

# 抗菌元素对纳米 TiO<sub>2</sub> 涂层结构和性能的影响

路怀峰<sup>1,2</sup>, 陆健<sup>1</sup>, 宋小霞<sup>2</sup>, 吕晨<sup>1</sup>, 叶丹丹<sup>1</sup>, 赵晓兵<sup>1</sup>, 王国成<sup>2</sup>

(1. 常州大学 材料科学与工程学院, 江苏 常州 213164;

2. 中国科学院深圳先进技术研究院 人体组织与退行性中心, 广东 深圳 518055)

**摘要:** **目的** 为克服纳米氧化钛在黑暗条件下不具有抗菌效果这一缺点, 使用抗菌金属元素 Cu、Zn 和 Ag 掺杂以提高其抗菌性能。**方法** 利用大气等离子喷涂技术在钛合金表面制备 Cu、Zn 和 Ag 掺杂的 TiO<sub>2</sub> 复合涂层。利用 X 射线衍射仪 (XRD)、拉曼光谱仪 (Raman) 和场发射扫描电子显微镜 (FE-SEM), 对涂层的物相组成和表面形貌进行表征。利用接触角测量仪、三位轮廓仪、电化学工作站和电感耦合等离子体原子发射光谱, 对涂层的亲水性、表面粗糙度、耐腐蚀性能和抗菌离子释放情况进行表征。利用细菌和涂层共培养实验来评价涂层的抗菌效果。**结果** 抗菌金属元素掺杂没有改变 TiO<sub>2</sub> 涂层的主要相结构, 涂层主要由金红石相组成。涂层具有微米级的表面粗糙度, 表面由粒径小于 50 nm 的粒子组成。掺杂使 TiO<sub>2</sub> 涂层的亲水性略有降低。Cu 掺杂的涂层的耐腐蚀性能大幅提升, 抗菌金属离子在各涂层中都可以释放, 且 Cu 掺杂涂层中的释放量最高。与细菌共培养 24 h 之后, TiO<sub>2</sub> 涂层没有显示出抗菌效果, 掺杂后涂层表现出优异的抗菌性能。在有水存在的条件下进行紫外光预辐照, 可以显著提高 TiO<sub>2</sub> 涂层的抗菌性能, 且掺杂后的涂层在经过预辐照后抗菌性能的提升大于 TiO<sub>2</sub> 涂层。**结论** 抗菌金属元素掺杂不改变涂层结构, 同时大幅提高了等离子喷涂 TiO<sub>2</sub> 涂层在黑暗条件下的抗菌性能, 紫外预辐照处理能够使没有抗菌性能的 TiO<sub>2</sub> 涂层具备抗菌效果, 也能进一步提升掺杂涂层的抗菌效果。

**关键词:** 等离子喷涂; 氧化钛; 掺杂; 纳米结构; 抗菌性能; 预辐照

**中图分类号:** TG174.442 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3660(2018)09-0065-09

**DOI:** 10.16490/j.cnki.issn.1001-3660.2018.09.009

## Influence of Antibacterial Elements on the Structure and Properties of Nanostructured TiO<sub>2</sub> Coatings

LU Huai-feng<sup>1,2</sup>, LU Jian<sup>1</sup>, SONG Xiao-xia<sup>2</sup>, LYU Chen<sup>1</sup>, YE Dan-dan<sup>1</sup>, ZHAO Xiao-bing<sup>1</sup>, WANG Guo-cheng<sup>2</sup>

(1. School of Materials Science and Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, China;

2. Research Center for Human Tissues & Organs Degeneration, Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Science, Shenzhen 518055, China)

**ABSTRACT:** Nanosized TiO<sub>2</sub> has been widely used as antibacterial materials because of its strong oxidation activity ascribed to

收稿日期: 2018-01-29; 修订日期: 2018-06-14

**Received:** 2018-01-29; **Revised:** 2018-06-14

**基金项目:** 常州大学材料科学与工程学院研究生科研与实践创新计划项目 (CL17KY-003); 深圳市科技计划基础研究项目 (JSGG20151030140325149, JCYJ20150630114942256, JCYJ20160531171344016, JCYJ20170413161800287); 深圳孔雀创新计划项目 (110811003586331)

**Fund:** Postgraduate Research & Practice Innovation Program of School of Materials Science and Engineering Changzhou University (CL17KY-003); Shenzhen Science and Technology Research Fundings (JSGG20151030140325149, JCYJ20150630114942256, JCYJ20160531171344016 and JCYJ20170413161800287), the Shenzhen Peacock Innovation Team (110811003586331)

**作者简介:** 路怀峰 (1993—), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为表面工程。

**Biography:** LU Huai-feng (1991—), Male, Master, Research focus: surface engineering.

**通讯作者:** 赵晓兵 (1975—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为生物材料、表面工程。

**Corresponding author:** ZHAO Xiao-bing (1975—), Male, Doctor, Professor, Research focus: biomaterials, surface engineering.

nanometer size effects. However,  $\text{TiO}_2$  shows no antibacterial properties in dark condition, so antibacterial elements (Cu, Zn and Ag) are doped to overcome this disadvantage.  $\text{TiO}_2$  coatings mixed with Cu, Zn and Ag were produced by atmospheric plasma spraying (APS) technique. The phase composition and microstructure of the coatings were characterized by X-ray diffraction (XRD), Raman and field emission scanning electron microscopy (FE-SEM). The contact angle meter, three-position profile meter, electrochemical workstation and inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy were adopted to analyze the hydrophilicity, surface roughness, corrosion resistance and antibacterial ion release of the coating. The antibacterial effects of coating were evaluated by the co-culture test of bacteria and coating. Doped antibacterial metal elements did not change the phase structure of the  $\text{TiO}_2$  coating and the coating was mainly composed of rutile. The coating had the surface roughness of micron order and the surface was composed of nano particles with diameter below 50 nm. The doped elements lowered the hydrophilicity of  $\text{TiO}_2$  coating. The corrosion resistance of coating mixed with Cu increased dramatically and the antibacterial metal ions could be released in various coatings and the release amount of Cu was the largest.  $\text{TiO}_2$  coating did not show antibacterial effects after being cultured with bacteria for 24 h, while the coating doped with antibacterial elements showed excellent antibacterial properties. Pre-photo irradiation by UV light could significantly improve the antibacterial function of the nanostructured  $\text{TiO}_2$  coating in the presence of  $\text{H}_2\text{O}$ . The antibacterial metal elements do not change, but improves the antibacterial properties of plasma sprayed  $\text{TiO}_2$  coating significantly in dark conditions. Pre-photo irradiation by UV light can provide the non-antibacterial  $\text{TiO}_2$  coating with antibacterial properties, and can also further enhance the antibacterial properties of doped coatings.

