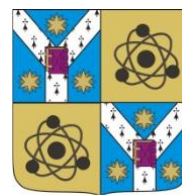




UNIVERSITATEA "ALEXANDRU IOAN CUZA", IAȘI

FACULTATEA DE FIZICĂ

Centrul de Cercetări Avansate în Fizica  
Plasmei din Iași (IPARC)



**Caracterizarea suprafețelor tratate cu plasma descărcărilor  
electrice în gaze prin tehnicile microscopiei cu forță atomică**

-Teză de doctorat-

*Coordonator științific,*

*Prof. Dr. habil Lucel Sîrghi*

*Doctorand,*

*Țifui Gabriela*

*Căs. Scripcaru-Țifui*

**Iași, 2023**

În atenția

**UNIVERSITATEA „ALEXANDRU IOAN CUZA” DIN IAȘI**  
**FACULTATEA DE FIZICĂ**

Vă facem cunoscut că în ziua de 25.09.2023, ora 13:00, în sala Laborator Plasmă 1, doctoranda ȚIFUI GABRIELA (căs. SCRIPCARU-ȚIFUI) va susține, în ședință publică, teza de doctorat cu titlul „*Caracterizarea suprafețelor tratate cu plasma descărcărilor electrice în gaze prin tehnicile microscopiei cu forță atomică*”, în vederea obținerii titlului științific de doctor în domeniul fundamental ȘTIINȚE EXACTE, domeniul FIZICĂ.

Comisia de doctorat are următoarea componență:

Președinte:

Prof. univ. dr. **Diana MARDARE**, Directorul Școlii Doctorale, Facultatea de Fizică, Universitatea „Alexandru Ioan Cuza”, Iași.

Conducător științific:

Prof. univ. dr. habil **Lucel SÎRGHI**, Facultatea de Fizică, Universitatea „Alexandru Ioan Cuza”, Iași.

Referenți:

- C.S.I Dr. **Bogdana MITU**, Institutul Național de Fizica Laserilor, Plasmă și Radiații, Măgurele, București.
- Prof. univ. dr. **Mihaela BAICAN**, Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa”, Iași.
- Prof. univ. dr. **Gabriela BORCIA**, Universitatea „Alexandru Ioan Cuza”, Iași.

Teza poate fi consultată la Biblioteca Facultății de Fizică.

## Abstract

În prezenta teză de doctorat sunt folosite tehnicile microscopiei cu forță atomică (AFM), în special tehnica de indentare AFM, pentru a caracteriza modificările proprietăților de suprafață produse de tratamentul acestora cu plasma descărcărilor în gaze. Tehnica de indentare AFM este în special indicată în cazul materialelor neomogene, cum ar fi celulele vii sau materialele tratate cu plasmă sau cu ozon, în aceste din urmă două cazuri modificările proprietăților având loc într-un strat de grosimi de ordinul câtorva zeci de nanometri. În teză sunt analizate și discutate trei situații diferite; 1) caracterizarea proprietăților de suprafață a polidimetilsiloxanului (PDMS) tratat cu plasma luminii negative a unei descărcări electrice în argon la presiune joasă; 2) investigarea efectului hidroxilării suprafeței sondelor AFM prin expunerea acestora la plasma luminii negative a unei descărcări luminescente în aer saturat cu vapori de apă la presiune joasă asupra forței de penetrare a bistraturilor lipidice pe suport solid în experimentele de indentare a membranelor lipidice; 3) efectul apei activată cu plasma unei descărcări cu barieră dielectrică pe suprafață asupra proprietăților mecanice a celulelor de drojdie. Fiecare din aceste trei situații este prezentată și discutată în câte un capitol separat al tezei.

În primul caz, suprafața PDMS a fost expusă la plasma luminii negative a unei descărcări de joasă presiune în argon pur pentru o durată de timp ce a variat de la 10 secunde la 2 minute. Efectul tratamentului cu plasmă asupra rigidității suprafeței PDMS și a energiei de adeziune a acestuia la suprafața de nitrură de siliciu a indenterului (vârful sondei AFM) a fost investigat prin experimente de indentare AFM. Rezultatele au arătat o creștere importantă a modulului Young a materialului dintr-un strat subțire de la suprafață (câțiva zeci de nanometri), precum și o ușoară creștere a energiei de adeziune. Pentru a explica efectul de rigidizare a suprafeței PDMS tratată cu plasmă, s-au efectuat investigații ale compoziției și structurii chimice prin tehnica spectroscopiei cu fotoelectroni de raze X. Rezultatele au arătat, pe de o parte, o scădere a conținutului atomic de carbon însoțită de o creștere a conținutului de oxigen a suprafeței PDMS tratate cu plasmă și, pe de altă parte, formarea de noi legături  $\text{SiO}_2$ . Aceste rezultate sugerează că rigidizarea suprafeței PDMS poate fi atribuită generării de noi legături reticulare  $\text{Si-O-Si}$  și  $\text{Si-CH}_2\text{-CH}_2\text{-Si}$  între moleculele PDMS de la suprafața materialului.

În cel de-al doilea caz, au fost efectuate experimente de indentare AFM a bistraturilor lipidice pe suport solid (SLB, *supported lipid bilayer, eng*) pentru a investiga efectul hidroxilării suprafeței indenterului (vârful sondei AFM) asupra forței de penetrare a

membranelor lipidice. Bistraturi de fosfatidilcolină au fost depuse pe substrat de mică prin metoda fuzionării veziculelor lipidice. Sondele AFM au fost hidroxilate prin expunerea lor la plasma luminii negative a unei descărcări electrice în curent continuu în aer saturat cu vapori de apă la presiune joasă. Măsurătorile de indentare AFM au fost efectuate în mediu fiziologic. Măsurătorile au pus în evidență o ușoară scădere a forței de penetrare a SLB și o creștere a forței de adeziune dintre suprafața hidroxilată a sondelor AFM și moleculele de fosfatidilcolină din SLB.

În ultimul caz modificările proprietăților de suprafață nu sunt induse prin acțiunea directă a plasmăi asupra suprafeței materialului, ci prin modificarea cu ajutorul plasmăi a mediului lichid în care se află materialul studiat, și anume celulele de drojdie *saccharomyces cerevisiae*. În acest caz, mediul lichid, și anume apa, a fost supusă acțiunii mediului gazos generat de plasma unei descărcări cu barieră dielectrică pe suprafață (SDBD, *surface dielectric barrier discharge*, eng) într-un mic volum de aer închis într-un vas, pentru a obține apa activată cu plasmă (PAW, *plasma activated water*, eng.). În prezent, PAW este considerată un dezinfectant promițător și prietenos cu mediul în industria medicală și alimentară. În teză am folosit tehnica de indentare AFM pentru a investiga efectul PAW asupra proprietăților mecanice ale celulelor vii de drojdie. Pentru prepararea probelor, o cantitate mică de soluție de celule *saccharomyces cerevisiae* a fost depusă pe o lamă de sticlă microscopică și lăsată să se usuce în aer liber. În acest fel, substratul de sticlă a fost parțial acoperit de un monostrat de celule de drojdie. Proba astfel preparată a fost încărcată în celula de lichid a aparatului AFM. Mai întâi, celula de lichid a fost umplută cu apă deionizată în care au fost efectuate experimentele control de indentare pentru a determina elasticitatea celulelor. Apoi, apa din celula de lichid a aparatului AFM a fost înlocuită cu PAW și au fost efectuate experimente de indentare pe aceleași celule de drojdie. Rezultatele au arătat o creștere importantă a modulului Young al celulelor de drojdie ca efect al moleculelor active din PAW.

# 1. INTRODUCERE

Recenta dezvoltare a nanotehnologiei cu dezvoltarea de aplicații bazate pe construcția de noi dispozitive la scară micro și nano scopică cum ar fi nano-senzori, dispozitive lab-on-a-chip, dispozitive microfluidice, MEMS, etc, necesită folosirea unor materiale cu proprietăți de suprafață speciale, proprietăți care adesea sunt în contradicție cu proprietățile de volum<sup>1</sup>. Aceste materiale se pot obține prin modificările proprietăților de suprafață a unor materiale utilizate în mod clasic în industria microelectronică, precum semiconductori, metale și polimeri. De exemplu, în cazul polimerilor există necesitatea hidrofilizării suprafețelor în aplicații precum fabricarea de dispozitive microfluidice, sau în fabricarea micro-ștampilelor folosite în tehnica de micro/nano- litografie prin microcontact printing<sup>2</sup>. În cazul fabricării biosenzorilor, suprafețele siliciului, sticlei, aurului sau altor metale, sunt activate chimic în vederea formării de legături chimice cu biomolecule pentru a obține straturi monomoleculare active chimic pe aceste substraturi<sup>3</sup>. În aceste aplicații, fenomenele fizice și chimice care au loc pe distanțe nanoscopice la suprafața acestor materiale sunt extrem de importante. În acest context, microscopul cu forță atomică a devenit un instrument foarte puternic de investigare a acestor fenomene, precum și de caracterizare a proprietăților fizice și chimice ale suprafețelor<sup>4</sup>.

Tehnicile de modificare a proprietăților de suprafață prin expunerea materialelor obișnuite la mediul gazos generat de plasma descărcărilor electrice în gaze sunt din ce în ce mai mult utilizate datorită avantajelor pe care aceste tehnici le au în comparație cu metodele chimice de funcționalizare a suprafețelor. În primul rând tehnicile de modificare a proprietăților de suprafață cu plasmă sunt tehnici ecologice deoarece ele folosesc cantități infime de reactivi (tehnici uscate). În al doilea rând, aceste tehnici oferă un mult mai bun control asupra procesului de modificare a proprietăților de suprafață. Aceasta deoarece, pe de o parte, controlul impurităților în proces este mult mai bun și, pe de altă parte, controlul și monitorizarea compoziției și parametrilor plasmei descărcărilor electrice în gaze este extrem de eficient<sup>5</sup>.

În prezenta teză de doctorat sunt folosite tehnicile microscopiei cu forță atomică (AFM), în special tehnica de indentare AFM<sup>6</sup>, pentru a caracteriza modificările proprietăților de suprafață produse de tratamentul acestora cu plasma descărcărilor în gaze. Tehnica de indentare AFM este în special indicată în cazul materialelor neomogene, cum ar fi celulele vii

sau materialele tratate cu plasmă sau ozon, în aceste din urmă două cazuri modificările proprietăților având loc într-un strat de grosimi de ordinul câtorva zeci de nanometri<sup>7</sup>.

În teză sunt analizate și discutate trei situații diferite; 1) caracterizarea proprietăților de suprafață a polidimetilsiloxanului (PDMS) tratat cu plasma luminii negative a unei descărcări electrice în argon la presiune joasă; 2) investigarea efectului hidroxilării suprafeței sondelor AFM prin expunerea acestora la plasma luminii negative a unei descărcări luminescente în aer saturat cu vapori de apă la presiune joasă asupra forței de penetrare a bistraturilor lipidice pe suport solid în experimentele de indentare a membranelor lipidice; 3) efectul apei activată cu plasma unei descărcări cu barieră dielectrică pe suprafața asupra proprietăților mecanice a celulelor de drojdie. Fiecare din aceste trei situații este prezentată și discutată în câte un capitol separat al tezei.

