UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

REGINA ESTEVAM ALVES

**Processamento de superfícies poliméricas com pulsos laser de
nano e femtossegundos**

**Versão Corrigida
Original na Unidade**

São Carlos
2015

REGINA ESTEVAM ALVES

**Processamento de superfícies poliméricas com pulsos laser de
nano e femtossegundos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de doutor em Ciência e Engenharia de Materiais.

Área de concentração: Desenvolvimento, Caracterização e Aplicação de Materiais.
Orientador: Prof. Dr. Cleber Renato Mendonça

São Carlos
2015

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL
DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU
ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE
CITADA A FONTE.

A474p

Alves, Regina Estevam

**Processamento de superfícies poliméricas com pulsos
laser de nano e femtossegundos / Regina Estevam Alves;
orientador Cleber Renato Mendonça. São Carlos, 2015.**

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em
Ciências e Engenharia de Materiais e Área de
Concentração em Desenvolvimento Caracterização e
Aplicação de Materiais -- Escola de Engenharia de São
Carlos da Universidade de São Paulo, 2015.

1. Microestruturação. 2. Polímeros. 3. Ablação. 4.
Modificação de Superfícies. 5. Materiais Implantáveis I.
Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Licenciada **REGINA ESTEVAM ALVES**.

Título da tese: "Processamento de superfícies poliméricas com pulsos laser de nano e femtossegundos".

Data da defesa: 08/09/2015.

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Titular **Cleber Renato Mendonça**
(Orientador)
(Instituto de Física de São Carlos/IFSC)

APROVADA

Prof. Dr. **Antonio Rui Júnior**
(Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP)

APROVADA

Prof. Dr. **Fábio Simões de Vicente**
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP – Rio Claro)

APROVADA

Dr. **Daniel Souza Corrêa**
(Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/EMBRAPA)

APROVADA

Dra. **Debora Terezia Balogh**
(Instituto de Física de São Carlos/IFSC)

APROVADA

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais:

Prof. Titular **Antonio José Felix de Carvalho**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Associado **Paulo César Lima Segantine**

*À minha família, pelo amor, carinho, compreensão e
apoio ao longo da minha vida.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo que tem feito na minha vida.

A minha família: meus pais e meus irmãos, que mesmo não entendendo muito bem o que eu faço sempre me apoiaram e incentivaram. Obrigada também pelo amor e simplicidade exemplar. Sem isso, eu não poderia ter chegado até aqui.

Ao Prof. Cleber Mendonça, pela a oportunidade de realizar este trabalho. Também gostaria de agradecê-lo pela imensa paciência e valiosos ensinamentos os quais, sem dúvida contribuíram para a minha formação.

Ao Prof. Paulo Henrique Dias Ferreira, da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), pela amizade, paciência, ajuda na realização de muitos experimentos no laboratório e discussões de muitos resultados. Obrigada também pelos ensinamentos, os quais, com certeza contribuíram também para minha formação.

À Prof. Dra. Carla R. Fontana, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP - Araraquara, pela ajuda no laboratório e na realização dos testes biológicos produzidos neste trabalho.

Ao Prof. Andres Lasagni pela oportunidade do estágio no Instituto Fraunhofer e aos integrantes do seu grupo Teja, Sebastian, Tim, Sophie e Mattias, pelo tempo bastante proveitoso no laboratório, pela ajuda com os experimentos e discussão de diversos resultados.

Ao Jacob que mesmo distante, sempre me apoio com muito amor, carinho e compreensão.

Aos técnicos do grupo de fotônica André Romero e Dr. Marcos Cardoso, pela ajuda no laboratório.

Aos todos integrantes do grupo de fotônica, principalmente, àqueles com quem compartilharam a sala e me ajudaram no laboratório.

Aos integrantes do Grupo de Polímero do IFSC, em especial a Dra. Débora Balogh pelo fornecimento de alguns polímeros, ajuda no laboratório e discussões de alguns resultados. Também ao Washington Silva pela ajuda no laboratório de polímero e ao Andrey Coatrini pelo fornecimento de amostras de quitosana.

A todos àqueles que me proporcionaram, aqui em São Carlos e também em Dresden, uma agradável convivência.

A todas as pessoas (amigos, colegas e conhecidos), que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

A agência Capes, pelo auxílio financeiro.

“O vento é sempre o mesmo, mas sua resposta é diferente em cada folha. Somente a árvore seca fica imóvel entre borboletas e pássaros”.

