF}_3$  伸缩振动峰出现在  $747\ \text{cm}^{-1}$  和  $707\ \text{cm}^{-1}$  处, 表明 3 种  $\text{SiO}_x$  颗粒均已被氟化剂成功改性。



注: a. 改性气相纳米  $\text{SiO}_x$  颗粒及  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜; b. 改性微米级  $\text{SiO}_x$  颗粒及  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜; c. 改性 C- $\text{SiO}_x$  颗粒及  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜。

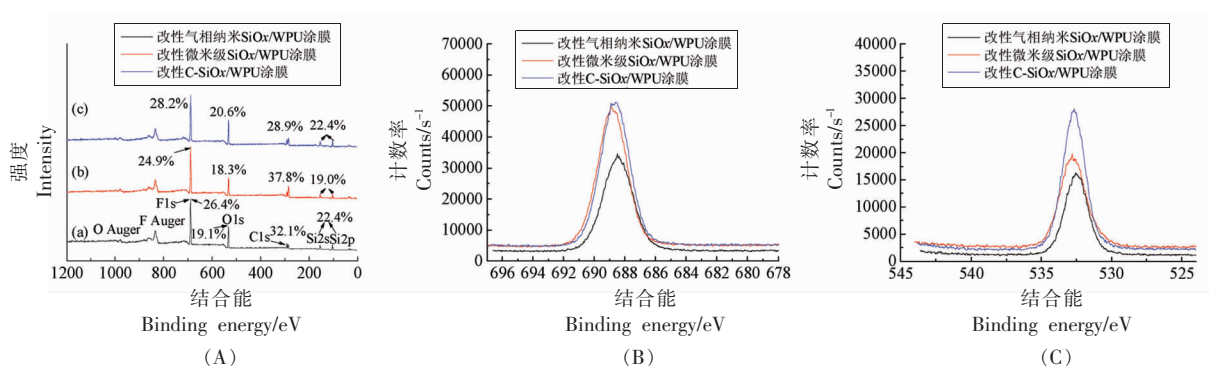
图2 改性  $\text{SiO}_x$  颗粒、改性  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜的 XRD 谱图(A~B)及改性  $\text{SiO}_x$  颗粒的 FI-IR 谱图(C)

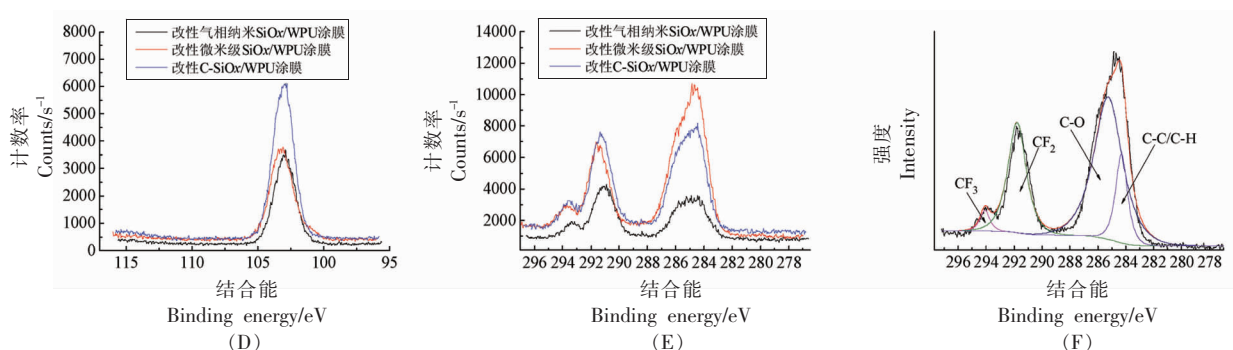
Fig.2 XRD spectra of modified  $\text{SiO}_x$  particles (A) and modified  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  coatings (B), and FI-IR spectra of modified  $\text{SiO}_x$  particles (C)

2.1.3 改性  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜的 XPS 分析 改性  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜的 XPS 谱图如图 3A 所示, 由图可见, 各涂膜表面均含有 F、O、C、Si 4 种元素, 且由 O 和 Si 的相对含量可知, 各涂膜表面单位面积上改性  $\text{SiO}_x$  颗粒的含量相近。而改性 C- $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜表面 F 的相对含量最高, 达到 28.2%, 改性气相纳米涂膜次之, 为 26.4%, 改性微米级  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜表面 F 的相对含量最低, 为 24.9%。

图 3B~3E 为改性  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜的高分辨率 XPS 谱图。由图 3B 和 3C 可见, 各改性  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜的  $\text{F}1s$  峰分别出现在  $688.5, 688.9, 688.6\ \text{eV}$  处, 无显著性差异。 $\text{O}1s$  峰在  $532.5, 532.8, 532.6\ \text{eV}$

处, 属于  $\text{O}-\text{C}$  ( $533.2\ \text{eV}$ )、 $\text{O}-\text{Si}$  ( $532.4\ \text{eV}$ ) 和  $\text{O}=\text{C}$  ( $531.7\ \text{eV}$ )。由图 3D 可见, 3 种涂膜分别在  $102.9, 103.1, 102.9\ \text{eV}$  处出现的  $\text{Si}2p$  峰, 可能属于  $\text{Si}-\text{C}$  ( $102.0\ \text{eV}$ )、 $\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$  ( $103.4\ \text{eV}$ ) 和  $\text{Si}-\text{OH}$  ( $104.5\ \text{eV}$ )<sup>[32]</sup>。由图 3E 可见, 3 种改性  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜的  $\text{C}1s$  峰出现分峰现象。图 3F 为对改性微米级  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜表面  $\text{C}1s$  峰进行分峰处理的 XPS 图谱,  $294.1, 291.8, 285.3, 284.3\ \text{eV}$  处的峰分别归因于  $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CF}_2$ 、 $\text{C}-\text{O}$  和  $\text{C}-\text{C}/\text{C}-\text{H}$ 。涂膜表面的  $\text{F}1s$ 、 $\text{Si}2p$  和  $\text{C}1s$  的检测结果表明, 涂膜已被 PFOTS 成功改性<sup>[33]</sup>。





