

doi: 10.11933/j.issn.1007-9289.20180802003

海洋细菌和舟形底栖硅藻在辣椒素防污涂层上的附着行为与机制

高 强¹, 张占平¹, 齐育红¹, 孙晓峰², 李占明²

(1. 大连海事大学 材料科学与工程系, 大连 116026; 2. 陆军装甲兵学院 装备保障与再制造系, 北京 100072)

摘 要: 针对目前含辣椒素防污涂层抑菌、抑藻试验主要集中在如金黄色葡萄球菌等特定菌种的情况, 为了考察含辣椒素防污涂层对海洋微生物的影响, 选取大连黄海海域的天然海洋细菌和舟形底栖硅藻作为研究对象, 通过对添加辣椒素海水饱和溶液 (60 mg/L) 的天然新鲜海水和舟形底栖硅藻进行培养, 研究了辣椒素对海洋细菌和底栖硅藻生长活性的影响。通过海洋细菌附着试验、海洋细菌的分层取样试验和底栖硅藻的叶绿素 a 值测定, 研究了辣椒素及辣椒素涂层对海洋细菌和舟形底栖硅藻的作用机制。结果表明, 海水饱和溶液浓度的辣椒素并不会对海洋细菌和舟形底栖硅藻的生长活性造成影响; 含辣椒素防污涂层能够通过辣椒素的驱避作用有效地抑制海洋细菌在涂层表面附着; 而辣椒素对舟形底栖硅藻在涂层上的附着无抑制作用。

关键词: 辣椒素; 防污涂层; 海洋细菌; 舟形底栖硅藻; 生长活性

中图分类号: TQ637.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-9289(2019)01-0135-10

Attachment Performance and Mechanism of Marine Bacteria and *Navicula Tenera* on Capsaicin Antifouling Coating

GAO Qiang¹, ZHANG Zhanping¹, QI Yuhong¹, SUN Xiaofeng², LI Zhanming²

(1. Department of Materials Science and Engineering, Dalian Maritime University, Dalian 116026, China; 2. Department of Equipment Maintenance and Remanufacturing, Army Academy of Armored Forces, Beijing 100072, China)

Abstract: Currently the antibacterial and algal experiments of capsaicin antifouling coating mainly focus on the specific bacteria species such as staphylococcus aureus. To analyze the effect of capsaicin-containing antifouling coating on marine microorganisms, *Navicula tenera* and natural marine bacteria in the Yellow Sea area of Dalian were selected as the research subject. Capsaicin was added to natural fresh seawater and *Navicula Tenera* to observe the effect of capsaicin seawater saturated solution (60 mg/L) on the biological activity of seawater bacteria and *Navicula Tenera*. The mechanism of action of capsaicin and capsaicin-containing antifouling coating on marine bacteria and *Navicula Tenera* was studied through marine bacterial attachment experiments, stratified sampling experiments with marine bacteria, and the determination of chlorophyll a values of *Navicula Tenera*. The results show that capsaicin in seawater saturated solution concentration does not affect the growth activity of marine bacteria and *Navicula Tenera*. Capsaicin-containing anti-fouling can effectively inhibit the adhesion of marine bacteria on the coating surface by repellent action. However, the addition of capsaicin to the antifouling coating does not effectively inhibit the adherence of *Navicula Tenera* to the coating.

Keywords: capsaicin; antifouling coating; seawater bacteria; *Navicula Tenera*; biological activity

收稿日期: 2018-08-02; 修回日期: 2019-01-26

通信作者: 张占平 (1963—), 男 (汉), 教授, 博士; 研究方向: 防污防腐新材料与技术; E-mail: zzp@dlnu.edu.cn

基金项目: 装备预研共用技术项目 (41404010203)

Fund: Supported by Equipment Pre-research Sharing Technology Project (41404010203)

引用格式: 高强, 张占平, 齐育红, 等. 海洋细菌和舟形底栖硅藻在辣椒素防污涂层上的附着行为与机制[J]. 中国表面工程, 2019, 32(1): 135-144.

GAO Q, ZHANG Z P, QI Y H, et al. Attachment performance and mechanism of marine bacteria and *Navicula Tenera* on capsaicin antifouling coating[J]. China Surface Engineering, 2019, 32(1): 135-144.

0 引言

海洋生物污损,是指在海水中海洋污损生物,如细菌、藻类和其他动、植物附着在船底、浮标和一切人工设施表面,进行大量聚集并不断生长的过程^[1]。海洋污损生物,在船体被浸没部分的附着生长给海运业及海洋业带来了巨大的危害。据不完全统计,目前全世界每年因海洋生物污损造成的经济损失达到上百亿美元^[2]。海洋生物污损已成为制约海洋经济发展和维护海洋工程设施安全的技术瓶颈之一,是国内外海洋领域都亟待解决的问题。

在众多防止和降低海洋生物污损的方法中,在海洋结构物表面涂刷防污涂料是最便捷且经济可行的方法^[3]。传统的防污涂料是利用材料中释放的铜、锡、汞、铅等毒料来杀死附着的生物幼体以防止生物附着污损,其中以有机锡类防污涂料最有效。然而有机锡化合物在水中稳定且易在生物体内造成累积,进入食物链循环,会间接造成生态问题,所以在2008年开始国际海事组织(IMO)明确规定禁止使用有机锡防污涂料^[4]。目前,使用最多的防污涂料是含有氧化亚铜的涂料,但氧化亚铜的防污效果远远不如有机锡,要想达到相同的效果,就需要在涂层中加入大量的氧化亚铜,然而铜作为重金属,在海水中不断累积,也会引发一些生态问题,并可能随着食物链进入人体,引起重金属中毒^[5]。传统的毒剂释放型防污涂料和重金属释放型涂料,会引起海洋生态环境破坏,不适应人类环保的要求,将被逐渐淘汰,开发并研究环境友好型的绿色防污剂,并将其用于新型海洋防污涂料就十分重要。

辣椒素是天然茄科植物辣椒的提取物,最早于1876年由Thresh从辣椒果实中分离出来并命名。1919年Nelson确定了其结构,其化学结构名称为:反式-8-甲基-N-香草基-6-壬烯酰胺,分子式为 $C_{18}H_{27}NO_3$,是一种极度辛辣的香草酰胺类生物碱^[6-7]。这类生物碱具有极高的辣度和良好的生物活性,且其毒性远低于目前使用的防污剂如有机锡化合物、氧化亚铜离子等,具有良好的发展前景。目前,围绕辣椒素的抑菌效果,不少国内外学者已经有一些报道^[8-12],研究表明辣椒素具有广谱的抑菌活性,对革兰阳性菌或革兰阴性菌都有良好的抑制作用。在此基础上,一些国内外学

