

学校编码: 10384
学号: 20520100153660

分类号 _____ 密级 _____
UDC _____

厦 门 大 学

博 士 学 位 论 文

超亲-超疏水表面的生物响应性研究

Exploring the Biological Response to
Superhydrophobic/Superhydrophilic Surfaces

黄巧玲

指导教师姓名: 林昌健教授
Erwin A. Vogler 教授
孙岚副教授
专业名称: 物理化学
论文提交日期: 2013 年 12 月
论文答辩时间: 2013 年 12 月
学位授予日期: 2013 年 月

答辩委员会主席: _____
评阅人: _____

2013 年 12 月

**Exploring the Biological Response to
Superhydrophobic/Superhydrophilic Surfaces**



A Dissertation Submitted to the Graduate School in Partial
Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Doctor of Philosophy

By

Qiaoling Huang

Directed by

Prof. Changjian Lin, Prof. Erwin A. Vogler

and Associate Prof. Lan Sun

Department of Chemistry, College of Chemistry and Chemical Engineering

Xiamen University

December, 2013

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于
年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目 录

中文摘要	I
英文摘要	III
第一章 绪论	1
1.1 生物材料及生物相容性	1
1.1.1 生物材料	1
1.1.2 生物相容性	1
1.2 材料基本性质	2
1.2.1 材料化学组成	2
1.2.2 表面形貌	2
1.2.3 晶型	3
1.2.4 润湿性	3
1.2.4.1 影响润湿性的因素	4
1.2.4.2 特殊润湿性	5
1.2.4.3 表面能	5
1.2.5 表面电荷	5
1.3 影响蛋白吸附的因素	6
1.3.1 蛋白吸附与蛋白吸入	6
1.3.2 实验方法	6
1.3.3 蛋白种类对蛋白吸附的影响	7
1.3.4 材料的影响	7
1.3.4.1 蛋白在具有不同润湿性差异的表面吸附的基本规律	7
1.3.4.2 蛋白在超亲水/超疏水材料表面的吸附	8
1.3.4.3 材料表面化学成分	8
1.3.4.4 材料表面形貌	8
1.4 细胞粘附的影响因素	9
1.4.1 材料的影响	9

1.4.1.1 细胞在具有不同润湿性差异的表面粘附基本规律	9
1.4.1.2 细胞在超亲水/超疏水材料表面的粘附	10
1.4.1.3 材料表面形貌的影响	10
1.4.1.4 晶型的影响	10
1.4.2 细胞粘附机理——蛋白吸附对细胞粘附的影响	11
1.5 血小板粘附	12
1.5.1 蛋白吸附对血小板粘附的影响	13
1.5.2 材料的影响	13
1.5.2.1 材料润湿性	13
1.5.2.2 材料表面化学成分的影响	14
1.5.2.3 表面形貌的影响	14
1.5.2.4 TiO ₂ 晶型的影响	15
1.6 本论文的研究目的和设想	15
参考文献	17
第二章 实验技术与仪器	26
2.1 超亲水和超疏水 TiO₂ 纳米管制备	26
2.1.1 纯钛基底的 TiO ₂ 纳米结构阵列膜的制备	26
2.1.2 316L 不锈钢基底的超亲水 TiO ₂ 纳米管的制备	26
2.1.3 氟硅烷超疏水修饰	27
2.1.4 超亲水-超疏水 TiO ₂ 模板的制备	28
2.2 玻璃材料表面硅烷修饰	28
2.2.1 玻璃表面的清洗	28
2.2.2 硅烷修饰	28
2.3 材料表面理化性质的表征	29
2.3.1 扫描电子显微镜 (SEM)	29
2.3.2 光学显微镜	29
2.3.3 X 射线衍射 (XRD)	30
2.3.4 拉曼光谱	30
2.3.5 X-射线光电子能谱 (XPS)	31
2.3.6 材料水接触角测试	31
2.3.7 材料耐蚀性评价	31

