


本作品在知识共享许可协议4.0国际许可下注册。 它已从其原始英文出版物翻译而来。

文章

<https://doi.org/10.1038/s41467-019-09946-9>

公开

具有高抗菌功效的含铜玻璃陶瓷

Timothy M. Gross¹, Joydeep Lahiri¹, Avantika Golas¹ ¹, Jian Luo¹, Florence Verrier¹, Jackie L. Kurzejewski¹, David E. Baker¹, Jie Wang², Paul F. Novak¹ & Michael J. Snyder¹

医院获得性感染（HAIs）和产生抗生素耐药菌株是对人类健康的主要威胁。铜因其高抗菌效力而闻名，包括杀死超级细菌和臭名昭著的ESKAPE组病原体的能力。我们寻求一种材料能够保持铜的抗菌功效同时最大限度地减少含铜物质应用时的缺点—成本，外观和金属属性。在这里，我们描述了铜-玻璃陶瓷粉末作为抗菌表面的添加剂；它的机制是基于控制从双相玻璃陶瓷的水不稳定相中原位形成的赤铜矿纳米晶体中释放铜（I）离子（Cu¹⁺）。依据美国EPA测试铜合金表面消毒剂功效的方法进行评估，含有铜-玻璃陶瓷粉末的胶乳涂料使金黄色葡萄球菌，铜绿假单胞菌，产气假单胞菌和大肠杆菌菌落计数减少≥99.9%，接近基准金属铜。

¹ Corning Incorporated, Corning, NY 14831, USA. ² Argonne National Laboratory, Argonne, IL 60439, USA. 通讯和材料要求应该致 T.M.G. (电子邮件: grosstm@corning.com) 或 J.L. (电子邮件: lahirij@corning.com)

医院感染和抗生素耐药菌株的出现给临床和经济提出了重要的挑战^{1,2}。虽然良好的卫生习惯是感染控制的基石,新出现的证据表明基于金属铜的抗菌表面持续不断杀菌可以减少生物负载并降低感染风险³。铜的多种作用机制,包括破坏基因组和质粒DNA的能力⁴,解释了它对病原体比如抗生素耐药的“超级细菌”的长期抗菌功效^{5,6}。已经提出的铜介导的细胞损伤和毒性机制包括直接细胞膜损伤,通过Fenton型反应生成活性羟基自由基,铜离子通过与其配体的相互作用进入细胞导致RNA和DNA功能破坏⁵⁻⁷。虽然精确的机制尚不清楚,但在模拟固体表面微生物污染的测试条件下,Cu¹⁺离子对细菌的毒性远大于Cu²⁺离子⁸⁻¹⁰。

美国环保署(EPA)于2008年推出了一项新的只能在铜表面进行的杀菌测试方案,金属铜作为抗菌剂因而得到广泛关注^{11,12}。美国环保署规定,只有通过该标准的产品才能获得对人类病原体有效的声称,其理由是与传统的测试不同,该方法能真实模拟污染^{6,13}。我们希望制造一种含铜添加剂,与常用的表面和涂层相容,这些表面和涂层在EPA测试条件下能够杀灭 $\geq 99.9\%$ 的细菌,并且具有铜的广谱抗菌性能和发生低概率菌株耐药^{5,14}。

我们描述了碱性铜铝硼磷硅酸盐玻璃陶瓷材料,作为可持续输送Cu¹⁺离子的一个体系,具有很高的抗菌功效。我们使用油漆涂料是因为其无处不在,可作为第一案例示范应用。依据美国EPA测试方法,含有铜-玻璃陶瓷粉末的涂料被显示使金黄色葡萄球菌,铜绿假单胞菌,产气假单胞菌和大肠杆菌菌落计数减少 $\geq 99.9\%$ 。由于有利的毒理学特性和铜的广谱功效,该铜-玻璃陶瓷优于现有的有机抗菌涂料添加剂。不同于空气和水分敏感的含铜化合物,铜-玻璃陶瓷在环境中稳定,易分散于水中。我们的工作展示了一种有效且通用的抗菌添加剂在涂料和塑料中的潜在应用。该研究也证明了合理的玻璃设计可以作为实际合成功能纳米材料的一种方法。

结果和讨论

铜-玻璃和铜-玻璃陶瓷组合物。我们研究含铜玻璃因为我们认为玻璃对氧气具有优异的阻隔性^{15,16},可以稳定环境不稳定的Cu¹⁺离子。Cu¹⁺占铝硅酸盐玻璃中的总铜70%以上的比例^{17,18}。由于玻璃中的单价离子可以通过与H₃O⁺离子交换提取^{19,20},因而该系统是抗菌玻璃设计的一个有前途的起点。熔化的初始组合物分批为60SiO₂-20Al₂O₃-20CuO(方法)。表1中提供了该玻璃的组成分析(样品A)。我们使用电感耦合等离子体-光学发射光谱(ICP-OES)进行总铜的铜氧化还原分析和总Cu¹⁺的Cr/Cu氧化还原反应分析,结果表明铜-玻璃的Cu¹⁺与总铜的比为0.86。与先前旨在还原铜的实验²¹不同,熔化不是在还原气氛下或使用分批还原剂进行的。从最终玻璃中的成批材料中的Cu²⁺到Cu¹⁺的铜还原归因于高熔点温度和玻璃组成的名义上的还原条件。富含高场强阳离子如Si⁴⁺和B³⁺的玻璃组合物对掺入玻璃熔体中的多价离子具有强烈的还原作用²²。不幸的是,当将玻璃研磨成粉末并混合到涂料中时,玻璃没有显示出所需的抗菌生物效力。我们假设Cu¹⁺($r=0.60\text{\AA}$)²³的小离子尺寸将限制它被较大的H₃O⁺($r=1.4\text{\AA}$)²⁴提取。

当玻璃从熔融状态冷却时,随着诸如Cu¹⁺等改性离子的离子场强度增加,玻璃网络的氧填充密度增加,导致改性剂周围的间隙空间变小。由于带电物质的相互扩散需要电荷中性²⁵,如果较大的离子不能进入离子强度较高的小离子的位置,则H₃O⁺/R¹⁺(R=Li,Na,K,Cu等)离子交换就会被终止。图1a,b显示了通过分子动力学模拟(方法)获得的具有60SiO₂-20Al₂O₃-20Cu₂O和60SiO₂-20Al₂O₃-20K₂O组成的两种模型玻璃的结构。结构证明了空间限制,限制了H₃O⁺离子与Cu¹⁺之间的离子交换,但不限制K⁺($r=1.4\text{\AA}$)²⁴,与实验观察一致²⁶。因此,虽然最初的三元玻璃含有大量的Cu¹⁺离子,没有机制从玻璃杯中有效地提取这些离子以获得抗菌活性。

