

研究与探索

# Ti6Al4V 表面 Ti-Cu-N 纳米薄膜溅射沉积 及其抗菌性能研究

张慧桥<sup>1</sup>, 黄晓波<sup>1</sup>, 田伟红<sup>1</sup>, 郭杨阳<sup>1</sup>, 李娟<sup>2</sup>, 范爱兰<sup>1</sup>, 唐宾<sup>1</sup>

(1. 太原理工大学 表面工程研究所, 太原 030024; 2. 山西汾西重工有限责任公司, 太原 030027)

**摘要:** 目的 提高医用钛合金的抗菌性能。方法 应用直流磁控溅射在 Ti6Al4V 基体上沉积 Ti-Cu-N 薄膜, 通过平板计数法和细菌活死染色对比研究薄膜和基材的抗菌性能。采用扫描电子显微镜、X 射线衍射仪和辉光放电光谱分析仪研究薄膜的微观组织、化学成分分布。结果 Ti-Cu-N 薄膜对大肠杆菌展现了优良抗菌性能。结论 Ti-Cu-N 薄膜能够很好地改善 Ti6Al4V 合金的抗菌性能。

**关键词:** 磁控溅射; Ti-Cu-N 薄膜; 抗菌性能

中图分类号: TG174.444

文献标识码: A

文章编号: 1001-3660(2014)04-0001-05

## Antibacterial Properties of Ti-Cu-N Composite Films Deposited on Ti6Al4V Alloy by Magnetron Sputtering

ZHANG Hui-qiao<sup>1</sup>, HUANG Xiao-bo<sup>1</sup>, TIAN Wei-hong<sup>1</sup>,  
GUO Yang-yang<sup>1</sup>, LI Juan<sup>2</sup>, FAN Ai-lan<sup>1</sup>, TANG Bin<sup>1</sup>

(1. Research Institute of Surface Engineering, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China;

2. Fenxi Heavy Industry, Taiyuan 030027, China)

**ABSTRACT:** **Objective** To improve the antibacterial properties of medical titanium alloys. **Methods** Ti-Cu-N films were deposited on Ti6Al4V substrates by magnetron sputtering. The antibacterial analyses employed the fluorescence staining method and bacterial-viability tests on agar plates. The microstructure and the chemical composition were characterized using scanning electron microscope (SEM), X-ray diffraction (XRD) and glow discharge optical emission spectroscopy (GDOES) technique. **Results** The Ti-Cu-N coating exhibited excellent antibacterial properties against Escherichia coli. **Conclusion** The Ti-Cu-N coating prepared

收稿日期: 2014-03-10; 修订日期: 2014-06-30

Received: 2014-03-10; Revised: 2014-06-30

**基金项目:** 国家自然科学基金(51171125); 山西省科学技术发展项目基金(20110321051); 山西省留学基金项目(2011-038); 太原理工大学研究生创新基金

**Fund:** Supported by the National Natural Science Foundation of China (51171125); the Shanxi Province Programs for Science and Technology Development (20110321051); the Shanxi Province Programs for Study Abroad Fund (2011-038); the Taiyuan University of Technology Graduate Innovation Fund.

**作者简介:** 张慧桥(1987—), 女, 河北石家庄人, 硕士, 主要研究方向为钛及钛合金应用。

**Biography:** ZHANG Hui-qiao (1987—), Female, from Shijiazhuang, Hebei, Master, Research focus: titanium and titanium alloys.

**通讯作者:** 范爱兰(1970—), 女, 山西孝义人, 博士, 副教授, 主要研究方向为钛合金表面改性。

**Corresponding Author:** FAN Ai-lan (1970—), Female, from Xiaoyi, Shanxi, Ph. D., Associate professor, Research focus: surface modification and performance of titanium alloys.

could greatly improve the antimicrobial properties of the Ti6Al4V alloy.