**KEY WORDS:** plasma spraying; titanium oxide; doping; nanostructure; antibacterial properties; pre-photo irradiation

随着社会的发展,抗菌装置在各个领域的需求越来越高。传统的抗菌剂可以分为三类:有机抗菌剂、无机抗菌剂和天然生物抗菌剂。有机抗菌剂具有良好的抗菌效果,但是其耐候性差,大多用于一次性消毒,成本较高<sup>[1-2]</sup>。天然生物抗菌剂毒性低,对环境污染较小,但是会受到生物安全性和加工条件的制约,难以广泛使用<sup>[3-4]</sup>。无机抗菌剂具有广泛的抗菌活性、低毒性和高耐候性,适合日常生活中的抗菌消毒,已经被广泛使用<sup>[5-7]</sup>。纳米材料的问世为高效抗菌材料的发展提供了新的可能。目前,纳米抗菌材料主要有两种:具有光催化性能的材料和抗菌元素掺杂的材料<sup>[8-9]</sup>。以半导体氧化钛为代表的光催化纳米抗菌材料在受到光照之后,价带中的电子会被光激发并进入空的导带中,从而形成电子-空穴对(e-h)<sup>[10]</sup>。而电子-空穴对会在有水的条件下通过氧化还原反应形成活性氧物质(ROS),从而诱导细菌细胞膜的氧化损伤<sup>[11-13]</sup>,导致细菌死亡,达到灭菌的效果。广泛使用的抗菌金属元素包括 Ag、Cu 和 Zn 等<sup>[14-16]</sup>。有研究表明这些金属离子可以与细菌细胞壁中的肽聚糖相互作用,并限制它们将氧运输到细菌细胞内的能力,从而导致细菌死亡<sup>[17]</sup>。还有研究表明金属离子会与细菌蛋白质中的巯基相互作用,使酶功能失活,从而令细菌死亡<sup>[18-19]</sup>。

纳米氧化钛( $\text{TiO}_2$ )无毒、成本较低且具有光催化活性,已经在自清洁材料方面得到广泛应用<sup>[20]</sup>,有研究证明了其在紫外光照射下具有光催化抗菌性能<sup>[21]</sup>。由于  $\text{TiO}_2$  的带隙较宽,在可见光下表现出较低的光催化活性和抗菌能力,这限制了它的应用。通过掺杂 Fe、Zn、Cu、Ni 和 V 等离子可以降低  $\text{TiO}_2$

的带隙,提高光催化活性,使其在可见光下也具有抗菌性能<sup>[22-23]</sup>。但是在某些情况下,材料无法得到光照来进行光催化反应,所以实现不了抗菌功能。因此,在黑暗条件下使  $\text{TiO}_2$  也具备抗菌效果变得尤其重要。在  $\text{TiO}_2$  中掺入无机抗菌元素(Cu、Zn 和 Ag),并赋予其释放抗菌离子的能力,可使其在无光照情况下具有抗菌性能。由于  $\text{TiO}_2$  的光催化性能,紫外光预辐照可以显著改变其表面化学性质,带来一些其他功能。例如,Zhao<sup>[24]</sup>利用紫外光对等离子喷涂的  $\text{TiO}_2$  涂层进行预辐照后,发现涂层的生物活性得到提高。到目前为止,对预辐照影响等离子喷涂  $\text{TiO}_2$  涂层的研究仍鲜见。

纳米涂层具有优异的物化和力学性能,已经得到广泛的研究和应用。制备纳米涂层的方法主要有溶胶-凝胶<sup>[25]</sup>、化学气相沉积(CVD)<sup>[26]</sup>、物理气相沉积(PVD)<sup>[27]</sup>和等离子喷涂等。等离子喷涂技术是一种高效且经济的技术,可喷涂材料和基底范围广<sup>[28]</sup>。在喷涂过程中,粉末在等离子焰流中熔融或半熔融,然后被喷射到基底表面<sup>[29]</sup>,由于其超高的温度和冷却速率,在快速凝固过程中晶体成核和生长受到抑制,可在涂层表面形成纳米结构<sup>[30-31]</sup>。基于这个特点,本课题组前期工作中成功制备了具有纳米结构的  $\text{ZrO}_2$  涂层<sup>[32]</sup>、 $\text{TiO}_2\text{-Nb}_2\text{O}_5$  涂层<sup>[33]</sup>和  $\text{Ca}_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$  涂层<sup>[34]</sup>。

本文利用等离子喷涂技术制备了相同质量百分比的 Cu、Zn 和 Ag 掺杂的纳米  $\text{TiO}_2$  涂层。比较了 Cu、Zn 和 Ag 在  $\text{TiO}_2$  涂层中的离子释放行为和微观结构的变化。利用革兰氏阴性菌金黄色葡萄球菌(ATCC6538)和革兰氏阳性菌大肠杆菌(ATCC25922)考察了涂层的抗菌效果。此外,本文亦研究了紫外线

预辐照对 TiO<sub>2</sub> 涂层抗菌效果的影响。

## 1 实验

### 1.1 原料

选用纳米 TiO<sub>2</sub> 粉 (P25, Degussa, Germany)、CuO 粉 (上海龙昕化工科技有限公司)、ZnO 粉 (江苏永华化学科技有限公司) 和 Ag<sub>2</sub>O 粉 (Aladdin, 上海) 作为喷涂原料。TiO<sub>2</sub> 粉和 CuO 粉、ZnO 粉和 Ag<sub>2</sub>O 粉分别按照质量比 8:2 称量, 将 50 g 混合粉放入行星式球磨机的球磨罐中, 按照 1:1.5 的料球比加入磨球, 然后加入 5% 的聚乙烯醇 (PVA) 溶液约 20 mL 和适量蒸馏水, 搅拌均匀, 最后将球磨罐置于行星式球磨机中以 380 r/min 转速球磨 2 h。球磨结束后置于 80 °C 烘箱 12 h 烘干, 然后研磨、过 200 目筛, 筛下料作为喷涂喂料。

### 1.2 涂层制备

利用大气等离子喷涂设备 (9M, SulzerMetco, USA) 在钛合金 (Ti6Al4V,  $\phi 15\text{ mm} \times 1\text{ mm}$ ) 表面制备涂层。喷涂前, 基体在无水乙醇中超声清洗, 而后用棕刚玉对表面进行喷砂粗化处理, 然后在无水乙醇和去离子水中超声清洗。喷涂参数为: 喷涂功率 40 kW, 氩气流量 40 L/min, 氢气流量 12 L/min, 喷涂距离 100 mm, 送粉率 30 g/min。