2.3.7.1 线性极化法	31
2.3.7.2 电化学交流阻抗谱技术	32
2.4 材料生物性能评价	33
2.4.1 血小板粘附	33
2.4.2 蛋白在超亲水-超疏水模板上的键合	33
2.4.3 细胞培养	34
2.4.4 细胞在微图案表面的接种与观察	35
2.4.4.1 细胞短期接种	35
2.4.4.1 细胞长期接种	35
2.4.5 吖啶橙计数法	35
2.4.6 细胞粘附动力学研究	36
2.4.6.1 溶液损耗法	36
2.4.6.2 传统细胞粘附动力学研究方法	37
2.4.6.3 细胞在玻璃微粒上的粘附动力学	37
参考文献	38
第三章 316L 不锈钢表面超亲水/超疏水修饰及耐蚀性和血小板粘附 评价	39
3.1 引言	39
3.2 不锈钢表面超亲水/超疏水 TiO ₂ 纳米管的构筑	40
3.2.1 不锈钢表面钛膜层的修饰	40
3.2.2 不锈钢基底上 TiO ₂ 纳米管的制备	40
3.3 材料耐蚀性测试	45
3.4 血小板在超亲水/超疏水材料表面的粘附	49
3.5 本章小结	52
参考文献	54
第四章 TiO₂ 纳米管晶型对血小板粘附行为的影响	60
4.1 引言	60
4.2 TiO ₂ 纳米管的表面形貌	61
4.3 晶型	64
4.3.1 XRD	64

4.3.2 拉曼光谱	64
4.4 材料表面化学成分	67
4.5 材料表面的润湿性	69
4.6 血小板粘附	70
4.6.1 血小板在纯钛表面的粘附	70
4.6.2 血小板在纳米管上的粘附	70
4.6.2.1 血小板在无定型纳米管表面的粘附行为	72
4.6.2.2 血小板在混晶表面的粘附行为	73
4.6.3 血小板在金红石表面的粘附行为	73
4.7 血小板与 TiO₂ 纳米管表面相互作用机理讨论	74
4.8 本章小结	77
参考文献	78
第五章 超亲水-超疏水微图案法高通量研究蛋白/细胞与材料表面的 相互作用	82
5.1 引言	82
5.2 超亲水-超疏水微图案的制备与表征	83
5.2.1 TiO ₂ 纳米管阵列膜形貌	84
5.2.2 超亲水和超疏水的转换	84
5.2.3 超亲水-超疏水微图案	86
5.3 蛋白吸附	87
5.4 细胞粘附	90
5.4.1 短期细胞粘附	91
5.4.1.1 hFOB1.19 成骨细胞粘附	91
5.4.1.2 MG63 细胞粘附	91
5.4.1.3 HeLa 细胞粘附	92
5.4.2 影响细胞粘附因素探讨	93
5.4.3 短期细胞粘附微图案的热力学解释	94
5.4.4 长期细胞粘附	97
5.5 本章小结	98
参考文献	100

第六章 溶液损耗法研究细胞短期粘附过程动力学	104
6.1 引言	104
6.2 吖啶橙染料吸收-细胞计数法	107
6.3 细胞粘附动力学过程数据拟合	109
6.4 溶液损耗法和 V&B 方法误差分析	109
6.5 溶液损耗法和 V&B 方法实例分析	111
6.5.1 细胞在相容性好的亲水材料表面粘附	111
6.5.2 细胞在相容性差的疏水材料表面粘附	113
6.6 使用胰酶对检测细胞粘附动力学的影响	114
6.6.1 V&B 方法用胰酶从材料表面脱附细胞对细胞粘附动力学的影响	114
6.6.2 胰酶作用时间对细胞从培养瓶表面脱附的影响	115
6.7 应用——细胞在玻璃微载体上的粘附	116
6.8 细胞从在具有不同润湿性的材料表面的粘附动力学	117
6.8.1 粘附动力学	117
6.8.2 细胞粘附效率与表面能/润湿性的关系	121
6.8.3 热力学解释	122
6.9 本章小结	123
参考文献	125
第七章 结论和展望	128
7.1 主要结论	128
7.2 研究工作展望	129
作者攻读博士学位期间发表与交流的论文	131
正式论文	131
申请专利	131
会议交流论文	132
致 谢	133

