



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112888311 A

(43) 申请公布日 2021.06.01

(21) 申请号 201980068832.8

(22) 申请日 2019.10.03

(30) 优先权数据

2018903942 2018.10.18 AU

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.04.19

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/AU2019/051073 2019.10.03

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/077391 EN 2020.04.23

(71) 申请人 Calix有限公司

地址 澳大利亚新南威尔士州

(72) 发明人 马克·斯科茨 菲尔·霍格森

亚当·文森特

罗伯特·范·默克斯坦

(74) 专利代理机构 北京高沃律师事务所 11569

代理人 马丛

(51) Int.Cl.

A01N 25/12 (2006.01)

A01N 59/06 (2006.01)

A01N 59/16 (2006.01)

A01N 59/20 (2006.01)

C01F 5/08 (2006.01)

C01F 11/06 (2006.01)

C01F 5/06 (2006.01)

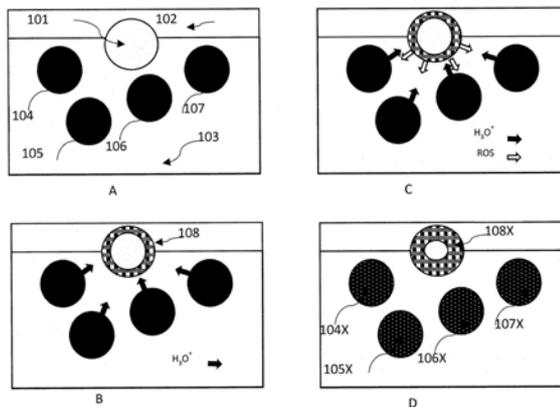
权利要求书2页 说明书8页 附图1页

(54) 发明名称

用于活性氧物质控制释放的粉末制剂

(57) 摘要

本发明公开了一种金属和半金属氧化物粉末,当将其应用到环境中时,其抑制微生物菌落的生长,其中所述粉末包含粒度分布为0.1-100微米的颗粒,所述颗粒为牢固结合的纳米级材料晶粒的多孔复合材料,且具有少于约10<sup>-4</sup>重量%的自由基物质,其中所述晶粒的表面积为75-300m<sup>2</sup>/g,并且其中所述粉末适于在所述颗粒与微生物接触时释放活性氧物质(ROS)爆发。



1. 一种金属和半金属氧化物粉末,当将其应用于环境时,其抑制微生物菌落的生长,其中,所述粉末包含粒度分布为0.1-100微米的颗粒,所述颗粒为牢固结合的纳米级材料晶粒的多孔复合材料,且具有少于约 $10^{-4}$ 重量%的自由基物质,其中所述晶粒的表面积为 $75-300\text{m}^2/\text{g}$ ,并且其中所述粉末适于在所述颗粒与微生物接触时释放活性氧物质(ROS)爆发。

2. 根据权利要求1所述的粉末,其中,所述粒度分布为1-20微米。

3. 根据权利要求1或2所述的粉末,其中,所述微生物包括生物膜,并且其中所述生物膜的酸度触发ROS爆发的释放,然后所述ROS爆发抑制所述微生物的生长。

4. 根据权利要求1或2所述的粉末,所述粉末适于在以下环境之一中使用:海洋环境、下水道顶部环境、植物、动物或人类。

5. 根据权利要求1或2所述的粉末,其中,所述微生物选自病毒、细菌、真菌或昆虫的幼虫中的一种。

6. 根据权利要求4所述的粉末,所述金属氧化物选自 $\text{AgO}$ 、 $\text{ZnO}$ 、 $\text{CuO}$ 、 $\text{MgO}$ 、 $\text{SiO}_2$ 、 $\text{Al}_2\text{O}_3$ 、 $\text{Mn}_3\text{O}_4$ 中的一种,并且其中选择相应的阳离子以向所选择的环境提供营养。

7. 根据权利要求6所述的粉末,其中,所述粉末包含 $\text{MgO}$ ,并且所述粉末通过抑制微生物产生的硫化氢、氨和磷来抑制微生物生长。

8. 根据权利要求6所述的粉末,所述粉末包含最大量少于1重量%的自由基物质,并且其中所述粉末是通过将未加工的粉末在 $400^\circ\text{C}$ 至 $800^\circ\text{C}$ 的煅烧温度下退火而制得的。