为克服含Cu¹⁺玻璃的抗菌无效性,我们考虑了一种新方法。该概念是设计一种分相玻璃,包括高度耐用的基质相和含有一价铜的低耐久性第二相。我们降低了玻璃中的Al₂O₃含量,并用K₂O,B₂O₃和P₂O₅代替。Al₂O₃在大多数玻璃体系中抑制相分离,而碱金属氧化物,B₂O₃和P₂O₅的添加具有相反的效果²⁷。几次迭代的结果(样品B-F,表1)显示在表1中。样品中Cu¹⁺/总铜的水平保持大致相同(0.8-0.9);我们相信所有样品共有的高熔点温度和富含二氧化硅的环境推动了这一比例。低水平的钾包含物(样品B)不足以显著提高抗微生物效力;当用K₂O代替约10mol%的Al₂O₃时,观察到效力的边际增加(样品C)。利用粉末X射线衍射(XRD)在该取代水平观察到赤铜矿晶体的形成。较高的Al₂O₃含量产生的电荷补偿作用会使玻璃相中的一价阳离子如Cu¹⁺稳定,这可能需要显著降低Al₂O₃水平才能有赤铜矿晶体形成²⁷。进一步用B₂O₃代替Al₂O₃(样品D)以诱导相分离,但是直到引入P₂O₅才观察到这种效果(样品E)。这种含有赤铜矿的双相玻璃相对于先前的样品显示出抗微生物效力的显著改善。基于样品E的示例性组合物如同时包括含更高水平的铜(样品F)显示在EPA测试条件下具有 $>99.999\%$ 的功效。这种材料具有明显的橙色。XRD证实样品E的结晶相为氧化铜(Cu₂O)(图2a插图)。由于该复合材料包含无定形和结晶区域,因此通常称为玻璃陶瓷。既然这个复合材料包含非结晶和结晶区域,于是通常被称为玻璃陶瓷。图2a,b是材料与水接触前后的扫描电子显微镜(SEM)图像分别接触水后。耐用性较低玻璃相区包含赤铜矿晶体的明亮杰结晶面(约300nm;图2a)在很大程度上被空腔(图2b)取代,表明一些赤铜矿晶体从材料中释放出来。较低耐久性相的溶解导致隧道进入地下,分离的不连续相变得连通并提供对赤铜矿晶体的额外接近。图3是该材料的扫描透射电子显微镜(STEM)图像;最黑暗的区域是连续的玻璃相,邻近较亮的区域是不连续的玻璃区域,最亮的区域是刻面的赤铜矿晶体。通过电子色散谱(EDS)的组成映射表明,连续玻璃基质相主要由二氧化硅组成,而含有赤铜矿晶体的不连续相富含磷,硼和钾。通过分析通过电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)测量的浸出离子进一步证实了不连续相的溶解。观察到高浓度的钾,磷和硼,相反,应该存在于富含二氧化硅的连续相中的Al离子以非常低的浓度存在(补充表1)。

表1 铜-玻璃和铜-玻璃陶瓷组合物

| 分析组成(mol%) | 样品 A | 样品 B | 样品C | 样品D | 样品E | 样品F |
|--------------------------------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|
| SiO ₂ | 65.47 | 68.58 | 70.53 | 69.23 | 66.25 | 60.12 |
| Al ₂ O ₃ | 22.45 | 16.20 | 10.10 | 0.00 | 1.96 | 1.67 |
| CuO | 3.02 | 2.00 | 2.16 | 3.43 | 2.61 | 3.98 |
| Cu ₂ O | 9.06 | 8.31 | 8.19 | 8.39 | 10.06 | 14.64 |
| K ₂ O | 0.00 | 4.91 | 9.03 | 9.46 | 6.21 | 6.98 |
| P ₂ O ₅ | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 5.26 | 5.38 |
| B ₂ O ₃ | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 9.49 | 7.63 | 7.23 |
| Cu ¹⁺ /总 Cu | 0.86 | 0.88 | 0.86 | 0.80 | 0.86 | 0.88 |
| 结晶物种类 | 无 | 黑铜矿 | 黑铜矿和赤铜矿 | 赤铜矿 | 赤铜矿 | 赤铜矿 |
| 颜色 | 黑色 | 黑色 | 棕色 | 黄色 | 橙色 | 橙色 |
| 相分离 | 否 | 否 | 否 | 是 | 是 | 是 |
| 对数杀菌(EPA 方法 ⁷) | <1 | <1 | >2 | >2 | >4 | >5 |

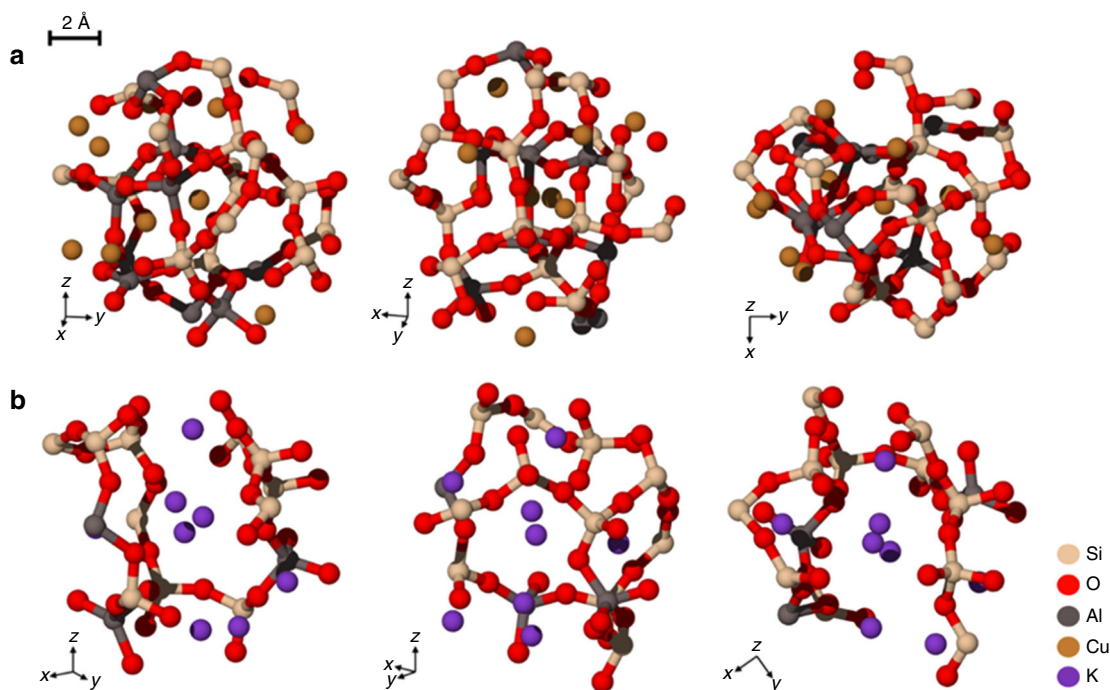


图1. 通过分子动力学模拟两种模型玻璃组合物的结构。a 模型玻璃组成为60SiO₂-20Al₂O₃-20Cu₂O（摩尔%）。该模型显示了紧密堆积的玻璃网络结构，围绕着小的高场强铜（I）离子。b 模型玻璃的组成60SiO₂-20Al₂O₃-20K₂O（摩尔%）。该模型揭示了一个更开放的玻璃网络结构，围绕着更大，更低场强的K⁺离子。在小半径，高离子场强度调节剂离子（如在a中）周围形成的玻璃网络为高密度氧气填充，降低了离子与带电水物种交换的能力。

