

介质阻挡放电等离子体合成羧基功能薄膜及其细胞黏附性研究

胡文娟¹ 陈 强¹ 谢芬艳² 蔡惠平¹

1 (北京印刷学院印刷包装材料与技术北京市重点实验室 北京 102600)

2 (东莞理工学院 东莞 523808)

摘要 本文的目的是利用介质阻挡放电制备聚丙烯酸生物功能薄膜。利用接触角测量仪,傅立叶变换红外光谱(FT-IR),原子力显微镜(AFM),X 射线光电子能谱(XPS)对功能薄膜进行表征。通过体外细胞培养和富血小板黏附实验,讨论了含有羧基功能团薄膜的结构、成分以及性能对其生物相容性的影响。实验表明:等离子体放电参数对合成羧基功能薄膜的结构和成分有较大影响,且聚合的羧基功能薄膜能较好地促进细胞在其表面的黏附以及生长。

关键词 介质阻挡放电(DBD),羧基薄膜,占空比,细胞黏附

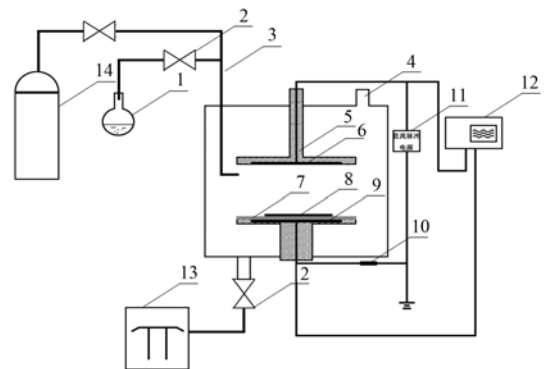
中图分类号 O484.1, O539

等离子体法聚合含有羧基、胺基、羟基、氨基和环氧基等功能基团的薄膜材料,受到广泛重视,特别是其生物医学和生物传感器领域的研究^[1]。在生物医学方面,主要是利用羧基功能团对细胞黏附与生长的促进作用。Loredana D.等^[2]以丙烯酸为单体,用平板式电容耦合射频等离子体源,在连续或脉冲放电模式下聚合丙烯酸薄膜,通过体外细胞培养实验考察了薄膜表面形貌对人成纤维细胞的黏附与生长的影响。David B.Haddow^[3]等以丙烯酸为前驱体,用此法聚合羧基功能薄膜,用离体培养方式促进角化细胞在薄膜表面的黏附与生长,经细胞分化增殖,使薄膜成为“创口贴”式的医用绷带,治疗慢性或溃疡性伤口,该研究成果已开始临床使用。

介质阻挡放电(DBD)放电具有工艺简单、无高真空要求、操作方便、成膜速度快、处理效果好、环境污染小、节能等优点,在材料合成和改性方面应用广泛。用 DBD 放电制备的薄膜,特别是脉冲 DBD 放电合成的薄膜,膜质均匀、与基底结合好、薄膜功能团可控^[4-6]。本文用 DBD,以丙烯酸单体制备 PPAA(plasma polymerized acrylic acid)功能膜,通过改变等离子体放电参数寻求其最佳值,以获得羧基团含量高,稳定性好的羧基功能薄膜。采用各种方法对薄膜的结构及成分变化进行了检测。

1 材料制备与方法

实验在平行板型容式耦合等离子体放电装置上进行。放电室的尺寸 $\Phi 250 \text{ mm} \times 200 \text{ mm}$,极板为 $\Phi 73 \text{ mm}$ (其中绝缘介质为氧化铝,厚 1mm),采用边缘进气。具体的结构如图 1 所示。



1. working gas, 2. valve, 3. inlet duct, 4. vacuum gauge
5. substrate, 6. anode, 7. dielectric layer (quartz), 8. cathode,
9. 50 Ω resistance, 10. intermediate frequency source,
11. oscillograph, 12. pump, 13. Ar bottle
图 1 等离子体聚合实验装置原理图

Fig.1 Schematics of the setup to synthesize PPAA films

实验用丙烯酸(Aldrich 公司,英国)作为放电介质,用 Ar 气作辅助气体,通过 40-50 水浴加热进入反应室内,在一定功率条件下放电产生丙烯酸碎片,在载玻片、单晶硅片(北大微电子中心提供)

