



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2011 01257

(22) Data de depozit: 28.11.2011

(41) Data publicării cererii:  
30.10.2012 BOPI nr. 10/2012

(71) Solicitant:  
• UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI  
FARMACIE "GRIGORE T. POPA" DIN IAȘI,  
STR. UNIVERSITĂȚII NR. 16, IAȘI, IS, RO

(72) Inventatori:  
• VASILE CORNELIA, STR.PANTELIMON  
NR.29, BL.308, SC.A, ET.3, AP.12, IAȘI, IS,  
RO;

• BAICAN MIHAELA CRISTINA,  
STR. HANCIUC NR. 15, BL. 356, SC. B,  
ET. 1, AP. 1, IAȘI, IS, RO;  
• PĂSLARU ELENA, SAT GARBEȘTI,  
TIBANA, IS, RO;  
• TUCHILUȘ CRISTINA, STR. RAMPEI  
NR. 5, BL. 402, AP. 14, IAȘI, IS, RO

(54) **PROCEDEU PENTRU IMOBILIZAREA PROTEINELOR PE  
SUPRAFAȚA FLUORURII DE POLIVINILIDEN**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu pentru imobilizarea proteinelor pe suprafața fluorurii de poliviniliden, pentru obținerea unor biomateriale. Procedeu conform invenției constă din activarea suprafeței polimerului în plasma de microunde, folosind gaze de descărcare alese dintre bioxid de carbon, azot, amestec azot/hidrogen, urmată de imobilizarea proteinei A, a triglicerinei și a albuminei la suprafața polimerului, în

prezența unor agenți de cuplare, din care rezultă un biomaterial polimeric compatibil cu medii biologice de tip sânge, țesuturi, de asemenea, utilizabil pentru obținerea de biosenzori.

Revendicări: 3  
Figuri: 5



a. 26.11.01257  
28.11.2011

## PROCEDEU PENTRU IMOBILIZAREA PROTEINELOR PE SUPRAFATA FLUORURII DE POLIVINILIDEN

Invenția se referă la un procedeu de imobilizare a proteinelor la suprafața fluorurii de poliviniliden (PVDF) pentru îmbunătățirea biocompatibilității cu mediul biologic și obținerea de biosenzori.

***Rezultatele au fost obținute în cadrul proiectului ID\_2541, intitulat "Studii privind realizarea de biosenzori piezoelectrice folosind un substrat polimeric"; nr. contract de finanțare: 531 / 19.01.2009.***

Fluorura de poliviniliden (PVDF), cu formula  $(-\text{CH}_2-\text{CF}_2-)_n$ , este un fluoropolimer termoplastic nereactiv și de puritate înaltă. PVDF este un plastic special, fiind utilizat în aplicații care necesită cea mai înaltă puritate, rezistență mecanică și la solvenți, acizi, baze și căldură, emite foarte puțin fum în timpul incendiilor. Comparativ cu alți fluoropolimeri, se topește foarte ușor, deoarece are un punct de topire relativ scăzut (de aproximativ  $177^\circ\text{C}$ ). Are o densitate mică ( $1.76 \text{ g/cm}^3$ ) și un preț de cost scăzut. Este disponibil ca tuburi, plăci, filme și fire izolatoare. Poate fi injectat, turnat în matrițe sau ondulat și se utilizează în mod obișnuit în industriile chimică, ca semiconductor, în sectorul medical și de apărare (aviație și aerospațială), precum și în bateriile de litiu. O pulbere fină, cunoscută sub denumirea comercială de KYNAR 500 PVDF sau HYLAR 5000 PVDF, este utilizată ca ingredient principal în vopselele pentru metale și în construcții. PVDF se vinde într-o varietate de denumiri comerciale, ca: Hylar (Solvay), Kynar (Arkema) și Solef (Solvay). *Membranele de PVDF sunt utilizate pentru imobilizarea proteinelor, datorită afinității nespecifice pentru aminoacizi.*

Pre-adsorbția de proteine poate fi utilizată pentru a satura suprafața cu un strat de proteine, în acest mod acea suprafață nemaifiind valabilă pentru legarea și activarea altor proteine [1]. Suprafețele tratate cu albumină sunt rezistente la adeziunea plachetelor, fiind caracterizate de o toleranță îmbunătățită la lichidele biologice și de o hemocompatibilitate ridicată. În același timp, albumina determină creșterea numărului de grupe funcționale ( $\text{NH}_2$  și  $-\text{COOH}$ ) la suprafața polimerului, ceea ce permite legarea ulterioară de molecule bioactive, extinzând astfel domeniul de aplicabilitate al acestora. ***Reticularea sau pre-tratamentul fizic al suprafeței crește stabilitatea biomoleculilor adsorbite fizic*** [2].