Contents

Abstract in Chinese	I
Abstract in English	III
Chapter 1 Introduction	1
1.1 Biomaterials and Biocompatibility.....	1
1.1.1 Biomaterials.....	1
1.1.2 Biocompatibility	1
1.2 Materials Properties	2
1.2.1 Surface Chemistry	2
1.2.2 Surface Morphology	2
1.2.3 Crystalline Phase	3
1.2.4 Wettability	3
1.2.4.1 Factors Influencing Wettability.....	4
1.2.4.2 Extreme Wettability.....	5
1.2.4.3 Surface Energy	5
1.2.5 Surface Charge	5
1.3 Protein Adsorption	6
1.3.1 Adsorption vs. Absorption.....	6
1.3.2 Experimental Factors.....	6
1.3.3 Protein Types.....	7
1.3.4 Effect of the Adsorbent Surface	7
1.3.4.1 Water Wettability	7
1.3.4.2 Superhydrophilic and Superhydrophobic Surface.....	8
1.3.4.3 Surface Chemistry	8
1.3.4.4 Surface Morphology.....	8
1.4 Cell adhesion	9
1.4.1 Effect of Biomaterials Surface	9
1.4.1.1 Water Wettability	9
1.4.1.2 Superhydrophilic and Superhydrophobic Surface.....	10

1.4.1.3 Surface Morphology	10
1.4.1.4 Crystalline Phase of TiO ₂	10
1.4.2 Cell Adhesion Mechanism - Role of Protein Adsorption.....	11
1.5 Platelet Adhesion	12
1.5.1 Effect of Protein Adsorption.....	13
1.5.2 Effect of Biomaterials Surface	13
1.5.2.1 Water Wettability	13
1.5.2.2 Surface Chemistry	14
1.5.2.3 Surface Morphology	14
1.5.2.4 Crystalline Phase of TiO ₂	15
1.6 Objective and Contents of the Dissertation.....	15
References.....	17
Chapter 2 Experimental.....	26
2.1 Fabrication of Superhydrophobic and Superhydrophilic TiO₂ Nanotubes	26
2.1.1 Fabrication of TiO ₂ Nanotubes on Titanium Surface.....	26
2.1.2 Fabrication of TiO ₂ Nanotubes on 316L Stainless Steel	26
2.1.3 Superhydrophobic modification	27
2.1.4 Fabrication of Superhydrophobic-superhydrophilic Templates.....	28
2.2 Silanization of Glass Surface	28
2.2.1 Cleanness of Glass Surface.....	28
2.2.2 Silanization	28
2.3 Surface Characterization	29
2.3.1 Scan Electron Microscope (SEM)	29
2.3.2 Optical Microscope (OM)	29
2.3.3 X-ray Diffraction (XRD).....	30
2.3.4 Raman Spectroscopy (Raman)	30
2.3.5 X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS)	31
2.3.6 Water Wettability	31
2.3.7 Corrosion Resistance	31
2.3.7.1 Tafel Polarization	31
2.3.7.2 Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS)	32

