

表面功能化

医用钛表面石墨烯薄膜的 PECVD 法制备及其性能

张宪明^{1,2}, 蔡丁森¹, 钱仕^{1,2*}(1.慈溪生物材料表面工程中心, 浙江 宁波 315300; 2.中国科学院上海硅酸盐研究所
高性能陶瓷与超微结构国家重点实验室, 上海 200050)

摘要: **目的** 在医用钛表面制备石墨烯薄膜, 研究生长时间对石墨烯薄膜理化性能和生物学性能的影响。**方法** 采用等离子体增强化学气相沉积设备, 在医用钛表面制备石墨烯薄膜, 控制石墨烯薄膜生长时间为 5、10、30 min。通过拉曼光谱、扫描电子显微镜、接触角测量仪和电化学工作站对石墨烯薄膜的结构、表面形貌、表面润湿性和耐腐蚀性进行表征, 通过小鼠成骨细胞培养评价石墨烯薄膜的细胞相容性。**结果** 薄膜的拉曼结果呈现石墨烯的 D、G 和 2D 特征峰。生长时间为 10 min 和 30 min 的石墨烯薄膜在医用钛表面呈现垂直纳米片状态。随着生长时间的延长, 医用钛表面石墨烯薄膜的水接触角逐渐增大。3 组样品中, 生长时间为 5 min 的样品具有最小的腐蚀电流密度 ($1.822 \times 10^{-7} \text{ A/cm}^2$), 生长时间为 10 min 的样品具有最高的腐蚀电位 (-0.404 V); 生长时间为 5 min 和 10 min 的样品有利于细胞的黏附与铺展, 生长时间为 30 min 的样品对小鼠成骨细胞活性具有一定的抑制作用。**结论** 石墨烯薄膜可以有效提高医用钛的耐腐蚀性。石墨烯薄膜生长时间影响其形貌, 进而改变水接触角。不同生长时间的石墨烯薄膜对小鼠成骨细胞的黏附和铺展表现出明显的差异。

关键词: 等离子体增强化学气相沉积; 医用钛; 石墨烯; 耐腐蚀性; 细胞相容性

中图分类号: TG174.442 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-3660(2024)08-0156-07

DOI: 10.16490/j.cnki.issn.1001-3660.2024.08.014

Preparation and Properties of Graphene Films on Medical Titanium by PECVD Method

ZHANG Xianming^{1,2}, CAI Dingsen¹, QIAN Shi^{1,2*}

(1. Cixi Center of Biomaterials Surface Engineering, Zhejiang Ningbo, 315300, China;

2. State Key Laboratory of High Performance Ceramics and Superfine Microstructure,
Shanghai Institute of Ceramics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China)

ABSTRACT: Graphene is a two-dimensional carbon nanomaterial consisting of a single layer of carbon atoms arranged in a hexagonal lattice. It has attracted extensive attention in many fields due to its unique chemical structure and excellent performance. Many researchers confirm that graphene-based nanomaterials have certain antibacterial and osteogenic properties. However, there is little study on in-situ preparation of graphene on medical titanium. In order to construct graphene films on

收稿日期: 2023-07-16; 修订日期: 2023-12-10

Received: 2023-07-16; **Revised:** 2023-12-10

基金项目: 宁波市高层次人才和高端创业创新团队资助项目 (2018A-09-C); 国家自然科学基金面上项目 (31971259)

Fund: High-end Entrepreneurial and Innovative Teams of Ningbo High-level Talents Project (2018A-09-C); General Program of National Natural Foundation of China (31971259)

引文格式: 张宪明, 蔡丁森, 钱仕. 医用钛表面石墨烯薄膜的 PECVD 法制备及其性能[J]. 表面技术, 2024, 53(8): 156-162.

ZHANG Xianming, CAI Dingsen, QIAN Shi. Preparation and Properties of Graphene Films on Medical Titanium by PECVD Method[J]. Surface Technology, 2024, 53(8): 156-162.

*通信作者 (Corresponding author)

medical titanium, plasma enhanced chemical vapor deposition (PECVD) method was used in this study. Methane, argon, and hydrogen were flowed into the reaction chamber as carbon source, carrier gas, and etching gas, respectively. The influences of growth time on the physical, chemical and biological properties of graphene films were studied. The growth time of graphene was set to be 5 min, 10 min, and 30 min. The structure, surface morphology, surface wettability, and corrosion resistance of graphene films were analyzed by Raman, scanning electron microscope, contact angle tester, and electrochemical workstation, respectively. The cytocompatibility of graphene films was evaluated by culturing mouse osteoblasts. Cell adhesion and spreading, cell proliferation, and cell morphology of mouse osteoblasts on the graphene films were systemically studied. The Raman results indicated that graphene films contained D, G, and 2D characteristic peaks. The graphene films with a growth time of 10 min and 30 min presented a vertical nano sheet state on the medical titanium surface. The water contact angle of graphene films with a growth time of 5 min, 10 min, and 30 min was 94.7° , 100.5° , and 122.7° , respectively. With the increasing of growth time, water contact angle of graphene films on the medical titanium surface increased gradually, which might be the influence of vertical nanosheet structure. Among the three graphene films groups, the sample with graphene growth time of 5 min had the minimum corrosion current density of $1.822 \times 10^{-7} \text{ A/cm}^2$. The sample with graphene growth time of 10 min had the highest corrosion potential of -0.404 V . Graphene films improved corrosion resistance of titanium. Graphene films growing for 5 min and 10 min were beneficial to the cell adhesion and spreading. Graphene films growing for 30 min had an inhibitory effect to some extent on the cell adhesion and spreading, and viability of mouse osteoblasts, which attributed to surface morphology and hydrophobic properties. In short, graphene films are prepared with different morphology on medical titanium by adjusting the growth time in this study. Graphene films can effectively improve the corrosion resistance of medical titanium. The morphology of graphene films is affected by the growth time and then the water contact angle is changed. Graphene films with different growth time show obvious differences in the adhesion and spread of mouse of mouse osteoblasts.