者也将目光放到了含辣椒素防污涂层的研究上来,并取得了一定的成果^[13-20]。

林茂福等^[13]将辣椒中的活性物质与有机黏土进行复合配成涂料,使得辣椒素能够在保持生物活性的条件下起到良好的防污效果。杜伟娜^[14]将人工合成辣椒素加入到防污涂料中,考察了高纯度人工合成辣椒素作为防污剂的可行性。彭必先^[15]合成了十种辣椒素同系物,研究表明辣椒碱和二氢辣椒碱驱赶剂具有良好的防污效果,可能无需与氧化亚铜类的防污剂配合使用,这对于创造高效和无污染的新型防污涂料提供了新的思路。于良民、姜晓辉等^[16-18]成功合成了多种类辣椒素衍生物并通过随后的抑菌、抑藻试验考察了其防污效果。Villa等^[19]通过将辣椒碱添加到聚氨酯树脂中,得到了辣椒碱抑制宝杆菌的有效浓度为 $205\text{ }\mu\text{mol/kg}$,遗憾的是在将辣椒碱加入涂层制作为成品漆时,辣椒碱却没有表现出理想的抑菌效果;Abdulhadi等^[20]将辣椒素的防污性能与硅橡胶的防污性能相结合,达到了协同的抑菌效果,同时指出辣椒素渗出过快是制约含辣椒素有机硅涂层发展的一大重要缺陷。这些研究成果表明了将辣椒素或者类辣椒素衍生物用于防污涂料的可行性。遗憾的是,在关于含辣椒素防污涂层的防污机理方面,特别是关于其对海洋生物的作用机制深入研究不够,而是简单的归结为辣椒素对海洋生物具有良好的驱避能力,且文献中又缺乏相关的试验结果证据。海洋污损生物的附着机理研究不难发现,生物污损并不是单一生物造成的,而是一个典型的生态演替过程,蛋白质、蛋白多糖等物质在氢键等物理作用下,向物体表面不断富集,形成可为微生物提供养料的条件膜,微生物通过胞外聚合物(EPS)粘附在材料表面,形成微生物膜。微生物膜又可以分为细菌层和微藻层,微藻层的形成受细菌的影响,且细菌的存在影响硅藻的附着生长^[21-22]。研究表明^[23-26],生物膜在材料表面的形成情况及性质决定了后续大型生物的附着情况。若前期生物膜演替过程被阻止则后续大型生物,特别是硬壳生物的附着将被阻止,因此对材料表面初期微生物污损进行防控,不仅能够避免生物膜带来的危害,而且能够防止大型污损生物的附着^[27]。鉴于此,文中选择黄海舟形底栖硅藻和大连海域天然海洋细菌作为研究对象,

并在前人研究的基础上, 配制含辣椒素防污涂料, 通过海洋细菌附着、海洋细菌分层取样和底栖硅藻附着等试验, 来观察研究海洋微生物在含辣椒素防污涂层上的生长活性和附着效果, 通过对添加有辣椒素的天然新鲜海水和底栖硅藻进行培养, 尝试用试验揭示辣椒素抑制海洋细菌和影响底栖硅藻的作用方式机制, 为新型含辣椒素防污涂料的研发提供科学试验基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

B5000 型丙烯酸树脂 (武汉现代工业技术研究院); 辣椒素树脂 (云南宏绿辣素有限公司) 和舟形底栖硅藻 (青岛中科院海藻种质库)。

涂料配制在 JFS-400 型搅拌砂磨分散多功能机上完成; 海洋细菌附着试验采用 2216E 型培养基, 在 SHP-080 型生化培养箱中进行培养, 以平板计数法和比表面积法来进行定量分析; 底栖硅藻的培养和附着试验在 HPG-280B 型光照培养箱中进行, 吸光度在 UV-2000 紫外-可见光分光光度计 (LabTech 公司) 上完成; 用 Image-Pro Plus 软件进行照片定量图像处理。

1.2 试样制备及性能检测

1.2.1 涂层试样制备

将辣椒素作为唯一的防污剂, 选用和辣椒素相容性较好的丙烯酸树脂作为基料树脂, 再加入其他颜填料和功能助剂将之混合均匀并经锥形磨砂磨配制成涂料, 按照不添加或者添加辣椒素作为防污剂, 分别将其记做 L0 与 L1, 另外准备一部分丙烯酸树脂清漆作为空白对照涂料, 记做 B0。涂料具体配方见表 1。

试验前将涂料涂装在规格为 120 mm×50 mm×0.3 mm 的马口铁板和规格为 76.2 mm×25.4 mm×

1 mm 的载玻片上, 每种涂层样品的马口铁板和载玻片各涂装 8 片, 在室温下干燥 7 d 后用于相应的测试。

1.2.2 涂层性能

(1) 力学性能

使用 QHQ-A 铅笔划痕硬度仪, 按照国家标准 GB/T 6739 测试涂层的铅笔硬度; 使用 QFZ-II 漆膜附着力测试仪, 按照国家标准 GB/T 1720 进行涂层的附着力测试, 然后利用 WASSIN-SMS-313 体视显微镜观察划圈后的漆膜试板进行评级; 采用 QTY-10A 的漆膜弯曲试验器 (合叶型), 按照国家标准 GB/T 6742 进行柔韧性的测试; 使用 QCJ 漆膜冲击器, 按照国家标准 GB/T 1732 测试涂层的抗冲击性能。

(2) 接触角和表面能

采用 JC2000 型接触角测定仪测试涂层表面水和二碘甲烷的接触角。将 3 μ L 的去离子水或二碘甲烷直接滴于涂层表面上, 然后进行测试, 每个样品沿长度方向取互相等距离的 3 个点进行测量, 共 6 次读数, 取平均值作为测定值。基于涂层的水和二碘甲烷接触角, 根据 Owens 二液法计算涂层的固体表面自由能^[28]。

