

专论与综述

## 材料表面特征对生物膜形成的影响及其应用

熊富忠<sup>1</sup> 赵小希<sup>1</sup> 廖胤皓<sup>1</sup> 温东辉<sup>1\*</sup> 李琪琳<sup>2</sup>

(1. 北京大学环境科学与工程学院 北京 100871)

(2. Department of Civil and Environmental Engineering, Rice University, Houston, TX 77005, USA)

**摘要:** 生物膜是微生物细胞粘附于材料表面的群体性生长方式。在实践应用中,有目的地调控微生物在材料表面的成膜进程具有重要意义。本文概述了生物膜在材料表面的形成机制及其影响因素,综述了材料表面的电荷特征、亲疏水性、形貌模式和功能性化学修饰等物化特性对细胞粘附和生物膜形成的影响,并介绍了目前在不同实际应用场景中抑制成膜和促进成膜材料的研发现状。

**关键词:** 生物膜, 细胞粘附, 材料表面, 物化特性, 表面修饰

## Effects of surface properties on biofilm formation and the related applications

XIONG Fu-Zhong<sup>1</sup> ZHAO Xiao-Xi<sup>1</sup> LIAO Yin-Hao<sup>1</sup> WEN Dong-Hui<sup>1\*</sup> LI Qi-Lin<sup>2</sup>

(1. College of Environmental Sciences and Engineering, Peking University, Beijing 100871, China)

(2. Department of Civil and Environmental Engineering, Rice University, Houston, TX 77005, USA)

**Abstract:** Biofilm is a predominant lifestyle for microbes, in which microbial communities adhere to surfaces and are embedded in an extracellular matrix. Regulating the biofilm formation process on surfaces to meet practical demands is of great importance. Herein, we introduced the mechanism of biofilm formation on surfaces along with its key factors. The effects of surface properties, including surface charge, wettability, roughness, topographic patterns, and functional chemical modifications, on bacterial adhesion and biofilm formation were summarized in detail. Finally, we reviewed the research progress in material preparation for inhibiting or enhancing biofilm formation according to different application scenarios.

**Keywords:** Biofilm, Bacterial adhesion, Material surface, Physicochemical properties, Surface modification

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (51378019, 51529801)

**\*Corresponding author:** Tel: 86-10-62751923; E-mail: dhwen@pku.edu.cn

**Received:** March 03, 2017; **Accepted:** July 22, 2017; **Published online** (www.cnki.net): August 31, 2017

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(51378019, 51529801)

**\*通信作者:** Tel: 86-10-62751923; E-mail: dhwen@pku.edu.cn

**收稿日期:** 2017-03-03; **接受日期:** 2017-07-22; **网络首发日期**(www.cnki.net): 2017-08-31

细菌等微生物以其高度的多样性和适应性在自然环境和人工系统中发挥着重要的生物作用。为了在复杂多变的环境条件下生存和繁殖,细菌等微生物发展出一种群体性的生活方式——生物膜,即粘附于材料表面并被自身合成分泌的胞外聚合物(Extracellular polymeric substance, EPS)所包裹的微生物细胞的聚集体<sup>[1]</sup>。研究表明,生物膜是微生物最常见的生长方式<sup>[2]</sup>,结构有序、功能分化的生物膜群落可以为处在不利环境(如噬菌体、抗生素、毒素等)中的细胞提供保护和抗逆机制<sup>[3-5]</sup>。

生物膜的形成和发展始终离不开材料表面,有目的地调控微生物在材料表面的附着和生物膜发生进程具有重要的实践意义。一方面,实践应用需要抑制某些材料表面上生物膜形成的负面作用。例如海洋设备材料表面<sup>[6]</sup>形成生物膜会加快腐蚀、增加摩擦阻力,水处理膜材料表面<sup>[7]</sup>的生物膜会堵塞孔隙、导致膜污染,以及人体植入医疗器械材料表面<sup>[8]</sup>形成生物膜可能会引发细菌感染和相关疾病<sup>[9]</sup>等。另一方面,生物膜在废水生物处理、水生态环境修复等环境工程技术中的应用前景广阔<sup>[10]</sup>,为了快速启动这些工艺中的生物降解反应,必须促进生物膜在载体材料表面的形成和稳定<sup>[11]</sup>,即“挂膜”过程。因此,材料表面特征对微生物成膜的影响机制值得重点关注。

本文通过概述微生物在材料表面形成生物膜的一般过程与机制,并详细论述材料表面特征对细菌粘附和生物膜形成的影响及其如何应用于不同实际场景中抑制成膜和促进成膜材料的研发,系统揭示微生物成膜过程中材料表面与微生物细胞之间的相互作用机制,指明运用材料改性手段进行生物膜调控的主要方法,为相关研究者提供较为全面的科学参考。

## 1 生物膜的形成及其影响因素

微生物在材料表面附着并形成生物膜是一个复杂的动态过程,涉及多种生理机制,受多重因素影响。研究一般认为,生物膜的形成过程可以分为

5个阶段,即细胞的初始粘附、分泌EPS强化粘附、微群落形成、生物膜结构成熟分化以及细胞的脱离逸散<sup>[12-13]</sup>。

(1) 细胞的初始粘附。这一阶段中,微生物细胞利用一系列胞外的附属结构如鞭毛(Flagella)、纤毛(Fimbriae)、菌毛(Pili)及胞外膜蛋白等去感知非生物材料表面或生物机体表面的存在并进行粘附<sup>[14-15]</sup>,这种粘附是可逆的。O'Toole等<sup>[16]</sup>对比鞭毛运动缺陷型与野生型 *Pseudomonas aeruginosa* 在聚氯乙烯材料表面成膜的情况,发现野生型菌株先在表面形成单层细胞,再在此基础上发展成微群落,而鞭毛运动缺陷型几乎无法发生细胞粘附,说明鞭毛对细菌在非生物材料表面形成单层细胞起到重要作用。

(2) 分泌EPS强化粘附。微生物细胞通过分泌蛋白质、脂多糖、脂质、DNA等胞外聚合物<sup>[17]</sup>来强化细胞与材料表面的粘附,并使这种粘附变成不可逆的。EPS是生物膜结构的支撑框架,为细胞提供营养环境。具有高度亲和性的EPS,可促进微生物的表面粘附和后续过程中细胞的聚集,多数情况下缺少EPS的细菌也能发生粘附,却无法形成生物膜<sup>[18]</sup>。EPS还参与调控生物膜的形态, Ma等<sup>[19-20]</sup>发现Psl多糖在 *P. aeruginosa* PAO1细胞粘附阶段通过促进细胞与材料表面以及细胞之间的相互作用来形成初始生物膜,并且有Psl多糖参与形成的生物膜在形态结构上更加紧凑。