KEY WORDS: plasma enhanced chemical vapor deposition; medical titanium; graphene films; corrosion resistance; cell compatibility

石墨烯是一种由碳原子以 sp^2 电子杂化轨道组成的呈蜂巢晶格的二维碳纳米材料, 因其独特的化学结构和优异的性能在许多领域得到广泛关注^[1-2]。文献报道石墨烯和氧化石墨烯具有良好的生物相容性, Lee 等^[3]报道石墨烯的强非共价结合能力使其成为成骨诱导剂的预富集平台, 可加速干细胞向成骨细胞系方向生长。此外, 石墨烯是一种新型的抗菌材料, 文献报道其具有一定的抗菌性且无细胞毒性^[4-5]。Hu 等^[6]首次报道了 2 种水分散石墨烯衍生物氧化石墨烯和还原氧化石墨烯纳米片的抗菌活性, $20 \mu\text{g/mL}$ 和 $85 \mu\text{g/mL}$ 的氧化石墨烯悬浮液与大肠杆菌共同培养 2 h, 细菌活性分别下降 13% 和 70%, 氧化石墨烯纳米片可以有效抑制大肠杆菌的生长。利用石墨烯优异的特性, 在医用钛表面构建石墨烯基薄膜赋予其良好的成骨或抗菌功能具有重要的科学意义和潜在的应用前景。Zhao 等^[7]通过滴注法在镍钛合金表面构建氧化石墨烯涂层, 显著地抑制了大肠杆菌生长。Jia 等^[8]在医用钛表面构建基于石墨烯的自组装体, 选择性地调节细菌活性和成骨细胞功能。然而, 上述方法制备的石墨烯涂层或薄膜与基体结合力较差, 钛表面原位制备石墨烯是一个可行方案。化学气相沉积 (CVD) 法制备石墨烯需要高温条件, 通常在 $950 \sim 1100^\circ\text{C}$ 范围内, 同时要求基体是铜^[9]、镍^[10]和锆^[11]等具有催化性能的材料, 不适合在医用钛表面原位制备石墨烯。

在 CVD 的基础上添加等离子体增强设备, 组成等离子体增强化学气相沉积 (PECVD) 可有效解决反应温度过高和需要催化性基体的问题^[12-13]。等离子体发生器可将含碳前驱体如甲烷、乙炔等裂解为含碳等离子体基团, 在载气输送下, 含碳等离子体基团到达基体表面形核生长为石墨烯^[14-15]。因此, PECVD 可在较低温度下合成石墨烯。Luo 等^[16]采用 PECVD 方法, 在 800°C 条件下, 钛箔表面原位生长碳化钛/石墨烯复合材料, 钛箔和钛/碳化钛/石墨烯复合材料的表面硬度值分别为 204.84HV 和 641.18HV , 制备的碳化钛/石墨烯复合材料在保持强度的同时, 表面硬度值提高了 2 倍。Feng 等^[17]采用 PECVD 在钛合金双极板表面直接生长垂直石墨烯涂层, 垂直石墨烯独特的结构使质子交换膜燃料电池具有出色的导电性和导热性, 高疏水性垂直石墨烯涂层可抑制腐蚀性液体的渗透, 提高电池稳定性。Zhou 等^[17]利用钛和碳原子间可形成化学键, 在石英玻璃基板表面引入超薄 (10 nm) 钛薄膜作为黏合层, 采用 PECVD 法在 700°C 条件下制备垂直石墨烯薄膜, 并展示了在电加热除雾镜片的应用潜力。本课题组前期研究工作采用 PECVD 法, 成功在医用钛表面制备石墨烯薄膜, 探讨了石墨烯薄膜制备温度的影响规律, 发现 $650 \sim 800^\circ\text{C}$ 范围内可以在医用钛表面构建石墨烯薄膜^[18]。鉴于此, 本工作探究石墨烯薄膜生长时间的影响, 采

用 PECVD 法在医用钛表面制备石墨烯薄膜,通过控制石墨烯薄膜生长时间,制备 3 组不同石墨烯薄膜,并对其理化性能和细胞响应性等进行评估。

1 试验

1.1 石墨烯薄膜制备

试验材料包括:基体 TA2 医用钛(10 mm×10 mm×1 mm,江苏海川稀有金属制品有限公司),氢氟酸(HF,国药集团化学试剂有限公司,分析纯),硝酸(HNO₃,国药集团化学试剂有限公司,分析纯)。使用 HF 和 HNO₃ 混合溶液(V(HF):V(HNO₃):V(H₂O)=1:5:34)超声清洗医用钛 3 次,每次清洗 5 min,以去除医用钛表面污染物和氧化层^[19]。使用超纯水超声清洗 3 次,每次 5 min,以去除医用钛表面残留的酸洗液。经酸洗处理的医用钛置于 60 ℃恒温箱中干燥,所得样品命名为 Ti。

试验采用等离子体增强化学气相沉积设备(厦门烯成石墨烯科技有限公司),在 Ti 表面制备石墨烯薄膜。将 Ti 置于石英管中,调节制备工艺,制备过程主要分为以下 3 个阶段:

1) 加热阶段。加热系统从室温以 10 ℃/min 加热速率升温到目标温度 650 ℃,加热期间持续通入 Ar(纯度 99.999%,80 mL/min)和 H₂(纯度 99.999%,5 mL/min)。

2) 石墨烯薄膜生长阶段。在 650 ℃通入 CH₄(纯度 99.999%,2 mL/min)、Ar(纯度 99.999%,80 mL/min)和 H₂(纯度 99.999%,5 mL/min),并启动工作频率为 13.56 MHz 的射频等离子体发生器(VERG-500, K-mate,中山市酷美电子有限公司),调节功率为 100 W,将气体离化为等离子体,含碳等离子体基团在 Ti 表面形核,生长形成石墨烯薄膜。调整石墨烯薄膜生长时间分别为 5、10、30 min。

3) 冷却阶段。石墨烯薄膜生长阶段结束,停止加热,关闭等离子体发生器和气体,系统在抽真空状态下冷却至室温。根据石墨烯薄膜生长时间 5、10、30 min 对应得到的样品分别命名为 GT5、GT10 和 GT30,相关参数如表 1 所示。

