

## DBD等离子体合成羧基功能薄膜及其细胞吸附性研究

胡文娟<sup>1</sup>, 陈强<sup>1\*</sup>, 谢芬艳<sup>1,2</sup>, 蔡惠平<sup>1</sup>

1-北京印刷学院印刷包装材料与技术北京市重点实验室, 北京大兴, 102600

2-东莞理工学院, 广东东莞, 523808

**摘要:** 本文使用介质阻挡放电装置, 以丙烯酸为反应单体, 在不同的基材表面聚合羧基功能薄膜。利用接触角测量仪, 傅立叶变换红外光谱(FTIR), 原子力显微镜(AFM), X射线光电子能谱(XPS)对功能薄膜的性能、结构、成分以及表面形貌进行测试表征。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, 对功能薄膜与细胞之间相互作用进行了初步的研究。实验表明: 等离子体放电参数, 例如电源频率、工作气压、功率、占空比等, 对合成羧基功能薄膜的结构与成分有较大的影响, 且聚合的羧基功能薄膜能较好地促进细胞在其表面的吸附以及生长。

**关键词:** DBD 放电, 羧基薄膜, 占空比, 细胞吸附

\* chenqiang@bigc.edu.cn, Tel: 010-6026-1099, Fax: 010-6026-1108

## Acrylic Acid functional films polymerized by DBD and its cell adsorption behaviors

Wenjuan Hu<sup>1</sup>, Qiang Chen<sup>1\*</sup>, Fenyan Xie<sup>2</sup>, Huiping Cai<sup>1</sup>

1- Laboratory of Plasma Physics and Materials, Beijing Institute of Graphic Communication, 102600, Beijing, China; 2- Dongwan Institute of Technology, 523808, Guangdong, China

**Abstract:** Plasma polymerized acrylic acid (PPAA) coatings are carried out by using acrylic acid as a precursor in a dielectric barrier discharge (DBD). The film properties have been characterized by water contact angle, Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and atomic force microscopy (AFM). By in-vitro cell culture and rich blood platelet adsorption tests, the influence of film structures, chemical components as well as its biocompatibilities were studied. The biological effect of functional coatings was also discussed in detail. The results show that plasma parameters, such as source frequency, plasma power, discharge mode, gas pressure, duty cycle, have great influence on PPAA coatings, and the very efficient cell adsorption behaviors was demonstrated on PPAA coatings surface.

**Key words:** pulsed dielectric barrier discharge, PPAA, duty cycle, cell adsorption

### 0 前言

等离子体方法聚合含有功能基团的薄膜材料, 包括羧基、胺基、羟基、氨基和环氧基等功能基团, 越来越受到广泛的重视。尤其在生物医学和生物传感器领域, 是目前该领域研究的热门和以后应用的重点<sup>[1]</sup>。

在生物医学方面, 主要是利用羧基功能团对细胞的黏附与生长具有促进的作用。Loredana D.等的研究小组就以丙烯酸为反应单体, 在连续与脉冲两种放电模式下聚合丙烯酸薄膜, 并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<sup>[2]</sup>。David B.Haddow<sup>[3]</sup>等人也



