



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111432637 A

(43)申请公布日 2020.07.17

(21)申请号 201880074497.8

(22)申请日 2018.10.12

(30)优先权数据

62/573,871 2017.10.18 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2020.05.18

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/055526 2018.10.12

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/079106 EN 2019.04.25

(71)申请人 索理思科技公司

地址 美国特拉华

(72)发明人 J·S·查普曼 C·E·科恩萨洛

(74)专利代理机构 永新专利商标代理有限公司  
72002

代理人 彭丽丹 过晓东

(51)Int.Cl.

A01N 25/30(2006.01)

A01N 33/02(2006.01)

A01N 33/14(2006.01)

A01N 41/04(2006.01)

C02F 1/50(2006.01)

C02F 1/68(2006.01)

C02F 1/76(2006.01)

C01B 21/09(2006.01)

A61L 2/16(2006.01)

权利要求书2页 说明书6页

(54)发明名称

在生物膜控制中表现出协同作用的组合物

(57)摘要

公开了一种控制和去除与水性工业系统接触的表面的生物膜的方法,其包括以下步骤:加入有效量的生物膜破坏剂,并且向被处理的水性系统中加入杀生物剂,以从与所述水性系统接触的表面上减少和去除形成生物膜的微生物。还公开了一种协同的杀生物组合物。

1. 一种控制和去除与水性系统接触的表面的生物膜的方法,所述方法包括以下步骤:向所述水性系统中加入生物膜破坏剂和杀生物剂。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述杀生物剂是氧化性杀生物剂。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其中所述氧化性杀生物剂选自二溴氰基丙酰胺、卤代乙内酰脲例如溴氯二甲基乙内酰脲、次溴酸、三氯异氰尿酸、基于卤代胺的杀生物剂、基于二卤代胺的杀生物剂及其组合。

4. 根据权利要求3所述的方法,其中所述杀生物剂选自基于卤代胺的杀生物剂和基于二卤代胺的杀生物剂。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的方法,其中所述杀生物剂包括一氯胺或二氯胺中的至少一种。

6. 根据权利要求1所述的方法,其中所述杀生物剂来源于氯部分与能够提供铵离子的含氮化合物的反应。

7. 根据权利要求6所述的方法,其中所述杀生物剂来源于氯部分与氢氧化铵、氯化铵、硫酸铵、醋酸铵、碳酸氢铵、溴化铵、碳酸铵、氨基甲酸铵、氨基磺酸铵、硝酸铵、草酸铵、过硫酸铵、磷酸铵、硫化铵、尿素和尿素衍生物及其组合的反应。

8. 根据权利要求7所述的方法,其中所述氯部分是次氯酸盐。

9. 根据权利要求1所述的方法,其中所述杀生物剂包括铵衍生的氯胺化合物的共混物。

10. 根据权利要求1所述的方法,其中所述杀生物剂是非氧化性杀生物剂。

11. 根据权利要求10所述的方法,其中所述非氧化性杀生物剂选自异噻唑酮杀生物剂、戊二醛、甲醛和甲醛释放型化合物、四羟基氯化磷及其组合。

12. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述生物膜破坏剂是阴离子磺酸盐表面活性剂或阴离子烷基磺酸盐表面活性剂。

13. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述生物膜破坏剂包括选自以下组的阴离子磺酸盐表面活性剂:烷基磺酸盐、直链或支链伯烷基磺酸盐、直链或支链仲烷基磺酸盐、直链或支链烷基芳族磺酸盐及其组合。

14. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述生物膜破坏剂包括直链烷基苯磺酸盐表面活性剂,优选十二烷基苯磺酸盐。

15. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中待计量加入的生物膜破坏剂的浓度范围是每升被处理的水性系统中的水约1毫克(mg/L)至约100毫克(mg/L),或约1至约50mg/L被处理的水性系统中的水,优选约2至约15mg/L被处理的水性系统中的水,更优选约2至约10mg/L被处理的水性系统中的水。

16. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中待计量加入的生物膜破坏剂的浓度范围是约2至6mg/L被处理的水。

17. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述杀生物剂按照以下量计量加入:基于每升被处理的水中杀生物剂的毫克数以Cl<sub>2</sub>计至少约1.0mg/L,或基于被处理的水性系统内每升水中杀生物剂的毫克数以Cl<sub>2</sub>计约1.5mg/L,优选以Cl<sub>2</sub>计至少2mg/L或更高,优选所述杀生物剂按照以下量添加:基于被处理的水性系统内每升水中杀生物剂的毫克数以Cl<sub>2</sub>计约2.5mg/L至约15mg/L,更优选以Cl<sub>2</sub>计约2.5mg/L至约10mg/L。

18. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中生物膜破坏剂与杀生物剂的比例是

约1份杀生物剂:大于1份生物膜破坏剂。

19. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中杀生物剂与生物膜破坏剂的重量比是以重量计约1:1至约1:40,优选约1:1至约1:20,更优选约1:1至约1:8。

20. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中生物膜破坏剂的添加量是基于被处理水的体积约1mg/L至约100mg/L,优选约1mg/L至约50mg/L或更优选约1mg/L至约15mg/L,其中所述生物膜破坏剂包括十二烷基苯磺酸钠。

21. 根据权利要求20所述的方法,其中生物膜破坏剂的量是约1至约10mg/L被处理的水性系统中的水,杀生物剂的剂量是以活性氯计约1mg/L至约10mg/L,并且杀生物剂与生物膜破坏剂的重量比是约1:1至约1:8,以及其中所述生物膜破坏剂包括十二烷基苯磺酸钠。

22. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述水性系统选自冷却塔、蒸发器、冷却器、冷凝器、制浆造纸厂、锅炉、废水、再生废水、矿浆、淀粉浆、粘土浆、生物炼制水、污泥、胶态悬浮液、灌溉水、油气水及其组合。

23. 一种组合物,其包括生物膜破坏剂和杀生物剂,其中所述生物膜破坏剂是十二烷基苯磺酸钠,以及所述杀生物剂是卤代胺,所述卤代胺优选选自单卤代胺、二卤代胺及其组合。

24. 根据权利要求23所述的组合物,其中所述卤代胺选自氯胺、二氯胺及其组合。

25. 根据权利要求23或24所述的组合物,其中生物膜破坏剂与氧化性杀生物剂的重量比是约1份杀生物剂:大于1份生物膜破坏剂。

26. 根据权利要求23至25中任一项所述的组合物,其中杀生物剂与生物膜破坏剂的重量比是约1:1至约1:20。

## 在生物膜控制中表现出协同作用的组合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2017年10月18日提交的临时专利申请第62/573,871号的优先权,其全部内容通过引用并入本文。

### 技术领域

[0003] 本公开涉及水性环境中微生物的控制。

### 背景技术

[0004] 工业、商业和民用系统与结构中的微生物生物膜对这些系统与结构的功能和运行产生重大负面影响,包括减少热传递,堵塞管道和管线,充当病原体的储存库,导致机械和结构故障,促进腐蚀、污染和降解产品、饮用水和娱乐用水,以及降低美学价值。

[0005] 在本文的上下文中,生物膜定义为沉降、附着并然后生长或生活在表面上的微生物。这些微生物可以由单一物种组成或具有多特异性,可以由细菌、病毒、真菌、藻类和微型或大型真核生物例如变形虫、硅藻、线虫和蠕虫组成。生物膜可以浸没在液体、飞溅区、潮湿环境、甚至干燥环境中,例如在雕像和建筑物的表面上发现的生物膜。生物膜在结构上由微生物细胞组成,这些微生物细胞被包裹在由多糖、蛋白质、DNA和许多小分子组成的分子多样化的聚合物基体中。在自然环境中,它们还会夹带污垢、土壤、植物性物质和其它环境成分。这种材料通常称为黏液。生物膜的解剖结构受到环境的组成和基体在膜上移动所提供的剪切力的广泛影响。