Scopul invenției de față este de a elabora un procedeu eficient, simplu și reproductiv pentru imobilizarea de proteine pe suprafața PVDF, în scopul îmbunătățirii biocompatibilității cu mediile biologice, pentru lărgirea gamei de aplicații în domeniul medical.

Au fost utilizate următoarele materiale:

S-au folosit ***filme de polifluorură de viniliden*** (PVDF), cu grosimea de 0,25 mm (Goodfellow, England). Acesta este un polimer fluorurat, alb, semi opac, semicristalin. Densitatea sa este de  $1.76 \text{ g/cm}^3$  și limita superioară a temperaturii de lucru este cuprinsă între  $135$  și  $150^\circ\text{C}$ .

28 -11- 2011

**Proteina A** (Sigma Chem) are o masă moleculară de 42 kDa și punctul izoelectric pl de 5,3. Proteina A are o catenă peptidică liniară care conține domenii structurale bogate în acid aspartic și glutamic fără cisteină [3].

**Triglicina (glycyl-glycyl-glycina)**, (Sigma Aldrich), are formula moleculară  $C_6H_{11}N_2O_4$  și puritate >99%.

**Albumina**. Albumina din serul de bovine (BSA) este constituită din 582 amino acizi și are legături disulfidice [4]. Deoarece BSA este o proteină globulară hidrofobă, este ușor adsorbită pe suprafața polimerilor sintetici ca PE, PTFE, CA, PVDF și PS [5, 6, 7]. Albumina folosită în studiu a fost cumpărată de la Sigma-Aldrich, are un conținut de apă de 1,7 %, greutatea moleculară 69,000, punctul izoelectric de 4,9. BSA a fost selectată pentru studiu deoarece este accesibilă, are puritate avansată și se adsoarbe pe un număr mare de materiale, incluzând PVDF [8].

Albuminele se caracterizează printr-un conținut mic de triptofan și metionină și un conținut mare de cisteină și aminoacizi cu sarcini electrice, ca acidul aspartic și glutamic, lizină și arginină. Structura secundară conține aproximativ 68% - 50% alfa-helix și 16% -18% plăci beta.

Invenția prezintă avantajul că imobilizarea proteinelor se realizează prin procedee fizice, nepoluante și este reproductibilă, fiind adecvată pentru creșterea biocompatibilității și obținerea de biosenzori pe substrat polimeric.

În vederea fixării ulterioare a unor proteine pe un suport de PVDF, acesta a fost activat în plasmă de microunde. Se poate urma una dintre următoarele două strategii, și anume:

\* fie substratul polimeric este modificat în plasmă  $N_2$  sau  $N_2/H_2$ , proteina fiind în prealabil activată pentru a permite grefarea sa pe substratul polimeric prin grupele sale carboxil;

\* fie polimerul este modificat în plasmă  $CO_2$ , permițând fixarea grupelor carboxil; substratul astfel modificat este activat pentru a permite grefarea proteinei prin grupele sale amino.

Condițiile optime de tratament în plasmă de microunde, care conduc la o funcționalizare crescută a suprafeței polimerice, fără deteriorarea proprietăților de volum [9,10] au fost următoarele:

a) **plasmă  $CO_2$** :  $Q = 10$  sccm,  $P = 50$  W,  $t = 30$  sec,  $d = 10$  cm;

b) **plasmă  $N_2$** :  $Q = 10$  sccm,  $P = 50$  W,  $t = 60$  sec,  $d = 10$  cm;

c) **plasmă  $N_2/H_2$** , în raportul 25/75:  $Q = 10$  sccm,  $P = 50$  W,  $t = 60$  sec,  $d = 10$  cm.

Aceste tipuri de activare în plasmă conduc la obținerea de suprafețe acide, amfotere și, respectiv, bazice.