9. 根据权利要求6所述的粉末,所述粉末包含最大量少于1重量%的自由基物质,并且其中所述粉末是通过将未加工的粉末在0.01M柠檬酸中水合而制得的。

10. 根据权利要求6所述的粉末,其中,所述粉末具有以下特征:

a、颗粒的孔隙率为0.3-0.5;并且

b、比表面积为 $75-300\text{m}^2/\text{g}$ ;并且

c、粉末的平均晶粒粒度为5-20nm;并且

d、以高抗磨性为特征的强度,这归因于复合材料中晶粒之间通过尺寸小于约1nm的颈部结合,以及杨氏模量为等效块状材料的杨氏模量的5%。

11. 根据权利要求9所述的粉末,其中,所述粉末是通过在 $400-800^\circ\text{C}$ 的温度下煅烧制得的。

12. 根据权利要求10所述的粉末,其中,所述粉末适合用于抑制微生物在涂层上生长的海洋涂料。

13. 根据权利要求10所述的粉末,其中,所述粉末为施加到下水道顶部抑制硫氧化细菌生长的涂料的成分。

14. 一种包含微米级煅烧的颗粒的氧化物粉末,其中,在煅烧过程中诱导颗粒中的纳米活性,并且其中存在于纳米活性颗粒的表面上的活性氧物质(ROS)是在煅烧的颗粒与病原微生物接触时以触发的爆发模式产生的。

15. 根据权利要求14所述的氧化物粉末,其中,所述煅烧的颗粒包含在所述煅烧过程期间形成的应变晶体,以在所述晶体结构中储存能量。

16. 根据权利要求15所述的氧化物粉末,其中,当颗粒与来自与病原微生物相关的活性生物膜的 $\text{H}_3\text{O}^+$ 酸物质接触时,储存于颗粒的晶体结构中的能量释放,形成活性氧物质的爆发。

17. 根据权利要求14至16中任一项所述的氧化物粉末,其中,所述氧化物选自AgO、ZnO、CuO、MgO、SiO<sub>2</sub>、Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>或它们的混合物。

18. 根据权利要求14至17中任一项所述的氧化物粉末,其中,所述活性氧物质选自过氧化氢、超氧化物或过氧自由基。

19. 根据权利要求14至18中任一项所述的氧化物粉末,其中,所述煅烧的颗粒的平均直径约为1-10微米。

20. 根据权利要求14至19中任一项所述的氧化物粉末,其中,所述粉末是通过在400-800°C的温度下煅烧少于30秒的时间,然后在煅烧后淬火而制得的。

## 用于活性氧物质控制释放的粉末制剂

### 技术领域

[0001] 本发明宽泛地涉及氧化物粉末材料的制剂和/或组合物,该氧化物粉末材料通过活性氧物质(ROS)的控制释放来抑制许多微生物的生长,所述活性氧物质在粉末颗粒与这些微生物接触时以爆发模式或ROS爆发的形式产生。该粉末可用于多种应用,例如用于抑制生物膜生长的海洋涂料中的成分;作为下水道的涂层以防止腐蚀,作为农业或水产养殖的喷雾剂或粉剂以抑制疾病;以及作为用于动物和人类的粉末、药膏、糊剂或喷雾剂以抑制疾病。本发明还可包括制备所述氧化物粉末的方法。

### 背景技术

[0002] 活性氧物质(ROS),例如过氧化氢、超氧化物和过氧自由基是由植物、鱼类、动物和人类中的真核细胞产生的,作为抑制源于病原微生物(如病毒、细菌和真菌)的疾病的手段。特别地,厌氧微生物不能轻易地应付(cope with)由小剂量ROS引起的氧化应激。众所周知,ROS也会攻击真核细胞,尽管速度更慢,这也是因为由ROS产生的内部氧化应激最终破坏了细胞的内部结构。

[0003] 因此,真核细胞对疾病的典型响应是产生ROS爆发以抵御疾病,因为不可能持续响应。这种过程称为ROS爆发,需要一个信号通路,借此当受到这样的病原体攻击时细胞能够识别,从而能够以这样的ROS爆发进行响应。

[0004] 近年来,已经证明氧化物纳米颗粒在抑制此类病原体方面是有效的,并且最常见地,这种功效通常归因于在这些颗粒上或周围检测到的ROS。从先前发表的关于催化剂的著作中可以很好地理解,氧化物表面可以在氧化物晶体的台阶和边缘上负载(support)自由基物质,例如过氧化物,因此具有非常高的表面积与体积的比的纳米颗粒可以成为水性环境中的ROS的来源。

[0005] 由于纳米颗粒比微生物小得多,因此氧化物纳米颗粒结合到许多这种微生物的表面。通常认为,从纳米颗粒释放的ROS可以穿过微生物的表面扩散,这通常导致微生物的死亡。此类纳米颗粒通常被称为生物活性的。在某些情况下,还发现纳米颗粒破坏了该细胞膜,并穿过细胞壁扩散以直接攻击微生物的细胞内系统。