(3) 微群落形成。在此阶段,粘附在材料表面的细胞开始分裂增殖并形成菌落,EPS的分泌量也显著增加并逐渐形成包裹细胞的结构。研究认为,在微群落形成过程中发挥重要调控作用的机制是群体感应效应(Quorum sensing, QS),即细胞向环境释放信号分子,待信号分子积累到一定强度即细胞达到一定密度后,启动一系列基因表达和细胞响应,进而调节种群的生长、附着和迁移<sup>[21-22]</sup>。Davies等<sup>[23]</sup>研究野生型 *P. aeruginosa* PAO1和不能产生信号分子的LasI-RhlI双突变型的成膜表现,发现野生型生物膜厚实致密且膜内形成水通道等复杂结

构, 而突变型生物膜扁平且内部均匀无复杂结构。

(4) 生物膜结构成熟分化。微群落随着细胞的继续增殖而逐渐发展成具有三维结构的成熟生物膜<sup>[13]</sup>, 该过程中细胞之间以及细胞与材料表面之间主要依靠 EPS 粘附在一起。同时成熟的生物膜结构为膜内细胞的代谢与生长提供支持和保护机制<sup>[17]</sup>。

(5) 细胞脱离逸散。生物膜逐渐进入老化裂解状态, 微生物细胞逐渐从膜表面脱离并向外扩散。脱落的细胞可在新的生境中重新定殖于材料表面, 形成新的生物膜。QS 系统在上述生物膜的成熟与散播阶段中仍然发挥重要的调控作用。Davey 等<sup>[24]</sup>研究表明, 鼠李糖脂对于维持已形成细菌生物膜的通道结构至关重要, 而 Las QS 系统是鼠李糖脂合成分泌的调控系统。Purevdorj 等<sup>[25]</sup>研究认为在生物膜裂解扩散中必需有 LasI-RhlI QS 系统的参与。

综上所述, 一方面, 微生物细胞自身的生物学特性, 如细胞表面附属结构鞭毛、菌毛和纤毛的行为, 以及胞外聚合物的合成分泌、群体感应效应系统的调控等, 会直接从内在机制决定生物膜进程。另一方面, 外界的环境因子, 如 pH<sup>[26-27]</sup>、营养条件<sup>[28]</sup>、水力条件<sup>[29]</sup>以及材料表面特征<sup>[30]</sup>等, 也会影响微生物细胞的附着及成膜行为。研究实践表明, 最适合用于实现在自然环境或人工系统对生物膜形成过程进行调控的影响因素是材料表面特征, 目前已有众多研究试图通过研制特殊材料或对材料表面进行物理或化学修饰而调控成膜过程。

## 2 材料表面特征对生物膜形成的影响

生物膜是细胞与材料表面相互作用的结果, 材料表面的物理化学特征会影响细胞在材料表面的粘附行为以及后续的成膜过程。这些特征具体包括: 材料表面与细胞间的静电相互作用和范德华力, 材料的表面能和亲疏水性, 材料表面的形貌特征如粗糙程度、形貌模式等, 以及对材料表面的功能性化学基团修饰。

### 2.1 材料表面电荷特征

细胞靠近材料表面并发生粘附时最先发生的相互作用是静电力以及范德华力。通过对 Zeta 电位的测定表明, 大多数细菌细胞表面都是带负电的<sup>[31]</sup>, 因此在静电引力作用下, 细菌一般可以快速且紧密地粘附到带正电的材料表面。即表面带正电的材料有利于细菌生物膜的形成, 而带负电的材料表面与细菌之间的静电斥力不利于细胞的粘附和生物膜的形成。Gottenbos 等<sup>[32]</sup>测定 *P. aeruginosa* AK1 的 Zeta 电位为 -7 mV, 并发现其在荷正电(+12 mV)生物移植材料表面的初始附着率比在荷负电(-18 mV)共聚物表面的初始附着率大 2 倍。Terada 等<sup>[33]</sup>修饰聚乙烯表面, 使其分别带正电与负电, 发现 *Escherichia coli* 在带正电表面的细胞粘附密度比带负电表面高 23 倍, 且带正电材料表面生物膜为致密、均质、单一结构, 而带负电材料表面生物膜为稀疏、多样化、蘑菇状结构。

一些细菌也可以在带负电的材料表面粘附成膜, 主要机制有: (1) 细菌细胞通过由鞭毛、菌毛和纤毛等附属结构介导的运动能力来克服静电斥力<sup>[14]</sup>, 从而向负电表面靠近、接触并附着; (2) 细胞发展出特定的生理反应来适应在负电表面的粘附与成膜, Rzhapishevska 等<sup>[34]</sup>发现 *P. aeruginosa* 在带负电的多聚物材料表面形成蘑菇状的生物膜, 其中含有较高水平的环鸟苷二磷酸(c-di-GMP), 而 c-di-GMP 被认为可以促进粘附素<sup>[35]</sup>和胞外多糖<sup>[36]</sup>的分泌。另一方面, 带正电的材料表面也不一定都有助于成膜, 一些表面含有如季铵盐等阳离子基团的特殊材料<sup>[37]</sup>虽能通过静电作用吸引、结合细菌细胞, 但阳离子基团对细胞膜结构的破坏会杀死细菌<sup>[38]</sup>, 从而抑制了生物膜的形成。

### 2.2 材料表面润湿性

材料表面润湿性是影响细菌细胞粘附行为的另一重要因素。随着细菌细胞与材料表面利用静电引力或克服静电斥力而相互接触并发生初始粘附, 材料表面的疏水性基团和细胞表面的疏水性基团之间的相互作用可能会强化这种粘附。Cerca 等<sup>[39]</sup>

对比了 9 株 *Staphylococcus epidermidis* 菌在聚丙烯与玻璃表面的初始粘附, 结果发现这些细菌在疏水性强的聚丙烯材料表面的初始粘附水平高, 而在亲水性强的玻璃表面粘附水平低。Lee 等<sup>[40]</sup>观测了 *P. aeruginosa* PAO1 在不同膜材料表面的行为, 发现水接触角较大(即越疏水)的膜材料表面有更多的细菌粘附。也有研究得出不同的结论, Hyde 等<sup>[41]</sup>发现疏水性表面的细菌粘附及生物膜成熟速度比亲水性表面要慢。这是由于材料表面能对细菌粘附和成膜的影响还与细菌的种类及其细胞表面的化学组成相关。一般而言, 细胞表面 N/C 值越高的细菌越疏水, O/C 值越高的细菌越亲水<sup>[42]</sup>, 而表面疏水性强的细菌更易在强疏水性表面(如聚苯乙烯)附着, 在玻璃等强亲水性的表面, 亲水性强的细菌附着量则较高<sup>[43]</sup>。