[0006] 与自由漂浮在生物流体中相反,生活在固定环境中的微生物的结果表现在微生物在其基因组的表达上有较大差异,从几个基因到几乎50%的基因组。这些变化对生物膜细胞对化学杀生物剂、抗生素和其它环境应激物的敏感性有巨大影响。除了广泛的生理变化之外,生物膜细胞还存在于聚合物基体中,这可能会干扰杀生物剂或抗生素进入细胞,从而进一步降低其敏感性。已有文件证明杀生物剂和抗生素敏感性的变化超过了一千倍。

[0007] 控制生物膜的最常用方法是应用化学杀生物剂,包括氧化性杀生物剂、反应性杀生物剂和膜活性杀生物剂。不管杀生物剂的机理类型如何,由于前面段落中讨论的原因,已经证明生物膜对杀生物剂的抑制和杀灭作用的抵抗要强得多,导致需要应用高浓度的杀生物剂以实现期望效果。

[0008] 氧化性杀生物剂通常在各种工业、商业和民用领域中用作生物膜控制剂,因为它们的价格便宜并且对浮游微生物很有效。它们可以有效控制微生物,但是高施用率、处理成本、氧化剂对建筑材料的腐蚀效果以及某些情况下的监管限制通常使得难以将它们有效应用于长期生物膜控制。

[0009] 氧化性杀生物剂虽然能够杀灭大部分生物膜种群,但是不能有效地将生物膜从表面上去除。因为生物膜的一些负面影响来自于它们在表面上的物理存在,所以这是不令人满意的。例如,生物膜是很好的绝缘体并且极大地阻碍冷却塔和冷却器中的热传递,虽然处理过的生物膜可能基本上死亡,但是仍然会使表面绝缘。另外,大量的死亡细胞为处理过的

种群的存活片段提供了现成的营养来源,并且生物膜往往会迅速重新生长至其原始密度。

[0010] 以生物膜破坏材料形式的辅助处理与杀生物剂结合进行,以提高杀灭微生物并将其从表面上去除的功效。这些生物膜破坏剂最常见的是阴离子、阳离子或非离子表面活性剂,其假定机理是与生物膜结构相互作用,这既使得杀生物剂更有效地渗透生物膜又通过它们的表面活性性质去除生物膜。尽管在市场中长期存在这些生物膜破坏剂,但是由于同时使用氧化性杀生物剂和非氧化性杀生物剂的处理程序的功效,这些生物膜破坏剂通常有可能未被充分利用。然而,市场、成本和环境问题已经导致对在不降低微生物控制程序的功效的情况下减少使用杀生物剂的期望,并且在许多市场,特别是工业冷却水中对分散剂的兴趣不断增加。正如所预期的,这些生物膜破坏剂的相对能力从差到好,并且它们的功效可能受到体相基体(bulk matrix)的组成的影响。还预期到,基于氧化性杀生物剂和生物膜破坏剂的化学相互作用和对生物膜结构的效果,氧化性杀生物剂和生物膜破坏剂的一些组合会比其它组合更有效。

### 具体实施方式

[0011] 下面的详细描述在本质上仅是示例性的,并不用于限制本发明或本发明的应用和使用。此外,不会受到本发明的前述背景技术或下面的详细描述中提出的任何理论的约束。

[0012] 惊奇地发现,杀生物剂,优选氧化性杀生物剂和生物膜破坏剂的一些组合在既杀灭微生物又将其从表面上去除方面表现出对生物膜的协同控制。杀生物剂和生物膜破坏剂的组合的总效果远大于这两种化学物质的单纯叠加效果,使得可以大大减少这一种或两种化学物质的量,并且仍然实现生物膜控制的期望终点。这种协同相互作用并没有在化学物质的所有组合中都发现,也没有在这两种化学物质的所有比例中都发现。

