

热处理对 3Cr13MoCu 马氏体不锈钢抗菌性能的影响

王 帅^{1,2)} 杨春光²⁾ 徐大可²⁾ 沈明钢¹⁾ 南 黎²⁾ 杨 柯²⁾

1) 辽宁科技大学材料与冶金学院, 鞍山 114051

2) 中国科学院金属研究所, 沈阳 110016

摘 要 利用抗菌性能检测、硬度测试、TEM 观察、激光共聚焦显微镜观察和 SEM 观察等手段, 研究了时效处理对 3Cr13MoCu 马氏体不锈钢抗菌性能的影响. 研究表明, 随着时效温度的升高, 3Cr13MoCu 马氏体不锈钢中的富 Cu 相不断长大, 对金黄色葡萄球菌的杀菌率不断提高, 但其硬度迅速下降. 而在 500 °C 进行时效处理时, 延长时效时间至 10~14 h 后, 钢中富 Cu 相含量不断增加, 其抗菌性能和硬度均不断提高. 结合抗菌性能和硬度测试结果, 确定 3Cr13MoCu 不锈钢的优化热处理制度为: 1080 °C 固溶 30 min, 水冷 + 500 °C 时效 10~14 h, 空冷. 在此热处理工艺下, 3Cr13MoCu 不锈钢表现出了非常优异的抗菌性能, 在杀灭游离态细菌的同时, 还可以有效地抑制表面细菌生物膜的形成.

关键词 含 Cu 马氏体不锈钢, 抗菌性能, 硬度, 生物膜

中图法分类号 TG142 文献标识码 A 文章编号 0412—1961(201×)×—××—×

EFFECT OF HEAT TREATMENT ON ANTIBACTERIAL PERFORMANCE OF 3Cr13MoCu STAINLESS STEEL

WANG Shuai^{1,2)}, YANG Chunguang²⁾, XU Dake²⁾, SHEN Minggang¹⁾, NAN Li²⁾, YANG Ke²⁾

1) School of Materials and Metallurgy, University of Science and Technology Liaoning, Anshan 114051, China

2) Institute of Metal Research, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China

Correspondent: Yang Ke, professor Tel: (024)23971880 Email: kyang@imr.ac.cn;

Supported by National Basic Research Program of China (No.2012CB619101) and Natural Science Foundation of China (Nos.51371168 and 51101154)

Manuscript received 2014-04-15, in revised form 2014-08-13

ABSTRACT The effect of aging on antibacterial performance of 3Cr13MoCu martensitic stainless steel was studied by antibacterial test, Vickers hardness measurement, TEM observation, confocal laser scanning microscope (CLSM) and SEM observations. The results showed that increase of the aging temperature did favor to rapid precipitation of Cu-rich phases in the steel matrix, and correspondingly, the antibacterial rate was increased, but the hardness declined. Aging at 500 °C for 10~14 h could enhance both antibacterial rate and hardness due to the increase of precipitation of Cu-rich phases. Therefore the optimal heat treatment for 3Cr13MoCu stainless steel was proposed to solution at 1080 °C for 30 min, water cooling to room temperature, then aging at 500 °C for 10~14 h, air cooling to room temperature. CLSM and SEM observations indicated that 3Cr13MoCu stainless steel with optimum heat treatment could effectively killed the free bacteria and inhibited the formation of bacterial bio-films on its surface.

KEY WORDS Cu-bearing martensitic stainless steel, antibacterial performance, hardness, bio-film

国家基础研究发展计划项目 2012CB619101, 国家自然科学基金项目 51371168 和 51101154 资助

收到初稿日期: 2014-04-15, 收到修改稿日期: 2014-08-13

作者简介: 王帅, 男, 1989 年生, 硕士生

DOI: 10.11900/0412.1961.2014.00184

3Cr13Mo 型马氏体不锈钢具有较高的强度、硬度和良好的耐腐蚀性能, 特别适合制作剪刀、咬骨钳、刮刀、牙刮匙等不锈钢医疗器械^[1]. 然而在临床实践中, 医疗器械常常成为细菌与病原体的藏身与滋生繁殖的场所. 尽管手术前所有医疗器械都经过严格的灭菌, 但这并不能完全消除病人受到细菌感染的可能性, 尤其是当手术时间较长时, 手术器械不可避免会存在细菌滋生现象. 对于医疗方舱等军用或民用设施, 其在手术环境下的医疗消毒措施不能得到有效保证的条件下, 细菌感染的风险会进一步加大. 根据世界卫生组织(WHO)颁布的《院内感染防治实用手册》中的有关数据, 每天全世界有超过 1400 万人在遭受院内感染的痛苦, 其中 60% 的细菌感染与使用的医疗器械有关. 并且材料表面容易粘附大量的细菌形成生物膜, 这种生物膜具有极强的耐药性和免疫逃避性, 很难被完全清除^[2,3].

铜离子具有强烈的杀菌作用^[4-6]. Nan等^[7]研究发现, 铜离子与细菌接触时, 会破坏细菌的细胞壁和细胞膜, 导致细胞内容物漏出, 蛋白质凝固. 因此, 在现有传统的医用不锈钢中添加一定量的Cu并经过一定的热处理后, 赋予其原始不锈钢惰性材料优异的抗菌性能等生物功能, 达到抑制不锈钢表面细菌生物膜的形成效果, 是含Cu金属新材料的核心创新思想^[8,9]. 日本日新制钢公司于90年代末首先开发出具有良好制造加工性能和抗菌性能的3种系列含Cu抗菌不锈钢NSSAM1, NSSAM和NSS3, 其对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、绿脓杆菌等常见细菌都有很强的杀灭作用^[10]. 我国在该领域起步较晚, 杨柯等^[11-13]较早地对含Cu抗菌不锈钢进行了研究, 结果也发现, 含Cu铁素体、奥氏体不锈钢经时效后, 都表现出了良好的抗菌效果, 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等常见细菌均具有90%以上的杀菌率, 而且该研究团队进一步开发出了抗菌金属的新型生物功能. 发现该类型的金属(含Cu316L不锈钢)具有抑制动脉平滑肌细胞增殖和降低动脉平滑肌细胞迁移等作用, 明显地减少血小板在其表面上的黏附, 延长了凝血时间. 此外, 还能够显著地促进血管内皮细胞的增殖与迁移, 从而可加快支架植入受损血管的重建过程, 有益于降低动脉支架内再狭窄发生的倾向^[14]. 任玲^[15]对加Cu改良的317L不锈钢的抗菌性能进行了研究, 认为加入一定量的Cu并进行合适的热处理, 材料表现出非常优异的抗菌性能, 不仅可以对游离态的细菌进行杀灭, 还能有效抑制材料表面细菌生物膜的形成, 有效地缓解了由细菌生物膜引发的细菌性感染的发生.