我们假设不连续相在K⁺和H₃O⁺离子之间经历容易的离子交换，随后浸渍的水分子水解破坏磷-氧键。已显示水解反应优先在Q3基团发生，即通过三个桥连氧连接到网络中的磷原子²⁸。在Q3位置处链的断裂使磷玻璃网络解聚以释放赤铜矿晶体。连续的富含二氧化硅的网络使得在颗粒中更深的分散的富磷相进入，从而能够从材料中完全控制铜离子的释放。我们不能排除耐久性富二氧化硅相中赤铜矿晶体中铜离子的有限浸出。

铜-玻璃陶瓷颗粒的抗菌功效. 由于可扩展性和经济性的原因，铜-玻璃陶瓷颗粒是空气喷射研磨的，没有尺寸分类。这使得颗粒尺寸d₅₀在2.5至5.0μm的范围内。将研磨的颗粒混合于市售的装饰涂料中（“方法”），浓度范围为~ 1至40gL⁻¹。除了随着

添加铜-玻璃陶瓷浓度而变化的浅粉红色外，我们没有观察到涂料的其他物理性质的变化。涂料的杀菌效力依赖于油漆配方，油漆光泽和油漆的铜-玻璃陶瓷的浓度。在本文中，我们关注数据来自~26 gL⁻¹的铜-玻璃陶瓷在蛋壳涂料配方作为浓缩和油漆光泽的典型用例（“方法”）。我们测试了¹¹涂有含铜玻璃陶瓷颗粒油漆的塑料试样对四种细菌-革兰氏阳性金黄色葡萄球菌和革兰氏阴性菌，铜绿假单胞菌，产气克雷伯氏菌和大肠杆菌的功效（“方法”）。这些细菌是危及生命的医院获得性感染（HAIs）的主要原因之一，并且可以在抗生素干预下存活以增殖抗性菌株²⁹。在2小时内观察到所有四种细菌的菌落计数降低了99.9%（图4，插图）。金黄色葡萄球菌还原动力学显示在150分钟内菌落计数稳定下降，在约1小时内达到EPA规定的3-log杀灭

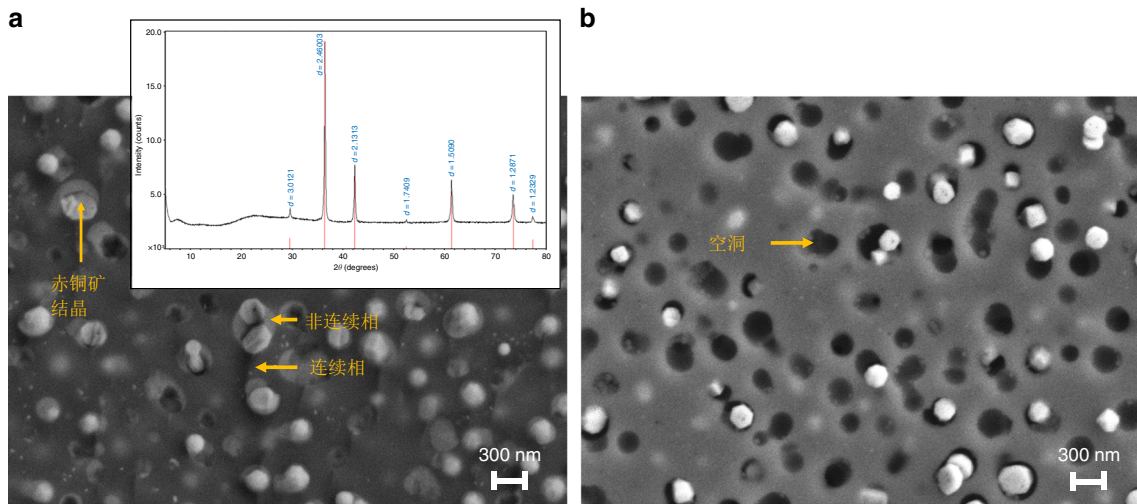


图2. 暴露于水之前和之后的铜-玻璃陶瓷横截面扫描电子显微镜 (SEM) 图像。 a. 暴露于水之后的铜-玻璃陶瓷横截面显示暴露于水之前的连续的玻璃相, 不连续的玻璃相和被困在不连续玻璃相的赤铜矿晶体。插图是从铜-玻璃陶瓷粉末上收集的X射线衍射 (XRD) 数据, 显示结晶种类是赤铜矿。 b. 铜玻璃陶瓷的横截面显示水暴露 (约120分钟) 后不连续的玻璃相溶解形成空洞, 导致赤铜矿晶体释放到溶液中。

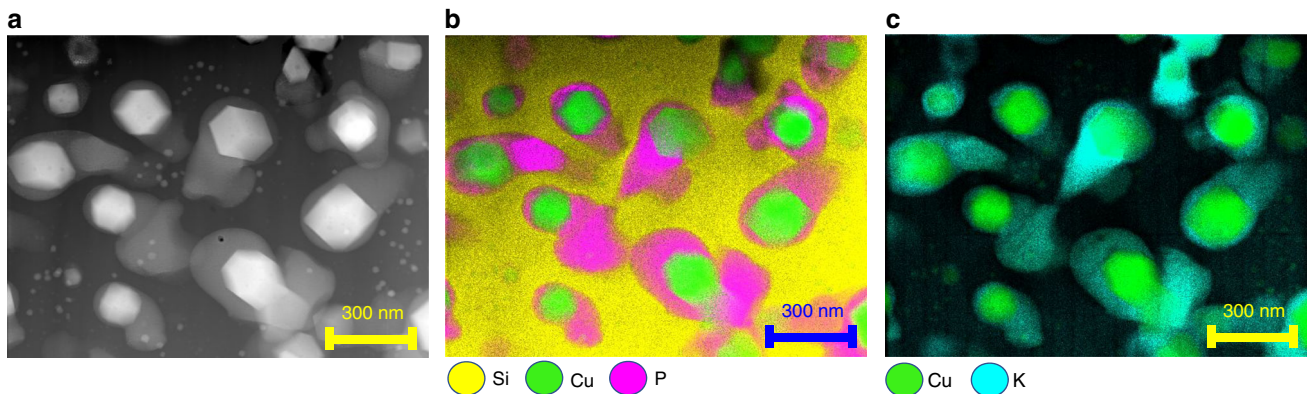


图3. 铜-玻璃陶瓷微观结构中化学物质的元素映射。扫描透射电子显微镜的能量色散X射线光谱 (EDS) 被用于元素映射。a 铜-玻璃陶瓷的微观结构图突出了三相的存在。在连续相中也观察到一些较小的赤铜矿晶体。b EDS元素映射表明, 耐久性高连续性质基质相富含硅, 耐久性较低不连续相富含磷的, 晶体由铜组成。c EDS元素映射还表明耐久性较低相富含钾。虽然硼是组合物中的主要元素, 但由于EDS难于测定光元素, 因而并没有包括在分析中。

(图4); 这些结果证明铜玻璃陶瓷具有强大的抗菌性能。为了测试铜玻璃陶瓷对病毒的有效性, 我们测试了涂覆的试样对小鼠诺罗病毒 (MNV-1) 的效力, 后者是人类诺如病毒的试验替代品。人类诺如病毒是一种无包膜病毒, 因在游轮上引起急性胃肠病的爆发而臭名昭著。它具有高度传染性, 通过受污染的表面, 通过手拉手接触以及摄入受污染的食物和水进行传播。我们改编了由Halidar等人开发的抗病毒测试方案³⁰, 该方案符合EPA杀菌效力方案的原则 (“方法”) 在涂覆的试样表面上观察到鼠诺罗病毒的完全灭活 (补充表2)。