**KEY WORDS:** magnetron sputtering; Ti-Cu-N coating; antibacterial properties

金属材料用于人体已有数百年历史<sup>[1]</sup>,是最早的生物医用材料。钛及钛合金具有生物相容性优异、弹性模量低、强度高、韧性好等优点,是人体植入件材料的首选。近年来文献报道有多种新型医用钛合金问世<sup>[2-5]</sup>,如 Ti-Mo 系  $\beta$  型钛合金 Ti-12Mo-6Zr-2Fe 和 Ti-15Mo-3Nb-0.3O (21SRx), Ti-Nb 基的亚稳定钛合金 Ti-13Nb-13Zr, Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr 和 Ti-34Nb-9Zr-8Ta 以及由西北有色金属研究院等自主设计开发的近  $\beta$  型钛合金 Ti-Zr-Sn-Mo-Nb (TLM) 和 Ti-Zr-Mo-Nb (TLE) 等。但是,临床广泛使用的钛合金仍以 Ti6Al4V 合金为主<sup>[6]</sup>,约占 80%。

钛合金材料主要存在的问题<sup>[7]</sup>:1) 植入体内后,周围组织有伴生感染的危险;2) 耐磨性能较差。为此,人们从研发更合适的新型钛合金材料和寻求表面改性工艺以提高其表面性能两方面,提高钛合金的使用性能<sup>[6,8-10]</sup>。目前,磁控溅射技术取得了良好的效果<sup>[11-19]</sup>。

由于在钛合金表面制备 Ti-Cu-N 薄膜,能有效增强其抗菌性和耐磨性、耐蚀性<sup>[20-22]</sup>,笔者采用直流磁控溅射设备在钛合金表面制备 Ti-Cu-N 薄膜,并对其组织结构及抗菌性能进行研究。

## 1 实验

### 1.1 预处理

采用溅射沉积 (IBAMS) 真空镀膜设备,磁控靶材为纯度 99.99% 的纯 Ti 和纯 Cu 金属镶嵌靶,尺寸为  $\phi 100 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ , Cu 所占面积约为 1%。实验所用材料是  $\phi 12 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$  的圆形钛合金 Ti6Al4V,先经砂纸打磨,再用  $\text{Al}_2\text{O}_3$  抛光至表面粗糙度  $Ra < 0.05 \mu\text{m}$ 。镀膜前,用 SSC-2 型超声波在丙酮和酒精中分别清洗 10 min,再用去离子水漂洗烘干。沉积前, Ti6Al4V 样品均用 Ar 离子束溅射清洗 10 min,除去表面氧化物等杂质。

### 1.2 溅射沉积

薄膜的溅射方式为 Ar/ $\text{N}_2$  混合气体反应溅射,极间距 80 mm,本底真空度  $6 \times 10^{-3} \text{ Pa}$ ,溅射气压 0.6 Pa,氩气、氮气分压各 0.3 Pa。溅射电流 0.8 A,源极

电压 350 V,阴极电压 80 V。溅射时间共 2 h:前 1 h,真空室内只通氩气,溅射气压 0.6 Pa,先沉积一层 Ti-Cu 膜,以提高膜基结合力<sup>[23]</sup>;余下 1 h,通入  $V_{\text{Ar}} : V_{\text{N}_2} = 1 : 1$  的混合气体,维持溅射气压不变。

### 1.3 测试与分析方法

采用 XRD (D/MAX-2500) 对薄膜的物相及晶体结构进行分析, Cu K $\alpha$  线,管电压 40 kV,束流 100 mA,连续扫描,  $2\theta$  角扫描范围  $30^\circ \sim 85^\circ$ ,步长  $0.02^\circ$ 。采用 GDA750 辉光光谱分析仪 (GDOES) 分析膜层元素分布;采用 Nano SEM 430 扫描电镜对样品薄膜截面形貌进行分析。

