

ANÁLISE TOPOGRÁFICA E MORFOLÓGICA DA SUPERFÍCIE DE FILMES DE QUITOSANA POR MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA

ADRIANE RÖEDEL HIRDES¹; HENRIQUE BLANK²; ISADORA ATRIB GARCIA³;
MARIANA DUPINSKI⁴, ANDRÉ GÜNDEL⁵;
ALINE JOANA R. WOHLMUTH A. DOS SANTOS⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – UFPel – CCQFA – adrianerhirdes@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – UFPel – CCQFA – henriqueblank3@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – UFPel – CCQFA – isadoraatrib@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – UFPel – CCQFA – dupinski-mari@outlook.com

⁵Universidade Federal do Pampa – Unipampa – PPCEM - gundel@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – UFPel – CCQFA – alinejoana@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A microscopia de força atômica (AFM) é uma técnica de microscopia que consiste em analisar a estrutura da superfície de materiais e tornou-se uma técnica adequada para o estudo de materiais em micro e nano-escala devido a versatilidade da análise já que não requerer preparo prévio da amostra, pelo fato de apresentar baixo custo operacional e não causar danos ao material. As análises por AFM podem ser obtidas em condições normais de temperatura e pressão, amostra sólida ou líquida (substrato) e gera imagens de alta resolução (BHATT et al., 2017).

As estruturas químicas de polímeros estão fortemente relacionadas aos parâmetros de topografia e textura de sua superfície. Nesse sentido a AFM tem se destacado na pesquisa de polímeros não somente devido à alta qualidade das resoluções, mas também por que seus dados permitem a obtenção de informações tridimensionais quantitativas e qualitativas sobre topografia de superfície como rugosidade, altura, coeficientes de assimetria e curtose (BAJPAI; BHATT; KATARE, 2016; BHATT et al., 2017; HULUBEI et al., 2014; STOICA et al., 2013). A rugosidade média da raiz quadrada (RMS) pode ser caracterizada por vários parâmetros, sendo esse o parâmetros de amplitude mais significativo (BAJPAI; BHATT; KATARE, 2016; KLAPETEK; NEČAS; CHRISTOPHER, 2020).

A investigação topográfica e morfológica de filmes e materiais poliméricos é desejável, pois por meio de análise de imagens de textura, porosidade e entropia é possível correlacionar aos parâmetros de rugosidade do material. As medidas podem mostrar eficiência e confiabilidade dos dados qualitativos e quantitativos da microestrutura dos materiais e, assim, prever possíveis aplicações. STOICA (2013) utilizou a correlação dos parâmetros citados anteriormente com a rugosidade da superfície para avaliar o material polimérico, em escala nanométrica e sua interface na imobilização de diferentes materiais para uso em aplicações microeletrônicas. Outros pesquisadores realizaram análise de superfície para prever as propriedades de materiais poliméricos para aplicações biomédicas, em que a superfície do filme pode interagir com compostos, inclusive com agentes bioativos (BHATT et al, 2017).

Nesse sentido, o presente estudo tem como objetivo realizar análises topográficas da superfície de filmes de quitosana por meio de microscopia de força atômica, além de avaliar os principais parâmetros relativos às propriedades funcionais da superfície comparando amostra de quitosana sintetizada no Laboratório de Sólidos Inorgânicos (LASIR) com amostra de quitosana obtida comercialmente.

2. METODOLOGIA

Os filmes foram preparados pelo método *casting* utilizando quitosana comercial (Com) da marca Sigma Aldrich de médio grau de desacetilação e amostra de quitosana sintetizada (DS) no LASIR a partir de cascas de camarão oriundas da Colônia Z3 (Pelotas/RS). A quitosana comercial apresenta grau de desacetilação (\overline{GD}) de 83,52% e massa molar viscosimétrica (\overline{M}_V) entre 171,5 – 204,3 kDa. A quitosana sintetizada DS apresenta (\overline{GD}) de 79,70% e (\overline{M}_V) entre 158,64 – 164,23 kDa. Para o preparo dos filmes, foi utilizada solução aquosa de ácido acético 1% da marca Synth e água deionizada. A concentração de quitosana foi de 0,5 g de quitosana/100 mL de solução filmogênica.

As imagens topográficas de AFM foram obtidas utilizando um microscópio de força atômica da marca Agilent Technologies, modelo 5500, em parceria com a UNIPAMPA – Campus Bagé. As medidas foram realizadas à temperatura ambiente, no modo contato (Contact Mode), pontas PPP-Cont da Nanosensors e constante de mola 0,2 N/m. Foram obtidas, simultaneamente, a topografia da superfície e as imagens de fase. Para a análise, fragmentos do filme de tamanho 0,5 cm² foram fixados ao porta amostras usando uma fita adesiva dupla face. Para fins de verificação da reprodutibilidade, as imagens foram produzidas em diferentes locais das amostras estudadas, digitalizando a área de varredura da amostra em 10×10 μm² para cada amostra e as matrizes de dados com uma dimensão de 512×512 pixels.