国家自然科学基金(10475010)、北京市人才强校拔尖人才计划(PH2(IHLB))、北京市重点实验室开放课题(kf060201)资助

第一作者:胡文娟,女,1982年10月,2009年于北京印刷学院获硕士学位,研究领域为低温等离子体制备薄膜

通讯作者:陈 强

收稿日期:2008-09-08,修回日期:2009-01-18

KBr 压片和圆形盖玻片(首都医科大学提供)等基材上合成 PPAA 功能薄膜,其中 KBr 压片和单晶硅片(n-100)用于红外光谱测试,载玻片用于水的接触角和膜厚测量,圆形盖玻片用于体外细胞培养实验。研究了两种放电模式对合成 PPAA 功能薄膜性能的影响,通过水接触角(WCA)、红外光谱(FT-IR)、X 光电子能谱(XPS)和原子力显微镜(AFM)等测试,分析了薄膜的结构和表面性能,用浸泡实验测试合成薄膜的稳定性,通过体外细胞培养实验测试羧基薄膜对细胞黏附性。

结构分析采用 FTIR-8400 红外光谱仪(岛津公司,日本),精度为 $\pm 4 \text{ cm}^{-1}$;用 CSPM3000 原子力显微镜(北京本原纳米仪器有限公司)研究薄膜的表面形貌,用 DSA100 视频光学接触角测量仪(KRUSS 公司,德国)测量薄膜表面的亲疏水性。

2 结果与讨论

2.1 FTIR 分析

图 2 为丙烯酸单体以及 PPAA 的 FT-IR 谱,聚合条件为脉冲占空比 10%,气压 1000 Pa。丙烯酸单体与 PPAA 薄膜的红外特征吸收峰见表 1。在 $3200\text{--}3400 \text{ cm}^{-1}$ 附近是 $-\text{COOH/R}$ 伸缩振动峰, 2940 cm^{-1} 附近是 $-\text{CH}_x$ 基团的对称伸缩峰, 1730 cm^{-1} 附近是 $-\text{C}=\text{O}$ 基团的振动峰。这些都是 PPAA 薄膜的特征峰,说明基材表面聚合形成了含有羧基功能团的功能薄膜。

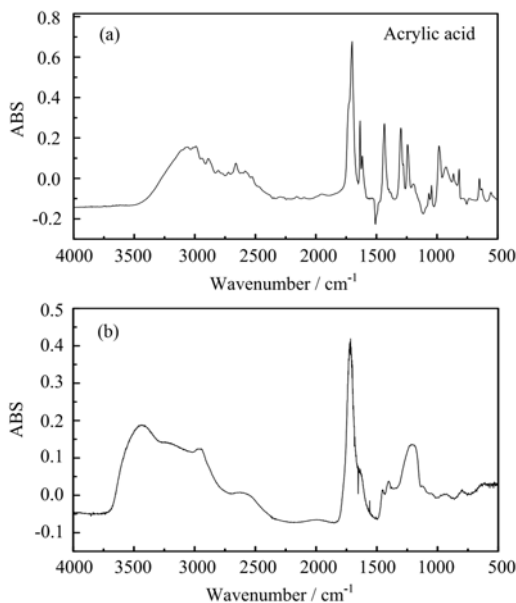


图 2 丙烯酸单体与 PPAA 薄膜的 FT-IR 谱
Fig.2 FT-IR spectra of AA monomer (a) and PPAA films (b)
气压 Gas pressure, 1000 Pa; 脉冲占空比 Duty cycle, 10%; 放电时间 Irradiation time, 20 min; 功率 Power, 20 W

表 1 羧基薄膜的 FT-IR 峰位
Table 1 FT-IR peaks of PPAA films

波数 Wavenumber/ cm^{-1}	振动模式 Oscillating mode	参考 文献 Reference
1630	C=O 振动 C=O oscillation	[5]
1645	C=C 伸缩振动 C=C stretching oscillation	[5]
1700–1730	C=O 伸缩振动 C=O stretching oscillation	[6]
1780–1860	酸酐的振动峰 acid anhydride oscillation	[5]
2800–2900	C-H 振动 C-H oscillation	[6]
3200–3400	$-\text{COOH/R}$ 伸缩振动 $-\text{COOH/R}$ stretching oscillation	[6]

2.1.1 不同气压下脉冲放电模式聚合的 PPAA 膜

图 3 为不同工作气压聚合 PPAA 膜的 FT-IR 谱,脉冲占空比为 10%。1000 Pa 的气压下合成的 PPAA 薄膜的红外结构更接近于丙烯酸单体。可能因为 300 Pa 沉积 PPAA 薄膜时,大量电子轰击基片,刻蚀大于沉积,故沉积薄膜的红外峰较弱;随着气压增加,电子密度增大,电子轰击作用减弱,其引发的薄膜成分交联也减少,薄膜中羧基保留率增加。由此可见,气压对薄膜中羧基含量的影响较大,随沉积气压上升,薄膜的羧基含量呈先增后减趋势。