Filmele de PVDF netratate și tratate în plasmă de microunde și folosind diferite gaze de descărcare, pentru condițiile optime de tratament stabilite anterior, au fost acoperite cu straturi de diferite proteine (**proteina A** (prA), **triglicină** (TG), **albumină din ser bovin** (BSA)), în scopul îmbunătățirii biocompatibilității, sau utilizării lor ulterioare pentru obținerea de biosenzori.

Acoperirea filmelor de PVDF, tratate în plasmă de microunde în condițiile menționate anterior, cu proteine s-a realizat prin două metode, și anume:

- Prin **adsorbție fizică**

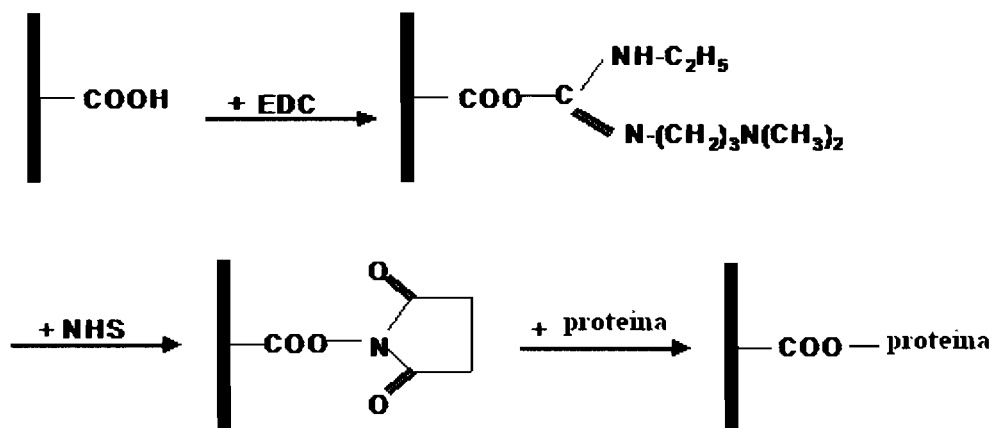
În cazul **proteinei A** și al **triglicinei**, soluția de proteină (10  $\mu$ L de concentrație  $c=2,5$  mg/mL) a fost depusă pe suprafața filmului de PVDF activat în plasmă, care a fost apoi menținut la temperatura de 4°C, cel puțin 15 ore. Excesul de proteină a fost, apoi, îndepărtat prin spălarea cu soluție tampon fosfat PBS.

În cazul **albuminei**, filmele de polimer au fost imersate, la temperatura camerei, într-o soluție apoasă de 2% albumină. Raportul polimer/albumină a fost păstrat aproximativ constant (1/2 %/%) [11].

- Prin *grefare*

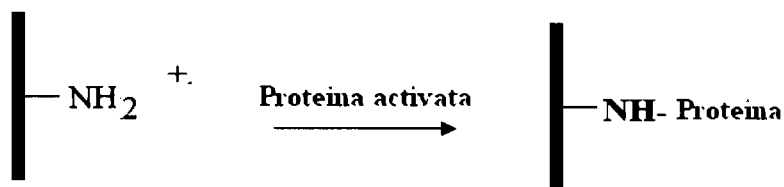
Filmele de polimer au fost tratate cu 75 mM EDC (1-etil-3-(dimetilaminopropil) carbodiimidă) + 15 mM NHS ((N-hidroxisuccinimidă) și proteină (10 μL la concentrație c=2,5 mg/mL), timp de o oră, pentru a transforma grupele terminale carboxil, prin generarea unui intermediar stabil ester amino acil. După condensarea proteinelor, are loc aminoliza NHS. Excesul de proteină a fost îndepărtat prin spălarea cu PBS (pH 7,4). Înainte de a fi analizate, toate filmele au fost păstrate la temperatura de 4°C.

Grefarea a avut loc în prezența EDC (1-etil-3-(dimetilaminopropil) carbodiimidă) și NHS (N-hidroxisuccinimidă), conform reacțiilor din schema următoare:



Proteină: triglicină sau proteină A

Proteină + EDC/NHS (în soluție) → Proteină activată



Schema 1. Reacțiile cele mai posibile pentru grefarea proteinelor în cazul tratamentului PVDF în plasmă de CO<sub>2</sub> (a) și N<sub>2</sub> sau N<sub>2</sub>/H<sub>2</sub> (b)

Activarea prin agenții de cuplare (EDC și NHS) îmbunătățește stabilitatea acoperirii și ușurează formarea unui intermediar potrivit pentru condensarea proteinelor, determinând o sensibilitate înaltă și o bună precizie pentru aceste metode de acoperire [12,13].

