

RF-PECVD 聚合类聚乙烯氧(PEO-like)薄膜 及其对血小板吸附性研究

胡文娟¹ 谢芬艳¹ 付亚波¹ 陈强^{1*} 翁静²

(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. 首都医科大学基础医学部 北京 100069)

Surface Adsorption of Platelet-Rich Plasma of Polyethylene Oxide Like Films

Hu Wenjuan¹, Xie Fenyan¹, Fu Yabo¹, Chen Qiang^{1*}, Weng Jing²

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

2. School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract The polyethylene oxide like (PEO-like) functional films were polymerized by plasma enhanced chemical deposition (PECVD) on p-type Si(100) substrates with ethylene glycol dimethyl ether (EGDME) as the precursor. The continuous wave (CW) and pulsed plasmas were used. The influence of the film polymerization conditions, such as plasma power, Ar flow rate, pressure, discharge (CW or pulsed) modes and substrate temperature, polymerization time on the protein adsorption of the functional films was studied. The microstructures and chemical composition of the films were characterized with atomic force microscopy (AFM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and water contact angle (WCA) measurement. The results show that a judicious choice of polymerization conditions significantly affects the performance of the functional films. The fairly stable PEO-like films, which strongly adsorb platelet-rich plasma (PRP), can be polymerized by RF PECVD technique under the conditions of CW plasma with small power, or under the pulsed plasma with high duty cycle.

Key words RF-PECVD PEO-like Platelet-rich plasma (PRP) adsorption

摘要 本文采用平板式电容耦合射频(RF, 13.56MHz)等离子体源,以乙二醇二甲基醚(Ethylene Glycol DiMethyl Ether)为聚合单体,氩气为辅助气体,在连续与脉冲射频等离子体两种放电模式下合成类聚乙烯氧(PEO-like)功能聚合薄膜。实验研究了等离子体放电参数:等离子体放电功率、工作气压、放电模式(连续或脉冲)和聚合时间等对聚合物表面结构、功能团含量、表面成分性能以及和血小板吸附等影响。利用接触角测定仪(WCA)、傅里叶变换红外光谱(FTIR)、原子力显微镜(AFM)等手段对聚合薄膜的结构、成分和形貌进行细致的分析。同时本文还进行体外细胞培养法,研究了类PEO功能薄膜对富血小板的吸附,通过倒置显微镜观察细胞黏附的数量和形态变化。得到的结论为:采用RF-PECVD可以在较小功率的连续等离子体放电模式,或较长脉冲间隔的脉冲放电模式下得到结构稳定的PEO生物功能薄膜,所制备的PEO生物功能薄膜具有良好的抗血小板吸附性能。

关键词 RF-PECVD PEO-like 血小板吸附

中图分类号:TB34.0646.9 文献标识码:A 文章编号:1672-7126(2009)01-085-05

(类)聚乙烯氧(PEO)具有较好的化学稳定性,它既耐酸又耐碱^[1]、毒性低、具有较高的亲水性和流动性、呈现出良好的生物惰性、可抵抗多种蛋白质和血细胞的粘附,是一种改善高分子材料血液相容性的理想材料^[2-3]。

在有机薄膜表面制备聚乙烯氧或类-聚乙烯氧(PEO-like)薄膜方法,主要为物理吸附和化学接枝或合成。如 Evelyn Meyer 和 Hans-Georg Braun^[4]采用浸渍涂布方法制备 PEO 薄膜。此物理方法制备 PEO 薄膜通常结构不稳定,尤其是在一些低表面能的基

收稿日期:2008-03-28

基金项目:国家自然科学基金(No. 1775017);北京市留学人员重点基金、北京人才强校拔尖人才计划(PHR(IHLB)),印刷包装材料与技术北京市重点实验室开放课题(No. KF060201)资助

