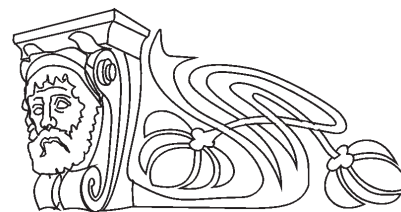




УДК 547.458:537.9+539.211

Изучение поверхности пленок хитозана и его солей с органическими кислотами методом атомно-силовой микроскопии



Д. А. Руденко, Д. Н. Браташов, А. Б. Шиповская

Руденко Дарья Андреевна, кандидат химических наук, ведущий инженер Образовательно-научного института наноструктур и биосистем, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, darudenko@mail.ru.

Браташов Даниил Николаевич, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры инноватики на базе АО «САПКОН-НЕФТЕМАШ», Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, dn2010@gmail.com

Шиповская Анна Борисовна, доктор химических наук, заведующий кафедрой полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ» Института химии, начальник отдела высокомолекулярных соединений Образовательно-научного института наноструктур и биосистем, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, shipovskayaab@yandex.ru

Приведены результаты исследования морфологии и рельефа поверхности пленок хитозана солевой (С-) и основной (О-) химической формы методом атомно-силовой микроскопии. Пленки формировали из раствора полимера в уксусной, молочной, лимонной и янтарной кислотах. Для проведения химической реакции соль→основание хитозана использовали NaOH и триэтаноламин. Получены томограммы поверхности, определены основные морфологические характеристики и параметры шероховатости пленочных образцов. Установлено, что морфология, степень упорядоченности, среднеквадратичная шероховатость и высота неровностей поверхностного рельефа определяются химической формой полимера, природой используемой кислоты и реагентом реакции полимераналогичного превращения. Поверхность пленок хитозана С-формы характеризуется фибриллярным структурным упорядочением (для сукцината хитозана – еще и дендритообразованием), О-формы – глобулярным. Наименьший размер поверхностных надмолекулярных элементов реализуется для пленок хитозана С-формы, а наибольшая шероховатость – для пленок хитозана О-формы. Варьирование реагента химической реакции С→О-форма хитозана не влияет на морфологические характеристики пленок, однако отражается на шероховатости микрорельефа. Формирование более однородной основной пленки хитозана реализуется в среде органического основания. Высказано предположение, что формирование фибриллярных надмолекулярных структур обусловлено разворачиванием и распрямлением макроцепей вследствие отталкивания одноименно заряженных мономерных звеньев, глобулярных – сворачиванием и уплотнением макро клубков после нейтрализации совокупного заряда макроцепи.

Ключевые слова: хитозан, пленки, атомно-силовая микроскопия, морфология поверхности, параметры шероховатости.

Поступила в редакцию: 12.06.2020 / Принята: 22.06.2020 / Опубликовано: 30.11.2020

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution License (CC-BY 4.0)

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2020-20-4-387-394>

В настоящее время пленки хитозана находят широкое применение в качестве биомедицинских покрытий раневых поверхностей, ткане-инженерных конструкций, упаковочных материалов пищевых продуктов, биосенсоров различного назначения и др. [1–3]. Эффективность использования пленок хитозана для решения данных практических задач во многом определяется структурой их поверхности. Среди физико-химических методов визуализации топографических особенностей и анализа морфологического рельефа поверхности пленочных образцов наиболее распространенной является атомно-силовая микроскопия (АСМ).

Традиционно пленки хитозана С- и О-формы получают из его растворов в уксусной кислоте. Морфологическая структура поверхности таких пленочных образцов достаточно детально изучена. Методом АСМ установлено, что рельеф поверхности пленок зависит от молекулярной массы и степени деацетилирования (СД) хитозана [4–7], концентрации исходного раствора для формирования пленочного образца [8, 9], химической формы полимера [4–17]. Так, свежеформованные пленки ацетата хитозана (С-форма) имеют практически равномерную и гладкую поверхность со среднеквадратичной шероховатостью $R_a = 0.3–2.8$ нм [4, 8–13]. После перевода полимера в О-форму поверхность пленок становится менее однородной и значение R_a увеличивается до 5–24 нм [14–17]. Изменение топологии поверхности с увеличением коэффициента шероховатости наблюдается и для композитных пленок хитозана, получаемых из его смесей с природными (крахмал, целлюлоза, поли-L-лизин) или синтетическими полимерами (поливиниловый спирт, полиэтиленоксид) [10, 17–20], полиэлектролитных комплексов (с гиалуроновой кислотой или альгинатом) [21, 22], либо при введении добавок наночастиц (графен, наноглина) [9, 23–25],



жирных кислот (олеиновая, линолевая) [26], поверхностно-активных веществ (Твин 20, Твин 80) [26], ионов щелочных или щелочноземельных металлов (K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}) [8].