### 1.3 涂层表征

通过 X 射线衍射仪 (XRD, D/max 2500PC, Rigaku, Japan) 和拉曼光谱仪 (Thermo Science and Technology Company) 对复合涂层的相结构进行分析。利用场发射扫描电镜 (FE-SEM, S-3400, Japan) 观察涂层表面形貌。采用接触角测量仪 (SL200B, Solon Information Technology Co., Ltd, China) 考察涂层表面湿润性。利用光学三维轮廓仪 (Contour GT, Bruker Co., Ltd, USA) 测量涂层表面粗糙度。

### 1.4 涂层离子释放表征

为了评估涂层的离子释放情况, 将涂层浸泡于 20 mL Tris-HCl 缓冲溶液 (pH=7.4) 中, 在 1、7、14 d 时更换浸泡液。针对收集的浸泡液, 利用电感耦合等离子体原子发射光谱 (ICP-OES) 测量 Cu、Zn、Ag 及 Ti 离子浓度。

### 1.5 耐腐蚀性能测试

利用 Autolab 电化学工作站 (PGSTAT 302N, METROHM, Swiss) 测试涂层在模体体液 (SBF) 中的动电位扫描极化曲线, 研究涂层的耐腐蚀性能。实验采用三电极体系, 样品为工作电极, Ag/AgCl 电极为参比电极。Pt 为辅助电极, 在室温环境下测量极化

曲线, 扫描速率为 5 mV/s。

### 1.6 抗菌性能检测

使用金黄色葡萄杆菌 (*S. aureus*, ATCC6538) 和大肠杆菌 (*E. coli*, ATCC25922) 评估涂层的抗菌性能。将两种细菌用细菌接种环在琼脂平板上划线培养, 取 3 代生长良好的细菌待用。用接种环刮取适量细菌于磷酸盐缓冲液 (PBS) 中充分振荡, 后取 100  $\mu\text{L}$  该溶液于酶标仪, 在 600 nm 波长下检测吸光度, 吸光度为 0.1 时, 细菌液浓度为  $10^8\text{ CFU/mL}$ , 然后根据所需浓度逐级稀释。所有涂层在接种细菌前, 置于 121 °C 高压灭菌锅中灭菌 20 min, 以完全去除表面细菌。利用菌落计数法来测定涂层的抗菌性能, 细菌计数按照 GB/T 4789.2 来进行<sup>[35]</sup>。具体方法如下: 将灭菌后的样品置于 24 孔板中, 每孔加入 1 mL  $10^5\text{ CFU/mL}$  的细菌悬浮液, 然后将 24 孔板置于 37 °C 培养箱中恒温孵育 24 h, 之后将涂层与细菌悬浮液转移到离心管中, 剧烈振荡 30 s, 取 100  $\mu\text{L}$  悬液用细菌涂布棒均匀涂在琼脂平板上, 再置于培养箱中孵育 24 h, 最后将琼脂平板在菌落计数仪中拍照计数。

为了检测紫外预辐照对涂层抗菌性能的影响, 使用 8 W 紫外灯 (波长 365 nm, 功率密度  $(2.8 \pm 0.3)\text{ mW/cm}^2$ ) 对涂层进行紫外照射 60 min, 其中部分样品浸泡于 1 mL 去离子水中。为了排除涂层中释放的抗菌离子对实验结果的影响, 在细菌接种前用无菌水对一组浸泡于水中经过紫外辐照的样品进行冲洗, 在干燥条件下和浸泡于 1 mL 水中但是没有经过紫外辐照的样品作为对照组。各组分别表示为: -UV (不紫外辐照), -UV+H (1 mL 水浸泡+不紫外辐照), +UV (紫外辐照), +UV+H (1 mL 水浸泡+紫外辐照), +UV+H+R (1 mL 水浸泡+紫外辐照+冲洗)。使用 Alamar Blue (DAL1100, Invitrogen) 来检测细菌活力。具体如下: 将灭菌后的样品置于 24 孔板中, 每孔加入 500  $\mu\text{L}$  细菌悬液 ( $10^7\text{ CFU/mL}$ ), 37 °C 培养 24 h 后, 每孔加入 400  $\mu\text{L}$  营养大豆肉汤和 100  $\mu\text{L}$  Alamar Blue 混合液 (Alamar Blue 占液体总体积 10%), 在黑暗条件下置于 37 °C 继续培养 3.5 h, 然后利用酶标仪在 570 nm 和 600 nm 波长下测量混合液的光密度以确定 Alamar Blue 的还原率, 根据使用说明书所提供的计算公式计算细菌存活率百分比<sup>[36]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 表面形貌及粗糙度

图 1 是涂层表面 SEM 照片, 所有涂层都显示出典型的等离子喷涂形貌。在高倍图下, 涂层表面均由直径小于 50 nm 的颗粒组成。涂层表面纳米结构的形成可归因于在等离子喷涂的快速固化过程中熔融颗粒的再结晶。在等离子喷涂过程中, 在高温和超快速