*联系人:Tel:(010)60261099;Fax:(010)60261108;E-mail:chenqiang@bigc.edu.cn

材如 PET、PP 以及尼龙等表面涂覆时更是如此。M. Manso-Silvaen 等^[5]用旋转涂布的方法先在单晶硅表面沉积一层 PEO 薄膜,然后用离子束处理,改变其分子结构,提高稳定性,得到晶体结构的 PEO 薄膜。

接枝方法制备 PEO 具有很强的选择性,只能在一些特定的基材表面才能发生。如 P. Kingshott 等^[6]在含有胺基的功能材料表面才能用共价接枝的方法制备 PEO 薄膜。

化学合成制备的 PEO 薄膜质量受分子量的影响较大。例如哈尔滨工业大学的陈国荣等^[7]利用低分子量 PEG(M = 400)合成了高分子量的 PEO 嵌段聚合物。采用电渗析除尽了经常规方法(吸附、过滤、沉淀等)所不能除尽的微量杂质,得到纯化产物。但产物分子链较柔顺,成膜性较差。

利用等离子体技术制备的薄膜具有表面无针孔、膜质均匀和基体的结合力强、聚合效率高速度快等优点^[8-10],合成 PEO-like 可以保持化学方法的结构优点,同时可以克服了利用物理吸附和化学合成或接枝方法时的不足:聚合产物的结构不稳定^[4]、对制备条件也有诸多的限制^[6]等因素,是目前 PEO-like 薄膜应用于生物细胞吸附研究的主要合成方法。但是,迄今为止,有关等离子体聚合 PEO (or-like)的研究尚处于起步阶段,还有许多问题尚待研究^[11]。

本文报道了采用射频(13.56MHz)等离子体,以乙二醇二甲基醚(Ethylene Glycol DiMethyl Ether)为聚合单体,氩气为辅助气体,合成类聚乙烯氧(PEO-like)功能聚合薄膜。并且通过接触角测定仪(WCA)、傅里叶变换红外光谱(FTIR)和原子力显微镜(AFM)等对所制备的薄膜进行结构、成分和形貌分析,研究等离子体参数的影响,同时进行了体外细胞培养实验。

1 实验

类 PEO 薄膜的制备是在平板式电容耦合等离子体化学气相沉积装置上进行。平行板电极间距为 50mm,13.56MHz 射频源通过匹配器耦合输入到下电极,上电极接地,基片放置于下电极表面。单体乙二醇二甲基醚由辅助电离气体 Ar 载入,从上极板表面均匀分布的小孔进入真空室。装置本底真空在 3Pa 以下,在通入单体后,由 RF 电源的激发下,在反应腔内形成均匀的等离子体,在基片表面进行化学气相聚合。实验装置简图见图 1。

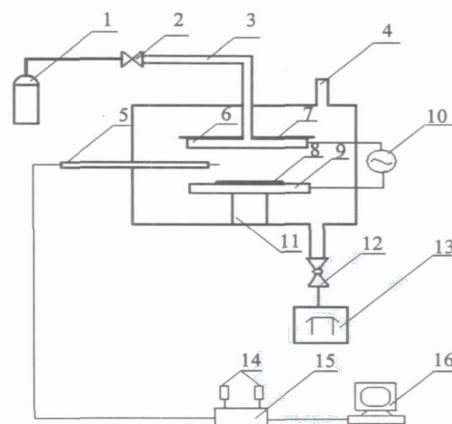


图 1 等离子体实验装置简图(1 工作气体 2 阀 3 进气管 4 真空计 5 朗缪尔探针 6 上电极 7 玻璃挡板 8 基片 9 下电极 10 射频(RF)发生器 11 支架 12 阀 13 机械泵 14 直流电源 15 朗缪尔探针扫描电源 16 计算机)

Fig. 1 Schematic diagram of the plasma setup for PEO (-like) polymerization (1. work gas; 2. valve; 3. inlet duct; 4. vacuumeter; 5. Langmuir probe; 6. anode; 7. glass baffle; 8. substrate; 9. cathode; 10. RF-generator; 11. holder; 12. valve; 13. pump; 14. DC source; 15. Langmuir probe scan source; 16. computer)