O software *Picoview* 1.14.4 permite o controle do microscópio, aquisição e edição dos dados digitalizados. Os dados da imagem topográfica são processados e analisados posteriormente pelo software *Gwyddion* 2.54 com auxílio do Origin 7.0 (KLAPETEK; NEČAS; CHRISTOPHER, 2020). O tratamento de dados são os requisitos básicos ao estudar a topografia de uma superfície, para tal, nesse trabalho dividimos em 2 categorias: (1) parâmetros de amplitude: rugosidade quadrática média da raiz (RMS), altura máxima (Sz), coeficiente de assimetria (Ssk) e coeficiente de curtose (Sk); (2) parâmetro espacial: entropia (H). A combinação de todos esses parâmetros é capaz de descrever as principais propriedades funcionais da superfície do material (BAJPAI; BHATT; KATARE, 2016; BHATT et al., 2017).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As alterações da topografia da superfície foram observadas em filmes de quitosana (DS – sintetizados no LASIR) e quitosana (DS_c - comercial Aldrich®). Foram obtidas imagens de alta resolução por AFM, no entanto, para uma melhor visualização da superfície foi plotada a topografia em 3D das amostras DS e DS_c. Na Figura 1 e Tabela 1 são apresentados os dados obtidos pela análise.

Tabela 1 – Parâmetros topológicos das amostras.

Amostras	RMS ^a (nm)	Altura Máx. S _z (nm)	Coef. de assimetria (Ssk)	Coef. de Curtose (Sk)	Entropia (H)
DS	4,67±0,11	24,00	-0,6548±0,0814	0,6859±0,0788	-17,9012±0,0740
DS _c	6,95±0,11	78,70	1,4160±0,0986	3,0660±0,0718	-17,9675±0,1006

^aRugosidade. Média quadrática (RMS). Média das triplicatas

As imagens da Figura 1 indicam que as amostras apresentam superfícies irregulares e apresentam similaridades na topografia da superfície. Os picos e vales, representados na imagem 3D, na orientação de z, são refletidos pelas cores e a variação de cores em tonalidade mais escura indica vales mais profundos e as cores em tonalidade mais clara indicam picos maiores. Ao analisar topografia em 3D e o gráfico representando a rugosidade média quadrática (RMS) é possível perceber que entre as amostras de quitosana a DS apresenta a superfície com menor irregularidade, portanto possui a rugosidade menor de 4,67 nm e a maior altura máxima (S_z) de pico de 24 nm. Ainda é possível verificar, que a rugosidade da superfície da DSc foi de 6,95 nm e a maior altura máxima (S_z) de pico de 79 nm. O gráfico mostra a rugosidade RMS (preto) (nm) em relação ao eixo z, coeficiente de assimetria (S_{sk} - azul) e coeficiente de curtose (S_k - verde) em relação ao eixo y e o eixo x representa a posição da superfície da amostra durante a varredura (μm).

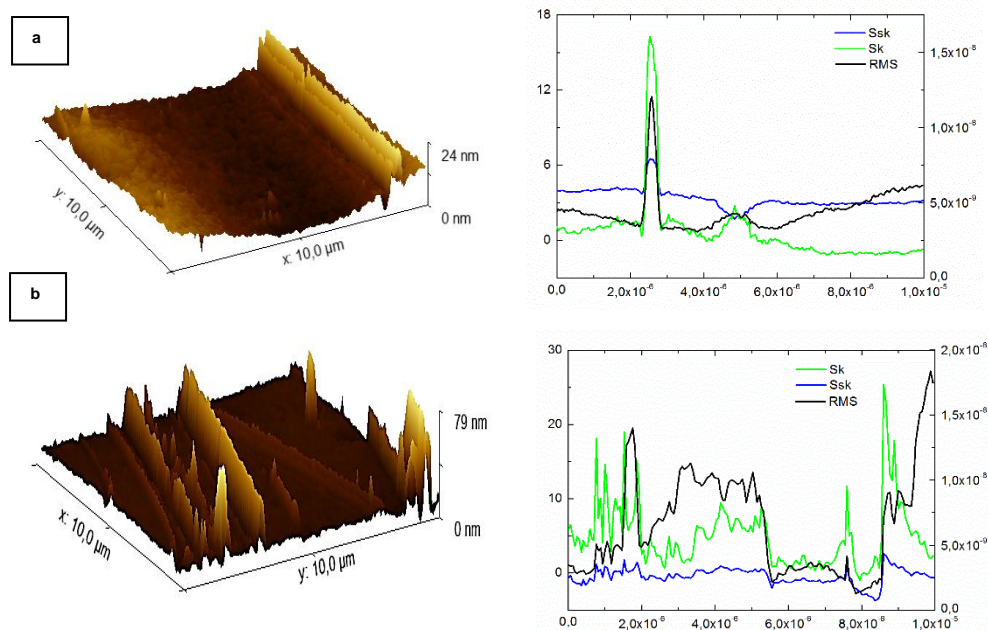


Figura 1 – (a) DS. (b) DSc. À esquerda é observada a topografia em 3D da superfície. À direita o gráfico demonstra os parâmetros de superfície.