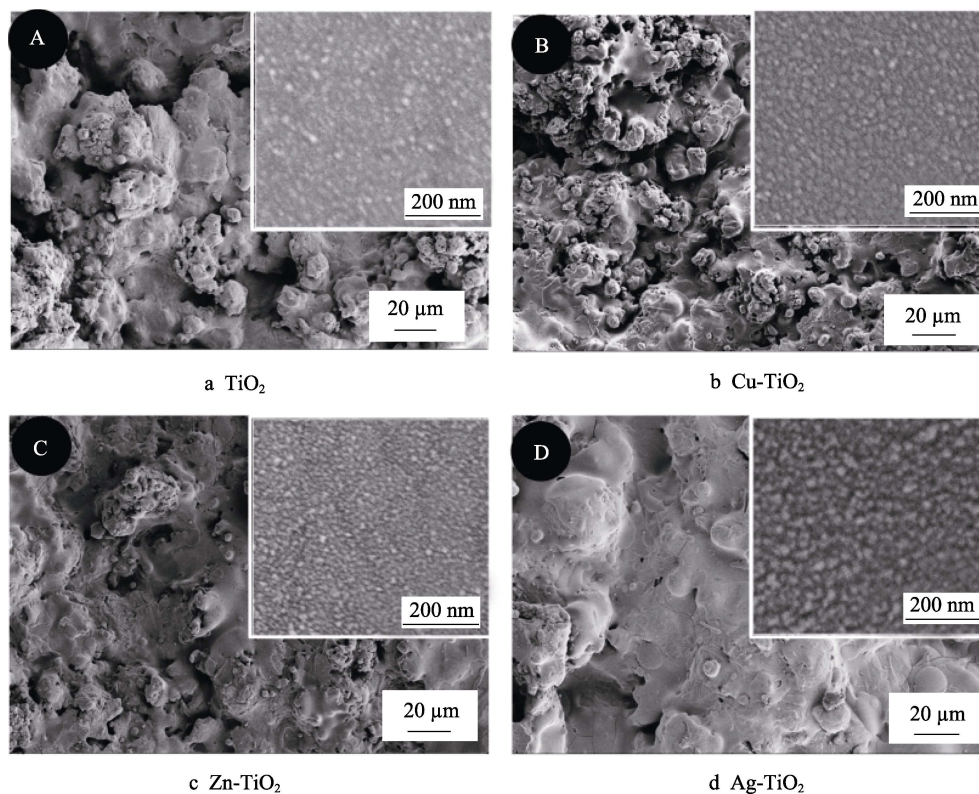


图1 涂层表面 SEM 图  
Fig.1 Surface morphologies of the coatings

冷却的独特热条件下,再结晶过程中晶粒生长受到强烈抑制,导致表面纳米晶粒的形成和(或)保留<sup>[37]</sup>。图2是涂层表面粗糙度,可见所制备的涂层均具有微米级的表面粗糙度,其粗糙度( $R_a$ )值在4.630~5.505  $\mu\text{m}$ 之间。

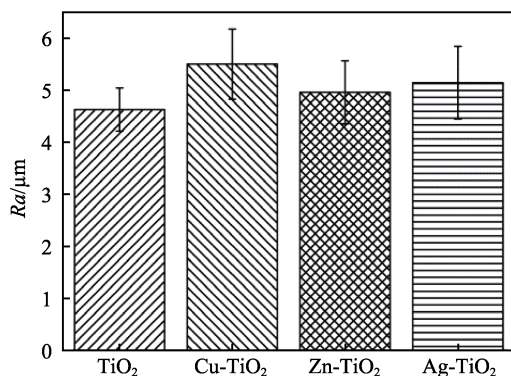


图2 涂层表面粗糙度  
Fig.2 Surface roughness of the coatings

## 2.2 表面润湿性

图3为涂层的接触角,可知所有涂层都表现出亲水性。TiO<sub>2</sub>涂层与掺杂涂层相比,接触角更低,说明掺杂会降低TiO<sub>2</sub>涂层的亲水性。这可能是由于掺杂元素减少了外界与TiO<sub>2</sub>的接触,同时遮盖了TiO<sub>2</sub>的活动中心,从而使电子-空穴的复合几率增加,导致接触角增大。

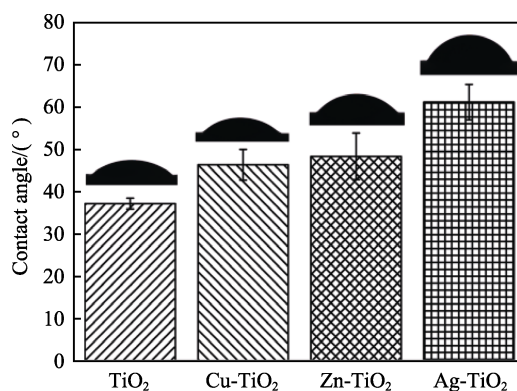


图3 涂层的接触角  
Fig.3 Water contact angles of the coatings

## 2.3 涂层物相组成

图4是涂层的XRD图谱,可知所有涂层中的主晶相都是金红石相(JCPDS no. 21-1276)。与纯TiO<sub>2</sub>涂层相比,掺杂涂层的XRD峰稍向左偏移,这是由于金属离子插入TiO<sub>2</sub>晶格中所致。在Cu掺杂TiO<sub>2</sub>涂层中,没有观察到掺杂氧化物;在Zn掺杂TiO<sub>2</sub>涂层中,发现了少量的Zn<sub>2</sub>TiO<sub>4</sub>峰(JCPDS no. 21-1164);在Ag掺杂TiO<sub>2</sub>涂层中,在32.6°和33.2°处也有少量的Ag<sub>2</sub>O<sub>3</sub>峰(JCPDS no. 40-0909)存在。与其他涂层相比,Ag掺杂TiO<sub>2</sub>涂层中的锐钛矿相(JCPDS no. 21-1272)含量有所增多,表明Ag掺杂使得涂层中锐钛矿相的转变得抑制。有研究表明,相比于锐钛矿



或者金红石单一相存在的 TiO<sub>2</sub>, 锐钛矿相和金红石相共存的 TiO<sub>2</sub> 在紫外光下表现出更好的光催化活性<sup>[38]</sup>。

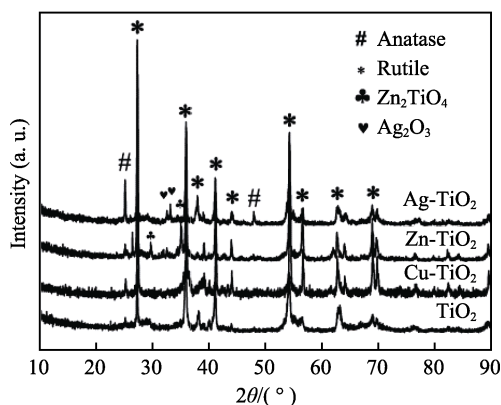


图 4 涂层的 XRD 图谱  
Fig.4 XRD patterns of the coatings

图 5 是涂层的拉曼光谱图。由图 5 可见, 涂层表面主要由金红石和锐钛矿相构成。经过 Ag 掺杂后, 锐钛矿相大幅增加, 这与 XRD 结果相一致。XRD 和拉曼结果表明, Cu 在 TiO<sub>2</sub> 中的固溶极限最高, Ag 掺杂对涂层中锐钛矿的含量影响较大。

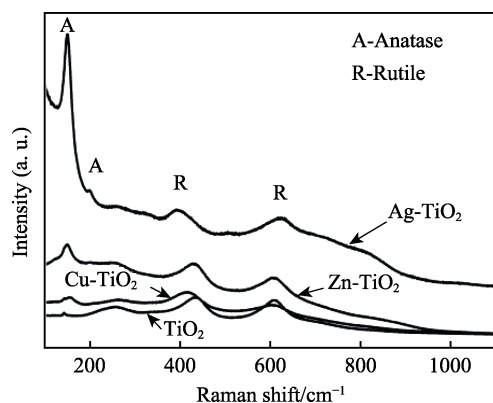


图 5 涂层的拉曼光谱图  
Fig.5 Raman spectra of the coatings

## 2.4 耐腐蚀性能

图 6 是涂层在 SBF 溶液中的动电位极化曲线。TiO<sub>2</sub>、Cu-TiO<sub>2</sub>、Zn-TiO<sub>2</sub> 和 Ag-TiO<sub>2</sub> 涂层的腐蚀电位 ( $E_{\text{corr}}$ ) 分别为 -605.8、-294.5、-674.0、-645.0 mV。Zn 和 Ag 掺杂的涂层的耐腐蚀性能与 TiO<sub>2</sub> 涂层差别不大, 但是 Cu 掺杂的涂层的耐腐蚀性能得到大幅提高。根据 XRD 和拉曼结果可知, 在 Zn-TiO<sub>2</sub> 和 Ag-TiO<sub>2</sub> 涂层中形成了 Zn<sub>2</sub>TiO<sub>4</sub> 和 Ag<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 而在 Cu-TiO<sub>2</sub> 涂层中, 所有的 Cu 都插入 TiO<sub>2</sub> 晶格中, 这可能是耐腐蚀性能有差异的原因所在。