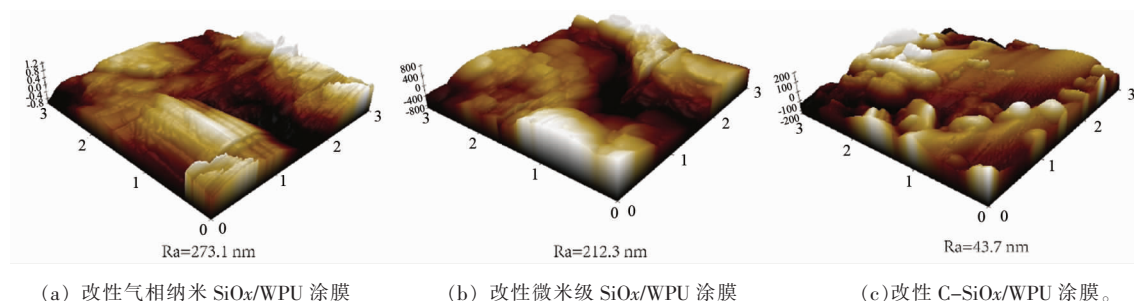
注:分图 B~F 分别为 F1s、O1s、Si2p、C1s、改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的 C1s 谱图。

图 3 改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的 XPS 测量光谱(A)及高分辨率 XPS 谱图(B~F)

Fig.3 XPS survey spectra (A) and high resolution XPS spectra (B~F) of modified SiO<sub>x</sub>/WPU coatings

2.1.4 改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜 AFM 表征 图 4 为 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的 AFM 图像。由图 4a 可知,改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面的微米级凸起完全由几十纳米的 SiO<sub>x</sub> 颗粒聚集而成,其平均粗糙度 Ra 值为 273.1 nm,表面高度差约为 2 μm。由图 4b 可知,改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面高度差约

为 1.6 μm,Ra 值为 212.3 nm,其表面凸起主要是由纳米级的 SiO<sub>x</sub> 颗粒相互聚集和微纳米级的 SiO<sub>x</sub> 颗粒相互堆叠而成。由图 4c 可知,改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜与改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜相似,表面的凸起仅由粒径约为 400 nm 左右的 SiO<sub>x</sub> 颗粒组成。此结果与 SEM 检测结果一致。



(a) 改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜

(b) 改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜

(c) 改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜。

图 4 改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜高分辨率 AFM 图

Fig.4 AFM images of modified SiO<sub>x</sub>/WPU coatings

2.1.5 改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的热稳定性评价 图 5a 为各改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜在 20~250 °C 的 DSC 曲线图。改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的玻璃化转变温度 ( $T_g$ ) 和熔化温度 ( $T_m$ ) 主要与 WPU 中的软段链和硬段链有关。WPU 中软段链与硬段链的玻璃化转变温度相差很大,其中软段链的玻璃化转变温度 ( $T_{gs}$ ) 远低于 0 °C,而硬段链的玻璃化转变温度 ( $T_{gh}$ ) 则在 80~100 °C,远高于室温<sup>[34]</sup>。由图可见,改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜在 81.96 °C 处出现第 1 个吸热峰,而改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜和改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜分别在 64.02 °C 和 25.94 °C 处出现第 1 个吸热峰,在 79.03 °C 和 79.86 °C 处出现第 2 个吸热峰,表明 3 种改性 SiO<sub>x</sub> 颗粒均可与涂膜

中 WPU 的软段链发生相互作用。而 3 种改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜分别在 146.08,140.36,153.27 °C 出现的吸热峰对应于涂膜中 WPU 硬段链的熔化温度 ( $T_{mh}$ ),与其硬段链的短程有序转变有关<sup>[33]</sup>。3 种涂膜中 WPU 的硬段链短程有序化的焓变 ( $\Delta H$ ) 分别为 14.49,15.82,19.48 J/g,表明 C-SiO<sub>x</sub> 颗粒与 WPU 的硬段链相互作用弱于改性气相纳米 SiO<sub>x</sub> 颗粒和改性微米级 SiO<sub>x</sub> 颗粒。此外,CTAB 的熔化吸热使改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜在 210.75 °C 出现一个弱吸热峰。

图 5b 和 5c 为改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的 TGA 和 DTG 曲线。由图可见,改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的初始质量损失均发生在 44~100 °C 左右,这是由涂膜中

的水分损失造成的。第2阶段的质量损失发生在150~200℃之间,主要与涂膜中WPU硬段链中脲基甲酸酯的分解有关。在200~320℃改性气相SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜、改性微米级SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜和改性C-SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜的质量损失主要与涂膜中WPU硬段链的脲基甲酸酯和氨基甲酸酯分解有关,其质量损失依次约为11.49%,12.38%,17.35%。由此可见,改性气相SiO<sub>x</sub>颗粒和改性微米级SiO<sub>x</sub>