1.3 生物活性试验

1.3.1 海洋细菌生物活性

取黄海大连海域新鲜海水, 经滤纸过滤除去杂质后, 各取 200 mL 新鲜海水置于两只规格 500 mL 的烧杯中, 根据辣椒素的水溶性 (~60 mg/L)^[29], 在其中一只烧杯中加入 12 mg 天然辣椒素, 按照未添加和添加辣椒素分别将这两瓶含菌海水记做 H0 和 H1。将这两只烧杯放置在光照培养箱中, 控制试验光照昼夜时间比为 12 h : 12 h, 温度 (20±1)℃, 48 h 后用移液枪在两只烧杯中分 3 次各取 100 μ L 新鲜海水, 经定量灭菌海水稀释配制成 10⁻⁵ 体积分数的菌液后, 接种到 2216E 平板培养基上并涂布均匀, 将平板倒置于生化培养箱, 30℃ 恒温培养 48 h 后, 观察记录菌落数。

1.3.2 舟形底栖硅藻生物活性

取 150 mL 锥形瓶两只, 在其中加入 20 mL 的藻液和 25 mL 的灭菌海水, 滴加 F/2 配方的营养盐至溶液体积为 50 mL; 然后在两个锥形瓶中各取 5 mL 的藻液测定试验初两瓶舟形底栖硅藻的叶绿素浓度; 之后在其中一只锥形瓶中加入 3 mg

表 1 防污涂料配方

Table 1 Formula of antifouling paints

Materials	L0	L1	B0
Capsaicin	0	3%	0
Acrylic	35%	35%	90%
Pigment and filler	35%	32%	0
Xylene	8%	8%	8%
Functional additive	2%	2%	2%
Other	20%	20%	0

辣椒素, 作为试验组, 另一只锥形瓶中的藻液作为对照组, 放入光照培养箱中进行培养。控制试验光照昼夜时间比 12 h : 12 h, 水温 (18±1)℃, 试验期间每天摇瓶 2~3 次, 使 CO₂ 能够大量溶入藻液中促进藻液生长繁殖, 7 d 后同样在两个锥形瓶中各取 5 mL 的藻液测定其叶绿素浓度, 根据《海洋监测规范》(GB 17378-1998) 采用分光光度法测定叶绿素浓度。

1.4 微生物附着试验

为了进一步考察含辣椒素防污涂层对海洋微生物的作用机制, 在生物活性试验的基础上设计了附着试验。

1.4.1 海洋细菌附着试验与评价方法

选取黄海大连海域天然海水中所含海洋细菌为试验菌种, 取 3 片固化干燥 7 d 以上的载玻片试样平置于 800 mL 的烧杯底部, 使漆面朝上, 加入 600 mL 经滤纸过滤过的新鲜海水, 控制试验光照昼夜时间比为 12 h : 12 h, 温度 (20±1)℃, 静置浸泡 48 h 后用中毛牙刷将试样表面附着的菌膜刷到定量灭菌海水中, 边刷边用定量灭菌海水冲洗试样表面, 得到原始菌液后, 再加入灭菌海水分别配制成 10⁻⁷~10⁻⁴ 体积分数的菌液, 接种于 2216E 平板培养基上, 并涂布均匀。试验中为保证接种试样的准确性, 每种试样的菌液应接种 3 个培养基; 之后将平板倒置于 30℃ 的生化培养箱中, 恒温培养 48 h 后, 观察记录菌落数。

在细菌刮片试验的基础上, 为了考察含辣椒素防污涂层对海洋细菌的驱避作用, 在涂层浸泡到第 24 h 和第 48 h 时, 用移液枪分别取距离涂层表面约 2 mm 的下层海水和距离涂层表面约 100 mm 的上层海水 100 μL 各 3 次, 然后用灭菌海水进行稀释, 配制成 10⁻⁵ 体积分数的菌液, 在 2216E 平板培养基上培养, 定期观察拍照记录菌落生长情况。详细的海洋细菌附着试验及评价方法详见文献[30]。

1.4.2 舟形底栖硅藻附着与评价方法

取 3 片固化干燥 7 d 以上的载玻片涂层试样, 平置于 800 mL 的烧杯中, 加入 200 mL 经过滤杀菌灭菌处理的海水和 20 mL 舟形底栖硅藻藻液, 静置浸泡 3 d。控制试验光照昼夜时间比 12 h : 12 h, 水温 (18±1)℃, 营养盐使用 F/2 配方, 定时观察、拍照记录硅藻在烧杯中和涂层表面的附着情况。底栖硅藻附着的试验及评价方法详见文献[31]。

2 结果与讨论

2.1 涂层性能

试验涂层的铅笔硬度、附着力和柔韧性等基本性能见表 2, 从测试结果来看, 涂层具有较好的附着力、较低的硬度、良好的柔韧性和良好的耐冲击性能, 涂层的各项性能指标基本满足船舶防污涂料的通用技术规范。同时还可以发现, 涂层的铅笔硬度和附着力相比于清漆树脂有了一定程度的提升, 但加入辣椒素的涂层比未加辣椒素涂层的铅笔硬度要低一个等级。

表 2 涂层的基本力学性能

Sample	Table 2 Mechanical properties of the coatings			
	Pencil hardness	Adhesion grade	Flexibility / Impact resistance / grade	(kg·cm)
B0	2B	3	1	50
L0	HB	2	1	50
L1	B	2	1	50

试验测得涂层的水接触角和二碘甲烷接触角、以及由二液法计算得到的涂层的表面自由能及极性和色散分量如表 3 所示。可见, 在将树脂配制成涂层 L0 和 L1 后, 涂层的水和二碘甲烷接触角均稍有降低, 而表面自由能增大。同时, 在涂层中加入辣椒素会提高涂层的二碘甲烷接触角, 增大涂层的极性力分量并降低涂层的色散力分量。

表 3 涂层的接触角与表面自由能

Table 3 Contact angle and surface free energy of the coatings

Sample	Contact angle /(°)		Surface free energy /(mJ·m ⁻²)		
	Water	Diiodomethane	Polar force component	Dispersive force component	Surface free energy
B0	100.1±1.09	42.2±2.18	0.02±0.01	39.28±1.07	39.29±1.08
L0	94.8±0.96	26.5±0.70	0.05±0.03	46.32±0.44	46.37±0.40
L1	92.0±0.53	35.8±0.72	0.52±0.09	41.27±0.48	41.79±0.39