马氏体抗菌不锈钢的热处理工艺流程包括固溶和时效处理, 固溶处理的目的是将 Cu 充分溶入到 γ -Fe 中, 并通过快速冷却得到含有过饱和 Cu 原子的 α -Fe 固溶体. 在随后进行的时效处理过程中, 过饱和的 Cu 从基体中析出形成 ϵ -Cu 相, 含 Cu 不锈钢中正是由于大量 ϵ -Cu 相的弥散均匀析出才使其具备了优异的抗菌性能^[16,17]. 本文作者的前期研究结果^[18]表明, 含 Cu 马氏体不锈钢在时效处理过程中, 时效温度较低时, 析出的富 Cu 抗菌相较少, 难以满足抗菌性能的需求; 而在高温时效时, 不锈钢尽管具有较佳的抗菌性能, 但

由于高温的回复作用, 不锈钢的硬度会快速下降, 损害了马氏体不锈钢的高强度和高硬度的实际使用价值. 因此马氏体型抗菌不锈钢在具有优异抗菌性能的同时如何保持较高的硬度是本研究的关键技术难点. 选择合适的热处理工艺使该类型的抗菌不锈钢在具有优异抗菌性能的同时保持良好的力学性能具有重要意义. 本工作意在探索不同的抗菌热处理工艺对 3Cr13MoCu 型含 Cu 马氏体不锈钢的抗菌性能和力学性能的影响, 从而获得合适的热处理制度, 使该不锈钢兼具优异的抗菌性能和力学性能, 为 3Cr13MoCu 马氏体抗菌不锈钢在相关领域中的应用提供理论指导.

1 实验方法

实验用 3Cr13MoCu 不锈钢采用 25 kg 真空感应炉熔炼后浇铸成型. 铸锭经 1100 °C 锻造成直径 16 mm 的棒材后使用. 实验钢的化学成分(质量分数, %)为: Cr 13.76, Mo 0.79, Cu 3.66, C 0.32, Si 0.06, Mn <0.05, S 0.004, P 0.008, 余量为 Fe.

抗菌性能检测采用琼脂平板法(GB4789.2-94), 实验测试所用菌种为购自广州军区总医院的金黄色葡萄球菌(ATCC25923). 测定菌株取自对数期的斜面培养物, 用 10^5 CFU/mL 的标准菌液在温度为 37 °C 的恒温培养箱中分别对 3Cr13MoCu 不锈钢和对照不锈钢(3Cr13Mo)与菌液共同培养 24 h, 然后对经上述样品作用的细菌稀释到 10^3 CFU/mL, 在相同的温度和湿度下用琼脂培养 24 h, 从平皿计算菌落数. 杀菌率的计算公式如下^[19]:

$$R = (C - A) / C \times 100\%. \quad (1)$$

式中, R 为抗菌不锈钢的杀菌率, C 为对照不锈钢的生菌数, A 为 3Cr13MoCu 不锈钢生菌数.

透射电镜样品分别从经过 600 和 800 °C 时效 6 h 后的样品上切取. 样品制备过程如下: 将样品用 240 ~ 2000 号水磨砂纸逐级打磨至厚度为 50 μm 的薄片; 随后将其冲成直径为 3 mm 的圆片, 并继续打磨直至圆片表面光滑为止; 最后用凹坑仪凹蚀至厚度为 10 μm 后, 用离子减薄仪将样品减薄到样品薄区中央出现微孔为止. 利用 JEM2010FX 型透射电镜(TEM)观察样品中富 Cu 相的形貌和分布, 由于富 Cu 相的尺寸较小, 并且衬度低, 很难利用 TEM 衍射技术分析其晶体结构, 因此, 利用 TEM 上配置的能谱仪(EDS)对富 Cu 相进行成分测定, TEM 的工作电压为 120 kV. 硬度测试在 401MVD 型 Vickers 硬度计上测量, 载荷为 4.903 N, 加载时间为 15 s.

为了观察样品表面的细菌生物膜的附着状况, 对与细菌共同培养后的抗菌不锈钢和对照不锈钢进行了 DAPI (4', 6-二脒基-2-苯基吡啶)染色, 并在激光共聚焦显微镜(CLSM)下进行观察. DAPI 会快速进入细菌的细胞膜, 结合双链的脱氧核糖核酸(DNA)分子, 其最小吸收波长为 358 nm, 最大发射波长为 461 nm, 会显示出蓝色荧光^[20,21]. 样品制备过程如下: 将抗菌不锈钢和对照不锈钢样品加入到 24 孔板中, 然后每个样品孔内加入 1 mL 浓度为 10^5 CFU/mL 的金色葡萄球菌菌液, 在 37 °C 下培养 24 h. 将样品在暗室中加入 1 μL

已溶解的 DAPI 染料, 使其浓度达到 $1 \mu\text{g/mL}$. 染色 15 min 后, 将样品从 24 孔板中取出, 使用 PBS 缓冲液 ($\text{NaCl } 8 \text{ g/L}$, $\text{KCl } 0.2 \text{ g/L}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \text{ } 1.56 \text{ g/L}$, $\text{KH}_2\text{PO}_4 \text{ } 0.2 \text{ g/L}$) 反复冲洗 3 次, 然后在室温下避光干燥, 在 CLSM 下进行观察.