近来, 超疏水性材料和水下超疏油性材料对细菌粘附和成膜的影响也被广泛研究。自然界中典型的超疏水材料是荷叶, 其具有极低的表面能且水接触角达到  $170^\circ$ , 能够很好地抵抗微生物附着<sup>[44-45]</sup>。Pernites 等<sup>[46]</sup>制备了一种胶状的超疏水性聚噻吩薄膜, 可以通过调节电势使其在亲水和超疏水之间转换, 发现其处于超疏水状态时对 *E. coli* 和蛋白质的吸附量远小于其处于亲水状态的吸附量。鱼鳞等水下超疏油性材料也有良好的抗微生物污染的性能<sup>[47]</sup>, 其主要机制是通过表面亲水性成分的水合作用紧紧捕获一层致密的水分子层, 从而减弱乃至阻断细胞表面与材料表面的相互作用。Chang 等<sup>[48]</sup>在玻璃表面负载聚多巴胺并嫁接聚甲基丙烯磷酰胆碱, 形成一层水下超疏油的涂层(水下油接触角为  $157^\circ$ ), 发现 *E. coli* 细胞在该涂层上的附着量远小于在玻璃表面的附着量。

### 2.3 材料表面形貌特征

材料表面通常不是绝对平滑的, 而是呈现出由一系列不同高度和间距的凸起与凹陷所构成的形貌。无序的形貌特征可用粗糙度(Roughness)来表征, 有序的形貌特征则可用一种模式(Pattern)来描述。材料表面的粗糙度和形貌模式被大量的研究证

明对细菌附着和生物膜的形成有重要影响<sup>[49-50]</sup>。一般认为, 纳米和微米级的表面粗糙度通过增加细胞与材料表面的接触面积<sup>[51]</sup>, 减少流场中细胞所承受的水力剪切力<sup>[52]</sup>, 从而增强细胞的粘附能力; 但另一方面, 粗糙度的改变会使材料的表面能和亲疏水性发生变化<sup>[53]</sup>, 从而影响细胞的粘附。Singh 等<sup>[54]</sup>研究了 *E. coli* 和 *Staphylococcus aureus* 在具有纳米级形貌的二氧化钛表面的粘附, 发现当粗糙度达到 20 nm 时, 细菌细胞的粘附量随之增加, 而超过 20 nm 后细胞粘附受到显著抑制。因此, 粗糙度的增大并不一定会导致细胞粘附和成膜的增加, 往往存在一个临界粗糙度, 引起最多的细胞粘附。此外, 细菌细胞的形态也会影响其在不同粗糙度表面上的粘附, 球状细胞在粗糙的表面上有更大的接触面积, 而杆状细胞在光滑的表面上有更大的接触面积。Whitehead 等<sup>[55]</sup>就发现球状的 *S. aureus* 在粗糙度为 43.6 nm 表面上的粘附量超过在粗糙度为 8.7 nm 表面上的粘附量, 而杆状的 *E. coli* 则相反。

所谓形貌模式, 是指材料表面上分布的重复三维结构阵列。自然界中的一些生物如鲨鱼<sup>[56]</sup>、海蟹<sup>[57]</sup>等利用表皮上的独特形貌模式来防止微生物附着。受此启发, 具有表面形貌模式的材料被广泛用于调控细菌细胞的粘附和成膜行为。Chung 等<sup>[58]</sup>制备了具有两种形貌结构的聚二甲基硅氧烷(Polydimethylsiloxane, PDMS)材料, 发现在仿造鲨鱼皮结构的纳米级模式表面上, *S. aureus* 的细胞粘附和成膜量显著少于光滑表面的材料。Yu 等<sup>[59]</sup>利用光刻蚀(Photolithography)和反应离子刻蚀(Reactive ion etching)技术, 在硅片表面刻蚀不同尺寸和间距的微米级柱状阵列模式, 发现对微粒在材料表面的空间分布、粘着力分布以及局部剪切力具有显著影响, 大大减少了微粒在表面的吸附。值得注意的是, 形貌模式尺寸和细菌细胞尺寸之间的大小关系对细菌的粘附行为十分重要<sup>[60]</sup>。Lu 等<sup>[61]</sup>在 PDMS 表面构造了不同尺寸的柱状、条带状和“米字”花纹状的形貌模式, 发现当模式凹槽的间距

小于 *E. coli*、*S. aureus* 和 *P. aeruginosa* 的细胞大小时,才可显著减低它们的粘附。此外,一些形貌模式由于其特殊的结构还直接影响粘附细胞的活性。一种蝉(*Clanger cicada*)的翅膀表面具有锥形阵列的模式<sup>[62]</sup>,可以刺破粘附到其表面的革兰氏阴性菌的细胞壁,从而杀死细菌<sup>[63]</sup>。

## 2.4 材料表面化学修饰

通过改变材料表面的化学性质可以调控微生物的初始附着以及生物膜的形成,主要的表面化学改性(修饰)方法包括共价改性、非共价改性、小分子的控制释放、聚合表面的降解等<sup>[64]</sup>。一种常用的化学修饰技术是自组装单分子层(Self-assembled monolayers, SAMs),也称为自组装膜,即构膜分子通过分子间及其与基底材料间的物化作用而自发形成的一种热力学稳定、排列规则的单层分子膜<sup>[65]</sup>。SAMs 技术可以有效控制材料表面所负载的面向微生物的功能基团种类以及配体浓度,进而有目的地改变表面能及表面电荷密度<sup>[66]</sup>。吕丹丹等<sup>[43]</sup>构建了末端分别为甲基、羟基、胺基和羧基的硫醇自组装膜,从而制备了具有不同润湿性和荷电性的表面,研究发现硫酸盐还原菌和费氏弧菌在疏水性、荷正电表面的附着均优于其在亲水性、荷负电表面的初始粘附。Khan 等<sup>[67]</sup>也通过自组装膜技术获得了表面能不同的一系列材料,发现相对于 *E. coli*, 氨氧化细菌更易在高表面能的材料上附着。

