

**Модификация тонких пленок хитозана в электронно-пучковой плазме***Зау Йе Мьинт, Кхин Маунг Хтау, Хтет Вэй Ян Чжо, Хтет Ко Ко Зау, Т. М. Васильева*

*Экспериментально исследована возможность модификации тонких пленок хитозана в электронно-пучковой плазме кислорода. Плазмохимическая модификация пленок приводила к снижению кристалличности, увеличению содержания кислородсодержащих полярных групп, в первую очередь, –СООН. Также наблюдалось, по сравнению с исходными образцами, повышение гидрофильности поверхности хитозановых пленок, модифицированных в электронно-пучковой плазме, причем этот эффект сохранялся по крайней мере в течение трех недель после обработки.*

*Ключевые слова:* электронно-пучковая плазма, хитозан, гидрофильные свойства.

**Ссылка:** Зау Йе Мьинт, Кхин Маунг Хтау, Хтет Вэй Ян Чжо, Хтет Ко Ко Зау, Васильева Т. М. // Прикладная физика. 2019. № 1. С. 71.

**Reference:** Zaw Ye Myint, Khin Maung Htay, Htet Wai Yan Kyaw, Htet Ko Ko Zaw, and T. M. Vasilieva, Prikl. Fiz., No. 1, 71 (2019).

**Введение**

В настоящее время в медицинской практике резко возрос интерес к природным аминополисахаридам хитина и его деацетилированного производного хитозана. Эти биополимеры имеют уникальный комплекс свойств: низкую токсичность, высокую комплексообразующую способность, хорошую совместимость с тканями организма, возможность биodeградации в организме человека [1–3].

Одними из самых интересных и перспективных свойств хитозана являются его гемостатическая активность и возможность стимулирования регенерации живых клеток и тканей [3, 4].

Тем не менее, как показывают биологические эксперименты и клинические испытания, биологическая активность материалов, изготовленных на основе хитозанов (тонкие пленки, губ-

ки, компоненты клеточных матриксов и т. д.), сильно варьируется, поскольку исходные полисахариды различаются по своим физико-химическим характеристикам [5].

Химическое модифицирование хитозана позволяет отчасти улучшать его растворимость в различных средах и способствует повышению однородности поверхности материалов, а в ряде случаев и к проявлению новых биологических свойств.

Однако наиболее перспективным и современным методом активации, модификации и функционализации хитозана является воздействие низкотемпературной газоразрядной плазмы низкого и атмосферного давления [6, 7]. Для этого обычно применяют устройства, генерирующие как высокочастотный (ВЧ, 13,56 МГц), так и микроволновый (СВЧ, 2,45 ГГц) разряды, а также разряды постоянного тока [8–11]. Но при использовании подобных физико-технических устройств возникает ряд технологических проблем и задач, а именно: поддержание однородности реакционного объема и связанные с этим ограничения в выборе плазмообразующих сред и диапазона рабочих давлений, управление параметрами генерируемой плазмы, контроль локальных перегревов обрабатываемого образца. Кроме того, значительное количество переменных параметров обработки в плазме газовых разрядов и неоднозначность их влияния на исходный биополимер затрудняют качественное прогнозирование эффекта модификации [12].

Зау Йе Мьинт, аспирант.

Кхин Маунг Хтау, аспирант.

Хтет Вэй Ян Чжо, аспирант.

Хтет Ко Ко Зау, аспирант.

Васильева Татьяна Михайловна, профессор, д.т.н.

Московский физико-технический институт

(национальный исследовательский университет).

Россия, 141701, Московская обл., г. Долгопрудный,

Институтский пер., 9.

Тел. +7(495) 408-47-44.

E-mail: tmvasilieva@gmail.com

Статья поступила в редакцию 31 октября 2018 г.

© Зау Йе Мьинт, Кхин Маунг Хтау, Хтет Вэй Ян Чжо, Хтет Ко Ко Зау, Васильева Т. М., 2019

Целью настоящего исследования было прямое экспериментальное доказательство возможности модификации тонких хитозановых пленок в электронно-пучковой плазме (ЭПП), генерируемой при инъекции электронного пучка (ЭП) в плотную газообразную среду.

