

2011-11-28

## Superhydrophilic/Superhydrophobic Surface Constructions on Titanium and Their Effects on Anti-bacterial Properties

Guo-Wei WANG

Qiao-Ling HUANG

Ren HU

Chang-Jian LIN

*State Key Laboratory of Physical Chemistry of Solid Surface, Department of Chemistry, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China, cjlin@xmu.edu.cn*

Hao WANG

Li-Hai ZHANG

Pei-Fu TANG

---

### Recommended Citation

Guo-Wei WANG, Qiao-Ling HUANG, Ren HU, Chang-Jian LIN, Hao WANG, Li-Hai ZHANG, Pei-Fu TANG. Superhydrophilic/Superhydrophobic Surface Constructions on Titanium and Their Effects on Anti-bacterial Properties[J]. *Journal of Electrochemistry*, 2011 , 17(4): Article 6.

DOI: 10.61558/2993-074X.2859

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol17/iss4/6>

This Article is brought to you for free and open access by Journal of Electrochemistry. It has been accepted for inclusion in Journal of Electrochemistry by an authorized editor of Journal of Electrochemistry.

# 钛表面超亲超疏性构筑及其对抗菌性影响

王国玮<sup>1</sup>, 黄巧玲<sup>1</sup>, 胡仁<sup>1</sup>, 林昌健<sup>1\*</sup>, 王浩<sup>2</sup>, 张立海<sup>2</sup>, 唐佩福<sup>2</sup>

(1. 厦门大学 固体表面物理化学国家重点实验室, 化学化工学院化学系, 福建 厦门 361005;

2. 中国人民解放军总医院, 北京 100853)

**摘要:** 生物材料植入人体后若受到细菌感染就可能引起植入手术失败, 因此植入材料的抗菌性研究具有重要的意义. 由于内植物感染的第一步是细菌在材料表面的贴附, 植入材料的表面性质对其抗菌性有决定性的影响. 本文应用电化学法在钛表面构筑一层超亲水或超疏水的表面膜层, 并由体外抗菌性试验研究材料表面的润湿性对细菌贴附的影响, 以期借助改变材料表面的润湿性达到抗菌作用. 结果表明, 相比超亲水表面, 超疏水表面上贴附的细菌数明显减少.

**关键词:** TiO<sub>2</sub>; 润湿性; 抗菌性

**中图分类号:** O646.6; TQ150.7

**文献标识码:** A

医用植入体的细菌感染可利用抗菌剂的作用, 消灭粘附在它表面和界面周围的细菌. 但这种杀菌处理是一种滞后的过程, 因为材料在抗菌剂作用之前往往已经受到细菌感染. 虽然细菌引发内植物感染的原因很多, 其最关键的原因源自细菌的贴附<sup>[1]</sup>. 如何使植入体在植入过程中避免或减少与细菌的接触, 尽可能从源头阻断细菌的粘附, 成为抗菌材料发展新的思路. 作者设想可否利用改变内植物的某些表面性能, 诸如表面润湿性、表面电荷等, 以便降低细菌的贴附量或贴附能力, 有效提高材料自身免疫力, 降低内植物感染发生的几率. 研究表明<sup>[2-6]</sup>, 表面浸润性, 即材料表面的亲、疏水性, 是影响细菌贴附的原因之一. 通常认为, 亲水表面(接触角 < 90°)会吸引细菌. 疏水表面(接触角 > 90°, < 150°)虽能降低某些细菌的贴附但同时也会增加一些细菌的粘附<sup>[7-9]</sup>. 本文应用自组装方法, 在 TiO<sub>2</sub> 表面修饰一层氟硅烷 (PTES) 单分子层, 再经过紫外光照使得 TiO<sub>2</sub> 引发光催化过程, 分别构筑具有超疏水和超亲水的表面, 并比较了超亲水、超疏水表面对大肠杆菌的作用, 考察表面润湿性对细菌贴附行为的影响, 探明超疏水表面如何阻断细菌在材料表面的贴附及其生长过程, 从而在源头上控制细菌引起

的感染.

## 1 实验

### 1.1 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列电化学阳极氧化制备

取医用钛(15 mm × 10 mm × 2 mm), 表面经水磨砂纸逐级打磨, 再分别在丙酮, 无水乙醇, 去离子水中超声清洗 10 min, 后用去离子水冲洗, 晾干待用. 两电极体系, 钛板为阳极, 铂片为阴极, 0.5% (by mass) 氢氟酸水溶液为电解液, 20 V 电压下阳极氧化 20 min. 取出样品后立即用大量去离子水冲洗, 空气中自然干燥, 即于钛基体表面形成一层 TiO<sub>2</sub> 的纳米管阵列.