颗粒对WPU中硬段的相互作用更强,这与DSC分析结果一致。在320~430℃之间,3种改性SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜的质量损失分别约为12.33%,13.81%,14.40%,此阶段的质量损失主要与涂膜中WPU软段链中聚醚多元醇的分解有关。在430~640℃之间,3种改性SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜的质量损失主要与改性剂和WPU中残留物的碳化有关,分别约为13.04%,14.74%,11.93%。

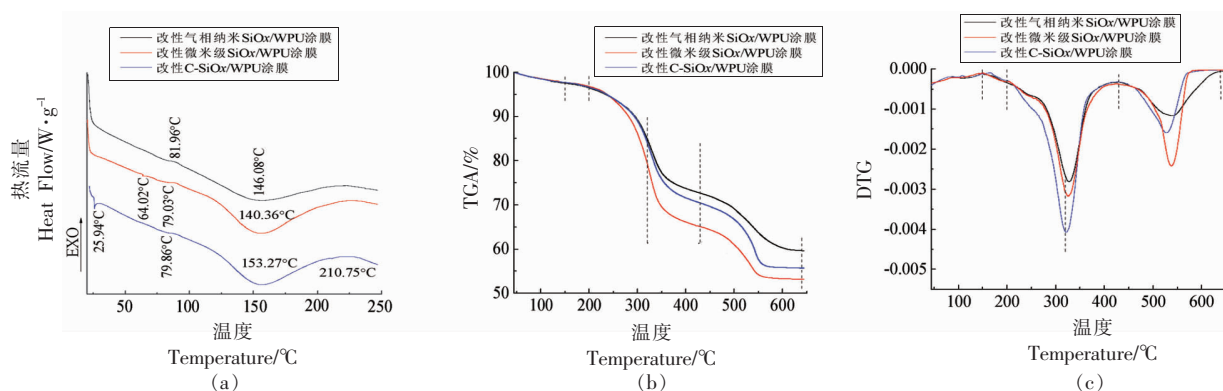
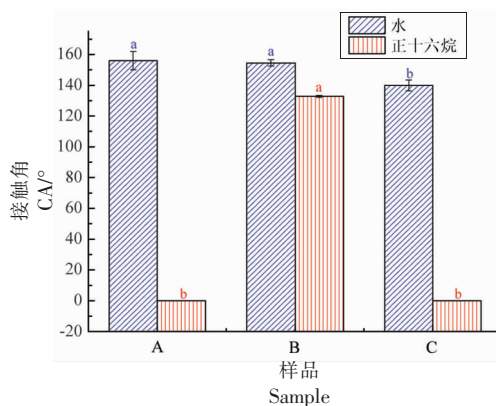


图5 不同粒径低表面能改性SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜的DSC图(a)、TGA图(b)和DTG图(c)

Fig.5 DSC (a), TGA (b) and DTG (c) spectra of low surface energy modified SiO<sub>x</sub>/WPU coatings with different particle sizes

**2.1.6 改性SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜表面的接触角和表面能** 由图6可见,改性气相纳米SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜的水接触角为155.9°±5.9°,正十六烷的接触角为0°,表面能为(23.4±2.4)J/m<sup>2</sup>,为超疏水超亲油表面。这是因为改性气相纳米SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜表面完全由几十纳米的SiO<sub>x</sub>颗粒构成,其表面的微米级凸起形成的气层无法抵御正十六烷的完全浸润。改性微米级SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜的水接触角为154.5°±2.1°,正十六烷的接触角为132.8°±0.7°,表面能最低,仅有(0.3±0.1)J/m<sup>2</sup>,为超双疏表面。结合SEM结果分析认为,这是因为改性微米级SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜表面SiO<sub>x</sub>微纳米粒子交互存在,形成了微纳米复合结构,这种不规则的拓扑结构使涂膜与液滴间可以形成固-气-液三相交互的复合界面,液滴无法浸润涂膜表面,使其具有超双疏性能。改性C-SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜的水和正十六烷接触角分别为139.9°±3.5°和0°,表面能最高,达到(229.6±4.2)J/m<sup>2</sup>,为疏水超亲油表面。这是因为改性C-SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜表面与改性气相纳米SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜表面相似,仅由粒径均一的SiO<sub>x</sub>颗粒



注:A. 改性气相纳米SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜;B. 改性微米级SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜;C. 改性C-SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜。不同小写字母表示组间具有显著性差异( $P < 0.05$ )。

图6 改性SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜的表面湿润性和表面能  
Fig.6 Surface wettability and surface energy of the modified SiO<sub>x</sub>/WPU coatings

构成,无法形成微纳米复合结构,因此同样会被正十六烷完全浸润。结合涂膜的XPS谱图分析可得,表面F相对含量最低的改性微米级SiO<sub>x</sub>/WPU涂膜的表面疏水疏油效果最好,表明高氟含量并