利用 S-3400N 型扫描电镜(SEM)对培养后的样品表面的细菌形态与特征进行了观察. 样品制备过程如下: 将与细菌共培养 24 h 后的抗菌不锈钢样品用 4% 戊二醛在室温下固定 4 h, 依次采用 25%, 50%, 75%, 100% 乙醇水溶液逐级脱水后室温下干燥 24 h. 观察前, 所有实验样品表面进行喷金处理.

2 实验结果与讨论

2.1 时效温度对 3Cr13MoCu 不锈钢性能的影响

3Cr13MoCu 不锈钢经 $1080 \text{ }^\circ\text{C}$ 固溶处理 30 min (水冷), 分别经 500 , 600 , 700 和 $800 \text{ }^\circ\text{C}$ 时效 6 h (空冷) 后对金黄色葡萄球菌的杀菌效果如图 1 所示. 从图中可以看出, 与普通 3Cr13Mo 不锈钢作用 24 h 后的菌液在培养箱中培养 24 h 后, 培养基上生长了大量的细菌菌落(图 1a). 由于 3Cr13MoCu 不锈钢的杀菌作用, 其与菌液在培养箱中培养 24 h 后, 培养基上生长的菌落数量明显减少(图 1b). 随着时效温度的升高, 与 3Cr13MoCu 不锈钢作用后的菌液经过培养后, 在培养基上生长的细菌菌落数量也不断下降(图 1c~f). 杀菌率统计结果如图 2 所示. 从图中可以看出, 仅经过固溶处理的 3Cr13MoCu 不锈钢对金黄色葡萄球菌的杀菌率很低, 仅为 59%, 抗菌作用不够强; 而经过时效处理后, 3Cr13MoCu 不锈钢的抗菌性能得到了明显提高, 经 $500 \text{ }^\circ\text{C}$ 时效处理后, 杀菌率达到 74%; $600 \text{ }^\circ\text{C}$ 以上时效时, 其杀菌率超过了 90%, 表现出很强的抗菌性能.

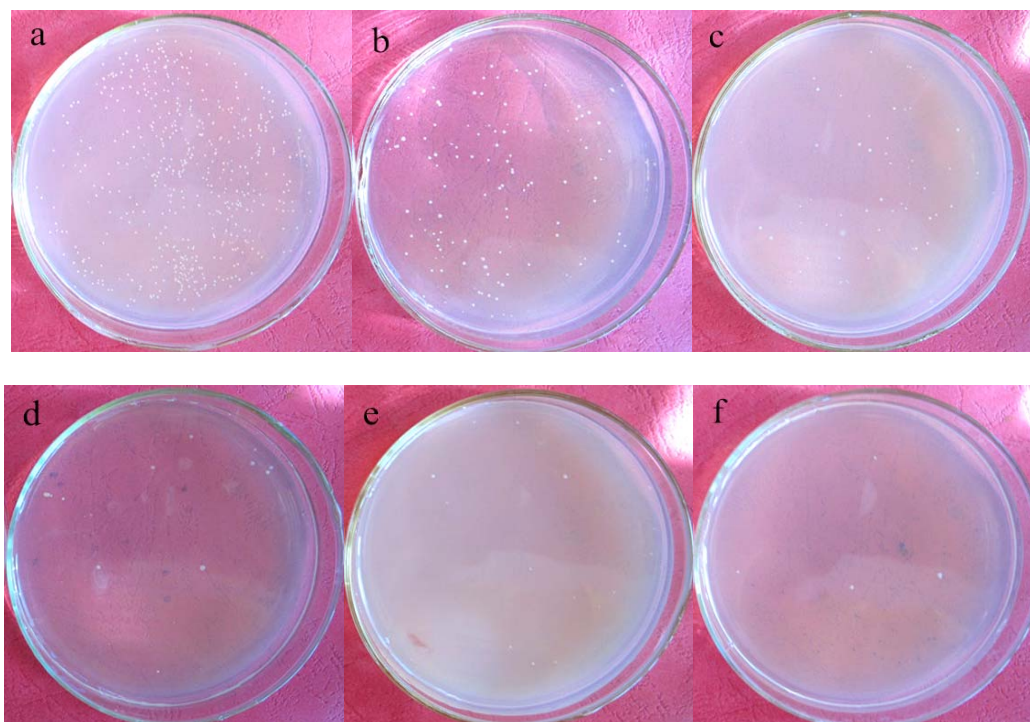


图 1 普通的 3Cr13Mo 不锈钢和经不同热处理后的 3Cr13MoCu 不锈钢的杀菌效果图

Fig. 1 Photos of antibacterial performance on petridishes cultured with 3Cr13Mo (a) and 3Cr13MoCu (b~f) stainless steels

(a) 3Cr13Mo stainless steel (b) solution treated at 1080 °C for 30 min (c) aged at 500 °C for 6 h
(d) aged at 600 °C for 6 h (e) aged at 700 °C for 6 h (f) aged at 800 °C for 6 h

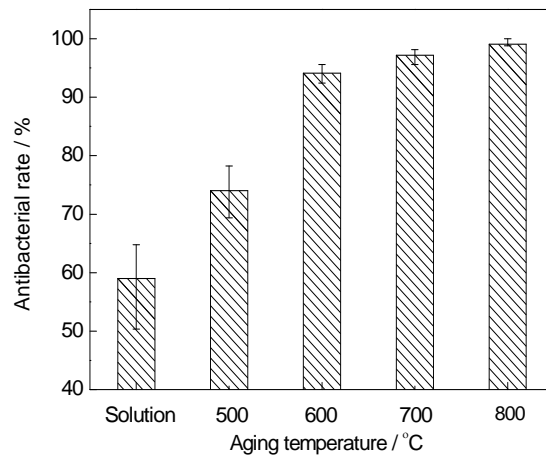


图 2 3Cr13MoCu 不锈钢经不同温度时效 6 h 后对金黄色葡萄球菌的杀菌率

Fig. 2 Antibacterial rate against *staphylococcus aureus* (*S. aureus*) of 3Cr13MoCu stainless steel aged at different temperatures for 6 h

硬度测试结果如图 3 所示. 从图中可以看出, 仅经过固溶处理的 3Cr13MoCu 不锈钢具有较高的硬度, Vickers 硬度达到 542 HV. 500 °C 时效处理 6 h 后, 其硬度达到了峰值, 为 557 HV. 然而, 随着时效温度的进一步升高, 硬度开始迅速下降. 600 °C 时效处理后, 其硬度下降到 325 HV. 时效温度升高至 700 °C 以上时, 3Cr13MoCu 不锈钢的硬度下降到 300 HV 以下.