另一种化学修饰技术是在材料表面嫁接高分子聚合物形成“刷”状(Polymer brushes)涂层。按聚合物涂层的性质分为:(1)亲水性聚合物涂层,如聚乙二醇(Polyethylene glycol, PEG)<sup>[68]</sup>、水凝胶(Hydrogel)<sup>[69]</sup>、两性离子聚合物(Zwitterionic polymers)<sup>[70]</sup>等,这些聚合物超强的水合作用及其带来的空间位阻效应会阻碍细菌细胞以及 EPS 的粘附<sup>[71]</sup>;(2)抑菌性聚合物涂层,最常见的就是含有季铵盐的阳离子聚合物,季铵盐可以通过破坏细菌细胞膜结构来达到杀菌效果<sup>[72]</sup>;(3)通过在分子刷上结合抗菌物质实现抑制成膜,Gao 等<sup>[73]</sup>在钛材料表面先嫁接聚丙烯酰胺涂层,再共价结合一

系列抗菌肽类分子,实现了体内外的广谱生物膜抑制效果。Cao 等<sup>[74]</sup>制备了具有亲水性和抑菌性双重功能的高分子刷涂层,其在干燥空气中处于阳离子聚合物状态,可杀死 99.9%的粘附细菌,在湿润环境中处于两性离子聚合物状态,可排斥 90%以上的粘附细菌。

还有一些功能性的化学修饰是针对细菌生物膜的形成机制而设计的。QS 是细菌成膜的关键调控机制,有研究发现呋喃酮是一类与革兰氏阴性菌 QS 的信号分子——N-酰基-高丝氨酸内酯(N-acyl homoserine lactones, AHLs)结构相似的物质<sup>[75]</sup>,能和 AHLs 竞争受体,从而干扰 QS,抑制成膜。Hume 等<sup>[76]</sup>在苯乙烯塑料和硅橡胶导尿管表面共价结合了呋喃酮(Furanones),体外实验发现它们对 *S. epidermidis* 生物膜的抑制率分别为 89%和 78%,绵羊体内实验发现呋喃酮修饰的导尿管可以在 65 d 内保持对生物膜感染的抑制。EPS 是生物膜的支撑框架,在材料表面负载可以破坏 EPS 的酶类物质是另一种化学修饰思路。DNase I 是可以分解 EPS 中 eDNA 的酶,而 eDNA 具有联结 EPS 各组分、保持生物膜结构稳定性的重要作用<sup>[77]</sup>; Dispersin-B 是一种可以水解聚 N-乙酰葡萄糖胺的酶<sup>[78]</sup>,而 N-乙酰葡萄糖胺是 EPS 中最常见的多糖。因此,也有研究利用 DNase I 和 Dispersin-B 来修饰材料表面<sup>[79-80]</sup>,以达到抑制成膜的效果。

综上所述,材料表面特征通过一系列复杂的物理、化学或生物作用机制,对细菌粘附及生物膜的形成产生影响,具体影响的方向和程度则多种多样(表 1)。

## 3 基于调控生物膜发生的材料研制与应用

### 3.1 抑制成膜材料

在很多实际应用场景中,为避免菌致腐蚀、生物污染、细菌感染等负面影响,需要抑制材料表面生物膜的发生,为此研究人员针对性地研制出各种高效的抑制成膜材料。长期浸没于海洋环境的设备材料表面易被生物污染,由此造成结构腐蚀<sup>[81]</sup>、

表 1 材料表面特征对生物膜形成的影响  
Table 1 Effects of surface properties on biofilm formation

材料特征	细菌	对粘附及成膜的影响	作用机制	文献
Material properties	Bacterial strains	Effects on biofilm formation	Mechanism	References
电荷特征	<i>P. aeruginosa</i> AK1	在正电表面初始粘附率大	静电作用	[32]
Surface charge	<i>E. coli</i>	在正电表面粘附密度高,成膜致密	静电作用	[33]
	<i>P. aeruginosa</i>	在负电表面形成蘑菇状生物膜	c-di-GMP 促进粘附素和胞外多糖的分泌	[34]
润湿性	<i>S. epidermidis</i>	在疏水性表面初始粘附量高	亲/疏水基团间的作用	[39]
Wettability	<i>E. coli</i>	在超疏水性表面难以粘附和成膜	形成空气层的阻隔	[46]
	<i>E. coli</i>	在水下超疏油性表面难以粘附	形成水分子层的阻隔	[48]
形貌特征	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>	存在一个临界粗糙度,使粘附量最大	接触面积、水力剪切力等	[54]
Topography	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i>	当模式凹槽的间距小于细胞尺寸时,可显著 减低粘附量	空间阻隔	[61]
	G-strains	锥形阵列的模式表面可有效抑制革兰氏阴 性菌的粘附	刺破细菌细胞壁以杀菌	[63]
化学修饰	<i>P. aeruginosa</i> PAO1	在具亲水性聚合物涂层的表面,细菌和 EPS 难以粘附	水合作用产生的空间位阻	[71]
Chemical modification	<i>E. coli</i>	在含季铵阳离子聚合物修饰的表面有很好 的抗菌效果	破坏细胞膜结构以杀菌	[72]
	<i>S. epidermidis</i>	呋喃酮修饰的材料表面可保持对生物膜感 染的长期抑制效果	干扰细菌群体感应效应	[76]

热交换能力下降<sup>[82]</sup>、舰船能耗增加<sup>[83]</sup>、传感器失灵<sup>[84]</sup>等诸多问题。Brzozowska 等<sup>[57]</sup>受海蟹皮表面特征的启发,在 PDMS 材料表面设计出一种具有特殊形貌结构的分层型微表面模式,并且利用两性离子高分子刷和多层聚合电解质对材料进行化学修饰,研究发现在实验室模拟环境以及实际海水环境中,这种材料可以通过减少与微生物细胞的接触位点以及在表面形成一层水合物,进而有效抑制海洋微生物的附着和生物膜的形成。

水处理领域中,超滤、纳滤等膜分离技术的应用愈加广泛,然而膜污染一直是该技术面临的问题。Fan 等<sup>[85]</sup>制备了一种抗污染的超滤膜材料 PES/PEG-MTB,利用间苯三酚(MTB)提供的氢键作用实现在聚醚砜(Polyethersulfone, PES)膜基质材料表面上负载高亲水性的 PEG,实验发现该材料利用 PEG 超强水合作用所产生的位阻效应,显著提升了抗微生物污染的能力,使膜通量恢复率从 74.3% 提高到 98.4%。Park 等<sup>[86]</sup>制备了一种表面负载银纳

米颗粒的聚乙酰胺薄膜复合膜材料,其首先把银纳米颗粒(AgNPs)与 SiO<sub>2</sub> 颗粒结合在一起形成 AgNP@SiO<sub>2</sub> 颗粒,再利用巯基乙胺把 AgNP@SiO<sub>2</sub> 颗粒与材料表面以 Ag-S 键结合起来,结果发现这种膜材料对于 *E. coli*、*P. aeruginosa* 和 *S. aureus* 等有很好的抗菌效果,而且能维持长时间的 Ag<sup>+</sup> 缓释能力。