În primul caz, suprafața PDMS a fost expusă la o plasmă a luminii negative a unei descărcări de joasă presiune în argon pur pentru o durată de timp ce a variat de la 10 secunde la 2 minute. Efectul tratamentului cu plasmă asupra rigidității suprafeței PDMS și a energiei de adeziune a acesteia la suprafața de nitrură de siliciu a indenterului (vârful sondei AFM) a fost investigat prin experimente de indentare AFM. Rezultatele au arătat o creștere importantă a modulului Young a materialului dintr-un strat subțire de la suprafață (câțiva zeci de nanometri), precum și o ușoară creștere a energiei de adeziune. Pentru a explica efectul de rigidizare a suprafeței PDMS tratată cu plasmă, s-au efectuat investigații ale compoziției și structurii chimice prin tehnica spectroscopiei cu fotoelectroni de raze X. Rezultatele investigațiilor au arătat, pe de o parte, o scădere a conținutului atomic de carbon însoțită de o creștere a conținutului de oxigen a suprafeței PDMS tratate cu plasmă și, pe de altă parte, formarea de noi legături SiO<sub>2</sub>. Acestea sugerează că rigidizarea suprafeței PDMS poate fi atribuită generării de noi legături reticulare Si-O-Si și Si-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Si între moleculele PDMS de la suprafața materialului. Aceste rezultate sunt descrise în capitolul 3 al tezei.

În cel de-al doilea caz, au fost efectuate experimente de indentare AFM a bistraturilor lipidice pe suport solid (SLB, *supported lipid bilayer, eng*) pentru a investiga efectul hidroxilării suprafeței indenterului (varful sondei AFM) asupra forței de penetrare a membranelor lipidice bistraturi de fosfatidilcolină au fost depuse pe substrat de mică prin metoda fuzionării veziculelor lipidice. Sondele AFM au fost hidroxilate prin expunerea lor la plasma luminii negative a unei descărcări electrice în curent continuu în aer saturat cu vapori de apă la presiune joasă. Măsurătorile de indentare AFM au fost efectuate în mediu fiziologic. Măsurătorile au pus în evidență o ușoară scădere a forței de penetrare a SLB și o creștere a

forței de adeziune dintre suprafața hidroxilată a sondelor AFM și moleculele de fosfatidilcolină din SLB. Aceste rezultate sunt descrise în capitolul 4 al tezei.

În ultimul caz, modificările proprietăților de suprafață nu sunt induse prin acțiunea directă a plasmei asupra suprafeței materialului, ci prin modificarea cu ajutorul plasmei a mediului lichid în care se află materialul studiat, și anume celulele de drojdie *saccharomyces cerevisiae*. În acest caz, mediul lichid, și anume apa, a fost supusă acțiunii mediului gazos generat de plasma unei descărcări cu barieră dielectrică pe suprafață (SDBD, *surface dielectric barrier discharge, eng*) într-un mic volum de aer închis într-un vas, pentru a obține apa activată cu plasmă (PAW, *plasma activated water, eng*). În prezent, PAW este considerată un dezinfectant promițător și prietenos cu mediul în industria medicală și alimentară. În teză am folosit tehnica de indentare AFM pentru a investiga efectul PAW asupra proprietăților mecanice ale celulelor vii de drojdie. Probele de celule de drojdie constând în substratul de sticlă acoperit parțial de un monostrat de celule de drojdie au fost încărcate în celula lichid umplută cu apă a aparatului AFM. Mai întâi, au fost efectuate experimentele control de indentare pentru a determina elasticitatea celulelor. Apoi, apa din celula de lichid a aparatului AFM a fost înlocuită cu PAW și au fost efectuate experimente de indentare pe aceleași celule de drojdie. Rezultatele au arătat o creștere importantă a modulului Young al celulelor de drojdie ca efect al moleculelor active din PAW. Aceste rezultate sunt descrise în capitolul 5 al tezei

Teza conține șase capitole, după cum urmează: **Capitolul 1** este capitolul introductiv în care sunt descrise principalele premise de la care pleacă studiile întreprinse în cadrul tezei, respectiv, sunt prezentate proprietățile de suprafață a polidimetilsiloxanului, tehnici de modificare a acestor proprietăți, tehnica de indentare AFM pentru caracterizarea elasticității și energiei de adeziune. Deasemenea, în capitolul introductiv sunt prezentate proprietățile membranelor lipidice și studiile întreprinse cu ajutorul tehnicilor AFM a membranelor lipidice constituite de bistraturi lipidice depuse pe suport solid. În finalul acestui capitol este prezentată tehnica de indentare AFM a celulelor vii, tehnica folosită pentru investigarea proprietăților mecanice a celulelor vii în mediu fiziologic și a modului în care aceste proprietăți mecanice se modifică ca răspuns la diverși factori de stres.

Cel **de-al doilea capitol** al tezei prezintă materialele și metodele utilizate în studiile întreprinse în această teză. Sunt prezentate descrieri ale dispozitivelor experimentale utilizate, a parametrilor de lucru, a procedurilor urmate și a materialelor folosite. În principal sunt descrise experimentele de indentare AFM, tehnicile de modificare a proprietăților de suprafață cu ajutorul plasmei descărcărilor electrice în gaze rarefiate, instalația și procedura folosită

pentru obținerea apei activată cu plasmă, procedurile utilizate pentru obținerea probelor de polidimetilsiloxan, bistraturi lipidice pe suport de mică și a celulelor de drojdie pe suport de sticlă. Deasemenea, sunt descrise principalele tehnici de investigare a structurii și compoziției chimice a suprafețelor, respectiv tehnica XPS și ATR-FTIR. În același timp, sunt descrise tehnicile macroscopice pentru determinarea energiei de adeziune a suprafețelor studiate, tehnica măsurării unghiului de contact al apei și tehnica lungimii de detașare.

**Capitolul 3** prezintă rezultatele obținute în studiul modificării proprietăților de suprafață a polidimetilsiloxanului cu ajutorul plasmei luminii negative a unei descărcări în argon la presiune joasă. Sunt prezentate rezultatele investigării cu ajutorul tehnicii de indentare AFM a modului în care se modifică pe durata tratamentului modulul de elasticitate Young a materialului de la suprafața tratată și a energiei de adeziune a suprafeței față de suprafața indenterului. Deasemenea, sunt prezentate și rezultatele investigațiilor cu ajutorul tehnicilor XPS și ATR-FTIR a structurii și compoziției chimice a suprafețelor de PDMS tratate cu plasmă. Rezultatele obținute prin aceste tehnici sunt discutate pentru a găsi explicații ale modificărilor proprietăților de suprafață obținute în tratamentul cu plasmă.

**Capitolul 4** prezintă principalele rezultate obținute în experimentele de indentare AFM cu sonde AFM a căror suprafață a fost hidroxilată cu ajutorul plasmei unei descărcări electrice în aer saturat cu vapori de apă a bistraturilor de fosfatidilcolină depuse pe suport de mică. Experimentele de indentare AFM au fost realizate pe bistraturi lipidice în mediu fiziologic cu sonde AFM a căror suprafață a fost hidroxilată cu ajutorul plasmei și cu sonde AFM a căror suprafață nu a fost tratată (experiment de control). Rezultatele experimentale sunt discutate comparativ și explicate pe baza forțelor de adeziune determinate de creerea de legături de hidrogen între grupările hidroxil de pe suprafețele hidroxilate ale indenterului și gruparea fosfat din grupul hidrofil al moleculelor de fosfatidilcolină.

**Capitolul 5** prezintă rezultatele preliminare obținute în experimentele de indentare AFM a celulelor de drojdie în apă (experiment de control) și în apa activată cu plasma unei descărcări cu barieră dielectrică pe suprafață în aerul atmosferic. Este arătat că apa activată cu plasmă determină o creștere importantă a rigidității celulelor, lucru ce este interpretat ca un răspuns la stresul oxidativ determinat de speciile reactive de oxigen și de azot generate de plasma descărcării electrice cu barieră dielectrică pe suprafață în apă.

Teza se încheie cu **capitolul 6** în care sunt prezentate concluziile generale ale studiilor întreprinse în teză.



## 2. REZULTATE

### 1. Modificarea proprietăților a polidimetilsiloxanului prin tratamentul cu plasma luminii negative a unei descărcări luminescente în argon la presiune joasă

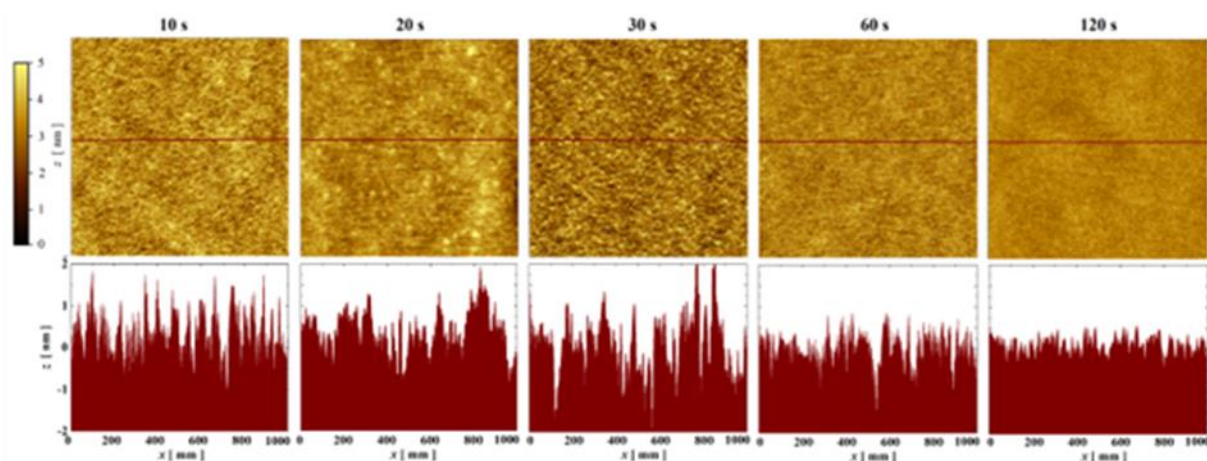
În acest studiu, suprafața PDMS a fost expusă la plasma luminii negative a unei descărcări de joasă presiune în argon pur pentru o durată de timp ce a variat de la 10 secunde la 2 minute.