### Экспериментальная часть

Состав, температуры частиц и др. характеристики ЭПП определяются энергией электронов  $E_b$ , мощностью пучка  $N_b$ , а также давлением  $p_m$ , температурой  $T_m$ , химическим и фазовым составом плазмообразующего газа. Изменяя мощность электронного пучка при постоянном давлении  $p_m$  (или, наоборот, изменяя давление газа при постоянной  $N_b$ ), можно управлять режимами работы генератора ЭПП и за счет этого контролируемым образом осуществлять различные неравновесные плазмохимические реакции. При этом температуру образца во время обработки удается поддерживать на заданном уровне, а снижение температуры вплоть до комнатной практически не сказывается на высокой химической активности плазмы. Технологические преимущества ЭПП для плазмохимической модификации биополимеров по сравнению с плазмой газовых разрядов уже подробно обсуждались в наших предыдущих работах [13–15].

В данной работе модификация тонких пленок хитозана проводилась в электронно-пучковом плазмохимическом реакторе, конструкция и принцип работы которого описаны в работах [14, 15]. Принципиальная схема эксперимента представлена на рис. 1. Сформированный в высоком вакууме ( $\sim 10^{-5}$  Торр) ЭП (3) ( $E_b = 30$  кВ) инжектировался в заполненную плазмообразующей средой реакционную камеру (5) через газодинамическое выводное окно (4). В экспериментах в качестве плазмообразующего газа использовался кислород при давлении 5 Торр. Плазмообразующий газ подавался в рабочую камеру через нагнетатель (11), который являлся элементом автоматической системы, обеспечивающей поддержание постоянного предустановленного давления. Состав плазмообразующей среды постоянно контролировался во время эксперимента масс-спектрометром HALO 201-RC (Hiden Analytical, UK).

При инъекции пучка в реакционной камере формировалось облако ЭПП (8), в которое помещались подлежащие обработке хитозановые пленки (6).

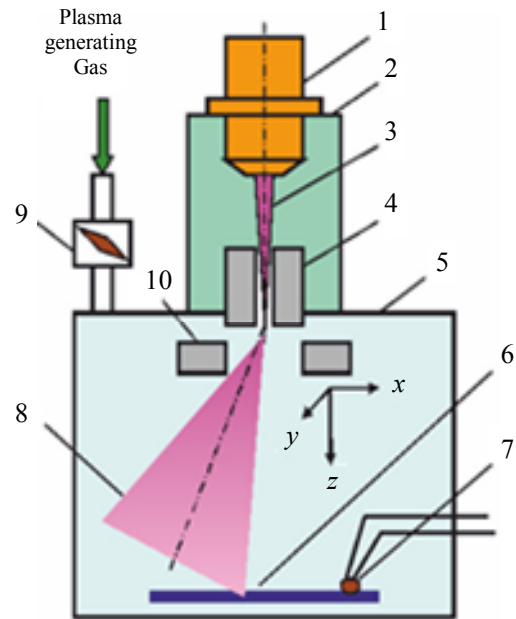


Рис. 1. Схема обработки пленок хитозана в ЭПП: 1 – электронно-лучевая пушка; 2 – высоковакуумная камера; 3 – электронный пучок; 4 – выводное устройство; 5 – рабочая камера; 6 – пленка хитозана; 7 – датчик температуры; 8 – плазменное облако; 9 – регулируемый нагнетатель; 10 – отклоняющая система; стрелкой показана подача плазмообразующего газа.

Внутри рабочей камеры устанавливалась электромагнитная система (12), с помощью которой рассеянный ЭП отклонялся по осям  $x$  и  $y$ , перпендикулярным оси инъекции  $z$ . В результате происходило сканирование облака ЭПП в реакционном объеме, что, во-первых, обеспечивало равномерность обработки всей пленки хитозана, а во-вторых, позволяло регулировать плотность энерговыделения в реакционном объеме и таким способом управлять тепловым режимом обработки.