## 2.5 抗菌离子释放

为了比较三种金属离子的杀菌效果, 研究了涂层中 Cu、Zn 和 Ag 离子的释放情况, 结果如图 7 所示。

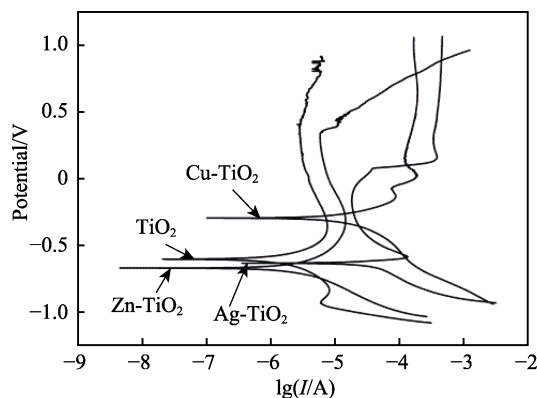


图 6 涂层的动电位极化曲线  
Fig.6 Potentiodynamic polarization curves of the coatings

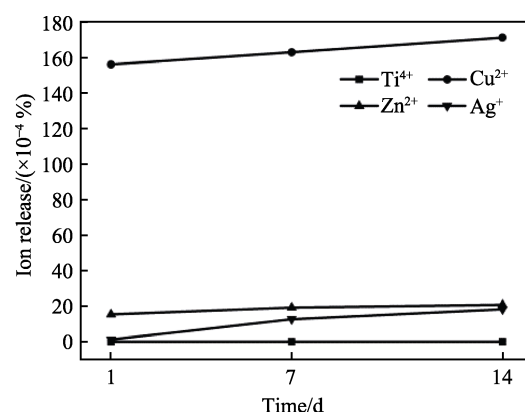


图 7 涂层在缓冲溶液中浸泡不同时间后的离子释放情况  
Fig.7 Ion concentrations of buffer solution with immersion for 1, 7 and 14 days of the as-sprayed coatings

从图 7 可以看出, 掺杂的 TiO<sub>2</sub> 涂层中 Cu、Zn 和 Ag 离子都是可释放的, 且释放周期较长 (大于 14 d)。在第 1 d 时, Ag 离子的释放量可忽略不计, Zn 离子释放约为 0.0017%, 而 Cu 离子的释放量比 Zn 和 Ag 离子高出近 8 倍。在第 7 d 和 14 d 时, Zn 离子和 Ag 离子的释放量没有显著性差异。所有涂层中都没有检测到 Ti 离子的释放, 表明等离子喷涂 TiO<sub>2</sub> 涂层化学稳定。

## 2.6 涂层的抗菌性能

图 8 显示了涂层抗菌性能。从图 8 可以看出, Cu、Zn 和 Ag 掺杂明显提高了 TiO<sub>2</sub> 涂层的抗菌性能。在三种掺杂涂层中, Ag-TiO<sub>2</sub> 涂层表面的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌几乎完全被杀死, 表明在相同的掺杂量下, Ag 具有最好的抗菌效果。在三种掺杂涂层中, Zn 掺杂涂层的抗菌效果最差。同时, 掺杂涂层对金黄色葡萄球菌的抗菌效果要略好于大肠杆菌。由于 Cu 离子的释放量远远大于 Zn 和 Ag 离子, 因此可以得出结论: Cu 离子的抗菌效率可能低于 Zn 和 Ag 离子, 这与 Workentine 等人<sup>[39]</sup>的研究报道一致。为了进一步确定三种金属元素的抗菌效果, 将实验所用的细菌浓度从 10<sup>5</sup> CFU/mL 提高到 10<sup>7</sup> CFU/mL, 结果如图 9 所示。由图 9 可知, TiO<sub>2</sub> 涂层表面的细菌菌落完

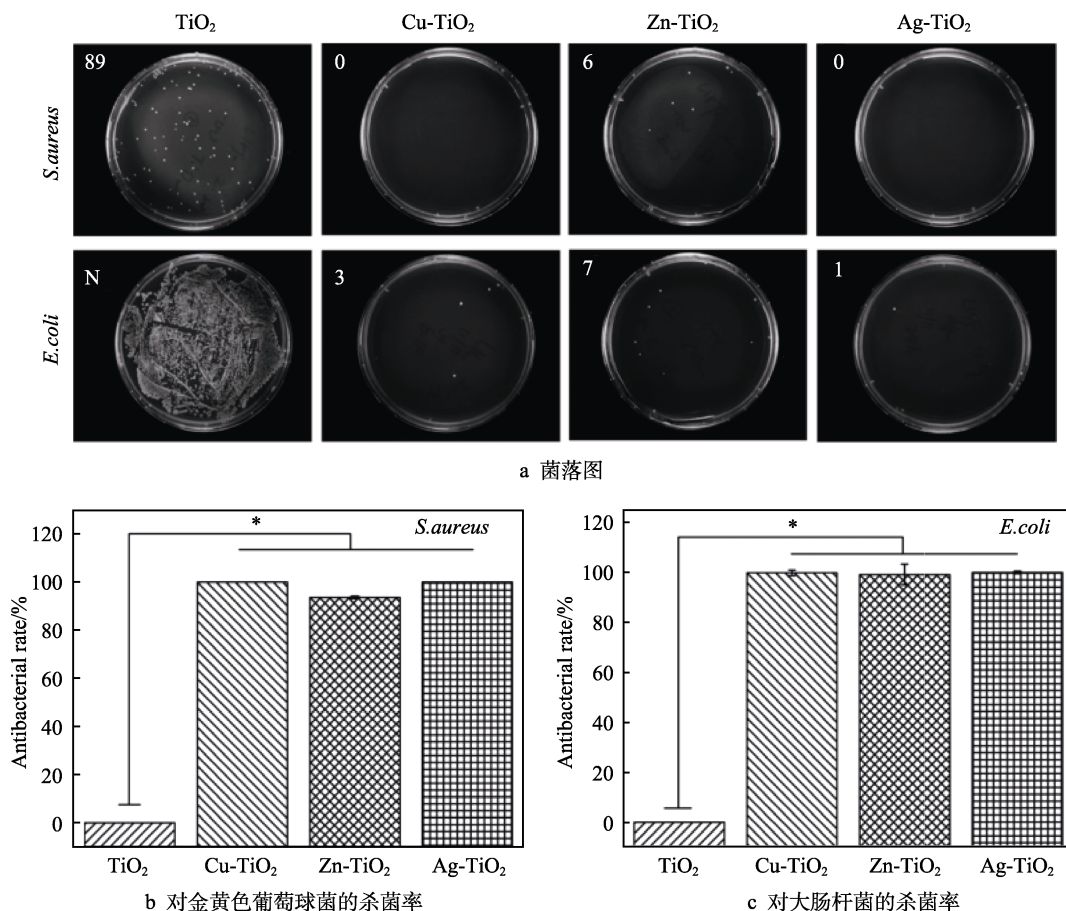
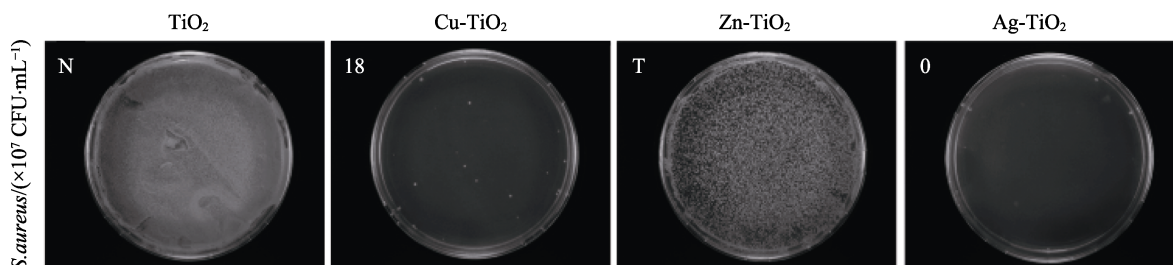
图8 涂层对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抗菌效果 (\* $p < 0.05$ )Fig.8 The colony forming unit (CFU) assay(a), antibacterial rates against *S. aureus* (b) and *E. coli* (c) (\* $p < 0.05$ )