医疗领域中,人体植入器材如心脏起搏器、髋关节假体、牙科植入体、整形外科植入体等被细菌生物膜感染后,可能导致组织受损、系统性感染以及植入体功能丧失,甚至引发疾病和死亡<sup>[87]</sup>。因此,抑制这些材料表面的细菌成膜对于保证人体健康至关重要。金属及其氧化物的纳米颗粒具有杀菌效果<sup>[88]</sup>,常被负载于医疗植入材料的表面作为抗菌涂层。Abdulkareem 等<sup>[89]</sup>使用电流体动力沉积法(Electrohydrodynamic deposition)在钛制牙科植入体表面负载纳米氧化锌颗粒,发现其在人工唾液环境中可显著减低 *Streptococcus* spp.等细菌的粘附

和成膜。

3.2 促进成膜材料

在废水处理技术中,生物膜法是与活性污泥法并称的一种好氧生物处理方法。生物膜法的原理是利用微生物附着在载体表面形成生物膜,膜内细胞摄取废水中的有机物等污染物作为营养物质进行利用和降解<sup>[90]</sup>,从而实现对废水的生物处理。生物膜载体材料的特征和性能直接影响到微生物细胞的附着,进而影响生物膜法处理废水的效果。因此,研制出有利于成膜的载体材料,对于快速启动和稳定生物膜的生物降解功能十分重要。

新型生物膜载体的研制,多关注于改善材料的表面荷电性、亲疏水性以及生物亲和性等。Mao等<sup>[91]</sup>制备了利用带正电聚合物(聚季铵盐和阳离子聚丙烯酰胺)改性的高密度聚乙烯生物膜载体,载体表面与微生物细胞之间的静电引力得到增强,进而使移动床生物膜反应器的启动时间缩短、附着生物量增加,对COD和氨氮的去除效率升高。Liu等<sup>[92]</sup>利用低温等离子氧化技术处理聚乙烯、聚丙烯、聚苯乙烯、聚氯乙烯等载体材料,增加表面含氧官能团并负载Fe<sup>3+</sup>,从而使载体材料表面带正电,结果发现该载体与细胞的粘附作用得到显著增强。Bai等<sup>[93]</sup>在天然沸石中掺杂适当比例的硅酸钙、淀粉、煤粉和羧甲基纤维素等,制备得到更具

有生物亲和性与营养缓释性的载体材料,同时使沸石表面的粗糙度明显增大,使微生物细胞的可接触面积与可粘附位点增多,从而促进了吡啶和喹啉的高效降解菌在改性沸石上的附着与成膜。

微生物电化学技术是利用电化学活性微生物同步实现污染物去除与产能双重目标的新型水处理技术<sup>[94]</sup>。微生物电化学系统的阳极是电化学活性微生物的载体,提高微生物在阳极材料表面的富集与粘附是提高电子传递效率的重要途径<sup>[95]</sup>。Guo等<sup>[96]</sup>采用火焰氧化法处理不锈钢阳极材料,在其表面形成了一层纳米级的氧化铁,使表面粗糙度从75 nm提高到151 nm,同时带上正电荷。这既增加了微生物细胞的可接触面积,又强化了材料与细胞间的静电引力作用,从而显著提高了细菌生物膜在阳极表面的覆盖率。Liang等<sup>[97]</sup>也制备了经碳负载、聚苯胺负载、热氧化、中性红嫁接等方法处理的不锈钢阳极材料,使其表面电荷、亲水性等得到改善,强化了电活性生物膜的形成,系统电流输出大幅提升。

综上所述,很多研究者根据不同实际应用场景对生物膜发生过程的调控需求,开发出一系列新型环境功能材料的制备方法,而这些材料研发的理论基础则归结于材料表面与微生物之间的相互作用机制(表2)。

表2 抑制成膜和促进成膜材料的研发  
Table 2 Material preparation for inhibiting or enhancing biofilm formation

调控目的 Purpose	应用场景 Application scenario	材料制备方法 Material preparation	作用机制 Mechanism	文献 References
抑制成膜 Inhibiting biofilm formation	海洋设备	PDMS 表面设计特殊形貌模式,同时进行两性离子聚合物与聚合电解质修饰	减少可粘附位点、形成水合物层	[57]
	膜污染控制	聚醚砜膜材料表面嫁接 PEG	形成水合物层	[85]
	膜污染控制	聚乙酰胺薄膜复合膜材料表面通过共价结合的方式负载 AgNP@SiO <sub>2</sub> 颗粒	AgNPs 和 Ag <sup>+</sup> 的杀菌作用	[86]
	医疗器材	钛金属材料表面负载纳米氧化锌颗粒	纳米氧化锌的杀菌作用	[89]
促进成膜 Enhancing biofilm formation	废水生物膜法	聚乙烯生物膜载体表面负载带正电聚合物	静电作用	[91]
	废水生物膜法	天然沸石中掺杂适当比例的硅酸钙、淀粉、煤粉和羧甲基纤维素等进行改性	改变粗糙度,增加可粘附位点	[93]
	微生物电化学系统	不锈钢阳极材料经火焰氧化法处理,在表面产生纳米氧化铁	改变粗糙度、电荷特征	[96]

## 4 总结与展望

微生物在材料表面发生粘附并形成生物膜的过程非常复杂,既受到微生物自身细胞结构和调控行为的影响,同时也与环境因子密切相关。很多研究表明,材料表面的物化特性对细胞的粘附和成膜有显著影响。一般而言,正电荷、低表面能且微米或纳米级的表面粗糙度与模式有利于细菌细胞的粘附。这种趋势也并不是对所有微生物都适用,因为不同微生物其特性差异很大。但材料表面与细胞间的物化相互作用为科研人员研发制备具有调控微生物成膜功能的材料提供了设计思路。目前,这种思路主要是在材料表面刻蚀微米或纳米级形貌模式,或者对材料表面进行化学修饰,如高分子聚合物接枝改变表面亲水性能和可粘附位点,以及负载缓释抗菌剂。总的来看,材料的研发与制备除了具有应用价值,反过来通过对合成材料表面物化性质的研究也有助于揭示材料表面的生物膜形成机制。