## 2 试验结果与分析

## 2.1 FTIR 结构成分分析

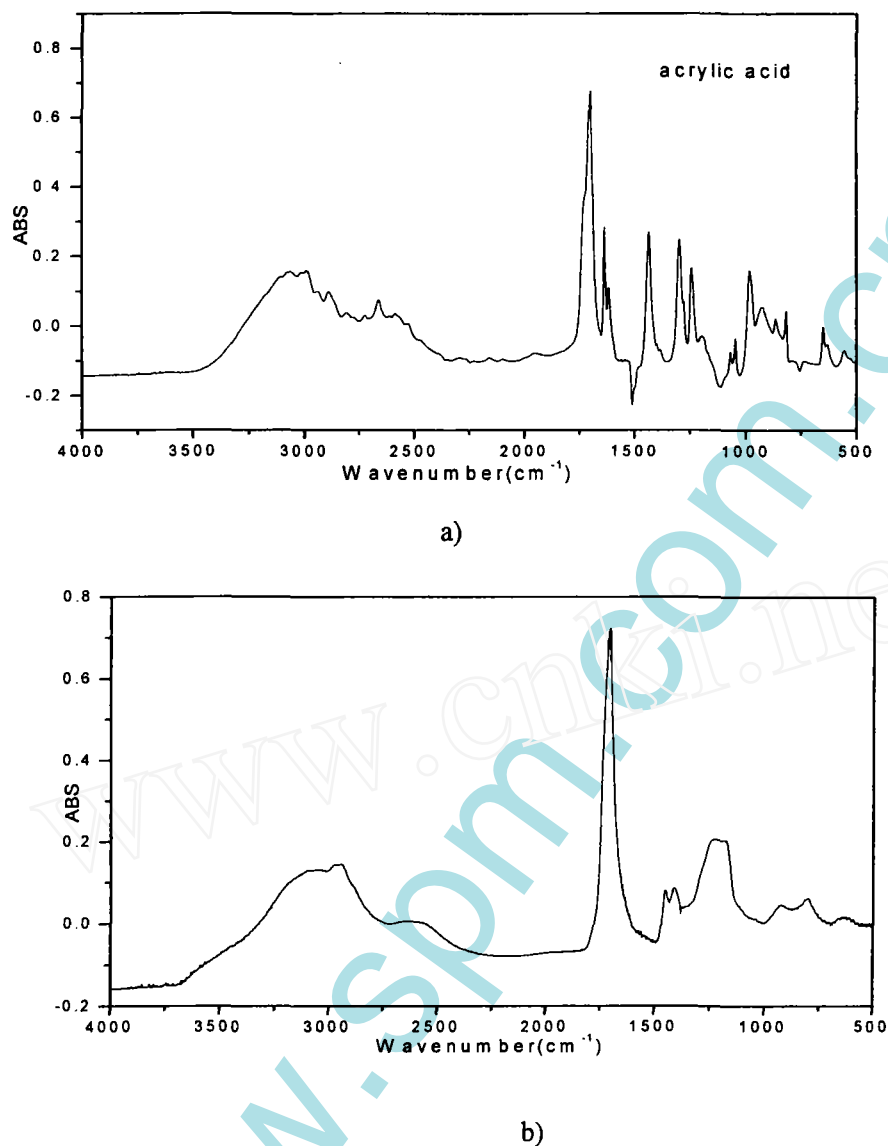


图2为丙烯酸单体(a)以及等离子体聚合得到的聚丙烯酸(b)红外光谱图

图2为丙烯酸单体以及等离子体聚合得到的聚丙烯酸红外光谱图。丙烯酸单体以及聚合羧基功能薄膜所对应的红外特征吸收峰如表1中所示。观察比较红外光谱图可以发现,在 $3200\text{ cm}^{-1}$ 附近对应的是一OH基团的伸缩振动峰, $2940\text{ cm}^{-1}$ 附近对应的是 $-\text{CH}_x$ 基团的对称伸缩峰, $1730\text{ cm}^{-1}$ 附近对应的是一C=O基团的振动峰,这些作为PAA薄膜的特征峰都很明显。说明在等离子体放电的情况下基材表面聚合形成了含有羧基功能团的功能薄膜。

表1 羧基薄膜的红外吸收光谱

波数 $\text{cm}^{-1}$	振动模式	参考文献
1600	羧酸振动峰	[4]
1630	羰基振动峰	[4]
1645	C=C 伸缩振动	[5]

1700-1730	羧基羰基 C=O 伸缩振动	[6]
1780	酸酐的振动峰	[4]
1860	酸酐的振动峰	[4]
2800-2900	C-H 振动	[6]
3400	O-H 伸缩振动	[6]