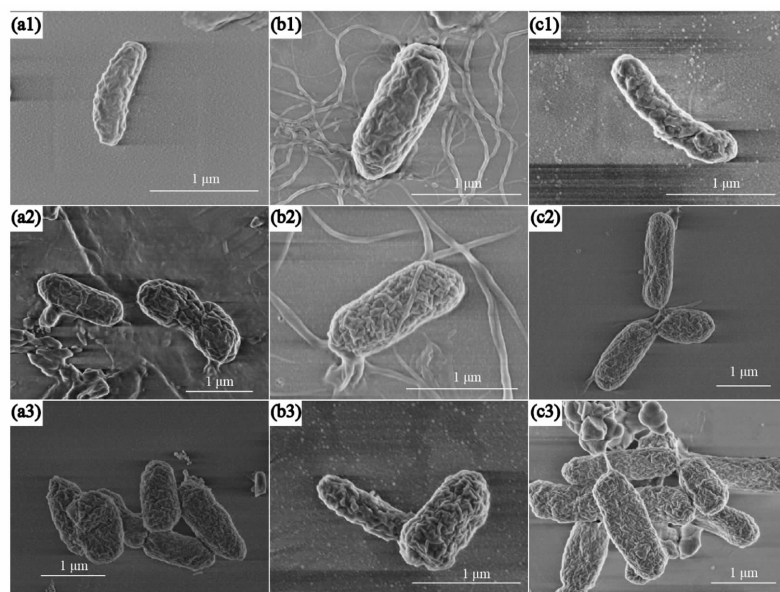
不是形成涂膜超双疏性能唯一特性,表面微观形貌同样显著影响涂膜的疏水疏油性能和表面能。

## 2.2 改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面生物被膜菌微观形貌分析

图 7 为培养不同时间后各涂膜表面腐败希瓦氏菌生物被膜微观形貌的 SEM 图。由图 7(a1~c1) 可见,培养 4 h 后,各涂膜表面黏附的被膜菌数量均较少。由图 7(a2~c2) 可见,培养 12 h 后,多个细菌的不可逆黏附出现在超疏水超亲油性的改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜和疏水超亲油性的改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面,且改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面黏附的细菌开始形成微菌落,而改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面仍为单个细菌的不可逆黏附。如图 7(a3~c3) 所示,培养 24 h 后,改性气相 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面被膜菌主要以微菌落的形式存在;改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面的细菌数量大量增加,微菌落相互聚集,形成成熟的生物被膜;而改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面的被膜菌则刚开始

形成微菌落。

可见,改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面黏附的被膜菌数量最多,在 24 h 时涂膜表面的生物被膜已到成熟期,这是由于改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜仅具有疏水性能,不能有效抑制被膜菌的黏附及其生物被膜的形成。改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面黏附的细菌数量次之,在 24 h 时未形成成熟的生物被膜,这可能是由于改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面的疏水性能更强,使其与菌悬液之间形成了一个较小空气层,可以在一定程度上阻碍被膜菌与涂膜表面的接触,从而延缓了涂膜表面生物被膜的形成。由微纳米级 SiO<sub>x</sub> 颗粒形成不规则的拓扑结构,构成改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜具有超双疏性能,该薄膜在菌悬液中可较长时间地维持 Cassie 状态,且空气层占比最多,因此表面黏附的细菌数量最少,抑制生物被膜形成的能力最优,在 24 h 时才开始出现微菌落。



注:a. 改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜;b. 改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜;c. 改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜;1~3 分别表示培养时间为 4,12,24 h。

图 7 改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面腐败希瓦氏菌生物被膜 SEM 图

Fig.7 SEM images of *Shewanella putrefaciens* capsule bacterium on the surface of modified SiO<sub>x</sub>/WPU coatings

## 2.3 改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面生物被膜菌相关指标分析

图 8 为改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面腐败希瓦氏菌生物被膜相关指标的测定结果。由图 8a 和 8b 可见,0~2 h,涂膜表面细菌数量开始增加,培养基

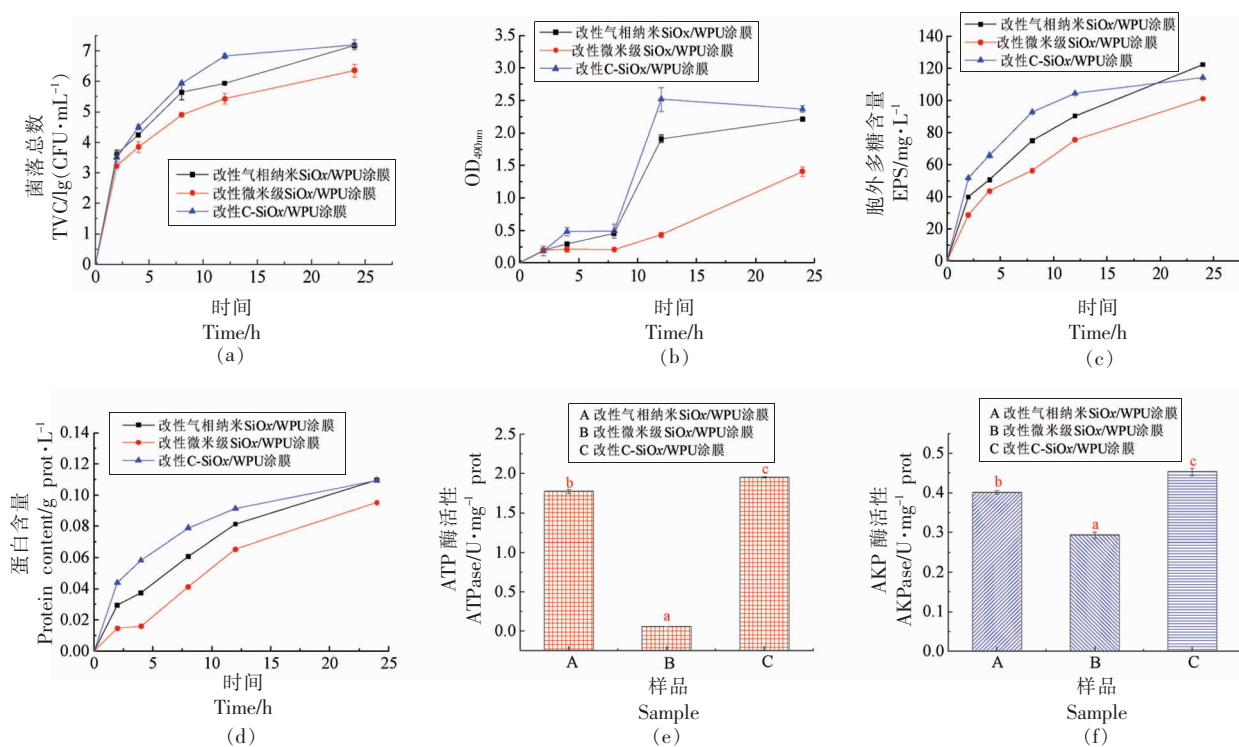
中游离的腐败希瓦氏菌开始黏附在涂膜表面进行可逆黏附。相较而言,虽然 3 种涂膜表面黏附的细菌数量无显著差异,但是改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面黏附的细菌数量少于改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜和改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜,表明超