[0013] 公开了一种控制和去除与水性工业系统接触的表面的生物膜的方法,其包括以下步骤:加入有效量的生物膜破坏剂,并且向被处理的水性系统中加入杀生物剂,以从与水性系统接触的表面上减少和去除形成生物膜的微生物。

[0014] 本发明还提供了一种协同组合物,其包括生物膜破坏剂和杀生物剂。

[0015] 可用于本发明的氧化性杀生物剂包括:次氯酸钠、次氯酸钙和其它次氯酸盐、次氯酸、次溴酸,来源于氢氧化铵、氯化铵、硫酸铵、醋酸铵、碳酸氢铵、溴化铵、碳酸铵、氨基甲酸铵、氨基磺酸铵、硝酸铵、草酸铵、过硫酸铵、磷酸铵、硫化铵、尿素和尿素衍生物以及能够提供铵离子并与氯或溴部分如氯化或溴化氧化剂、优选次氯酸或次氯酸盐、优选次氯酸盐反应的其它含氮化合物的单卤代胺杀生物剂;以及,铵衍生的氯胺化合物的共混物,例如一氯胺和二氯胺。这种卤代胺杀生物剂是本领域中公知的,例如,参见US 7285224、US 7052614、US 7837883、US 7820060。其它氧化性杀生物剂包括二溴氰基丙酰胺、溴氯二甲基乙内酰脲和其它卤代乙内酰脲、以及三氯异氰尿酸。用于对抗生物膜并期望与分散剂一起作用的非氧化性杀生物剂包括异噻唑酮杀生物剂、戊二醛、甲醛和甲醛释放型化合物、四羟基氯化磷以及其它非阳离子杀生物剂。

[0016] 本发明中使用的生物膜破坏剂是阴离子表面活性剂,优选阴离子磺酸盐表面活性剂。用于本发明的阴离子磺酸盐表面活性剂包括烷基磺酸盐、直链和支链伯/仲烷基磺酸盐以及直链或支链烷基芳族磺酸盐。特别优选的是烷基苯磺酸盐表面活性剂,例如十二烷基苯磺酸钠。十二烷基苯磺酸盐的其它盐也可以用作抗衡离子(在这种情况下为钠),这与破

坏剂的机理无关。

[0017] 直链烷基苯磺酸盐(有时也称为LABS)是分子式为 $C_6H_5C_nH_{2n+1}$ 的有机化合物家族。通常,平均值n在10和16之间。直链烷基苯通常可以平均烷基范围获得,例如,平均烷基基团可以是 $C_{12}-C_{15}$ 或 $C_{12}-C_{13}$ 或 $C_{10}-C_{13}$ 。

[0018] 十二烷基苯磺酸钠(“SDBS”)是烷基苯磺酸盐。大多数十二烷基苯磺酸钠是直链烷基苯磺酸盐中的一员,这意味着十二烷基基团( $C_{12}H_{25}$ )是无支链的。该十二烷基链可以连接在苯磺酸盐基团的4位处。

[0019] 本发明还提供了一种协同组合物,其包括生物膜破坏剂和杀生物剂,其中所述生物膜破坏剂是十二烷基苯磺酸钠,并且所述杀生物剂是优选选自单卤代胺、二卤代胺及其组合的卤代胺。该卤代胺可以是氯胺。优选地,生物膜破坏剂与氧化性杀生物剂的比例是1份杀生物剂:大于1份生物膜破坏剂。杀生物剂与生物膜破坏剂的重量比可以是1:1至1:20,更优选约1:1至约1:8。

[0020] 组合物中两种化学物质的相互作用可以以三种可能的方式发生。在第一种方式中,两种化学物质以负向方式相互作用以降低组合物的组合效果,从而所得的结果是小于从其组合活性期望获得的结果。因此,如果一种试剂本身的测量变量达到50的值并且第二种试剂本身达到50的值,则在负向相互作用下,两者的组合降低值将小于100。可以相互作用的另一种方式是叠加,最终结果是两个值的简单相加。因此,如果将分别能够达到50的值的两种试剂进行组合,则它们的总组合值将是100。在第三种方式中,这在微生物控制的情况下是最理想的,将分别能够达到50的值的两种试剂进行组合的结果将会是大于100的某个值。