2.2 生物活性

2.2.1 辣椒素对海洋细菌生物活性的影响

对未添加和添加辣椒素的含菌海水培养两天后, 将两只烧杯中的海洋细菌按照前述 1.3.1 节中的方法接种培养 48 h, 编号为 H0 和 H1 的菌液其细菌生长状况大致如图 1(a)(b) 所示, 用 Image-Pro Plus 软件对照片进行定量图像处理, 先将图片进行灰度化处理, 然后增强对比, 得到如图 2(a)(b) 所示的菌落形貌图, 再进行二值化, 并对处理后的图像亮区域进行计数和统计。试验中分别用菌落计数法和比表面积法对得到的每个试样的 3 个培养基表面的菌落数取平均值和标准差, 得到两组海洋细菌的生长情况结果见表 4。从固体培养基上菌落的生长状况来看, 与未添加辣椒素的培养组相比, 添加了辣椒素后的海洋细菌菌落面积

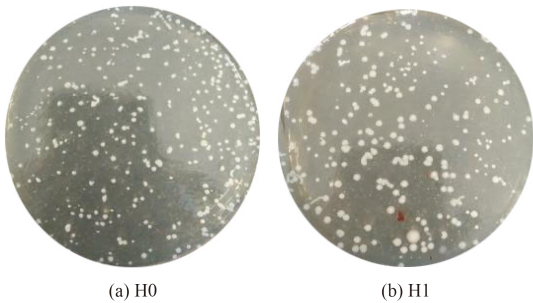


图 1 添加及未添加辣椒素海水中的细菌菌落
Fig.1 Photos of bacterial colony cultured in seawater with and without capsaicin

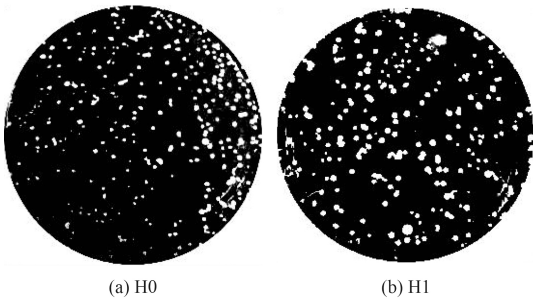


图 2 细菌菌落的图像处理图片
Fig.2 Treated images of bacterial colony

Analytical method	Sample	
	H0	H1
Colony concentration/($\times 10^6$ CFU $\cdot$ mL $^{-1}$)	18.7 $\pm$ 2.7	16.3 $\pm$ 3.1
Specific surface area method/%	11.73 $\pm$ 1.4	11.22 $\pm$ 1.7

仅仅减少了 0.51%, 可见海水中细菌的活性及生长繁殖并未因辣椒素的存在而表现出明显的差异。原因可能是由于辣椒素在作为防污剂使用时存在着最小抑菌浓度 (MIC), 且对不同菌种抑制活性不同, 如辣椒素对金黄色葡萄球菌 MIC 是 20 mg/L; 对沙门氏菌和大肠杆菌的 MIC 则分别为 30 和 100 mg/L; 对霉菌抑菌则需较高浓度, MIC 为 200 mg/L^[32]。因此, 在文中研究条件下 (60 mg/L) 辣椒素对海洋细菌的生长活性不产生影响。

2.2.2 辣椒素对底栖硅藻生物活性的影响

试验过程中对各锥形瓶内的舟形底栖硅藻的生长活性进行观测, 用生物显微镜在 200 倍放大倍率下镜检, 7 d 后对各锥形瓶内藻液的叶绿素浓度进行检测, 试验结果见图 3。测得未添加辣椒素的藻种试验前后叶绿素 *a* 值分别为 0.897 和 1.419 mg/L, 添加辣椒素的藻种试验前后叶绿素 *a* 值分别为 0.898 和 1.414 mg/L。说明在培养条件下底栖硅藻具有良好的生长活性, 在藻液中添加辣椒素并不会影响底栖硅藻的生物活性。

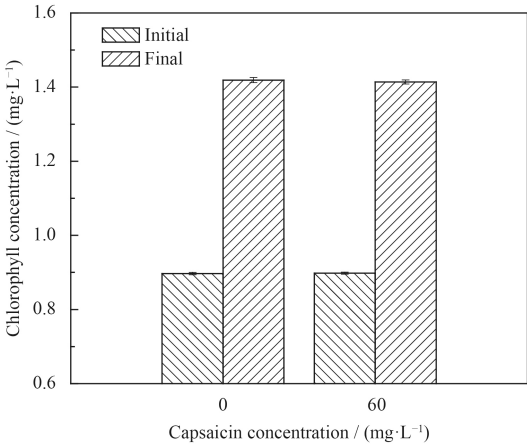


图 3 不同辣椒素浓度海水中底栖硅藻的叶绿素浓度
Fig.3 Chlorophyll concentration of *Navicula tenera* in seawater with different capsaicin concentration

2.3 细菌附着

2.3.1 涂层表面附着的海洋细菌浓度

按照前述方法进行细菌附着试验, 评价各涂层试样表面细菌的附着情况。试验中用菌落计数法对得到的每个试样的 3 个培养基表面的菌落数取平均值和标准差, 统计结果见表 5。

由表 5 可知, 各涂层试样表面附着海洋细菌的菌落数中 B0 涂层表面最多, L0 涂层次之, 而

L1 涂层最少。可见在涂层中加入辣椒素能够有效的抑制海洋细菌在涂层上的附着，但其作用机制尚不明确。

表 5 冲刷试样的附着海洋细菌浓度
Table 5 Concentration of adhered marine bacteria on washed samples

Sample	B0	L0	L1
Colony concentration / ($\times 10^6$ CFU·cm ⁻²)	33.4±4.5	20.8±7.2	9.7±3.1

2.3.2 海洋细菌浓度与取样距离

涂层试样浸泡 24 h 后，对各涂层表面附近约 2 mm 的下层海水和远离涂层试样约 100 mm 的上层海水接种培养 48 h 后的培养皿菌落形态进行拍照，用 Image-Pro Plus 软件进行照片定量图像处理，对每种接种海水菌落样品的 3 个处理图像的暗区域进行计数和统计，计算得到的菌落浓度及标准差见表 6。其中图 4 为各涂层样品中具有代表性的菌落形貌，处理后用于计数统计的图像见图 5。