Reactorul cu plasmă utilizat pentru tratarea PDMS constă într-o mică cameră din oțel inoxidabil (cu volumul de aproximativ  $1000 \text{ cm}^3$ ) cu o fereastră de acces rapid. Camera a fost conectată electric la circuitul de împământare din laborator și a constituit anodul descărcării de curent continuu. Catodul a fost fabricat sub forma unui disc din oțel inoxidabil cu diametrul de 6 cm, cu partea din spate izolată cu sticlă. Catodul a fost montat în centrul camerei. Probele de PDMS ( $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm} \times 1 \text{ mm}$ ) au fost plasate în centrul catodului. Înainte de începerea descărcării, camera reactorului a fost vidată cu o pompă de vid uscat (DS 110 de la Agilent, SUA) până la presiunea de fond de 0,05 Torr. Camera reactorului a fost alimentată cu argon pur printr-un robinet ventil-ac care a fost utilizat pentru a controla presiunea și debitul gazului de lucru la valori de aproximativ 0.4 Torr și respectiv 10 sccm.

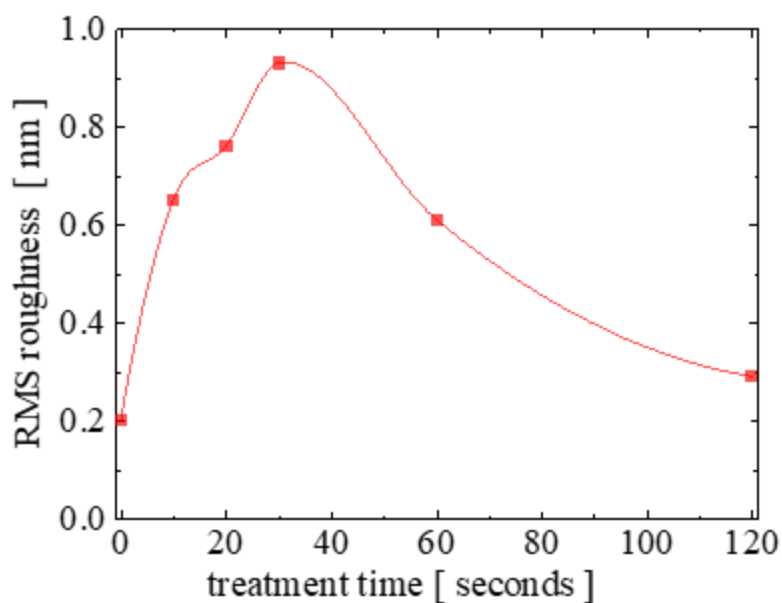
Efectul tratamentului cu plasmă asupra rigidității suprafeței PDMS și a energiei de adeziune a acesteia la suprafața de nitrură de siliciu a indenterului (vârful sondei AFM) a fost investigat la scară nanoscopică prin experimente de indentare AFM. Deasemeni, au fost efectuate determinări macroscopice ale energiei de adeziune a suprafeței PDMS tratate cu plasmă la apă și la suprafața de siliciu Si(100). Compoziția și structura chimică a suprafețelor PDMS tratate cu plasmă au fost investigate prin tehnica spectroscopiei cu fotoelectroni de raze X.

Figura 1 prezintă imaginile topografice AFM ale suprafeței PDMS după diferite durate ale tratamentului cu plasmă. Suprafața probei de PDMS netratată a fost scanată în modul AFM non-contact și a indicat o suprafață mult mai netedă decât suprafețele PDMS tratate cu plasmă. Valoarea pătratică medie (RMS) a rugozității a fost calculată prin analiza imaginilor topografice AFM ale probelor de PDMS, iar dependența rugozității suprafeței PDMS de timpul de tratament este prezentată în figura 2. Se observă o creștere abruptă a rugozității suprafeței ca urmare a tratamentului cu plasmă de la 0,2 nm pentru suprafața PDMS netratată

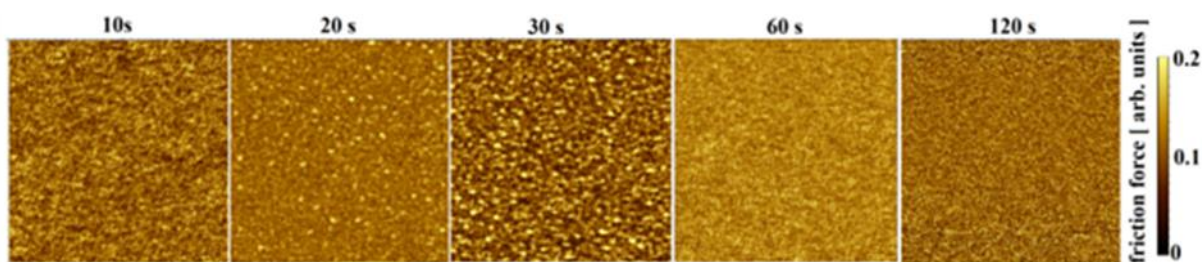
la 0,93 nm pentru suprafața PDMS tratată cu plasmă timp de 30 s. După ce a atins valoarea maximă de 0.93 nm la 30 s de tratament cu plasmă, rugozitatea suprafeței scade spre 0,3 nm la 120 s de tratament cu plasmă. Creșterea rugozității suprafeței în primele 30 s de tratament poate fi atribuită unui răspuns neuniform al suprafeței polimerului la tratamentul cu plasmă. Această ipoteză este susținută de imaginile forței de frecare prezentate în figura 3, imagini care au fost obținute prin procesarea imaginilor forței laterale înainte și înapoi achiziționate simultan cu imaginile topografice în modul contact AFM. Contrastul din imaginile forței de frecare poate fi atribuit neuniformității hidrofilicității suprafeței<sup>8</sup>. Prin urmare, forța de frecare este mai mare pe regiunile care devin mai hidrofile ca urmare a tratamentului cu plasmă decât pe regiunile mai puțin afectate de tratamentul cu plasmă. Odată cu creșterea timpului de tratament, modificările proprietăților de suprafață ale PDMS devin mai uniforme și acest lucru este dovedit de un contrast mai slab între imaginile forței de frecare și în imaginile topografice.



**Fig 1.** Imagini topografice ( $1\mu\text{m} \times 1\mu\text{m}$ ) ale suprafeței PDMS după tratamentul cu plasmă pentru diferite durate.



**Fig.2** Variația valorii RMS a rugozității suprafeței PDMS în timpul tratamentului cu plasmă.

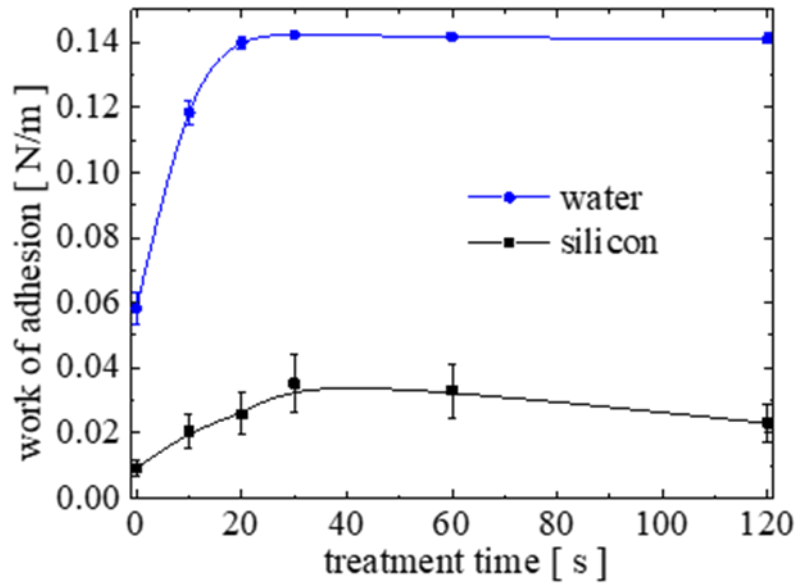


**Fig.3** Imagini ale forței de frecare (  $1\mu\text{m} \times 1\mu\text{m}$  ) obținute prin procesarea imaginilor forței laterale

Energia de adeziune a apei la suprafețele PDMS tratate cu plasmă în apă,  $\gamma_a^w$ , a fost determinată din măsurători de unghi de contact al apei folosind ecuația Young-Dupré:

$$\gamma_a^w = \gamma_w \cdot (1 + \cos\theta_c) \quad (1)$$

unde:  $\gamma_w$  este energia interfeței lichid-vapori a apei și  $\theta_c$  este valoarea unghiului de contact al apei în echilibru cu suprafața PDMS. Figura 4 prezintă variația celor două energii de adeziune a suprafeței PDMS în funcție de timpul de tratament cu plasmă.

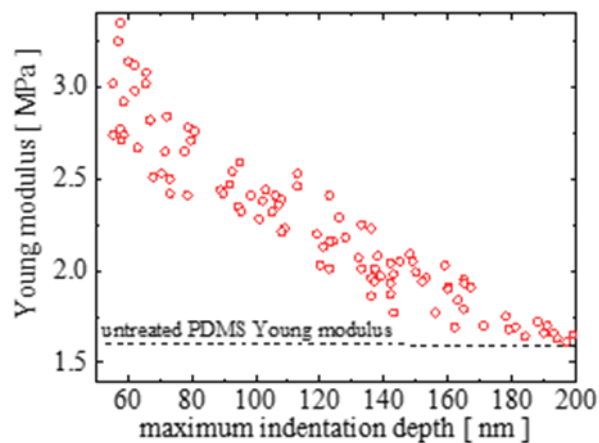


**Fig.4** Variația energiilor de adeziune a suprafeței PDMS la apă și siliciu în funcție de durata tratamentului cu plasmă.

Energia de adeziune a suprafețelor PDMS la apă este de aproximativ cinci ori mai mare decât energia de adeziune a suprafețelor PDMS la substratul de siliciu. Cu toate acestea, ambele energii de adeziune cresc rapid în primele 30 de secunde de tratament și apoi scad încet. Această tendință poate fi atribuită unei creșteri rapide în primele 30 secunde a hidrofilicității și a energiei de suprafață a PDMS, urmată de o ușoară scădere a acestora ca urmare a omogenizării tratamentului suprafeței și a posibilei recontaminării a suprafeței în timpul unui tratament cu plasmă mai lung.

Modulul lui Young și energia de aderență ale suprafețelor probelor PDMS tratate cu plasmă au fost determinate la scară microscopică prin indentări AFM de mică adâncime. Deoarece tratamentul cu plasmă este un tratament de suprafață, modificările chimice și de structură în timpul tratamentului au loc într-un strat de adâncime mică la suprafața materialului. Pentru a sonda proprietățile stratului de la suprafață al materialului PDMS supus tratamentului cu plasmă, adâncimea de indentare în experimentele AFM a fost menținută mică (mai puțin de 60 nm). Pentru tratamentul cu plasmă foarte scurt (10 s), am efectuat indentări cu adâncime de indentare din ce în ce mai mare pentru a obține informații calitative privind grosimea stratului de la suprafață în care a avut loc modificarea proprietăților materialului. Figura 5 arată că, prin creșterea adâncimii de indentare spre 200 nm, modulul lui Young obținut prin cele mai bune fitări ale curbelor forță-adâncime de indentare scade spre valoarea materialului PDMS netratat. Ca urmare am concluzionat că, pentru indentările adânci ( $h >$

60 nm), scăderea modului Young determinat din aceste experimente de indentare este un efect al deformării elastice a materialului PDMS netratat, mai moale, aflat sub stratul superior rigid tratat cu plasmă. Rezultatele prezentate în figura 5 indică pentru suprafața probei de PDMS tratată în plasmă pentru 10s o grosime a stratului de suprafață în care au avut modificări cauzate de interacțiunea cu plasma de aproximativ 60 nm. Este rezonabil să presupunem că grosimea stratului de suprafață în care tratamentul cu plasmă a provocat modificări ale proprietăților mecanice ale PDMS crește odată cu timpul de tratament cu plasmă.