未来在调控成膜材料的研发领域,应在以下方面继续深入研究:(1)微生物物种多样性程度极高,实验室研发的材料可能对不同微生物成膜的调控方向不同,因此应根据实际应用需求,在针对性与普适性之间寻求最佳平衡;(2)要考虑研发出的材料表面在实际的复杂环境中与各种物质的相互作用,设计出的表面性质很可能会被溶液中的一些离子、有机物所掩蔽,进而大大削减调控成膜的效果。总之,生物膜领域的研究将涉及微生物学、分子生物学、界面/表面化学及材料科学等多学科方法的交叉与融合,既具学术意义,又有应用价值,难度很大但前景广阔。

## REFERENCES

- [1] Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2004, 2(2): 95-108
- [2] Rodney MD. Biofilms: microbial life on surfaces[J]. *Emerging Infectious Disease Journal*, 2002, 8(9): 881-890
- [3] Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, et al. Microbial biofilms[J]. *Annual Reviews in Microbiology*, 1995, 49(1): 711-745
- [4] Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections[J]. *Science*, 1999, 284(5418): 1318-1322
- [5] Branda SS, Vik Å, Friedman L, et al. Biofilms: the matrix revisited[J]. *Trends in Microbiology*, 2005, 13(1): 20-26
- [6] Gittens JE, Smith TJ, Suleiman R, et al. Current and emerging environmentally-friendly systems for fouling control in the marine environment[J]. *Biotechnology Advances*, 2013, 31(8): 1738-1753
- [7] Zhao S, Yan WT, Shi MQ, et al. Improving permeability and antifouling performance of polyethersulfone ultrafiltration membrane by incorporation of ZnO-DMF dispersion containing nano-ZnO and polyvinylpyrrolidone[J]. *Journal of Membrane Science*, 2015, 478: 105-116
- [8] Tabin UF, Betrisey B, Bohner M, et al. Staphylococcal biofilm formation on the surface of three different calcium phosphate bone grafts: a qualitative and quantitative in vivo analysis[J]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2015, 26: 130
- [9] Bryers JD. Medical biofilms[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2008, 100(1): 1-18
- [10] Zhang L, Lang JF, Niu SS. Biofilm research progress in wastewater treatment[J]. *Water Sciences and Engineering Technology*, 2010(5): 38-41 (in Chinese)
- 张磊, 郎建峰, 牛姗姗. 生物膜法在污水处理中的研究进展[J]. *水科学与工程*, 2010(5): 38-41
- [11] Zhu Y, Zhang Y, Ren HQ, et al. Physicochemical characteristics and microbial community evolution of biofilms during the start-up period in a moving bed biofilm reactor[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 180: 345-351
- [12] Davey ME, O'Toole GA. Microbial Biofilms: from ecology to molecular genetics[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2000, 64(4): 847-867
- [13] Stoodley P, Sauer K, Davies DG, et al. Biofilms as complex differentiated communities[J]. *Annual Reviews in Microbiology*, 2002, 56(1): 187-209
- [14] Bullitt E, Makowski L. Structural polymorphism of bacterial adhesion pili[J]. *Nature*, 1995, 373(6510): 164-167
- [15] Thomas WE, Nilsson LM, Forero M, et al. Shear-dependent 'stick-and-roll' adhesion of type 1 fimbriated *Escherichia coli*[J]. *Molecular Microbiology*, 2004, 53(5): 1545-1557
- [16] O'Toole GA, Kolter R. Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development[J]. *Molecular Microbiology*, 1998, 30(2): 295-304
- [17] Stewart PS. Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms[J]. *International Journal of Medical Microbiology*, 2002, 292(2): 107-113
- [18] Karatan E, Watnick P. Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2009, 73(2): 310-347
- [19] Ma L, Jackson KD, Landry RM, et al. Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* conditional Psl variants reveals roles for the Psl polysaccharide in adhesion and maintaining biofilm structure postattachment[J]. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(23): 8213-8221
- [20] Ma LY, Wang SW, Wang D, et al. The roles of biofilm matrix polysaccharide Psl in mucoid *Pseudomonas aeruginosa*