Cecília Meireles

RESUMO

Alves, R. E. **Processamento de superfícies poliméricas com pulsos laser de nano e femtossegundos**. 2015. 106p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Neste trabalho exploramos o uso de diferentes técnicas de microestruturação de materiais poliméricos a laser, visando a obtenção de superfícies que podem ser aplicadas tanto no desenvolvimento de dispositivos fotônicos quanto de materiais biomédicos. Primeiramente, estudamos a influência da energia de pulso e velocidade de translação sobre as microestruturas produzidas na superfície de filmes de poli(2-metóxi-5-(2-etil-hexiloxi)-1,4-fenileno vinileno) (MEH-PPV). Observamos que a rugosidade da superfície microestruturada aumentou significativamente com o aumento da energia de pulso e velocidade de translação. Além disso, determinamos o limiar de energia para remoção de material, distinguindo o intervalo de energia para a remoção do polímero daquele que causa somente alterações morfológicas. Uma vez que as condições de microestruturação com pulsos laser de femtossegundos foram determinadas, aplicamos tal abordagem para fabricar um dispositivo eletroluminescente microestruturado, sem danificar o polímero e a camada de óxido de índio-estanho, utilizada como contato. Em uma segunda vertente do trabalho, estudamos a influência da energia do pulso ultracurto sobre as propriedades físico-químicas de filmes de quitosana. Neste caso, determinamos o limiar de energia para que ocorra mudança estrutural e remoção de material polimérico. Com isso, produzimos microestruturas com características mais hidrofílicas, além de superfícies com diferentes estruturas superficiais, que foram utilizadas para investigar seu potencial no estudo da formação de biofilme de *Staphylococcus aureus*. Neste caso, produzimos microestruturas com dimensões de $500\ \mu\text{m}^2$ e diferentes periodicidades (variando de 4 a $12\ \mu\text{m}$) na superfície de filmes de quitosana e polimetilmetacrilato (PMMA). Com essas microestruturas, observamos distintos comportamentos para a formação de biofilme; no caso do PMMA, não houve distinção de desenvolvimento; quanto às amostras de quitosana, observamos uma preferência das bactérias por superfícies mais rugosas e regiões de bordas das microestruturas. Por fim, em uma terceira vertente do trabalho, utilizamos o método de estruturação direta por interferência para fabricar microestruturas periódicas em membranas de poliuretano, usando pulsos de nanossegundos. Com esse método, produzimos microestruturas de alta qualidade na superfície de membranas de poliuretano, com diferentes periodicidades (variando de 500 nm até $5\ \mu\text{m}$). Essa microestruturação permitiu a obtenção de amostras com comportamento de molhamento anisotrópico. De maneira geral, os resultados aqui

apresentados, além de demonstrar a potencialidade das técnicas de microfabricação a laser, fornecem importantes informações sobre os parâmetros ótimos para microfabricação em filmes poliméricos, visando aplicações tanto em dispositivos fotônicos e optoeletrônicos quanto em biomateriais.

Palavras chave: Microestruturação. Polímeros. Ablação. Modificação de superfícies. Materiais implantáveis.

ABSTRACT

Alves, R. E. **Polymeric surfaces processing with nano- and femtosecond laser pulses**. 2015. 106p. Thesis (doctorate) – São Carlos School of Engineering, University of São Paulo, São Paulo, 2015.

In this work we explored the use of laser micromachining methods to structure polymeric materials, aiming to obtain surfaces that can be applied in the development of photonic devices as well as biomedical materials. Firstly, we investigated the influence of pulse energy and translation speed on microstructures fabricated on the surface of poly[2-methoxy-5- (2'-ethylhexyloxy)-p-phenylenevinylene] (MEH-PPV) films. We observed that the roughness of the microstructured surface significantly increased with the pulse energy and translation speed. Besides, we determined the energy threshold for material removal, distinguishing the energy range for polymer removal from that causing only structural changes. Once the proper laser micromachining conditions were determined, we were able to apply such approach to fabricate a functional microstructured electroluminescent device, without disrupting the indium tin oxide layer used as the contact for the devices. In the second part of the work, we studied the influence of femtosecond pulses on the structuring process of chitosan films. In this case, we determined the threshold energy that leads to structural change and material removal. We have been able to produce microstructures with hydrophilic characteristics, in addition to surfaces with different structuring that were used to study the formation of *Staphylococcus aureus* biofilm. For such purpose we produced microstructured areas of 500 μm^2 and different periods (ranging from 4 to 12 μm) on the surface of chitosan and poly(methyl methacrylate)(PMMA) films. With these microstructures we observed different behaviors in the biofilm formation; in the case of PMMA, there was not distinction of development; concerning the chitosan samples we observed preferential bacterial growth on the rougher regions of the microstructures. Lastly, in a third part of the study, we used the method of direct laser interference patterning to fabricate periodic microstructures on polyurethane membranes, using nanosecond pulses. With this method, we produced high quality microstructures on the surface of polyurethane with different periodicity (from 500 nm to 5.0 μm). This approach allowed obtaining samples with anisotropic wetting behavior. In general, the results presented here, in addition to demonstrating the potential of the laser micromachining methods to structure polymeric samples, provides important information about the optimal parameters to micromachining of polymer films, aiming at applications in photonic devices, optoelectronics and biomaterials.