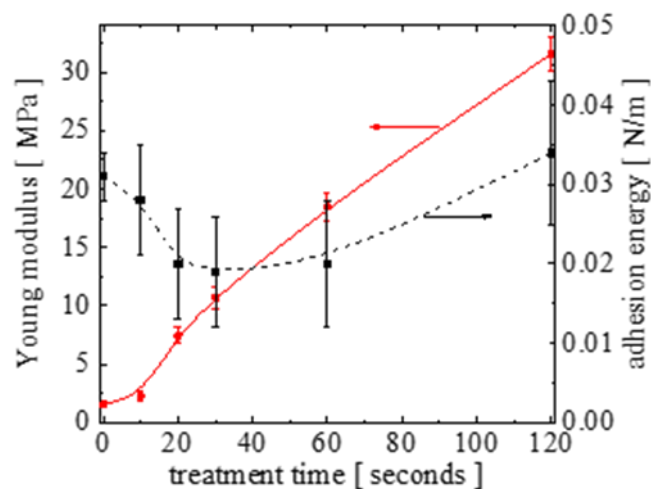
**Fig.5** Valorile modului Young rezultate din cele mai bune fitări ale curbelor de indentare achizitionate în indentarea AFM a suprafeței PDMS tratate cu plasmă timp de 10 s pentru diferite valori ale adâncimii maxime de indentare.

Urmare a celor constatate privind adâncimea stratului de suprafață care a suferit modificări chimice și structurale în urma tratamentului cu plasmă, am efectuat indentari AFM de mica profunzime, pentru a obține astfel informații despre proprietățile mecanice ale unui strat foarte subțire de material le la suprafata PDMS tratata cu plasmă.

Figura 6 prezintă graficele dependențelor modului Young și energiei de aderență vârf-probă de timpul de tratament cu plasmă. Modulul Young al suprafeței PDMS a crescut de la 1.6 MPa pentru PDMS netratat la aproximativ 30 MPa pentru suprafața PDMS tratată timp de 2 minute.

Această creștere mare a rigidității materialului poate fi atribuită formării de noi legături între moleculele de PDMS ca urmare a tratamentului cu plasmă. Pe de altă parte, energia de adeziune a suprafeței vârfului sondei AFM față de suprafața probelor de PDMS tratat în plasmă a fost mai puțin afectată de tratamentul cu plasmă. Spre deosebire de

măsurătorile macroscopice ale energiei de adeziune PDMS-siliciu, energia de aderență a vârfului din nitrură de siliciu a sondei AFM față de suprafața probelor de PDMS a scăzut în primele 30 s de tratament de la 0,032 N/m la aproximativ 0,02 N/m și apoi a crescut la 0,034 N/m la 2 minute de tratament cu plasmă. În primul rând, se observă că valorile macroscopice a energiei de adeziune a suprafețelor probelor de PDMS tratate cu plasmă față de suprafața de siliciu sunt de același ordin de mărime cu valorile determinate la scală nanoscopică în experimentele de indentare. Totuși dependența energiei de adeziune de timpul de tratament în măsurătorile la scară nanoscopică indică un comportament diferit. Astfel se observă o scădere inițială a energiei de adeziune a vârfului sondei AFM față de suprafața probelor de PDMS în primele 30 s de tratament (de la 0,3 N/m la 0,2 N/m) urmată de o creștere până la valoarea de 0.032 N/m la 2 minute de tratament. Acest lucru poate fi explicat prin faptul că presiunea de contact la interfața PDMS-siliciu este mult mai mică în măsurătorile macroscopice decât în măsurătorile microscopice. Presiunea mare aplicată asupra contactului în timpul experimentelor de indentare a favorizat un contact mai bun la nivel molecular, cu rezultatul unei energii de adeziune mai mari. În timpul tratamentului cu plasmă, suprafața PDMS se rigidizează și acest lucru împiedică formarea contactului la nivel molecular, ceea ce duce la o energie de adeziune mai mică. Cu toate acestea, pentru durate mai lungi de tratament cu plasmă, energia de suprafață a PDMS crește, ceea ce determină creșterea energiei de adeziune. Pentru suprafața PDMS tratată timp de 2 minute, valoarea microscopică a energiei de adeziune determinată prin indentări AFM este foarte apropiată de valoarea macroscopică determinată prin metoda lungimii de detașare.



**Fig.6** Variația energiei de adeziune și a modulului Young al stratului de suprafața de material PDMS în funcție de timpul de tratament cu plasmă

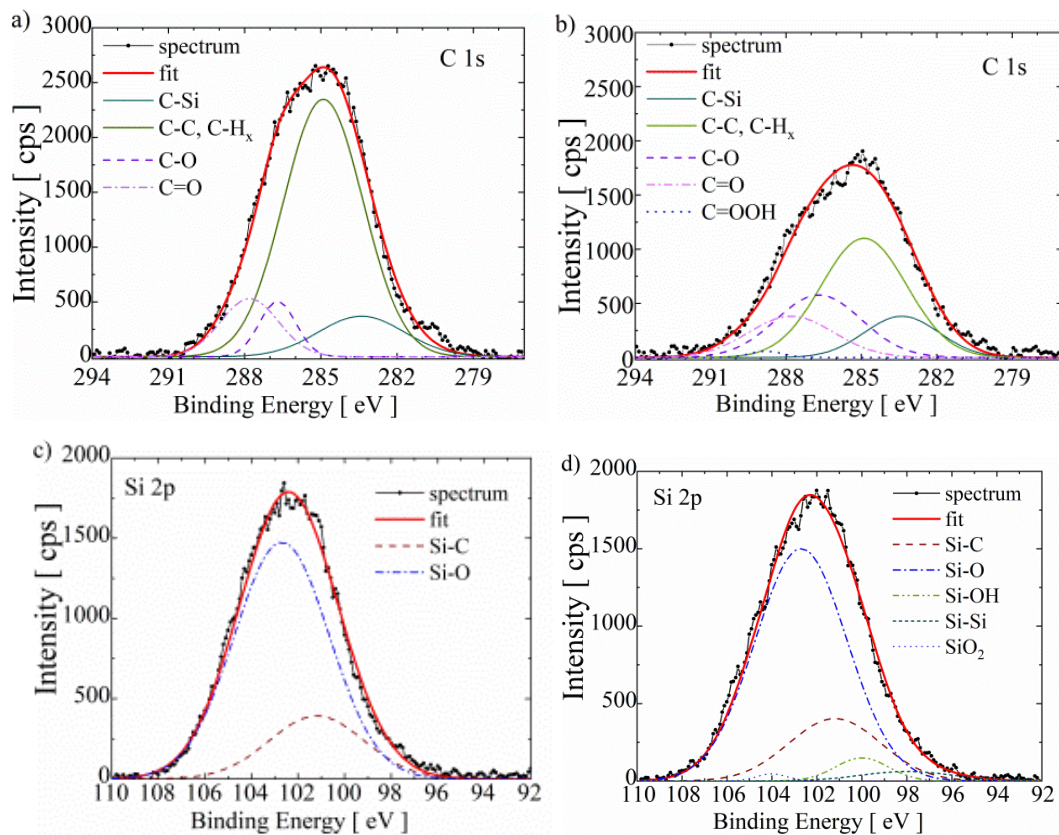
Pentru a înțelege ce modificări au avut loc în structura chimică a stratului de la suprafața PDMS tratată cu plasmă am efectuat investigații de suprafață prin tehnicile ATR-FTIR și XPS. Rezultatele obținute în investigațiile efectuate prin tehnica ATR-FTIR nu au pus în evidență transformări chimice majore în structura chimică a materialului de la suprafața probelor PDMS tratate cu plasmă pentru 2 minute, aceasta deoarece aceste transformări au avut loc într-un strat mult mai subțire (zeci de nanometri) decât cel investigat cu această tehnică (1.5  $\mu\text{m}$ ). Pe de altă parte, tehnica XPS este mai potrivită acestui studiu deoarece prin această tehnică sunt puse în evidență transformările chimice ce au loc într-un strat de câțiva nanometri la suprafața probei.

Astfel, compoziția și structura chimică a suprafeței tratate cu plasmă au fost investigate prin măsurători XPS. Analiza spectrului XPS global al probei control (PDMS netratat) a arătat o compoziție atomică de 46.9% C, 28,2 % O și 22.9% Si, rezultat care este în concordanță cu datele publicate de alți autori. Pentru proba de PDMS tratată cu plasmă (2 minute), spectrul XPS a arătat o scădere importantă a conținutului de carbon la 30,2 %, împreună cu o creștere importantă a conținutului de O la 47.3 %. Conținutul de Si a scăzut ușor la 22.4%. Acest rezultat indică faptul că bombardamentul cu ioni de argon în timpul tratamentului cu plasmă a eliminat preponderent atomii de carbon din structura PDMS. Creșterea conținutului de atomi de oxigen se datorează, pe de o parte, eliminării atomilor de carbon și, pe de altă parte, oxidării moleculelor de PDMS activate de bombardamentul ionic în contact cu oxigenul atmosferic (după ce probele au fost scoase din reactorul cu plasmă).

