

文章编号: 1001-3806(2013)05-0696-04

## 激光诱导热解碳表面微结构及抗凝血性研究

叶霞<sup>1</sup>, 王泽<sup>1,2</sup>, 周明<sup>2</sup>, 陈菊芳<sup>1</sup>, 雷卫宁<sup>1</sup>, 蔡兰<sup>2</sup>

(1. 江苏理工学院 机械工程学院, 常州 213001; 2. 江苏大学 光子制造科学技术中心, 镇江 212013)

**摘要:** 为了研究材料表面微结构对其抗凝血性能的影响, 利用纳秒激光在人工心脏瓣膜材料热解碳的表面进行微加工的方法, 产生了具有周期性的微坑、微光栅阵列结构。通过扫描电镜、X射线衍射仪和接触角测量仪对样品结构、表面成分、表面能进行表征, 并测试了改性后热解碳表面的抗凝血性。结果表明, 激光加工后的微结构表面和光滑表面化学成分相同, 且微结构表面具有超疏水性, 表面能很小; 与光滑表面相比, 微结构表面粘附较少的小血小板, 而且较少团簇及变形, 表现出较好的抗凝血性能。这一结果对人工心脏瓣膜进行表面改性以提高其抗血栓性能具有很大的帮助。

**关键词:** 激光技术; 抗凝血性; 微结构; 热解碳; 血小板粘附

**中图分类号:** TN249 **文献标识码:** A **doi:** 10.7510/jgjs.issn.1001-3806.2013.05.029

### Research of surface micro-structure and anti-coagulant property of pyrolytic carbon induced by laser

YE Xia<sup>1</sup>, WANG Ze<sup>1,2</sup>, ZHOU Ming<sup>2</sup>, CHEN Ju-fang<sup>1</sup>, LEI Wei-ning<sup>1</sup>, CAI Lan<sup>2</sup>

(1. Department of Mechanical Engineering, Jiangsu University of Technology, Changzhou 213001, China; 2. Center for Photon Manufacturing Science and Technology, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

**Abstract:** In order to study the effect of the micro-structure of the material surface on its anti-coagulant characteristics, the micro-structures were fabricated on pyrolytic carbon, the most popular material of heart valves, with nanosecond laser. The micro-structures coated with silylation were periodic micro-holes and micro-gratings. The topographies were characterized by scanning electron microscopy, the surface chemical composition was characterized by X-ray diffraction, the surface energy was characterized by contact angle machine, and the anti-coagulant characteristics were measured. The results show that the chemical composition is the same between the micro-structure surfaces and the smooth surfaces, the micro-structure surfaces have the super hydrophobicity and the low surface energy. Comparing with the smooth surface, the micro-structure surface has less platelet adhesion, fewer clusters, fewer deformation and better anti-coagulant property. The results are helpful to improve the anti-thrombotic characteristics of the artificial heart valves by surface modification.

**Key words:** laser technique; anti-coagulant property; micro-structure; pyrolytic carbon; platelet adhesion

## 引言

置换人工心脏瓣膜是临床上用来治疗心脏瓣膜疾病的最有效方法之一, 热解碳因其良好的生物相容性和抗凝血性能而成为目前制作机械心脏瓣膜的

首选材料<sup>[1]</sup>。但与天然心脏瓣膜相比, 其抗凝血性能仍显不足。置换过热解碳机械瓣膜的病人很容易产生血栓栓塞, 从而必须进行终身抗凝治疗<sup>[2]</sup>。为了解决血栓问题, 人们一直致力于通过对心脏瓣膜材料进行表面改性来提高其血液相容性。目前国内外常用的提高人工心脏瓣膜材料血液相容性的方法是通过对其表面覆盖涂层或薄膜进行表面改性。LI 等人利用离子束在热解碳表面注入氮离子<sup>[3]</sup>; ZHANG 等人采用离子束增强沉积合成法、非平衡磁控溅射技术、等离子体浸没离子注入和沉积技术等人工心脏瓣膜材料表面制备 TiO<sub>2</sub> 薄膜<sup>[4]</sup>、TiO<sub>2</sub>/TiN 复合梯度薄膜<sup>[5]</sup>, TiN/Ti 多层膜过渡层<sup>[6]</sup>, 实验