Известны также исследования морфологии поверхности пленок хитозана, полученных из раствора полимера в одноосновных (муравьиной, молочной), двухосновных (щавелевой, малоновой, адипиновой, азелаиновой) и гидроксикарбоновых кислотах (гликолевой) [26–28]. При этом характер изменения топографии поверхности с увеличением параметра шероховатости пленок при переводе хитозана из С- в О-форму аналогичен пленкам, для формирования которых использовали уксусную кислоту. Исключение составляют пленки, отлитые из раствора хитозана в муравьиной кислоте, для которых перевод полимера в О-форму сопровождается сглаживанием поверхностного рельефа [27]. Отмечается, что пленки лактата и малоната хитозана показывают более гладкую поверхность и меньшее значение R_a по сравнению с пленкой из ацетата хитозана. Термообработка солевых пленок, полученных из раствора полимера в гликолевой кислоте, не влияет на структурную однородность их поверхности. Использование для растворения хитозана водных растворов дикарбоновых кислот значительно улучшает свойства пленочных образцов [28].

В настоящем исследовании для получения пленок хитозана выбраны молочная, лимонная, и янтарная кислоты. Они включены в государственную фармакопею РФ и применяются в медицине, косметологии, производстве пищевых продуктов. Для сравнения использовали пленки, полученные из растворов хитозана в уксусной кислоте.

Цель данной работы – исследование морфологии и рельефа поверхности пленок хитозана и его солей с уксусной, молочной, лимонной и янтарной кислотами методом атомно-силовой микроскопии.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись пленки хитозана С- и О-формы. Для их получения использовали порошкообразный хитозан со средневязкостной молекулярной массой $M_n = 200$ кДа, СД = 82.0 мольн.% производства ЗАО «Биопрогресс» и водные растворы 2% уксусной (УксК), 4% лимонной (ЛимК), 2% молочной (МолК) и 1.5% янтарной (ЯнтК) кислот. Пленки формировали поливом 1.2 мас.% водно-кислотного раствора полимера на полиэтилентерефталатную подложку с последующим удалением жидкой

фазы при комнатной температуре и нормальном атмосферном давлении в течение 3–4 (ацетат и сукцинат хитозана) и 7–9 сут (цитрат и лактат хитозана). Получение готовой пленки фиксировали визуально по откреплению пленочного образца от подложки. Полимер в свежесформованных пленках находился в С-форме. Для перевода хитозана в О-форму пленочные образцы выдерживали в водных растворах 4% NaOH или 50% триэтаноламина (ТЭА) при модуле ванны 1:10 в течение часа, промывали дистиллированной водой до pH=7 и сушили на воздухе.

Влажность (W , %) пленочных образцов определяли гравиметрическим методом на аналитических весах OHAUS Discovery DV 215 CD (Швейцария), точность взвешивания ± 0.0001 г. Толщину (d , мкм) измеряли микрометром с ценой деления 10 мкм. Измерения проводили несколько раз на различных участках пленки и рассчитывали среднеарифметическое значение.

Поверхность пленок анализировали методом АСМ на установке NTEGRA Spectra (NTMDT-SI, г. Зеленоград) в полуконтактном режиме. Использовали кантилевер NSG 10 (Tipsnano) с жесткостью 2.5–10 Н/м, резонансной частотой 115–190 кГц и радиусом острия не более 10 нм. Перед измерением пленочные образцы приклеивали на двухсторонний скотч на стеклянную подложку. Обработку данных для удаления фона и артефактов проводили в программе Gwyddion [29]. По данным АСМ рассчитывали среднеквадратичную шероховатость (R_a) поверхности пленочных образцов и определяли максимальную высоту неровностей (R_h).

Результаты и их обсуждение

Методом АСМ-микроскопии проведены оценки морфологического рельефа поверхности 12 пленок хитозана С- и О-формы, полученных из растворов в УксК, МолК, ЛимК и ЯнтК. Фазово-контрастные изображения топографии поверхности исследованных пленочных образцов представлены на рис. 1. Физико-химические характеристики пленок и описание поверхностных надмолекулярных элементов (морфология, размер) приведены в таблице. Сравнительный анализ основных параметров шероховатости поверхности образцов приведен на рис. 2.

Рассмотрим АСМ-топограммы пленок хитозана солевой формы. Поверхность пленки ацетата хитозана представлена фибриллярными надмолекулярными элементами диаметром ~ 1 нм (см. рис. 1, а, таблица) и характеризуется сравнительно