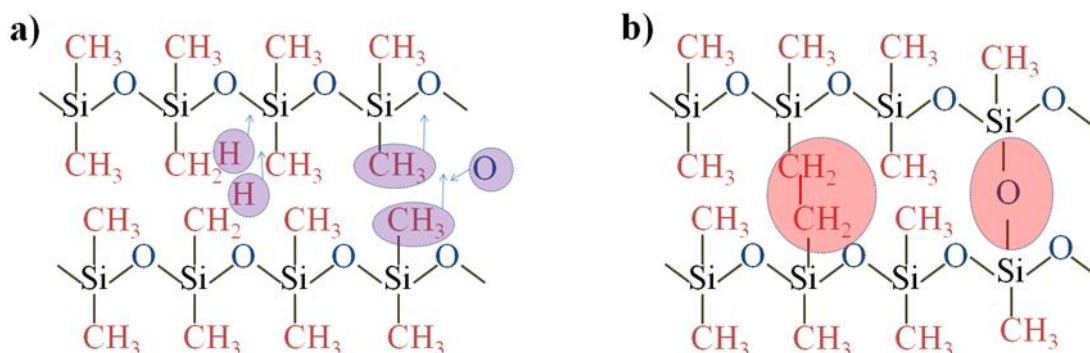
Figura 7 prezintă spectrele XPS a nivelurilor de bază C-1s și Si-2p ale probelor control și de PDMS tratate cu plasmă pentru 2 minute. Spectrele XPS ale nivelului de bază C-1s au fost descompuse în semnale Gauss-Lorenz care au fost atribuite legăturilor C-Si (283,4 eV), legăturilor C-C și C-Hx (284,7 eV), legăturilor C-O (286,7 eV) și legăturilor C=O (287.7 eV). Semnalul slab de la 289.2 eV a fost atribuit structurii O-C=O în grupările carboxilice formate pe suprafața PDMS tratată cu plasmă. Compararea spectrelor XPS corespunzătoare stării C-1s ale electronilor în atomii de carbon pe suprafețele PDMS netratat și, respectiv, tratat cu plasmă a evidențiat creșterea densității legăturilor C-O, C=O și o ușoară carboxilare a suprafeței PDMS, ceea ce contribuie la îmbunătățirea hidrofilicității suprafeței PDMS tratate cu plasmă. Acest lucru sugerează oxidarea suprafeței PDMS activate cu plasmă în timpul depozitării probei în aerul ambiant după tratamentul cu plasmă.

Spectrele XPS ale stării Si-2p a siliciului de pe suprafața probelor de PDMS au fost descompuse în semnale de tip Gauss-Lorenz care au fost atribuite legăturilor Si-C (101.2 eV)

și legăturilor Si-O (102,7 eV), legăturilor SiO<sub>2</sub> (103,7 eV), Si-Si (98 eV) și legăturilor Si-OH (100 eV). Semnalele slabe corespunzătoare legăturilor Si O<sub>2</sub> și Si-Si sugerează formarea de noi legături încrucișate Si-Si și Si-O între moleculele de PDMS.



**Fig.7** Spectrele XPS ale stării C-1s ale atomilor de carbon în: a) suprafața PDMS netratată și b) suprafața PDMS tratată cu plasmă. Spectrele XPS ale stării Si-2p ale atomilor de siliciu în: c) suprafața PDMS netratată și d) suprafața PDMS tratată cu plasma luminii negative a descărcării luminiscente.



**Fig.8** a) Schiță care prezintă două molecule PDMS vecine afectate de bombardamentul cu ioni din plasmă, indicând îndepărtarea grupărilor metil din coloana vertebrală a moleculei și a atomilor de



hidrogen din grupările metil; b) Schiță care arată formarea de noi legături reticulare Si-O-Si și CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub> între moleculele PDMS vecine.

Urmare a rezultatelor investigațiilor XPS a structurii chimice a suprafeței PDMS tratată cu plasmă, în teză este propus următorul mecanism pentru a explica efectul de durificare al suprafeței PDMS ca urmare a interacțiunii materialului cu plasma.

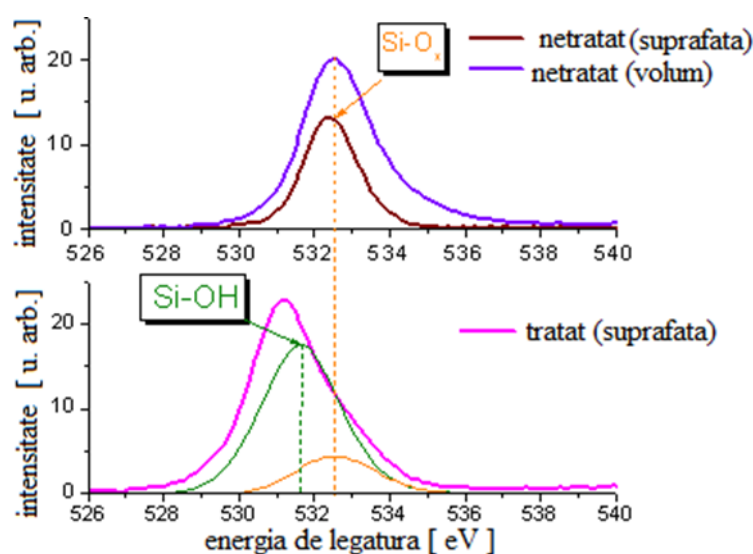
Ca urmare a bombardării suprafeței PDMS cu ioni de argon, unii atomi de hidrogen și unele grupări metil sunt îndepărtate [ *Fig. 8 a* ]. Acest lucru creează locuri pentru formarea de noi legături de reticulare CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub> și, respectiv, de noi legături Si-O-Si [ *Fig. 8 b* ]. Aceste noi legături reticulare formate între moleculele de PDMS sunt responsabile pentru durificarea (creșterea modului de elasticitate) a materialului de la suprafața PDMS. Modificări similare a structurii chimice a materialului de la suprafața PDMS tratat cu plasmă ar putea fi generate și prin iradierea cu radiație UV din plasmă. Pentru a verifica efectul radiației UV emise de plasmă asupra PDMS, am iradiat cu o lampă UV suprafața PDMS în aer atmosferic timp de 2 minute. Pentru a preveni interacțiunea cu ozonul format în aer sub acțiunea radiației UV, suprafața PDMS a fost iradiată prin intermediul unei lamele de cuarț în contact mecanic cu suprafața probei. Experimentele de indentare pe proba de PDMS iradiată cu UV nu au arătat nici o modificare notabilă a rigidității suprafeței PDMS. Totuși, trebuie să menționăm că acest experiment nu este 100% concludent pentru că posibilitatea producerii de modificări prin iradiere cu radiația VUV( vacuum UV, eng.) cu lungimi de undă < 200 nm nu a fost verificată, dat fiind că lamela de cuarț nu este transparentă la radiația VUV. Totuși, putem afirma că cel puțin radiația UV cu lungimi de undă mai mari de 200 nm nu a produs modificări chimice notabile a materialului de la suprafața PDMS. Prin urmare, concluzionăm că efectul de rigidizare a suprafeței PDMS ca urmare a expunerii la plasmă se datorează în principal bombardamentului cu ioni de argon.

## **2. Indentarea bistraturilor lipidice cu sonde AFM a căror suprafață a fost hidroxilată în plasma unei descărcări luminescente în aer cu vapori de apă la presiune joasă**

În acest studiu sunt prezentate rezultate obținute privind efectul hidroxilării suprafeței indenterului (vârful sondei AFM) asupra forței de penetrare a bistraturilor lipidice pe suport solid (*SLB – supported lipid bilayer, eng*). Suprafața de nitru de siliciu a sondelor AFM a

fost hidroxilată prin expunerea ei la plasma luminii negative a unei descărcări electrice în aer saturat cu vapori de apă la presiune joasă. Experimentele de spectroscopie de forță atomică au fost efectuate în apa deionizată cu sonde AFM hidroxilate și nehidroxilate pe bistraturi lipidice de fosfatidilcolină depuse pe suport de mică. Rezultatele obținute indică, că hidroxilarea suprafeței vârfului sondei AFM are ca efect o ușoară scădere a forței de penetrare a SLB.

Figura 9 prezintă spectrele de înaltă rezoluție ale semnalului XPS corespunzător stării O1s înregistrat pentru suprafața sondei AFM înainte de tratament, materialul de bază al sondei (volum) și suprafața sondei imediat după tratamentul cu plasmă. Accesul la analiza materialului de bază s-a făcut prin corodarea cu un fascicul ionic a materialului de la suprafața sondei AFM. Pentru materialul de bază și suprafața netratată a sondelor AFM s-a obținut un maxim O1s ce poate fi atribuit legăturilor Si-O, în timp ce pentru suprafața tratată cu plasmă s-a obținut un semnal O1s format prin convoluția maximelor atribuite legăturilor Si-O (la 532,5 eV) și Si-OH (la 531,8 eV). Spectrele XPS prezentate indică faptul că suprafața oxidată a sondelor AFM (SiO<sub>2</sub>) a fost puternic hidroxilată, după tratament densitatea legăturilor Si-OH la suprafața sondei fiind mai mare decât densitatea legăturilor Si-O<sub>2</sub>.

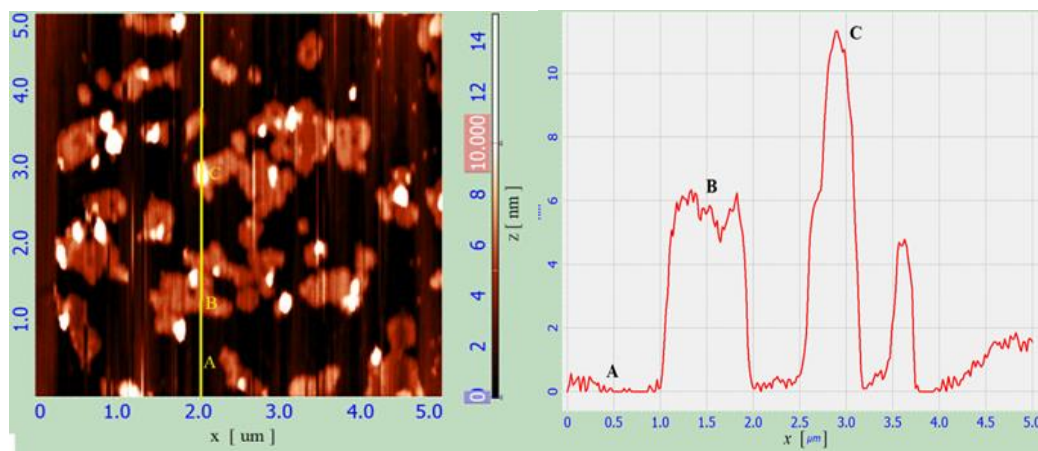


**Fig. 9** Spectrele XPS ale stării O1s pentru suprafața sondei AFM netratată, materialul de bază (volum), și suprafața sondei AFM tratată în plasma de vapori de apă.

Înainte de experimentele de indentare AFM, speciamentele constând în SLB pe substraturi de mică au fost mai întâi scanate în modul contact în lichid (soluție apoasă de NaCl, 0.1 M, la pH = 7). Un exemplu de imagine topografică a SLB depus pe mică este

prezentat în Fig. 10 a). Imaginea topografică arată substratul de mică acoperit parțial de SLB. Profilul de înălțime după linia de scanare reprezentată în imaginea topografică este prezentat în graficul din Fig. 10 b). Se observă diferența de înălțime dintre regiunea A, ce reprezintă suprafața neacoperită a substratului de mică, și regiunea B acoperită de SLB.