2.1.1 不同放电模式下的气压变化

2.1.1.1 MD 下的气压变化

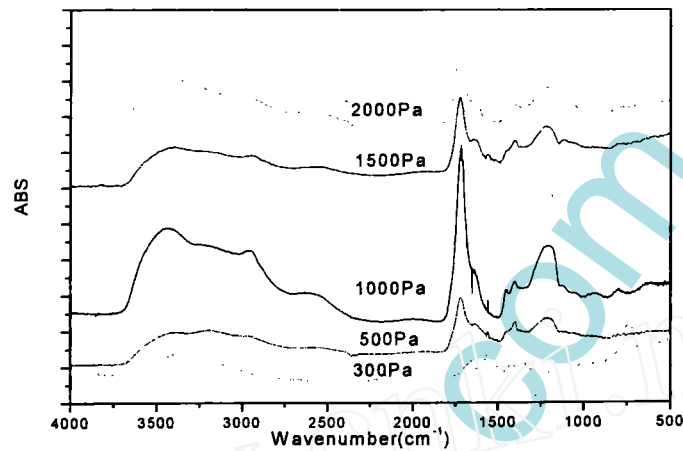


图 3 不同的工作气压 (MD) 下聚合羧基功能薄膜的红外光谱图

如图 3 所示的为脉冲放电下不同工作气压所聚合的羧基功能薄膜的红外谱图, 在  $3400\text{ cm}^{-1}$  附近对应的是一OH 基团的伸缩振动峰,  $2940\text{ cm}^{-1}$  附近对应的是-CH<sub>x</sub> 基团的对称伸缩峰,  $1730\text{ cm}^{-1}$  附近对应的是一C=O 基团的振动峰。分析表明, 1000Pa 的高气压条件下所合成的 PAA 功能薄膜, 其红外结构更接近于丙烯酸单体的红外结构。从红外的分析图谱来看, 气压对薄膜中羧基含量的影响较大, 随着沉积气压的变化, 薄膜中的羧基含量相对先增加后减少。

2.1.1.2 CW 下的气压变化

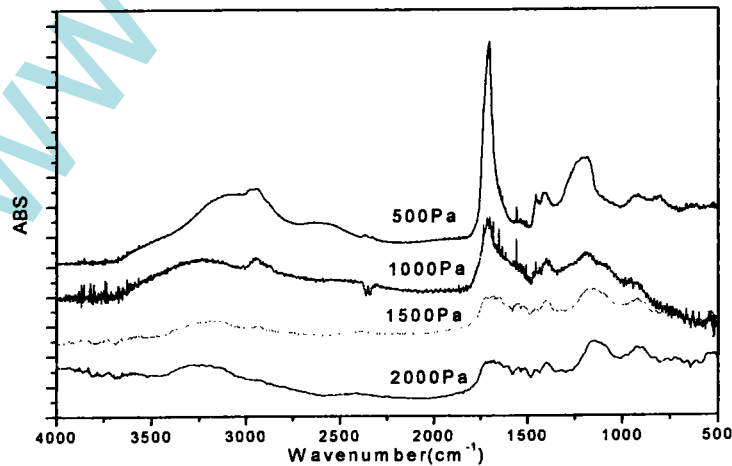


图 4 不同的工作气压 (CW) 下聚合羧基功能薄膜的红外光谱图

如图 4 所示的为连续放电下不同工作气压所聚合的羧基功能薄膜的红外谱图,在  $3400\text{ cm}^{-1}$  附近对应的是一OH 基团的伸缩振动峰,  $2940\text{ cm}^{-1}$  附近对应的是-CH<sub>x</sub> 基团的对称伸缩峰,  $1730\text{ cm}^{-1}$  附近对应的是一C=O 基团的振动峰。随着气压的升高,在  $3200\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$  处的 -COOH/R 伸缩振动峰峰值逐渐变弱,同样在  $1715\text{ cm}^{-1}$  处的 C=O 振动峰也逐渐变弱。进一步分析表明,  $500\text{ Pa--}1000\text{ Pa}$  的较高气压条件下所合成的 PAA 功能薄膜,其红外特征峰明显,薄膜的亲水性好。

### 2.1.2 MD 下的占空比变化

图 5 为在不同脉冲占空比条件下等离子体聚合羧基功能薄膜的红外光谱图。从聚合的羧基功能薄膜的红外谱图中可以观察发现,在羧基聚合物中  $1730\text{ cm}^{-1}$  和  $3400\text{ cm}^{-1}$  处的明显观察到了 C=O 与 OH 的特征峰,  $1645\text{ cm}^{-1}$  附近也出现 C=C 的峰。而且随着脉冲占空比的减少,羧酸基团的含量增加,原因可能为当占空比较小时,电子打断单体中基团的数量较少,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。