为了便于对聚合薄膜的结构性能分析,基片采用不同的材料:在 KBr 表面上聚合薄膜进行 FTIR 分析;在 p-Si(100)表面聚合薄膜用于:(1)原子力显微镜(AFM)的表面形貌分析;(2)类 PEO 功能薄膜对富血小板以及蛋白细胞的吸附。而 PEO-like 薄膜聚合在载玻片上则主要研究薄膜的表面亲/疏水性能等。其中除 KBr 压片,其它基片在放入真空室之前,都在乙醇或丙酮溶液中超声清洗 10min,用吹风机吹干后备用;放入真空室腔体后,再用 50W 氩等离子体清洗 5min。

单体乙二醇二甲基醚(百灵威化学药品试剂公司)为购买的商品,没有再提纯;辅助气体氩气为 99.9%。

在材料性能分析中,接触角(WCA)测试采用 JY-82 接触角仪,以水为介质;表面张力测试使用德国 KRUESS 公司的 K100 表面张力测试仪,去离子水和乙醇为介质,结果为五个数据的平均值;红外光谱测试(FTIR)使用日本岛津公司的 FTIR-8400 红外光谱仪,精度为 $\pm 4\text{cm}^{-1}$;表面形貌分析采用本原生产的 CSPM4000 扫描探针显微镜。

富血小板黏附实验的过程如下:将新鲜抗凝

的兔血离心 20min,速度为 1000r/min,取上部富血小板血浆,将试样移入到 24 孔板中,将样品置于 37 水浴恒温振荡摇床中培养 2h,再经生理盐水溶液漂洗三次,然后在倒置显微镜下观察并拍照,从而考查薄膜的血液相容性。

2 结果与分析

2.1 FTIR

图 2 为单体和等离子体聚合的薄膜 FTIR 谱图。与单体乙二醇二甲基醚相比,在连续等离子体放电模式(CW)下聚合薄膜具有典型的 C-O-C(EO)结构。从图 2(b)中可以看出,单体在 1300cm^{-1} 、 1500cm^{-1} 和 $1000\text{cm}^{-1} \sim 1200\text{cm}^{-1}$ 处的 C-O-C 特征吸收峰在聚合薄膜中都表现出来。图中 1124cm^{-1} 出现了比较强的吸收峰,所对应的是 C-O-C 的反对称伸缩振动,比单体图 2(a)所示的 C-O-C 吸收峰 1130cm^{-1} 略往低频方向偏移,表明等离子体聚合的薄膜中可能存在的共价作用加强,但峰的半高宽度明显加宽。图 2(a)中 1400cm^{-1} 处为 CH_2 的振动,由于与氧相连,比图 2(b)中的 CH_2 的 1456cm^{-1} 也略向低频方向移动^[12]。而 2920cm^{-1} 和 2851cm^{-1} 处的 $-\text{CH}_2-$ 键的 $_{\text{as}}\text{C}-\text{H}$ 和 $_{\text{s}}\text{C}-\text{H}$ 振动在聚

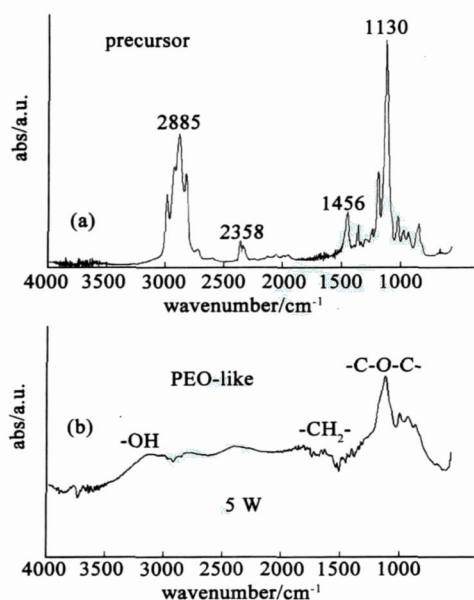


图 2 RF-PECVD 聚合 PEO-like 薄膜的红外光谱图。(a) 乙二醇二甲基醚单体; (b) 等离子体聚合类-PEO (CW, 5W, 40Pa, 30min, monomer Ar = 1 1)