### 1.2 超亲、超疏水表面制备

将 TiO<sub>2</sub> 纳米管膜层浸泡在 PTES 溶液中 1 h, 然后于 140 °C 下烘烤 1 h, 以去除多余的溶剂并加速表面的缩聚反应, 获得表面均匀的超疏水 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层. 另将修饰 PTES 的 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层经紫外光照射 20 min 后即可使该膜层形成超亲水表面.

### 1.3 体外抗菌性实验

将一定量的大肠杆菌(E. Coli)标准株, 加入到 Luria-Bertani (LB) 液体培养基中, 置于摇床上

振荡 24 h 之后将菌液稀释,制成浓度为  $1 \times 10^5$  cells · cm<sup>-2</sup> 的细菌液. 取出 3 mL 稀释的菌液放入 12 孔板的培养皿中与钛材料混合培养 6 h. 然后将钛板取出移入玻璃试管,用 3 mL 的 PBS 溶液清洗钛板,超声处理使细菌和钛材料脱离. 将玻璃试管中溶液倒入琼脂板上,37 °C 恒温培养箱培养 24 h 后,观察琼脂板表面的菌群数.

## 2 结果与讨论

### 2.1 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层的形貌和组分表征

图 1 是钛基底经过阳极氧化构造形成的 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层的正面和侧面 SEM 照片. 可看出,该膜层纳米管排列规整有序,其上端开口,下端与 Ti 基底相连,底部封闭. 管径 90 nm 左右,管长 400 nm 左右,管的上下尺寸基本一致. 该 TiO<sub>2</sub> 膜层底部是一层薄而致密的阻挡层,在它上面均匀垂直分布着纳米管阵列,其下与钛基体隔开,形成了纳米管阵列膜层/阻挡层/钛基体的 3 层结构.

图 2 是 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列的 EDS 谱图. 可看出,由电化学阳极氧化法制得的纳米管阵列出现了钛和氧的特征峰,但不显示氟的特征峰,说明制备过程中 TiO<sub>2</sub> 纳米管表面残余的氢氟酸已被冲洗干净. 图 3 是该 TiO<sub>2</sub> 纳米管薄膜的 XRD 图谱,图中出现了 7 个氧化钛的特征峰,各谱峰的归属见图中所示. 其中以 2θ 分别在 37.6° (002), 39.8° (101), 69.4° (103) 处的晶面峰最强. 应指出,此处的 TiO<sub>2</sub> 薄膜并未经过高温煅烧.

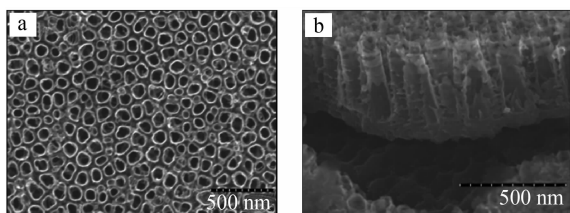


图 1 在 0.5% (by mass) 氢氟酸溶液中 20 V 电压下阳极氧化 20 min 制备 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列的 SEM 照片 a. 正面; b. 侧面

Fig. 1 SEM images showing typical top-view (a) and cross-sectional view (b) of the TiO<sub>2</sub> nanotube arrays prepared by electrochemical oxidation in 0.5% (by mass) HF solution under potential of 20 V for 20 min