从细菌培养结果来看，样品 L1 在浸泡过程中

表 6 各涂层试样不同取样位置海洋细菌的菌落浓度
Table 6 Concentration of bacterial colonies from different distance to the surface of the coatings

Sample	Colony concentration /($\times 10^6$ CFU·mL ⁻¹)	
	Distance to the surface of the coating	
	100 mm	2 mm
B0	5.1±1.7	28.7±7.1
L0	3.7±1.9	29.1±3.4
L1	51.6±9.3	5.0±2.4

表现出了良好的抑菌效果，直接体现为上层海水中的细菌数目明显多于下层海水。而在作为对比组的天然海水和 L0 试样中，细菌则更趋向于在下层海水中游离，接种同样下层海水中所含细菌明显多于上层海水，这说明辣椒素能够有效的驱赶或杀死靠近其表面的海洋细菌；试验中还发现，随着样品浸泡时间的延长，到第 48 h 后样品 L1 的涂层附近，细菌浓度逐渐变大，这可能是由于涂层中的辣椒素释放率过高或者是在较低的释放率下就能表现出很高的辣度，海洋细菌仅仅向上层逃离已不能躲避辣椒素的影响，所以在海水

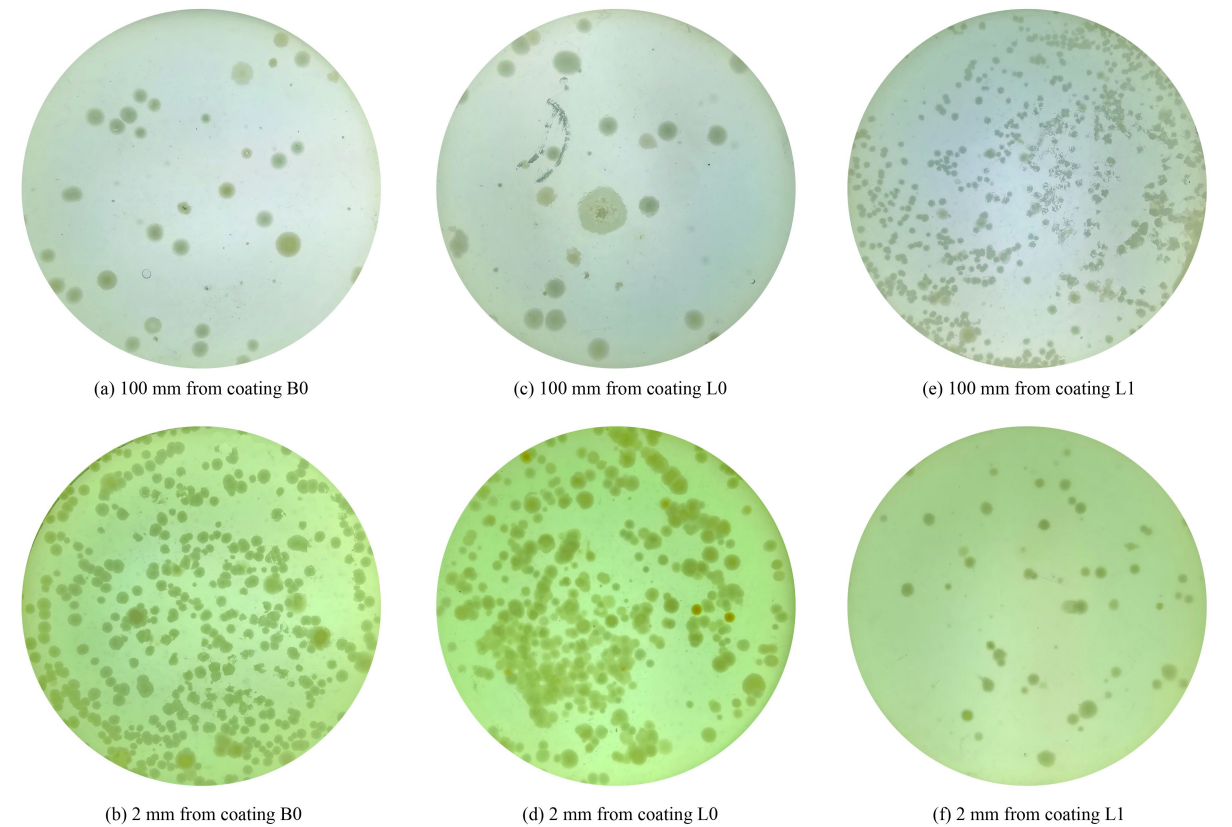


图 4 浸泡各涂层试样不同位置取样海水培养 48 h 后的菌落形态
Fig.4 Images of the bacterial colony cultured for 48 h in seawater at different positions of the coatings