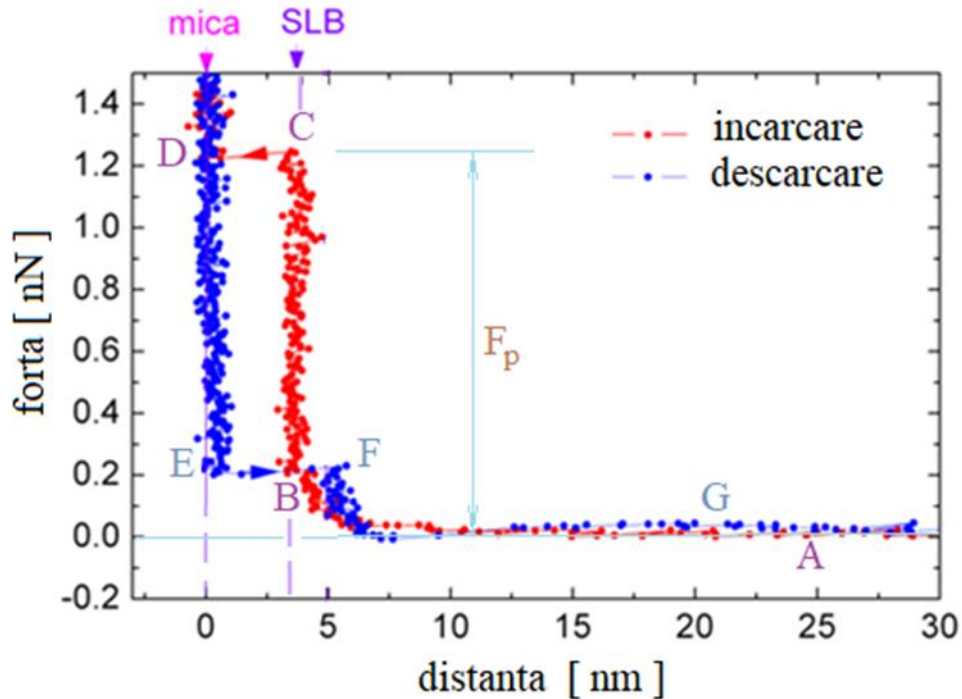
Diferența de înălțime de 6 nm este ceva mai mare decât grosimea teoretică a SLB (5 nm) datorită faptului că forța de apăsare folosită pentru scanare în modul contact a fost mică și vârful sondei AFM a interacționat ușor, de la o mică distanță, cu bistratul lipidic. În același timp se observă că pe suprafața scanată sunt și regiuni mai înalte, C, de înălțime de aproximativ 11 nm. Aceste zone corespund regiunilor în care veziculele nu au fuzionat cu substratul și astfel s-au depus două membrane lipidice suprapuse.



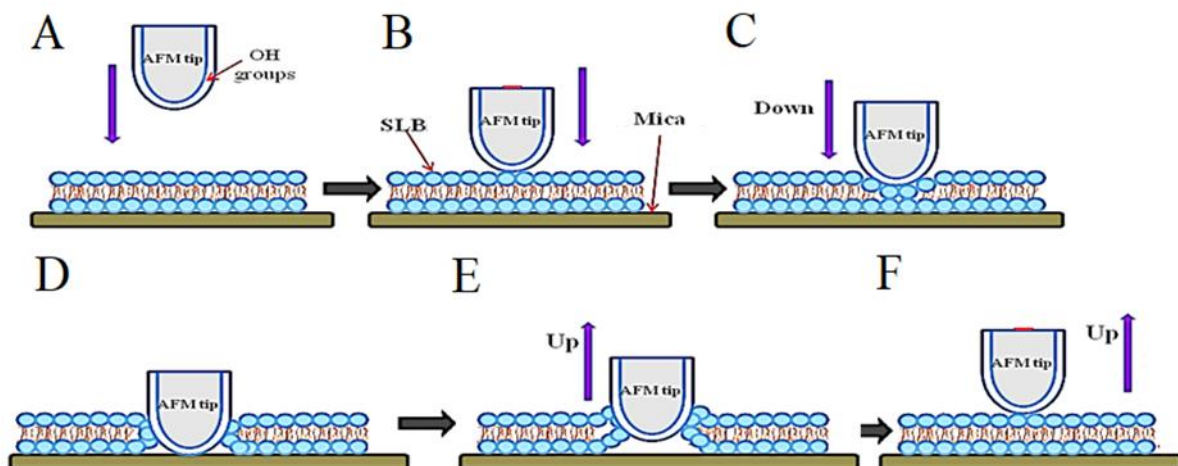
**Figura 10** a) Imaginea topografică ( $5\mu\text{m} \times 5\mu\text{m}$ ) a SLB pe suport de mică. Imaginea arată contrast între zonele acoperite de bistratul lipidic (B) și zonele neacoperite (A). b) Profilul de înălțime a suprafeței specimenului de-a lungul liniei de scanare reprezentată în partea a) a figurii. Profilul de înălțime indică grosimea SLB (în jur de 6 nm) ca diferență de înălțime între zonele A și B. În zonele de tip B sunt depuse două bistraturi lipidice deoarece veziculele nu au fuzionat cu substratul în aceste regiuni.

Măsurătorile de spectroscopie de forță atomică au fost efectuate în regiunile compacte complet acoperite de straturile bilipidice. Figura 11 prezintă o curbă de forță versus distanță dintre vârful sondei AFM și substratul de mică într-un experiment de indentare a SLB. Figura 12 prezintă schematic starea diferitelor etape ale procesului de interacțiune a vârfului sondei AFM cu SLB. Astfel pentru faza de încărcare a experimentului, vârful sondei AFM se află la distanță de bistratul lipidic și forța de interacțiune este nulă (A), apoi la o distanță de câțiva nanometri vârful sondei AFM interacționează prin forțe de respingere de strat dublu de sarcini spațiale (B), după care intră în contact cu SLB și exercită o forță de presiune pe suprafața de contact până când la valoarea forței de penetrare,  $F_p$ , bistratul lipidic colapsează și vârful se

deplasează brusc (C→D) pentru a intra în contact cu substratul de mică. În faza de descărcare, forța de apăsare pe substrat scade și în anumite experimente se observă refacerea bruscă a bistratului lipidic (E→F), după care vârful interacționează prin forțe de respingere de strat dublu electrostatic pe o distanță de câțiva nanometri și forța de interacțiune redevine nulă la distanțe mai mari (G).

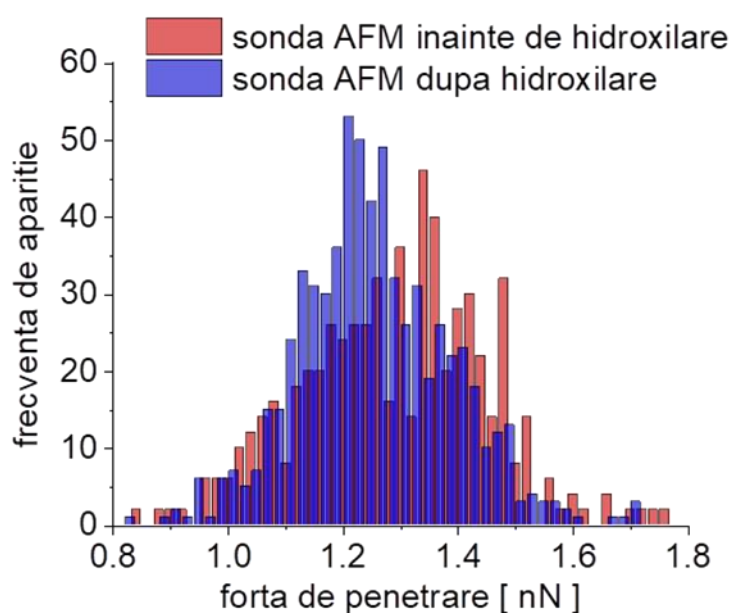


**Fig. 11** O curbă de forță versus distanță vârf-specimen ce prezintă fenomenul de penetrare a stratului bilipidic (tranziția D-C) la o forță de apăsare pe contact de 1.2 nN în faza de încărcare (creștere a forței) a experimentului și refacerea bistratului lipidic (E-F) în faza de descărcare (scădere a forței) a experimentului



**Fig. 12** Reprezentarea schematică a diferitelor momente din timpul experimentului de indentare a SLB cu vârful unei sonde AFM a cărei suprafețe a fost hidroxilată în plasma luminii negative a unei descărcări luminescente în aer saturat cu vapori de apă.

Forța de penetrare a SLB a fost determinată într-un număr statistic relevant de măsurători (500) efectuate cu sonda AFM nehidroxilată și apoi cu aceeași sondă AFM ce a fost hidroxilată urmând procedura descrisă mai sus. Rezultatul acestor măsurători este prezentat de histogramele prezentate în Fig. 13. Aceste histograme arată o ușoară scădere a forței de penetrare a bistratului lipidic ca efect al hidroxilării suprafeței sondei AFM. Astfel se observă că maximul de probabilitate a valorilor lui  $F_p$  este la 1.3 nN pentru sonda nehidroxilată și la 1.2 nN pentru sonda hidroxilată. Dispersia mare a valorilor forței de penetrare se datorează neomogenității bistraturilor lipidice care sunt depuse în insule pe substratul de mică. Astfel este raportat în literatură că forța de penetrare în regiuni de la marginea bistraturilor este ceva mai mică decât în regiunile din centrul lor. O explicație posibilă a efectului de reducere a forței de penetrare ca urmare a hidroxilării suprafeței sondei AFM este dată de creșterea forței de atracție dintre suprafața hidroxilată a vârfului sondei AFM și SLB datorită formării de legături de hidrogen între grupările hidroxil și fosfat din grupul polar hidrofil a moleculelor de fosfatidilcolină. Pentru a investiga această ipoteză am analizat curbele forță-deplasare achiziționate în experimentele de spectroscopie cu forță atomică pentru a determina valorile forței de adeziune dintre vârful hidroxilat și nehidroxilat al sondei AFM și SLB.



**Fig. 13** Histograme ale valorilor forței de penetrare a bistratului lipidic înregistrate în măsurătorile de spectroscopie cu forță atomică efectuate cu o sondă AFM înainte și după hidroxilarea suprafeței ei cu plasma unei descărcări luminescente în aer saturat cu vapori de apă.