Пленки обрабатывали в течение 10 мин. Температура образца измерялась оптическим пирометром OptrisLS (Optris GmbH, Германия), а также термосенсором (7), помещенным в реакционный объем. В экспериментах все образцы были обработаны при температурах, не превышающих 300 К, что исключало их тепловую деструкцию. Пленки для плазмохимической модификации изготавливали из 2%-растворов хитозана (средневязкостная молекулярная масса  $M_v = 500$  кДа, степень дезацетилирования 85 %, индекс полидисперсности 1,5) в 1% уксусной кислоте. Толщина полученных пленок составляла  $8,0 \pm 0,5$  мкм.

Сканирующая электронная микроскопия (SEM) пленок выполнялась с помощью микроскопа FEI Quanta 200 с системой микроанализа EDAX Trident XM4 (FEI Company, США). На образцах случайным образом выбирали три поля, которые

фотографировали при увеличениях  $\times 5000$ . Все исследования проводили при ускоряющем напряжении 5 кВ. Поверхность пленок исследовали также с использованием атомно-силового микроскопа (AFM) Solver PRO M (NT-MDT Co., Russia) в контактном режиме. Сканирование осуществлялось с частотой 0,8–1,01 Гц, с разрешением  $256 \times 256$  и  $512 \times 512$  точек. Обработка изображений и статистическая обработка результатов осуществлялись в программе Nova.

ИК-спектры отражения–поглощения регистрировали на ИК-Фурье спектрометре Perkin-Elmer Spectrum 100 FT-IR spectrometer (Perkin-Elmer, США), оснащенный рабочей секцией PIKE Technologies specular VeeMAX™ в диапазоне волновых чисел  $\nu = 500\text{--}5000 \text{ см}^{-1}$  и разрешением  $4 \text{ см}^{-1}$ . Идентификация полос поглощения проводилась на основании справочной литературы [16, 17].

Гидрофильные свойства пленок были определены с помощью измерения контактного угла смачивания по воде, который измеряли методом падающей капли [18] на оптическом приборе CAM101 (KSVInstrumentsLTD, Финляндия). Измерения угла смачивания проводили сразу по-

сле ЭПП-обработки, а также через 2, 3 и 7 недель, чтобы исследовать деградацию гидрофильности образцов с течением времени. Экспериментальные данные статистически анализировали с помощью критерия Стьюдента: данные с доверительной вероятностью ( $p$ -значения) не меньше, чем 0,95, считались достоверными.

В качестве образцов сравнения использовались тонкие пленки хитозана, не подвергавшиеся плазмохимическому воздействию.

### Экспериментальные результаты и обсуждение

Краевой угол смачивания хитозановых пленок, обработанных в ЭПП кислорода, существенно понижался по сравнению с исходными образцами, что свидетельствует о радикальном улучшении их гидрофильности. Данный эффект сохранялся в течение длительного времени после обработки, хотя и наблюдалась характерная деградация гидрофильных свойств (табл. 1), связанная с процессами старения, которые происходят в полимерных материалах после плазмохимической модификации [19, 20].

Таблица 1

Контактный угол смачивания для воды поверхности пленок хитозана, обработанных в ЭПП кислорода в течение 10 мин.

Условия обработки	Значение краевого угла, °			
	Сразу после модификации	14 дней	21 день	49 дней
Необработанная пленка	$96,95 \pm 1,89$	$91,95 \pm 9,29$	$89,93 \pm 3,93$	$90,64 \pm 2,59$
Пленка, обработанная в ЭПП	$41,25 \pm 2,05$	$41,25 \pm 5,09$	$37,60 \pm 1,98$	$67,47 \pm 9,24$

Так как повышение гидрофильности пленок может являться следствием изменения морфологии их поверхности и формирования на ней хими-

чески активных полярных групп, то обработанные в ЭПП пленки были исследованы методами SEM, AFM и ИК-спектроскопии.