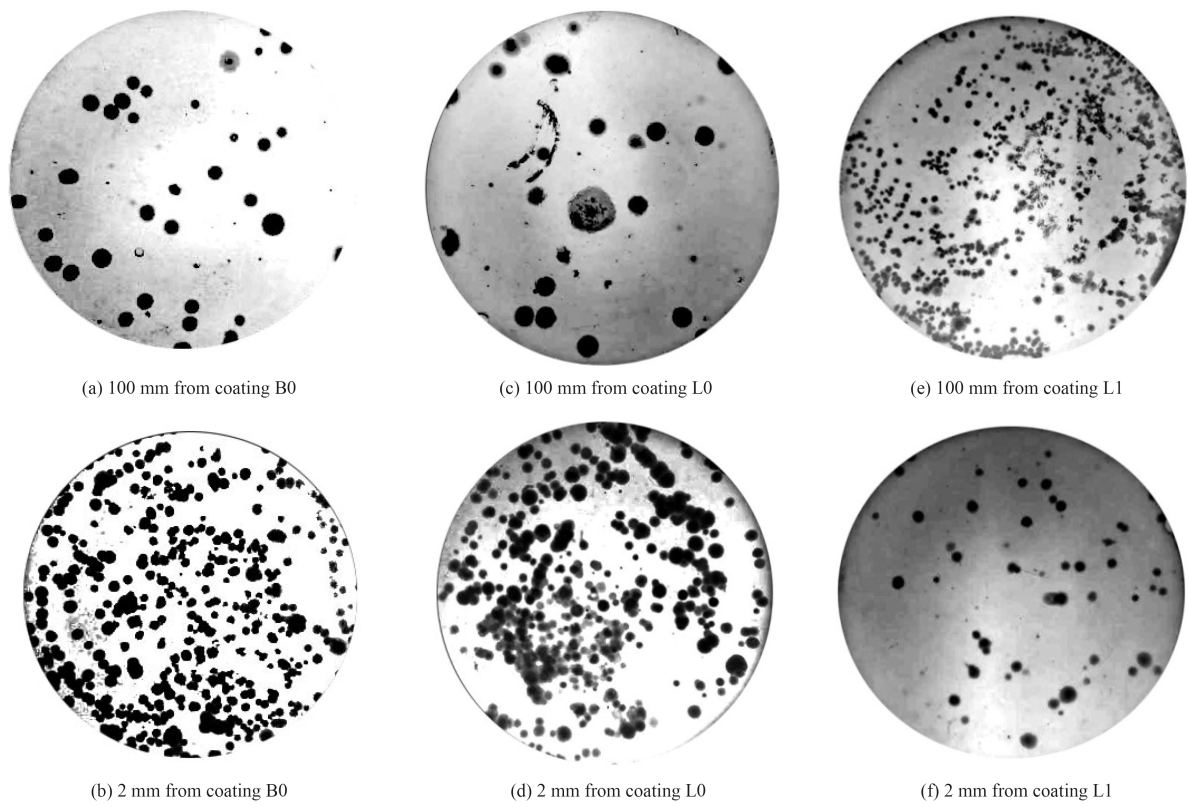


图 5 浸泡各涂层试样不同位置取样海水培养 48 h 后的菌落处理图像

Fig.5 Treated images of the bacterial colony cultured for 48 h in seawater at different positions of the coatings

中游离的分散着, 这从侧面证明了辣椒素对海洋细菌的影响方式不是杀灭作用而只是起到驱赶的效果。在实际的海洋系统里, 细菌可能会趋于表现出远离含辣椒素防污涂层的现象。

2.3.3 底栖硅藻的附着

附着试验 7 d 后, 取适量藻液置于生物显微镜下, 在 200 倍放大条件下, 观察菌落的生长状态和生物活性, 底栖硅藻的生长状态如图 6 所示, 镜检结果说明舟形底栖硅藻生长状态良好。在此基础上, 将水平放置样板上附着的底栖硅藻洗刷下来, 按文献[31]方法测定其叶绿素 *a* 值。叶

绿素 *a* 值越小, 就表明涂层上附着的底栖硅藻越少。实测叶绿素 *a* 值如表 7 所示。结果表明, 添加辣椒素到涂层中并没有影响底栖硅藻在涂层表面的附着, 含辣椒素防污涂层在该测试条件下对底栖硅藻的粘附没有防污效果。其原因可能是由于硅藻细胞壁外层为硅质, 尤其是底栖硅藻细胞壁相对浮游硅藻厚^[33], 辣椒素很难透过细胞壁对舟形底栖硅藻的生长产生影响。同时, 舟形底栖硅藻在含辣椒素防污涂层上的附着量更大, 这一方面可能是由于含辣椒素涂层的表面极性力更大, 更加有利于硅藻在涂层上的附着^[34]; 另一方

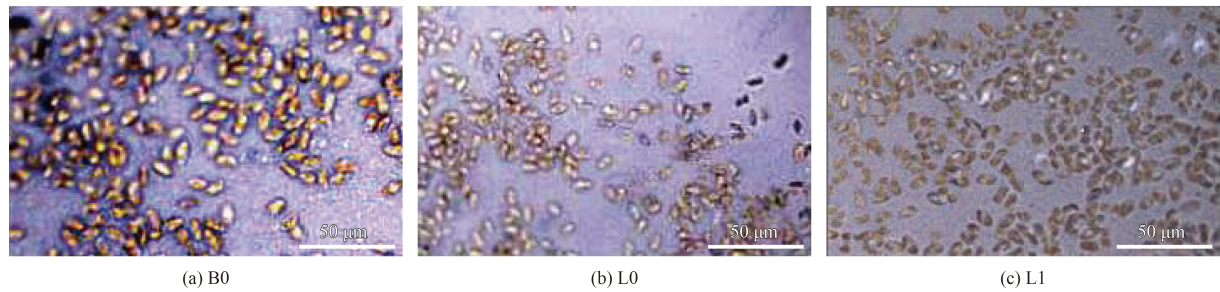


图 6 浸泡不同涂层试样海水中的舟形底栖硅藻生长状态

Fig.6 Growth status of *Navicula Tenara* in seawater with different coatings immersed

表 7 各涂层表面附着舟形底栖硅藻的叶绿素 *a* 值
Table 7 Chlorophyll *a* of *Navicula Tenera* attached to the coatings

Sample	B0	L0	L1
Chlorophyll <i>a</i> /(mg·m ⁻³)	42.9±0.79	43.2±0.47	56.2±1.46

面,从涂层的激光共聚焦扫描显微镜形貌图 7 和图 8 来看,加入辣椒素能够改变涂层的表面形态,增加涂层的表面粗糙度,更加有利于舟形底栖硅藻在涂层上的附着。

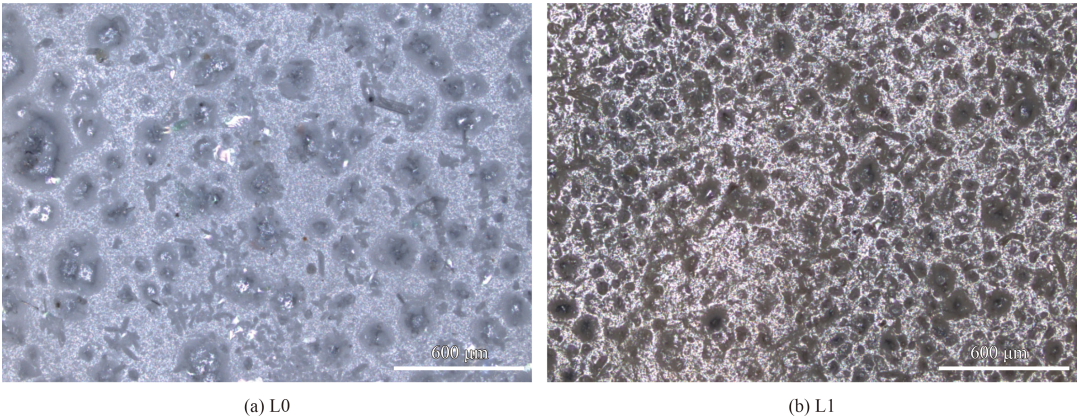


图 7 L0 和 L1 涂层表面的激光共聚焦扫描显微镜形貌 (视场面积 2569 μm×1839 μm)
Fig.7 CLSM morphologies of coating L0 and L1 (Field of view 2569 μm×1839 μm)