### 2.2 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层的表面表征

使用光电子能谱(XPS)和水滴接触角试验分

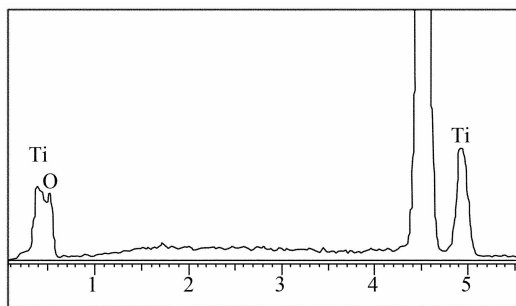


图 2 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列的 EDS 谱图

Fig. 2 EDS spectrum of the TiO<sub>2</sub> nanotubes array

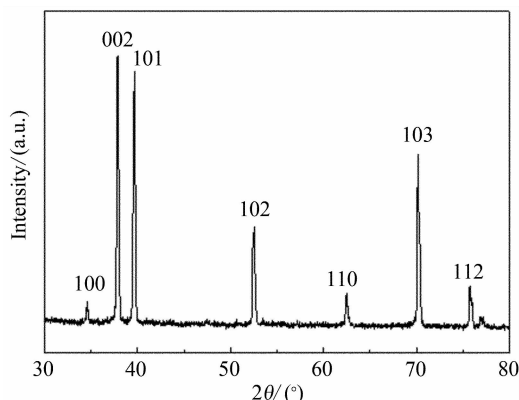


图 3 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列的 XRD 谱图

Fig. 3 XRD pattern of the TiO<sub>2</sub> nanotubes array

别表征 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层的表面组分和亲疏水性. 光电子能谱测量的灵敏度极高,可提供样品表面几纳米厚的化学组成及其含量信息. 水滴的接触角实验可以直观地表现材料表面的亲疏水性. 通常,超疏水表面是指与水的接触角大于 150° 的表面,而超亲水表面则指与水的接触角接小于 10° 的表面.

图 4 给出经过和未经过 PTES 修饰的 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层表面的 XPS 全谱(a)以及经 PTES 修饰的 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层表面经紫外光辐射 20 min 前后的 XPS 区域谱(b). 各谱峰的归属已于图中标识. 相对于未经过 PTES 修饰的样品表面全谱,经过 PTES 修饰的 TiO<sub>2</sub> 纳米管表面谱图中出现了氟元素的特征谱峰(F<sub>1s</sub> 和 F<sub>KLL</sub>)以及疏水基团(C—F)的谱峰,表明 PTES 已自组装修饰到 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层表面. 但经紫外光照射后,氟元素的特征谱峰(F<sub>1s</sub> 和 F<sub>KLL</sub>)及疏水基团—CF<sub>2</sub>—(291.8 eV), —CF<sub>3</sub>(294.1 eV) 谱峰几乎消失(b). 而 Si<sub>2p</sub> 峰强度虽然没有减弱,其峰位却从 102.8 eV 移动到接近 SiO<sub>2</sub> 的 103.3 eV 处,表明经紫外光照射后样

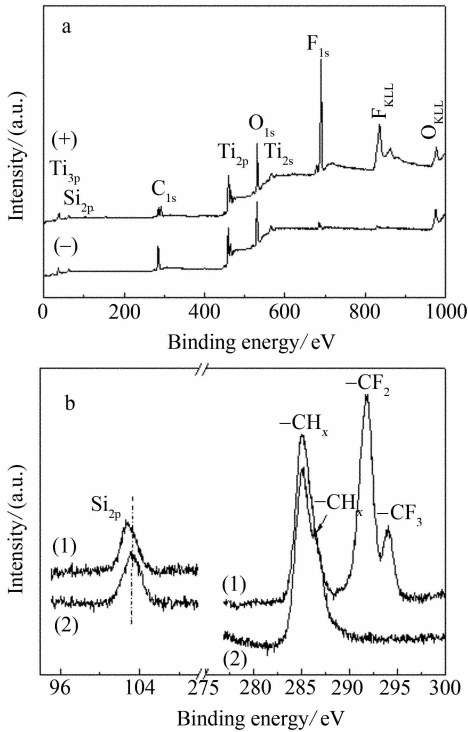


图 4 经 PTES 修饰 (+) 和未经修饰 (-) 的 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层表面的 XPS 全谱(a) 以及经 PTES 修饰的 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层表面在紫外光辐射 20 min 前(1)后(2)的 XPS 区域谱(b)

Fig. 4 Survey-scan X-ray photoelectron spectra (a) of the PTES modified (+) and unmodified (-) TiO<sub>2</sub> nanotubes films and the high-resolution XPS spectra (b) of PTES modified TiO<sub>2</sub> nanotubes films before (1) and after (2) 20 min UV irradiation

品表面转变为类似 SiO<sub>2</sub> 的 Si—O—Si 网络结构. 此结果表明, TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层表面的功能性疏水基团已被 TiO<sub>2</sub> 自身的光催化作用降解破坏.

图 5 示出经过 PTES 修饰的 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层(a) 及其经过紫外光照射后(b) 与水滴的接触角照片. 可看出, 水滴在修饰 PTES 的膜层表面呈圆球状, 接触角约为 157°, 即该膜层表面是超疏水的, 这与它特殊的纳米结构和低表面能 PTES 的修饰有关<sup>[10-11]</sup>. 此外, 由于 TiO<sub>2</sub> 纳米管膜层具有很大的孔隙率, 在膜层表面和纳米管腔内滞留了大量的空气. 正因为空气层的阻挡作用, 使水滴与其表面的接触面积变小, 接触角增大. 但经紫外光照射后(b), 水滴可在膜层表面充分地铺展开来, 接触角减小到小于 5°, 此时表面状态已由超疏水性转变为超亲水性.