[0021] 研究员已经研发出用于测量组合物中各组分之间相互作用的性质和程度的公式。在微生物控制领域中,最常用的等式是Kull等人(Kull等人,1961,J.Appl.Microbiology 9:538)中描述的,其通过引用并入本文。在专利中使用等式的最新示例是US#9555018“可用于控制工业工艺中微生物的有机酸的协同组合”和US#8778646“使用啤酒花酸提取物和有机酸在繁殖、调节和发酵过程中处理微生物的方法”。原始的Kull等式使用抗菌剂的最小抑制浓度(MIC)作为测定终点。MIC值是对微生物培养物产生抑制作用的抗菌剂的最低测量浓度。抑制作用可以通过检测微生物培养物的浊度来视觉确定;在其它可能的方式中,也可以通过基于培养物的方法或显微镜方法对活细胞进行计数或者通过代谢活性的一些测量来确定。该等式如下所示:

[0022] 协同指数 = (终点a/终点A) + (终点b/终点B),其中终点A是试剂A本身的终点,终点a是与试剂B结合的试剂A的终点,终点B是试剂B本身的终点,并且终点b是与试剂A结合的试剂B的终点。

[0023] 在这项工作中,通过测量处理后剩余的模型生物膜中活细胞的数量来确定单独或联合使用这些试剂的功效。最小生物膜清除值(MBEC)定义为与未处理的对照相比,活细胞的数量减少95%。相对无毒的分散剂无法以物理上可能的浓度达到这种杀灭水平,因此对于这些试剂,MBEC视为是测试的最高值。因为该值在协同指数等式中用作除数,所以该最高测试值实际上是MBEC的低估值,因此协同指数值也是低估的。

[0024] 本发明主要用于工业工艺水,特别是冷却塔、蒸发器、冷却器和冷凝器,但是也用于在水性基体中形成生物膜而不利于工艺的任何工业工艺。预期本发明还可以用于地热流

体处理、油气开采以及使用就地清洁系统的工艺。

[0025] 待使用的生物膜破坏剂例如SDBS的浓度范围是被处理的水性系统中每升(ppm)水1至100毫克,或1至50mg/L,优选1至15mg/L,优选2至10mg/L,最优选2至6mg/L。

[0026] 基于每升被处理水中杀生物剂的毫克数,以Cl<sub>2</sub>计活性水平基础上的杀生物剂按照以下量计量加入:通常以Cl<sub>2</sub>计至少1.0ppm,或以Cl<sub>2</sub>计至少1.5ppm,或优选以Cl<sub>2</sub>计至少2ppm或更高,或以Cl<sub>2</sub>计至少2.5ppm或更高且以Cl<sub>2</sub>计至多15ppm或更优选以Cl<sub>2</sub>计至多10ppm。优选地,杀生物剂的剂量是每升被处理水1.5mg至10mg杀生物剂。

[0027] 优选地,生物膜破坏剂与杀生物剂,优选氧化性杀生物剂的重量比是1份杀生物剂:大于1份生物膜破坏剂。杀生物剂与生物膜破坏剂的重量比可以是1:1至1:40,优选1:1至1:20,更优选1:1至1:8。每种组分均按重量测量。

[0028] 本领域技术人员能够确定最佳剂量加料点,但是通常优选直接在被污染位置的上游。例如,本发明可以应用于冷却塔水池或直接应用于冷却塔分配箱或网前箱,从而处理冷却水系统。