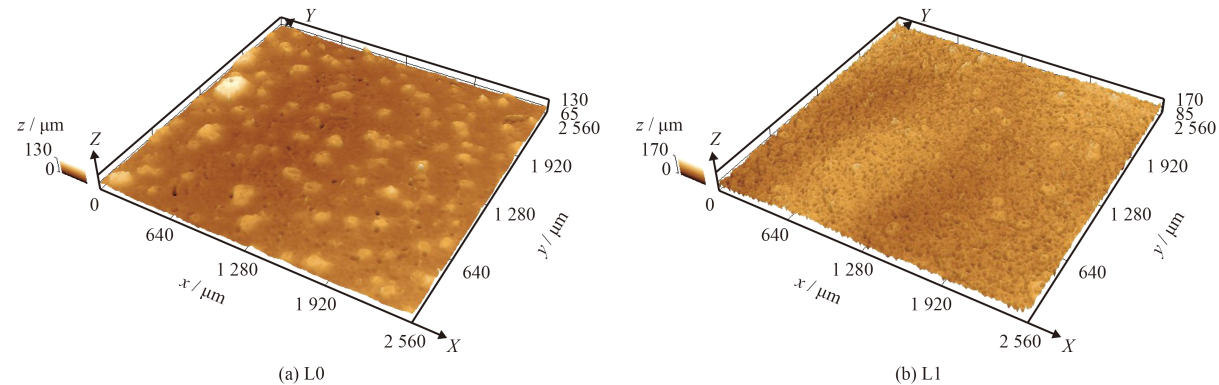


图 8 L0 和 L1 涂层表面的激光共聚焦扫描显微镜 3D 形貌 (视场面积 2569 μm×2575 μm)
Fig.8 CLSM 3D topographie of coatings L0 and L1 (Field of view 2569 μm×2555 μm)

3 结 论

(1) 辣椒素能够有效的抑制海洋细菌在涂层上的附着;辣椒素对海洋细菌的生物活性无影响,辣椒素通过驱避作用而不是杀灭作用防止海洋细菌在涂层表面的附着。

(2) 辣椒素对舟形底栖硅藻的生长没有明显的影响;而辣椒素的加入会导致涂层的表面极性力和表面粗糙度增大,使舟形底栖硅藻在涂层上的附着量有所增加。

参考文献

[1] 谢庆宜, 马春风, 张广照. 海洋防污材料[J]. 科学(上海), 2017, 69(1): 27-31.

XIE Q Y, MA C F, ZHANG G Z. Marine antifouling material[J]. Science (Shanghai), 2017, 69(1): 27-31 (in Chinese).

[2] 马春风, 吴博, 徐文涛, 等. 海洋防污高分子材料的进展[J]. 高分子通报, 2013(9): 87-95.

MA C F, WU B, XU W T, et al. Progress in marine antifouling polymer materials[J]. Polymer Notification, 2013(9): 87-95 (in Chinese).

[3] HELLIO C, YEBRA D M. Advances in Marine Antifouling Coatings and Technologies[M]. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd, 2009: 422-442.

[4] 叶章基, 陈珊珊, 马春风, 等. 新型环保海洋防污材料研究进展[J]. 表面技术, 2017, 46(12): 62-70.

YE Z J, CHEN S S, MA C F, et al. Development of novel environment-friendly antifouling materials[J]. Surface technology, 2017, 46(12): 62-70 (in Chinese).