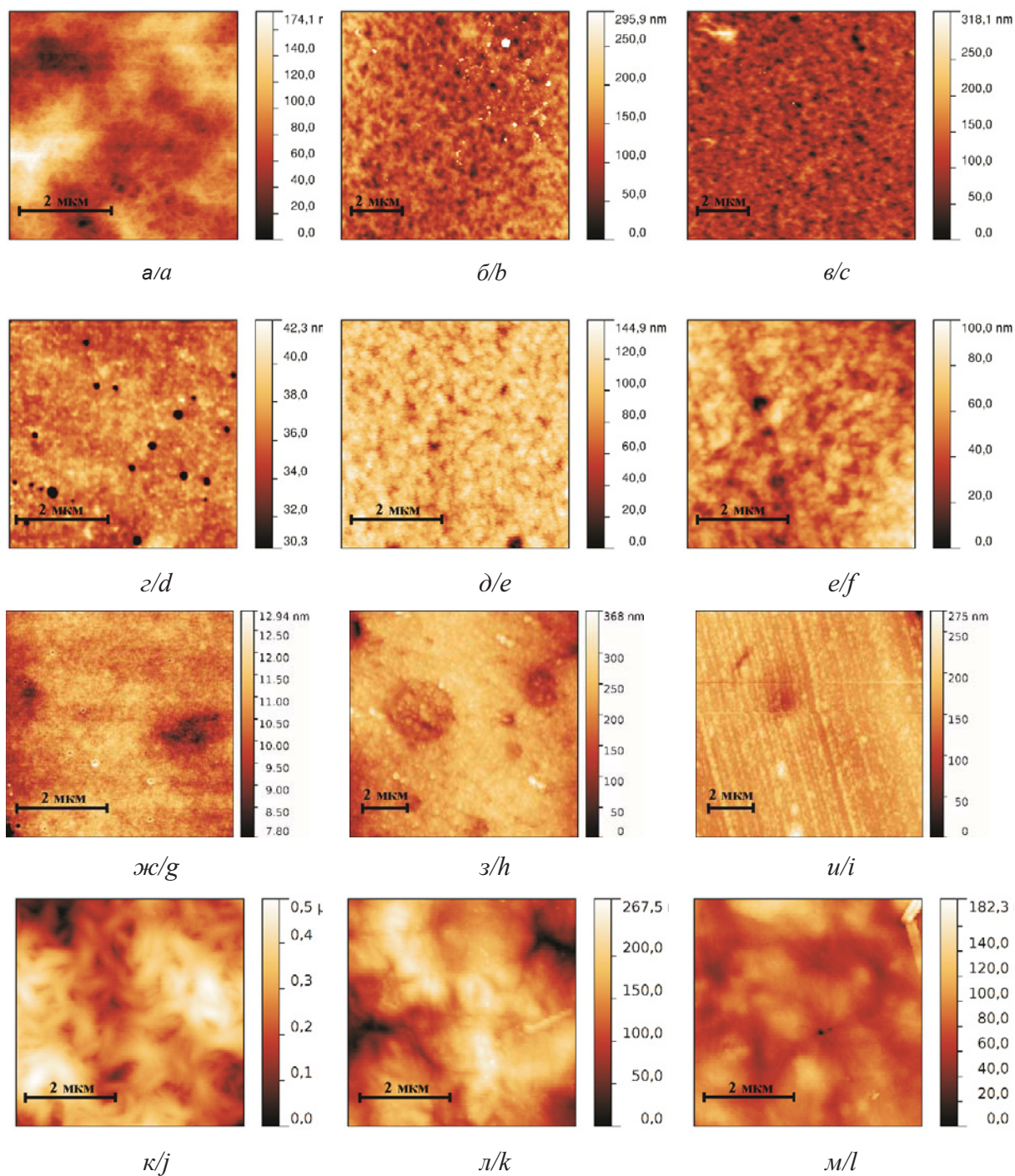


Рис. 1. АСМ-топограммы поверхности пленок хитозана солевой (а, г, ж, к) и основной формы, полученной в среде NaOH (б, д, з, л) и ТЕА (в, е, и, м). Здесь и на рис. 2 пленки сформированы из раствора полимера в УксК (а, б, в), МолК (г, д, е), ЛимК (ж, з, и) и ЯнтК (к, л, м)

Fig. 1. AFM topograms of the surface of chitosan films of the salt (a, d, g, j) and basic form obtained in a medium of NaOH (b, e, h, k) and TEA (c, f, i, l). Here and in Fig. 2 the films were formed from a polymer solution in AcA (a, b, c), LacA (d, e, f), CitA (g, h, i), and SucA (j, k, l)

гладкой поверхностью с невысокими значениями R_a и R_h (см. рис. 2). Поверхность пленок лактата и цитрата хитозана имеет аналогичную морфологию (см. рис. 1, г, ж), с той лишь разницей, что

наблюдается увеличение размера поверхностных надмолекулярных элементов (до ~100 и ~500 нм соответственно) и сглаживание микрорельефа образцов (см. рис. 2, таблица).



Физико-химические характеристики пленок хитозана и описание надмолекулярных элементов их поверхности (по данным АСМ-топограмм)
Physico-chemical characteristics of chitosan films and the description of the supramolecular elements of their surface (according to AFM topograms)

Кислота / Acid	Химическая форма хитозана / Chemical form of chitosan	Реагент реакции С→О-форма хитозана / Chitosan S→B reagent	Влажность / Moisture content, W, %	Толщина, d, мкм / Thickness, d, μm	Поверхностные надмолекулярные элементы / Surface supramolecular elements	
					Морфология / Morphology	Размер, нм / Size, nm
УксК / AcA	C- / S-	–	20±2	50±5	Фибриллярная / Fibrillar	~1
	O- / B-	NaOH	15±1	83±3	Глобулярная / Globular	~100
ТЭА / TEA		16±2	70±5			
МолК / LacA	C- / S-	–	23±3	93±7	Фибриллярная / Fibrillar	~100
	O- / B-	NaOH	19±2	115±5	Глобулярная / Globular	~200–500
ТЭА / TEA		20±2	110±5			
ЛимК / CitA	C- / S-	–	25±4	75±5	Фибриллярная / Fibrillar	~500
	O- / B-	NaOH	21±2	100±5	Глобулярная / Globular	~500–700
ТЭА / TEA		20±2	100±5			
ЯнтК / SucA	C- / S-	–	17±2	50±5	Фибриллярно-ламеллярная дендритоподобная / Fibrillar-lamellar dendritic	~500
	O- / B-	NaOH	14±2	100±5	Глобулярная / Globular	~1000