Key-words: Microstructuring. Polymers. Ablation. Surface modification. Implantable materials.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diagrama esquemático ilustrando diferentes tipos de interação do laser com a matéria em: (a) luz de baixa intensidade (laser de onda contínua - cw) e (b) luz de alta intensidade em foco (de pulsos ultracurtos); (c) modificação no material [36].	28
Figura 2 – Esquema ilustrativo da promoção do elétron da banda de valência para a banda de condução por meio de processos de fotoionização induzidos por laser femtossegundo: (a) Ionização multifotônica, (b) ionização por tunelamento e (c) ionização por avalanche: absorção de fótons pelos portadores livres seguida de ionização por impacto, BV banda de valência e BC banda de condução [38].	30
Figura 3 – Ilustração de ablação com laser com pulso de ns e com pulso de fs [18].	34
Figura 4 – Esquema representando a distribuição de energia no padrão de interferência e a microestrutura resultante [44].	35
Figura 5 – (a) padrões de linhas produzidas pela interferência de (b) dois feixes lasers; (c) padrão tipo caixa de ovos produzido pela interferência de (d) três feixes lasers [45].	36
Figura 6 – A tensão superficial é causada pelo desequilíbrio das forças moleculares do líquido na sua superfície [47].	37
Figura 7 – Esquema ilustrativo do trabalho de adesão [18].	38
Figura 8 – Esquema ilustrativo de uma gota de um líquido sobre um sólido e a variação da área da interface devido a uma deformação [18].	39
Figura 9 – Ilustração dos ângulos de contato formados sobre entre uma gota líquida e uma superfície sólida lisa [47].	40
Figura 10 – Ilustração de uma gota líquida sobre uma superfície (a) lisa e (b) rugosa preenchendo as ranhuras. θ_r é o contato aparente e, θ_e é o ângulo de contato intrínseco	41
Figura 11 – Ilustração de uma superfície rugosa com uma gota líquida, não preenchendo as ranhuras.	42
Figura 12 – Estrutura química do polímero conjugado MEH-PPV.	46
Figura 13 – Esquema ilustrativo do processo de produção de filmes de MEH-PPV.	47
Figura 14 – Esquema ilustrativo da sequência dos procedimentos para desenvolvimento do dispositivo.	49
Figura 15 – Ilustração da fórmula estrutural da quitina e da quitosana, mostrando as mudanças que originam a quitosana.	50
Figura 16 – Ilustração dos vários estágios de desenvolvimento de biofilme: (a) fixação, (b) multiplicação e formação de colônias, (c) aumento da densidade de colônias, (d) maturação e (e) dispersão de bactérias [79].	53
Figura 17 – Ilustração da estrutura química de poliuretano composto por grupos uretanos (destacados pela cor azul).	54
Figura 18 – Esquema do sistema de microfabricação e estruturação por ablação a laser: (I) feixe laser, (II) objetiva de microscópio, (III) estruturas pré-definidas sendo microfabricadas, (IV) câmera CCD e (V) imagem visualizada no computador.	58
Figura 19 – Esquema do sistema de microfabricação e estruturação por ablação a laser.	60