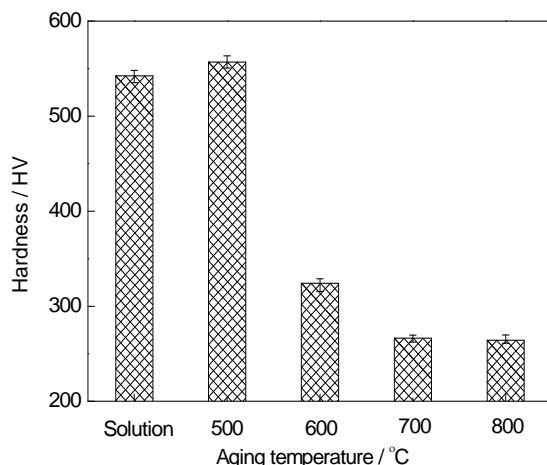


图 3 3Cr13MoCu 不锈钢的硬度随时效温度变化

Fig. 3 Variation of Vicker's hardness of 3Cr13MoCu stainless steel with aging temperature (aging time is 6 h)

任玲^[14]对含 Cu 抗菌不锈钢的研究表明, 时效过程中析出的富 Cu 相与基体形成的 Fe/Cu 微电池效应会促进铜离子的溶出. 从材料表面溶出的铜离子与细菌作用后破坏了细菌的细胞膜和细胞壁, 最终导致细菌中的细胞蛋白质凝固, 细菌死亡^[22]. 因此, 富 Cu 析出相的存在和含量是决定含 Cu 抗菌不锈钢抗菌性能的关键.

由固态相变理论可知, 合金中的析出过程是一个具有成分变化的扩散-形核-长大型相变. Viswanathan 等^[23]研究了铁合金中富 Cu 相的析出过程, 表明富 Cu 相的沉淀没有孕育期, 即形核没有自由能垒, 沉淀过程的激活能很低. 含 Cu 抗菌不锈钢中富 Cu 相的长大主要依赖于钢中 Cu 原子的扩散, 由于 Cu 原子在钢中以置换型原子形式存在, 其扩散是在空位附近进行, 根据扩散定律^[24]:

$$D = D_0 \frac{n_e}{N} e^{\frac{RT}{Q}} \quad (2)$$

$$\frac{n_e}{N} = A e^{\frac{RT}{\Delta G}} \quad (3)$$

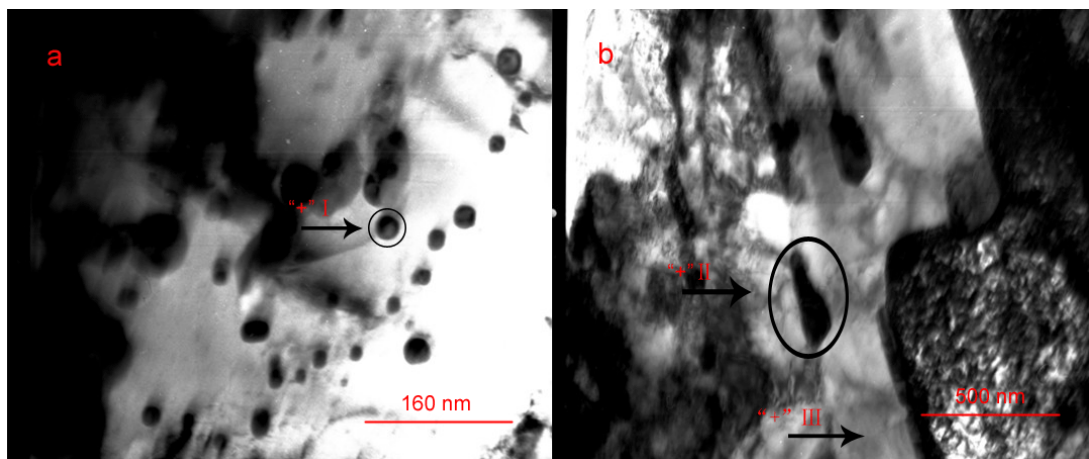
式中, D 为 Cu 原子的扩散系数; D_0 为扩散常数, 与原子的振动频率 ν 有关, 温度越高, ν 越大; n_e 为晶体中的空位数目, N 为晶体中的原子总数, n_e/N 表示为空位平衡浓度, 即 Cu 原子周围存在空位的几率; Q 为 Cu 的扩散激活能; R 为气体常数; T 为温度; A 由振动熵决定, 通常在 1~10 范围内; ΔG 为空位形成能. 可见, 不同温度下 Cu 在钢中的扩散系数很大程度上取决于空位浓度.