采用平板计数法和细菌活死染色对比分析镀膜样品和基材的抗菌性能,所用菌种为大肠杆菌。抗菌实验如下:1) 将用乙醇清洗后的无沉积层对照样品和溅射沉积样品在  $121^\circ\text{C}$  下高压灭菌 20 min;2) 将接种后的菌液用生理盐水稀释成约  $10^6 \text{ CFU/mL}$  的菌液,取 100  $\mu\text{L}$  稀释液滴入放有试样的 24 孔板中,在  $37^\circ\text{C}$  恒温箱中培养 24 h;3) 将培养后的菌液稀释,滴至事先灭菌的固体培养基中,用涂布棒将菌液均匀涂在培养基表面;4) 固体培养基放置于  $37^\circ\text{C}$  的培养箱中培养 24 h。最后计数培养皿中的菌落个数,并计算抗菌率。杀菌率  $\eta$  用下式表示。

$$\eta = \frac{(N_0 - N)}{N_0} \times 100\%$$

式中:  $N_0$  为对照样品表面的菌落数,  $N$  为溅射沉积样品表面菌落数。当杀菌率  $\geq 90\%$  时,可以报告样品有杀菌作用<sup>[24]</sup>。

大肠杆菌活死染色法为:用 50  $\mu\text{L}$  低浓度的吡啶橙和碘化丙啶 (AO/PI) 混合液对涂有培养后的菌液样品分别进行染色实验,时间为 10 min,染色前用 PBS 溶液对样品进行两次清洗。

## 2 结果与讨论

### 2.1 薄膜的结构及抗菌性能分析

镀膜样品的 XRD 图谱如图 1 所示,可以看出只出现了 Ti 和 TiN 峰,没有 Cu 峰。这可能是因为薄膜中 Cu 晶粒太小,或者是 Cu 峰被 TiN 峰包覆在其中<sup>[25]</sup>。Ti 的最高特征峰出现在  $38.8^\circ$ , Ti (110) 衍射

峰的衍射强度最高。Ti 的各个衍射峰峰宽不同,说明 Ti 相晶粒大小不均匀。图中 TiN 的(111),(200),(311)衍射峰对应  $2\theta$  为  $36.0^{\circ}$ ,  $41.0^{\circ}$ ,  $75.4^{\circ}$ ,且峰值强度差距不大。

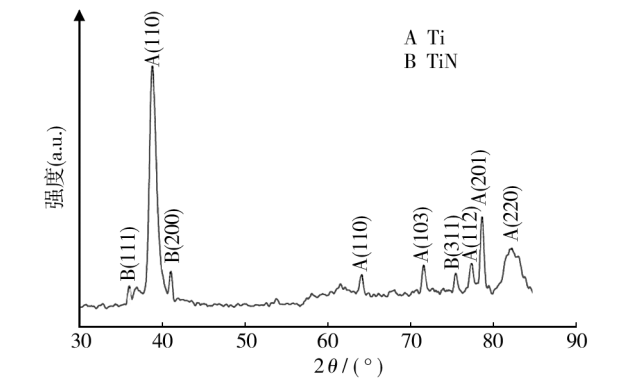


图 1 样品薄膜的 XRD 谱图  
Fig.1 XRD profile of the film

样品的截面扫描照片如图 2 所示,沉积的薄膜表面平整,结构均匀致密,且与基体有明显的分界线,薄膜的厚度约为  $3\text{ }\mu\text{m}$ 。薄膜出现分层现象,这可能是由于沉积实验分两个过程进行,生成物不一样所致。

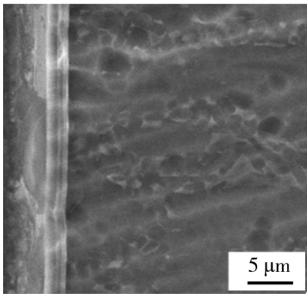


图 2 样品薄膜的截面形貌  
Fig.2 SEM morphologies of fractured cross-sections of the film

图 3 为薄膜各元素沿层深的浓度分布。薄膜表面 Cu 含量在  $1.51\text{ }\mu\text{m}$  深度下降到  $6.81\%$ ,而后逐渐趋于稳定,最后缓慢下降。由图可看出膜层明显的分为两层:最表面层为 Ti-Cu-N 膜层,Ti,Cu 和 N 的原子数子分数分别为  $24.5\% \sim 87.0\%$ ,  $6.7\% \sim 20.1\%$  和  $0 \sim 58.1\%$ ;靠基体的一层为 Ti-Cu 膜层,Ti 和 Cu 原子数分数分别为  $79.0\% \sim 87.0\%$ ,  $11.6\% \sim 16.1\%$ 。GDOES 所测结果与薄膜的截面形貌照片分析的结果是一致的。