Figura 20 – Estrutura do dispositivo ilustrando a microestrutura na camada polimérica (entre o eletrodo metálico e o transparente).	60
Figura 21 – Esquema ilustrativo do sistema experimental de padrão de interferência laser usado para fabricação das amostras de PU usando a configuração de dois feixes [90].	61
Figura 22 – Imagem de microscopia óptica, mostrando a medida do diâmetro da microestrutura fabricada na membrana de PU.	62
Figura 23 – Amostra de PU após processo de microfabricação por DLIP. A potência do feixe laser (P) e a periodicidade das microestruturas estão especificadas na imagem.	63
Figura 24 – Imagens de microscopia óptica de transmissão de linhas microfabricadas em filme de MEH-PPV com diferentes energias de pulso e velocidades de translação.	65
Figura 25 – Largura média das linhas em função da energia de pulso do laser.....	66
Figura 26 – Espectro de absorbância do filme MEH-PPV não microfabricado e após microfabricação com diferentes energias de pulso.	67
Figura 27 – Imagens de microscopia de força atômica das linhas fabricadas em filme de MEH-PPV.	69
Figura 28 – Mecanismo responsável pela formação da saliência no filme de MEH-PPV [101].	70
Figura 29 – Regiões diferentes usadas para avaliar a rugosidade no filme de MEH-PPV após microestruturação: distante e perto das linhas microfabricadas.....	71
Figura 30 – Esquema ilustrativo mostrando uma imagem do dispositivo com uma imagem ampliada da região micro fabricada.	72
Figura 31 – Imagem da região microfabricada do dispositivo: (a) sem emissão de luz e (b) com emissão de luz.	72
Figura 32 – Imagem de microscopia óptica do acrônimo da Universidade de São Paulo produzido na superfície do MEH-PPV.	73
Figura 33 – Esquema representativo do dispositivo eletroluminescente microfabricado (a); o acrônimo da Universidade de São Paulo sobre a superfície do filme com iluminação (b) e sem iluminação (c). Finalmente, durante o tempo em que o dispositivo estava ligado (d).....	74
Figura 34 – Medida de corrente versus tensão com variação. ... Erro! Indicador não definido.	
Figura 35 – Imagem de microscopia óptica de transmissão das microestruturas produzidas no filme de quitosana com diferentes energias de pulso do laser.	76
Figura 36 – Largura média das microestruturas produzidas com uma objetiva de 40x (NA - 0.67) em função da energia do pulso laser (círculos pretos) e o ajuste teórico representado pela linha vermelha.....	77
Figura 37 – Imagens de AFM das microestruturas produzidas com velocidade de translação 100 $\mu\text{m/s}$, periodicidade 10,0 μm e diferentes energias de pulso do laser: (a) 3,8; (b) 6,2; (c) 9,2; (d) 14,4 e (e) 21,0 nJ.....	78
Figura 38 – Profundidade média das microestruturas produzidas com uma objetiva de 40x (NA - 0.67) em função da energia do pulso laser (círculos pretos) e o ajuste teórico representado pela linha vermelha.....	79

Figura 39 – (a) imagem de microscopia óptica da área microestruturada e (b) imagem tridimensional AFM mostrando a topografia da área microestruturada em um filme de quitosana.....	80
Figura 40 – Perfil das gotas de água: (a) sobre uma superfície não microestruturada e (b) sobre uma superfície microestruturada olhando na direção perpendicular com relação à orientação das linhas. A superfície do filme de quitosana foi microestruturada usando uma objetiva de 40x (NA - 0.67), empregando energia de pulso do laser 30,0 nJ e velocidade de translação 100 $\mu\text{m/s}$ e $\lambda = 10,0 \mu\text{m}$	81
Figura 41 – Esquema ilustrativo mostrando (a) foto da amostra de quitosana microestruturada; (b) imagens de microscopia óptica das microestruturas produzidas com diferentes periodicidades e (c) imagens de microscopia óptica dos detalhes destas microestruturas. A periodicidade das microestruturas está especificada nas imagens.....	82
Figura 42 – Imagens AFM das microestruturas de quitosana produzidas na com diferentes periodicidades: (a) 4,0; (b) 6,0; (c) 8,0; (d) 10 e (e) 12 μm	83
Figura 43 – Imagens de microscopia óptica do desenvolvimento de bactérias na superfície microestruturada de amostras de PMMA (a, b e c) e quitosana (d, e, e f). A periodicidade (λ) das microestruturas está indicada na figura.	84
Figura 44 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura do desenvolvimento de bactérias na superfície microestruturada de amostras de PMMA (a, b e c) e quitosana (d, e, e f). A periodicidade (λ) das microestruturas está indicada na figura.	85
Figura 45 – Micrografias de microscopia eletrônica de varredura obtidas para a microestruturas fabricadas com periodicidade de 500 nm (a, b); 2,0 (c, d) e 5,0 μm (e, f). As médias das fluências do laser foram (a) 0,15; (b) 0,37; (c) 0,15; (d) 0,59 (e) 0,15 e (f) 0,58 J/cm^2	87
Figura 46 – Imagens de perfilômetro óptico (a e b) e AFM (c e d) de microestruturas fabricada em filme de poliuretano com periodicidade de (a) 4,0 μm e (b) 500 nm. As fluências do laser empregadas para produzir as microestruturas são indicadas nas imagens.	89
Figura 47 – Dependência da profundidade das microestruturas com a energia do laser para periodicidades entre 500 nm e 5,0 μm	90
Figura 48 – Largura média das microestruturas em função da fluência do laser para periodicidades entre 500 nm - 5,0 μm	91
Figura 49 – Perfil das gotas de água: (a) sobre uma superfície não microestruturada e (b) sobre uma superfície microestruturada olhando na direção perpendicular com relação à orientação das linhas. A superfície foi microestruturada com $\lambda = 5,0 \mu\text{m}$ e fluência do laser 0,58 J/cm^2	92
Figura 50 – Ângulo de contato em função da fluência medido na superfície microestruturada, na direção perpendicular as microestruturas.	93
Figura 51 – Ângulo de contato em função da fluência medida na superfície micro estruturada na direção paralela as microestruturas.....	94