- biofilms[J]. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 2012, 65(2): 377-380
- [21] Fuqua WC, Winans SC, Greenberg EP. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators[J]. Journal of Bacteriology, 1994, 176(2): 269-275
- [22] Klausen M, Gjermansen M, Kreft JU, et al. Dynamics of development and dispersal in sessile microbial communities: examples from *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* model biofilms[J]. FEMS Microbiology Letters, 2006, 261(1): 1-11
- [23] Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, et al. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm[J]. Science, 1998, 280(5361): 295-298
- [24] Davey ME, Caiazza NC, O'Toole GA. Rhamnolipid surfactant production affects biofilm architecture in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1[J]. Journal of Bacteriology, 2003, 185(3): 1027-1036
- [25] Purevdorj B, Costerton JW, Stoodley P. Influence of hydrodynamics and cell signaling on the structure and behavior of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(9): 4457-4464
- [26] van der Waal SV, van der Sluis LWM, Özok AR, et al. The effects of hyperosmosis or high pH on a dual-species biofilm of *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa*: an *in vitro* study[J]. International Endodontic Journal, 2011, 44(12): 1110-1117
- [27] Zhang N, Xiong FZ, Wen DH, et al. Effects of environmental factors on degrading bacterial biofilm formation[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis, 2016, 52(2): 345-353 (in Chinese)
- 张楠, 熊富忠, 温东辉, 等. 环境因素对降解型生物膜形成的影响[J]. 北京大学学报: 自然科学版, 2016, 52(2): 345-353
- [28] Zhou G, Shi QS, Chen YB. Effects of nutritional and environmental conditions on planktonic growth and biofilm formation of *Citrobacter werkmanii* BF-6[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2013, 23(12): 1673-1682
- [29] Hwang G, Klein MI, Koo H. Analysis of the mechanical stability and surface detachment of mature *Streptococcus mutans* biofilms by applying a range of external shear forces[J]. Biofouling, 2014, 30(9): 1079-1091
- [30] Song F, Koo H, Ren D. Effects of material properties on bacterial adhesion and biofilm formation[J]. Journal of Dental Research, 2015, 94(8): 1027-1034
- [31] Soni KA, Balasubramanian AK, Beskok A, et al. Zeta potential of selected bacteria in drinking water when dead, starved, or exposed to minimal and rich culture media[J]. Current Microbiology, 2008, 56(1): 93-97
- [32] Gottenbos B, Van Der Mei HC, Busscher HJ. Initial adhesion and surface growth of *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* on biomedical polymers[J]. Journal of Biomedical Materials Research, 2000, 50(2): 208-214
- [33] Terada A, Okuyama K, Nishikawa M, et al. The effect of surface charge property on *Escherichia coli* initial adhesion and subsequent biofilm formation[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2012, 109(7): 1745-1754
- [34] Rzhepishevskaya O, Hakobyan S, Ruhul R, et al. The surface charge of anti-bacterial coatings alters motility and biofilm architecture[J]. Biomaterials Science, 2013, 1(6): 589-602
- [35] Borlee BR, Goldman AD, Murakami K, et al. *Pseudomonas aeruginosa* uses a cyclic-di-GMP-regulated adhesin to reinforce the biofilm extracellular matrix[J]. Molecular Microbiology, 2010, 75(4): 827-842
- [36] Lee VT, Matewish JM, Kessler JL, et al. A cyclic-di-GMP receptor required for bacterial exopolysaccharide production[J]. Molecular Microbiology, 2007, 65(6): 1474-1484
- [37] Campoccia D, Montanaro L, Arciola CR. A review of the biomaterials technologies for infection-resistant surfaces[J]. Biomaterials, 2013, 34(34): 8533-8554
- [38] Strahl H, Hamoen LW. Membrane potential is important for bacterial cell division[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(27): 12281-12286
- [39] Cerca N, Pier GB, Vilanova M, et al. Quantitative analysis of adhesion and biofilm formation on hydrophilic and hydrophobic surfaces of clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis*[J]. Research in Microbiology, 2005, 156(4): 506-514
- [40] Lee W, Ahn CH, Hong S, et al. Evaluation of surface properties of reverse osmosis membranes on the initial biofouling stages under no filtration condition[J]. Journal of Membrane Science, 2010, 351(1/2): 112-122
- [41] Hyde FW, Alberg M, Smith K. Comparison of fluorinated polymers against stainless steel, glass and polypropylene in microbial biofilm adherence and removal[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 1997, 19(2): 142-149
- [42] Desrousseaux C, Sautou V, Descamps S, et al. Modification of the surfaces of medical devices to prevent microbial adhesion and biofilm formation[J]. Journal of Hospital Infection, 2013, 85(2): 87-93
- [43] Lü DD. Influence of surface wettability and surface charge on the initial adhesion of Sulfate-reducing bacteria and *Vibrio fischeri*[D]. Qingdao: Master's Thesis of Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2014 (in Chinese)
- 吕丹丹. 材料表面润湿性和荷电性对硫酸盐还原菌和费氏弧菌初始附着行为的影响[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所硕士学位论文, 2014
- [44] Barthlott W, Neinhuis C. Purity of the sacred lotus, or escape from contamination in biological surfaces[J]. Planta, 1997, 202(1): 1-8
- [45] Zhang XX, Wang L, Levänen E. Superhydrophobic surfaces for the reduction of bacterial adhesion[J]. RSC Advances, 2013, 3(30): 12003-12020
- [46] Pernites RB, Santos CM, Maldonado M, et al. Tunable protein and bacterial cell adsorption on colloiddally templated superhydrophobic polythiophene films[J]. Chemistry of Materials, 2012, 24(5): 870-880
- [47] Nguyen SH, Webb HK, Crawford RJ, et al. Natural Antibacterial Surfaces[A]//Ivanova E, Crawford R. Antibacterial Surfaces[M]. Cham: Springer International Publishing, 2015: 9-26
- [48] Chang CC, Kolewe KW, Li YY, et al. Underwater superoleophobic surfaces prepared from polymer zwitterion/dopamine composite coatings[J]. Advanced Materials Interfaces, 2016, 3(6): 1500521