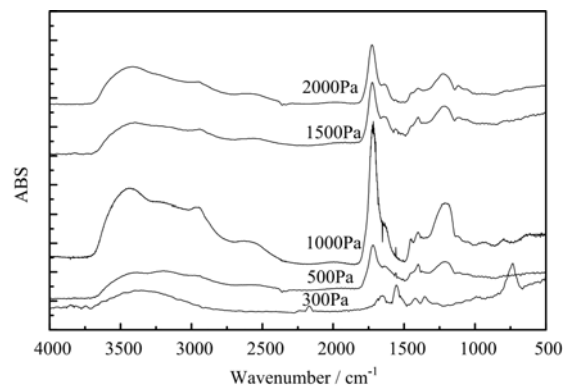


图 3 不同工作气压下脉冲放电模式聚合的 PPAA 薄膜的 FT-IR 谱
Fig.3 FTIR spectra of the PPAA films synthesize under different gas pressures
Duty cycle, 10%; Irradiation time, 20 min; Power, 20 W

2.1.2 不同气压下连续放电模式聚合的 PPAA 膜

图 4 为不同工作气压下连续放电模式聚合的 PPAA 薄膜的 FT-IR 谱。随着气压升高,在 $3200\text{--}3400 \text{ cm}^{-1}$ 处的 $-\text{COOH/R}$ 伸缩振动峰和 1715 cm^{-1} 处的 $\text{C}=\text{O}$ 振动峰都逐渐变弱。在较高气压(500–1000 Pa)合成的 PPAA 膜的红外特征峰明显(薄膜的亲水性好,见下文),这可能是气压较高时的电子平均能量较低,可避免大量打断官能团,从而薄膜中保留了较多的单体结构^[7]。

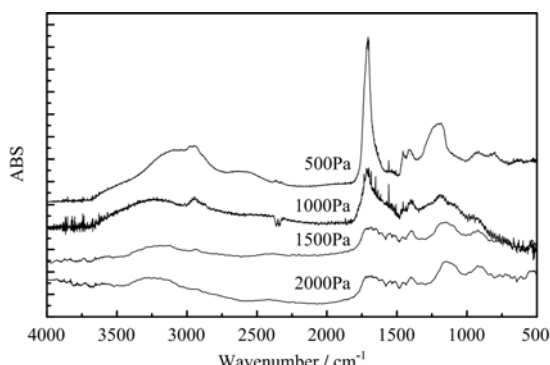


图 4 不同的工作气压下连续放电模式聚合的 PPAA 薄膜的红外光谱图

Fig.4 FTIR spectra of the PPAA films synthesized under different gas pressures at continuous discharging (Irradiation time, 20 min; HV, 7.5 kV)

2.1.3 不同脉冲占空比下聚合的 PPAA 膜

工作气压为 2500 Pa, 在不同脉冲占空比下聚合的 PPAA 薄膜的 FT-IR 谱见图 5。羧基聚合物的特征峰(1730 cm^{-1} 和 3400 cm^{-1} 处为 C=O 与 OH, 1645 cm^{-1} 附近为 C=C 的峰)随着脉冲占空比的减少而增强, 即羧基团的含量增加。这可能是占空较小时电子打断单体基团的数量较少, 有较长的时间使自由基引发聚合, 从而保留较高的功能团密度。同时 C=C 含量也随脉冲占空比的增大而减小, 可见薄膜中保留了大量未发生聚合的单体结构。占空比越小, 薄膜与单体成分越接近, 羧基功能团的保留率越高。

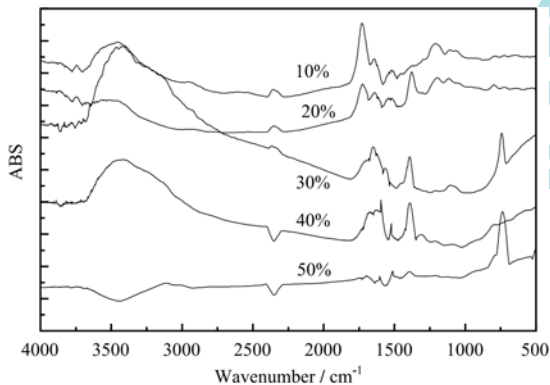


图 5 不同占空比下聚合的羧基功能薄膜的红外光谱图

Fig.5 FTIR spectra of the PPAA functional films dependent on the duty cycle in pulsed plasma (Gas pressure, 2500 Pa; Irradiation time, 20 min; Power, 20W)