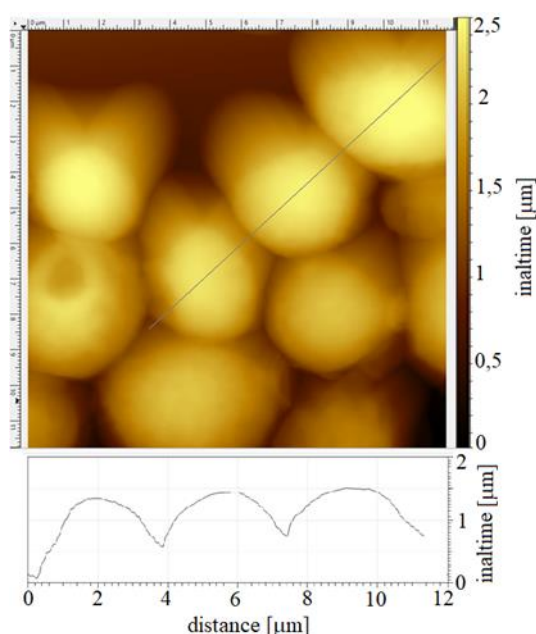
### **3. Rigidizarea celulelor de drojdie sub acțiunea radicalilor de oxigen și azot din apa activată cu plasmă**

Acest studiu constă în investigarea microscopică a proprietăților mecanice ale celulelor de drojdie, *Saccharomyces cerevisiae*, supuse acțiunii radicalilor de oxigen și azot din apa activată cu plasmă (PAW- plasma activated water, eng) obținută prin tratamentul apei distilate cu plasma unei descărcări cu barieră dielectrică pe suprafață în aer la presiune atmosferică. Experimentele de indentare cu ajutorul tehnicii microscopiei cu forță atomică a celulelor de drojdie permit determinarea modului de elasticitate al celulelor de drojdie în apa deionizată (experiment de control) și în PAW. Datele experimentale obținute au fost analizate cu ajutorul modelelor matematice folosite curent în experimentele de indentare AFM a suprafețelor plane ale materialelor omogene, deși aplicarea acestor modele în cazul probelor biologice, respectiv, celulelor vii, este limitată. Cu toate acestea, dacă este folosită corect, tehnica de indentare AFM poate furniza informații importante despre modificările proprietăților mecanice ale membranelor sau ale citoscheletului celulelor vii supuse acțiunii diversilor factori de stres.

Figura 14 prezintă imaginea topografică a celulelor de drojdie pe substratul de sticlă plasat în apă distilată. Imaginea a fost obținută în modul AFM contact în lichid (apă distilată). Profilul de înălțime a celulelor de drojdie aliniat de-a lungul segmentului de dreaptă prezentat în imaginea topografică este prezentat în graficul de sub imaginea topografică. Se observă variații ale înălțimii de aproximativ 2  $\mu\text{m}$ , în timp ce dimensiunea laterală medie a celulelor este de aproximativ 4  $\mu\text{m}$ . Aceste date arată o formă ovală a celulelor de drojdie și o orientare a lor cu diametrul mai mic perpendicular pe substrat. Experimentele de indentare au fost efectuate pe partea cea mai înaltă a suprafețelor celor trei celule aliniat de-a lungul segmentului de dreaptă. Înlocuirea apei distilate cu apă activată cu plasmă nu a dus la modificări remarcabile ale imaginii topografice a celulelor pe o durată de o oră. De asemenea, imaginile topografice obținute după experimentele de indentare nu au pus în evidență modificări morfologice ale suprafețelor celulelor de drojdie, ceea ce indică faptul că

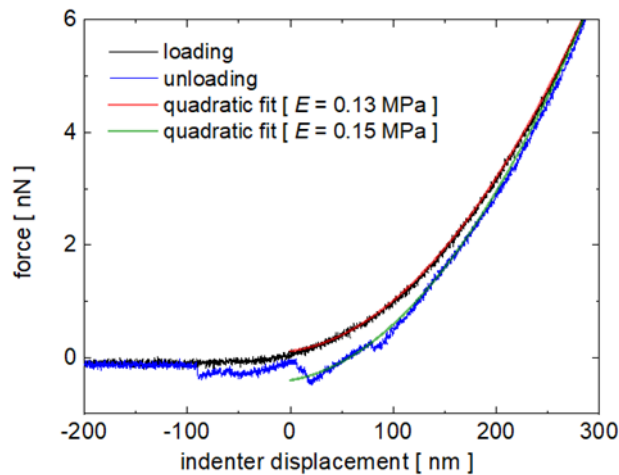
deformările suprafețelor celulelor au fost elastice, fapt indicat și de curbele forță de indentare versus adâncime de indentare.

În timpul fazei de încărcare (creșterea forței de indentare) a experimentului de indentare, materialul poate suferi atât deformări elastice, cât și deformări plastice. Pe de altă parte, în timpul fazei de descărcare (scădere a forței de indentare) materialul suferă un proces de relaxare elastică, iar dependența forței de indentare în funcție de deplasarea indenterului în timpul acestei faze a experimentului este de obicei utilizată pentru a determina modulul de elasticitate al materialului. În cazul indentării celulelor de drojdie deformarea plastică este neglijabilă, astfel încât se pot utiliza atât curbele de forță la încărcare cât și cele la descărcare pentru a determina valoarea modulului lui Young.



**Fig. 14** Imagine topografică 3D a celulelor de drojdie pe substrat de sticlă în apă distilată.

Așa cum se vede în Figura 15, curba forței de indentare versus deplasarea indenterului (vârful sondei AFM) în timpul fazei de descărcare este afectată de forța de adeziune dintre indenter și membrana celulară. Deoarece forța de adeziune are variații discontinue cauzate de desprinderea discontinuă a indenterului de membranele celulelor (mișcări de tip agățare-alunecare), am utilizat curbele de forță versus deplasarea indenterului pentru faza de încărcare a experimentelor de indentare pentru determinarea modulului lui Young.



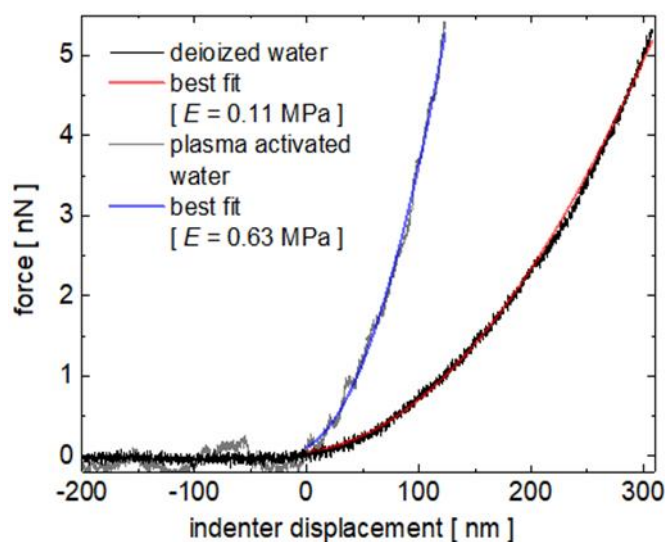
**Fig. 15** Aproximarea curbelor forță de indentare versus deplasare a indenterului în timpul fazelor de încărcare și descărcare ale unui experiment de indentare a suprafeței unei celule de drojdie. Rezultatele fitării curbei forță-deplasare achiziționate (valorile determinate ale modulului lui Young) sunt afectate de forța de adeziune dintre membranele celulelor de drojdie și indenter.

După cum se vede ilustrat în Figura 15 cele mai bune fitări ale datelor cu formă pătratică (5.6) determinată de teoria Snedon determină valori ale modulului lui Young ce diferă datorită efectului forței de adeziune dintre indenter și membranele celulelor cu mai puțin de 20%. Ca urmare, am limitat analiza la datele achiziționate în faza de încărcare a indentării. O altă problemă este dată de faptul că rezultatul fitării curbelor de indentare depinde de adâncimea de indentare. Spre deosebire de materialele tehnologice obișnuite, celulele de drojdie au o structură neomogenă formată la suprafața de membrana celulară conectată la citoscheletul celulei. Ca urmare, pe măsură ce adâncimea de penetrare crește, sunt deformate elastic straturi din ce în ce mai profunde ale celulei, straturi care sunt mai rigide decât cele de la suprafața. Ca urmare, cele mai bune fitări pentru regiuni de indentare mai profunde în celulă dau valori mai mari ale modulului lui Young, în comparație cu rezultatele obținute de cele mai bune fitări ale curbelor de indentare la profunzimi de indentare mici. Ca urmare, analiza rezultatelor obținute în experimentul de investigare a efectului apei activate cu plasmă asupra proprietăților mecanice ale celulelor de drojdie am considerat indentări cu adâncimea de indentare mai mică de 150 nm.

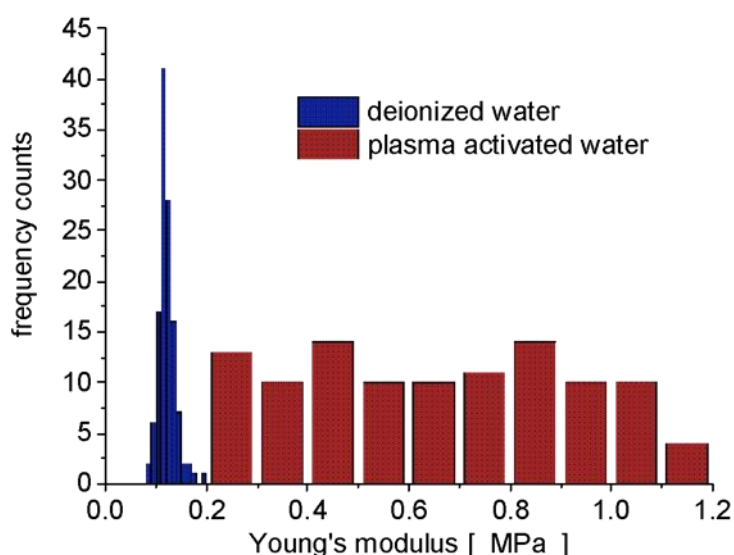
Figura 16 prezintă curbele forță versus deplasare tipice înregistrate în experimente de indentare a celulelor aflate în apă deionizată și, respectiv, în apă activată cu plasmă. Se observă că la aceeași valoare maximă a forței de indentare (5 nN) adâncimea de penetrare a vârfului sondei AFM este de 100 nm în celulele de drojdie în PAW și de 300 nm în celulele de drojdie în apă deionizată. Aceasta indică faptul că celulele de drojdie se rigidizează ca



efect al radicalilor chimici de oxigen și azot din apa activată cu plasmă. Experimentele de indentare efectuate în locuri distribuite omogen pe suprafața câtorva celule au arătat că modulul lui Young al celulelor de drojdie a crescut de până la zece ori ca urmare a înlocuirii apei deionizate cu PAW în celula de lichid a aparatului AFM. În timp ce valorile modulului Young al celulelor de drojdie în apa deionizată au prezentat o distribuție gaussiană ( $0,12 \pm 0,02$  MPa), valorile modulului Young al celulelor de drojdie din PAW au prezentat o mare dispersie, fiind distribuite cu o probabilitate aproximativ egală între 0,25 și 1,2 MPa. (Fig. 17)



**Fig 16** Curbe forță-deplasare obținute în faza de incarcare a experimentelor de indentare a celulelor de drojdie în apa deionizată și în PAW.



**Fig. 17** Histogramele valorilor modulului lui Young a suprafețelor celulelor de drojdie în apa deionizată și în apa activată cu plasmă.