După aplicarea celor două metode de acoperire cu proteine, s-a urmărit *testarea obținerii de monostraturi de proteine la suprafața polimerului activat în plasmă*, precum și *testarea creării de legături între centrele active ale PVDF și proteinele respective*. Pentru a evidenția adsorbția fizică/grefarea acestor proteine, s-au utilizat o serie de metode de investigare, precum: metoda unghiului de contact, spectrometria ATR-FTIR, SEM/EDX, XPS, teste de imunofluorescență.

28-11-2011

În continuare, se dau cinci exemple de aplicare a invenției, rezultatele fiind evidențiate de datele din Figurile 1-5.

**Exemplul 1:** Trei tipuri de suprafețe activate în plasmă de microunde de CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> și N<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>, obținute în condițiile optime de tratament amintite, fiind adecvate pentru acoperirea cu proteine, și anume: **suprafețe acide (obținute prin activarea în plasmă de CO<sub>2</sub>**, când rugozitatea este crescută și este realizată implantarea de funcționalități ce conțin oxigen (în principal grupe carboxil)) [14,15,16,17], **suprafețe bazice (obținute prin activare în plasmă de N<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>)** [9] și **suprafețe amfotere (obținute prin activarea în plasmă de N<sub>2</sub>)** [18], sunt acoperite cu 10 μL de soluție de proteină A de concentrație c=2,5 mg/ml. Soluția se depune pe suprafața filmului de PVDF și apoi acesta se menține la temperatura de 4°C, cel puțin 15 ore. Excesul de proteină neadsorbit se îndepărtează prin spălare cu soluție tampon fosfat PBS. Filmele acoperite cu proteine sunt apoi caracterizate prin spectroscopie ATR-FTIR, metoda unghiului de contact, AFM, XPS, teste de imunofluorescență. Determinarea cantitativă a proteinei imobilizate s-a efectuat prin măsurători gravimetrice.

**Exemplul 2:** Trei tipuri de suprafețe activate în plasmă de microunde de CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> și N<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>, obținute în condițiile optime de tratament în plasmă menționate mai sus, sunt tratate cu 75 mM EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimidă) + 15 mM NHS ((N-hidroxisuccinimidă) și proteină A (10 μL la concentrație c=2,5 mg/mL), timp de o oră, pentru a transforma grupele terminale carboxil, prin generarea unui intermediar stabil ester amino acil. După condensarea proteinelor, are loc aminoliza NHS. Excesul de proteină a fost îndepărtat prin spălarea cu PBS (pH 7,4). Înainte de a fi analizate, toate filmele au fost păstrate la temperatura de 4°C.

**Exemplul 3:** Trei tipuri de suprafețe activate în plasmă de microunde de CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> și N<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>, obținute în condițiile optime de tratament în plasmă, adecvate pentru acoperirea cu proteine, sunt acoperite cu 10 μL de soluție de triglicină de concentrație c=2,5 mg/mL, care se depune pe suprafața filmului de PVDF și apoi acesta se menține la temperatura de 4°C, cel puțin 15 ore. Excesul de proteină neadsorbit se îndepărtează prin spălarea cu soluție tampon fosfat PBS. Filmele acoperite cu triglicină sunt apoi caracterizate prin spectroscopie ATR-FTIR, metoda unghiului de contact, AFM, XPS, teste de imunofluorescență.

**Exemplul 4:** Trei tipuri de suprafețe activate în plasmă de microunde de CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> și N<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>, obținute în condițiile optime de tratament în plasmă menționate mai sus, sunt tratate cu 75 mM EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimidă) + 15 mM NHS ((N-hidroxisuccinimidă) și triglicină (10 μL la concentrație c=2,5 mg/mL), timp de o oră, pentru a transforma grupele terminale carboxil, prin generarea unui intermediar stabil ester amino acil. După condensarea proteinelor, are loc aminoliza NHS. Excesul de proteină a fost îndepărtat prin spălarea cu PBS (pH 7,4). Înainte de a fi analizate, toate filmele au fost păstrate la temperatura de 4°C.