基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目 (BK2010203); 江苏省光子制造科学与技术重点实验室开放基金资助项目 (GZ201109; GZ080010)

作者简介: 叶霞 (1973-), 女, 博士, 现主要从事仿生机械设计与制造方面的研究。

E-mail: yexia@jstu.edu.cn

收稿日期: 2012-11-07; 收到修改稿日期: 2012-12-19

表明,经过改性后的材料表面血液相容性获得了显著改善; BOLZ 等人利用等离子增强型化学气相沉积法沉积 a-SiC:H 薄膜<sup>[7]</sup>; KRZYSZT 等人用 RF-PAVCD 技术在 Ti6Al4V 合金表面覆盖纳米水晶钻石<sup>[8]</sup>; CHEN 等人用射频磁控溅射技术合成 Ta<sup>5+</sup> 掺杂的 TiO<sub>2</sub> 薄膜材料<sup>[9]</sup>,并用动态凝血时间测定法和血小板粘附试验研究了薄膜的血液相容性。虽然所有研究都表明,通过对机械瓣膜材料表面进行各种处理可以提高其血液相容性,但由于人工心脏瓣膜多为曲面,很难保证其表面涂层或薄膜的均匀性,另外,涂层与基体之间的结合力也在很大程度上影响了其使用寿命。由于激光具有高能量密度,可以产生极快的加热速率,功率输出精确可控,并可选择改性局域表面<sup>[10-13]</sup>。因此,本文中采用激光进行材料表面物理改性的方法在热解碳表面构造微米级纹理结构,同时对表面纹理硅烷化修饰,旨在制备具有超疏水性和血小板低粘附性的热解碳心脏瓣膜表面。

## 1 实验

### 1.1 表面纹理加工

将尺寸 5mm × 5mm × 1mm 的热解碳片用抛光布抛光处理,去除表面氧化层后,用去离子水冲洗,于超声波清洗机中清洗 30min,再依次用丙酮和乙醇分别超声清洗 30min,吹干,待用。实验装置如图 1 所示,激光器是 YAG 固体激光器,中心波长为 1064nm,脉冲频率为 1.0kHz、脉冲宽度为 500ns,激光扫描速率为 60μm/s,加工重复的次数为 20 次。样品被固定在工作台上,激光经光路传输系统和聚焦物镜后入射到材料表面,入射激光与材料的表面法线方向平行。将脉冲能量和扫描间距设置为变量,按照表 1 所示的参量加工。加工完成后,将加工好的样品置于超声波清洗机中在室温下用去离子水清洗 30min,冷风吹干,置于真空干燥箱中用氟硅烷气体进行硅烷化处理,时间为 2h。

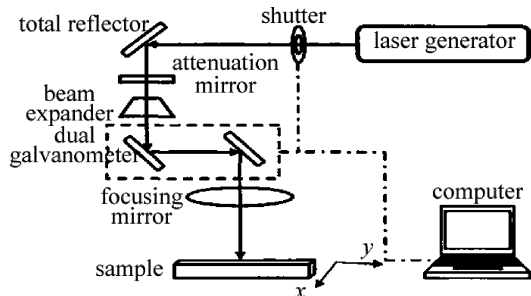


Fig. 1 Experimental setup equipment

Table 1 Processing parameter

number of sample	pulse energy/μJ	scanning gap/μm
sample 1	80	0.04
sample 2	80	0.05
sample 3	80	0.06
sample 4	115	0.04
sample 5	115	0.05
sample 6	115	0.06

### 1.2 血小板粘附样品制备

取新鲜抗凝人血,2000rad/min 离心分离 10min,吸取上层富血小板血浆,将样品置于其中 3h,恒温水浴槽中 37℃ 孵育 30min。吸去富血小板血浆,用稀释了 10 倍的磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered saline, PBS)(pH 值为 7.4)清洗 3 遍,再用体积分数为 0.025 的戊二醛在室温下固定 2h;试样取出后先用 PBS 清洗干净,再用体积分数分别为 0.30,0.50,0.70,0.90 和 1 的乙醇水溶液相继脱水,每次 30min;经临界干燥器中的 CO<sub>2</sub> 临界点干燥后,喷金上镜。