镀膜前后样品与大肠杆菌作用 24 h 后平板的菌落生成照片如图 4 所示。与基体样品相对应的平板有大量的菌落分布,而与薄膜样品对应的平板菌落数

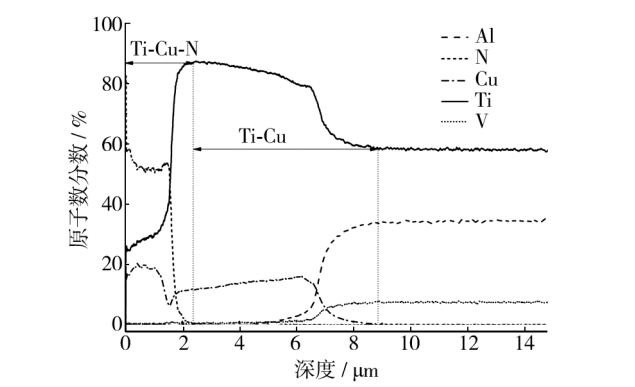


图 3 样品薄膜各元素成分分布  
Fig.3 Alloy elements distribution of the film

目减少,甚至只有零星几个菌落。对比说明,Ti-Cu-N 薄膜有很好的抗菌效果。接触时间达 24 h 后,薄膜对大肠杆菌的杀菌率达到  $99.83\%$ 。

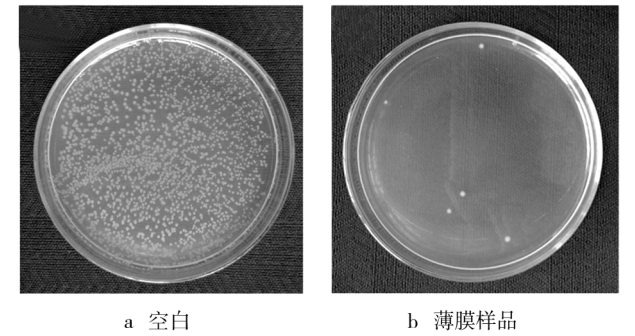
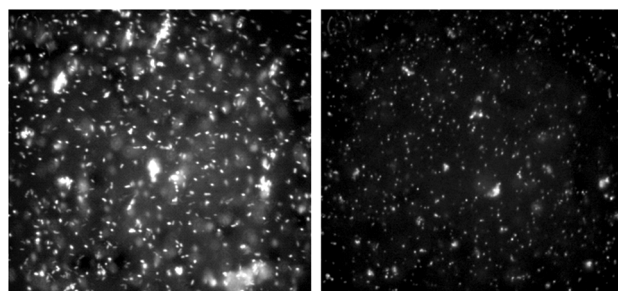


图 4 样品生成菌落的对比照片  
Fig.4 Antimicrobial effect of the treated coatings against Escherichia coli

为了进一步确定样品薄膜的抗菌性能,进行了大肠杆菌的活死染色实验。染色剂吖啶橙(AO)能透过胞膜完整的细胞,嵌入细胞 DNA,使之发出明亮的绿色荧光,而碘化丙啶(PI)不能通过胞膜完整的细胞,即不能进入活细胞,而可以进入由于失去膜完整性的坏死细胞,并使之发出橙红色荧光,因此可通过荧光颜色的变化来鉴别被薄膜破坏的死细胞的多少<sup>[26]</sup>。