图9 高细菌浓度下各涂层对金黄色葡萄球菌的抗菌结果

Fig.9 The colony forming unit (CFU) assay against *S. aureus* at high Bacterial concentration of  $10^7$  CFU/mL

全覆盖整个琼脂平板,数量太多而不可计数,而 Zn-TiO<sub>2</sub> 涂层上的细菌菌落数量是可计数的,约几千个。相比之下, Cu-TiO<sub>2</sub> 涂层上的菌落数量只有 18 个, Ag-TiO<sub>2</sub> 涂层上的菌落数为零。综上,本文三种金属离子掺杂的涂层的抗菌效率: Ag>Cu>>Zn。

## 2.7 紫外辐照对涂层抗菌性能的影响

为了验证光照对涂层抗菌效果的影响,本文选择了两组在接种细菌前进行紫外预辐照处理。图 10 显示了紫外预辐照对 Cu-TiO<sub>2</sub> 和 TiO<sub>2</sub> 涂层抗菌效率的影响。对于 TiO<sub>2</sub> 涂层,在没有水存在的条件下,紫外预辐照处理并没有显著提高其抗菌性能;然而在有水存在的条件下,紫外预辐照显著提升了 TiO<sub>2</sub> 涂层

的抗菌性能,表明 H<sub>2</sub>O 的存在与否对涂层在紫外光下抗菌性能的提升至关重要。Cu-TiO<sub>2</sub> 涂层也具有类似的现象。为了排除 Cu 离子溶出对结果的影响,利用无菌水对紫外辐照后的涂层进行冲洗,然后接种细菌。实验结果表明,冲洗后抗菌性能并没有降低,这说明抗菌性能的提高是由离子溶出以外的因素所致。同时发现,仅仅在 H<sub>2</sub>O 中浸泡 1 h 也会略微提升涂层的抗菌效果,但是没有显著性差异,这表明 H<sub>2</sub>O 与 TiO<sub>2</sub> 基涂层发生了反应,提高了抗菌效率,这种反应在紫外光的照射下得到加强。

目前大多数报道都集中在对光照条件下 TiO<sub>2</sub> 抗菌性能的研究上,无论是紫外光,还是可见光,与活性氧 (ROS) 相关的抗菌机制已经被广泛接受<sup>[40]</sup>。本

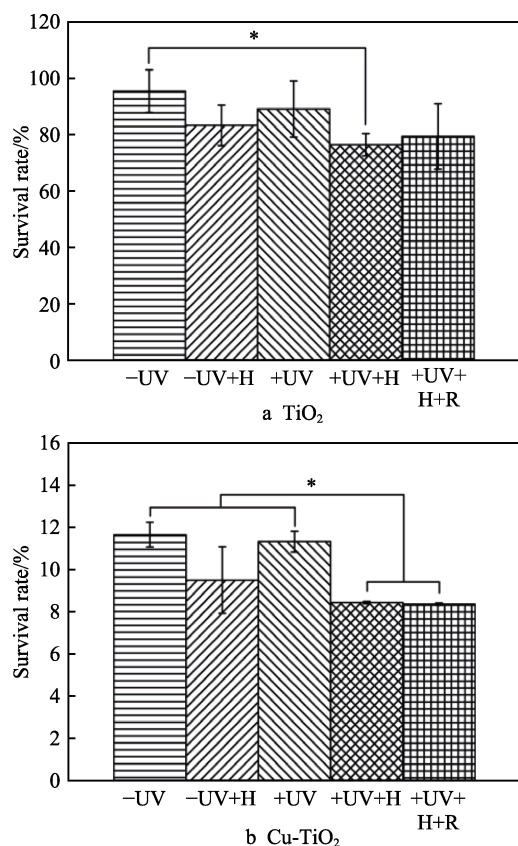


图 10 紫外预辐照对 TiO<sub>2</sub> 和 Cu-TiO<sub>2</sub> 涂层抗菌性能的影响  
Fig.10 The effects of UV pre-irradiation on the antibacterial efficiency of the TiO<sub>2</sub> and Cu-TiO<sub>2</sub> coatings (\* $p < 0.05$ )