2.2 亲水性分析

接触角测量取 2 μL 去离子水滴于膜上, 在不同位置测量 5 次接触角取平均值。未处理载玻片的接触角为 28°, 而不同气压下聚合的 PPAA 膜的接触角都小于 20°(图 6), 300 Pa 下聚合的 PPAA 膜的接触角为 18°, 而 1000 Pa 下聚合的 PPAA 膜的接触角小于 10°, 已接近完全润湿的表面。这表明薄膜表面聚合有大量的极性基团而具有超亲水性能。

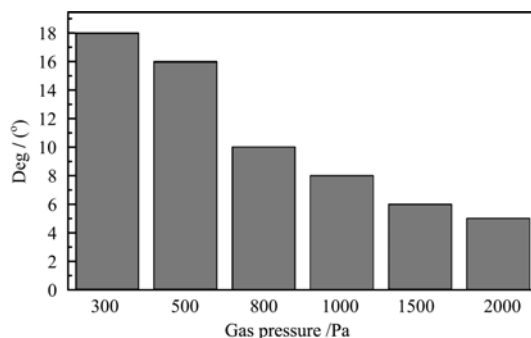


图 6 不同气压对 PPAA 薄膜水接触角的影响

Fig.6 WCA of PPAA functional films dependent on the gas pressure (Irradiation time, 20 min; HV, 7.5 kV)

2.3 对细胞黏附性的影响

将传至第二代的成纤维细胞, 用 2.5 g/L 胰蛋白酶消化, 吹打, 离心, 制成单细胞悬液, 调制细胞密度为 $1 \times 10^4/\text{mL}$, 种于置有基片的 24 孔板中, 每孔 2 mL。分别培养 3 h、12 h、24 h 后在倒置相差显微镜下观察。

2.3.1 脉冲模式聚合薄膜

在气压为 1000 Pa、功率为 20W、占空比=10% 等条件下, 研究了 PPAA 羧基功能薄膜对细胞黏附的测试的结果(图 7)。空白基片对成纤维细胞的黏附极少, 而 PPAA 膜能有效促进细胞在其表面的黏附, 经 12 h 培养, PPAA 膜上黏附的细胞多于空白基片, 细胞大部分为圆形或是多边形。经 24 h 培养, PPAA 膜上的细胞形态发生明显的变化, 大多数呈长梭形, 薄膜上的细胞铺展平滑, 且有细胞聚集的趋势。

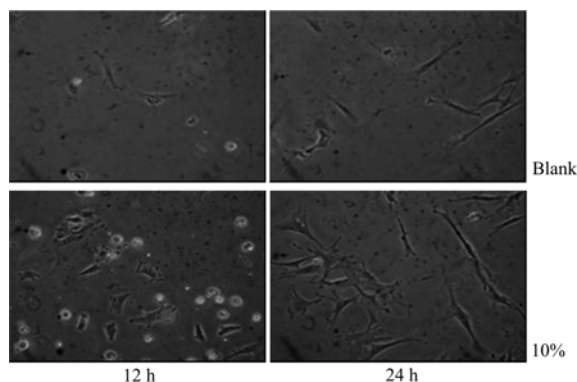


图 7 脉冲模式聚合羧基功能薄膜对细胞的黏附性
Fig.7 Fluorescence images of cell adhesion on polyacrylic acid films polymerized by plasma pulses (Gas pressure, 2500 Pa; Irradiation time, 20 min; Power, 20W)

2.3.2 连续模式聚合薄膜

在连续模式下, 工作电压为 7.5kV, 在不同工作气压下聚合 PPAA 膜, 测试了它们的细胞黏附性(图 8)。经 12 h 培养, 羧基功能薄膜上黏附的细胞稍多于空白基片, 且 500 Pa 下的聚合膜黏附的细胞

有少量的细胞聚集。经 24 h 培养, 羧基功能薄膜上黏附的细胞明显增多, 细胞发生取向性的聚集。其中, 在 500 Pa 下的聚合膜上, 细胞铺展取向的规整性最高。这可能在于 500 Pa 下制备薄膜的 C=O 的特征峰最为强烈(图 4), 且亲水性适当^[8]。