3Cr13MoCu 不锈钢在 1080 °C 高温固溶处理并快速冷却后, 在获得过饱和固溶体的同时, 也形成了相当数量的过饱和空位. 这些过饱和空位的存在, 极大地加速了时效处理过程中的 Cu 原子扩散, 为其形成富

Cu析出相提供了有利的形核位置. 然而固溶处理后, 大部分的Cu固溶在不锈钢基体中, 不能溶出与细菌接触, 因此该状态下的含Cu不锈钢的杀菌率很低, 如图1b所示. 时效处理后, 由于富Cu相的析出, 其抗菌性能得到了迅速提高. Hornbogen等^[25]认为, 含Cu钢在热时效时, 最初形成的富Cu偏聚区为bcc结构亚稳相, 并与母体铁素体保持共格关系. 富Cu偏聚区随着时效温度的升高而长大, 长大到一定临界尺寸时转变成fcc结构的 ϵ -Cu沉淀颗粒. 一旦fcc沉淀颗粒形成, 即长大为直径30 nm左右的球状颗粒, 然后颗粒发展为杆状形貌. 按照沉淀强化的一般规律, 过渡结构的富Cu偏聚区与基体保持共格往往是时效峰处的结构特征. 由此可以推断, 500 °C时效时, 富Cu析出相的尺寸还较小, 与母体保持共格关系, 使不锈钢的硬度升高到了峰值. 随着时效温度的升高, 富Cu相逐渐长大, 与此同时, 开始发生回火软化. 因此随着时效温度的升高, 位错等缺陷的密度逐渐下降, 强化和硬度效果逐渐降低, 表现为3Cr13MoCu不锈钢的抗菌性能在逐渐提高, 但硬度迅速下降.

为了进一步研究3Cr13MoCu不锈钢中富Cu析出相的析出行为, 对钢中的富Cu析出相的形貌进行了TEM观察. 由图4a和b可见, 富Cu相容易在晶界处析出, 即富Cu相容易在淬火空位、晶界、位错等缺陷处形核. 从图中可以看出, 600 °C时效时, 钢中的富Cu析出相已经长大为球形颗粒, 直径在30 nm左右(图4a); 当时效温度升高至800 °C时, 球状富Cu相演化成了杆状, 析出相的尺寸也增长到了300 nm左右(图4b). 这也与前面的假设一致, 即当时效温度升高至600 °C以上时, 钢中富Cu偏聚区已经演化为沉淀颗粒, 富Cu相与位错的钉扎作用减弱. 因此, 随着时效温度的升高, 马氏体抗菌不锈钢的抗菌性能将会不断提高, 但硬度迅速下降.

图4c~e为富Cu相及不锈钢基体的EDS分析结果. 结果表明, 600 °C时效时, 富Cu相中的Cu含量为10.5%, 800 °C时效时, 富Cu相中Cu含量为40.5%, 均远远高于3Cr13MoCu不锈钢基体的Cu含量(2.0%). 但不能说富Cu相中的Cu含量随时效温度的升高而升高, 因为在EDS分析时, 汇聚光斑的面积要大于富Cu相, 富Cu相越小时, TEM光斑中的电子越容易击穿富Cu相而打到基体. 因此当析出相较小时, 富Cu相中实际的Cu含量应大于测量值.



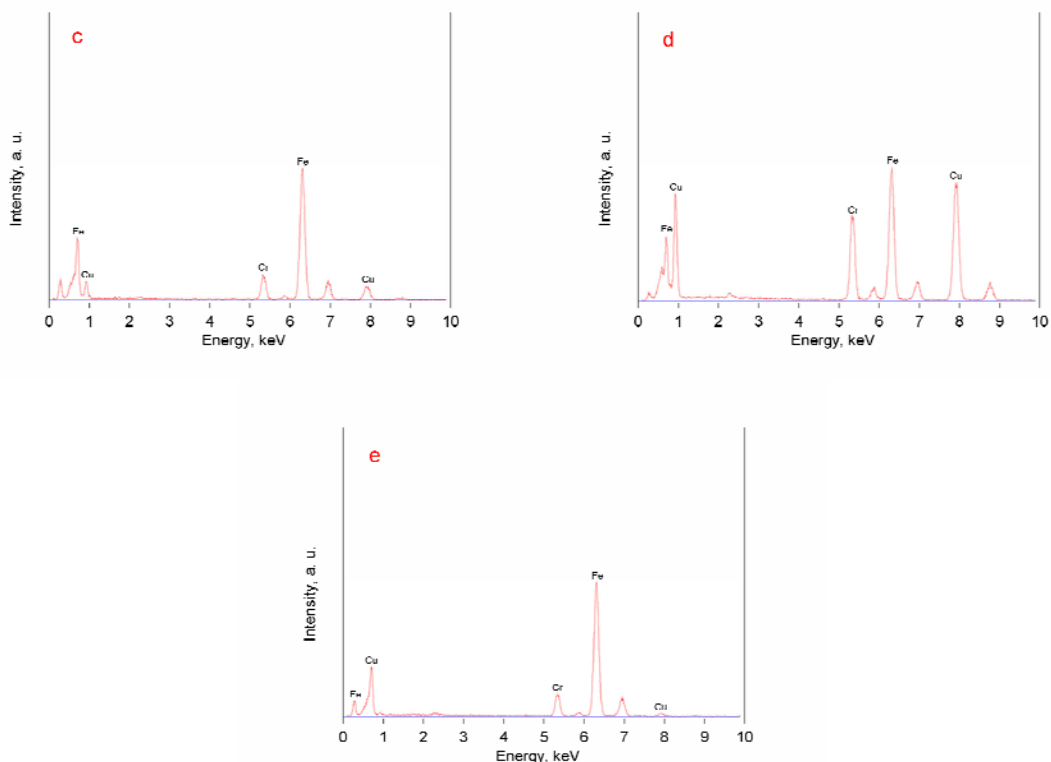


图 4 不同温度时效 6 h 后的 3Cr13MoCu 不锈钢的 TEM 像和对应的 EDS 分析

Fig. 4 TEM images of 3Cr13MoCu stainless steel (a, b) and corresponding EDS analyses(c~e)

(a) aged at 600 °C for 6 h (b) aged at 800 °C for 6 h (c) EDS analysis of Cu-rich precipitates in the steel

(point I) shown in Fig.4a (d) EDS analysis of Cu-rich precipitates in the steel (point II) shown in Fig.4b (e)