我们还评估了铜玻璃陶瓷作为涂料乳液的“罐内”防腐剂。将主流有机防腐剂如甲基异噻唑啉酮 (MIT) 加入到水基乳液中以防止细菌和真菌的腐败。与异噻唑啉酮相关的健康相关风险³¹促使采取严厉的监管措施, 并引发了对更安全替代品的迫切

寻求。使用标准测试方法测量容器中乳胶漆对微生物攻击的抵抗力 (ASTM D2574)³², 我们观察到铜玻璃陶瓷可有效防止铜绿假单胞菌和产气肠杆菌 (产气肠球菌) 对细菌的污染 (补充表3) 仅为通过针对人类病原体的EPA测试所需浓度的约1/25。

毒理学和潜在的环境影响。精细研磨的铜-玻璃陶瓷颗粒的动物毒性研究显示没有重大问题 (表2; “方法”; 补充说明数据1; 可根据要求提供详细报告)。我们还评估了涂料中浸出铜的含量, 以确定其对环境的潜在影响。在5天内研究了从含有铜-玻璃陶瓷的漆膜中浸出的Cu离子的水平, 其中铜玻璃陶瓷的浓度高于典型浓度 (33 gL⁻¹)。在最初的24小时内, 浸出的铜含量约为550ppb, 之后降至每天20-35ppb的稳定水平 (补充表4)。这些水平远低于美国环保署为饮用水设定的每天1300ppb的Cu限值。

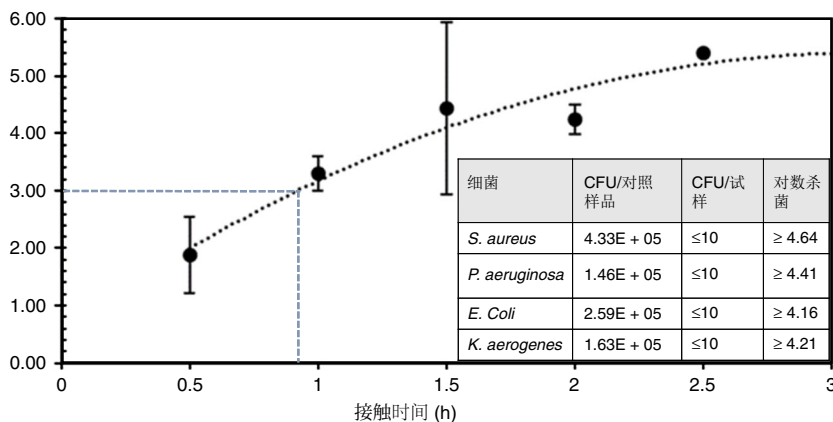


图4. 含铜-玻璃陶瓷颗粒的涂料试样上的细菌减少动力学。金黄色葡萄球菌减少作为暴露时间的函数的曲线显示金黄色葡萄球菌菌落计数在2.5小时内稳定下降，此时细菌菌落减少至检测极限。在约1小时内观察到EPA规定的3-log杀灭（减少99.9%）。数据和误差线表示两次实验的平均值和标准偏差（样品一式三份）。插图表显示了铜-玻璃陶瓷颗粒对金黄色葡萄球菌，铜绿假单胞菌，大肠杆菌和产气荚膜梭菌的高杀菌效力。在暴露于试样2小时后所有细菌≥4-log杀灭（≥99.99%减少）。试验和对照试样的细菌生长的测试都是一式三份，显示的数据是数值的几何平均值。

表2根据美国环保署指南进行的动物研究中铜玻璃陶瓷粉末的毒理学特性

| 接触途径 | 研究动物 | 结果摘要 |
|--------|------|---|
| 急性吸入毒性 | 白化鼠 | LC ₅₀ > 2.29 mg L ⁻¹ |
| 急性皮肤毒性 | 白化鼠 | LD ₅₀ > 5050 mg kg ⁻¹ |
| 急性口服毒性 | 白化鼠 | LD ₅₀ 确定为 5000 mg kg ⁻¹ |
| 急性皮肤刺激 | 白化鼠 | 对皮肤无刺激性 |
| 急性眼睛刺激 | 白化兔 | 轻微刺激眼睛 |
| 皮肤过敏 | 豚鼠 | 不是皮肤过敏物质 |

抗菌效力的稳定性和长效性. 我们探讨了铜-玻璃陶瓷的储存稳定性以及含有该材料的涂层通过模拟长期使用保持抗菌效力的能力-这些因素是材料实际部署的关键。对铜-玻璃陶瓷粉末进行加速老化研究以模拟1年的储存期，表明没有变质或腐蚀（补充数据2）。我们评估了液体涂料和含有铜-玻璃陶瓷的涂漆试样的长期效能；在6个月的研究期间没有观察到效力降低，表明铜-玻璃陶瓷添加剂在水乳液和干膜状态下，能有效保持其抗微生物的功效。根据疾病预防控制中心的感染控制指南，模拟磨损和承受清洁的能力，我们在有和没有铜玻璃陶瓷的情况下对涂漆试样进行严格的洗涤和磨损，模拟长达4年的磨损（“方法”）。含有铜玻璃陶瓷的磨损试样相对于磨损的对照试样，即使在48次清洁循环后（用百洁布擦洗涂层表面192次），金黄色葡萄球菌菌落计数（图5）也降低了99.9%以上。我们还评估了金黄色葡萄球菌重复污染/污染试样的效果。对照试样显示3次重复接种后细菌生物负载增加（表3）。相比之下，测试试样证明了连续减少细菌菌落计数至检测极限（LoD）的能力。我们制备了铜核-硅壳颗粒（如文献33中所述）作为Cu¹⁺离子的玻璃-陶瓷主体的替代物。这些纳米颗粒是

水分散性的并且具有与铜-玻璃陶瓷类似的抗微生物效力，但必须在酒精下储存以保持其橙红色和抗微生物性质。

在非常低的铜表面浓度（~5%）下实现铜玻璃陶瓷的高抗菌功效（2小时内，细菌减少≥99.9%）。深入了解玻璃结构-性质关系和空间约束H₃O⁺离子交换促使我们研发出一种新型释放铜离子的含铜玻璃陶瓷材料。该工作展示并拓宽了合理设计玻璃作为功能纳米材料主体的范围。玻璃可制造性的实际优势与大规模自下而上的化学合成空气敏感纳米材料或主客体复合物的困难形成鲜明对比。此外，玻璃本身具有材料特性和化学功能化的潜力，可实现广泛的应用。在一个日益关注传染病以及有机杀菌剂的性能局限和安全性的引起的挫败感的时代，报告中描述的铜-玻璃陶瓷显得特别重要。

方法

制备玻璃和玻璃陶瓷. 玻璃和玻璃陶瓷制造材料包括宝林沙（Coarse Berkely Fine Special; US Silica），煅烧氧化铝（A2, Unground Classified; Almatix），氧化铜（325目; Ceramic Color and Chemical），偏磷酸铝（粉末，技术级纯度; Chemical Distributors Inc.），技术级硼酸（Optibor TG; Chemical Distributors Inc.）和碳酸钾（食品添加剂级; Amrex Chemical）等原料。将原料在Turbula混合器中混合，然后在1600℃下在覆盖的熔融石英坩埚中熔化6小时。然后将熔融玻璃从坩埚中倒入干净的不锈钢台上，并转移到设定为每个玻璃的预先确定的退火点的退火炉中。将玻璃在退火点温度下热处理6小时，然后以100℃ h⁻¹的冷却速率冷却至室温。