图 5 显示了镀膜样品和基材经活死染色后的活死细菌显微照片。AO-PI 染色结果背景清晰,着色鲜明、明亮,易于辨认,染色可保持一天以上。浸泡过薄膜样品的菌液染色后呈现橙红色荧光,而浸泡过基材样品的菌液染色后呈现绿色荧光,由此可进一步判断 Ti-Cu-N 薄膜对大肠杆菌有很好的杀菌性,而基材几乎没有杀菌性。由于基体和 TiN 均没有杀菌效果<sup>[27]</sup>,而 Ti-Cu-N 膜层有很强的杀菌能力,说明铜在

抗菌过程中起到关键作用。



a 空白

b 薄膜样品

图 5 样品活死染色显微照片

Fig.5 Fluorescence microscope images of *E. coli* stained with acridine orange and propidium iodide

## 2.2 抗菌机理的初步探讨

目前金属抗菌粒子的抗菌作用机理主要有两种。一种是抗菌制品中的金属离子与细菌接触反应后,造成微生物固有成分破坏或产生功能障碍。当微量的  $\text{Cu}^{2+}$  接触到微生物的细胞膜时,因后者带负电荷,依靠库仑引力,使两者牢固吸附在一起,  $\text{Cu}^{2+}$  穿透细胞膜进入细胞内,并与巯基 ( $-\text{SH}$ ) 反应,使蛋白质凝固,破坏细胞合成酶的活性,细胞丧失分裂繁殖的能力而死亡<sup>[28]</sup>。金属离子还能破坏微生物电子传输系统、呼吸系统和物质传输系统。当菌体失去活性后,金属离子又会从菌体中游离出来,重复进行杀菌活动,因此其抗菌效果持久。

另一种是光催化反应。在光的作用下,金属离子能起到催化活性中心的作用,激活水和空气中的氧,产生羟基自由基和活性氧离子,活性氧离子具有很强的氧化能力,能在短时间内破坏细菌的繁殖能力而使细胞死亡,从而达到抗菌的目的<sup>[29—30]</sup>。

依据参考文献[31],本实验制备的 Ti-Cu-N 薄膜的抗菌机理更倾向于第一种。

## 3 结论

1) 采用磁控溅射方法在 Ti6Al4V 基体上可以获得性能较好的 Ti-Cu-N 多层膜,膜层均匀致密,并且在 Ti-Cu-N 膜层中形成了 TiN 物质。

2) 对镀膜样品进行抗菌性能研究,并与 Ti6Al4V 基体进行对比,结果表明 Ti6Al4V 基体镀膜后对大肠杆菌表现出良好的抗菌效果,能够充分提高基体的抗菌性能,且 Cu 在抗菌过程中起到了关键作用。