双疏性的改性微米级  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜可抑制细菌的初期黏附。在此阶段,各样品表面被膜菌代谢活性均缓慢增加无显著差异。2~12 h,涂膜表面的被膜菌数量增加趋势减缓,细菌开始进行不可逆黏附。在此阶段,改性 C- $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜表面被膜菌数量和代谢活性最高,说明疏水超亲油性的改性 C- $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜有利于细菌的不可逆黏附;改性气相纳米  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜表面黏附的细菌数量及其代谢活性次之,表明超疏水超亲油性的改性气相纳米  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜对细菌的不可逆黏附有一定程度的抑制作用;而超双疏性的改性  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜对细菌不可逆黏附的抑制效果最好,因此其表面的被膜菌数量和代谢活性处于最低水平,表明。12~24 h,被膜菌形成微菌落,从而促进生物被膜的形成。在此阶段,改性气相纳米  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜表面被膜菌数量仍以较快的速度增加,并在 24 h 时与改性 C- $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜表面被膜菌数量相近,而改性 C- $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜表面细菌增长逐渐

变缓,表明改性气相纳米  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜在一定程度上可以抑制细菌的黏附及生物被膜的形成,然而其表面利于被膜菌的定植,因此其表面被膜菌代谢活性继续增加。而改性 C- $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜表面生物被膜已接近成熟期,且由于此阶段涂膜表面被膜菌数量过多,胞外多聚物逐渐转变为被膜菌的营养提供体,使菌体自身的代谢活性降低。此时,改性微米级  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜表面的黏附被膜菌数量仍保持最低水平,表明该涂膜可有效抑制被膜菌形成微菌落,进而形成生物被膜。可见,超双疏的改性微米级  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜表面可显著抑制被膜菌的黏附及其表面生物被膜的形成。

抑制细菌 EPS 的分泌可以控制细菌与材料表面的初始黏附以及形成生物被膜的膜性结构<sup>[35]</sup>。由图 8c 可见,各涂膜表面 EPS 均随着培养时间的延长而逐渐增加。在 0~12 h 细菌的可逆与不可逆黏附阶段,改性微米级  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜表面 EPS 增加最慢,表明超双疏的改性微米级  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$



注:a. 改性  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜表面生物被膜菌的生长曲线;b. 被膜菌代谢活性;c. 胞外多糖含量;d. 生物被膜内的总蛋白;e. ATPase 活性;f. AKPase 活性。分图 e~f 中的不同小写字母表示组间具有显著性差异( $P < 0.05$ )。

图 8 改性  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  涂膜表面腐败希瓦氏菌生物被膜相关指标的变化

Fig.8 Changes of related indexes of *Shewanella putrefaciens* biofilm on the modified  $\text{SiO}_x/\text{WPU}$  coatings

涂膜可抑制细菌 EPS 的分泌及微菌落的形成。此时, 改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面 EPS 的增加速度最快, 改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜次之。在 12~24 h, 改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的表面 EPS 的增加变得缓慢, 而改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面 EPS 继续增加, 在 24 h 时涂膜表面被膜菌 EPS 含量超过了改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜, 而改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面被膜菌的 EPS 含量虽然继续增加, 但仍保持较低水平。该结果表明, 具有单一粗糙结构的改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面的生物被膜已成熟, EPS 分泌逐渐减少; 改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜在此阶段更有利于细菌分泌 EPS 形成微菌落; 而由于改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面的特殊微纳米拓扑结构, 其仍可抑制细菌形成微菌落, 故 EPS 分泌最少。

如图 8d 所示, 在生物被膜形成过程中各涂膜的表面生物被膜总蛋白逐渐增加。其中, 改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面的生物被膜总蛋白含量增加速度最快, 高于同期其它样品, 可能是因为该涂膜表面由粒径为 400 nm 的 SiO<sub>x</sub> 颗粒组成, 无微米级凸起, 尽管表面含有最多的氟碳化合物, 但仅具有疏水性能, 无疏油性能, 无法阻止被膜菌的黏附, 并抑制其生物被膜的形成。培养至 12 h 之前, 改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面生物被膜的总蛋白含量较低, 培养至 24 h 时, 涂膜表面总蛋白量与改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面的总蛋白含量相当, 这是由于其虽具有超疏水性能, 但其疏油能力仍较差, 培养至 12 h 后, 细菌在涂膜表面大量黏附, 该结果与被膜菌的生长曲线试验结果一致。在生物被膜培养过程中, 改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面生物被膜总蛋白的含量最低, 这是由于其与菌悬液间维持较长时间的 Cassie 状态, “捕获”足够的空气, 从而抑制细菌的不可逆黏附和已黏附细菌分泌 EPS, 并阻止其形成微菌落。