### 1.3 性能测试与表征方法

利用 X'Pert PRO 型转靶 X 射线衍射仪(X-ray diffraction, XRD)对激光加工区和未加工区进行成分组成表征;采用扫描电镜(scanning electron microscopy, SEM)对微结构表面进行表面纹理的形貌表征;采用德国产 Easy Drop 型接触角测量仪进行表面接触角测量,采用躺滴法,水滴体积为 1μL,为减小测量误差,每个样品表面各测量 5 个点,取 5 次测量值的算术平均值作为测量结果;用扫描电子显微镜对血小板进行观察、拍照,选取 10 个视场做血小板计数和统计学分析。

## 2 实验结果与分析

### 2.1 表面成分分析

图 2 是纳秒激光加工前后热解碳表面(样品 1)的 X 射线衍射图谱。曲线 1 代表加工前的 XRD 图谱,曲线 2 代表加工后的 XRD 图谱,可看出,两个图谱峰基本重合(其它 5 个样品表面激光加工前后的

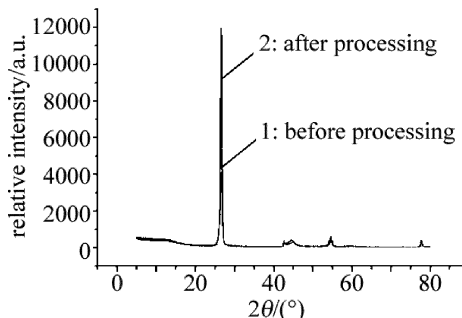


Fig. 2 XRD graph of pyrolytic carbon

X 射线衍射图谱与此相同)。这说明激光加工后的热解碳表面没有产生新的物质,即加工前后化学成分没有发生任何变化。

### 2.2 表面纹理的形貌

图 3 是激光诱导热解碳表面周期性微结构,图 3a ~ 图 3c 加工参量为:脉冲能量  $80\mu\text{J}$ ,扫描间距依次为  $0.04\mu\text{m}$ ,  $0.05\mu\text{m}$ ,  $0.06\mu\text{m}$ ,从 SEM 图可以看出,图 3a、图 3b 呈平行光栅结构,图 3c 呈凹坑结构。图 3d ~ 图 3f 加工参量为:脉冲能量  $115\mu\text{J}$ ,扫描间距依次为  $0.04\mu\text{m}$ ,  $0.05\mu\text{m}$ ,  $0.06\mu\text{m}$ ,由 SEM 图可以看出,图 3d、图 3e 呈平行光栅结构,图 3f 呈凹坑结构。由此可知,脉冲能量一定时,扫描间距较小时,激光诱导的微结构为光栅结构,随着扫描间距增大,微结构也跟着发生变化,由光栅结构逐渐向凹坑结构转化。另外,从图 3 中还可以看出,扫描间距相同时,高脉冲能量比低脉冲能量热效应强,热解碳越容易消融,去除的材料越多<sup>[14]</sup>。

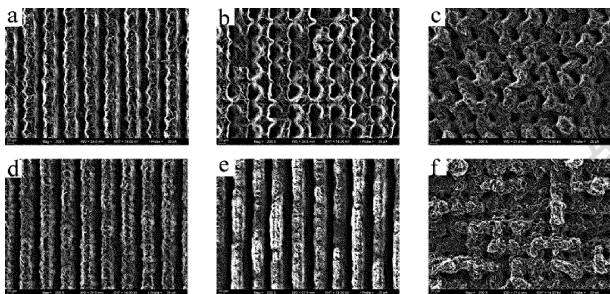


Fig. 3 SEM images of micro-structures of pyrolytic carbon surface at different parameters  
a ~ c—pulse energy  $80\mu\text{J}$ , scanning gap  $0.04\mu\text{m}$ ,  $0.05\mu\text{m}$ ,  $0.06\mu\text{m}$  d ~ f—pulse energy  $115\mu\text{J}$ , scanning gap  $0.04\mu\text{m}$ ,  $0.05\mu\text{m}$ ,  $0.06\mu\text{m}$

### 2.3 接触角测量

水滴在固体表面的表观接触角的大小反应了固体表面的表面能大小。表观接触角越大,则其表面

能越小,疏水性能也就越好。图 3a ~ 图 3f 所示的微结构热解碳表面对应的接触角值依次分别为  $154^\circ$ ,  $153^\circ$ ,  $153^\circ$ ,  $158^\circ$ ,  $161^\circ$ ,  $152^\circ$ ,而光滑热解碳表面的接触角为  $70^\circ$ ,由此可见,由于微结构的存在,使得热解碳表面接触角的大小有了显著增加。这也就意味着,微结构材料表面的表面能降低,表面具有超疏水性。