[0029] 生物膜破坏剂和氧化性杀生物剂可以顺序或同时加入,或者各组分可以混合在一起并且作为单一组合物加入。

[0030] 实施例

[0031] 实施例1、一氯胺和SDBS的协同效果

[0032] 进行剂量反应研究以确定单独的一氯胺和单独的SDBS的最小生物膜清除浓度(MBEC)。MBEC定义为通过活菌平板计数测量,将活生物膜种群减少未处理对照值的95%的试剂浓度。然后,进行实验以确定组合两种试剂,氧化性杀生物剂一氯胺和分散剂SDBS对生物膜种群的结果。实验检测了三种浓度的一氯胺与四种浓度的SDBS。实施例中使用的SDBA是Bio-Soft™ D-4 (Stepan Company, Northfield, IL)。

[0033] M9YG培养基是补充了500mg/L葡萄糖和0.01%酵母提取物的简单基础盐培养基。盐组合物旨在模拟典型的冷却塔水组成。培养基的组成使用以下过程制备:使用64克Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、15克KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、2.5克NaCl和5克NH<sub>4</sub>Cl在一升水中混合成5XM9盐组合物。分成200毫升等份试样,并且进行灭菌(通过高压灭菌器)。在搅拌下向750毫升无菌去离子水中加入无菌补充溶液。在加入CaCl<sub>2</sub>时将出现白色沉淀,但是在搅拌下会溶解。补充溶液是200毫升5XM9组合物、2毫升1M MgSO<sub>4</sub>、0.1毫升1M CaCl<sub>2</sub>、20毫升20%葡萄糖、1毫升10%酵母提取物和足够的水以制成1000毫升溶液。参见文献:A Laboratory Manual (Second Edition) .1989.J.Sambrook&T.Maniatis.Cold Spring Harbor Press。

[0034] 实施例中使用的培养液是恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)的过夜培养物。假单胞菌是常见的冷却水污染物,虽然冷却水种群是多微生物的,但是假单胞菌通常在此类研究中用作整个种群的代表。

[0035] 在CDC生物膜反应器中使用M9YG基础盐生长培养基在不锈钢316试片上生长生物膜24小时。向12孔细胞培养平板的孔中加入单独的SDBS、单独的一氯胺以及氧化剂和分散剂的组合。使用M9YG培养基作为对照。在生物膜生长后,从CDC反应器中的棒上取下各试片,并且放入板的孔中。然后,在28℃摇动下培育平板2小时。在培育后,从孔中取出试片,放入5毫升磷酸盐缓冲盐水(PBS)中,并超声处理6分钟。然后,通过平板法测定释放到流体中的活细胞。

[0036] 如Kull等人描述的那样计算协同指数,与实施例1一样。

[0037] 表1表明,单独一氯胺需要20mg/L的浓度来实现活生物膜种群减少大于90%,而800mg/L的SDBS实现了减少48.62%。然而,所检测的两种试剂的多种比例显示出比单独添加这两种试剂的预期活性更高的活性。例如,2.5mg/L MCA(单独MCA的值的1/8)和25mg/L 1 SDBS(单独SDBS的值的1/32)的组合能够实现活生物膜细胞减少95%的MBEC目标。这种协同效果是MCA与SDBS的比例为1:1.25至1:31.2时获得的。

[0038] 表1.

一氯胺和 SDBS 的协同效果	% 生物膜减少	协同指数	MCA:SDBS 比例
未处理的对照	0		
20 mg/L MCA	93.58		
312 mg/L SDBS	48.62		
10 mg/L MCA : 78 mg/L SDBS	95.93	0.75	1:7.8
10 mg/L MCA : 39 mg/L SDBS	99.8	0.625	1:3.9
10 mg/L MCA : 19.5 mg/L SDBS	99.59	0.563	1:1.95
10 mg/L MCA : 9.8 mg/L SDBS	99.8	0.531	1:0.98
5 mg/L MCA : 78 mg/L SDBS	98.91	0.5	1:15.6
5 mg/L MCA : 39 mg/L SDBS	97.98	0.375	1:7.8
5 mg/L MCA : 19.5 mg/L SDBS	98.91	0.313	1:3.9
5 mg/L MCA : 9.8 mg/L SDBS	97.98	0.281	1:1.95
2.5 mg/L MCA : 78 mg/L SDBS	97.98	0.375	1:31.2
2.5 mg/L MCA : 39 mg/L SDBS	95.93	0.25	1:15.6
2.5mg/L MCA : 9.8 mg/L SDBS	97.14	0.156	1:3.9