ATP 酶存在于细胞内外膜上, 主要参与 ATP 的分解, 胞外 ATP 酶的活性揭示了被膜菌细胞膜的完整性<sup>[36-38]</sup>。AKP 酶主要存在于细胞膜与细胞壁之间, 胞外 AKP 酶的水平同样也可以反应被膜菌细胞壁受损伤的程度<sup>[39]</sup>。如图 8e~8f 所示, 在培养 24 h 后, 超双疏性的改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面被膜菌 ATP 酶和 AKP 酶活性最低, 表明生物

被膜内 ATP 酶和 AKP 酶活性最低, 这是由于其表面特殊的微纳米拓扑结构使涂膜可有效抑制细菌的黏附, 阻止细菌胞外多糖的分泌, 进而抑制被膜菌形成微菌落。

### 3 结论

采用不同 SiO<sub>x</sub> 颗粒改性获得的改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜的理化性能差异显著, 对水产品腐败希瓦氏菌生物被膜的抑制性能不同。其中由两种不同粒径的 SiO<sub>x</sub> 颗粒形成微纳米拓扑结构的改性微米级 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表面表现为超双疏性, 表面能最低, 涂膜热稳定性较高。可显著抑制细菌的黏附和已黏附细菌的代谢活性、EPS 分泌、ATP 酶和 AKP 酶活性, 进而抑制微菌落的形成。改性气相纳米 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表现为超疏水超亲油性, 表面能较低, 涂膜的热稳定性最高, 可以抑制细菌的初期黏附, 然而随着培养时间的延长, 表面黏附细菌量快速增加。改性 C-SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜表现为疏水超亲油性, 表面能最高, 热稳定性最差, 抗细菌黏附的性能最差。采用微米级 SiO<sub>x</sub> 颗粒改性制备的改性 SiO<sub>x</sub>/WPU 涂膜对水产品腐败希瓦氏菌生物被膜的抑制性能最优, 本研究可为制备具有抗生物被膜性能的食品包装材料提供技术支撑。

### 参 考 文 献

- [1] 张君怡, 王静怡, 巴巨伟, 等. 细菌生物被膜检测与清除方法研究进展[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(20): 218-224.  
ZHANG J Y, WANG J Y, BA J W, et al. Development on detection and removal of bacterial biofilm [J]. Food Research and Development, 2020, 41(20): 218-224.
- [2] FLEMMING H C, WINGENDER J, SZEWZYK U, et al. Biofilms: An emergent form of bacterial life[J]. Nature Reviews Microbiology, 2016, 14(9): 563-575.
- [3] 王洪彬, 朱利霞, 于秀剑, 等. 细菌生物被膜研究进展[J]. 动物医学进展, 2019, 40(9): 74-79.  
WANG H B, ZHU L X, YU X J, et al. Progress on bacterial biofilm[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2019, 40(9): 74-79.
- [4] 魏旭青. 疏水及超双疏氧化锌薄膜对腐败希瓦氏菌生物被膜抑制性能的研究[D]. 锦州: 渤海大学,