- [5] OMAE I. General aspects of tin-free antifouling paints[J]. Chemical Reviews, 2003, 103(9): 3431-3448.
- [6] OCHI T, TAKAISHI Y, KOGURE K, et al. Antioxidant activity of a new capsaicin derivative from capsaicin annum[J]. Journal of Natural Products, 2003, 66(8): 1094-1096.
- [7] 王金玲, 吕长山, 于广建, 等. 辣椒碱的研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2004(3): 36-39.
WANG J L, LV C S, YU G J, et al. Study advances of capsaicin[J]. Heilongjiang Agricultural Science, 2004(3): 36-39 (in Chinese).
- [8] 郭丽, 王巧珍, 朱林. 辣椒碱抗病病原菌活性及其在番茄酱防腐中的应用[J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2006, 29(1): 117-121.
GUO L, WANG Q Z, ZHU L. Study on the anti-pathogenic activities of capsaicin and effects of its antiseptic application to ketchup[J]. Journal of Hefei University of Technology, 2006, 29(1): 117-121 (in Chinese).
- [9] JONES N L, SHABIB S, SHERMAN P M. Capsaicin as an inhibitor of the growth of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*[J]. Fems microbiology Letters, 1997, 146(2): 223-227.
- [10] 张继红, 陶能国, 李俊丽, 等. 辣椒素的提取及抑菌活性研究[J]. 广西植物, 2010, 30(1): 137-140.
ZHANG J H, TAO N G, LI J L, et al. Extraction of capsaicin and its anti-microbial activity[J]. Guangxi Plant, 2010, 30(1): 137-140 (in Chinese).
- [11] 吴影, 古绍彬, 张永杰. 辣椒中辣椒碱抑菌作用的研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(29): 130-131.
WU Y, GU S B, ZHANG Y J. Study on the antibacterial activity of capsaicin in capsicum[J]. Anhui Agricultural Science, 2007, 35(29): 130-131 (in Chinese).
- [12] 郑立稳, 孔学, 陈贯虹, 等. 辣椒碱酰胺类似物的合成及抑菌活性研究[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(3): 631-633.
ZHENG L W, KONG X, CHEN G H, et al. Synthesis and antifungal activity of substituted capsaicin amide analogues[J]. Hubei Agricultural Science, 2016, 55(3): 631-633 (in Chinese).
- [13] 陈荣发. 我国辣椒防污漆产品填补国内空白[J]. 海洋信息, 2002(4): 32-38.
CHEN R F. China's spicy antifouling paint products fill the domestic gap[J]. Marine Information, 2002(4): 32-38 (in Chinese).
- [14] 杜伟娜. 高纯度人工合成辣椒素在防污涂料中应用效果的研究[J]. 上海涂料, 2009, 47(8): 1-4.
DU W N. Study on the application effect of high purity synthetic capsaicin in antifouling coatings[J]. Shanghai Paint, 2009, 47(8): 1-4 (in Chinese).
- [15] 彭必先, 王俊莲, 彭争宏, 等. 辣椒素同系物合成、辣度及海洋生物防污性能研究[J]. 中国科学: 化学, 2011, 41(10): 1646-1654.
- PENG B X, WANG J L, PENG Z H, et al. Study on the synthesis, hotness and antifouling properties of capsaicin homologues[J]. Chinese Science; Chemistry, 2011, 41(10): 1646-1654 (in Chinese).
- [16] 于晓琳, 于良民, 姜晓辉. 具类辣素结构丙烯酸酯的合成及其抑菌和防污性能[J]. 应用化学, 2014, 31(5): 594-599.
YU X L, YU L M, JIANG X H. Synthesis and antibacterial and antifouling properties of acrylamide with isoflavin structure[J]. Applied Chemistry, 2014, 31(5): 594-599 (in Chinese).
- [17] 张晓春, 于良民, 姜晓辉. 含辣素衍生结构单体及其聚合物的合成、抑菌与抑藻性能[J]. 材料导报B:研究篇, 2018, 32(1): 193-197.
ZHANG X C, YU L M, JIANG X H. Synthesis, bacteriostatic and anti-alga capability of monomers and polymers containing capsaicin[J]. Material review: Research article, 2018, 32(1): 193-197 (in Chinese).
- [18] 赵海洲, 倪春花, 于良民, 等. 侧链悬挂辣素衍生结构丙烯酸树脂的合成及抗菌性能研究[J]. 功能材料, 2018, 49(7): 134-137.
ZHAO H Z, NI C H, YU L M, et al. The synthetic and antibacterial properties of the paracal derivative acrylic resin[J]. Functional materials, 2018, 49(7): 134-137 (in Chinese).
- [19] VILLA F, GIACOMUCCI L, POLO A, et al. N-vanillylnonanamide tested as a non-toxic antifoulant, applied to surfaces in a polyurethane coating[J]. Biotechnology Letters, 2009, 31(9): 1407-1413.
- [20] AL-JUHANI A, NEWBY B M Z. Assessments of capsaicin incorporated silicone rubber as antifouling coatings[J]. Journal of Rubber Research, 2014, 17(3): 173-186.
- [21] WINDLER M, LEINWEBER K, BARTULOS CR, et al. Biofilm and capsule formation of the diatom *Achnanthes minutissimum* are affected by a bacterium[J]. Journal of Phycology, 2015, 51(2): 343-355.
- [22] ZECHER K, JAGMANN N, SEEMANN P, et al. An efficient screening method for the isolation of heterotrophic bacteria influencing growth of diatoms under photoautotrophic conditions[J]. Journal of Microbiological Methods, 2015, 119: 154-162.
- [23] MAK J S, RITTSCHOF D, COSTLOW J D, et al. Inhibition of attachment of larval barnacles, *Balanus amphitrite*, by bacterial surface films[J]. Marine Biology, 1988, 97(2): 199-206.
- [24] HOLMSTROM C, KJELLEBERG S. Marine Pseudoalteromonas species are associated with higher organisms and produce biologically active extracellular agents[J]. Fems Mi-

- crobiology Ecology, 1999, 30(4): 285-293.
- [25] TAIT K, JOINT I, DAYKIN M, et al. Disruption of quorum sensing in seawater abolishes attraction of zoospores of the green alga *Ulva* to bacterial biofilms[J]. Environmental Microbiology, 2005, 7(2): 229-240.
- [26] ZARDUS J D, NEDVED B T, HUANG Y, et al. Microbial biofilms facilitate adhesion in biofouling invertebrates[J]. The Biological Bulletin, 2008, 214(1): 91-98.
- [27] 段东霞. 污损生物附着机理及酶在生物防污中的应用[J]. 海洋科学, 2011, 35(7): 107-112.
DUAN D X. The adhesive strategies of fouling organism and application of enzyme in antibiofouling[J]. Marine Sciences, 2011, 35(7): 107-112 (in Chinese).
- [28] OLIVER J F, MASON S G. Liquid spreading on rough metal surfaces[J]. Journal of Materials Science, 1980, 15(2): 431-437.
- [29] TURGUT C, NEWBY B M, CUTRIGHT T J. Cutright. Determination of optimal water solubility of capsaicin for its usage as a non-toxic antifoulant[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2004, 11(1): 7-10.
- [30] 黄晓冬, 张占平, 齐育红, 等. 水性聚氨酯防污涂料的海洋细菌附着实验[J]. 大连海事大学学报(自然科学版), 2007, 33(1): 6-9.
HUANG X D, ZHANG Z P, QI Y H, et al. Marine bacterial adhesion test of waterborne polyurethane antifouling coating[J]. Journal of Dalian Maritime University, 2007, 33(1): 6-9 (in Chinese).
- [31] 刘红, 张占平, 齐育红, 等. 无毒防污涂料表面底栖硅藻附着评价的实验方法[J]. 海洋环境科学, 2006, 25(3): 89-92.
LIU H, ZHANG Z P, QI Y H, et al. Experimental methods of evaluating biofouling of marine benthic diatoms on non-toxic antifouling coating[J]. Marine Environmental Science, 2006, 25(3): 89-92 (in Chinese).
- [32] 陈世化. 辣椒素类物质抑菌作用的研究与评价[D]. 湖南: 湖南农业大学, 2008.
CHEN S H. Research and evaluation on capsaicinoids' antimicrobial effect[D]. Hunan: Hunan Agricultural University, 2008 (in Chinese).
- [33] 金德祥, 程兆第, 林均民, 等. 中国海洋底栖硅藻类(上卷)[M]. 北京: 海洋出版社, 1982: 63-236.
JIN D X, CHENG Z D, LIN J M, et al. Chinese marine benthic diatoms (volume)[M]. Beijing: Ocean Press, 1982: 63-236 (in Chinese).
- [34] 曹杉. 海洋底栖硅藻附着机理及其防污技术研究[D]. 北京: 清华大学, 2013.
CAO S. Study on the attachment mechanism of marine benthic diatoms and its antifouling technology[D]. Beijing: Tsinghua University, 2013 (in Chinese).