EDS analysis of the steel matrix (point III) shown in Fig.4b

2.2 时效时间对 3Cr13MoCu 不锈钢性能的影响

从不同时效温度处理的 3Cr13MoCu 不锈钢的抗菌性能、硬度测试结果可以看出, 3Cr13MoCu 不锈钢在 600 °C 以上时效时具有较佳的抗菌性能, 但硬度迅速下降, 失去了高强度、高硬度的使用价值. 为了使实验钢在具有优异的抗菌性能的同时, 依然保持着较高的力学性能, 对 3Cr13MoCu 不锈钢在 500 °C 分别进行了不同时间的时效处理, 其对金黄色葡萄球菌的杀菌效果如图 5 所示. 可以看出, 随着时效时间的延长, 与 3Cr13MoCu 不锈钢作用后的菌液经过培养后, 在培养基上生长的细菌菌落数量不断下降. 杀菌率统计结果显示, 时效 10 h 后, 该钢对金黄色葡萄球菌的杀菌率均达到了 94%, 时效 14 h 后, 杀菌率超过了 99%, 表

现出了很强的抗菌性能. 硬度测试结果显示, 随着时效时间的延长, 其硬度也不断地增加. 时效 10 h 后, Vickers 硬度达到了 600 HV, 时效 14 h 后, 达到了 620 HV, 具有较高的硬度.

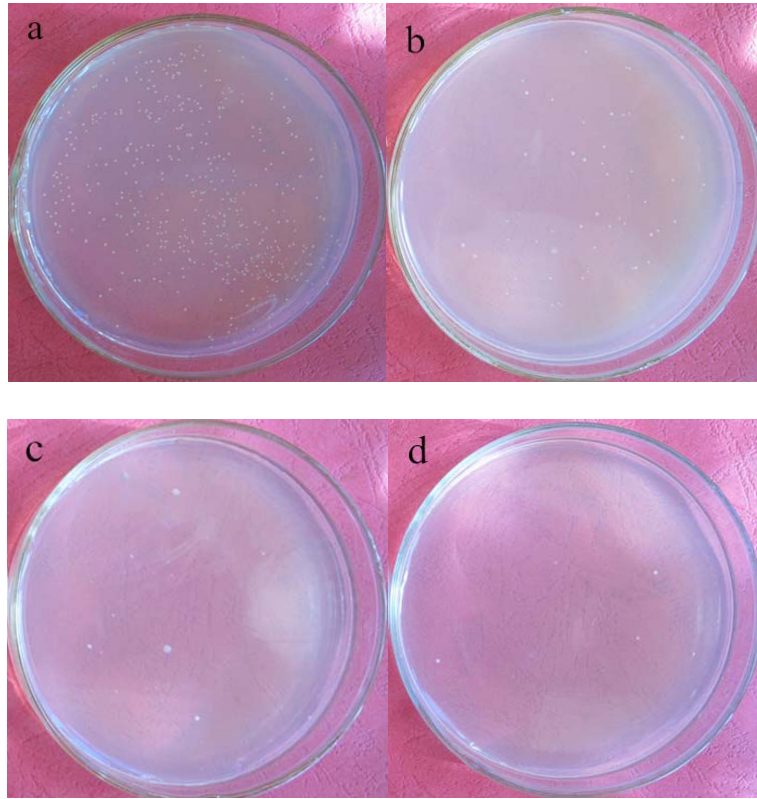


图 5 普通 3Cr13Mo 不锈钢和 3Cr13MoCu 不锈钢在 500 °C 时效不同时间后对金黄色葡萄球菌的杀菌效果
图

Fig. 5 Photos of antibacterial performance on petridishes cultured with 3Cr13Mo (a) and 3Cr13MoCu stainless steels aged at 500 °C for 6 h (b), 10 h (c) and 14 h (d)

由于富 Cu 相与基体间错配所引起的应力场是 3Cr13MoCu 不锈钢在 500 °C 时效时的主要强化源, 该钢在时效过程中析出的富 Cu 相对硬度的影响可以用如下的 Mott-Nabarro 理论来解释^[26]:

$$\Delta\sigma = \frac{6\mu\varepsilon(r \times f)^{1/2}}{b} \quad (4)$$

式中, μ 为析出颗粒的切变模量; r 为析出颗粒的半径; f 为析出颗粒的体积分数; ε 为错配函数; b 为位错的 Burgers 矢量模. 刘永前^[27]对 3Cr13 型含 Cu 不锈钢的研究结果表明, 在中低温时效过程中, 随着时效时间的延长, 3Cr13 型含 Cu 不锈钢中 Cu 原子富集区的形成和长大速度快速增大, 使含 Cu 不锈钢的硬度迅速增高. 当富 Cu 相的析出量达到一定程度后, 一方面富 Cu 偏聚区的体积分数不再发生变化, 另一方面富 Cu

相的长大速率也逐渐缓慢下来, 其硬度变化逐渐平缓. 由此可以推断, 3Cr13MoCu 不锈钢在 500 °C 时效时, 随着时效时间延长, 富 Cu 析出相的尺寸和体积分数也不断增加, 富 Cu 相与钢中位错的相互作用使其硬度也得到了明显升高. 当时效 10 h 后, 该钢不仅具有 94% 以上的杀菌率, 而且还具有较高的硬度. 因此可以确定, 3Cr13MoCu 不锈钢的优化热处理制度为: 1080 °C 固溶 30 min, 水冷 + 500 °C 时效 10~4 h, 空冷.

2.3 生物膜观察

为了分析经过优化热处理工艺处理后的 3Cr13MoCu 不锈钢表面上的细菌附着情况, 对与金黄色葡萄球菌作用 24 h 后的实验钢样品(500 °C 时效 10 h)表面进行了 DAPI 染色, 并在激光共聚焦显微镜下进行了观察, 结果如图 6 所示, 可以看出, 没有抗菌作用的对照不锈钢与细菌作用 24 h 后, 样品表面附着了大量细菌, 而与 3Cr13MoCu 不锈钢共同培养 24 h 后的样品表面细菌附着的数量非常稀少. 这一结果充分说明 3Cr13MoCu 不锈钢能够抑制细菌在其表面上的附着, 从而阻止其表面上细菌生物膜的形成.