### 2.4 血小板粘附情况测量

图 4 为血小板在热解碳表面粘附量的统计结果,以光滑热解碳表面单位面积内血小板粘附数量做比较。由直方图可以看出,光滑热解碳表面血小板粘附的数量多,有微结构的表面血小板粘附的数量少,这和微结构表面的疏水性能相一致。样品 1 见图 3b、样品 2 见图 3c、样品 4 见图 3e、样品 5 见图 3f,在同一光栅结构下,样品 5 的血小板粘附是最小的,这是因为根据光栅微结构表面接触角的计算公式<sup>[15]</sup>,样品 5 表面的光栅面积占总面积百分数是最小,越容易截留空气。由此可见,血小板在微细结构表面的粘附不仅和微结构形状有关,还和微结构的尺寸有很大的关系。同样,样品 3(见图 3e)、样品 6(见图 3g)具有相同的凹坑结构形式,但血小板粘附的数量却也不相同,这同样是由于凹坑尺寸不同的结果。

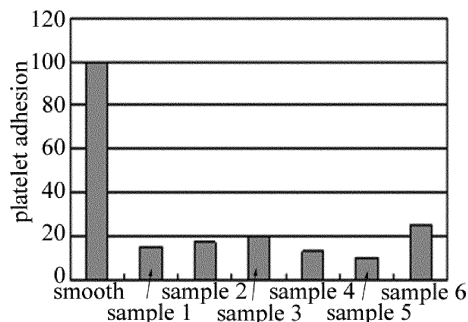


Fig. 4 Number of platelet adhesion

图 5 为在热解碳表面粘附的血小板扫描电镜照

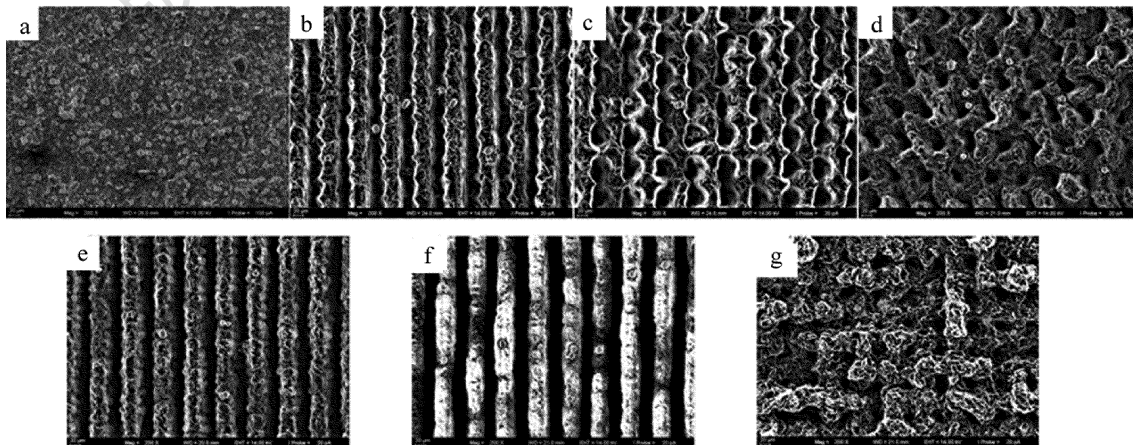


Fig. 5 SEM images of the platelet adhesion of different surfaces  
a—the smooth surface b ~ g—the micro-structure surfaces

片,在富含血小板血浆中浸泡3h后,光滑的热解碳表面,血小板的聚集和已发展成立体堆垛,如图5a所示。具有微结构表面的血小板不仅数量少,而且聚集和伪足状态均不严重,如图5b~图5g所示,这表明激光诱导的周期结构可非常有效地抑制血小板与热解碳表面反应,抑制凝血过程。