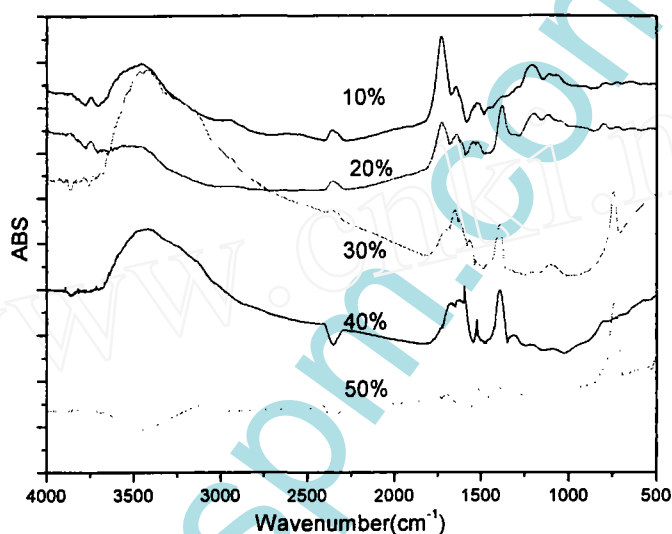


图 5 不同占空比下聚合的羧基功能薄膜的红外光谱图

### 2.1.3 CW 下的电源频率变化

图 6 为不同的放电频率所聚合羧基功能薄膜红外光谱图。从图中可以知道,在  $40\text{--}60\text{ kHz}$  的电源频率条件下,聚合的羧基功能薄膜在  $3400\text{ cm}^{-1}$  附近对应的是一OH 基团的伸缩振动峰,  $2940\text{ cm}^{-1}$  附近对应的是-CH<sub>x</sub> 基团的对称伸缩峰,  $1730\text{ cm}^{-1}$  附近对应的是一C=O 基团的振动峰均较为明显,而其他的电源频率则相反。原因可能是:在稳定放电条件下,DBD 放电功率密度与放电频率成正比,即放电频率越高,DBD 放电功率密度越大,等离子体刻蚀作用增强,聚合薄膜质量差。

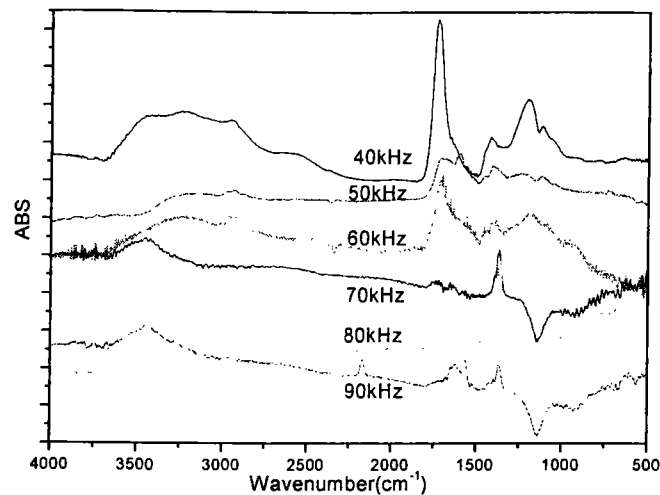


图6 不同的放电频率下聚合羧基功能薄膜的红外光谱图

## 2.2 亲水性分析

在接触角测量实验中,去离子水为介质,每个液滴的大小均为 $2\mu\text{L}$ ,每个样品在不同位置测量5次并取接触角的平均值。与未处理载玻片的接触角为 $28^\circ$ 相比,在不同放电模式聚合的PAA功能薄膜的接触角都有不同程度的降低,基本上都低于 $20^\circ$ 。图7中所示是不同气压条件下脉冲等离子体沉积PAA薄膜的水接触角测试结果,聚合有PAA层的薄膜接触角都有较大程度的降低,这表明所制备的PAA薄膜具有超级亲水的表面性能。在 $300\text{Pa}$ 条件下PAA薄膜的接触角为 $18^\circ$ ,而气压增大到 $1000\text{Pa}$ 以上时的接触角可降低到 $10^\circ$ 以下,这说明随着气压的增大,接触角逐渐降低,已接近能够完全润湿的表面。主要原因可能是PAA薄膜表面已经聚合了大量极性的基团,导致薄膜具有超亲水性能。