Fig. 2 FTIR spectra of PEO (-like) polymerized by PECVD. (a) precursor EGDME; (b) PEO-like (CW, 5W, 40Pa, 30min, monomer Ar = 1 1)

合物的结构中明显较低。

2.1.1 功率的影响

图 3 为放电功率对薄膜结构影响的 FTIR。从图中可以看出,在连续放电模式下,低功率聚合的薄膜在 1124cm^{-1} 处出现了比较强的吸收峰,所对应的是 C-O-C 的反对称伸缩振动。随着功率的升高,峰的强度降低,半高宽增大,表明在功率较高的条件下,由于能量增加、碰撞离解增强,不利于醚键官能团的形成,聚合物中醚键官能团结构的保存较少。此外,接触角测试的结果表明:接触角随着功率的增加而增大。这与红外分析的结果一致:低功率条件下,薄膜中极性基团 EO 含量高,薄膜的亲水性好。

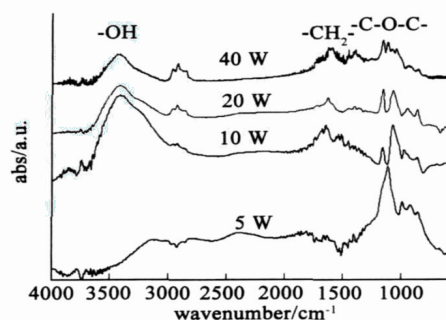


图 3 连续放电条件下功率对类 PEO 薄膜红外结构的影响 (CW, 40Pa, 30min, monomer Ar = 1 1)

Fig. 3 FTIR spectra of the PEO-like films at different plasma powers (CW, 40Pa, 30min, monomer Ar = 1 1)

2.1.2 脉冲放电占空比的影响

图 4 为脉冲放电模式下脉冲占空比对薄膜成分的影响。由图可知,EO 特征功能基团在 $(1100 \pm 5)\text{cm}^{-1}$ 反对称伸缩振动相对较大的脉冲占

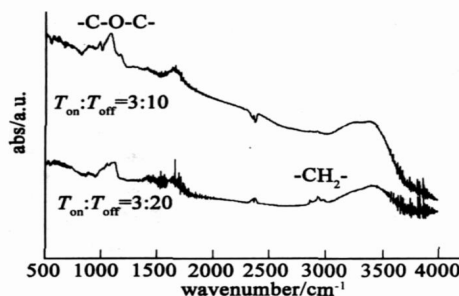


图 4 脉冲放电条件下占空比对类-PEO 结构的影响红外光谱图 (5W, 40Pa, 30min, monomer Ar = 1 1)

Fig. 4 FTIR spectra of the PEO-like functional film dependent on the duty cycle (5W, 40Pa, 30min, monomer Ar = 1 1)

空比下,峰值有所增加。由此分析在长脉冲间隔(t_{off})条件下似乎有利于功能基团醚键的形成,与文献[13]结果相符。其主要原因可能是放电条件下,较长脉冲间隔(t_{off})时等离子体的平均功率减小,放电阶段主链断开,而在放电间隔期间,大量的活性基团采用自由基聚合机理,形成带有功能团结构的聚合物^[14-15]。

2.2 AFM

图 5 显示的是在单晶硅表面聚合 PEO-like 薄膜的表面形貌图。由图可以看出,薄膜已经形成了连续、致密的结构。等离子处理得到的薄膜表面是由许多微小的“火山锥”状的颗粒物质组成的,随着处理时间的延长,新生成的覆盖原来的“火山锥”,并相互联结^[16-18]。因此处理时间越长,薄膜越厚,表面颗粒状越多,越疏松粗糙。