- 2020.
- WEI X Q. Antibiofilm properties of hydrophobic and superamphiphobic zno films on *Shewanella putrefaciens*[D]. Jinzhou: Bohai University, 2020.
- [5] NEINHUIS C, BARTHLOTT W. Characterization and distribution of water-repellent, self-cleaning plant surfaces[J]. *Annals of Botany*, 1997, 79(6): 667-677.
- [6] BARTHLOTT W, NEINHUIS C. Purity of the sacred lotus, or escape from contamination in biological surfaces[J]. *Planta (Germany)*, 1997, 202(1): 1-8.
- [7] BINBIN Z, YUXIANG Z, JIA W, et al. Superamphiphobic aluminum alloy with low sliding angles and acid-alkali liquids repellency[J]. *Materials & Design*, 2020, 188: 108479.
- [8] 高党鸽, 赵洲洋, 吕斌, 等. 超疏水抗菌表面的研究进展[J]. *精细化工*, 2021, 38(5): 874-881.
- GAO D G, ZHAO Z Y, LÜ B, et al. Research process of superhydrophobic antibacterial surface[J]. *Fine Chemicals*, 2021, 38(5): 874-881.
- [9] 卢永熠, 冯勇鸿, 黄洋, 等. 自修复超疏水抗菌织物的制备和性能研究[J]. *功能材料*, 2020, 51(7): 7110-7116.
- LU Y Y, FENG Y H, HUANG Y, et al. Preparation and properties of self-healing superhydrophobic antibacterial fabric[J]. *Journal of Functional Materials*, 2020, 51(7): 7110-7116.
- [10] HWANG G B, PAGE K, PATIR A, et al. The anti-biofouling properties of superhydrophobic surfaces are short-lived[J]. *Acs Nano*, 2018, 12(6): 6050-6058.
- [11] PENG J, YUAN S, GENG H, et al. Robust and multifunctional superamphiphobic coating toward effective anti-adhesion[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 428(2): 131162.
- [12] WONG W S Y, VOLLMER D. Effervescence-inspired self-healing plastrons for long-term immersion stability[J]. *Advanced Functional Materials*, 2021, 32(4): 2107831.
- [13] 杨丽丽, 郝晗, 张璇, 等. 壳聚糖浓度对原位合成纳米 SiO<sub>x</sub> 壳聚糖涂膜性能的影响[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(5): 85-92.
- YANG L L, HAO H, ZHANG X, et al. Effect of chitosan concentration on the propertie of the in-situ nano SiO<sub>x</sub> chitosan coatings[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2019, 19(5): 85-92.
- [14] SUN T, WU C L, HAO H, et al. Preparation and preservation properties of the chitosan coatings modified with the in situ synthesized nano SiO<sub>x</sub>[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 54: 130-138.
- [15] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准: GB 2760-2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 16.
- National Health and Family Planning Committee of China. National food safety standard for uses of food additives: GB 2760-2014 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2014: 16.
- [16] 王瑞. 超疏水聚氨酯涂层的制备与性能研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
- WANG R. Preparation and properties of superhydrophobic polyurethane coatings [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018.
- [17] 李小宁. 水性聚氨酯改性的研究进展[J]. *中国皮革*, 2021, 50(9): 139-142.
- LI X N. Research progress on modification og waterborne plyingurethane[J]. *China Leather*, 2021, 50(9): 139-142.
- [18] 孙文, 许戈文, 黄毅萍, 等. 交联型有机硅改性水性聚氨酯的制备与性能[J]. *中国皮革*, 2021, 50(11): 1-7.
- SUN W, XU G W, HUANG Y P, et al. Preparation and properties of croaalkned silicone modified waterborne polyurethane[J]. *China Leather*, 2021, 50(11): 1-7.
- [19] 曾宪光, 龚敏, 刘朝辉, 等. 水性聚氨酯涂料的研究现状[J]. *电镀与涂饰*, 2018, 37(22): 49-56.
- ZENG X G, GONG M, LIU C H, et al. Current status of research on waterborne polyurethane coatings[J]. *Electroplating & Finishing*, 2018, 37(22): 49-56.
- [20] 段长平, 刘连利, 魏旭青, 等. ZnO 薄膜的 sol-gel 法制备及其对腐败希瓦氏菌生物被膜的抑制性能[J]. *食品科学*, 2018, 39(24): 59-64.
- DUAN C P, LIU L L, WEI X Q, et al. Preparation on zinc oxide films by sol-gel method and their anti-biofilm properties against *Shewanella putrefaciens*[J]. *Food Science*, 2018, 39(24): 59-64.
- [21] 代悦, 魏旭青, 孙彤, 等. ZnO 薄膜微观形貌对腐败希瓦氏菌生物被膜形成的影响[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(11): 170-178.
- DAI Y, WEI X Q, SUN T, et al. Effect of the

- microtopography of ZnO films on the formation of *Shewanella putrefaciens* biofilm[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(11): 170–178.
- [22] 王明, 张家涛, 周斌, 等. 丁香酚复合保鲜剂对腐败希瓦氏菌的抗菌作用机制[J]. 食品科学, 2021, 42(13): 10–16.
- WANG M, ZHANG J T, ZHOU B, et al. Antibacterial mechanism of eugenol–compound composite preservatives against *Shewanella putrefaciens*[J]. Food Science, 2021, 42(13): 10–16.
- [23] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 纳米材料超双疏性能检测方法: GB/T 26490–2011[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 1–5.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Methods for measuring super hydrophobicity of nanomaterials: GB/T 26490–2011[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014: 1–5.
- [24] HU J, LIN J, Y ZHANG, et al. A new anti–biofilm strategy of enabling arbitrary surfaces of materials and devices with robust bacterial anti–adhesion via a spraying modified microsphere method[J]. Journal of Materials Chemistry A, 2019, 7(45): 26039–26052.
- [25] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定: GB 4789.2–2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1–4.
- National Health and Family Planning Committee of China. National Standard for Food Safety – Microbiological examination of food hygiene – Aerobic plate count: GB 4789.2–2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016: 1–4.
- [26] 张家涛. SiO<sub>x</sub>/水性聚氨酯超双疏涂膜的制备及其对腐败希瓦氏菌生物被膜的抑制机制[D]. 锦州: 渤海大学, 2021.
- ZHANG J T. Preparation of SiO<sub>x</sub>/WPU super–amphiphobic coatings and its anti–biofilm mechanism to *Shewanella putrefaciens*[D]. Jinzhou: Bohai University, 2021.
- [27] 王多宁, 赵雁武, 田芙蓉. 考马斯亮蓝微盘比色法测定蛋白质含量[J]. 第四军医大学学报, 2001(6): 528–529.
- WANG D N, ZHAO Y W, TIAN F R. Protein quantification with coomassie brilliant blue microplate–colorimetric[J]. Journal of the Fourth Military Medical University, 2001(6): 528–529.
- [28] 韩延东. 利用 Stöber 法制备纳米结构 SiO<sub>2</sub> 粒子[D]. 长春: 吉林大学, 2007.
- HAN Y D. Synthesis of nanostructured SiO<sub>2</sub> particles by Stöber method[D]. Changchun: Jilin University, 2007.
- [29] 李红双. 二氧化硅气凝胶微球的制备及吸附性能研究[D]. 长春: 长春工业大学, 2020.
- LI H S. Preparation and adsorption properties of silica aerogel microspheres[D]. Changchun: Changchun University of Technology, 2020.
- [30] 吕雪松. 纳米气相二氧化硅复合聚乙烯的介电性能研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨理工大学, 2019.
- LÜ X S. Study on dielectric performances of fumed–silica/polyethylene nanocomposites[D]. Haerbin: Harbin University of Science and Technology, 2019.
- [31] AL–OWEINI R, EL–RASSY H. Synthesis and characterization by FTIR spectroscopy of silica aerogels prepared using several Si (OR)<sub>4</sub> and R'' Si (OR')<sub>3</sub> precursors[J]. Journal of Molecular Structure, 2009, 919(1/2/3): 140–145.
- [32] 陈瑞. 超疏水/超亲油二氧化硅/聚醚砜复合材料的制备与性能研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2020.
- CHEN R. Preparation and properties of superhydrophobic/superoleophilic silica/poly (ether sulfone)s composites[D]. Jilin: Jilin University, 2020.
- [33] ZUO K, WU J J, CHEN S, et al. Superamphiphobic nanocellulose aerogels loaded with silica nanoparticles[J]. Cellulose, 2019, 26(18): 9661–9671.
- [34] ALONSO –LERMA B, LARRAZA I, BARANDIARAN L, et al. Enzymatically produced cellulose nanocrystals as reinforcement for waterborne polyurethane and its applications[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 254: 117478.
- [35] 高珊, 张哲伦, 苏杭, 等. 铜绿假单胞菌生物被膜研究进展[J]. 中国海洋药物, 2018, 37(5): 90–96.
- GAO S, ZHANG Z L, SU H, et al. The advance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2018, 37(5): 90–96.
- [36] 张璇. 茶多酚缓释体系的建立及其保鲜性能和抗菌机理研究[D]. 锦州: 渤海大学, 2019.
- ZHANG X. Establishment of tea polyphenol sustained release system and its preservative properties and antibacterial mechanism[D]. Jinzhou: Bohai University, 2019.