[0006] 在此类应用中,通常认为,与真核细胞在此类病原体攻击下产生ROS爆发的方式相同,来自此类纳米颗粒的ROS在病原微生物中产生氧化应激,因此这种生物活性可以帮助减轻疾病。这是一种全身性的作用方式,与靶向微生物中特定化学位点的药物明显不同。在对此类药物的响应中,病原微生物产生耐药性。相比之下,没有证据表明形成了对ROS的抗性。当然,真核细胞与病原体之间的斗争不断演变,ROS的产生和抑制是一个中心主题。

[0007] 氧化应激的一般主张并未被一致接受,另一种主张是观察到的抑制源自氧化物纳米颗粒附着至生物膜及其通过催化反应的破坏。在本发明的上下文中,这种催化作用通常与颗粒表面上的自由基物质有关,因此抑制作用的最终结果与本文所述的相似。

[0008] 具有生物活性的典型氧化物纳米颗粒为AgO、ZnO、MgO、CuO、SiO<sub>2</sub>、TiO<sub>2</sub>、Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>和Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>。金属阳离子也可以发挥重要作用,其中一些(例如Cu<sup>2+</sup>)本身具有毒性,而另一些则

提供微量营养元素,例如 $Mg^{2+}$ 和 $Zn^{2+}$ 。 $Mg^{2+}$ 是一种常见的植物肥料。

[0009] 在不受理论限制的情况下,通常应理解的是,ROS物质预先存在于此类纳米颗粒的表面上,并且此类纳米颗粒的表面通常是水合的。这种储存的ROS的释放是通过从颗粒表面扩散而发生的。然而,ROS在纳米颗粒表面上的覆盖率不能很好地表征,并且产生ROS的过程也不能很好地表征。然而,可以应用一般原理,其中由合成过程中化学键断裂形成的自由基物质产生ROS,并且所储存的ROS是经历自由基-自由基重组残留的长寿命物质。

[0010] 氧化物纳米颗粒的合成非常昂贵,并且由于纳米颗粒易于穿透皮肤并且易于被吸入的能力而引起了对人类健康的关注。为了克服这些问题,已开发的一种方法,生产具有大内表面积的多孔微米级颗粒,其以质量为基础,以 $m^2/gm$ 为单位,与纳米颗粒的内表面积相当。Sceats等人(WO2018076073,通过引用并入本文)以及本文的参考文献公开了这种材料的制造方法,其中将具有较大质量分数的挥发性材料的前驱体材料进行快速煅烧以去除挥发物并进行快速淬火,以使颗粒的烧结(其减小了表面积)最小化。

[0011] 具有生物活性的这种粉末已经由Sceats(公开的PCT申请号WO2017219068)、Sceats和Hodgson(公开的PCT申请号WO2016112425)(通过引用并入本文)及其参考文献要求保护,特别是关于由纳米活性氧化镁制得的氢氧化镁浆料。在那种情况下,通过Sceats和Vincent(公开的PCT申请号WO2015058236,通过引用并入本文)描述的快速水合方法完全水合纳米活性 $MgO$ 颗粒。一般而言,已观察到小纳米颗粒和大纳米活性颗粒的生物活性相似,并且与初始材料的表面积(以 $m^2/gm$ 为单位)相关。因此,烧过或重烧过(dead-burned)的粉末几乎没有生物活性。

[0012] 纳米活性粉末颗粒中的ROS物质是由煅烧步骤中形成的前驱体颗粒产生的,并且在水合步骤中形成ROS并储存。该储存的ROS通过扩散释放到水性介质中。因此,这种纳米活性材料的生物活性与等效纳米颗粒的生物活性相似,区别在于ROS物质主要储存于内部孔表面上。因此,所储存的ROS通过扩散从内部孔释放到水溶液中。

[0013] 需要注意的是,所储存的ROS指的是自由基-自由基重组后的残留ROS物质,最理想的是仅在颗粒与病原微生物接触时才产生ROS,从而在这种接触中模拟来自真核细胞的ROS爆发。作为一般原理,形成过程中的自由基-自由基重组与向微生物的扩散竞争,并且源自这样的ROS爆发的更高的逃逸效率可以将更大剂量的ROS提供至微生物中,从而提高功效。本发明的目的是描述由于与这样的病原微生物相互作用而由纳米活性颗粒产生ROS爆发的方法。

[0014] 在整个说明书中对现有技术的任何讨论绝不应被认为是承认该现有技术是本领域众所周知的或形成本领域公知常识的一部分。

## 发明内容

[0015] 需要解决的问题

[0016] 本发明的一个优点可以为提供或生产微米级颗粒的纳米活性粉末,所述纳米活性粉末在颗粒与微生物接触时能释放出ROS的爆发。

[0017] 本发明的其他优点可以允许所述粉末用于防污的海洋涂料或油漆中,其中微生物可以是当藤壶金星幼虫(cyprid barnacle larvae)过渡到无柄阶段时在藤壶金星幼虫周围以首先结合到表面上的厌氧细菌。在被涂覆的表面上过早地抑制这种细菌菌落可以抑制这