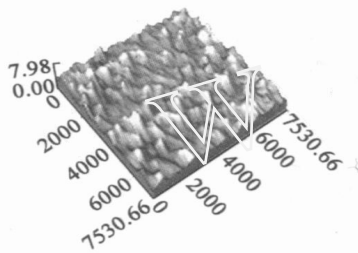


图 5 单晶硅表面聚合 PEO-like 薄膜的表面形貌图 (CW, 5W, 40Pa, 30min, monomer Ar = 1:1)

Fig.5 The morphology of the PEO-like functional film on p-Si(100) surface (CW, 5W, 40Pa, 30min, monomer Ar = 1:1)

3 血小板吸附实验

3.1 连续放电功率的影响

图 6 是在相同的气压、气体比例和反应时间下,功率对血小板吸附的影响。可以看出:空白的盖玻

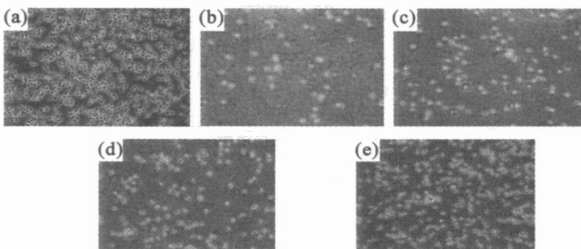


图 6 连续等离子体聚合功率对血小板吸附图影响 (a) blank; (b) 5W; (c) 20W; (d) 40W; (e) 80W

Fig.6 The influence of the power in CW mode on adsorption of platelet-rich plasma (a) blank; (b) 5W; (c) 20W; (d) 40W; (e) 80W

片表面黏附有大量的血小板细胞(图 6(a));而在沉积 PEO-Like 薄膜的盖玻片表面,黏附的血小板数量大大减少。在 5W 时(图 6(b)),黏附的血小板数量最少,说明样品具有突出的抗血小板黏附特性。功率从 5W 增加到 80W 时(图 6(b)~图 6(e)),血小板数量增加,功能薄膜对血小板的吸附能力变大。原因是高功率使等离子体聚合表面生成高交联结构。

3.2 脉冲占空比对聚合膜生物性能的影响

图 7 是在相同的气压、气体比例、平均功率条件下,脉冲占空比对血小板吸附的影响。可以看出:空白的盖玻片表面黏附有大量的血小板细胞(图 7(a));而在脉冲等离子体沉积 PEO-Like 薄膜的盖玻片表面,黏附的血小板数量大大减少,脉冲占空比在 3:10~3:40 范围时(图 7(b)~图 7(d)),黏附的血小板数量最少,未出现血小板聚集的现象,说明较大的占空比条件下薄膜中极性基团 EO 含量高,样品具有突出的抗血小板黏附特性。但当脉冲占空比从 3:40 变化到 3:80 时(图 7(d)~图 7(e)),血小板数量增多,功能薄膜对血小板的吸附能力变大。占空比为 3:40(图 7(d))时,已经出现血小板聚集的现象。分析原因为:可能是在此条件下制备的薄膜在生理盐水中的稳定性不好,可能出现薄膜脱落的现象造成血小板黏附到培养皿表面。

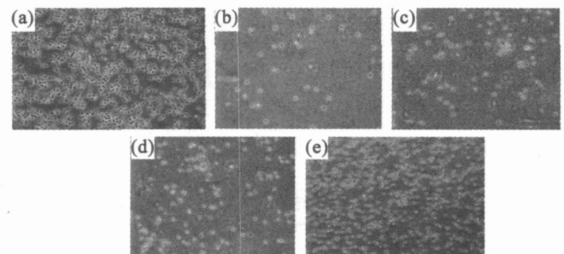


图 7 脉冲等离子体聚合占空比对血小板吸附的影响 (a) blank; (b) 3:10; (c) 3:20; (d) 3:40; (e) 3:80

Fig.7 The influence of the duty cycle on the PRP adsorption (a) blank; (b) 3:10; (c) 3:20; (d) 3:40; (e) 3:80