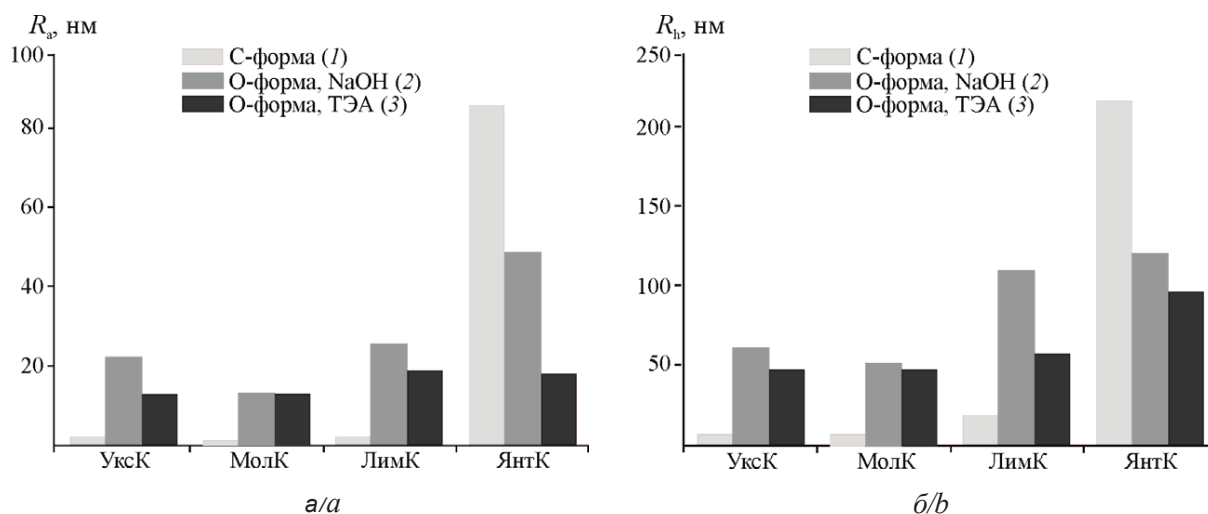


Рис. 2. Среднеквадратичная шероховатость (а) и максимальная высота неровностей (б), оцененные по данным АСМ-топограмм и профилю шероховатости поверхности, пленок хитозана солевой (1) и основной формы (2, 3), полученной в среде NaOH (2) и ТЭА (3)

Fig. 2. Root mean-square roughness (a) and the maximum height of irregularities (b), estimated according to AFM topograms and the surface roughness profile, chitosan films of the salt (1) and the basic form (2, 3) obtained in the medium of NaOH (2) and TEA (3)

Несколько другая структура наблюдается для пленки, сформированной из раствора полимера в ЯнтК (см. рис. 1, κ). Поверхность пленки сукцината хитозана представлена фибриллярно-ламеллярными дендритоподобными структурами размером ~500 нм и имеет высокую шероховатость (см.

рис. 2, таблица). Отметим, что подобные структуры наблюдались для пленок низкомолекулярного хитозана ($M_n = 20$ кДа) [30] и его смесей с плуроником F-127 [31], а также пленок хитозана, полученных из раствора в бензойной кислоте [32]. Известно, что дендритообразование характерно



для веществ, имеющих большую склонность к кристаллизации, и реализуется при лимитированной диффузии реагентов. Учитывая кристаллическую природу хитозана и высокую температуру плавления ЯнтК (183°C) можно предположить, что формирование пленочного образца сукцината хитозана протекает в условиях, когда скорость кристаллизации полимерной системы обусловлена диффузионным массопереносом. Это не только способствует формированию дендритоподобных структур, но и отражается на параметрах шероховатости поверхностного слоя пленочного образца. Так, по сравнению с пленками ацетата, лактата и цитрата хитозана, значение среднеквадратичной шероховатости поверхности пленки сукцината хитозана возрастает в ~ 100 раз, а максимальной высоты неровностей профиля поверхности – в ~ 10 раз.

После проведения реакции полимераналогичного превращения соль \rightarrow основание хитозана морфология поверхности пленок приобретает специфичную глобулярную (зернистую) структуру с «зернами» практически круглой формы (см. рис. 1, б, в, д, е, з, и, л, м). Аналогичные результаты получены в работе [30] для пленок хитозана с $\overline{M}_n = 250$ кДа, сформированных из раствора 0.3% УксК, структура поверхности которых состоит из глобул («зерен») диаметром $\sim 30\text{--}300$ нм.

Размер «зерноподобных» поверхностных надмолекулярных элементов пленок хитозана О-формы существенно выше размера фибриллярных надмолекулярных образований пленок хитозана С-формы, полученных из растворов соответствующих кислот, и варьируется в зависимости от типа используемой кислоты (см. таблицу). Наименьший размер «зерен», ~ 100 нм, наблюдается для пленок, полученных с использованием УксК. Размер аналогичных надмолекулярных элементов пленки, полученной из раствора хитозана в МолК, увеличивается до $\sim 200\text{--}500$ нм. Для пленочных образцов, сформированных из растворов полимера в ЛимК и ЯнтК, размер «зерен» составляет $\sim 0.5\text{--}0.7$ и ~ 1 мкм. Интересно, что для образцов, полученных из растворов в ЛимК, «зерна» ориентированы преимущественно в одном направлении (см. рис. 1, з, и).