### 2.3 材料表面亲疏水性与抗菌性研究

关于材料表面的亲疏水性与其抗菌能力通常

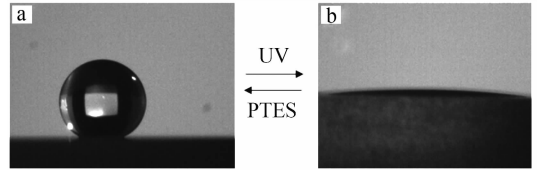


图 5 经 PTES 修饰的 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层(a) 及其经过紫外光照射后(b) 表面与水的接触角照片

Fig. 5 Images of water droplet on the modified TiO<sub>2</sub> nanotubes films before (a) and after (b) UV irradiation

是依据细菌在材料表面的贴附量来评估的. 当细菌与材料接触后, 前 6 h 细菌处于为其后的活跃增殖繁殖作准备的状态, 即停滞期. 在此期间, 大致只有菌体的增大, 没有数量的增多. 故而实验选择在材料与细菌接触 6 h 之后才开始观测, 重点考查细菌的早期粘附量.

图 6 示出革兰氏阴性大肠杆菌在超亲水(a) 和超疏水(b) TiO<sub>2</sub> 表面的抗菌性试验结果. 可看出, 大肠杆菌在超疏水 TiO<sub>2</sub> 表面的贴附数量明显比超亲水表面的少. 而且, 超亲水表面贴附的大肠杆菌几乎铺满了整个琼脂板. 研究指出, 细菌在材料表面的粘附与细菌表面蛋白, 尤其是纤连蛋白<sup>[12]</sup> 的吸附过程有关. 如果材料表面能使蛋白更加容易贴附, 那么细菌也就更加容易贴附在材料表面. 尽管有研究认为<sup>[13]</sup>, 在亲水的材料表面, 材料表面形成的一层水膜阻断了材料和蛋白之间的相互作用. 但更多的实验表明<sup>[3,14-16]</sup>, 亲水的材料表面比疏水的表面更能吸附蛋白. 而据本文的实验结果(见图 6), 大肠杆菌在超疏水 TiO<sub>2</sub> 表面粘附量之所以明显减少, 很可能就是因为经过 PTES 修饰的 TiO<sub>2</sub> 材料纳米管阵列膜层的表面, 接触角高达 157°, 比普通的疏水表面更疏水, 从而难以

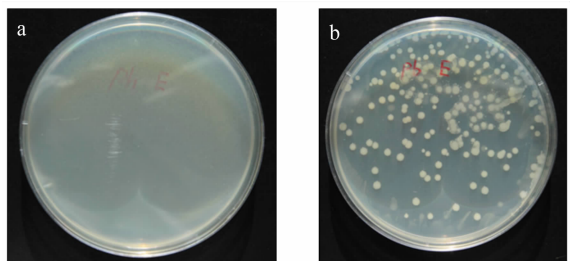


图 6 超亲水(a) 和超疏水(b) TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层表面大肠杆菌贴附量对比照片

Fig. 6 The amounts of E.coli attached to different TiO<sub>2</sub> nanotubes array surfaces  
a. superhydrophilic; b. superhydrophobic

使蛋白接近贴附,有效地阻断了细菌在其表面的贴附。

### 3 结 论

应用电化学阳极氧化法在钛表面构筑了一层规整的 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列膜层,然后经过自组装在该 TiO<sub>2</sub> 表面修饰一层末端具有疏水基团的 PTES 单分子层,再借助紫外光照下引发的 TiO<sub>2</sub> 光催化过程,分别构筑了具有超疏水和超亲水的 TiO<sub>2</sub> 表面。在超疏水表面,水与材料的接触角为 157°,而在超亲水表面,水的接触角为 5°。大肠杆菌在超疏水表面的贴附量明显比在超亲水表面的减少。表明钛材料经过表面疏水化处理后即可有效阻止细菌的贴附,提高其抗菌性能。