种幼虫附着于这种被涂覆的表面上。

[0018] 本发明的另一优点可以允许所述粉末用于下水道系统的涂层中,其中微生物可以为寄居于下水道管线顶部且高于水位的硫氧化细菌(SOB)。硫酸会腐蚀碱性混凝土和钢材,并引起腐蚀。抑制SOB菌落生长于被涂覆的表面上可以抑制下水道系统的腐蚀。

[0019] 此外,一个优点可以为在暴露于空气的表面上还能用作涂层和喷雾剂来抑制传染性微生物的生长,特别针对已经对常规抗生素产生抗药性的疾病发作,特别针对超级细菌,例如耐碳青霉烯类肠杆菌(CRE,Carbapenem resistant Enterobacteriaceae)、耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌(MRSA,Methicillin-resistant Staphylococcus aureus)、产ESBL的肠杆菌(超广谱 $\beta$ -内酰胺酶,ESBL-producing Enterobacteriaceae)、耐万古霉素的肠球菌(VRE,Vancomycin-resistant Enterococcus)、耐多药的铜绿假单胞菌(Multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa)和耐多药的不动杆菌(Multidrug-resistant Acinetobacter)。

[0020] 进一步的优点可以包括能够用于农业和水产养殖业,在所述领域,疾病对杀虫剂、杀真菌剂、杀细菌剂和杀病毒剂的抗性不断增强,导致疾病发作,而这些疾病越来越难以处理。

[0021] 其他优点还可以包括能够用于局部药膏和粉剂中,该药膏和粉剂用于保护人类和动物免于伤口中的病原体扩散以及各种病毒、细菌和真菌的感染或限制其扩散或感染。

[0022] 这样的优点还可以用于必须抑制感染菌落的手术期间或手术恢复期间。

[0023] 这样的优点还可以为使用纳米活性颗粒作为肺部疾病的医学治疗,所述肺部疾病例如肺炎、囊性纤维化病和肺结核,其中粉末颗粒可以驻留在被感染的肺组织上并可以减轻感染,而可溶性毒性抗生素化合物很容易吸收于血流中,因此需要高剂量,这对患者有不良影响。

[0024] 在应用于海洋涂料中,可以将无毒的纳米活性颗粒与现有的最佳有毒材料结合使用,其好处是可以延长涂料的使用寿命,并减少此类材料向海洋环境的释放。

[0025] 在为了预防农业、水产养殖和医药领域中的疾病的应用中,纳米活性颗粒治疗可以成为疾病治理计划的一部分,在该计划中,可以施用纳米活性颗粒来抑制病原菌的生长,如果疾病压力仍然增加到疾病发作的地步,然后可以使用抗生素。好处是减少了抗生素的使用,并延迟了耐药性的形成。

[0026] 另一个优点可以包括以下特征:可以使用通过在与生物膜接触时产生ROS爆发(特别是以与等效的具有储存ROS的纳米活性颗粒相比更高的剂量率)而提供更高效力的控制的材料。

[0027] 本文描述的本发明可以解决或改善前述应用或优点中的至少一项。

[0028] 解决问题的手段

[0029] 大多数病原微生物的共同特征是它们形成生物膜的能力。在真核细胞与病原体的斗争中,由病原体的新陈代谢(例如糖的分解)产生能量驱动,使生物膜基质呈酸性。通常情况下,病原体释放这种酸性生物膜与病原菌落的生长有关。

[0030] 优选地,来自增长的病原体菌落的这种生物膜的酸度用以触发来自纳米活性颗粒的ROS的爆发释放,然后ROS的爆发抑制微生物菌落的生长,从而抑制疾病的发作。这是一种抑制方式,因此当生物膜失活时,该材料的消耗量最小。

[0031] 本发明的第一方面可涉及一种生产粉末材料的方法,该粉末材料产生ROS的爆发以抑制疾病。

[0032] 本发明的第二方面可涉及一种金属和半金属氧化物粉末,当将其应用于环境时,其抑制微生物菌落的生长,其中所述粉末包含粒度分布为0.1-100微米的颗粒,所述颗粒为牢固结合的纳米级材料晶粒的多孔且高表面积的材料,且具有少于约 $10^{-4}$ 重量%的自由基物质,并且其中所述粉末适于在所述颗粒与微生物接触时释放ROS爆发。