## 参考文献

- [1] 顾汉卿,徐国风. 生物医学材料学[M]. 天津:天津翻译出版公司,1993.  
GU Han-qing, XU Guo-feng. Biomedical Materials Science [M]. Tianjin: Tianjin Translation and Publishing Corporation, 1993.
- [2] LONG M, RACK H J. Titanium Alloys in Total Joint Replacement—A Materials Science Perspective[J]. Biomaterials, 1998, 19(18): 1621—1639.
- [3] WANG K. The Use of Titanium for Medical Applications in the USA[J]. Materials Science and Engineering, 1996, 213(1): 134—137.
- [4] WANG K, GUSTAVSON L, DUMBLETON J. The Characterization of Ti-12Mo-6Zr-2Fe: A New Biocompatible Titanium Alloy Developed for Surgical Implants[J]. Beta Titanium Alloys, 1993: 49—60.
- [5] STEINEMANN S G, MÄUSLI P A, SZMUKLER-MONCLER S, et al. Beta-titanium Alloy for Surgical Implants[J]. Beta Titanium Alloys, 1990: 2689—2696.
- [6] 黄伟九,李兆峰. 医用钛合金表面改性研究进展[J]. 材料导报, 2006, 20(2): 129—372.  
HUANG Wei-jiu, LI Zhao-feng. Research Progress in Surface Modification of Biomedical Titanium Alloys[J]. Materials Review, 2006, 20(2): 129—372.
- [7] 屠振密,朱永明,李宁,等. 钛及钛合金表面处理技术的应用及发展[J]. 表面技术, 2009, 38(6): 76—78.  
TU Zhen-mi, ZHU Yong-ming, LI Ning, et al. Applications and Advances on Surface Treatment for Titanium and Titanium Alloy[J]. Surface Technology, 2009, 38(6): 76—78.
- [8] 陈文革,张剑,熊斐,等. 磁控溅射法制备 W-Cu 薄膜的研究[J]. 表面技术, 2012, 41(4): 42—45.  
CHEN Wen-ge, ZHANG Jian, XIONG Fei, et al. Research on W-Cu Film by Magnetron Sputtering Technology[J]. Surface Technology, 2012, 41(4): 42—45.
- [9] 房振乾,陈群志,董兵,等. 飞机结构表面涂层体系改进研究[J]. 装备环境工程, 2013, 10(5): 102—107.  
FANG Zhen-qian, CHEN Qun-zhi, DONG bing, et al. Improvement of Aircraft Structure Surface Coating System[J]. Equipment Environmental Engineering, 2013, 10(5): 102—107.
- [10] 穆山,李军念,王玲,等. 海洋大气环境金属防护涂层技术与工艺研究[J]. 装备环境工程, 2012, 9(1): 81—84.  
MU Shan, LI Jun-nian, WANG Ling, et al. Corrosion Protection Coating Technologies of Metal in Marine Atmosphere [J]. Equipment Environmental Engineering, 2012, 9(1): 81—84.