2.4 Bioadhesion	33
2.4.1 Platelet Adhesion.....	33
2.4.2 Protein Binding on Superhydrophobic-superhydrophilic templates	33
2.4.3 Cell Culture.....	34
2.4.4 Cell Adhesion on Superhydrophobic-superhydrophilic templates.....	35
2.4.4.1 Short-Term Adhesion	35
2.4.4.1 Long-Term Adhesion	35
2.4.5 Acridine Orange Cell Counting Method	35
2.4.6 Cell Adhesion Kinetics Study.....	36
2.4.6.1 Suspension Depletion Method.....	36
2.4.6.2 Traditional Method	37
2.4.6.3 Cell Adhesion Kinetics on Microcarriers	37
References.....	38
 Chapter 3 Superhydrophobic/superhydrophilic Construction on 316L Stainless Steel and Assessment of Platelet Adhesion and Corrosion Resistance	 39
3.1 Introduction	39
3.2 Superhydrophobic and SuperhydrophilicTiO₂ Nanotubes Construction on 316L Stainless Steel.....	40
3.2.1 Titanium deposition.....	40
3.2.2 TiO ₂ Nanotubes Construction.....	40
3.3 Corrosion Resistance.....	45
3.4 Platelet Adhesion	49
3.5 Summary	52
References.....	54
 Chapter 4 Platelet Behavior on TiO₂ Nanotubes	 60
4.1 Introduction	60
4.2 Surface Morphology of TiO₂ Nanotubes	61
4.3 Crystalline Phase	64
4.3.1 X-ray Diffraction	64

4.3.2 Raman Spectroscopy	64
4.4 Surface chemistry	67
4.5 Water Wettability	69
4.6 Platelet Adhesion	70
4.6.1 Platelet Adhesion on Titanium Control Group.....	70
4.6.2 Platelet Adhesion on TiO ₂ Nanotubes	70
4.6.2.1 Platelet Adhesion Amorphous TiO ₂ Nanotubes	72
4.6.2.2 Platelet Adhesion on TiO ₂ Nanotubes with Mixed Crystalline Phase.....	73
4.6.3 Platelet Adhesion on Rutile Phase.....	73
4.7 A Proposed Mechanism.....	74
4.8 Summary	77
References.....	78
Chapter 5 Role of Trapped Air in the Formation of Cell-and-Protein Micropatterns on Superhydrophobic-Superhydrophilic Microtemplated Surfaces	82
5.1 Introduction	82
5.2 Characterization of Superhydrophobic-Superhydrophilic Microtemplate	83
5.2.1 Morphology of TiO ₂ Nanotubes	84
5.2.2 Conversion of Superhydrophobic and Superhydrophilic	84
5.2.3 Superhydrophobic-Superhydrophilic Microtemplate	86
5.3 Protein Micropatterns.....	87
5.4 Cell Micropatterns.....	90
5.4.1 Short-term Cell Micropatterns.....	91
5.4.1.1 hFOB1.19 Cell adhesion.....	91
5.4.1.2 MG63 Cell adhesion.....	91
5.4.1.3 HeLa Cell adhesion	92
5.4.2 Factors Influencing Short-term Cell Micropatterns.....	93
5.4.3 Thermodynamic Interpretation of Short-term Cell Micropattern Formation	94
5.4.4 Long-Term Cell Micropatterns.....	97
5.5 Summary	98
References.....	100

Chapter 6 Mammalian Cell-Adhesion Kinetics Measured by Suspension Depletion.....	104
6.1 Introduction	104
6.2 Acridine Orange Cell Counting Method	107
6.3 Data analysis	109
6.4 Suspension Depletion vs Traditional Method	109
6.5 Application of Suspension Depletion and Traditional Method.....	111
6.5.1 Cell-Compatible Surface	111
6.5.2 Cell-Incompatible Surface.....	113
6.6 Effect of Trypsin on the Measurement of Cell-Adhesion Kinetics	114
6.6.1 Trypsin used for detaching cells from studied surfaces	114
6.6.2 Trypsin used for detaching cells from culture flasks.....	115
6.7 Cell-Adhesion Kinetics to Particulate Carriers	116
6.8 Cell Attachment Kinetics on surfaces with different wettability	117
6.8.1 Cell-Adhesion Kinetics.....	117
6.8.2 Relationship between the maximum attachment and surface energy/wettability. 121	
6.8.3 Thermodynamic Interpretation.....	122
6.9 Summary	123
References.....	125
Chapter 7 Conclusions and Future Work.....	128
7.1 Conclusions.....	128
7.2 Future Work	129
Selected Publications and Conference Presentations.....	131
Acknowledgements.....	133

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库