铜玻璃陶瓷的铣削. 将玻璃样品锤打成小块，磁力清洗，并送入陶瓷圆盘粉碎机中喷射研磨原料，并通过20目筛（850μm开口）。玻璃颗粒在陶瓷衬里的实验室规格” Sturtevant Micronizer®空气喷射研磨机上加工，并还原成具有窄颗粒分布的细微米级粉末。然后将喷射研磨的粉末经过325目（45μm开口）筛子以去除任何外来碎片和未研磨颗粒。

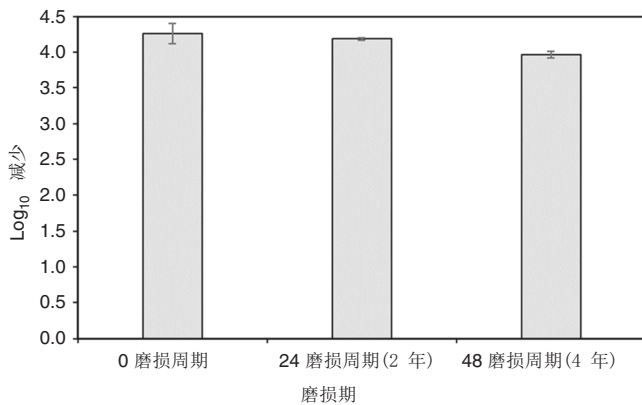


图5. 模拟磨损后铜玻璃陶瓷颗粒的效果。洗涤和磨损后抗微生物效力的图解说明了铜-玻璃陶瓷颗粒的寿命。即使经过4年的模拟磨损(“方法”),测试油漆涂层仍能保持杀菌效果(>99.9%)。每个磨损周期代表每月4次洗涤和损。对数减少计算是对照和试样之间的金黄色葡萄球菌菌落计数的差异(两者都经历磨损循环)。数据和误差条表示 $n=2$ 次重复的平均值和标准偏差。

表3 铜 - 玻璃陶瓷颗粒的连续清洁能力

| 接种次数 ^a | 金黄色葡萄球菌落在暴露2小时计数 (CFU//试样) | |
|-------------------|----------------------------|------|
| | 对照试样 | 试验试样 |
| 1 | 1.23E + 05 | ≤10 |
| 2 | 1.85E + 05 | ≤10 |
| 3 | 8.54E + 06 | ≤10 |

CFU 菌落形成单位
^a每次接种加入 $-2E + 07$ CFU/试样 (at 0, 2和 4 小时)

试样准备. 使用顶置式搅拌机 (Fisher Scientific) 将一定重量的精细研磨的铜-玻璃陶瓷颗粒与商业涂料 (PPG Olympic One Eggshell Interior Paint, PPG Diamond Interior Paint + Primer) 混合3-5分钟以制备含有 26 gL^{-1} 铜-玻璃陶瓷颗粒的测试涂料。在试样制备之前,将乳液再次搅拌3-5分钟。将1”×1”试样 (BYK-Gardner 5015 byko-chart 黑色磨砂试验板P121-22610N) 涂上底漆 (Zinsser® Bulls Eye 1-2-3水基底漆; 3密耳) 并使其在环境温度和湿度下过夜干燥。依次施加两层含有铜-玻璃陶瓷的涂料 (每层3密耳), 每层干燥≥24小时。使用不含铜-玻璃陶瓷颗粒的涂料类似地制备未处理的对照试样。在测试当天,将试样两侧暴露于UV光 (Thermo Scientific 13-系列II类, A2型生物安全柜; 波长254nm) 约15分钟。将用作参照表面的不锈钢试样浸入75%乙醇溶液中清洗并灭菌, 然后用去离子水冲洗。

微生物和细胞系. 使用的细菌菌株是金黄色葡萄球菌 (ATCC 6538), 产气克雷伯氏菌 (ATCC 13048), 铜绿假单胞菌 (ATCC 15442) 和大肠杆菌 (ATCC 35150)。将含有每种细菌原种培养物的小瓶储存在 -80°C 直至使用。

杀病毒功效测试在明尼苏达州的 Accuratus Lab Services 进行。Accuratus 使用从德国 Greifswald 的 Friedrich-Loeffler-Institut 获得的鼠诺沃病毒菌株 S99, 并使用连续小鼠巨噬细胞系 RAW 264.7 细胞进行感染性测定。

杀菌功效测试. 所有试样 (包括研究对照) 的杀菌效力测试都是按照EPA测试铜合金表面作为消毒剂方案进行¹¹, 每个试样一式三份进行测试。

将20 μL 等份的解冻细菌培养物加入10mL胰蛋白酶大豆肉汤 (Teknova) 中。将这些细菌悬浮液在轨道振荡器 (New Brunswick Scientific) 中在 36°C (K. aerogenes, 30°C) 下连续温育3X, 持续18-24小时, 然后在聚丙烯接管 (Fisher Healthcare) 中1X孵育48小时。随后将培养物在涡旋混合器 (VWR Scientific) 上混合并使其沉降。吸出每个管的上部三分之二悬浮液并测OD₆₀₀ (Smart Spec Spectrophotometer 3000, Bio-Rad) 用于细菌密度估计。用磷酸盐缓冲盐水 (Gibco Life Technologies) 稀释培养物, 以达到接近目标值 $1.0 \times 10^7 \text{ CFU mL}^{-1}$ 的细菌接种物浓度。将0.25mL的5%胎牛血清 (Gibco Life Technologies) 和0.05mL Triton X-100 (Amresco Pro Pure) 加入到4.70mL细菌悬浮液中以帮助扩散接种物。

用20 μL 细菌测试培养物接种每个试样。使用弯曲的无菌移液管 (Mettler-Toledo) 均匀地扩散接种体积, 以确保完全均匀的覆盖, 尽可能靠近试样边缘扩散。然后将试样在设定为42%相对湿度和 23°C 的受控环境中温育120分钟。

在120分钟的暴露期后, 将试样在Letheen肉汤 (Gen Lab) 中中和。使用标准铺板技术将十倍连续稀释的中和溶液铺在胰蛋白酶大豆琼脂平板上, 并在 36°C (产气荚膜菌用 30°C) 温育48小时以产生可数的存活菌落 (每板约20-200个菌落)。

铜-玻璃陶瓷颗粒在涂层中的模拟磨损. 对含有铜-玻璃陶瓷 (26 gL^{-1}) 的油漆板进行磨损程序 (洗涤和磨损), 模拟最坏情况下每个月进行4次清洁, 最长可达4年。