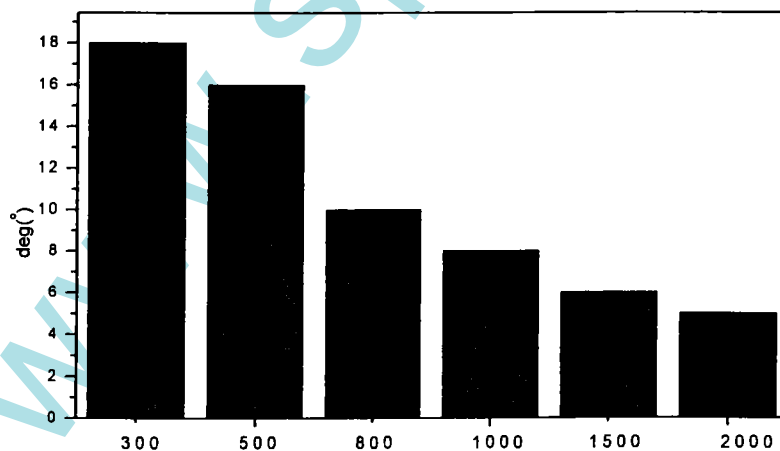


图7 不同气压对PAA薄膜水接触角的影响

## 2.3 羧基功能薄膜对细胞吸附性的影响

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

相差显微镜下观察结果，并拍照。

### 2.3.1 脉冲占空比条件下聚合的羧基功能薄膜对细胞的吸附性影响

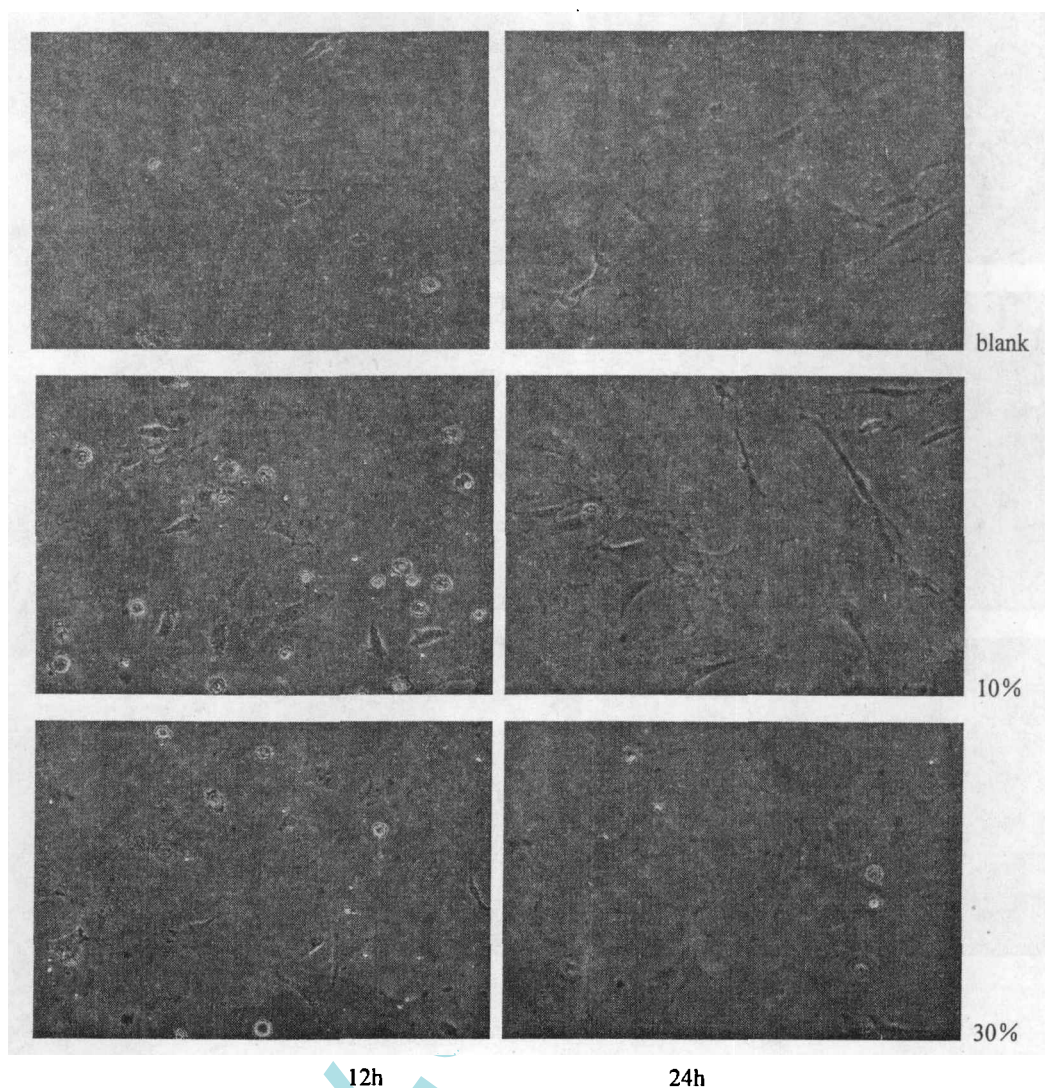


图 8 不同脉冲占空比下聚合羧基功能薄膜对细胞的吸附

如图 8 所示的为不同不同脉冲占空比条件下等离子体聚合的羧基功能薄膜对细胞吸附的测试的结果。空白基片对成纤维细胞的吸附极少，而羧基功能薄膜能有效的促进细胞在其表面的黏附，在经过 12h 的培养后，羧基功能薄膜上黏附的细胞比空白基片要多，细胞大部分为圆形或是多边形；经过 24h 的培养后，羧基功能薄膜上的细胞形态发生明显的变化，大多数呈长梭形。其中在脉冲占空比为 10% 时制备的羧基功能薄膜上的细胞铺展平滑，且有细胞聚集的趋势。

### 2.3.2 不同气压聚合的羧基功能薄膜对细胞的吸附性影响

如图 9 所示的为不同工作气压条件下等离子体聚合的羧基功能薄膜对细胞吸附的测试的结果。经过 12h 的培养后，羧基功能薄膜上黏附的细胞稍多于空白基片，且在连续 500Pa 条件下聚合的羧基功能薄膜黏附的细胞有少量的细胞聚集；经过 24h 的培养后，羧基功能薄膜上黏附的细胞明显的增多，细胞发生取向性的聚集。其中在连续 500Pa 时制备的羧基功能薄膜上的细胞铺展取向的规整性高于其他条件下的羧基功能薄膜。可能的原因在于在连续 500Pa 的条件下制备的羧基功能薄膜所