**Exemplul 5:** Trei tipuri de suprafețe activate în plasmă de microunde de CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> și N<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>, obținute în condițiile optime de tratament în plasmă, adecvate pentru acoperirea cu proteine, sunt acoperite prin procedeul de imersie a filmelor la temperatura camerei, în soluția apoasă de albumină, de concentrație 2%. Determinarea cantitativă a albuminei imobilizate s-a efectuat prin măsurători gravimetrice. Înainte și după imersare, probele au fost uscate la 60°C, timp de 1,30 h. Adsorbția fizică a BSA se realizează uniform, în cantități de 4-5 ori mai mari, după activarea în plasmă (Figura 1).

Acoperirea/grefarea cu proteine conduce la creșterea masei filmului, până la o medie de  $4,8-5,6\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  pentru adsorbția triglicinei, cu  $2,8-3,1\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  în cazul grefării TG, cu  $2,5-3,2\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  pentru adsorbția proteinei A și cu  $1,3-2,8\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  în cazul grefării proteinei A.

Tensiunea interfacială cu sângele și țesuturile a scăzut drastic, de la  $27\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$ , pentru PVDF netratat, la valori aflate în domeniul de biocompatibilitate (sub  $9\text{m}\cdot\text{Nm}^{-1}$ ) (Figura 2b). Situația se menține pentru toate probele acoperite cu proteine, ceea ce dovedește creșterea biocompatibilității PVDF cu mediile biologice după aplicarea activării în plasmă și acoperirea cu proteine.

Această concluzie este, de asemenea, susținută de creșterea rugozității suprafeței, aceasta luând valori foarte mari pentru probele acoperite cu proteina A, mai ales prin grefare (Figura 3).

În spectrele probelor acoperite/grefate cu proteine (Figura 4), sunt prezente atât benzi caracteristice polimerului martor, cât și proteinelor. Benzile din regiunile  $2500-4000$  și  $1500-1900\text{cm}^{-1}$  sunt mai intense pentru filmele grefate cu proteină A [19]. În regiunea  $1500-1900\text{cm}^{-1}$ , benzile corespunzătoare filmului acoperit/grefat cu proteină A sunt diferite, evidențiind prezența a diferite tipuri de grupe carbonil și amidă în proteinele utilizate, precum și prezența lor diferită, la suprafața PVDF.

Câteva benzi caracteristice sunt prezente în spectrele tuturor filmelor acoperite/grefate cu proteine, în principal în regiunea  $1500-1900\text{cm}^{-1}$  (Figura 4b), benzi ce pot fi atribuite legăturilor C=O, C=C și grupării amidă. Observații similare au fost făcute și pentru spectrele celorlalte două tipuri de probe, tratate în plasmă  $\text{CO}_2$  și  $\text{N}_2/\text{H}_2$ .

*Testele de imunofluorescență* au demonstrat că *suprafața de PVDF tratată în plasmă de microunde și acoperită cu proteine A poate fi utilizată pentru detecția microorganismelor*. La suprafața PVDF martor nu au fost observate zone de fluorescență (Figura 5.a), în timp ce expunerea în plasmă și acoperirea ulterioară cu proteine a condus la apariția unor zone de fluorescență; cele mai întinse astfel de zone au fost obținute pe *suprafața PVDF activată în plasmă de  $\text{N}_2/\text{H}_2$  și grefată cu TG* (Figura 5.d), dovedind astfel *cea mai bună cuplare a anticorpului fluoresceină cu proteina TG*. Rezultate similare au fost obținute și pentru *suprafețe activate în plasmă de  $\text{CO}_2$  și  $\text{N}_2$* , dar – în aceste cazuri – *cele mai largi zone de fluorescență s-au observat în cazul acoperirii cu proteină A*.