使用Elcometer 5750 Taber® Linear Abraser进行模拟磨损。按描述的稀释度 (1: 64) 用DI水稀释通用多用途洗涤剂 (Best Yet Citrus Cleaner™) 作为清洁剂。用清洁溶液饱和和3M ScotchBrite® 轻型清洁垫 (1” x 1”) - 使用触发式喷雾瓶 (Great Value™) 在2至3英寸的距离内施加2次喷雾。使用双面胶带将垫连接到铝块附件 (ScotchBrite® Kit, Taber Industries)。没有额外的附件重量添加到线性磨损器的花键轴 (基本负载350g), 以保持压力类似于标准油漆可洗性测试中所应用的压力, 例如ASTM D3450。速度设定为30个循环/分钟, 循环计数器设定为2, 行程长度设定为4”。将1”×4”油漆板固定在ScotchBrite®垫下方并运行2个循环, 表示一个完整的磨损循环 (用湿的百洁布擦洗表面四次)。在进行下一个磨损循环之前, 将板干燥≥10分钟。该过程重复24个循环 (用湿的百洁布擦洗96次) 以模拟磨损和洗涤长达2年, 以及48个循环 (用湿的百洁布擦洗192次) 以模拟清洁长达4年。在完成磨损循环后, 将板切成1”×1”试样并测试对金黄色葡萄球菌 (ATCC 6538) 的杀菌效力。从类似磨损的对照试样上的菌落计数中减去磨损的试样上的细菌菌落计数以测量减少量。

铜玻璃陶瓷连续清洗能力. 使用3组试样 (含有铜-玻璃陶瓷) 和3组对照试样。所有试样均接种20 μL 细菌接种物 ($t = 0$)。在 23°C 和42%相对湿度下孵育2小时后, 中和一个试验和一个对照试样并取出用于定量回收。使用校准的移液器将剩余的试样第二次 ($t = 2$ 小时) 用20 μL 培养物再接种。取出另一个测试和对照试样用于定量回收, 并将剩余的组重新接种第三次 ($t = 4$ 小时)。这组试样在 $t = 6$ 小时时被中和并计数。在每个恢复时间 (2, 4和6小时), 对照和测试试样被中和并如前所述进行计数。

杀病毒功效测试。 抗病毒功效的方案改编自Haldar等人³⁰并在明尼苏达州的Accuratus Lab Services进行。使用与细菌相同的程序,用20 μL 鼠诺罗病毒接种试样,并在设定为相对湿度50%和温度20°C的受控室中温育。120分钟后,将1.0 mL等份的2X MEM培养基(Gibco Life Technologies)分别移液到每个测试和对照试样上。用无菌塑料细胞刮刀

(Bioscience)刮擦每个试样的表面,收集测试培养基并通过Sephadex柱(GE Healthcare)。然后将滤液连续稀释10倍并测定RAW 264.7细胞的感染性。

对数和减少百分比的计算。 菌落(CFU)对数和百分比减少被用来测量试验试样和对照试样杀菌效力之间的差异¹¹。PFU₅₀对数和百分比减少被用来比较试验试样和对照试样的杀病毒功效的差异。在多孔培养板内,与试验试样或对照试样接触过的病毒培养基被连续稀释10倍并用于感染RAW 264.7细胞,PFU₅₀表示使50%RAW 264.7细胞被感染病毒稀释浓度。

动物急性毒理实验。 动物急性毒理试验的进行是根据美国德克萨斯州Stillmeadow公司的方法。结果被总结于补充数据1。

分子动力学模拟。 在由约2000个原子制成的立方体样品上进行分子动力学模拟,随机坐标在4000 K下平衡1 ns。在环境压力下,在NPT(恒定原子数,恒定压力和恒定温度)下,在8 ns的时间内连续淬火高温熔体至300 K³⁴。最后,将玻璃在大气压下在300 K下松弛1 ns。周期性边界条件适用于所有方向。使用由Pedone等人³⁵开发的广泛使用的氧化物力场。Ovito³⁶促进了局部原子结构的可视化。

报告摘要。 有关研究设计的更多信息,请参阅 Nature Research Reporting Summary中与本文相关链接。

数据可用性声明

当前研究期间和/或分析期间生成的数据包括在此文中(及其补充信息文件)。未经发表的数据和支持本研究结果的详细报告可在相应作者的合理要求下获得。

投稿: 2018年11月8日。稿件接受: 2019年4月8日

网上发表: 2019年4月30日

参考文献。

- Rappuoli, R., Bloom, D. E. & Black, S. Deploy vaccines to fight superbugs. *Nature* **552**, 165–167 (2017).
- Davies, J. & Davies, D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **74**, 417–433 (2010).
- Salgado, C. D. et al. Copper surfaces reduce the rate of healthcare-acquired infections in the intensive care unit. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **34**, 479–486 (2013).
- Warnes, S. L., Highmore, C. J. & Keevil, C. W. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes on abiotic touch surfaces: implications for public health. *mBio* **3**, e00489–12 (2012).
- Vincent, M., Duval, R. E., Hartemann, P. & Engels-Deutsch, M. Contact killing and antimicrobial properties of copper. *J. Appl. Microbiol.* **124**, 1032–1046 (2018).
- Grass, G., Rensing, C. & Solioz, M. Metallic copper as an antimicrobial surface. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**, 1541–1547 (2011).
- Thurman, R. B. & Gerba, C. P. The molecular mechanisms of copper and silver ion disinfection of bacteria and viruses. *Crit. Rev. Environ. Control* **18**, 295–315 (1989).
- Mathews, S., Kumar, R. & Solioz, M. Copper reduction and contact killing of bacteria by iron surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.* **81**, 6399–6403 (2015).
- Sunada, K., Minoshima, M. & Hashimoto, K. Highly efficient antiviral and antibacterial activities of solid-state cuprous compounds. *J. Hazard Mater.* **235–236**, 265–270 (2012).
- Hans, M. et al. Role of copper oxides in contact killing of bacteria. *Langmuir* **29**, 16160–16166 (2013).
- United States Environmental Protection Agency. *Test Method for Efficacy of Copper Alloy Surfaces as a Sanitizer* (United States Environmental Protection Agency, Washington DC, 2008).
- Michels, H. T. & Anderson, D. G. *Metal Ions in Biology and Medicine*, Vol. 10 (eds Collyer, P. et al.) (John Libbey Eurotext, Montrouge, 2008).
- Rosenberg, M. et al. Rapid in situ assessment of Cu-ion mediated effects and antibacterial efficacy of copper surfaces. *Sci. Rep.* **8**, <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26391-8> (2018).
- Michels, H. T., Noyce, J. O. & Keevil, C. W. Effects of temperature and humidity on the efficacy of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* challenged antimicrobial materials containing silver and copper. *Lett. Appl. Microbiol.* **49**, 191–195 (2009).
- Morse, D. L. & Evenson, J. W. Welcome to the glass age. *Int. J. Appl. Glass Sci.* **7**, 409–412 (2016).
- Norton, F. J. Permeation of gaseous oxygen through vitreous silica. *Nature* **191**, 701 (1961).
- Matusita, K. & Mackenzie, J. D. Low expansion copper aluminosilicate glasses. *J. Noncryst. Solids* **30**, 285–292 (1979).
- Matusita, K., Sakka, S. & Shouji, T. Thermal expansion of substituted copper aluminosilicate glasses. *J. Am. Ceram. Soc.* **66**, 33–35 (1983).
- Doremus, R. H. Interdiffusion of hydrogen and alkali ions in a glass surface. *J. Noncryst. Solids* **19**, 137–144 (1975).
- Lanford, W. A. et al. Hydration of soda-lime glass. *J. Noncryst. Solids* **33**, 249–266 (1979).
- Quaranta, A. et al. Formation of copper nanocrystals in alkali-lime silica glass by means of different reducing agents. *J. Noncryst. Solids* **345–346**, 671–675 (2004).
- Swarts, E. L. *Introduction to Glass Science* (Plenum Press, New York, 1972).
- Shannon, R. D. Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides. *Acta Crystallogr. A* **32**, 751–767 (1976).
- Bradley, L. C. et al. Hydronium ions in soda-lime silicate glass surfaces. *J. Am. Ceram. Soc.* **96**, 458–463 (2013).
- Doremus, R. H. Exchange and diffusion of ions in glass. *J. Phys. Chem.* **68**, 2212–2218 (1964).
- Gehrke, E., Ullner, C. & Hähner, M. Fatigue limit and crack arrest in alkali-containing silicate glasses. *J. Mater. Sci.* **26**, 5445–5455 (1991).
- Tomozawa, M. *Treatise on Materials Science and Technology*, Vol. 17 (Academic Press, New York, London, 1979).
- Ma, L., Brow, R. K. & Schlesinger, M. E. Dissolution behavior of Na₂O–FeO–Fe₂O₃–P₂O₅ glasses. *J. Noncryst. Solids* **463**, 90–101 (2017).
- Pendleton, J. N., Gorman, S. P. & Gilmore, B. F. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev. Antiinfect. Ther.* **11**, 297–308 (2013).
- Haldar, J., Weight, A. K. & Klibanov, A. M. Preparation, application and testing of permanent antibacterial and antiviral coatings. *Nat. Protoc.* **2**, 2412–2417 (2007).
- Amsler, E. et al. Airborne allergic contact dermatitis caused by isothiazolinones in water-based paints: a retrospective study of 44 cases. *Contact Dermat.* **77**, 163–170 (2017).
- ASTM D2574-16. *Standard Test Method for Resistance of Emulsion Paints in the Container to Attack by Microorganisms* (ASTM International, West Conshohocken, PA, 2016).
- Su, X. et al. A facile synthesis of Cu₂O/SiO₂ and Cu/SiO₂ core-shell octahedral nanocomposites. *Nanotechnology* **19**, 365610 (2008).
- Nosé, S. A unified formulation of the constant temperature molecular dynamics methods. *J. Chem. Phys.* **81**, 511–519 (1984).
- Pedone, A., Malavasi, G., Menziani, M. C., Cormack, A. N. & Segre, U. A new self-consistent empirical interatomic potential model for oxides, silicates, and silicas-based glasses. *J. Phys. Chem. B* **110**, 11780–11795 (2006).
- Stukowski, A. Visualization and analysis of atomistic simulation data with OVITO—the Open Visualization Tool. *Modelling Simul. Mater. Sci. Eng.* **18**, 015012 (2010).