对应的 C=O 的特征峰最为强烈，且薄膜的亲水性适当<sup>[7]</sup>。

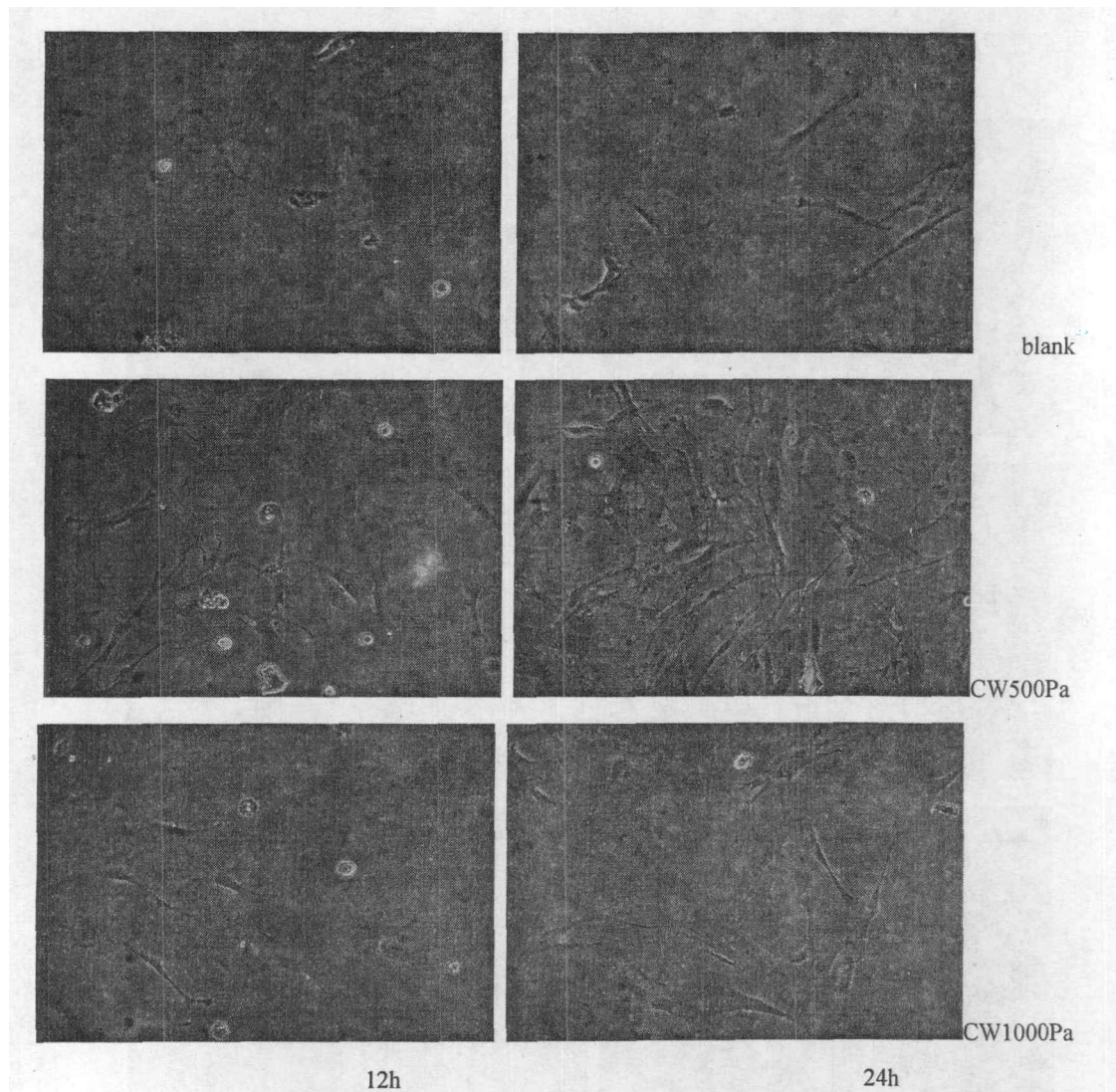


图9 不同气压下聚合羧基功能薄膜对细胞的吸附

### 3 结论

本文以丙烯酰胺为单体, Ar 作为工作气体, 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、功率、电源频率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  $10^\circ$  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;

### 4、参考文献:

- [1] E. Szili, H. Thissen, J. P. Hayes, N. Voelcker- Biosens. Bioelectron. 19, 1395(2004)
- [2] Loredana D., Rorberto G., Giorgio S. et al. Stable plasma-deposited acrylic acid surfaces for cell culture applications [J]. Biomaterials. 26, 2005:3831-3841
- [3] David B.Haddow, Sheila MacNeil, Robert D. et al. A cell therapy for chornic wounds based upon a



- plasma polymer delivery surface[J].Plasma Processes and Polymers.2006(3): 419—430
- [4] Ryan M. E., Hynes A. M., and Badyal J. P. S. Chem. Mater. 1996, 8(1):37-42
- [5]M. E. Ryan, A. M. Hynes, and J. P. S. Badyal. Pulsed Plasma Polymerization of Maleic Anhydride. Chem. Mater. 1996, 8(1): 37-42
- [6] P. Rossini, P. Colpo, G. Ceccone et al. Surfaces engineering of polymeric films for biomedical applications Materials. Science and Engineering. 23, 2003: 353-358
- [7]贝建中,屈雪,王身国.生物材料与细胞的相互作用[J].北京生物医学工程, 2005,24(1): 64—68