表 1 石墨烯薄膜的制备参数
Tab.1 Fabrication parameters of the graphene films

Parameters	Value
Flow of H ₂ /(mL·min ⁻¹)	5
Flow of Ar/(mL·min ⁻¹)	80
Flow of CH ₄ /(mL·min ⁻¹)	2
Fabrication time/min	5, 10, 30
Background pressure/Pa	53
Chamber temperature/℃	650
Plasma power/W	100

1.2 性能测试及组织观察

1) 材料理化性能测试。使用场发射扫描电子显微镜(Verios G4 UC,赛默飞世尔科技公司,美国),表征样品表面微观形貌,测试电压为 10 kV。采用激发波长为 514 nm 的 Ar 离子激光器拉曼光谱仪(LabRAM HR Evolution, Horiba Scientific, 法国),测试样品在 1 200~2 800 cm⁻¹范围内的拉曼光谱。采用接触角测量仪(SL200, 梭伦, 上海),测试样品表面的水接触角,测试溶液为 2 μL 超纯水。使用电化学工作站(CHI600E, 上海辰华仪器有限公司, 上海),测试样品的动电位极化曲线,选用 0.9% (质量分数) NaCl 溶液,扫描速率为 0.005 V/s,测试电位范围为-0.7~0.3 V。

2) 采用小鼠成骨细胞培养评价石墨烯薄膜的细胞相容性^[20]。细胞培养液(组成以体积分数计)由 1%青霉素和链霉素(Hyclone, 美国)、10%胎牛血清(FBS, Hyclone, 美国)和 89%基础培养基(α-MEM, Gibco, 美国)构成。使用第 3 代或第 4 代细胞进行后续试验。接种细胞前,使用 75% (体积分数)乙醇溶液对样品进行灭菌处理。将灭菌后的样品放入 24 孔细胞培养板,采用 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲溶液(PBS)润洗样品 2 次,每次 10 min。使用 0.25% (质量分数)胰酶消化细胞,配制目标密度细胞悬浮液。将细胞接种在样品表面,放入细胞培养箱培养。

3) 通过细胞骨架荧光染色表征样品表面细胞黏附与铺展情况。小鼠成骨细胞接种密度为 5.0×10⁴ cells/mL,在 Ti、GT5、GT10 和 GT30 样品表面培养 1、4、24 h。培养至预设时间点,使用 0.01 mol/L PBS 润洗 2 次,使用 4% (质量分数)多聚甲醛(PFA, Sigma, 美国)溶液固定细胞 4 h。随后使用 0.1% (体积分数) Triton X-100 (Amresco, 美国)溶液对细胞膜进行通透。使用 1% (质量分数)牛血清蛋白(Bovine Serum Albumin, BSA, Sigma, 美国)封闭表面细胞。最后,分别使用 FITC 标记鬼笔环肽(Sigma, 美国)和 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI, Invitrogen, 美国)对细胞肌动蛋白和细胞核进行染色。采用激光共聚焦显微镜(Leica TCS SP8, 德国)表征样品表面细胞的黏附和铺展情况。

4) 采用 CCK-8 试剂(碧云天生物试剂, 上海)检测样品表面细胞活性。将 1 mL 细胞密度为 2.0×10⁴ cells/mL 的细胞悬浮液接种至 Ti、GT5、GT10 和 GT30 样品表面。培养 1、4、7 d 时,吸出培养板孔内的细胞培养液,使用 0.01 mol/L PBS 润洗样品 2 次,加入 500 μL 含 10% (体积分数) CCK-8 的培养液,培养 2 h。从每孔取 100 μL 培养液放入白色 96 孔板,使用多功能微孔板读板机(Biotek, 美国)检测细胞培养液在 450 nm 处的吸光度。

5) 使用扫描电子显微镜(S-3400 N, 日立, 日本)表征样品表面细胞的形貌。细胞在样品表面培养

1、4、7 d 后, 使用 2.5% (质量分数) 戊二醛 (国药集团化学试剂有限公司, 上海), 在 4 ℃ 下固定细胞 4 h。使用梯度乙醇溶液 (体积分数为 30%、50%、75%、90%、95% 和 100%) 进行细胞脱水处理。使用系列浓度梯度六甲基二硅烷 (国药集团化学试剂有限公司, 上海) 和乙醇混合溶液 ($V(\text{乙醇}): V(\text{HDMS})=2:1$ 、 $1:1$ 、 $1:2$ 和 $0:1$) 浸泡样品 10 min 进行细胞脱水处理。样品在通风橱内自然晾干后, 使用 SEM 观察样品表面细胞形貌。

2 结果及分析

2.1 表面成分及形貌

GT5、GT10 和 GT30 样品的拉曼光谱如图 1 所示。GT5、GT10 和 GT30 均在 $1\,356\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,582\text{ cm}^{-1}$ 处呈现 2 个明显峰型, 分别对应石墨烯的 D 峰和 G 峰。D 峰涉及 iTO 声子的非弹性谷间散射与 1 个缺陷的谷间散射过程, 它是由于材料中存在的缺陷引起的。缺陷既可以是片层的点缺陷, 也可以是片层晶界的边缘, 因此 D 峰常用于表征石墨烯样品缺陷或者边缘的多少^[21]。G 峰产生于 sp^2 碳原子的面内振动, 是与布里渊区中心双重简并的 iTO 和 iLO 光学声子相互作用产生的^[22]。在 $2\,701\text{ cm}^{-1}$ 处的特征峰是 D 峰的倍频峰 2D 峰, 2D 峰是由碳原子中 2 个具有反向动量的声子双共振跃迁引起的^[23], GT5 和 GT10 有微弱的 2D 峰, GT30 有明显的 2D 峰。一般用 D 峰和 G 峰的强度比 (I_D/I_G) 来表征石墨烯的缺陷密度, I_D/I_G 值越大, 缺陷密度越高^[24-25]。由图 1 可知, GT5、GT10 和 GT30 样品的 I_D/I_G 值分别为 1.97、2.85 和 1.41, 表明 3 组样品中, 生长时间为 10 min 的样品石墨烯薄膜的缺陷密度最大, 生长时间为 30 min 的样品石墨烯薄膜的缺陷密度最小。