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	23
2	ASPECTOS FUNDAMENTAIS	27
2.1	Microfabricação utilizando laser	27
2.2	Microfabricação com pulsos laser de femtossegundos	27
2.3	Microfabricação com laser com pulsos de nanossegundos	34
2.4	Estruturação direta por interferência	35
2.5	Ângulo de contato e superfície	37
2.5.1	Modelo de Wenzel.....	40
2.5.2	Modelo de Cassie-Baxter.....	42
3	MATERIAIS E MÉTODOS	45
3.1	MEH-PPV	45
3.1.1	Filmes de MEH-PPV	46
3.1.2	Produção do dispositivo eletroluminescente baseado no polímero MEH-PPV ...	47
3.2	Quitosana	49
3.2.1	Filmes de quitosana	51
3.2.2	Staphylococcus aureus.....	51
3.2.3	Testes de desenvolvimento de biofilme.....	53
3.3	Poliuretano.....	54
3.3.1	Membranas de poliuretano	56
4	SISTEMAS DE MICROFABRICAÇÃO	57
4.1	Sistemas de microfabricação com pulsos de fs e estágios de translação	57
4.2	Sistema de microfabricação com pulsos de fs e espelhos de varredura	59
4.3	Sistema de microfabricação com pulsos ns e estágios de translação	61
4.4	Caracterização das amostras	63
4.4.1	Amostras de MEH-PPV	63
4.4.2	Caracterização das amostras de Quitosana	64
4.4.3	Amostras de PU	64
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	65
5.1	Caracterização das estruturas microfabricadas em filmes de MEH-PPV.....	65
5.2	Caracterização do dispositivo de MEH-PPV	71
5.3	Microfabricação em Quitosana.....	75
5.4	Microfabricação em Poliuretano	86
6	CONCLUSÃO.....	95
	REFERÊNCIAS	99

APRESENTAÇÃO

Este trabalho está organizado da seguinte forma: o CAPÍTULO 1 destina-se a introdução e justificativa do trabalho; no CAPÍTULO 2 é apresentada a noção de microfabricação por laser, interferência laser e ângulo de contato; no CAPÍTULO 3 são apresentados os materiais e metodologias aplicadas na preparação das amostras; no CAPÍTULO 4 é mostrado os sistemas experimentais usados para microfabricar as amostras poliméricas e as técnicas de caracterização; no CAPÍTULO 5 são mostrados os resultados obtidos e suas discussões; e no CAPÍTULO 6, as conclusões. Por fim, são apresentadas as REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, que serviram de apoio para desenvolvimento deste trabalho.