Как и следовало ожидать, значения параметров шероховатости увеличиваются по сравнению с R_a и R_n солевых пленок, в среднем в $\sim 10\text{--}20$ раз (см. рис. 2). Не соответствуют данной закономерности лишь пленки хитозана О-формы, полученные из ЯнтК, для которых наблюдается сглаживание макрорельефа, как и в случае пленок, полученных из муравьиной кислоты [27]. Такой характер изменения параметров шероховатости при переводе полимера из С- в О-форму

согласуется с высказанным предположением, что лимитирующей стадией формирования сукцината хитозана является диффузионный массоперенос.

Варьирование реагента химической реакции С \rightarrow О-форма хитозана практически не влияет на морфологию и размер поверхностных надмолекулярных элементов, однако отражается на шероховатости поверхностного рельефа (см. рис. 2). Пленки хитозана О-формы, полученные с использованием NaOH, имеют более высокие значения среднеквадратичной шероховатости и максимальной высоты неровностей, по сравнению с образцами, полученными в среде ТЭА. При этом наиболее ярко выраженное «сглаживание» в случае использования ТЭА по сравнению с NaOH наблюдается для пленок, сформированных из растворов хитозана в ЛимК и ЯнтК.

Исходя из полученных экспериментальных данных можно предположить два варианта формирования надмолекулярных структур в исследованных пленочных образцах. Первый вариант реализуется в пленках хитозана солевой формы (см. рис. 1, а, г, ж, к). При растворении хитозана в водно-кислотной среде происходит солеобразование вследствие протонирования $-\text{NH}_2$ групп макроцепи. Одноименно заряженные мономерные звенья, с одной стороны, вследствие эффекта отталкивания способствуют разбуханию макромолекулярных клубков, а с другой – препятствуют формированию сетки внутри- и межмолекулярных контактов. По мере испарения растворителя макромолекулы разворачиваются и формируют удлиненные фибриллярные надмолекулярные структуры. Во втором варианте, пленки основной формы (см. рис. 1, б, в, д, е, з, и, л, м), нейтрализация совокупного заряда макроцепи способствует сворачиванию и уплотнению макроклубков, что приводит к формированию надмолекулярных структурных элементов в виде «зерен» круглой формы. Размер и пространственное упорядочение последних определяется типом кислоты, используемой для растворения полимера при получении пленочного образца.

Таким образом, можно констатировать, что морфология, степень упорядоченности, среднеквадратичная шероховатость и высота неровностей поверхностного рельефа пленок хитозана определяются не только химической формой полимера, но и природой используемой для его растворения кислоты и реагентом реакции нейтрализации протонированных аминогрупп макроцепи. Полученные характеристики поверхностного рельефа пленочных образцов могут быть использованы для создания новых хитозансодержащих материалов биомедицинского назначения.