图 2 为 Ti、GT5、GT10 和 GT30 样品的 SEM 图。Ti 表面存在“沟壑”形貌, 是酸洗处理过程中形成的。GT5 表面石墨烯薄膜平行于基体, 呈现出颗粒状。

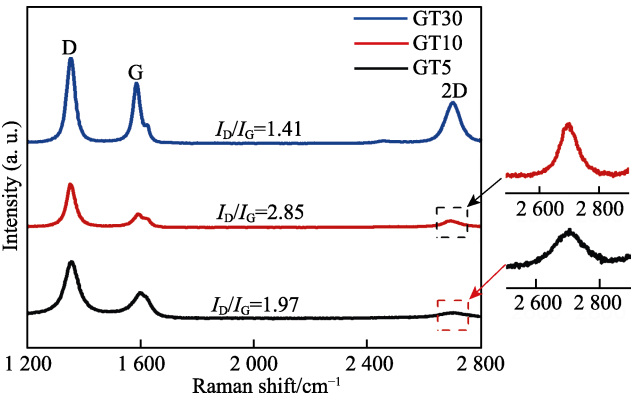


图 1 不同生长时间石墨烯薄膜的拉曼光谱
Fig.1 Raman spectra of graphene films with various growth time

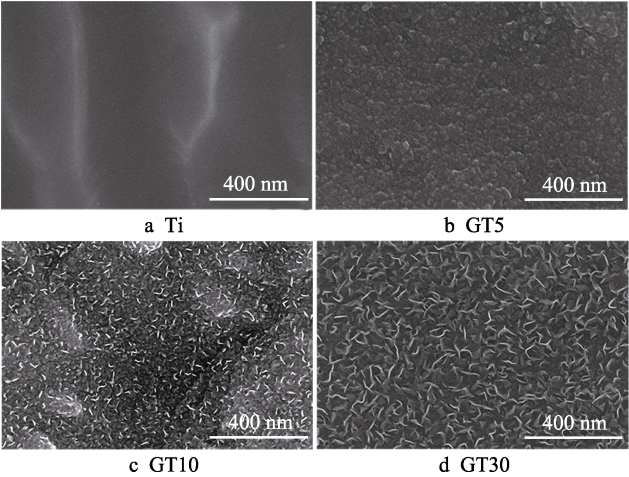


图 2 Ti、GT5、GT10 和 GT30 样品的 SEM 形貌
Fig.2 SEM morphologies of Ti, GT5, GT10, and GT30 samples

GT10 表面石墨烯薄膜与 GT5 表面石墨烯薄膜相比, 具有明显的差异, 存在垂直于基体的纳米片结构。随着石墨烯薄膜生长时间的增加, 石墨烯纳米片增大, GT30 表面垂直石墨烯纳米片尺寸明显大于 GT10 表面垂直石墨烯纳米片尺寸。图 2d 中 GT30 表面石墨烯薄膜具有较多的纳米片边缘, 结合图 1 拉曼测试结果, 在 3 组石墨烯薄膜中, GT30 具有最大的 D 峰强度, 这表明 GT30 表面石墨烯具有最多的纳米片边缘。通过图 2 表征结果可知, 控制石墨烯薄膜的生长时间, 石墨烯薄膜在基体表面的形貌及存在状态发生了明显的变化, 这主要是由于 PECVD 特性产生的, 等离子体发生器将 CH_4 气体离化为含碳等离子体基团, 降低 C—H 键断裂所需的能量, 即可以降低石墨烯薄膜形成所需的温度^[26]。在制备初期, 含碳等离子体基团和 Ti 反应, 石墨烯薄膜在 Ti 表面形核, 石墨烯薄膜生长时间为 5 min 时, 石墨烯薄膜平行于基体表面; 随着生长时间的延长, 石墨烯薄膜受到内建电场的影响, 石墨烯薄膜形成垂直于基体的纳米片结构^[17,27], 如图 2c 所示。石墨烯薄膜生长时间为 30 min 时, 垂直石墨烯纳米片尺寸变大, 密度增加, 如图 2d 所示。

2.2 耐腐蚀性能

为考察石墨烯薄膜对医用钛表面的腐蚀防护能力, 分别测试了 Ti、GT5、GT10 和 GT30 样品的耐腐蚀性能。图 3 为 Ti、GT5、GT10 和 GT30 4 组样品在 0.9%NaCl 溶液中的动电位极化曲线。表 2 给出了相应的耐腐蚀性能参数。根据电化学腐蚀理论, 金属材料的腐蚀电位 (E_{corr}) 用来评价材料的腐蚀倾向, 腐蚀电位越正, 表示材料的耐腐蚀性越优异, 腐蚀电流密度 (J_{corr}) 是评价腐蚀速率的标准, 腐蚀电流越大, 表明材料的腐蚀速率越快, 耐腐蚀性越差^[28-29]。可以看出, Ti、GT5、GT10 和 GT30 样品的腐蚀电位分别为 -0.526 、 -0.490 、 -0.404 、 -0.447 V , 含石墨烯

薄膜样品的腐蚀电位均大于 Ti 的腐蚀电位，表明石墨烯薄膜可以提高基体 Ti 的耐腐蚀性。GT10 的腐蚀电流密度大于 Ti 的腐蚀电流密度，表明一旦发生腐蚀后，GT10 表面的石墨烯薄膜会加速 Ti 的腐蚀。GT5 的腐蚀电流密度最小，腐蚀速率最低，耐腐蚀性强。

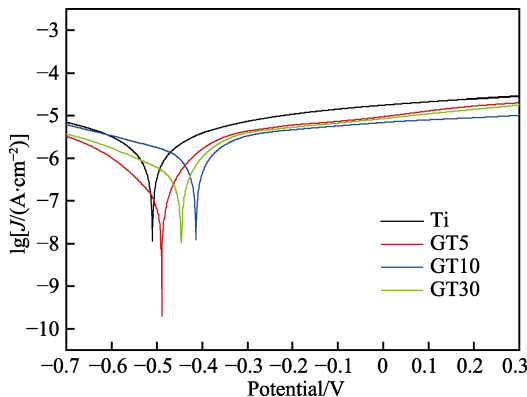


图 3 Ti、GT5、GT10 和 GT30 样品的动电位极化曲线
Fig.3 Potentiodynamic polarization curves of Ti, GT5, GT10, and GT30 samples