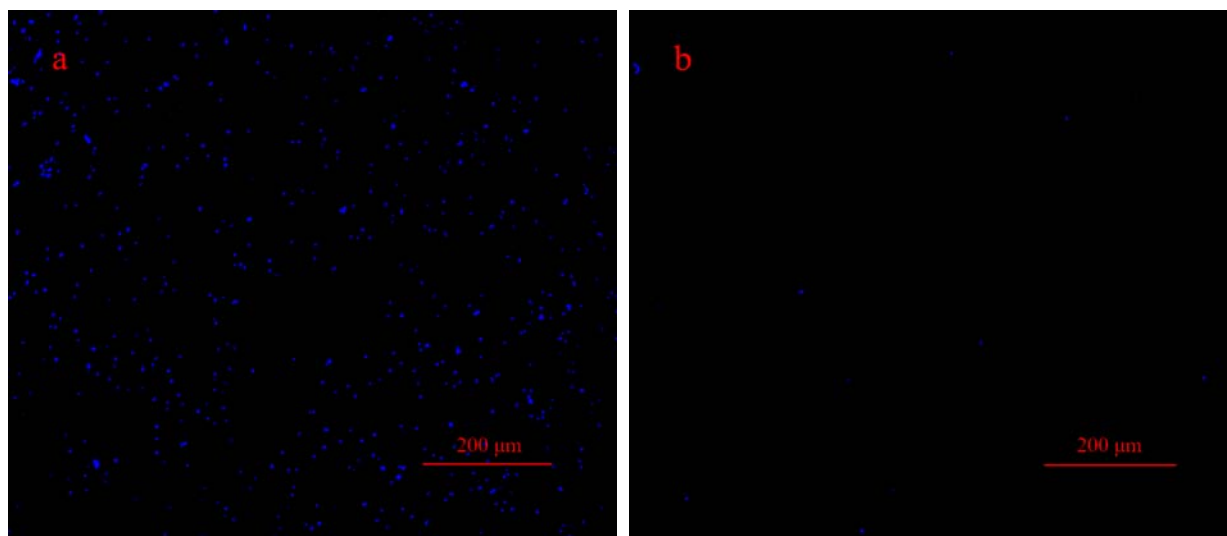


图 6 普通 3Cr13Mo 不锈钢和 3Cr13Mo Cu 不锈钢与细菌共培养 24 h 后的 DAPI 染色图

Fig. 6 DAPI staining on surfaces of the 3Cr13Mo (a) and 3Cr13MoCu (b) stainless steels after cultured with bacterial solution for 24 h

为了进一步观察 3Cr13MoCu 不锈钢表面细菌生物膜形貌, 对与细菌作用后的样品在 TEM 下进行了观察, 如图 7 所示. 可以看出, 对照不锈钢样品表面分布着大量的球状金黄色葡萄球菌, 部分位置形成了生物膜, 而 3Cr13MoCu 不锈钢表面上的细菌非常稀少, 证实了 3Cr13MoCu 不锈钢可以抑制其表面上的细菌生物膜的形成.

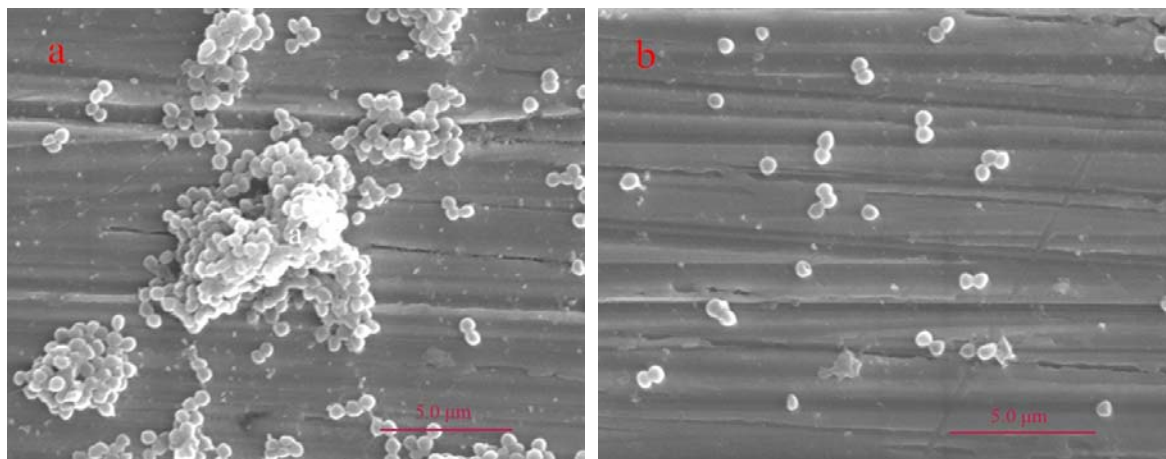


图7 普通3Cr13Mo不锈钢和3Cr13Mo Cu不锈钢与金黄色葡萄球菌共培养24 h后的细菌生物膜形成情况

Fig. 7 Morphologies of bacterial biofilm of *S. aureus* on surfaces of the 3Cr13Mo (a) and 3Cr13MoCu (b) stainless steels after co-culturing for 24 h

细菌生物膜是单一或多种细菌为适应自然环境而形成的微生物菌落聚集物,其主要成分是多糖蛋白质复合物,形如膜状并不可逆地附着于病灶或器件表面.它的形成主要包括3个过程:细胞黏附、微生物菌落生成、细胞外多聚基质包裹^[28,29].黏附在材料表面的细菌生物膜具有极强的耐药性和免疫逃避性,对膜内细菌起到保护作用,成为抗菌类药物向膜内菌体内渗透的天然屏障^[30,31].抗菌药物不能从根本上解决细菌生物膜引发的感染问题.并且随着细菌耐药性的增强,治疗细菌生物膜引发感染愈加困难.含Cu抗菌不锈钢在生理环境中能够溶出一定量的铜离子,铜离子在杀灭不锈钢周围游离态细菌的同时就会有效地减少其表面上黏附的细菌数量,甚至可以从生物膜与材料之间的界面溢出,直接对膜内的细菌进行杀灭,因而能抑制其表面细菌生物膜的形成,从而可以有效地防止细菌性感染的发生^[15].由于3Cr13MoCu不锈钢经抗菌热处理后不仅具有优异的抗菌性能和高硬度,还可以抑制表面细菌生物膜的形成,该钢在医疗器械、餐饮器具、厨房卫具等领域中均具有广阔的应用前景.