[0033] 优选地,粒度分布为1-20微米。微生物可以提供生物膜,而生物膜的酸度会触发ROS爆发的释放,从而抑制微生物的生长。

[0034] 优选的粉末可适于在以下环境之一中使用:海洋环境、下水道顶部环境、植物、动物或人类。

[0035] 优选地,微生物选自病毒、细菌、真菌或昆虫的幼虫中的一种。

[0036] 优选地,金属氧化物选自以下氧化物之一:AgO、ZnO、MgO、CuO、SiO<sub>2</sub>、TiO<sub>2</sub>、Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>和Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>;并且其中选择相应的阳离子以向所选择的环境提供营养。

[0037] 优选的粉末可以包括MgO,并且该粉末通过抑制微生物产生的硫化氢、氨和磷来增强对微生物生长的抑制。

[0038] 优选地,所述粉末包含最大量少于1重量%的自由基物质,并且其中该粉末是通过在400-800°C的煅烧温度下对未处理的粉末进行退火而产生的。

[0039] 优选的粉末包含最大量少于1重量%的自由基物质,并且其中该粉末是通过将未加工的粉末在0.01M柠檬酸中水合而产生的。

[0040] 优选地,粉末具有以下特征:

[0041] a、颗粒的孔隙率为0.3-0.5;并且

[0042] b、比表面积为75-300m<sup>2</sup>/g;并且

[0043] c、粉末的平均晶粒尺寸为5-20nm;并且

[0044] d、以高抗磨性为特征的强度,这归因于复合材料中晶粒之间通过尺寸小于约1nm的颈部结合,以及杨氏模量为等效块状材料的杨氏模量的5%。

[0045] 优选的粉末可以通过在400-800°C的温度下煅烧然后淬火来制备。

[0046] 优选的粉末可适用于抑制微生物在涂层上生长的海洋涂料。

[0047] 优选地,粉末可以为施用于下水道顶部的抑制硫氧化细菌生长的涂料的成分。

[0048] 在第三方面,本发明提供了一种包含微米级煅烧的颗粒的氧化物粉末,其中在煅烧过程中在颗粒中诱导纳米活性,并且其中存在于纳米活性颗粒表面上的活性氧物质(ROS)是在煅烧的颗粒接触病原微生物时以爆发的模式产生的。

[0049] 煅烧的颗粒优选地包含在煅烧过程中形成的应变晶体,以将能量储存于晶体结构中。

[0050] 当颗粒与来自与病原微生物相关的活性生物膜的H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>酸物质接触时,储存于颗粒的晶体结构中的能量优选地释放,以形成活性氧物质的爆发。

[0051] 所述氧化物可以选自:AgO、ZnO、MgO、CuO、SiO<sub>2</sub>、TiO<sub>2</sub>、Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>和Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>或它们的混合物。活性氧物质可以选自:过氧化氢、超氧化物或过氧自由基。

[0052] 在一个优选的实施方案中,煅烧的颗粒具有约1-10微米的平均直径。优选地通过在400-800°C温度下煅烧小于30秒的时间,然后在煅烧后将其淬火来制备粉末。

[0053] 在本发明的上下文中,词语“包括”,“包含”等应理解为它们的包含性含义,而非它们的排他性含义,即“包括但不限于”。

[0054] 根据所描述的或与背景技术有关的至少一个技术问题来解释本发明。本发明旨在解决或改善至少一个技术问题,并且这可以导致如本说明书所定义并且结合本发明的优选实施方案详细描述的一种或多种有利效果。

### 附图说明

[0055] 由以下的书面描述(仅以示例的方式),并结合附图,本领域的普通技术人员将更好地理解本发明的实施方案,并且对本领域的普通技术人员来说是显而易见的,在附图中,

[0056] 图1示出了一个实施方案的示意图,其示出了纳米活性颗粒与由病原微生物的微生物分泌的(exuded)生物膜相互作用。在图1A中,图示显示了颗粒与生物膜及其活性细菌的初始接触,图1B显示了通过生物膜中的酸性水反应使颗粒分解,以及ROS释放到膜及其扩散进入生物膜的活性细胞中,图1C显示了在失活的细胞存在下部分分解的颗粒。

### 具体实施方式

[0057] 现在将参考附图和非限制性实施例来描述本发明的优选实施方案。要强调的是,图1的实施方案针对细菌生物膜的情况所描述的机理与针对病毒、厌氧真菌和害虫的幼虫的菌落的实施方案相似。