## BIBLIOGRAFIE

- <sup>1</sup> Andrade, J.D.; Hlady, V.; *Adv. Polym. Sci.* **1986**, *79*, 3
- <sup>2</sup> Barbucci, R.; Benvenuti, M.; Tempesti, F.; Modification of polymer surface to improve blood compatibility; in *Polymeric Biomaterials* ed S Dumitriu (New York: Dekker) **1999**, pp 199-221
- <sup>3</sup> Cohen S and Sweeney H M 1979 *J. Bacteriol.* **140** 1028–35.
- <sup>4</sup> N. Barbero, E. Barni, C. Barolo, P. Quagliotto, G. Viscardi, L. Napione, S. Pavan, F. Bussolino, *Dyes and Pigments* **80**, 307-313 (2009).
- <sup>5</sup> R. Q. Fu, T. W. Xu, W. H. Yang, Z. X. Pan, *J. Colloid & Interface Sci.* **278**, 318–324 (2004)
- <sup>6</sup> K. Kontturi, M. Vuoristo, *Desalination* **104**, 99. (1996)
- <sup>7</sup> P.M. Bummer, *Int. J. Pharm. Sci.* **132**, 143. (1996)
- <sup>8</sup> A. M. Pitt, *J. Parenter. Sci. Technol.* **41**, 110 (1987).
- <sup>9</sup> M.Pascu, D. Debarnot, S. Durand, F. Poncin Epailard, Surface modification of PVDF by microwave plasma treatment for electronless metallization, Chap. 13 in *Plasma processes and polymers*. Eds. De Riccardo D'Agostino, Pietro Favia, Christian Oehr, Michael R. Wertheimer, Wiley-VCH, Weinheim, p. 157-177, (2003);
- <sup>10</sup> C. Vasile, M. Baican, A. M.Oprea, D. Debarnot, F. Poncin-Epaillard, Evaluation of Protein Immobilization on the Polyvinylidene Fluoride Surface for Biosensor Application, ESB'2009 - 22nd European Conference of Biomaterials, September 7th - 11th, Laussane, 2009.
- <sup>11</sup> Green, R.J.; Davies, M.C.; Roberts, C.J.; Tendler, S.J.B.; *Biomaterials* **1999**, *20*, 385
- <sup>12</sup> Y.S. Fung and Y.Y. Wong, *Analyt Chem.*, **73**, 5302-5308 (2001);
- <sup>13</sup> T.-Z. Wu, C.-C. Su, L-K. Chen, H.-H. Yang, D.-F. Tai, K.-C. Peng, *Biosens. Bioelectron*, **21**, 689-695 (2005)
- <sup>14</sup> M. Pérez-Mendoza, M. Domingo-García and F. J. López-Garzón, *Carbon* **37**, 1463-1474 (1999);
- <sup>15</sup> V.N. Vasilets, G. Hermel, U. König, C. Werner, M. Müller, F. Simon, K. Grundke, Y. Ikada, H.J. Jacobasch, *Biomaterials* **18**, 1139-45 (1997);
- <sup>16</sup> A.B. Oniz-Magan, M.M. Pastor-Blas, J.M. Martin-Martinez, Different performance of Ar, O2 and CO2 RF plasmas in the adhesion of thermoplastics rubber to polyurethane adhesive, Chapter 14 in *Plasma processes and polymers*. Eds. De Riccardo D'Agostino, Pietro Favia, Christian Oehr, Michael R. Wertheimer, Wiley-VCH, Weinheim, p. 177-191, 2003;
- <sup>17</sup> N. Medard, J.-C. Soutif, F.Poncin-Epaillard, *Surface Coatings Technol.*, **160**, 197-205 (2002)
- <sup>18</sup> S.-J. Park, J.-S, Kim, *J. Colloid Interf. Sci.* **244**, 336-341 (2001); M. Bryjak, I. Gancarz, G. Poźniak, *Langmuir*, **15** 6400–6404 (1999)
- <sup>19</sup> Socrates, G., *Infrared Characteristic Group Frequencies. Tables and Charts*, 2nd edn. Wiley, New York, 117-121 (1994)

---

## REVENDICĂRI

1. Procedeu pentru imobilizarea proteinelor pe suprafața fluorurii de poliviniliden, **caracterizat prin aceea că** este constituit din două etape: activarea în plasmă de CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> sau N<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>, urmat de acoperirea prin adsorbție fizică cu proteine specifice (ca proteina A, triglicină, sau BSA).
2. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** legarea chimică a proteinelor se realizează prin reacția de cuplare cu 75 mM EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimidă) + 15 mM NHS ((N-hidroxisuccinimidă) și triglicină sau proteină A (10 μL la concentrație c= 2,5 mg/mL), timp de o oră.
3. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** asigură atât o bună biocompatibilitate a suprafeței PVDF cu sângele și țesuturile (deci, este posibilă utilizarea polimerului ca biomaterial în diverse medii biologice), cât și un bun substrat pentru biosenzori (pentru detecția unor bacterii ca *Escherichia Coli*, *Salmonella* etc.).