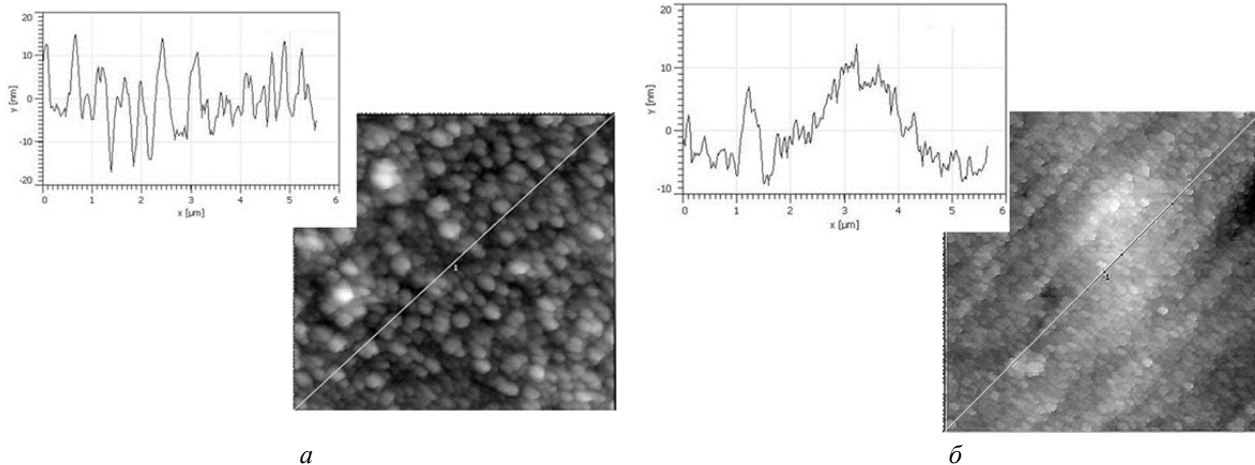


Рис. 2. AFM-изображения поверхности пленок хитозана: а – до обработки; б – после модификации в ЭПП кислорода

На изображениях, полученных различными методами микроскопии (на рис. 2 в качестве иллюстрации приведены АФМ-фотографии), видно сглаживание рельефа и уменьшение шероховатости, а также частичная потеря кристалличности и аморфизация поверхности ЭПП-модифицированных пленок.

На ИК-спектрах, представленных на рис. 3, у пленок хитозана, обработанных в ЭПП кислорода, отмечался дополнительный пик с  $\nu = 1735 \text{ см}^{-1}$ , соответствующий валентным колебаниям С=О в карбоксильных группах (–СООН). Сравнение интенсивностей полос поглощения в диапазоне  $\nu = 1700\text{--}1500 \text{ см}^{-1}$  показало, что интенсивность пика  $\nu = 1592 \text{ см}^{-1}$  (соответствующего деформационным колебаниям  $\text{NH}_2$ -групп) практически одинаково в

спектрах модифицированных и исходных пленок. Тем не менее, селективная интенсивность (разность между значениями поглощения в максимуме и базовой линии) для  $\nu = 1650 \text{ см}^{-1}$ , которая соответствует валентным колебаниям С=О в группе Амид I, приблизительно, на 20 % больше у ЭПП-модифицированного хитозана. Также на спектрах хитозановых пленок после модификации в ЭПП кислорода отмечается снижение интегральной интенсивности полос в диапазоне  $\nu = 1250\text{--}500 \text{ см}^{-1}$ , соответствующих  $\beta$ -1,4-гликозидным связям.

Таким образом, после обработки в ЭПП кислорода на поверхности хитозановой пленки формируются кислородсодержащие карбонильные С=О и карбоксильные группы –СООН и происходит частичная деструкция  $\beta$ -1,4-гликозидных связей.