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Uma fração significativa das atividades desenvolvidas no campo da ciência e engenharia de materiais está dedicada ao processamento de materiais, permitindo assim um grande desenvolvimento tecnológico [1]. Dessa maneira, grande parte dos processos de fabricação de materiais tradicionais está baseada na necessidade de que um material seja trabalhado para alcançar forma, funcionalidade, tamanho e acabamento desejados. Assim, à medida que cientistas deparam-se com uma tarefa desafiadora devido, por exemplo, às propriedades desfavoráveis de um material, o nível extremo de precisão exigido, ou mesmo um alto nível de miniaturização, novas abordagens e processos são desenvolvidos, provocando uma revolução nas tecnologias de processamento de materiais [2]. Neste sentido, novas técnicas de fabricação e estruturação de materiais têm sido desenvolvidas, permitindo melhorar as propriedades físicas, químicas e biológicas de todas as classes de materiais, incluindo metais, cerâmicas e polímeros [3]. Essas técnicas permitem ainda criar estruturas padronizadas em escalas micrométricas e sub-micrométricas, provocando uma gama de investigações científicas, levando ao desenvolvimento de novos dispositivos e sistemas miniaturizados e, conseqüentemente, possibilitando novas oportunidades em diversas áreas como a eletrônica, mecânica, fluidodinâmica e fotônica [4].

Existem diversas técnicas que podem ser aplicadas para a microfabricação de materiais de uma maneira reprodutível, dentre as quais podemos citar a escrita por feixe de elétrons e por feixe de íons, deposição eletroquímica etc [5]. Contudo, a maioria dessas técnicas está limitada apenas a marcação superficial, não sendo capaz de produzir estruturas em três dimensões (3D) usando processo direto, mas apenas através de várias etapas [5, 6]. O interesse no uso de

processo de ablação de materiais por lasers teve início por volta de 1960 [7]. No ano de 1962, cientistas da empresa Ford Motors descobriram que a luz de um laser *Q-switch* de rubi era capaz de ionizar o ar [8]. Alguns anos mais tarde, foi reportada a produção de dano óptico em vidro via laser [9]. Essas descobertas levaram a investigação de como a luz interage com a matéria, as quais perduram até os dias de hoje. A indústria se beneficiou de aplicações de alta precisão na área de usinagem como o corte, soldagem, oxidação induzida e outros tipos de tratamentos térmicos, aplicados a materiais metálicos. O advento de lasers pulsados, com larguras temporais da ordem de nanossegundos (ns) e picossegundos (ps), permitiu a obtenção de intensidades luminosas da ordem de gigawatts por centímetro quadrado. Isso possibilitou estender a interação de irradiação laser a outras classes de materiais como, por exemplo, semicondutores. Com isso, diversos resultados têm sido reportados na literatura demonstrando a capacidade de pulsos laser de nanossegundos em ablacionar sílica, safira, plástico e outros materiais transparentes [10-12].

Já há alguns anos, lasers com pulsos de femtossegundos(fs) vêm despertando crescente interesse tanto no meio científico quanto no meio industrial [13]. A utilização de pulsos de fs para processos de microfabricação e estruturação foi primeiramente demonstrada em 1994, quando estes foram usados para ablacionar superfícies de sílica e prata [14]. Desde então, avanços vêm sendo alcançados na utilização destes pulsos para o processamento de materiais. Com sua excelente qualidade de feixe, esse tipo de laser tem promovido melhorias na precisão e processamento de materiais, permitindo diversas aplicações práticas (perfuração, corte, estruturação, remoção de material, bem como a marcação) [15]. No âmbito de processos de fabricação, comparado com outros métodos, a microfabricação e estruturação de materiais a laser apresenta algumas vantagens: operação sem contato, utilização em distintas atmosferas, e a geometria da amostra não é limitada a substratos planos [16, 17]. Além disso, têm sido demonstrado que esse tipo de laser possui grande potencial para fabricar com grande precisão micro e nanoestruturas nos mais diversos formatos, possibilitando também a estruturação no volume do material [6, 18].

De maneira geral, quando se usa pulsos de fs a intensidade da luz no volume focal é alta o suficiente para induzir mudanças estruturais na superfície ou no volume de um material, muitas vezes criando estruturas que podem ser exploradas em diversas aplicações [5, 6, 19]. Há alguns anos, por exemplo, foi demonstrada a microfabricação de uma réplica de um touro com dimensões menores que um glóbulo vermelho do sangue, mostrando a potencialidade desta ferramenta para microfabricar com precisão em volumes pequenos [20]. Nesse sentido, estes micro-objetos podem ser transportados, por exemplo, para o interior do corpo humano visando

aplicações em tratamentos clínicos. Outros exemplos de microestruturas tridimensionais fabricadas no volume de materiais incluem o desenvolvimento de guias de ondas em vidro, canais para microfluídica, microestruturas birrefringentes, microlentes, microcircuitos, microbaterias, etc [21-24]. Deste modo, um grande número de materiais vem sendo explorado pela técnica de microfabricação e estruturação a laser, gerando importantes resultados, visando aplicações tecnológicas desde o desenvolvimento de *smartphones* com maior resolução e mais capacidade de processamento, até o aumento da eficiência de células solares [25].