文工作中,在进行抗菌性能评估前,对涂层进行了紫外光的预辐照处理,结果证明紫外辐照可以提高涂层的抗菌效率,但只有在有水存在的条件下。H<sub>2</sub>O 在其中所起的作用如下:首先,它可以与光催化产生的电子-空穴对相互作用并产生 ROS,但是 ROS 的存在并不一定是实验中抗菌性能提高的主要原因,因为其寿命很短<sup>[41]</sup>;其次, TiO<sub>2</sub> 在紫外光照射下可以解离水,从而使其表面羟基化<sup>[42]</sup>,表面—OH 基团的富集会使其表面更加亲水,同时产生更多的负电荷<sup>[43]</sup>,导致带负电的细菌细胞膜与材料表面相互排斥,从而抑制表面细菌的粘附<sup>[44]</sup>。同时发现,在水中紫外辐照之后, Cu 掺杂的涂层抗菌率的提升要大于纯 TiO<sub>2</sub> 涂层,这是因为 Cu 掺杂降低了 TiO<sub>2</sub> 的带隙<sup>[45]</sup>,促进了电子-空穴对的产生。此外, Cu 掺杂也会在金属-光催化剂界面处形成肖特基势垒来防止电子-空穴对的复合<sup>[46]</sup>,这也可能是预辐照提高 Cu 掺杂 TiO<sub>2</sub> 涂层光催化效率的原因之一。

### 3 结论

1) 利用大气等离子喷涂技术制备了 Cu、Zn 和 Ag 掺杂的纳米 TiO<sub>2</sub> 涂层, Cu、Zn 和 Ag 的掺杂不改变 TiO<sub>2</sub> 涂层的主要晶相结构,所有涂层表面都表现出微米级的粗糙度,并在表面观察到直径小于 50 nm

的纳米颗粒。

2) 与 TiO<sub>2</sub> 涂层相比, Cu、Zn 和 Ag 掺杂的涂层对革兰氏阴性大肠杆菌和革兰氏阳性金黄色葡萄球菌均表现出优异的抗菌性能,这归因于抗菌离子的释放。离子释放检测结果表明, Cu 在 TiO<sub>2</sub> 中的释放速率最高,是 Zn 和 Ag 的 8 倍左右,然而掺 Cu 涂层并没有表现出最优的抗菌性能,表面 Cu 的抗菌效率小于 Ag。

3) 由于 TiO<sub>2</sub> 的羟基化,在水存在的条件下对涂层进行紫外预辐照处理,显著改善了涂层在黑暗条件下的抗菌性能。在相同预辐照条件下, Cu-TiO<sub>2</sub> 涂层的抗菌性能的提升比 TiO<sub>2</sub> 涂层的大。

### 参考文献:

- [1] BARBOUR M E, O'SULLIVAN D J, JAGGER D C. Chlorhexidine adsorption to anatase and rutile titanium dioxide[J]. Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects, 2007, 307(1-3): 116-120.
- [2] KIM W H, LEE S B, OH K T, et al. The release behavior of CHX from polymer-coated titanium surfaces[J]. Surface and interface analysis, 2008, 40(3-4): 202-204.
- [3] ALT V, BITSCHNAU A, ÖSTERLING J, et al. The effects of combined gentamicin-hydroxyapatite coating for cementless joint prostheses on the reduction of infection rates in a rabbit infection prophylaxis model[J]. Biomaterials, 2006, 27(26): 4627-4634.
- [4] BERNTHAL N M, STAVRAKIS A I, BILLI F, et al. A mouse model of post-arthroplasty staphylococcus aureus joint infection to evaluate in-vivo the efficacy of antimicrobial implant coatings[J]. PLoS one, 2010, 5(9): 1-11.
- [5] LEE D, COHEN R E, RUBNER M F. Antibacterial properties of Ag nanoparticle loaded multilayers and formation of magnetically directed antibacterial microparticles [J]. Langmuir, 2005, 21(21): 9651-9659.
- [6] PETRINI P, ARCIOLA C R, PEZZALI I, et al. Antibacterial activity of zinc modified titanium oxide surface[J]. The International journal of artificial organs, 2006, 29(4): 434-442.
- [7] YOSHINARI M, ODA Y, KATO T. Influence of surface modifications to titanium on antibacterial activity in vitro[J]. Biomaterials, 2001, 22(14): 2043-2048.
- [8] UHM S H, LEE S B, SONG D H, et al. Fabrication of bioactive, antibacterial TiO<sub>2</sub> nanotube surfaces, coated with magnetron sputtered Ag nanostructures for dental applications[J]. Journal of nanoscience and nanotechnology, 2014, 14(10): 7847-7854.
- [9] ZHU C, WANG L, KONG L, et al. Photocatalytic degradation of AZO dyes by supported TiO<sub>2</sub> +UV in aqueous solution[J]. Chemosphere, 2000, 41(3): 303-309.
- [10] DOSTA S, ROBOTTI M, GARCIA-SEGURA S, et al. Influence of atmospheric plasma spraying on the solar photoelectro-catalytic properties of TiO<sub>2</sub> coatings[J]. Ap-