表 2 Ti、GT5、GT10 和 GT30 样品的
耐腐蚀性能参数
Tab.2 Corrosion resistance parameters of
Ti, GT5, GT10, and GT30 samples

Sample	$J_{\text{corr}}/(\text{A} \cdot \text{cm}^{-2})$	E_{corr}/V
Ti	1.489×10^{-6}	-0.526
GT5	1.822×10^{-7}	-0.490
GT10	1.807×10^{-6}	-0.404
GT30	6.873×10^{-7}	-0.447

2.3 接触角

材料表面的浸润特性，与表面化学成分及微结构密切相关，而且表面微结构是导致疏水特性的关键因素^[30]。Ti、GT5、GT10 和 GT30 的水接触角如图 4 所示，平均值分别为 74.6°、94.7°、100.5°和 122.7°。可知，含有石墨烯薄膜的样品表面水接触角均大于 Ti 表面水接触角，且含石墨烯样品均表现出疏水特性，主要是由于石墨烯自身疏水产生的。随着生长时间的延长，Ti 表面石墨烯薄膜的水接触角逐渐增大，主要源于石墨烯薄膜结构的影响。在浸润理论方面，Wenzel 认为粗糙表面增强材料浸润性，即粗糙表面使得疏水材料更疏水，亲水材料更亲水。Cassie 表示疏水表面液滴没有完全填满粗糙表面凹槽，液滴下存在部分被截留的空气，因此，表观上固液接触面由固液和气液接触面组成^[30-31]。结合图 2 表征结果，GT10 和 GT30 表面具有垂直纳米片结构，微结构排布可以有效截留空气，在微结构表面形成了大比例的气液界面，使得材料表面更加疏水，垂直纳米片越大，疏水性越强。因此，GT30 具有最大的水接触角。

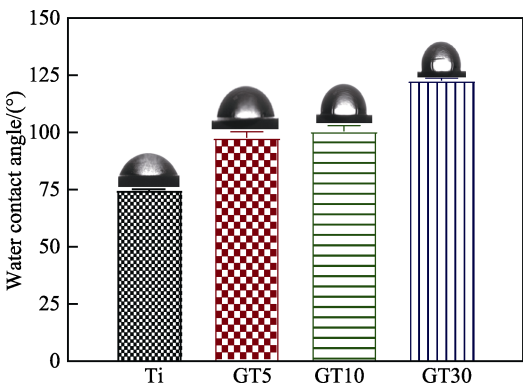


图 4 Ti、GT5、GT10 和 GT30 样品的水接触角
Fig.4 Water contact angle of Ti, GT5, GT10 and GT30 samples

2.4 细胞相容性

小鼠成骨细胞在 Ti、GT5、GT10 和 GT30 样品表面培养 1、4、24 h 的骨架荧光染色结果如图 5 所示。细胞在样品表面培养 1 h 时，大多呈现圆形，Ti

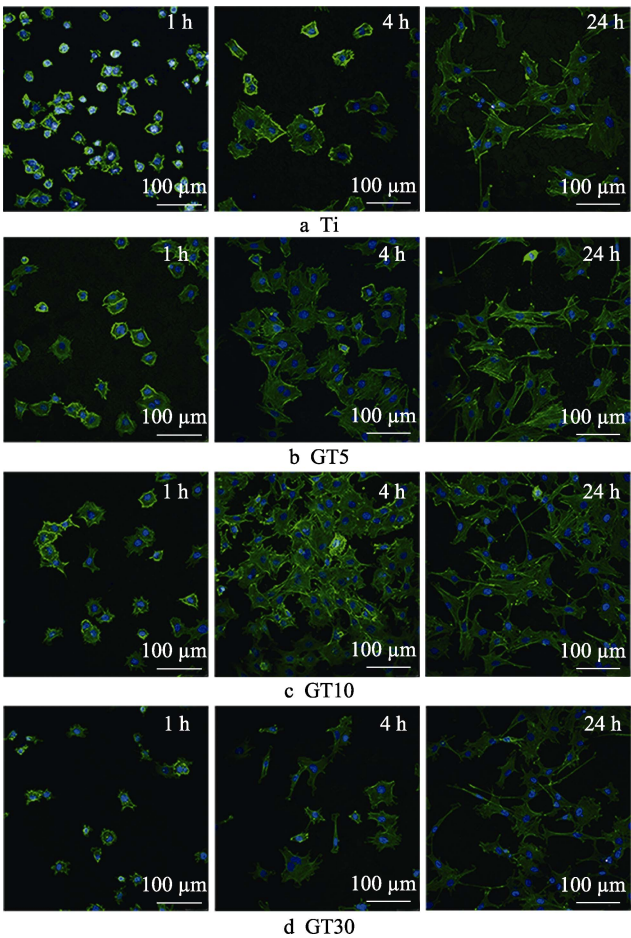


图 5 小鼠成骨细胞在 Ti、GT5、GT10 和 GT30 样品表面培养 1、4、24 h 的骨架荧光染色图
Fig.5 Fluorescent images of MC3T3-E1 cytoskeleton staining on Ti, GT5, GT10, and GT30 samples cultured for 1 h, 4 h, and 24 h

和 GT30 样品表面的细胞铺展面积较小, 而 GT5 和 GT10 样品表面细胞铺展面积相对较大, 各组样品表面细胞的肌动蛋白表达不明显。经过 4 h 培养, 各样品表面细胞铺展面积变大, GT5 和 GT10 样品表面细胞铺展相对明显, 呈现出肌动蛋白表达。经过 24 h 培养, 各组样品表面细胞呈现出不规则多边形形状, 有大量肌动蛋白表达, 其中, GT5 和 GT10 样品表面细胞铺展面积相对较大, 表明 GT5 和 GT10 样品有利于细胞铺展。GT30 样品表面细胞黏附铺展较差, 主要源于垂直石墨烯纳米片的影响, 抑制了细胞的黏附与铺展。