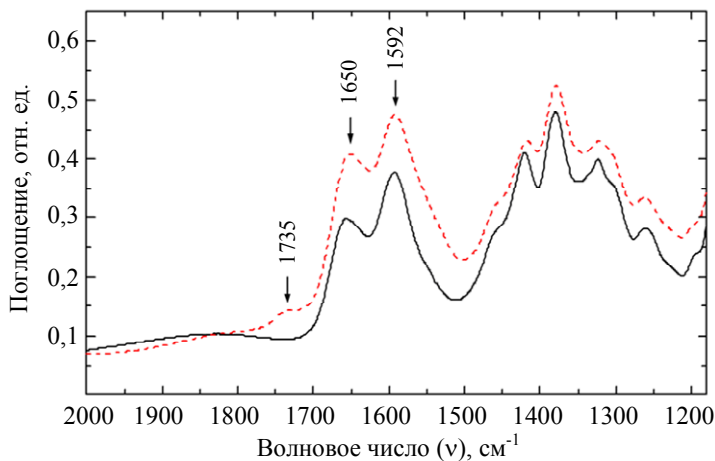


Рис. 3. Фрагмент ИК-спектров поглощения необработанной (сплошная линия) и модифицированной в ЭПП кислорода (пунктирная линия) пленок хитозана.

При пучково-плазменной обработке биополимеров на них действует вся совокупность факторов, реализующихся в ЭПП, основными из которых являются быстрые электроны ЭП, разнообразные химически активные частицы и вторичные электроны, возникающие в результате происходящих в ЭПП плазмохимических реакций. Гетерогенные процессы, инициируемые в биополимере перечисленными частицами, являются многоканальными, причем вклады отдельных каналов неаддитивны, хотя оказывают на структуру и свойства биополимера синергетическое действие. Ранее показано, что определяющий вклад в эффект модификации вносят электронейтральные частицы плазмы кислорода (атомы кислорода, синглетный кислород  $^1\text{O}_2$  и др.) [14, 21]. Более подробно механизмы ЭПП-модификации и кинетику ЭПП-стимулированного окисления пленок хитозана планируется исследовать в специальных экспериментах.

Формирование в результате ЭПП-воздействия на поверхности хитозановой пленки дополни-

тельных полярных кислородсодержащих групп позволяет предположить, что полученные материалы будут обладать повышенной адгезией к неповрежденным тканям человеческого организма, а также к ожоговым и раневым поверхностям. Таким образом, на основе ЭПП-модифицированных пленок хитозана возможно создание эффективных гемостатиков и скаффолдов для клеточной регенерации. Сформировавшиеся –СООН и С=О группы могут выступать также в качестве центров связывания других биологически активных молекул (пептидов, олигосахаридов, ферментов, лекарственных веществ), что делает ЭПП-модифицированные пленки перспективными матриксами для различных сорбентов, фильтров и сенсоров. Важной особенностью обработки в ЭПП является то, что объектом ЭПП-модификации могут являться не только тонкие пленки хитозана, но и его мелкодисперсные порошки, пористые структуры и волокна, полученные, например, с помощью электроспиннинга. Это обстоятельство расширяет спектр химических и технологических проблем, для решения которых может применяться ЭПП.

### Заключение

В результате проведенной работы экспериментально доказана возможность модификации тонких пленок хитозана в электронно-пучковой плазме кислорода. Установлено, что под воздействием ЭПП происходит плазмохимическая модификация поверхности пленок полисахаридов, а именно, снижение кристалличности, увеличение содержания кислородсодержащих полярных групп, в первую очередь, –COOH.