- [49] Scheuerman TR, Camper AK, Hamilton MA. Effects of substratum topography on bacterial adhesion[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1998, 208(1): 23-33
- [50] Bazaka K, Crawford RJ, Ivanova EP. Do bacteria differentiate between degrees of nanoscale surface roughness?[J]. *Biotechnology Journal*, 2011, 6(9): 1103-1114
- [51] Anselme K, Davidson P, Popa AM, et al. The interaction of cells and bacteria with surfaces structured at the nanometre scale[J]. *Acta Biomaterialia*, 2010, 6(10): 3824-3846
- [52] Teughels W, van Assche N, Sliepen I, et al. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development[J]. *Clinical Oral Implants Research*, 2006, 17(S2): 68-81
- [53] Truong VK, Rundell S, Lapovok R, et al. Effect of ultrafine-grained titanium surfaces on adhesion of bacteria[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 83(5): 925-937
- [54] Singh AV, Vyas V, Patil R, et al. Quantitative characterization of the influence of the nanoscale morphology of nanostructured surfaces on bacterial adhesion and biofilm formation[J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e25029
- [55] Whitehead KA, Rogers D, Colligon J, et al. Use of the atomic force microscope to determine the effect of substratum surface topography on the ease of bacterial removal[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2006, 51(1): 44-53
- [56] Bechert DW, Bruse M, Hage W. Experiments with three-dimensional riblets as an idealized model of shark skin[J]. *Experiments in Fluids*, 2000, 28(5): 403-412
- [57] Brzozowska AM, Parra-Velandia FJ, Quintana R, et al. Biomimicking micropatterned surfaces and their effect on marine biofouling[J]. *Langmuir*, 2014, 30(30): 9165-9175
- [58] Chung KK, Schumacher JF, Sampson EM, et al. Impact of engineered surface microtopography on biofilm formation of *Staphylococcus aureus*[J]. *Biointerphases*, 2007, 2(2): 89-94
- [59] Yu C, Ma JW, Zhang JN, et al. Modulating particle adhesion with micro-patterned surfaces[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2014, 6(11): 8199-8207
- [60] Meng JX, Zhang PC, Wang ST. Recent progress in biointerfaces with controlled bacterial adhesion by using chemical and physical methods[J]. *Chemistry-An Asian Journal*, 2014, 9(8): 2004-2016
- [61] Lu NY, Zhang W, Weng YY, et al. Fabrication of PDMS surfaces with micro patterns and the effect of pattern sizes on bacteria adhesion[J]. *Food Control*, 2016, 68: 344-351
- [62] Pogodin S, Hasan J, Baulin V, et al. Biophysical model of bacterial cell interactions with nanopatterned cicada wing surfaces[J]. *Biophysical Journal*, 2013, 104(4): 835-840
- [63] Hasan J, Webb HK, Truong VK, et al. Selective bactericidal activity of nanopatterned superhydrophobic cicada *Psaltoda claripennis* wing surfaces[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(20): 9257-9262
- [64] Renner LD, Weibel DB. Physicochemical regulation of biofilm formation[J]. *MRS Bulletin*, 2011, 36(5): 347-355
- [65] Ulman A. Formation and structure of self-assembled monolayers[J]. *Chemical Reviews*, 1996, 96(4): 1533-1554
- [66] Kruszewski KM, Nistico L, Longwell MJ, et al. Reducing *Staphylococcus aureus* biofilm formation on stainless steel 316L using functionalized self-assembled monolayers[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2013, 33(4): 2059-2069
- [67] Khan MMT, Ista LK, Lopez GP, et al. Experimental and theoretical examination of surface energy and adhesion of nitrifying and heterotrophic bacteria using self-assembled monolayers[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(3): 1055-1060
- [68] Wischerhoff E, Uhlig K, Lankenau A, et al. Controlled cell adhesion on PEG-based switchable surfaces[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2008, 47(30): 5666-5668
- [69] Lundberg P, Bruin A, Klijnsma JW, et al. Poly(ethylene glycol)-based thiol-ene hydrogel coatings—curing chemistry, aqueous stability, and potential marine antifouling applications[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2010, 2(3): 903-912
- [70] Mi L, Jiang SY. Integrated antimicrobial and nonfouling zwitterionic polymers[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2014, 53(7): 1746-1754
- [71] Krishnan S, Weinman CJ, Ober CK. Advances in polymers for anti-biofouling surfaces[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2008, 18(29): 3405-3413
- [72] Murata H, Koepsel RR, Matyjaszewski K, et al. Permanent, non-leaching antibacterial surfaces—2: How high density cationic surfaces kill bacterial cells[J]. *Biomaterials*, 2007, 28(32): 4870-4879
- [73] Gao GZ, Lange D, Hilpert K, et al. The biocompatibility and biofilm resistance of implant coatings based on hydrophilic polymer brushes conjugated with antimicrobial peptides[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(16): 3899-3909
- [74] Cao ZQ, Mi L, Mendiola J, et al. Reversibly Switching the function of a surface between attacking and defending against bacteria[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2012, 51(11): 2602-2605
- [75] Baveja JK, Willcox MDP, Hume EBH, et al. Furanones as potential anti-bacterial coatings on biomaterials[J]. *Biomaterials*, 2004, 25(20): 5003-5012
- [76] Hume EBH, Baveja JK, Muir B, et al. The control of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation and in vivo infection rates by covalently bound furanones[J]. *Biomaterials*, 2004, 25(20): 5023-5030
- [77] Whitchurch CB, Tolker-Nielsen T, Ragas PC, et al. Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation[J]. *Science*, 2002, 295(5559): 1487
- [78] Thallinger B, Prasetyo EN, Nyanhongo GS, et al. Antimicrobial enzymes: an emerging strategy to fight microbes and microbial biofilms[J]. *Biotechnology Journal*, 2013, 8(1): 97-109
- [79] Swartjes JJTM, Das T, Sharifi S, et al. A functional DNase I coating to prevent adhesion of bacteria and the formation of biofilm[J]. *Advanced Functional Materials*, 2013, 23(22): 2843-2849
- [80] Donelli G, Francolini I, Romoli D, et al. Synergistic activity of dispersin B and cefamandole nafate in inhibition of staphylococcal biofilm growth on polyurethanes[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2007, 51(8): 2733-2740
- [81] Beech IB, Sunner JA, Hiraoka K. Microbe-surface interactions in biofouling and biocorrosion processes[J]. *International Microbiology*, 2010, 8(3): 157-168
- [82] Cheng YH, Chen HY, Zhu ZC, et al. Experimental study on the anti-fouling effects of Ni-Cu-P-PTFE deposit surface of heat exchangers[J]. *Applied Thermal Engineering*, 2014, 68(1/2): 20-25

- [83] Schultz MP, Bendick JA, Holm ER, et al. Economic impact of biofouling on a naval surface ship[J]. *Biofouling*, 2011, 27(1): 87-98
- [84] Delauney L, Compere C, Lehaitre M. Biofouling protection for marine environmental sensors[J]. *Ocean Science*, 2010, 6(2): 503-511
- [85] Fan XC, Su YL, Zhao XT, et al. Manipulating the segregation behavior of polyethylene glycol by hydrogen bonding interaction to endow ultrafiltration membranes with enhanced antifouling performance[J]. *Journal of Membrane Science*, 2016, 499: 56-64
- [86] Park SH, Ko YS, Park SJ, et al. Immobilization of silver nanoparticle-decorated silica particles on polyamide thin film composite membranes for antibacterial properties[J]. *Journal of Membrane Science*, 2016, 499: 80-91
- [87] Veerachamy S, Yarlagadda T, Manivasagam G, et al. Bacterial adherence and biofilm formation on medical implants: A review[J]. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 2014, 228(10): 1083-1099
- [88] Vargas-Reus MA, Memarzadeh K, Huang J, et al. Antimicrobial activity of nanoparticulate metal oxides against peri-implantitis pathogens[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2012, 40(2): 135-139
- [89] Abdulkareem EH, Memarzadeh K, Allaker RP, et al. Anti-biofilm activity of zinc oxide and hydroxyapatite nanoparticles as dental implant coating materials[J]. *Journal of Dentistry*, 2015, 43(12): 1462-1469
- [90] Rittmann BE. Comparative performance of biofilm reactor types[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1982, 24(6): 1341-1370
- [91] Mao YJ, Quan X, Zhao HM, et al. Accelerated startup of moving bed biofilm process with novel electrophilic suspended biofilm carriers[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 315: 364-372
- [92] Liu Y, Wang QD. Surface modification of bio-carrier by plasma oxidation-ferric ions coating technique to enhance bacterial adhesion[J]. *Journal of Environmental Science and Health. Part A: Environmental Science and Engineering and Toxicology*, 1996, 31(4): 869-879
- [93] Bai YH, Sun QH, Xing R, et al. Removal of pyridine and quinoline by bio-zeolite composed of mixed degrading bacteria and modified zeolite[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 181(1/2/3): 916-922
- [94] Werner CM, Katuri KP, Hari AR, et al. Graphene-coated hollow fiber membrane as the cathode in anaerobic electrochemical membrane bioreactors – effect of configuration and applied voltage on performance and membrane fouling[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(8): 4439-4447
- [95] Paitier A, Godain A, Lyon D, et al. Microbial fuel cell anodic microbial population dynamics during MFC start-up[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 92: 357-363
- [96] Guo K, Donose BC, Soeriyadi AH, et al. Flame oxidation of stainless steel felt enhances anodic biofilm formation and current output in bioelectrochemical systems[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(12): 7151-7156
- [97] Liang YX, Feng HJ, Shen DS, et al. Enhancement of anodic biofilm formation and current output in microbial fuel cells by composite modification of stainless steel electrodes[J]. *Journal of Power Sources*, 2017, 342: 98-104