4 结论

以乙二醇二甲基醚为单体,用 Ar 气作为工作气体,采用射频等离子体的不同放电模式和放电参数,研究聚合功能性类 PEO 薄膜结构性能和血小板吸附的影响。通过实验我们得出了以下几个结论:

(1)通过红外和血小板黏附实验发现,等离子体放电功率和放电模式是影响功能性薄膜结构和性能

的主要因素;

(2) 脉冲放电占空比越大,对单体的裂解越少,特征功能团的保留越高;

(3) 连续放电低功率,或长脉冲条件下制得的薄膜,明显提高抗血小板的吸附性能,表现出良好的生物性能。

参 考 文 献

- [1] Abraham KM, Jiang Z. Journal of The Electrochemical Society, PEO-Like Polymer Electrolytes with High Room Temperature Conductivity, 1997, 144(6): L136 - L138
- [2] Eloisa Sardella, Roberto Gristina, Gorgio S. Senesi, et al. Homogeneous and Micro-Patterned Plasma-Deposited PEO-Like Coatings for Biomedical Surfaces, Plasma Processes and Polymers, 2004, 1(1): 63 - 72
- [3] 岳 蕾,周美丽,陈 强,等. 磁控溅射制备 Ag/ PEO-like 生物功能材料及其性能研究[J]. 真空科学与技术学报, 2007, 28(2): 112 - 115
- [4] Meyer E, Braun Hans-Georg. Film formation of crystallizable polymers on microheterogeneous surfaces[J]. Phys. Condens Matter, 2005, 17(1): 623 - 630
- [5] Manso-Silvan M, Valsesia A, Gilliland D, et al. Ion-beam treatment of PEO; towards a physically stabilized anti-fouling film[J]. Surface and interface analysis, 2004, 36(2): 733 - 738
- [6] Kingshott P, Thissen H, Griesser H J. Effects of cloud point grafting, chain length, and density of PEG layers on competitive adsorption of ocular proteins[J]. Biomaterials, 2002, 23(3): 2043 - 2051
- [7] 陈国荣,史鹏飞,白永平,等. 无定型 PEO 聚合物的合成及导电性能研究[J]. 功能材料, 2003, 34(2): 176 - 178
- [8] 赵化侨,等离子体化学与工艺[M]. 合肥,中国科学技术大学出版社, 1993, 45 - 50
- [9] 张光华,译. 等离子体与成膜基础[M]. 北京,国防科技出版社, 1994, 62 - 70
- [10] 陈杰蓉. 低温等离子体化学及其应用[M]. 北京,科学出版社, 2001, 25 - 30
- [11] 宋春莲. 等离子体聚合 P 引发聚合在利用生物质制备高分子材料中的应用[J]. 煤炭技术, 2007, 26(2): 119 - 122
- [12] 翁诗甫,傅立叶. 变换红外光谱仪[M]. 北京:化学工业出版社, 2005: 247 - 250
- [13] 周美丽,陈 强,葛袁静. RF 等离子体聚合类聚氧化乙烯(PEO-like)功能薄膜研究[J]. 真空科学与技术学报, 2006, 26(5): 412 - 416
- [14] Zhang Jing. The characterization of structure-tailored plasma films deposited from the pulsed RF discharge, Thin Solid Films, 2003, (435): 108 - 115
- [15] Favia P. Deposition of super-hydrophobic fluorocarbon-coatings in modulated RF glow discharges[J]. Surface and Coatings Technology, 2003, (169 - 170): 609 - 611
- [16] 蒋百灵,张先锋. 中国腐蚀与防护学报, 2005, 25(2): 97
- [17] 蒋百灵,张淑芬,吴建国. 中国腐蚀与防护学报, 2002, 22(5): 300
- [18] 薛文斌. 材料科学与工艺, 1997, 5(2): 89