Предполагается, что главная роль в ЭПП-модификации принадлежит химически активным электронейтральным частицам плазмы. С образованием на поверхности материала большого числа кислородсодержащих полярных групп связано существенное увеличение гидрофильности ЭПП-обработанных пленок, которое сохраняется в течение, по крайней мере трех недель, с момента модификации.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Zargar V., Asghari M., Dashti A. // ChemBioEng Rev. 2015. Vol. 2. No. 3. P. 204.
2. Arana I., Mengibar M. M., Harris R., Panos I., Miralles B., Acosta N., Galed G., Heras A. // Curr. Chem. Biol. 2009. Vol. 3. No. 2. P. 203.
3. Anitha A., Sowmya P. T., Kumar S., Deepthi S., Chenazhi K. P., Ehrlich H., Tsurkan M., Jayakumar R. // Prog. Polym. Sci. 2014. Vol. 39. No. 9. P. 1644.
4. Laurienzo P. // Mar. Drugs. 2010. Vol. 8. No. 9. P. 2435.
5. De Castro G. P., Dowling M. B., Kilbourne M., Keledjian K., Driscoll I. R., Raghavan S. R., Hess J. R., Scalea T. M., Bochicchio G. V. // J. Trauma Acute Care Surg. 2012. Vol. 72. No. 4. P. 899.
6. Hunke H., Soin N., Shah T. H., Kramer E., Pascual A., Karuna M. S. L., Siores E. // Materials. 2015. Vol. 8. No. 5. P. 2258.
7. Knoll A. J., Luan P., Kondeti V. S. S. K., Bruggerman P. J., Oehrlein G. S. // Plasma Process. Polym. 2016. Vol. 13. No. 11. P. 1069.
8. Yin S., Ren L., Wang Y. // Plasma Sci. Technol. 2013. Vol. 15. No. 10. P. 1041.
9. Demina T., Zaytseva-Zotova D., Yablokov M., Gilman A., Akopova T., Markvicheva E., Zelenetskii A. // Surf. Coat. Tech. 2012. Vol. 207. No. 1. P. 508.
10. Lopez-Perez P. M., Marques A. P., da Silva R. M. P., Reis R. L., Pashkuleva I. // J. Mater. Chem. 2007. Vol. 17. No. 38. P. 4064.
11. Rao S. B., Sharma C. P. // J. Biomed. Mater. Res. 1997. Vol. 34. No. 1. P. 21.
12. Демина Т. С., Гильман А. Б., Аконова Т. А., Зеленецкий А. Н. // ХВЭ. 2014. Т. 48. № 5. С. 339.
13. Vasilieva T., Lopatin S., Varlamov V., Miasnikov V., Hein A. M., Vasiliev M. // Pure Appl. Chem. 2016. Vol. 88. No. 9. P. 873.
14. Vasilieva T. // IEEE Transac. Plasma Sci. 2010. Vol. 38. No. 8. P. 1903.
15. Vasiliev M., Vasilieva T. Materials production with beam plasmas. In Encyclopedia of plasma technology. Ed. by Shohet J. L. – Taylor & Francis Group, New York, USA, 2016. P. 52.
16. Kumirska J., Czerwicka M., Kaczynski Z., Bychowska A., Brzozowski K., Thoming J., Stepnowski P. // Mar. Drugs. 2010. Vol. 8. No. 8. P. 567.
17. Ma Z., Wang W., Wu W., He Y., Wu T. // PLoS ONE. 2014. Vol. 9. No. 7. P. 1.
18. Owens D. K., Wendt R. C. // J. Appl. Polym. Sci. 1969. Vol. 13. No. 8. P. 1741.
19. Biederman H. // Eur. Cell. Mater. 2003. Vol. 6. Suppl. 1. P. 28.
20. Friedrich J. The plasma chemistry of polymer surfaces. – Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2012.
21. Vasilieva T., Lysenko S. // J. Phys.: Conf. Ser. 2007. Vol. 63. No. 1. P. 012033.

PACS: 52.77.-j

## Modification of thin chitosan films by means of electron-beam plasma

Zaw Ye Myint, Khin Maung Htay, Htet Wai Yan Kyaw, Htet Ko Ko Zaw, and T. M. Vasilieva

Moscow Institute of Physics and Technology  
9 Institutsky per., Dolgoprudny, Moscow Region, 141701, Russia  
E-mail: tmvasilieva@gmail.com