[0058] 在本发明的第一优选实施方案中,用于描述本发明的实例为纳米活性颗粒101与生物膜的相互作用。生物膜具有由细菌微生物组成的特征结构,该细菌微生物被包裹于微生物产生的蛋白质、核酸和多糖的水合基质中。与浮游细胞相比,生物膜中的细菌细胞对环境压力或微生物有害物质(例如抗生素和杀生物剂)的耐药性明显更高。生物膜的发展涉及细菌细胞与表面的可逆附着,之后为由外聚合物(exopolymeric)材料的形成介导的不可逆附着,然后形成微生物落并且生物膜开始成熟。在成熟过程中,三维结构包含簇状细胞,簇间有允许水和营养物质运输以及废物清除的通道,最后,细胞分离并分散以启动新的生物膜形成。图1描述了一种情况,其中优选地通过以下描述的快速煅烧和淬火制得的纳米活性颗粒101与由细菌细胞103-106分泌的生长的外聚合物基质102相互作用。

[0059] 纳米活性颗粒可以是金属氧化物材料,例如MgO,并且通常地且优选地尺寸为1-10微米,并且大小与细菌细胞相似。该材料优选地使用Sceats等人描述的快速煅烧和快速淬火方法来制备,其中将包含约30-60重量%的挥发性成分的前驱体材料在反应器中快速加热至分解发生的温度,在尽可能低的温度下产生多孔金属氧化物,然后迅速淬火以防止烧结。在该实施方案中,优化反应条件,使得金属氧化物的晶粒由高度应变的晶体组成。可以通过相对于相同化学组成的退火材料特征X射线衍射峰的位移(displacement)观察到这种应变。晶粒中少的晶胞数量以及晶胞中的应变梯度使衍射线变宽。应力能量储存于颗粒中,然后用于产生ROS物质。一个重要的结果是,在生产过程中不能通过形成氧空位释放颗粒中晶格应变产生的能量,而是当颗粒受到来自活性生物膜的酸物质的攻击时,释放储存于颗粒中的能量以形成ROS物质。

[0060] 该工艺的条件为使煅烧过程的温度最小化并且使在该温度下的停留时间最小化,使得在制备过程中不会激活晶粒内的氧原子的位移。其实现的标准为使用电子顺磁共振

(EPR) 光谱法检测顺磁性物质, 因为从晶粒内射出氧原子以形成氧空位通常会在空位处留下电子, 作为顺磁F中心, 并且射出的氧离子 $O^{\cdot-}$ 结合到晶粒表面成为顺磁V中心。如果未观察到这些物质的特征性EPR信号, 则达到该标准。为避免存疑, 可以在随后的颗粒烧结期间加热产品并观察特征性EPR光谱。该烧结的特征还在于, 晶粒的表面积减小(根据材料的比表面积(以 $m^2/g$ 为单位)所测得的), 以及随着应力的释放和晶粒生长, X射线衍射线变窄。总而言之, 采用快速煅烧/快速淬火工艺技术以最小化纳米活性材料颗粒中的应力释放和顺磁性物质的产生。对于不同的前驱体材料, 这种操作条件通常是不同的, 因为前驱体分解的能量以及氧空位的产生的活化的能量是不同的。煅烧温度优选比在挥发性气体压力下(对于工业工艺, 实际上尽可能低)前驱体的分解反应的平衡温度高 $50^{\circ}C$ , 或者最优选地高 $10^{\circ}C$ 。

[0061] 生物膜102通常本质上是酸性的, 其中低pH源于细菌将糖转化成能量以形成生物膜。在活性生物膜中, 该pH值可以为4.5-6.5, 相比之下, 静态生物膜的pH值约为7.0。金属氧化物具有取决于化学组成的 $pK_a$ 。例如,  $MgO$ 为约10.4。它在中性水中的溶解度低, 在环境温度下溶解速度慢。然而, 当pH为酸性时, 反应速率加快, 结果,  $MgO$ 粉末首先通过形成 $Mg(OH)_2$ 中和酸。本文所述的本发明与以下观察结果相关联: 酸对粉末的侵蚀导致自由基F中心物质和V中心物质的形成, 这通过随着颗粒反应这种物质的EPR光谱特征的增长而观察到。不受理论的束缚, 显而易见的是, 与 $H^+$ 的反应引起金属氧化物晶粒的应力释放同时晶体结构从氧化物形式变为氢氧化物形式。这并不出乎意料, 因为氧化物的晶体结构通常不同于氢氧化物的晶体结构, 因此需要输送氧气以实现相变。氧化物晶体的高应变促进了晶格重构的速率。