[0040] 实施例2、一氯胺/二氯胺共混物和SDBS的协同作用

[0041] 进行剂量反应研究以确定单独的一氯胺/二氯胺共混物(MCA/DCA)和单独的SDBS的最小生物膜清除浓度(MBEC)。MBEC定义为通过活菌平板计数测量,将活生物膜种群减少未处理对照值的95%的试剂浓度。然后,进行实验以确定组合两种试剂,氧化性杀生物剂MCA/DCA和分散剂苯磺酸钠对生物膜种群的结果。实验检测了两种浓度的MCA/DCA与四种浓度的苯磺酸钠。

[0042] 简言之,在CDC生物膜反应器中使用M9YG基础盐生长培养基在不锈钢316试片上生长生物膜24小时。向12孔细胞培养平板的孔中加入单独的SDBS、单独的一氯胺以及氧化剂和分散剂的组合。使用M9YG培养基作为对照。在生物膜生长后,从CDC反应器中的棒上取下各试片,并放入板的孔中。然后,在28℃摇动下培育平板2小时。在培育后,从孔中取出试片,

放入5毫升磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中,并超声处理6分钟。然后,通过平板法测定释放到流体中的活细胞。

[0043] 通过Ku11等人的方法计算协同指数,与实施例1一样。

[0044] 如下表2所示,单独的MCA/DCA需要10mg/L的浓度来实现活生物膜种群减少大于90%,而312mg/L的SDBS实现了减少84.58%。然而,所检测的许多比例的两种试剂显示出比单独添加这两种试剂的预期活性更高的活性。例如,2.5mg/L MCA/DCA (单独MCA的值的1/8)和9.8mg/L SDBS (单独SDBS的值的1/32)的组合能够实现活生物膜细胞减少99%的MBEC目标。这种协同效果是MCA/DCA与SDBS的比例为1:1.6至1:31.6时获得的。

[0045] 表2:

	一氯胺/二氯胺共混物和 SDBS 的协同效果	% 生物膜减少	协同指数	MCA-DCA: SDBS 比例
	对照			
[0046]	10 mg/L MCA-DCA	97.03		
	312 mg/L SDBS	84.58		
	2.5 mg/L MCA-DCA : 79 mg/L SDBS	99.94	0.5	1:31.6
	2.5 mg/L MCA-DCA :39 mg/L SDBS	99.9	0.38	1:15.6
	2.5 mg/L MCA-DCA : 19.5 mg/L SDBS	99	0.31	1:7.8
	2.5 mg/L MCA-DCA : 9.8 mg/L SDBS	99.96	0.28	1:3.9
[0047]	2.5 mg/L MCA-DCA : 3.9 mg/L SDBS	99.9	0.26	1:1.6
	5 mg/L MCA-DCA : 39 mg/L SDBS	97.31	0.63	1:7.8
	5 mg/L MCA-DCA :19.5 mg/L SDBS	99.59	0.56	1:3.9
	5 mg/L MCA-DCA : 9.8 mg/L SDBS	99.3	0.53	1:1.96

[0048] 虽然在上面的详细描述中已经给出了至少一个示例性实施方案,但是应当理解,还存在大量的变化。还应当理解,一个或多个示例性实施方案仅是示例,并不用于以任何方式限制本发明的范围、适用性或配置。相反,上面的详细描述将为本领域技术人员提供用于实施示例性实施方案的方便路线图;应当理解,在不脱离所附权利要求及其合法等同物中阐述的本发明范围的情况下,可以对示例性实施方案中描述的元素的功能和布置进行各种改变。