Received October 31, 2018

**Applications of non-equilibrium low-temperature electron beam oxygen plasma for the modification of thin chitosan films were proved experimentally. The plasmachemical modification resulted in changes of the surface morphology and roughness of the treated films; the loss of crystallinity was also observed after the EBP-treatment. The significant increase of carbonyl C=O, carboxyl –COOH groups was also observed. Improvement of wettability of polysaccharide materials was found to occur after the EBP-treatment. Both the EBP-treated chitosan films retain their hydrophilic properties for a sufficiently long time (at least 21 days).**

**Keywords:** electron-beam plasma, chitosan, hydrophilic properties.

## REFERENCES

1. V. Zargar, M. Asghari, and A. Dashti, *ChemBioEng Rev.* **2** (3), 204 (2015).
2. I. Arana, M. M. Mengibar, R. Harris, I. Panos, B. Miralles, N. Acosta, G. Galed, and A. Heras, *Curr. Chem. Biol.* **3** (2), 203 (2009).
3. A. Anitha, P. T. Sowmya, S. Kumar, S. Deepthi, K. P. Chennazhi, H. Ehrlich, M. Tsurkan, and R. Jayakumar, *Prog. Polym. Sci.* **39** (9), 1644 (2014).
4. P. Laurienzo, *Mar. Drugs.* **8** (9), 2435 (2010).
5. G. P. De Castro, M. B. Dowling, M. Kilbourne, K. Keledjian, I. R. Driscoll, S. R. Raghavan, J. R. Hess, T. M. Scalea, and G. V. Bochicchio, *J. Trauma Acute Care Surg.* **72** (4), 899 (2012).
6. H. Hunke, N. Soin, T. H. Shah, E. Kramer, A. Pascual, M. S. L. Karuna, and E. Siores, *Materials.* **8** (5), 2258 (2015).
7. A. J. Knoll, P. Luan, V. S. S. K. Kondeti, P. J. Bruggeman, G. S. Oehrlein, *Plasma Process. Polym.* **13** (11), 1069 (2016).
8. S. Yin, L. Ren, and Y. Wang, *Plasma Sci. Technol.* **15** (10), 1041 (2013).
9. T. Demina, D. Zaytseva-Zotova, M. Yablokov, A. Gilman, T. Akopova, E. Markvicheva, and A. Zelenetskii, *Surf. Coat. Tech.* **207** (1), 508 (2012).
10. P. M. Lopez-Perez, A. P. Marques, R. M. P. da Silva, R. L. Reis, and I. Pashkuleva, *J. Mater. Chem.* **17** (38), 4064 (2007).
11. S. B. Rao and C. P. Sharma, *J. Biomed. Mater. Res.* **34** (1), 21 (1997).
12. T. S. Demina, A. B. Gilman, T. A. Akopova, and A. N. Zelenetskii, *High Energy Chem.* **48**, 293 (2014).
13. T. Vasilieva, S. Lopatin, V. Varlamov, V. Miasnikov, A. M. Hein, and M. Vasiliev, *Pure Appl. Chem.* **88** (9), 873 (2016).
14. T. Vasilieva, *IEEE Transac. Plasma Sci.* **38** (8), 1903 (2010).
15. M. Vasiliev and T. Vasilieva, *Materials production with beam plasmas*. In *Encyclopedia of plasma technology*. Ed. by J. L. Shohet (Taylor & Francis Group, New York, USA, 2016). P. 52.
16. J. Kumirska, M. Czerwicka, Z. Kaczynski, A. Bychowska, K. Brzozowski, J. Thoming, and P. Stepnowski, *Mar. Drugs.* **8** (8), 567 (2010).
17. Z. Ma, W. Wang, W. Wu, Y. He, and T. Wu, *PLoS ONE.* **9** (7), 1 (2014).
18. D. K. Owens and R. C. Wendt, *J. Appl. Polym. Sci.* **13** (8), 1741 (1969).
19. H. Biederman, *Eur. Cell. Mater.* **6**, Suppl. 1, 28 (2003).
20. J. Friedrich, *The plasma chemistry of polymer surfaces* (Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2012).
21. T. Vasilieva and S. Lysenko, *J. Phys.: Conf. Ser.* **63** (1), 012033 (2007).