A avaliação do coeficiente de assimetria (S_{sk}) representa a porosidade, ou seja, o grau de simetria das alturas da superfície referente ao plano médio e o perfil obtido na imagem da superfície (Figura 1 e Tabela 1). O perfil S_{sk} se manteve negativo para DS e significa que o perfil está distribuído acima do plano médio da superfície ($S_{sk} < 0$), nessa amostra predominam vales em um platô mais suave, demonstrando uma superfície mais plana. O perfil S_{sk} para DSc manteve-se positivo e indica que o perfil está distribuído abaixo do plano médio da superfície ($S_{sk} > 0$), nessa amostra a superfície possui mais picos do que vales.

O coeficiente de curtose (S_k) para DS ($S_k < 3$) sugere superfícies com distribuição relativamente uniforme de alturas acima e abaixo da altura média, apresentando uma distribuição mais achatada que a distribuição normal, sendo classificada como platicúrtica. Já para a DSc ($S_k > 3$) sugere superfícies com pouca área abaixo do plano médio, apresentam mais saliências, afunilada e mais alta, sendo classificada por leptocúrtica (BAJPAI; BHATT; KATARE, 2016; HULUBEI et al., 2014).

A entropia (H) está intimamente associada ao fator de rugosidade, que é uma quantificação da complexidade do tamanho da forma. Quanto maior o valor de H mais complexa é a imagem e menor sua rugosidade, o que está de acordo com os resultados apresentados. A amostra DS apresentou maior entropia e menor rugosidade, enquanto a DS_c obteve a menor entropia. Nesse contexto podemos ainda associar para a DS_c que quanto maior a rugosidade da amostra maior é seu grau de desacetilação ($GD = 83,52\%$), o que justifica o maior número de entrecruzamentos nos filmes aumentando sua rugosidade. As entropias são exibidas sem unidade, pois são quantidades logarítmicas (BAJPAI; BHATT; KATARE, 2016; HIRDES, 2019; HULUBEI et al., 2014).

Ao comparar a quantidade de picos e entrecruzamentos observados na superfície das duas amostras é possível relacioná-las às diversas modificações ocorridas durante o processo de síntese de cada amostra quitosana, por meio da desacetilação da quitina. Esse processo envolve vários fatores a exemplo de formação de aglomerados, cisão de cadeias, formação de novas ligações químicas e quebra de ligações químicas, que podem influenciar nos parâmetros das amostras.

4. CONCLUSÕES

Neste trabalho, as características de superfície de duas amostras de quitosana foram comparadas por meio de dados obtidos por microscopia de força atômica (AFM). A superfície do filme de DS mostrou-se mais regular que a superfície do filme de DS_c. A avaliação dos parâmetros que envolvem a rugosidade é um importante fator pois fornece dados qualitativos e quantitativos que podem evidenciar modificações na interface da superfície devido a imobilizações de compostos inorgânicos, orgânicos e/ou compostos de coordenação para finalidades diversas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAJPAI, A. K.; BHATT, R.; KATARE, R. Atomic force microscopy enabled roughness analysis of nanostructured poly (diaminonaphthalene) doped poly (vinyl alcohol) conducting polymer thin films. **Micron**, v. 90, p. 12–17, 2016.
- BHATT, R. et al. Topological and morphological analysis of gamma rays irradiated chitosan-poly (vinyl alcohol) blends using atomic force microscopy. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 133, n. December 2016, p. 81–85, 2017.
- HIRDES, A. R. **Suporte polimérico de quitosana: síntese e caracterização aplicadas ao desenvolvimento de filmes inéditos**. 2019. 86 f. Projeto de Qualificação (Doutorado em Química) - Centro de Ciências Química, Farmacêuticas e de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, 2019.
- HULUBEI, C. et al. New polyimide-based porous crosslinked beads by suspension polymerization: physical and chemical factors affecting their morphology. **Journal of Polymer Research**, v. 21, n. 9, 2014.
- KLAPETEK, P.; NEČAS, D.; CHRISTOPHER, A. **Gwyddion Software** Boston, MA. Free Software Foundation, Inc. v. 2.54 , 2020. Disponível em: <<http://gwyddion.net/documentation/user-guide-en/>>
- STOICA, I. et al. Statistical analysis on morphology development of some semialicyclic polyimides using atomic force microscopy. **Microscopy Research and Technique**, v. 76, n. 5, p. 503–513, 2013.