3 结论

(1) 随着时效温度的升高,3Cr13MoCu不锈钢中的富Cu相不断长大,其抗菌性能不断提高,同时软化程度不断增大,导致其硬度不断下降.

(2) 在500℃进行时效处理时,随着时效时间的延长,3Cr13MoCu不锈钢中析出的富Cu相不断增加,其抗菌性能和硬度均不断升高.因此可确定3Cr13MoCu不锈钢的优化热处理制度为:1080℃固溶30min,水冷,500℃时效10~14h,空冷.

(3) 3Cr13MoCu不锈钢在优化抗菌热处理状态下,表现出非常优异的抗菌性能,不仅可以对游离态细

菌有杀灭作用, 还可以有效地抑制其表面上的细菌生物膜形成.

参考文献

- [1] Qui H. *US Pat*, 13/437,679, 2012
- [2] Nguyen H D N, Yuk H G. *Food Control*, 2013; 29: 236
- [3] Wiens J R, Vasil A, Schurr M J, Vasil M L. *mBio*, 2014; 5: e01010
- [4] Chai H, Guo L, Wang X, Fu Y, Guan J, Tan L, Ren L, Yang L. *J. Mater Sci Mater Med*, 2011; 22: 2525
- [5] Wang S, Yang C, Ren L, Shen M, Yang K. *Mater Lett*, 2014; 129: 88
- [6] Ren L, Xu L, Feng J, Zhang Y, Yang K. *J Mater Sci Mater Med*, 2012; 23: 1235
- [7] Nan L, Liu Y, Lv M, Yang K. *J Mater Sci Mater Med*, 2008; 19: 3057
- [8] Arciola C R, Campoccia D, Speziale P, Montanaro L, Costerton J W. *Biomater*, 2012; 33: 5967
- [9] Ren L, Yang K. *J Mater Sci Technol*, 2013; 29: 1005
- [10] Suzuki S, Nakamura S, Miyakusu K. *CAMP-ISIJ*, 1999; 12: 518
- [11] Yang K, Dong J, Chen S, Lü M. *Chin J Mater Res*, 2006; 20: 523
(杨 柯, 董加胜, 陈四红, 吕曼祺. 材料研究学报, 2006; 20: 523)
- [12] Chen S, Lü M, Zhang J, Dong J, Yang K. *Acta Metall Sin*, 2004; 40: 314
(陈四红, 吕曼祺, 张敬党, 董加胜, 杨 柯. 金属学报, 2004; 40: 314)
- [13] Nan L, Liu Y, Yang W, Xu H, Li Y, Lv M, Yang K. *Acta Metall Sin*, 2007; 43: 1065
(南 黎, 刘永前, 杨伟超, 徐 慧, 李 瑛, 吕曼祺, 杨 柯. 金属学报, 2007; 43: 1065)
- [14] Ren L. *PhD Dissertation*, Institute of Metal Research, Chinese Academy of Sciences, 2012
(任玲. 中国科学院金属研究所博士学位论文, 2012)
- [15] Ren L, Yang K, Guo L, Chai H W. *Mater Sci Eng*, 2012; C32: 1204
- [16] Ren L, Nan L, Yang K. *Mater Des*, 2011; 32: 2374
- [17] Nan L, Cheng J, Yang K. *J Mater Sci Technol*, 2012; 28: 1067
- [18] Wang S, Lu Z, Yang C, Shen M, Yang K. *Chin J Mater Res*, 2014; 28: 15
(王 帅, 卢志江, 杨春光, 沈明钢, 杨 柯. 材料研究学报, 2014; 28: 15)
- [19] Yuan J P, Li W, Wang C. *Mater Sci Eng*, 2013; C33: 446
- [20] Schwartz T, Hoffmann S, Obst U. *J Appl Microbiol*, 2003; 95: 591
- [21] Hannig C, Kirsch J, Al-Ahmad A, Hannig M, Kümmerer K. *Clin Oral Invest*, 2013; 17: 649
- [22] Nan L, Yang W, Liu Y, Xu H, Li Y, Lu M, Yang K. *J Mater Sci Technol*, 2008; 24: 197

- [23] Viswanathan U K, Krishnan R. *Mater Sci Technol*, 1989; 5: 346
- [24] Xu Z, Zhao L. *Metal-solid phase transformation*. Beijing: Science Press, 2004: 14
(徐 洲, 赵连城. 金属固态相变. 北京: 科学出版社, 2004: 14)
- [25] Hornbogen E, Glenn R C. *Trans Metal Soc AIME*, 1960; 218: 1064
- [26] Wang D, Yang H, Hou L. *Ordn Mater Sci Eng*, 2005; 28: 25
- [27] Liu Y Q. *PhD Dissertation*, Institute of Metal Research, Chinese Academy of Sciences, 2008
(刘永前. 中国科学院金属研究所博士论文, 2008)
- [28] Davis E M, Li D, Shahrooei M, Yu B, Muruve D, Irvin R T. *Acta Biomater*, 2013; 9: 6236
- [29] Teck L G, Valente S A, Hart-Spicer C R, Evancha-Chapman M M, Puskas J E, Horne W I, Schmidt S P. *Biomed*, 2013; 21: 47
- [30] Anderson G G, O'toole G A. *Innate and Induced Resistance Mechanisms of Bacterial Biofilms*. Berlin: Springer- Berlin Heidelberg, 2008: 85
- [31] Arciola C R, Campoccia D, Speziale P, Montanaro L, Costerton J W. *Biomater*, 2012; 33: 5967