### 3 结论

利用纳秒激光在机械瓣膜材料——热解碳表面加工周期光栅微结构和凹坑微结构,利用扫描电镜对微结构表面进行表面纹理的形貌表征发现,扫描间距的大小影响了微结构形状,而脉冲能量的高低则对材料的消熔有很大的影响;通过对激光加工前后热解碳材料表面的X射线衍射图谱分析发现,加工前后材料表面化学成分相同,即并未产生新的物质;但微结构的存在提高了热解碳表面的疏水性能,使其成为超疏水表面。与光滑热解碳表面相比,微结构热解碳表面不易粘附血小板,较少团簇及变形,且光栅微结构表面的抗凝血性优于凹坑微结构表面。

该方法是通过直接在基体表面加工微细结构来改变其表面性能,故解决了其它方法中因基体与涂层(或薄膜)间结合力差而影响使用寿命这一问题。但因激光器价格较高,故加工成本高,如何利用激光在热解碳表面进行快速、大面积生产以降低加工成本正是今后努力的方向。

#### 参 考 文 献

- [1] HUANG N, YANG P, LENG Y X. Surface modification of low temperature isotropic pyrolytic carbon artificial heart valve material [J]. Journal of Biomedical Engineering, 1999, 16(2): 127-131 (in Chinese).
- [2] BARTON K, CAMPBELL A, CHINN J. Biocompatibility of diamond and DLC films [J]. Biomedical Engineering Society (BMES) Bulletin, 2001, 25(1): 3-7.
- [3] LI Ch R, WANG X H, ZHENG Zh H. Nitrogen ion implantation of LTIC and hemocompatibility investigation [J]. Journal of Function Materials and Devices, 2002, 8(1): 63-68.
- [4] ZHANG L P, WENG Y J, ZHOU Y J. Building a catalytic activity layer on TiO<sub>2</sub> film surface for improving its anti-platelet adhesion ability [J]. Journal of Function Materials, 2010, 41(7): 1158-1161 (in Chinese).
- [5] LENG Y X, CHEN J Y, YANG P. The microstructure and mechanical properties of TiN and TiO<sub>2</sub>/TiN duplex films synthesized by plasma immersion ion implantation and deposition on artificial heart valve [J]. Surface & Coatings Technology, 2006, 201(3/4): 1012-1016.
- [6] HE Ch, LENG Y X, SUN H. Fabrication and properties of TiN/Ti multilayer deposited on the surface of titanium alloy artificial heart valve ring [J]. Materials for Mechanical Engineering, 2010, 34(7): 38-41 (in Chinese).
- [7] BOLZ A, SCHALDACH M. Artificial heart valve: improved blood compatibility by PECVD SiC:H coating [J]. Artificial Organs, 1990, 14(4): 260-269.
- [8] JOZWIK K, KARCEMSKA A. The new generation Ti6Al4V artificial heart valve with nanocrystalline artificial heart valve with nanocrystalline diamond coating on the ring and with derlin disc after long-term mechanical fatigue examination [J]. Diamond & Related Materials, 2007, 16(4/7): 1004-1009.
- [9] CHEN J Y, YANG P, LENG Y X, et al. Preparation and properties study of Ta<sup>5+</sup> doped titanium dioxide film biomedical use [J]. Chinese Journal of Biomedical Engineering, 2002, 21(5): 411-416 (in Chinese).
- [10] SHEN M Y, CROUCH C H, CAREY J E, et al. Femtosecond laser-induced formation of submicrometer spikes on silicon in water [J]. Applied Physics Letters, 2004, 85(23): 5694-5696.
- [11] AGRANAT M B, ANISIMOV S I, ASHITKOV S I, et al. On the mechanism of the absorption of femtosecond laser pulses in the melting and ablation of Si and GaAs [J]. JETP Letters, 2006, 83(11): 501-504.
- [12] VOROBYEV A Y, GUO C L. Femtosecond laser nanostructuring of metals [J]. Optics Express, 2006, 14(6): 2164-2169.
- [13] VOROBYEV A Y, GUO C L. Enhanced absorbance of gold following multipulse femtosecond laser ablation [J]. Physical Review, 2005, B72(19): 195422.
- [14] LI Y F, YU Zh J, YU Y F. Fabrication of super-hydrophobic surfaces on aluminum alloy [J]. Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities, 2008, 22(1): 6-10 (in Chinese).
- [15] YE X. The basic research of bionic artificial valve based on the super-hydrophobicity and rheology reduction theories [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2009: 37 (in Chinese).