Materiais poliméricos, por apresentarem maior acessibilidade e manufatura que materiais cerâmicos [18, 26], têm despertado muita atenção de pesquisadores das mais diversas áreas [27-30]. Para demonstrar as capacidades da microfabricação com pulsos laser de fs, recentemente foi demonstrada a produção de microcanais em poliamida e polimetacrilato de metila (PPMA), visando aplicações em microfluídica [31]. Também foram microfabricadas superfícies superhidrofóbicas, oferecendo opções interessantes para controlar a molhabilidade de superfícies [32, 33]. Atualmente, a fabricação de micro e nanoestruturas visando atender interesses em aplicações no campo da medicina também vem sendo exploradas. Por exemplo, microagulhas de 500 μm foram fabricadas e testes *in vitro* demonstraram que elas são capazes de penetrar a pele humana sem fraturar [30]. Como outro exemplo, canais com 60 μm de largura e 30 μm de profundidade foram fabricados e um fluxo constante de líquido foi observado ao longo dos mesmos [31]. Mais recentemente, padrões de linhas foram microfabricadas na superfície de poliamida para induzir o crescimento de células adenocarcinoma mamárias de ratos e, subsequentemente, estudar o comportamento de seu crescimento; os resultados obtidos mostraram que estas células possuem uma direção preferencial de crescimento [34].

Diversos exemplos de aplicações têm sido relatados como, por exemplo, a fabricação de plataformas tridimensionais empregando materiais biocompatíveis e o desenvolvimento de ferramentas para a manipulação de células (micropinças), mostrando que os lasers com pulsos de femtossegundos e nanossegundos são ferramentas muito interessantes no processamento de novos materiais avançados [35]. No entanto, o progresso para o desenvolvimento de novos materiais não depende apenas da capacidade para microfabricá-los, mas também da compreensão da influência dos parâmetros experimentais na microfabricação e estruturação, obtida através da caracterização da estrutura. Em consequência, detalhes de uma caracterização minuciosa destas estruturas tornam-se necessários.

Dentro desse contexto e motivados pelas potencialidades das aplicações de materiais modificados por lasers, neste trabalho investigamos as possibilidades do uso do laser com pulsos de fs e ns como uma ferramenta para o processamento de dispositivos e a formação de

micro/nanoestruturas em sistemas poliméricos de interesse tecnológico. A partir de estruturas processadas em filmes de poli(2-metóxi-5-(2-etil-hexiloxi)-1,4-fenileno vinileno) (MEH-PPV), investigamos a influência da energia de pulso e velocidade de translação nos processos de microfabricação, avaliando ainda o regime de energia no qual ocorre fotodegradação. Alterações induzidas pela irradiação laser sobre as propriedades de filmes de MEH-PPV foram determinadas. Além disso, demonstramos ainda as potencialidades da técnica de microfabricação usando pulsos de fs por meio da confecção de um dispositivo eletroluminescente. Em uma segunda vertente do trabalho, investigamos a influência da energia do pulso de fs sobre as propriedades de filmes de quitosana, sendo possível determinar aquelas que causam mudança estrutural e morfológica no material. Testes com bactérias *Staphylococcus aureus* foram realizados com o objetivo de investigar o potencial das superfícies microestruturadas, com diferentes periodicidades, para a inibição do processo de adesão de bactérias e a consequente formação de biofilme. Por fim, em parceria com o Instituto Fraunhofer para Tecnologias de Material e Feixe (IWS - Alemanha), investigamos a influência da densidade de energia (fluência) de pulsos de nanossegundos na estruturação de filmes de poliuretano, tendo como objetivo a fabricação de superfícies biocompatíveis para aplicações em engenharia de tecido.

2 ASPECTOS FUNDAMENTAIS

2.1 Microfabricação utilizando laser

A microfabricação a laser tem como característica a remoção ou alteração controlada em um material por meio da absorção da energia luminosa. No caso do uso de lasers pulsados, diferentes larguras temporais do pulso podem ser empregadas, logo, diferentes dinâmicas de estruturação são possíveis. Desta maneira, podemos separar o processo de microfabricação em duas dinâmicas distintas; a executada por pulsos longos (por exemplo, nanossegundos) e a feita por pulsos ultracurtos (por exemplo, femtossegundos).