致谢:感谢军事科学院韩黎主任课题组对本文抗菌性实验部分设计和实施的支持。

### 参考文献(References):

- [1] Lawson M C, Bowman C N, Anseth K S. Vancomycin derivative photopolymerized to titanium kills *S. epidermidis* [J]. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 2007, 461:96-105.
- [2] Hartvig R A, Weert van de M, Ostergaard J, et al. Protein adsorption at charged surfaces: The role of electrostatic interactions and interfacial charge regulation [J]. *Langmuir*, 2011, 27(6):2634-2643.
- [3] Price C, Waters M G J, Williams D W, et al. Surface modification of an experimental silicone rubber aimed at reducing initial candidal adhesion [J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2002, 63(2):122-128.
- [4] Everaert E P J M, van der Mei H C, Busscher H J. Adhesion of yeasts and bacteria to fluoro-alkylsiloxane layers chemisorbed on silicone rubber [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 1998, 10(4):179-190.
- [5] Tang H Y, Cao T, Wang A F, et al. Effect of surface modification of silicone on *Staphylococcus epidermidis* adhesion and colonization [J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2007, 80A(4):885-894.
- [6] Cao T, Tang H Y, Liang X M, et al. Nanoscale investigation on adhesion of *E. coli* to surface modified silicone using atomic force microscopy [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2006, 94(1):167-176.
- [7] Raulio M, Jarn M, Ahola J, et al. Microbe repelling coated stainless steel analysed by field emission scanning electron microscopy and physicochemical methods [J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2008, 35(7):751-760.
- [8] Lerebour G, Cupferman S, Bellon-Fontaine M N. Adhesion of *Staphylococcus aureus* and *staphylococcus epidermidis* to the Episkin (R) reconstructed epidermis model and to an inert 304 stainless steel substrate [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2004, 97(1):7-16.
- [9] Okada A, Nikaido T, Ikeda M, et al. Inhibition of biofilm formation using newly developed coating materials with self-cleaning properties [J]. *Dental Materials Journal*, 2008, 27(4):565-572.
- [10] Song X Y, Zhai J, Wang Y L, et al. Fabrication of superhydrophobic surfaces by self-assembly and their water-adhesion properties [J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2005, 109(9):4048-4052.
- [11] Lai Y K, Lin C J, Huang J Y, et al. Markedly controllable adhesion of superhydrophobic spongelike nanostructure TiO<sub>2</sub> films [J]. *Langmuir*, 2008, 24(8):3867-3873.
- [12] Wu Y G, Simonovsky F I, Ratner B D, et al. The role of adsorbed fibrinogen in platelet adhesion to polyurethane surfaces: A comparison of surface hydrophobicity, protein adsorption, monoclonal antibody binding, and platelet adhesion [J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2005, 74A(4):722-738.
- [13] Hanein D, Geiger B, Addadi L. Fibronectin adsorption to surfaces of hydrated crystals. An analysis of the importance of bound water in protein-substrate interactions [J]. *Langmuir*, 1993, 9(4):1058-1065.
- [14] Jönsson U, Ivarsson B, Lundström I, et al. Adsorption behavior of fibronectin on well-characterized silica surfaces [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1982, 90(1):148-163.
- [15] Absolom D R, Zingg W, Neumann A W. Protein adsorption to polymer particles: role of surface properties [J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1987, 21(2):161-171.
- [16] MacDonald D E, Deo N, Markovic B, et al. Adsorption and dissolution behavior of human plasma fibronectin on thermally and chemically modified titanium dioxide particles [J]. *Biomaterials*, 2002, 23(4):1269-1279.

## Superhydrophilic/Superhydrophobic Surface Constructions on Titanium and Their Effects on Anti-bacterial Properties

WANG Guo-wei<sup>1</sup>, HUANG Qiao-ling<sup>1</sup>, HU Ren<sup>1</sup>, LIN Chang-jian<sup>1\*</sup>,  
WANG Hao<sup>2</sup>, ZHANG Li-hai<sup>2</sup>, TANG Pei-fu<sup>2</sup>

(1. *State Key Laboratory of Physical Chemistry of Solid Surface, Department of Chemistry, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China*; 2. *Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China*)

**Abstract:** The microbial infection of biomaterials often causes clinic problems and sometimes even leads to the prosthesis failure. It is, therefore, important to prevent the biomaterials from bacterial contamination. This can be done by using anti-bacteria drugs. However, this method causes physiological burdens to the patients and does not always work. To stop the contamination from the just beginning is believed to be a better choice. The first step for infection is the attachment of bacteria on the material. In this work, the thin TiO<sub>2</sub> nanotubes array films we constructed with totally different wettabilities showing either superhydrophobic or superhydrophilic. The bacterial attachment behaviors on them were evaluated. It is shown that the numbers of viable colonies on the superhydrophobic film were significantly less than those on the superhydrophilic one.

**Key words:** TiO<sub>2</sub>; wettability; anti-bacterial