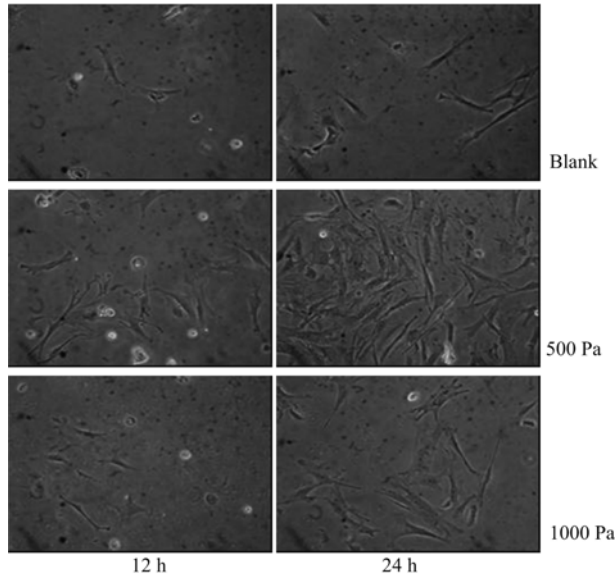


图 8 连续模式聚合羧基功能薄膜对细胞的黏附性
Fig.8 Cell adhesion on polyacrylic acid films polymerized by continuous plasma under different gas pressures (Irradiation time, 20 min; HV, 7.5 kV)

3 结论

本文以丙烯腈为放电介质, Ar 作为辅助气体, 采用脉冲和连续两种放电模式, 合成羧基聚合物。研究在不同放电参数下, 羧基功能薄膜的结构和性能。通过实验我们得出了以下结论:

(1) 等离子体放电参数, 如气压、占空比和放电模式是影响聚合羧基薄膜结构的主要因素;

(2) DBD 等离子体制备的薄膜表面较为均匀、光滑、且水接触角最小可降低到 10° 以下, 具有超亲水性;

(3) DBD 放电制备的羧基功能薄膜能有效的促进成纤维细胞在其表面的黏附以及生长。

参考文献

- 1 Szili E, Thissen H, Hayes J P, *et al.* Bioelectron, 2004, **19**(11): 1395–1400
- 2 Loredana D, Rorberto G, Giorgio S, *et al.* Biomaterials, 2005, **26**(18): 3831–3841
- 3 Haddow D B, MacNeil S, Robert D, *et al.* Plasma Processes and Polymers, 2006, **3**(6): 419–430
- 4 陈强, 张跃飞, 葛袁静, 等. 包装工程, 2005, **26**(2): 12–13
CHEN Qiang, ZHANG Yuefei, GE Yuanjing, *et al.* Packaging Engineering, 2005, **26**(2): 12–13
- 5 Ryan M E, Hynes A M, Badyal J P S. Chem Mater, 1996, **8**(1): 37–42
- 6 Rossini P, Colpo P, Ceccone G, *et al.* Science and Engineering, 2003, **C23**: 353–358
- 7 Favia P. Surface and Coatings Technology, 2003, **169-170**: 609–611
- 8 贝建中, 屈雪, 王身国. 北京生物医学工程, 2005, **24**(1): 64–68
BEI Jianzhong, QU Xue, WANG Shenguo. Beijing Biomedical Engineering, 2005, **24**(1): 64–68

Acrylic acid functional films polymerized by DBD and its cell adhesion behaviors

HU Wenjuan¹ CHEN Qiang¹ XIE Fenyan² CAI Huiping¹

¹(Laboratory of Plasma Physics and Materials, Beijing Institute of Graphic Communication, Beijing 102600, China)

²(Dongguan Institute of Technology, Dongguang523808, China)

Abstract The study was aimed at producing plasma polymerized acrylic acid (PPAA) functional coating for biomedical applications. Dielectric barrier discharge (DBD) was used to deposit functional films from acrylic acid vapors. The films were characterized by water contact angle, Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and atomic force microscopy (AFM). By *in vitro* cell culture and rich blood platelet adhesion tests, effects of the film structure and chemical components on biocompatibilities of the films were studied. The results show that plasma parameters of pulse frequency, plasma power, discharge mode, gas pressure, and duty cycle, have great influence on PPAA coatings, and efficient cell adhesion of the PPAA coatings surface was demonstrated. Biological effects of the functional coatings were discussed in detail.

Key words Pulsed dielectric barrier discharge, PPAA, Duty cycle, Cell adhesion

CLC O484.1, O539