- versity, 2019.
- [37] 苏萌萌, 孙芝兰, 刘芳, 等. 绿原酸对鸡肉腐败菌的抑菌机理[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(6): 1386-1391.
- SU M M, SUN Z L, LIU F, et al. Antibacterial mechanism of chlorogenic acid against chicken spoilage bacteria[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2018, 34(6): 1386-1391.
- [38] LV X, DU J, JIE Y, et al. Purification and antibacterial mechanism of fish-borne bacteriocin and its application in shrimp (*Penaeus vannamei*) for inhibiting *Vibrio parahaemolyticus*[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2017, 33(8): 156-164.
- [39] MA C, HE N, ZHAO Y, et al. Antimicrobial mechanism of hydroquinone[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2019, 189(4): 1291-1303.

### Inhibition Mechanism of Modified SiO<sub>x</sub>/WPU Coatings on Biofilm of *Shewanella putrefaciens* Bacteria

Yang Junyi<sup>1</sup>, Zhang Jiatao<sup>1,2</sup>, Liu Liangjun<sup>1</sup>, Li Xiuxia<sup>1</sup>, Wang Lili<sup>1</sup>, Yang Xu<sup>3</sup>, Sun Tong<sup>1\*</sup>, Li Jianrong<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Food Science and Technology, Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing,

Bohai University, Jinzhou 121013, Liaoning

<sup>2</sup>College of Food Science and Technology, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018

<sup>3</sup>Minze Longyangxia Aquaculture Co., Ltd., Hainan Tibetan Autonomous Prefecture 811800, Qinghai

**Abstract** In order to obtain waterborne polyurethane (WPU) coatings with excellent inhibition properties against *Shewanella putrefaciens* bacteria biofilm in aquatic products, SiO<sub>x</sub>/WPU coatings were prepared by drop coating method with SiO<sub>x</sub> nanoparticles of different micromorphology as roughness construction factors. The hydrophobicity and oleophobic, surface energy, surface morphology and thermal stability of the modified SiO<sub>x</sub>/WPU coatings were measured. The inhibition mechanism of the modified SiO<sub>x</sub>/WPU coatings on the *Shewanella putrefaciens* biofilm was revealed. The results show that, using SiO<sub>x</sub> particles modified by cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) as the roughness construction factor, the C-SiO<sub>x</sub>/WPU coating surface has the highest fluorine content, but its contact angles of water and n-hexadecane are 139.0°±3.5° and 0°, respectively, and shows hydrophobic and super-lipophilic, prepared by using SiO<sub>x</sub> particles modified by and has the worst thermal stability and anti-bacterial adhesion. The modified fumed nano-SiO<sub>x</sub> /WPU coating is super-hydrophobic and super-lipophilic, which has the highest thermal stability and could inhibit the initial adhesion of *Shewanella putrefaciens*. The modified micron scale SiO<sub>x</sub>/WPU coating was prepared by improved Stöber method and modified SiO<sub>x</sub> micro-nano particles in the same solvent system as the roughness construction factor. The modified micron scale SiO<sub>x</sub>/WPU coating was super-amphiphobic surface with high thermal stability, which could effectively inhibit the irreversible adhesion of *Shewanella putrefaciens*, reduce its metabolic activity and EPS secretion, and microcolonies just began to form on its surface, after 24 h of culture. The super-amphiphobic modified micron scale SiO<sub>x</sub>/WPU coatings in this study can be used to prepare food packaging materials, providing technical support for the application of anti-biofilm materials in the field of food packaging.

**Keywords** SiO<sub>x</sub>; waterborne polyurethane; superamphiphobic; coatings; *Shewanella putrefaciens*; biofilm