### 3. CONCLUZII

În multe aplicații recente ale micro- și nanotehnologiei apare necesitatea modificării proprietăților de suprafață a unor materiale utilizate în mod clasic în aceste aplicații, siliciul, sticla, metale și polimeri. Expunerea suprafețelor acestor materiale la mediul gazos generat de plasma descărcărilor electrice în gaze constituie o tehnică versatilă de modificare a proprietăților de suprafață fără a modifica proprietățile lor de volum. Această tehnică este superioară metodelor chimice utilizate în mod clasic deoarece ea folosește cantități infime de reactivi și oferă un bun control asupra procesului de modificare a proprietăților de suprafață. Controlul impurităților în procesele de tratament cu plasmă a suprafețelor este mult mai bun deoarece moleculele active chimic sunt generate chiar de plasma descărcării în condițiile în care reactoarele moderne cu plasmă oferă un bun control al compoziției și parametrilor plasmiei.

În prezenta teză de doctorat sunt analizate și discutate trei situații în care plasma descărcărilor electrice în gaze este folosită pentru a modifica proprietățile de suprafață, accentul fiind pus pe tehnicile AFM de investigare a proprietăților de suprafață, și în principal pe tehnica de indentare a suprafețelor cu ajutorul microscopului cu forță atomică. Tehnica de indentare AFM este în special indicată pentru investigarea proprietăților mecanice a suprafețelor materialelor neomogene, cum ar fi celulele vii sau materialele tratate cu plasmă sau cu ozon, în aceste din urmă două cazuri modificările proprietăților având loc într-un strat de la suprafață de grosimi de ordinul câtorva zeci de nanometri. În prima situație este investigat fenomenul de rigidizare și creștere a energiei de adeziune a suprafeței polidimetilsiloxanului tratat cu plasma luminii negative a unei descărcări electrice în argon la presiune joasă. În cea de a doua situație este investigat efectul hidroxilării suprafeței sondelor AFM prin expunerea acestora la plasma luminii negative a unei descărcări luminescente în aer saturat cu vapori de apă la presiune joasă asupra forței de penetrare a bistraturilor lipidice pe suport solid în experimentele de indentare a membranelor lipidice. În ce-a de a treia situație este investigat efectul apei activată cu plasma unei descărcări cu barieră dielectrică pe suprafață asupra elasticității mecanice a celulelor de drojdie. Principalele rezultate obținute în aceste studii sunt descrise mai jos.

- Investigațiile AFM ale suprafețelor PDMS tratate cu plasmă au arătat o creștere importantă a rugozității în primele 30 de secunde de tratament urmată de o scădere importantă până la 2 minute de tratament. Acest comportament a fost atribuit neuniformității răspunsului

suprafeței polimerice la tratamentul cu plasmă în primele 30 de secunde, concluzie care s-a bazat pe observarea creșterii contrastului în imaginile forței de frecare în imaginile AFM de forță laterală achiziționate simultan cu imaginile topografice.

- Investigarea prin experimente de indentare AFM a efectului tratamentului cu plasmă asupra rigidității și a energiei de adeziune suprafeței PDMS au arătat o creștere importantă a modulului Young a materialului dintr-un strat subțire de la suprafață (câțiva zeci de nanometri) de la 1,6 MPa pentru suprafața PDMS netratată la aproximativ 30 MPa pentru suprafața PDMS expusă timp de 2 minute la plasmă. Deasemeni aceste experimente au pus în evidență o creștere moderată a energiei de adeziune față de suprafața de nitură de siliciu a indenterului (vârful sondei AFM);

- Determinări prin metodele macroscopice de măsurare a unghiului de contact al apei și a măsurării lungimii de detașare a energiei de adeziune a suprafeței PDMS tratată cu plasmă față de apă și față de suprafața de siliciu au pus în evidență o creștere importantă (de trei ori) a ambelor mărimi în primele 30 de secunde de tratament și apoi o ușoară scădere a acestora în urma tratamentului de până la 2 minute.

- Investigații ale compoziției și structurii chimice efectuate prin tehnica spectroscopiei cu fotoelectroni de raze X ale suprafețelor de PDMS tratate cu plasma de argon au arătat o scădere a conținutului atomic de carbon însoțită de o creștere a conținutului de oxigen a suprafeței PDMS tratate cu plasmă. Deasemeni, a fost pusă în evidență o ușoară oxidare și hidroxilare a moleculelor de PDMS de la suprafață și formarea de noi legături încrucișate Si-O-Si ca urmare a tratamentului cu plasmă.

- Rezultatele investigațiilor compoziției și structurii chimice ale suprafețelor PDMS tratate cu plasmă indică faptul că rigidizarea suprafeței PDMS poate fi atribuită generării de noi legături reticulare Si-O-Si și Si-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Si între moleculele PDMS de la suprafața materialului. Bombardamentul suprafeței PDMS cu ioni de argon în timpul tratamentului cu plasmă elimină o parte din grupările metil din structura moleculelor de PDMS și lasă atomi de siliciu disponibili pentru a forma legături încrucișate Si-O-Si. De asemenea, bombardamentul cu ioni în timpul tratamentului cu plasmă poate duce la îndepărtarea atomilor de hidrogen din grupările metil vecine, ceea ce poate duce la formarea de noi legături încrucișate CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>. Aceste noi legături de reticulare formate în stratul superior de la suprafața probelor PDMS tratate cu plasmă determină o creștere semnificativă a rigidității suprafețelor.

- Investigații ale compoziției și structurii chimice efectuate prin tehnica spectroscopiei cu fotoelectroni de raze X ale suprafețelor de siliciu a sondelor AFM expuse la acțiunea plasmelor luminoase negative a unei descărcări electrice în curent continuu în aer saturat cu vapori

de apă la presiune joasă au indicat formarea de grupări hidroxil în densitate mare pe suprafața tratată.

- Sondele AFM hidroxilate au fost folosite în experimente de indentare AFM în mediu fiziologic a bistraturilor de fosfatidilcolină depuse pe substrat de mică, experimente care au pus în evidență o ușoară scădere a forței de penetrare a bistraturilor lipidice de la valoarea de 1.3 nN pentru sonda AFM nehidroxilată la 1.2 nN pentru sonda AFM hidroxilată. Deasemeni, aceste investigații au pus în evidență o ușoară creștere a forței de adeziune dintre suprafața hidroxilată a sondelor AFM și moleculele de fosfatidilcolină din bistrat.

- În cel de-al treilea studiu întreprins în prezenta teză de doctorat este pus în evidență faptul că proprietățile de suprafață pot fi modificate prin acțiunea indirectă a plasmă asupra suprafeței materialului, în acest caz celulele de drojdie *Saccharomyces cerevisiae*, prin intermediul speciilor reactive de oxigen și azot generate în apă de plasma unei descărcări cu barieră dielectrică pe suprafață în aerul atmosferic.

- Experimentele de indentare AFM ale celulelor vii de drojdie în apă (control) și în apă activată cu plasma descărcării DBD au pus în evidență o creștere de până la zece ori a modulului Young al celulelor de drojdie ca efect al moleculelor active create în apa expusă la mediul gazos generat de plasmă.

**Lucrări prezentate la conferințe științifice internaționale:**

1. S. Teodoroff-Onesim, G. Țifui, L. Sîrghi, *Modification of elasticity and work of adhesion of PDMS surface by treatment in negative glow plasma of a luminescent discharge in argon at low pressure*, 18<sup>th</sup> International Conference on Plasma Physics and Applications, June 20th-22nd, 2019, Iași, România. **(poster)**
2. G. Țifui, S. Teodoroff-Onesim, L. Sîrghi, *Modification of mechanical properties of polydimethylsiloxane surface by low-pressure plasma treatment*, 19<sup>th</sup> International Conference on Plasma Physics and Applications, August 31 - September 3, 2021, Măgurele, București, România. **(oral)**
3. Gabriela Țifui, Sbina Teodoroff-Onesim, Lucel Sîrghi, *Atomic Force Microscopy Indentation of Supported Lipid Bilayers*, 19<sup>th</sup> International Conference on Global Research and Education( Inter-Academia 2021) **(oral)**
4. Gabriela Țifui, Mirabela Babin and Lucel Sirghi\*, *Effect of plasma activated water on the mechanical properties of yeast cells*, 20<sup>th</sup> International Conference on Plasma Physics and Applications, Iunie 2023, Iași, România **(poster)**

**Lucrări publicate în reviste științifice cotate ISI:**

1. Gabriela Țifui, Marius Dobromir, Lucel Sîrghi, *Stiffening of polydimethylsiloxane surface as result of exposure to low-pressure argon discharge plasma*, Plasma Processes and Polymers, ppap 202300014 (<https://doi.org/10.1002/ppap.202300014>)  
**IF = 3,5, AIS = 0,573**

## Bibliografie selectivă

- 
- <sup>1</sup> N. Jalili, K. Laxminarayana, A review of atomic force microscopy imaging systems: application to molecular metrology and biological sciences, *Mechatronics*, Volume 14, Issue 8, Pages 907-945 2004, 2004.
- <sup>2</sup> Ruiz, A; Buzanska, L; Gilliland, D; Rauscher, H; Sirghi, L; Sobanski, T; Zychowicz, M; Ceriotti, L; Bretagnol, F; Coecke, S; Colpo, P; Ross, F, Micro-stamped surfaces for the patterned growth of neural stem cells, *BIOMATERIALS* 29(36) 2008, 4766-4774
- <sup>3</sup> Ceriotti, L; Buzanska, L; Rauscher, H; Mannelli, I; Sirghi, L; Gilliland, D; Hasiwa, M; Bretagnol, F; Zychowicz, M; Ruiz, A; Bremer, S; Coecke, S; Colpo, P; Rossi, F, Fabrication and characterization of protein arrays for stem cell patterning, *SOFT MATTER* 5(7) 2009, 1406-1416.
- <sup>4</sup> Apetrei, A; Sirghi, L, Stochastic Adhesion of Hydroxylated Atomic Force Microscopy Tips to Supported Lipid Bilayers, *LANGMUIR* 29(52) 2013, 16098-16104.
- <sup>5</sup> Gomathi Nageswaran, Lavanya Jothi, Saravanakumar Jagannathan, Chapter 4 - Plasma Assisted Polymer Modifications, *Non-Thermal Plasma Technology for Polymeric Materials, Applications in Composites, Nanostructured Materials and Biomedical Fields*, 2019, Pages 95-127.
- <sup>6</sup> Simón Roa, N. Haberkorn, Martín Siren, Atomic force microscopy nano-indentation for testing mechanical properties in thin films, *Materials Today: Proceedings* 14 (2019) 113–116.
- <sup>7</sup> Sirghi, L; Ponti, J; Broggi, F; Rossi, F, Probing elasticity and adhesion of live cells by atomic force microscopy indentation, *Eur. Biophys. J. with Biophys. Lett.* 37(6) 2008, 935-945.
- <sup>8</sup> Sirghi, L; Nakamura, M; Hatanaka, Y; Takai, O, Atomic force microscopy study of the hydrophilicity of TiO<sub>2</sub> thin films obtained by radio frequency magnetron sputtering and plasma enhanced chemical vapor depositions, *LANGMUIR* 17(26) 2001, 8199-8203.