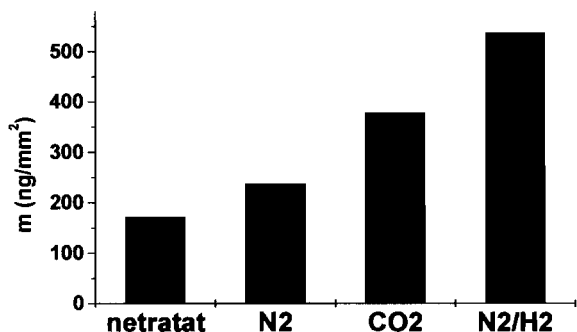
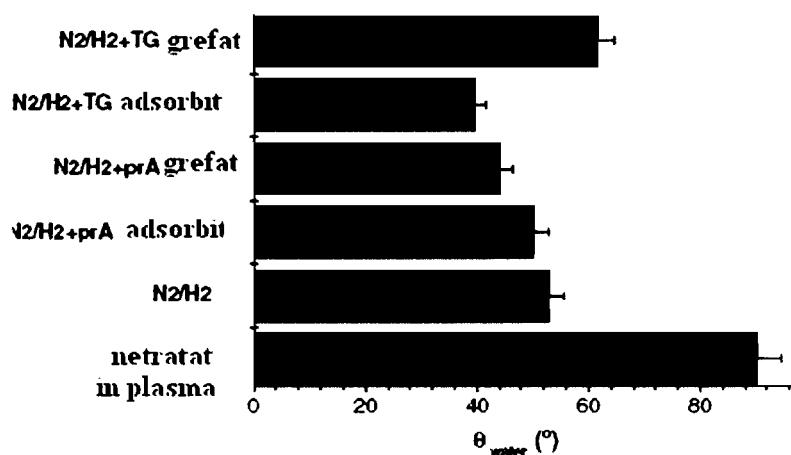
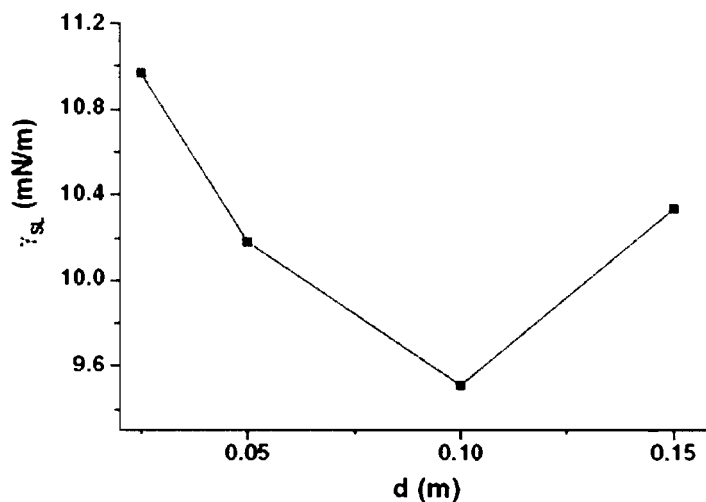


Figura 1. Cantitatea de BSA adsorbită pe suprafața PVDF



(a)



(b)

Figura 2. Unghiul de contact cu apa pentru suprafețele de PVDF activate în plasmă de microunde, folosind diferite gaze de descărcare și acoperite/grefate cu diferite proteine (a) și tensiunea interfacială sânge/suprafață PVDF activată în plasmă de CO<sub>2</sub> (b)