小鼠成骨细胞在 Ti、GT5、GT10 和 GT30 样品表面培养 1、4、7 d 的细胞活性如图 6 所示。培养 1 d 后, 各组样品表面细胞活性没有显著性差异。随着培养时间的延长, 各组样品表面细胞活性显著提高, 培养 4 d 时, Ti 表面细胞的活性高于 GT5、GT10 和 GT30 表面细胞的活性。在培养 7 d 时, GT5 和 GT10 表面细胞活性与 Ti 表面细胞活性无显著性差异, GT30 样品表面细胞活性弱于 Ti 和 GT10 表面细胞活性。分析认为, 细胞活性受到样品表面形貌和表面疏水特性的影响, 4 组样品中, GT30 样品表面具有较大的垂直纳米片结构且表面最疏水, 不利于细胞的黏附与铺展, 进而降低细胞活性。

小鼠成骨细胞在 Ti、GT5、GT10 和 GT30 样品表面培养 1、4、7 d 的 SEM 形貌如图 7 所示。第 1 天, 各组样品表面细胞均匀分布, 生长良好。经过 4 d 培养后, 细胞基本可以覆盖样品表面。培养 7 d 后, 细胞完全覆盖样品表面, 表明小鼠成骨细胞在样品表面具有较好的细胞活性。

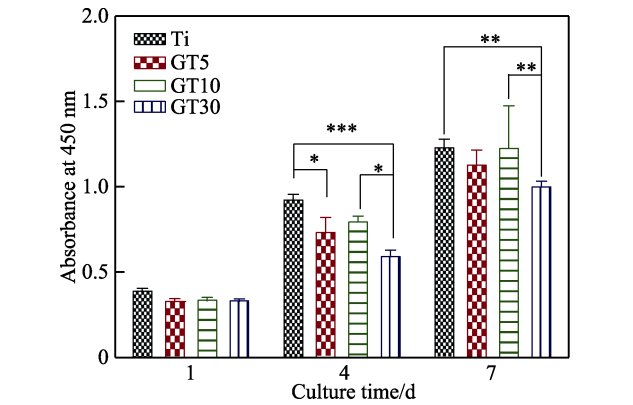


图 6 小鼠成骨细胞在 Ti、GT5、GT10 和 GT30 样品表面培养 1、4、7 d 的细胞活性 (显著性差异值 $*P < 0.05$, $**P < 0.01$, $***P < 0.001$)

Fig.6 Cell viability of MC3T3-E1 cytoskeleton cultured on Ti, GT5, GT10 and GT30 samples for 1 d, 4 d, and 7 d (significant difference $*P < 0.05$, $**P < 0.01$, $***P < 0.001$)

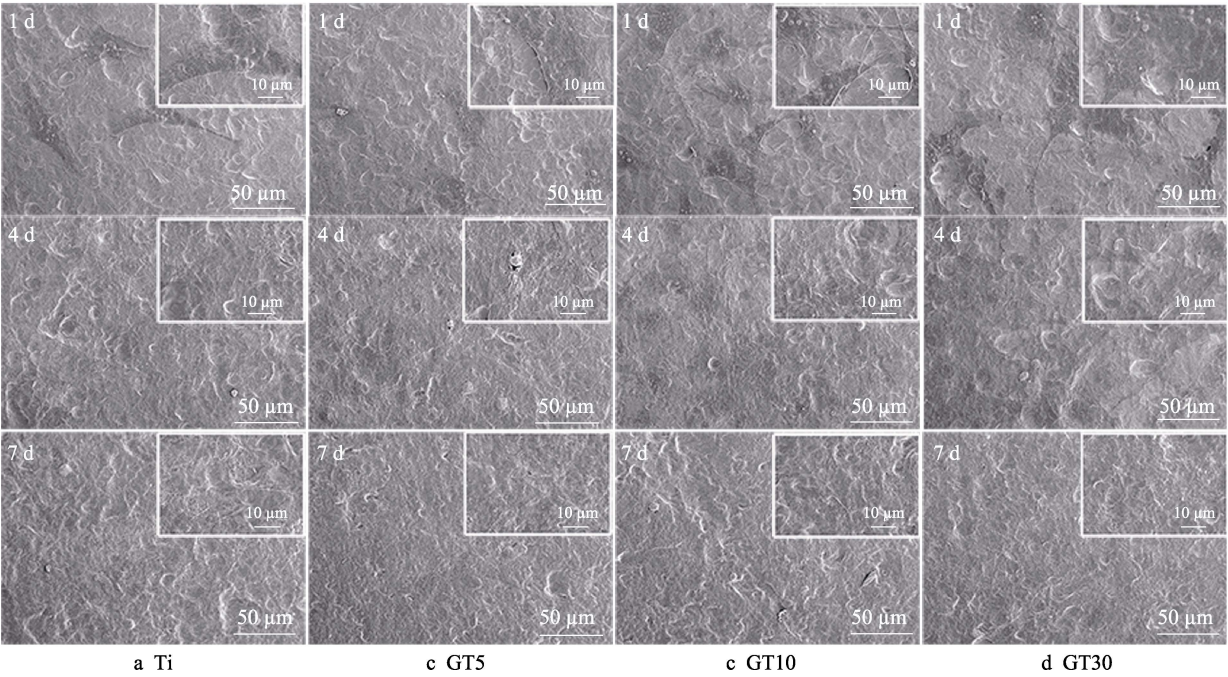


图 7 小鼠成骨细胞在 Ti、GT5、GT10 和 GT30 样品表面培养 1、4、7 d 的 SEM 形貌

Fig.7 SEM morphologies of MC3T3-E1 cytoskeleton cultured on Ti, GT5, GT10 and GT30 samples for 1 d, 4 d, and 7 d

3 结论

1) 采用 PECVD 法在医用钛表面原位生长石墨烯薄膜, 在 30 min 内随着生长时间的延长, 石墨烯薄

膜在医用钛表面由水平状态转变为垂直纳米片状态。

2) 医用钛表面石墨烯薄膜的形貌和结构影响了其水接触角的大小, 石墨烯纳米片增大, 医用钛表面石墨烯薄膜的水接触角增大, 3 组含石墨烯样品中, GT30 样品表面石墨烯纳米片最大, 水接触角最大。