Список литературы

1. Сливкин Д. А., Лапенко В. Л., Сафонова О. А., Суслина С. Н., Беленова А. С. Хитозан для фармации и медицины // Вестн. ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. 2011. № 2. С. 214–232.
2. Dutta P. K., Tripathi S., Mehrotra G. K., Dutta J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications // Food Chemistry. 2009. Vol. 114, № 4. P. 1173–1182.
3. Muthusankar E., Ragupathy D. Chitosan Based Nanocomposite Biosensors: A Recent Review // Sensor Letters. 2018. Vol. 16, № 2. P. 81–91.
4. Чудинова Ю. В., Коновалова М. В., Ильина А. В., Варламов В. П. Влияние физико-химических характеристик хитозана на структуру тонких пленок // Изв. УНЦ РАН. 2016. № 3. С. 103–106.
5. Жуйкова Ю. В. Пути формирования и молекулярная структура тонких пленок на основе природных полисахаридов : дис. ... канд. биол. наук. М., 2018. 162 с.
6. Zhong Y., Zhuang C., Gu W., Zhao Y. Effect of molecular weight on the properties of chitosan films prepared using electrostatic spraying technique // Corb. Pol. 2019. Vol. 212. P. 197–205.
7. Zhuang C., Zhong Y., Zhao Y. Effect of deacetylation degree on properties of Chitosan films using electrostatic spraying technique // Food Control. 2019. Vol. 97. P. 25–31.
8. Wang Z., Fei S., Kong W., Xiao Q., Zhu J. Effects of metal ions on the self-assembly of chitosan molecules investigated with atomic force microscopy // Intern. J. of Food Properties. 2018. Vol. 21, № 1. P. 1986–1994.
9. Lewandowska K., Sionkowska A., Kaczmarek B., Furtos G. Characterization of chitosan composites with various clays // Intern. J. Biol. Macromol. 2014. Vol. 65. P. 534–541.
10. Li J., Zivanovic S., Davidson P. M., Kit K. Production and characterization of thick, thin and ultra-thin chitosan/PEO films // Corb. Pol. 2011. Vol. 83, № 2. P. 375–382.
11. Ferreira A. S., Nunes C., Castro A., Ferreira P., Coimbra M. A. Influence of grape pomace extract incorporation on chitosan films properties // Corb. Pol. 2014. Vol. 113. P. 490–499.
12. Kara F., Aksoy E. A., Yuksekdag Z., Hasirci N., Aksoy S. Synthesis and surface modification of polyurethanes with chitosan for antibacterial properties // Corb. Pol. 2014. Vol. 112. P. 39–47.
13. Ko Y. G., Yu S. M., Park S. J., Chun H. J., Kim C. H. Characterization of surface properties and cytocompatibility of ionetched chitosan films // Langmuir. 2012. Vol. 28, № 18. P. 7223–7232.
14. Karakeçili A. G., Satriano C., Gümüşderelioğlu M., Marletta G. Surface characteristics of ionically crosslinked chitosan membranes // J. Appl. Surf. Sci. 2007. Vol. 106. P. 3884–3888.
15. Arzate-Vázquez I., Chanona-Pérez J. J., Calderín-Domínguez G., Terres-Rojas E., Garibay-Febles V., Martínez-Rivas A., Gutiérrez-López G. F. Microstructural characterization of chitosan and alginate films by microscopy techniques and texture image analysis // Carbohydr. Polym. 2012. Vol. 87, № 1. P. 289–299.
16. Lei J., Yang L., Zhan Y., Wang Y., Ye T., Li Y., Deng H., Li B. Polyethylene terephthalate/polypropylene films assembled with chitosan and various preservatives for antimicrobial food packaging // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2014. Vol. 114. P. 60–66.
17. Morgado D. L., Frollini E., Castellan A., Rosa D. S., Coma V. Biobased films prepared from NaOH/thiourea aqueous solution of chitosan and linter cellulose // Cellulose. 2011. Vol. 18, № 3. P. 699–712.
18. Mathew S., Abraham T. E. Characterisation of ferulic acid incorporated starch–chitosan blend films // Food Hydrocoll. 2008. Vol. 22. P. 826–835.
19. Zheng Z., Zhang L., Kong L., Wang A., Gong Y., Zhang X. The behavior of MC3T3-E1 cells on chitosan/poly-L-lysine composite films: Effect of nanotopography, surface chemistry, and wettability // J. Biomed. Mater. Res. A. 2008. Vol. 89, № 2. P. 453–465.
20. Lewandowska K. Surface studies of microcrystalline chitosan/poly(vinyl alcohol) mixtures // Appl. Surf. Sci. 2012. Vol. 263, № 15. P. 115–123.
21. Xu H., Ma L., Shi H., Gao C., Han G. Chitosan-hyaluronic acid hybrid film as a novel wound dressing: in vitro and in vivo studies // Polym. Adv. Technol. 2007. Vol. 18. P. 869–875.
22. Yan X.-L., Khor E., Lim L.-Y. Chitosan-Alginate Films Prepared with Chitosans of Different Molecular Weights // J. Biomed. Mater. Res. 2001. Vol. 58, № 4. P. 358–365.
23. Mazaheri M., Akhavan O., Simchi A. Flexible bactericidal graphene oxide–chitosan layers for stem cell proliferation // Appl. Surf. Sci. 2014. Vol. 301. P. 456–462.
24. Xu Y., Ren X., Hanna M. A. Chitosan/clay nanocomposite film preparation and characterization // J. Appl. Surf. Sci. 2006. Vol. 99. P. 1684–1691.
25. Wang S., Jing Y. Effects of formation and penetration properties of biodegradable montmorillonite/chitosan nanocomposite film on the barrier of package paper // Appl. Clay Sci. 2017. Vol. 138. P. 74–80.
26. Cárdenas G., Anaya P., Rio R. D., Schreiber R., Plesing C., Schneider M. Scanning electron microscopy and atomic force microscopy of chitosan composite films // J. Chil. Chem. Soc. 2010. Vol. 55, № 3. P. 352–358.
27. Богомолова Т. Б., Козлова Н. В., Чвалун С. Н. Модификация хитозана прививкой гликолевой кислоты с ее последующей поликонденсацией в процессе термообработки // Высокомолекул. соед. Б. 2009. Т. 51, № 9. С. 1695–1703.
28. Ghosh A., Ali M. A. Studies on physicochemical characteristics of chitosan derivatives with dicarboxylic acids // J. Mater. Sci. 2012. Vol. 47. P. 1196–1204.
29. Nečas D., Klapetek P. Gwyddion: an open-source software for SPM data analysis // Cent. Eur. J. Phys. 2012. Vol. 10, № 1. P. 181–188.
30. Аксенова Н. А., Тимофеева В. А., Роговина С. З., Тимашев П. С., Глаголев Н. Н., Соловьева А. Б. Особенности фотокаталитических свойств и структуры порфирина-содержащих систем на основе хитозана // Высокомолекул. соед. Б. 2010. Т. 52, № 2. С. 314–320.
31. Шаталова О. В., Аксенова Н. А., Соловьева А. Б., Кривандин А. В., Роговина С. З., Сидохин Ф. А. Особенности



кристаллизации хитозана с различной молекулярной массой и его смесей с плюронином F-127 по данным атомно-силовой микроскопии и рентгеновской дифракции // Поверхность. Рентгеновские, синхротрон-

ные и нейтронные исследования. 2011. № 5. С. 50–56.

32. Федосеева Е. Н., Федосеев В. Б. Взаимодействие хитозана и бензойной кислоты в растворе и пленках // Высокомолекулярный соед. А. 2011. Т. 53, № 11. С. 1900–1907.