- plied catalysis B: Environmental, 2016, 189: 151-159.
- [11] YU J C, HO W, LIN J, et al. Photocatalytic activity, antibacterial effect, and photoinduced hydrophilicity of TiO<sub>2</sub> films coated on a stainless steel substrate[J]. Environmental science and technology, 2003, 37(10): 2296-2301.
- [12] MANESS P, SMOLINSKI S, BLAKE D M, et al. Bactericidal activity of photocatalytic TiO<sub>2</sub> reaction: Toward an understanding of its killing mechanism[J]. Applied and environmental microbiology, 1999, 65(9): 4094-4098.
- [13] ARMELAO L, BARRECA D, BOTTARO G, et al. Photocatalytic and antibacterial activity of TiO<sub>2</sub> and Au/TiO<sub>2</sub> nanosystems[J]. Nanotechnology, 2007, 18(37): 375709.
- [14] WANG G, JIN W, QASIM A M, et al. Antibacterial effects of titanium embedded with silver nanoparticles based on electron-transfer-induced reactive oxygen species[J]. Biomaterials, 2017, 124: 25-34.
- [15] YIN Y S, YANG C G. Antibacterial mechanisms and applications of Cu-bearing antibacterial stainless steel[J]. China medical engineering, 2013, 21(10): 187-188.
- [16] HU H, ZHANG W, QIAO Y, et al. Antibacterial activity and increased bone marrow stem cell functions of Zn-incorporated TiO<sub>2</sub> coatings on titanium[J]. Acta biomaterialia, 2012, 8(2): 904-915.
- [17] SUKHORUKOVA I V, SHEVEYKO A N, SHVINDINA N V. Approaches for controlled Ag<sup>+</sup> ion release: Influence of surface topography, roughness, and bactericide content[J]. ACS applied materials and interfaces, 2017, 9(4): 4259-4271.
- [18] RUSSELL A D, HUGO W B. Antimicrobial activity and action of silver[J]. Progress in medicinal chemistry, 1994, 31(C): 351-370.
- [19] HOLT K B, BARD A J. Interaction of silver(I) ions with the respiratory chain of escherichia coli: An electrochemical and scanning electrochemical microscopy study of the antimicrobial mechanism of micromolar Ag[J]. Biochemistry, 2005, 44(39): 13214-13223.
- [20] YADAV H M, KIM J S, PAWAR S H. Developments in photocatalytic antibacterial activity of nano TiO<sub>2</sub>: A review[J]. Korean journal of chemical engineering, 2016, 33(7): 1989-1998.
- [21] DE AVILA E D, LIMA B P, SEKIYA T, et al. Effect of UV-photofunctionalization on oral bacterial attachment and biofilm formation to titanium implant material[J]. Biomaterials, 2015, 67: 84-92.
- [22] YOONG L S, CHONG F K, DUTTA B K. Development of copper-doped TiO<sub>2</sub> photocatalyst for hydrogen production under visible light[J]. Energy, 2009, 34(10): 1652-1661.
- [23] GUPTA K, SINGH R P, PANDEY A. Photocatalytic antibacterial performance of TiO<sub>2</sub> and Ag-doped TiO<sub>2</sub> against *S. Aureus*, *P. Aeruginosa* and *E. Coli*[J]. Beilstein journal of nanotechnology, 2013, 4(1): 345-351.
- [24] ZHAO X B, LIU X Y, YOU J, et al. Bioactivity of plasma sprayed titania coating by ultraviolet radiation induction[J]. J Chin ceram soc, 2009, 37(5): 798-803.
- [25] BEN-NISSAN B, MILEV A, VAGO R. Morphology of sol-gel derived nano-coated coralline hydroxyapatite[J]. Biomaterials, 2004, 25(20): 4971-4975.
- [26] FEI F, QIANG C, ZHONG W L, et al. The application of nano-sio<sub>2</sub> coatings as migration resistance layer by plasma enhanced chemical vapor deposition[J]. Plasma chemistry and plasma processing, 2012, 32(4): 755-766.
- [27] FOX-RABINOVICH G S, YAMAMOTO K, AGUIRRE M H, et al. Multi-functional nano-multilayered AlTiN/Cu PVD coating for machining of Inconel 718 superalloy[J]. Surface and coatings technology, 2010, 204(15): 2465-2471.
- [28] FU T, XU K W. Titania-hydroxyatite composite coating prepared by plasma spray-hydrothermal treatment[J]. J Chin ceram soc, 2003, 1: 95-98.
- [29] VARDELLE A, MOREAU C, THEMELIS N J. A perspective on plasma spray technology[J]. Plasma chemistry and plasma processing, 2015, 35(3): 491-509.
- [30] LIMA R S, MARPLE B R. Thermal spray coatings engineered from nanostructured ceramic agglomerated powders for structural, thermal barrier and biomedical applications: A review[J]. Journal of thermal spray technology, 2007, 16(1): 40-63.
- [31] GELL M, JORDAN E H, SOHN Y H, et al. Development and implementation of plasma sprayed nanostructured ceramic coatings[J]. Surface and coatings technology, 2001, 146-147: 48-54.
- [32] WANG G, LIU X, ZREIQAT H, et al. Enhanced effects of nano-scale topography on the bioactivity and osteoblast behaviors of micron rough ZrO<sub>2</sub> coatings[J]. Colloids and surfaces B: Biointerfaces, 2011, 86(2): 267-274.
- [33] ZHAO X B, WANG G C, ZHENG H, et al. Refining nanotopographical features on bone implant surfaces by altering surface chemical compositions[J]. RSC adv, 2014, 4(97): 54226-54234.
- [34] ZHANG W J, WANG G C, LIU Y, et al. The synergistic effect of hierarchical micro/nano-topography and bioactive ions for enhanced osseointegration[J]. Biomaterials, 2013, 34(13): 3184-3195.
- [35] ZHAO X B, YANG J S, YOU J. Surface modification of TiO<sub>2</sub> coatings by Zn ion implantation for improving antibacterial activities[J]. Bulletin of materials science, 2016, 39(1): 285-291.
- [36] BLONDEAU M, BRAYNER R, GUYOT F, et al. Electronic supplementary material (ESI) for analytical methods[J]. The royal society of chemistry, 2014, 56: 2-4.
- [37] TRIFA F I, MONTAVON G, CODDET C, et al. Geometrical features of plasma-sprayed deposits and their characterization methods[J]. Materials characterization, 2005, 54(2): 157-175.
- [38] XIAO Q, SI Z, YU Z, et al. Sol-gel auto-combustion synthesis of samarium-doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles and their



- photocatalytic activity under visible light irradiation[J]. Materials Science and engineering B: Solid-state materials for advanced technology, 2007, 137(1-3): 189-194.
- [39] WORKENTINE M L, HARRISON J J, STENROOS P U, et al. *Pseudomonas fluorescens*' view of the periodic table [J]. Environmental microbiology, 2008, 10(1): 238-250.
- [40] ZHANG P, ZHANG Z, LI W. Antibacterial TiO<sub>2</sub> coating incorporating silver nanoparticles by microarc oxidation and ion implantation[J]. Journal of nanomaterials, 2013, 2013: 1-8.
- [41] SIMON H-U, HAJ-YEHIA A, LEVI-SCHAFFER F. Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction[J]. Apoptosis, 2000, 5(5): 415-418.
- [42] FAGAN R, MCCORMACK D E, DIONYSIOU D D, et al. Materials science in semiconductor processing a review of solar and visible light active TiO<sub>2</sub> photocatalysis for treating bacteria, cyanotoxins and contaminants of emerging concern[J]. Materials Science in semiconductor processing, 2016, 42: 2-14.
- [43] POORTINGA A T, BOS R, NORDE W, et al. Electric double layer interactions in bacterial adhesion to surfaces[J]. Surface science reports, 2002, 47(1): 1-32.
- [44] REZAEI F, ABBASI-FIROUZJAH M, SHOKRI B. Investigation of antibacterial and wettability behaviours of plasma-modified PMMA films for application in ophthalmology[J]. Journal of physics D: Applied physics, 2014, 47(8): 85401.
- [45] GONELL F, PUGA A V, JULIÁN-LÓPEZ B, et al. Copper-doped titania photocatalysts for simultaneous reduction of CO<sub>2</sub> and production of H<sub>2</sub> from aqueous sulfide[J]. Applied catalysis B: Environmental, 2016, 180: 263-270.
- [46] GAMAGE MCEVOY J, ZHANG Z. Antimicrobial and photocatalytic disinfection mechanisms in silver-modified photocatalysts under dark and light conditions[J]. Journal of photochemistry and photobiology C: Photochemistry reviews, 2014, 19(1): 62-75.