致谢

我们感谢Victor Jin博士对涂料中铜-玻璃陶瓷的浓度研究; Kaitlyn Matias对铜-玻璃试样的抗菌测试; Erika L. Stapleton进行XRD分析; Bavani Balakrisnan博士和Daniel A. Sternquist博士进行ICP和氧化还原化学分析; Ying Zhang博士, 陈国华和John Wang博士研究二氧化硅壳纳米粒子; Shawn T. Barkley的粉末制备和分析; 和Randall E. Youngman博士进行核磁共振分析。我们还要感谢Stephen J. Ben-kovic教授, Gary S. Calabrese博士, Martin J. Curran, Chad A. Mirkin教授, David L. Morse博士, Thomas E. Shenk教授和Wendell P. Weeks的批评性反馈。

作者贡献

T. M. G. 制造了铜 - 玻璃和铜 - 玻璃陶瓷组合物。T. M. G., J. La. 和A. G. 提供了关键意见并撰写了手稿。J. Lu. 进行分子动力学模拟。AM效率由F. V. 和J. L. K. 测量。J. W. 进行STEM分析。D. E. B. 进行SEM分析。P. F. N. 准备试样。M. J. S. 进行了铜玻璃陶瓷的熔化。

附加信息

本文附带补充资料<https://doi.org/10.1038/s41467-019-09946-9>.

利益竞争:

T. M. G., J. La., A. G., J. Lu., P. F. N., F. V., J. L. K., D. E. B. 和M. J. S. 是康宁公司的员工。J. W. 在本研究期间是康宁公司的一名员工。

重印和许可信息可在线获取 <http://npg.nature.com/reprintsandpermissions/>

期刊同行评审信息: Nature Communications 感谢 Belén Cabal, Katherine Zodrow和其他匿名评论者对本研究同行评审的贡献。

出版商的说明: Springer Nature在已发布的地图和机构信息中对管辖权声明保持中立。



开放获取本文采用知识共享署名4.0国际许可协议授权, 允许使用, 共享, 任何媒介或格式的改编, 发行和复制, 只要您向原作者和来源提供适当的信用, 提供知识共享许可的链接, 并指出是否进行了更改。除非在材料的信用额度中另有说明, 否则本文中的图像或其他第三方材料均包含在文章的知识共享许可中。如果文章的知识共享许可中未包含材料, 且法定规定不允许您的预期用途或超出许可用途, 您需要直接获得版权所有者的许可。要查看此许可证的副本, 请访问<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>。

© The Author(s) 2019

补充资料
具有高抗菌功效的含铜玻璃陶瓷

Timothy M. Gross, Joydeep Lahiri, Avantika Golas, Jian Luo, Florence Verrier, Jackie

L. Kurzejewski, David E. Baker, Jie Wang, Paul F. Novak, Michael J. Snyder

补充表 1: 铜-玻璃陶瓷颗粒浸出上清液的成分

| 分析成分 (ppb) | 铜玻璃陶瓷* | 水 (参照) |
|-------------------------------------|--------|--------|
| Al | 18 | 4 |
| B | 2670 | 20 |
| Ca | 26 | 72 |
| Cu | 486 | 4 |
| K | 22300 | 20 |
| Mg | 7 | 11 |
| Na | 136 | 100 |
| P | 5450 | 50 |
| Si | 2710 | 20 |
| W | 10 | 10 |
| *浓度为 26g/L 铜-玻璃陶瓷在去离子水中浸出 4 小时后的上清液 | | |

补充表 2: 在暴露于含有铜-玻璃陶瓷颗粒的涂料 2 小时后的小鼠诺如病毒的减少

| 小鼠诺如病毒* | 重复#1 | 重复#2 | 重复#3 | 平均值 |
|--|-------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| 对照涂层 (PFU ₅₀ /250μL) | 10 ^{5.00} | 10 ^{4.75} | 10 ^{5.50} | 10 ^{5.08} |
| 涂层+铜-玻璃陶瓷颗粒 (PFU ₅₀ /250μL) | ≤10 ^{1.50} | ≤10 ^{1.50} | ≤10 ^{1.50} | ≤10 ^{1.50} |
| 平均减少百分比 | ≥99.97% | | | |
| 平均 Log10 减少 | ≥3.58 Log ₁₀ | | | |