石墨烯薄膜生长时间为 5 min 的样品具有最小的腐蚀电流密度, 生长时间为 10 min 的样品具有最大的腐蚀电位。

3) 体外细胞试验结果表明, 石墨烯薄膜生长时间为 5 min 和 10 min 的样品有利于小鼠成骨细胞的黏附与铺展, 生长时间为 30 min 的样品, 由于较大的垂直纳米片和疏水性不利于小鼠成骨细胞的黏附与铺展, 进而对细胞活性呈现一定的抑制作用。

参考文献:

- [1] 王欣, 田惠博, 于军, 等. 石墨烯基涂层的性质及在抗菌和组织工程中的应用[J]. 表面技术, 2020, 49(5): 129-139.
WANG X, TIAN H B, YU J, et al. Graphene-Based Coating: Its Properties and for Antibacterial and Tissue Engineering Applications[J]. Surface Technology, 2020, 49(5): 129-139.
- [2] SUN Z X, FANG S Y, HU Y H. 3D Graphene Materials: From Understanding to Design and Synthesis Control[J]. Chemical Reviews, 2020, 120(18): 10336-10453.
- [3] LEE W C, LIM C H Y X, SHI H, et al. Origin of Enhanced Stem Cell Growth and Differentiation on Graphene and Graphene Oxide[J]. ACS Nano, 2011, 5(9): 7334-7341.
- [4] QIU J J, GENG H, WANG D H, et al. Layer-Number Dependent Antibacterial and Osteogenic Behaviors of Graphene Oxide Electrophoretic Deposited on Titanium [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 9(14): 12253-12263.
- [5] MEI L, LIN C L, CAO F Y, et al. Amino-Functionalized Graphene Oxide for the Capture and Photothermal Inhibition of Bacteria[J]. ACS Applied Nano Materials, 2019, 2(5): 2902-2908.
- [6] HU W B, PENG C, LUO W J, et al. Graphene-Based Antibacterial Paper[J]. ACS Nano, 2010, 4(7): 4317-4323.
- [7] ZHAO C H, PANDIT S, FU Y F, et al. Graphene Oxide Based Coatings on Nitinol for Biomedical Implant Applications: Effectively Promote Mammalian Cell Growth but Kill Bacteria[J]. RSC Advances, 2016, 6(44): 38124-38134.
- [8] JIA Z J, SHI Y Y, XIONG P, et al. From Solution to Biointerface: Graphene Self-Assemblies of Varying Lateral Sizes and Surface Properties for Biofilm Control and Osteodifferentiation[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2016, 8(27): 17151-17165.
- [9] LEE H C, BONG H, YOO M S, et al. Copper-Vapor-Assisted Growth and Defect-Healing of Graphene on Copper Surfaces[J]. Small, 2018, 14(30): 1801181.
- [10] LI J H, WANG G, GENG H, et al. CVD Growth of Graphene on NiTi Alloy for Enhanced Biological Activity[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2015, 7(36): 19876-19881.
- [11] HOFMANN S, BRAEUNINGER-WEIMER P, WEATHERUP R S. CVD-Enabled Graphene Manufacture and Technology[J]. The Journal of Physical Chemistry Letters, 2015, 6(14): 2714-2721.
- [12] LU C H, SHANG K M, LEE S R, et al. Low-Temperature Direct Growth of Nanocrystalline Multilayer Graphene on Silver with Long-Term Surface Passivation[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2023, 15(7): 9883-9891.
- [13] ZOU M Z, LIU W M, YU Y, et al. Direct Growth of Globally Aligned Graphene Nanoribbons on Reconstructed Sapphire Substrate Using PECVD[J]. Nano Research, 2023, 16(1): 62-69.
- [14] KIM J, SAKAKITA H, ITAGAKI H. Low-Temperature Graphene Growth by Forced Convection of Plasma-Excited Radicals[J]. Nano Letters, 2019, 19(2): 739-746.
- [15] BO Z, YANG Y, CHEN J H, et al. Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition Synthesis of Vertically Oriented Graphene Nanosheets[J]. Nanoscale, 2013, 5(12): 5180-5204.
- [16] LUO B W, ZHOU H T, LIU D B, et al. One-Step In-Situ Reaction Synthesis of TiC/Graphene Composite Thin Film for Titanium Foil Surface Reinforcement[J]. Vacuum, 2019, 160: 472-477.
- [17] ZHOU F, LIU B Y, LI Z, et al. Adhesion-Enhanced Vertically Oriented Graphene on Titanium-Covered Quartz Glass Toward High-Stability Light-Dimming-Related Applications[J]. ACS Nano, 2021, 15(6): 10514-10524.
- [18] [18] ZHANG X M, QIU J J, TAN J, et al. In-Situ Growth of Vertical Graphene on Titanium by PECVD for Rapid Sterilization under Near-Infrared Light[J]. Carbon, 2022, 192: 209-218.
- [19] 钱苗根. 现代表面处理技术[M]. 北京: 机械工业出版社, 2003: 60-69.
QIAN M G. Modern Surface Treatment Technology[M]. Beijing: China Machine Press, 2003: 60-69.
- [20] ZHANG X M, GUAN S W, QIU J J, et al. Atomic Layer Deposition of Tantalum Oxide Films on 3D-Printed Ti6Al4V Scaffolds with Enhanced Osteogenic Property for Orthopedic Implants[J]. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2023, 9(7): 4197-4207.
- [21] LIU J K, LI Q Q, ZOU Y, et al. The Dependence of Graphene Raman D-Band on Carrier Density[J]. Nano Letters, 2013, 13(12): 6170-6175.
- [22] GANESAN K, GHOSH S, GOPALA KRISHNA N, et al. A Comparative Study on Defect Estimation Using XPS and Raman Spectroscopy in Few Layer Nanographitic Structures[J]. Physical Chemistry Chemical Physics, 2016, 18(32): 22160-22167.
- [23] FRANK O, MOHR M, MAULTZSCH J, et al. Raman 2D-Band Splitting in Graphene: Theory and Experiment[J]. ACS Nano, 2011, 5(3): 2231-2239.