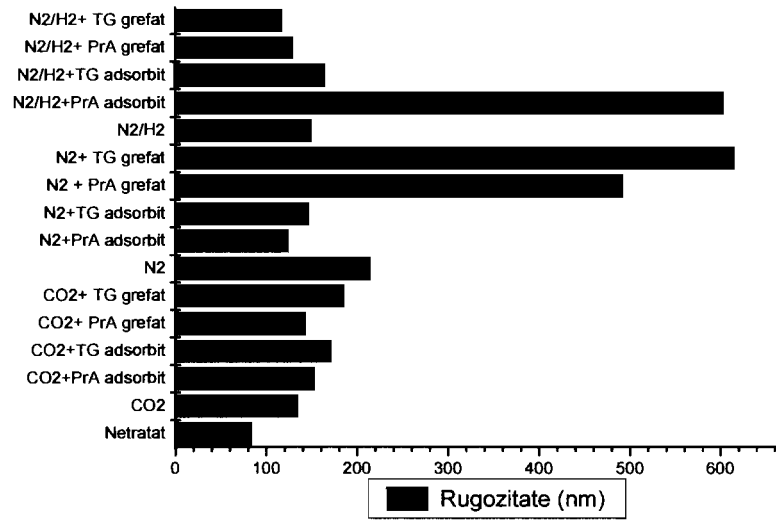


Figura 3. Rugozitatea filmelor acoperite cu proteină A sau triglicină, prin adsorbție sau grefare

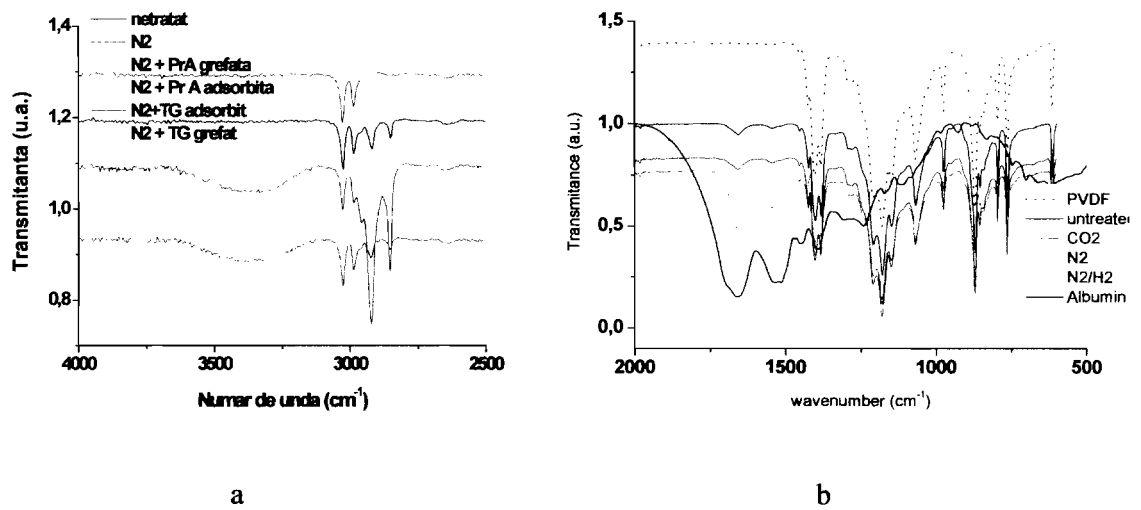


Figura 4. Spectre ATR-FTIR ale PVDF netratat (martor), activat în plasmă și acoperit cu proteină A și TG, prin adsorbție fizică și grefare (a) și cu BSA (b)

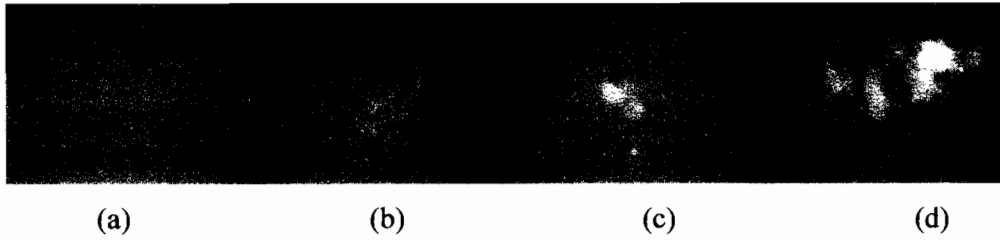


Figura 5. Rezultatele testului de fluorescență pentru: PVDF martor (a), PVDF activat în plasmă N<sub>2</sub>/H<sub>2</sub> și, ulterior: acoperit cu TG (b), grefat cu proteină A (c) și grefat cu TG (d)