Образец для цитирования:

Руденко Д. А., Браташов Д. Н., Шиповская А. Б. Изучение поверхности пленок хитозана и его солей с органическими кислотами методом атомно-силовой микроскопии // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2020. Т. 20, вып. 4. С. 387–394. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2020-20-4-387-394>

Atomic Force Microscopy Study of the Surface of Films of Chitosan and Its Salts with Organic Acids

D. A. Rudenko, D. N. Bratashov, A. B. Shipovskaya

Darya A. Rudenko, <https://orcid.org/0000-0001-5502-0867>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, DARudenko@mail.ru

Daniil N. Bratashov, <https://orcid.org/0000-0002-2096-4478>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, dn2010@gmail.com

Anna B. Shipovskaya, <https://orcid.org/0000-0003-1916-4067>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, ShipovskayaAB@yandex.ru

The results of the study of the morphology and surface topography of chitosan films of the salt (S-) and basic (B-) chemical form by atomic force microscopy are presented. The films were cast from polymer solutions in acetic, lactic, citric and succinic acid. NaOH and triethanolamine were used for the salt → chitosan base reaction. Surface tomograms were obtained; the main morphological characteristics and roughness parameters of the film samples were estimated. It was found that the morphology, the degree of order, root-mean-square roughness and the height of the surface roughness were determined by the polymer chemical form, the nature of the acid used and the reagent of the polymer-like conversion reaction. The surface of the S-form chitosan films is characterized by fibrillar structural ordering (also dendritic for chitosan succinate), and that of the B-form is globular. The smallest size of surface supramolecular elements was observed for the S-form chitosan films, while the greatest roughness was for the B-form ones. Changing the reagent of the chitosan S → B reaction did not affect the morphological characteristics of the films; however, it affected the microrelief roughness. A more uniform basic chitosan film is formed in an organic base environment. It was suggested that the formation of fibrillar supramolecular structures was due to the unfolding and straightening of macrochains because of the repulsion of the same charged monomer units, while the globular ones were formed due to the folding and densification of macrocoils after neutralizing the total charge of the macrochain.

Keywords: chitosan, films, atomic force microscopy, surface morphology, roughness parameters.

Received: 12.06.2020 / Accepted: 22.06.2020 / Published: 30.11.2020

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution License (CC-BY 4.0)

References

1. Slivkin D. A., Lapenko V. L., Safonova O. A., Suslina S. N., Belenova A. S. Chitosan for pharmacy and medicine. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*, 2011, iss. 2, pp. 214–232 (in Russian).
2. Dutta P. K., Tripathi S., Mehrotra G. K., Dutta J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, 2009, vol. 114, iss. 4, pp. 1173–1182.
3. Muthusankar E., Ragupathy D. Chitosan Based Nanocomposite Biosensors: A Recent Review. *Sensor Letters*, 2018, vol. 16, iss. 2, pp. 81–91.
4. Chudinova Yu. V., Konovalova M. V., Il'ina A. V., Varlamov V. P. Influence of the chitosan physical and chemical characteristics on the thin films structure. *Proceeding of the RAS Ufa Scientific Center*, 2016, iss. 3, pp. 103–106 (in Russian).
5. Zhuykova Yu. V. *Puti formirovaniya i molekulyarnaya struktura tonkikh plenok na osnove prirodnikh polisakharidov* [Formation pathways and molecular structure of thin films based on natural polysaccharides]. Thesis Dis. Cand. Sci. (Biol.). Moscow, 2018. 162 p. (in Russian).
6. Zhong Y., Zhuang C., Gu W., Zhao Y. Effect of molecular weight on the properties of chitosan films prepared using electrostatic spraying technique. *Corb. Pol.*, 2019, vol. 212, pp. 197–205.
7. Zhuang C., Zhong Y., Zhao Y. Effect of deacetylation degree on properties of Chitosan films using electrostatic spraying technique. *Food Control*, 2019, vol. 97, pp. 25–31.
8. Wang Z., Fei S., Kong W., Xiao Q., Zhu J. Effects of metal ions on the self-assembly of chitosan molecules investigated with atomic force microscopy. *International Journal of Food Properties*, 2018, vol. 21, iss. 1, pp. 1986–1994.
9. Lewandowska K., Sionkowska A., Kaczmarek B., Furtos G. Characterization of chitosan composites with various clays. *Intern. J. Biol. Macromol.*, 2014, vol. 65, pp. 534–541.
10. Li J., Zivanovic S., Davidson P. M., Kit K. Production and characterization of thick, thin and ultra-thin chitosan/PEO films. *Corb. Pol.*, 2014, vol. 83, iss. 2, pp. 375–382.
11. Ferreira A. S., Nunes C., Castro A., Ferreira P., Coimbra M. A. Influence of grape pomace extract incorporation on chitosan films properties. *Corb. Pol.*, 2014, vol. 113, pp. 490–499.