[0062] 众所周知, F中心和V中心与水的反应会导致ROS的产生。的确, 通过使用自旋阱(例如 $H_2O_2$ 中的DPPO), EPR技术可用于量化颗粒中ROS物质的浓度, 当存在ROS时DPPO形成具有特征性EPR光谱的稳定的自由基物质。最显著地, 在氧化物粉末的反应中观察到的ROS浓度高于在已经完全水合(例如通过在较高温度下快速水合)的相同材料中观察到的ROS浓度。不受理论的限制, 氢氧化物材料为储存于氢氧化物粉末中的ROS的载体, 而氧化物材料在受到来自生物膜的酸的攻击下原位水合时会生成ROS, 在这种情况下释放的ROS数量上高于储存的ROS, 因为通常发生以降低ROS的自由基重组与ROS的向外扩散(以攻击细菌细胞中的结构, 阻止酸的产生)相竞争。实际上, 来自活性细菌细胞制得的生物膜的酸触发了ROS的释放, 从而阻止了生物膜的产生。这被称为ROS爆发, 因为它模仿了真核细胞对病原体分泌的生物膜的存在ROS爆发响应。通过EPR自旋阱测量法测量的颗粒中的ROS浓度优选为微摩尔的数量级, 其与真核细胞的ROS爆发数量级相同。这是一个重要因素, 因为较高浓度的ROS会攻击此类细胞中的结构。这可以通过工艺条件和施用速率来控制以减少感染, 以使ROS爆发具有足以关闭细菌细胞但是不足以损害动植物的真核细胞的强度。在这些条件下, 该材料对动物和植物无毒, 同时还能抑制疾病。

[0063] 注意,  $H_2O_2$ 为ROS的挥发性成分, 并且在生物膜或纳米活性颗粒的部分水合表面附近的空气中 $H_2O_2$ 的存在可以抑制害虫的侵袭。此外, 对来自被纳米活性材料抑制的生物膜的 $H_2S$ 或 $NH_3$ 的任何抑制作用也可以是抑制害虫的信号因子。

[0064] 因此, 将图1作为一种示例实施方案。这是系统演化的示意图, 其中在水性介质102中纳米活性的、高度应变的通常具有1-20微米直径的颗粒101首先与细菌104-107周围的生

物膜103接触(A)。细菌是活跃的,例如产生额外的生物膜,并且通过(B)中所示的合成过程将表示为 $H_3O^+$ 的酸分泌到生物膜中,并且有向碱颗粒移动的酸通量,该碱颗粒水合并中和酸,如通过吞噬颗粒的薄层108示意性地示出。颗粒从金属氧化物晶粒的聚集体转变为水合结晶或无定形晶粒的聚集体需要原子重排,在这种情况下,氧原子会从氧化物中放出,形成自由基物质,例如如前所述的F中心和V中心。这些自由基物质与层108中的水反应生成ROS物质,例如羟基自由基、 $\cdot OH$ 、过氧化氢 $H_2O_2$ 和超氧离子 $\cdot O^{2-}$ ,它们扩散到水层和生物膜中,并且ROS通量朝向细菌移动并进入细菌,在其中它们发生反应,并开始关闭细菌的产能机制。结果,系统进化到其中细菌104X-107X变得静止(或被杀死)的状态(D),生物膜中不存在酸会减慢水合反应以及ROS的产生,如D中所示,在与酸反应生成ROS消耗了一定量的颗粒108X并产生ROS后,纳米活性颗粒101的消耗变慢。这些反应的结果通过将 $Mg^{2+}$ 离子释放到溶液中以平衡中和作用和RO产生引起的电荷而消耗了颗粒(未示出)。实际上,反应通常在多个多孔颗粒中发生。最终效果是,在该示例性实施方案中,纳米活性粉末已经终止了生物膜的形成,从而抑制了疾病。要强调的是,抑制作用不一定像真正的有毒化学杀菌剂那样必须杀死细菌,因此细菌和真核细胞(如果存在)可以共存。

[0065] 本领域技术人员将理解,动植物细胞与微生物和昆虫引起的各种疾病之间的相互作用非常复杂,并且随着时间的推移已经演变为具有多种响应,包括生物膜和细胞外基质,包括如上所述的ROS的参与。因此,图1的示例性实施方案为纳米活性颗粒如何与病原体相互作用的一个示例,所述病原体包括病毒、细菌和真菌。本领域技术人员应理解,这种微生物的结构中存在复杂的层次结构,这导致了比图1中所描述的更为复杂的图像。

[0066] 在特定实施方案中描述的一般方法适用于多种金属和半金属氧化物,包括AgO、ZnO、CuO、MgO、 $SiO_2$ 、 $Al_2O_3$ 、 $Mn_3O_4$ 等。特定的前驱体可以为碳酸盐、氢氧化物、胺和水合氧化物。纳米活性材料可以由前驱体制成多种形式的应变氧化物,包括快速煅烧和淬火,顺磁性缺陷中心可能具有不同的水合速率、pH平衡和用于通过类似于上述的氧原子位移机理形成自由基物质的活化能。