(下转第 190 页)

- ials Science & Engineering C, Materials for Biological Applications, 2015, 49: 323-329.
- [13] GUO X T, NIU Y S, CHEN M H, et al. Stoichiometry and Tribological Behavior of Thick Ta(N) Coatings Produced by Direct Current Magnetron Sputtering (DCMS)[J]. Applied Surface Science, 2018, 427: 1071-1079.
- [14] WEI D B, CHEN X H, ZHANG P Z, et al. Plasma Surface Tantalum Alloying on Titanium and Its Corrosion Behavior in Sulfuric Acid and Hydrochloric Acid[J]. Applied Surface Science, 2018, 441: 448-457.
- [15] WAN Y, TANG W C, LI J L, et al. Comparison of Method and Performance in Tantalum Coating Prepared by Molten Salt Electroplating and Glow Infiltration[J]. Surface and Coatings Technology, 2019, 375: 315-322.
- [16] VILARDELL A M, CINCA N, CONCUSTELL A, et al. Cold Spray as an Emerging Technology for Biocompatible and Antibacterial Coatings: State of Art[J]. Journal of Materials Science, 2015, 50(13): 4441-4462.
- [17] MAIER B, LENLING M, YEOM H, et al. A Novel Approach for Manufacturing Oxide Dispersion Strengthened (ODS) steel Cladding Tubes Using Cold Spray Technology[J]. Nuclear Engineering and Technology, 2019, 51(4): 1069-1074.
- [18] 崔焱, 王春婷, 贾利, 等. 冷喷涂 Ta 涂层组织及腐蚀性能[J]. 材料热处理学报, 2021, 42(2): 139-144.
- CUI L, WANG C T, JIA L, et al. Structure and Corrosion Properties of Ta Coating Prepared by Cold Spraying[J]. Transactions of Materials and Heat Treatment, 2021, 42(2): 139-144.
- [19] 唐俊榕. 冷喷涂制备多孔钽涂层及钽钽复合材料的结构和性能研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2021.
- TANG J R. Study on the Structure and Properties of Porous Ta Coatings and Ti-Ta Composites Prepared by Cold Spraying[D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2021.
- [20] SRIPADA J V, GALLANT M F, SAHA G C, et al. Tantalum Based High-Pressure Cold Spray Coatings on Stainless Steel Substrate[J]. Key Engineering Materials, 2019, 4885: 429-434.
- [21] PUTRANTYO I, ANILBHAI N, VANJANI R, et al. Tantalum as a Novel Biomaterial for Bone Implant: A Literature Review[J]. Journal of Biomimetics, Biomaterials and Biomedical Engineering, 2021, 52: 55-65.
- [22] GAO H R, YANG J Z, JIN X, et al. Porous Tantalum Scaffolds: Fabrication, Structure, Properties, and Orthopedic Applications[J]. Materials & Design, 2021, 210: 110095.
- [23] YANG J Z, JIN X, GAO H R, et al. Additive Manufacturing of Trabecular Tantalum Scaffolds by Laser Powder Bed Fusion: Mechanical Property Evaluation and Porous Structure Characterization[J]. Materials Characterization, 2020, 12: 110694.
- [24] QIAN H, LEI T, LEI P F, et al. Additively Manufactured Tantalum Implants for Repairing Bone Defects: A Systematic Review[J]. Tissue Engineering Part B: Reviews, 2021, 27(2): 166-180.

(上接第 162 页)

- [24] WANG L Y, QIU J J, GUO J S, et al. Regulating the Behavior of Human Gingival Fibroblasts by sp^2 Domains in Reduced Graphene Oxide[J]. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2019, 5(12): 6414-6424.
- [25] 刘颖, 戴丹, 江南. 三嗪对 CVD 石墨烯 n 型掺杂的研究[J]. 无机材料学报, 2017, 32(5): 517-522.
- LIU Y, DAI D, JIANG N. Synthesis of the Nitrogen-Doped CVD Graphene through Triazine[J]. Journal of Inorganic Materials, 2017, 32(5): 517-522.
- [26] POLZER A, SEDLAK J, SEDLACEK J, et al. Vertical Graphene Growth on AlCu4Mg Alloy by PECVD Technique[J]. Coatings, 2021, 11(9): 1108.
- [27] GHOSH S, GANESAN K, POLAKI S R, et al. Influence of Substrate on Nucleation and Growth of Vertical Graphene Nanosheets[J]. Applied Surface Science, 2015, 349: 576-581.
- [28] 贾昆鹏, 王雪, 徐锋, 等. 调制比对 HiPIMS 制备多层 DLC 薄膜耐腐蚀性能的影响[J]. 中国表面工程, 2021, 34(2): 35-40.
- JIA K P, WANG X, XU F, et al. Effects of Modulation Ratio on Corrosion Resistance of Multilayer DLC Films Prepared by HiPIMS[J]. China Surface Engineering, 2021, 34(2): 35-40.
- [29] WANG D H, LI Q W, QIU J J, et al. Corrosion Motivated ROS Generation Helps Endow Titanium with Broad-Spectrum Antibacterial Abilities[J]. Advanced Materials Interfaces, 2019, 6(17): 1900514.
- [30] 马国佳, 郑海坤, 常士楠, 等. 微纳结构超疏水表面的浸润性分析及设计[J]. 化学学报, 2019, 77(3): 269-277.
- MA G J, ZHENG H k, CHANG S N, et al. Wettability Analysis and Design of Micro-Nanostructured Superhydrophobic Surface[J]. Acta Chimica Sinica, 2019, 77(3): 269-277.
- [31] 李达, 张曰理, 肖文佳, 等. 超疏水-亲水 $\text{CaBi}_4\text{Ti}_4\text{O}_{15}$ 涂层制备及其表面浸润性研究[J]. 无机材料学报, 2008, 23(4): 745-748.
- LI D, ZHANG Y L, XIAO W J, et al. Fabrication and Investigation of Superhydrophobic-Hydrophilic $\text{CaBi}_4\text{Ti}_4\text{O}_{15}$ Coatings[J]. Journal of Inorganic Materials, 2008, 23(4): 745-748.