12. Kara F., Aksoy E. A., Yuksekdog Z., Hasirci N., Aksoy S. Synthesis and surface modification of polyurethanes with chitosan for antibacterial properties. *Corb. Pol.*, 2014, vol. 112, pp. 39–47.
13. Ko Y. G., Yu S. M., Park S. J., Chun H. J., Kim C. H. Characterization of surface properties and cytocompatibility of ionetched chitosan films. *Langmuir*, 2012, vol. 28, iss. 18, pp. 7223–7232.
14. Karakeçili A. G., Satriano C., Gümüşderelioğlu M., Marletta G. Surface characteristics of ionically crosslinked chitosan membranes. *J. Appl. Surf. Sci.*, 2007, vol. 106, pp. 3884–3888.
15. Arzate-Vbquez I., Chanona-Pérez J. J., Calderyn-Domínguez G., Terres-Rojas E., Garibay-Febles V., Martínez-Rivas A., Gutiérrez-López G. F. Microstructural characterization of chitosan and alginate films by microscopy techniques and texture image analysis. *Carbohydr. Polym.*, 2012, vol. 87, iss. 1, pp. 289–299.
16. Lei J., Yang L., Zhan Y., Wang Y., Ye T., Li Y., Deng H., Li B. Polyethylene terephthalate/polypropylene films assembled with chitosan and various preservatives for antimicrobial food packaging. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2014, vol. 114, pp. 60–66.
17. Morgado D. L., Frollini E., Castellan A., Rosa D. S., Coma V. Biobased films prepared from NaOH/thiourea aqueous solution of chitosan and linter cellulose. *Cellulose*, 2011, vol. 18, iss. 3, pp. 699–712.
18. Mathew S., Abraham T. E. Characterisation of ferulic acid incorporated starch–chitosan blend films. *Food Hydrocoll.*, 2008, vol. 2, pp. 826–835.
19. Zheng Z., Zhang L., Kong L., Wang A., Gong Y., Zhang X. The behavior of MC3T3-E1 cells on chitosan/poly-L-lysine composite films: Effect of nanotopography, surface chemistry, and wettability. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2008, vol. 89, iss. 2, pp. 453–465.
20. Lewandowska K. Surface studies of microcrystalline chitosan/poly(vinyl alcohol) mixtures. *Appl. Surf. Sci.*, 2012, vol. 263, iss. 15, pp. 115–123.
21. Xu H., Ma L., Shi H., Gao C., Han G. Chitosan-hyaluronic acid hybrid film as a novel wound dressing: in vitro and in vivo studies. *Polym. Adv. Technol.*, 2007, vol. 18, pp. 869–875.
22. Yan X.-L., Khor E., Lim L.-Y. Chitosan-Alginate Films Prepared with Chitosans of Different Molecular Weights. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2001, vol. 58, iss. 4, pp. 358–365.
23. Mazaheri M., Akhavan O., Simchi A. Flexible bactericidal graphene oxide–chitosan layers for stem cell proliferation. *Applied Surface Science*, 2014, vol. 301, pp. 456–462.
24. Xu Y., Ren X., Hanna M. A. Chitosan/clay nanocomposite film preparation and characterization. *J. Appl. Surf. Sci.*, 2006, vol. 99, pp. 1684–1691.
25. Wang S., Jing Y. Effects of formation and penetration properties of biodegradable montmorillonite/chitosan nanocomposite film on the barrier of package paper. *Applied Clay Science*, 2017, vol. 138, pp. 74–80.
26. Cárdenas G., Anaya P., Rio R. D., Schreiber R., Plessing C., Schneider M. Scanning electron microscopy and atomic force microscopy of chitosan composite films. *J. Chil. Chem. Soc.*, 2010, vol. 55, iss. 3, pp. 352–358.
27. Bogomolova T. B., Kozlova N. V., Chvalun S. N. Modification of chitosan via grafting of glycolic acid followed by polycondensation during heat treatment. *Polymer Science. Series B*, 2009, vol. 51, iss. 9, pp. 1695–1703 (in Russian).
28. Ghosh A., Ali M. A. Studies on physicochemical characteristics of chitosan derivatives with dicarboxylic acids. *J. Mater. Sci.*, 2012, vol. 47, pp. 1196–1204.
29. Nečas D., Klapetek P. Gwyddion: an open-source software for SPM data analysis. *Cent. Eur. J. Phys.*, 2012, vol. 10, iss. 1, pp. 181–188.
30. Aksenova N. A., Timofeeva V. A., Rogovina S. Z., Timashev P. S., Glagolev N. N., Solov'eva A. B. Photocatalytic properties and structure of chitosan-based porphyrin-containing systems. *Polymer Science. Series B*, 2010, vol. 52, iss. 2, pp. 314–320 (in Russian).
31. Shatalova O. V., Aksenova N. A., Solov'eva A. B., Krivandin A. V., Rogovina S. Z., Sidokhin F. A. Crystallization peculiarities of chitosan with different molecular mass and its mixtures with pluronic F-127 according to atomic force microscopy and X-ray diffraction data. *Journal of Surface Investigation X-ray, Synchrotron and Neutron Techniques*, 2011, iss. 5, pp. 50–56 (in Russian).
32. Fedoseeva E. N., Fedoseev V. B. Interaction of chitosan with benzoic acid in solution and films. *Polymer Science. Series A*, 2011, vol. 53, iss. 11, pp. 1900–1907 (in Russian).

Cite this article as:

Rudenko D. A., Bratashov D. N., Shipovskaya A. B. Atomic force microscopy study of the surface of films of chitosan and its salts with organic acids. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2020, vol. 20, iss. 4, pp. 387–394 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2020-20-4-387-394>