[0067] 针对于MgO的情况,可以通过快速煅烧和淬火由碳酸镁形成应变的纳米活性MgO颗粒,并且在水合反应期间产生ROS。已经证实,残留的MgO或 $Mg(OH)_2$ 在该过程中可能还具有其他作用。例如,作为碱,颗粒改变局部的pH以这样的方式使由材料(例如蛋白质)的分解形成的 $H_2S$ (一种已知的毒素)最小化。此外,已知多孔MgO通过形成磷酸镁来提取(extract)磷,以及通过形成鸟粪石、 $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ 来提取磷和氨。在生物膜的情况下,这些过程可能发生在MgO水合产生ROS之后,并可能促进该系统的有利生态系统。通常认为,厌氧和好氧生物和微生物在这种系统中以共生关系共同生存。因此,粒度分布、ROS生成、水合程度、溶解度和颗粒消耗、碱度、 $H_2S$ 抑制、磷酸盐和鸟粪石产生之间的联系是复杂的。在这种情况下,由最初的多孔性高表面积MgO形成的颗粒会加速反应,并可以充当核,从而加速诸如鸟粪石等材料的形成,否则这些材料需要鸟粪石核作为晶种以诱导沉淀,或者在异常条件下(例如弯道处的压力梯度)发生沉淀,这样在反应器(如发酵罐)的管道弯道处形成鸟粪石膜。

[0068] 尽管存在这些复杂性,但观察到与接种前已完全水合的颗粒相比,在所有其他变量基本相同的情况下,接种前最低限度水合的制剂颗粒对病原体的控制功效大大提高了。本发明中的这种影响归因于应变金属氧化物颗粒在活性微生物存在下以较高的ROS浓度释放ROS爆发的能力,该较高的ROS浓度高于通过现有技术水合法形成的具有储存ROS的颗粒。

[0069] 根据说明书和附图,本发明的其他形式将是显而易见的。

[0070] 尽管已经参考具体实施例描述了本发明,但是本领域技术人员将能理解,与本文描述的本发明的广泛原理和精神相一致,本发明可以以许多其他形式实施。

[0071] 本发明和所描述的优选实施方案具体包括至少一个工业上可应用的特征。

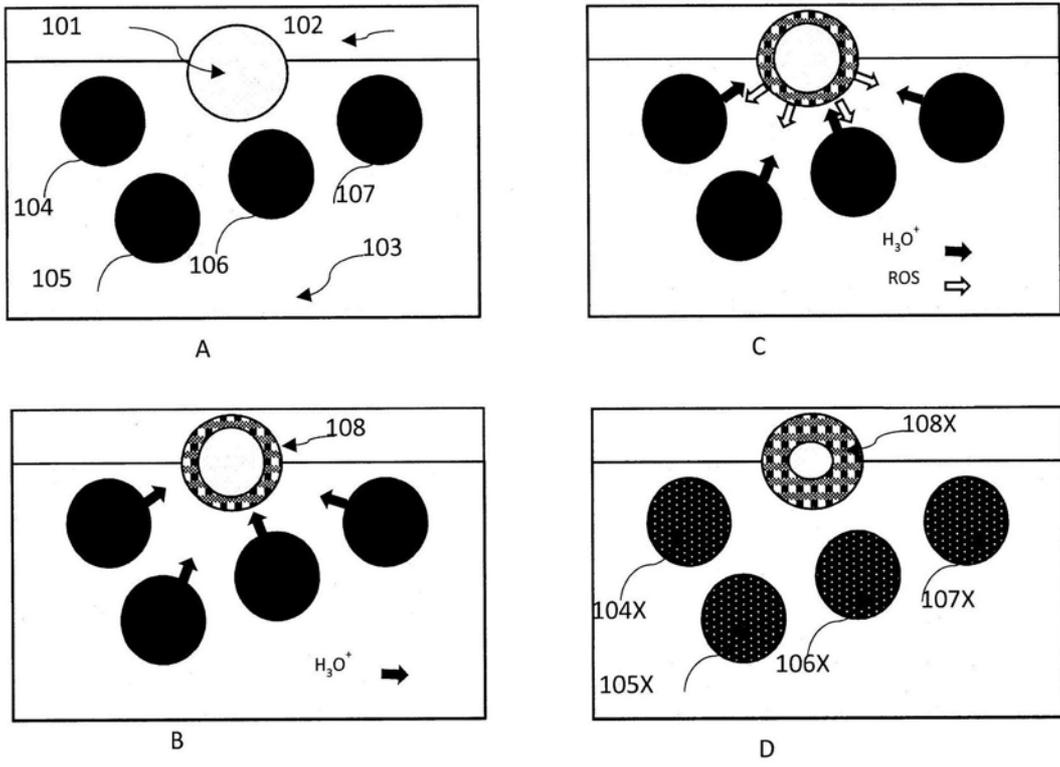


图1