* PFU50 表示当在细胞培养的试管或孔板中系列稀释病毒液接种培养细胞，50%细胞被感染对应的浓度。

补充表 3: ‘罐内’铜-玻璃陶瓷颗粒的防腐性能

| 铜绿假单胞菌(ATCC 10145) | 周数(每周一次挑战) | | | |
|--|------------|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 对照涂层 | 1 | 3 | 4 | 4 |
| 涂层+铜-玻璃陶瓷颗粒 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 产气肠杆菌(ATCC 13048) | 周数(每周一次挑战) | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 对照涂层 | 1 | 1 | 2 | 4 |
| 涂层+铜-玻璃陶瓷颗粒 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0 =无细菌恢复 1 =污染痕迹(1至9个菌落) 2 =轻度污染(10至99个菌落) 3 =中度污染(<100个不同的菌落) 4 =严重污染(连续涂抹生长) | | | | |

补充表 4: 从含有铜-玻璃陶瓷颗粒的涂料中浸出的铜

| 天数 | Cu (ppb)* | 平均 Cu (ppb)* |
|----|-----------|--------------|
| 1 | 500 | 550 |
| | 710 | |
| | 440 | |
| 2 | 32 | 35 |
| | 40 | |
| | 33 | |
| 3 | 28 | 20 |
| | 16 | |
| | 15 | |
| 5 | 28 | 24 |
| | 29 | |
| | 14 | |

**含有铜玻璃陶瓷（浓度为 26g/L）的漆膜在去离子水中浸出 24 小时后的上清液

补充资料 1: 急性毒理学研究总结

所有急性毒性研究均由 Stillmeadow Incorporated, TX 按照 EPA 测试指南进行, 遵照良好实验室规范。

大鼠急性经口毒性 (试验指南 OCSPP 870. 1100)

给雌性白化大鼠胃内灌注 5000mg/kg 铜-玻璃陶瓷颗粒以评价铜-玻璃陶瓷急性潜在口服毒性。由于测试物质未通过极限测试, 因此在 175, 550, 1750 和 5000mg/kg 的上下程序 (UDP) 进行主要测试。该研究根据程序停止规则而终止。死亡率仅发生在 5000mg/kg 的水平; 一只动物在第 14 天内研究终止时表现出严重的症状和体重减轻。临床症状包括活动减少, 蓝色粪便/尿液, 排便减少, 腹部膨胀, 紫绀, 驼背姿势, 体温过低, 消瘦, 眼球分泌物和毛发直立。存活大鼠在第 0 天和第 6 至第 10 天都有迹象。试验终止时还存活的动物在研究期间表现出每周体重增加。异常的尸检结果仅发生在试验期间死亡的动物中, 并且与面部/肛门生殖器区域, 肺, 肝脏, 脾脏和胃肠道内容物有关。由数据表明的测试物质急性口服 LD50 估计为 5000mg/kg。

大鼠急性皮肤毒性 (测试指南 OCSPP 870. 1200)

给白化大鼠完整皮肤涂抹经去离子 (DI) 水润湿的单剂量 5050mg/kg 铜-玻璃陶瓷颗粒, 以评价铜-玻璃陶瓷的皮肤毒性和相对皮肤刺激性。研究期间未发生死亡。在整个研究期间的任何时间都没有毒性临床症状或皮肤刺激迹象。动物在研究期间每周体重增加。在研究终止时进行的大体尸检显示没有可观察到的异常。测定物质 LD50 确定为大于 5050mg/kg。

兔急性眼刺激 (测试指南 OCSPP 870. 2400)

使用测试物质 (铜-玻璃陶瓷颗粒) 对三只白化兔 (开始 1 只, 后加 2 只) 进行急性眼刺激研究。将 100mg 测试物质置于选择用于测试的动物右眼的结膜囊中。在记录 2 小时观察后, 用室温去离子 (DI) 水洗涤任何处理过的眼睛 1 分钟。

每个参数测试“阳性”的动物数量与观察到的动物数量呈现如下:

| | 接触后的时间 | | | | |
|--------|--------|-----|-----|-----|-----|
| | 小时 | | | | 天 |
| | 1 | 24 | 48 | 72 | 4 |
| 角膜不透明度 | 1/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/1 |
| 虹膜炎 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/1 |
| 结膜发红 | 2/3 | 2/3 | 2/3 | 0/3 | 0/1 |
| 球结膜水肿 | 1/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/1 |

治疗后 72 小时, 任何眼睛都没有表现出阳性效果。因此, 测试物质被指定为毒性类别 III。测试物质有轻微刺激性。

兔急性皮肤刺激（测试指南 OCSPP 870. 2500）

对三只白化兔进行了初级皮肤刺激研究。每个测试部位（每只动物一个完整部位）用 500mg 铜-玻璃陶瓷颗粒用去离子水润湿并用半渗透敷料覆盖。将颗粒与动物皮肤保持接触 4 小时。在打开敷料后 1, 24, 48 和 72 小时观察皮肤刺激和缺陷。

通过 72 小时观察得出的相应红斑和水肿评分的刺激评分列表如下：

| | 红斑 | | | | 浮肿 | | | | 刺激评分 |
|------------------|---------|----|----|----|---------|----|----|----|------|
| | 打开敷料后小时 | | | | 打开敷料后小时 | | | | |
| | 1 | 24 | 48 | 72 | 1 | 24 | 48 | 72 | |
| 兔 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 兔 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 兔 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 主要刺激指数 (PII) = 0 | | | | | | | | | |

基于 PII = 0，铜 - 玻璃陶瓷颗粒被评定为无刺激性。基于 72 小时的分數，铜-玻璃陶瓷颗粒被指定为毒性类别 IV。

豚鼠皮肤过敏（测试指南 OCSPP 870. 2600）

对 15 只雄性和 15 只雌性短毛白化豚鼠进行皮肤致敏研究。将动物分配到两组中的一组，设计为不处理对照（5 /性别）和测试（10 /性别）。在研究的诱导期期间，不处理对照动物不给处理。用 400mg 经去离子水润湿的测试物质（选自测距）处理测试组中的动物。每周一次处理测试动物，持续三周，总共三次诱导。在休息两周后，所有动物（两组）被给予 400mg 经去离子水润湿的铜 - 玻璃陶瓷在原始测试部位进行攻击。在攻击处理后，铜-玻璃陶瓷颗粒在试验动物或不处理对照动物中均未产生反应，并且在豚鼠中不是致敏物。

急性吸入毒性（测试指南 OCSPP 870. 1300）

将五个雄性和五个雌性白化病大鼠暴露于由铜玻璃陶瓷颗粒产生的气溶胶 4 小时，浓度为 2.29mg / L。研究期间未发生死亡。临床症状包括活动减少，毛发直立和嘴鼻部的测试物质，在第 1 天不再明显。除了一只第 0 天和第 7 天之间体重减轻的测试动物外，余下动物每周体重增加。尸检显示除了变色之外没有可观察到的异常肺部。急性吸入 LC50 大于 2.29 mg / L。

补充资料 2：铜玻璃陶瓷颗粒的加速储存稳定性 (OPPTS 830.6317)

铜 - 玻璃陶瓷颗粒的储存稳定性研究在德克萨斯州的 Still Meadows Lab 进行。在第 0 天，通过验证的滴定方法分析铜-玻璃陶瓷样品，发现其含有平均 32.85% 的氧化铜。对在 54°C 下孵育 14 天的样品再次进行滴定，其模拟在 1 年期间的储存。发现平均氧化铜浓度为 32.54%，表明铜-玻璃陶瓷的分析稳定性。