- [11] 裴喜华,齐宏进.磁控溅射法制 PET 基纳米 TiO<sub>2</sub> 抗菌薄膜的研究[J]. 青岛大学学报(自然科学版),2003,16(1):16—19.  
PEI Xi-hua, QI Hong-jin. Study on TiO<sub>2</sub> Antibacterial Films on Pet Substrate Prepared by Magnetron Sputtering[J]. Journal of Qingdao University (Natural Science Edition), 2003,16(1):16—19.
- [12] HAUERT R. A Review of Modified DLC Coatings for Biological Applications[J]. Diamond and Related Materials, 2003,12(3):583—589.
- [13] DOWLING D P, BETTS A J, POPE C, et al. Anti-bacterial Silver Coatings Exhibiting Enhanced Activity Through the Addition of Platinum[J]. Surface and Coatings Technology, 2003,163:637—640.
- [14] BETTS A J, DOWLING D P, MCCONNELL M L, et al. The Influence of Platinum on the Performance of Silver-platinum Anti-bacterial Coatings[J]. Materials & Design, 2005,26(3):217—222.
- [15] CHEN W, LIU Y, COURTNEY H S, et al. In Vitro Anti-bacterial and Biological Properties of Magnetron Co-sputtered silver-containing Hydroxyapatite Coating[J]. Biomaterials, 2006,27(32):5512—5517.
- [16] KUO Y C, LEE J W, WANG C J, et al. The Effect of Cu Content on the Microstructures, Mechanical and Antibacterial Properties of Cr-Cu-N Nanocomposite Coatings Deposited by Pulsed DC Reactive Magnetron Sputtering[J]. Surface and Coatings Technology, 2007,202(4):854—860.
- [17] HSIEH J H, WANG C M, LI C. Deposition and Characterization of TaN-Cu Nanocomposite Thin Films[J]. Surface and Coatings Technology, 2006,200(10):3179—3183.
- [18] WANG X Q, ZHAO Y H, YU B H, et al. Deposition, Structure and Hardness of Ti-Cu-N Hard Films Prepared by Pulse Biased Arc Ion Plating[J]. Vacuum, 2011,86(4):415—421.
- [19] STRANAK V, WULFF H, REBL H, et al. Deposition of Thin Titanium-copper Films with Antimicrobial Effect by Advanced Magnetron Sputtering Methods[J]. Materials Science and Engineering: C, 2011,31(7):1512—1519.
- [20] 刘文科,曹小华,彭述明,等.钛膜表面阳极氧化层制备及表征[J]. 表面技术,2007,36(2):51—55.  
LIU Wen-ke, CAO Xiao-hua, PENG Shu-ming, et al. Preparation of Anodic Oxide Layer on the Surface of Titanium Film and Its Surface Property[J]. Surface Technology, 2007,36(2):51—55.
- [21] 吴莹,吴昕蔚,李广泽,等.反应溅射 Ti(O,N) 涂层的微结构及力学性能[J]. 表面技术,2007,36(6):39—41.  
WU Ying, WU Xin-wei, LI Guang-ze, et al. Microstructure and Mechanical Properties of Reactively Sputtered Ti(O,N) Coatings[J]. Surface Technology, 2007,36(6):39—41.
- [22] 田颖萍,范洪远,成靖文.氮氩流量比对磁控溅射 TiN 薄膜生长织构的影响[J]. 表面技术,2012,41(3):19—21.  
TIAN Ying-ping, FAN Hong-yuan, CHENG Jing-wen. Effect of N<sub>2</sub>/Ar Flow Ration on Orientation of TiN Thin Films[J]. Surface Technology, 2012,41(3):19—21.
- [23] ZHAO Y, WANG X, XIAO J, et al. Ti-Cu-N Hard Nanocomposite Films Prepared by Pulse Biased Arc-ion Plating[J]. Applied Surface Science, 2011,258(1):370—376.
- [24] 周晓鹏,毛洁,孙玉卿.一次性使用卫生用品卫生标准[J]. 上海预防医学,2010,22(10):542—543.  
ZHOU Xiao-peng, MAO Jie, SUN Yu-qing. Disposable Sanitary Hygiene Standards[J]. Shanghai Journal of Preventive Medicine, 2010,22(10):542—543.
- [25] 李铸国,俞海良,吴毅雄.低能量离子束辐照磁控溅射沉积超硬质 nc-TiN/nc-Cu 纳米复合膜[J]. 金属学报, 2006,42(9):993—997.  
LI Zhu-guo, YU Hai-liang, WU Yi-xiong. Super Hard nc-TiN/nc-Cu Nanocomposite Film Synthesized by Magnetron Sputtering with Low Energy Ion Flux Irradiation[J]. Acta Metallurgica Sinica, 2006,42(9):993—997.
- [26] LIU Y, WANG X, YANG F, et al. Excellent Antimicrobial Properties of Mesoporous Anatase TiO<sub>2</sub> and Ag/TiO<sub>2</sub> Composite Films[J]. Microporous and Mesoporous Materials, 2008,114(1):431—439.
- [27] 才学敏,刘桐,唐慧琴,等.离子束辅助沉积 TiN/Ag 多层膜的抗菌性和抗腐蚀性[J]. 核技术,2007,30(12):1028—1032.  
CAI Xue-min, LIU Tong, TANG Hui-qin, et al. Antibacterial and Corrosion Resistance of TiN/Ag Multilayers by Ion Beam Assisted Deposition[J]. Nuclear Techniques, 2007,30(12):1028—1032.
- [28] HU C H, XU Z R, XIA M S. Antibacterial Effect of Cu<sup>2+</sup> Exchanged Montmorillonite on Aeromonas Hydrophila and Discussion on Its Mechanism[J]. Veterinary Microbiology, 2005,109(1):83—88.
- [29] WANG Y M, JIA G Y, XUE Y X. Ceramic Antibacterial Cements and Its Application[J]. Modern Technological Ceramics, 1998(2):19—22.
- [30] YURANOVA T, RINCON A G, BOZZI A, et al. Antibacterial Textiles Prepared by RF-plasma and Vacuum-UV Mediated Deposition of Silver[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2003,161(1):27—34.
- [31] ZHANG X, HUANG X, JIANG L, et al. Surface Microstructures and Antimicrobial Properties of Copper Plasma Alloyed Stainless Steel[J]. Applied Surface Science, 2011,258(4):1399—1404.