2.2 Microfabricação com pulsos laser de femtossegundos

De maneira geral, pode-se dizer que a microfabricação a laser, em materiais transparentes, consiste do processo pelo qual se utiliza luz laser para produzir modificações na superfície ou no volume de um determinado material [36]. Considerando a interação entre um feixe de luz de baixa intensidade com um material transparente (no qual a energia dos fótons é inferior a energia do *band gap*), a luz será transmitida pelo material como ilustra a Fig. 1a. Entretanto, quando o material é exposto a luz laser de altas intensidades, como, por exemplo, a gerada em laser de fs, a interação entre o material e a luz laser torna-se não-linear (Fig.1b) e a absorção da luz pelo material pode resultar em alterações permanentes na estrutura do mesmo (Fig.1c).

Figura 1 – Diagrama esquemático ilustrando diferentes tipos de interação do laser com a matéria em: (a) luz de baixa intensidade (laser de onda contínua - cw) e (b) luz de alta intensidade em foco (de pulsos ultracurtos); (c) modificação no material [36].

Neste caso, altas intensidades luminosas só são obtidas no foco do feixe laser, desta maneira, a interação não-linear e modificações subsequentes no material irão ocorrer apenas localmente, ou seja, dentro de uma região confinada do material [5, 18, 36]. Sendo assim, em processos de microfabricação utilizando lasers, o feixe é focalizado na amostra através de uma objetiva de microscópio. Quanto maior a abertura numérica da objetiva, menor o diâmetro do feixe no foco e, conseqüentemente, maior será a intensidade de luz. Através da movimentação da amostra em relação ao foco do feixe laser é possível microfabricar diferentes padrões na mesma como, por exemplo, estruturas tridimensionais [37].

O processo de microfabricação a laser em materiais transparentes pode ser entendido através dos mecanismos de absorção da luz laser pelo material e da maneira pela qual o material responde. Nestes materiais, quando um elétron da banda de valência ganha energia suficiente, ele é promovido para a banda de condução tornando-se um elétron livre. Para que ocorra essa promoção do elétron da banda de valência para a banda de condução, a energia do fóton, do campo de radiação presente, deve exceder a energia de *band gap*. Tipicamente, um único fóton de luz visível não possui energia suficiente para exceder a energia de *band gap* de materiais ópticos. Neste caso, processos de absorção não-linear são necessários para promover os elétrons da banda de valência para a banda de condução. Tal excitação, em geral, pode ser alcançada através de dois processos; fotoionização e ionização por avalanche. A fotoionização refere à excitação direta dos elétrons por um campo elétrico e pode ser dividido em dois diferentes regimes, que são dependentes da frequência e intensidade do laser: ionização multifotônica e

ionização por tunelamento. Uma descrição resumida de cada processo é apresentada a seguir [38].

Ionização multifotônica:

A ionização multifotônica ocorre devido à absorção simultânea de vários fótons por um único elétron na banda de valência. Para que uma transição entre bandas ocorra, a energia total absorvida por n fótons, que interagem com um único elétron, deve exceder a energia de *band gap* E_g , por exemplo, $n\hbar\omega \geq E_g$ onde $\hbar$ é a constante de Plank e ω é a frequência do laser. Por exemplo, no caso de sílica fundida, que tem uma energia de *band gap* de 9 eV, pelo menos seis fótons, na região do infra-vermelho próximo, são necessários para promover uma transição entre bandas de um único elétron da banda de valência [38]. A ionização multifotônica (ilustrado na Fig. 2a) é tipicamente associada com altas frequências de laser (ainda abaixo da frequência requerida para a absorção linear) [38].

Ionização por tunelamento:

Sob a influência de radiação laser de alta intensidade, a estrutura de banda de um dielétrico pode ser distorcida devido à presença de um campo eletromagnético. Se o campo gerado pelo laser é intenso o suficiente, ele será capaz de suprimir o potencial atômico, possibilitando o tunelamento de um elétron para o contínuo, se tornando assim um elétron livre. Este processo é ilustrado na Fig.2b. A ionização por tunelamento é um regime dominante da ionização não-linear para campo gerado por lasers de alta intensidades e laser de baixa frequência [38].

Ionização por avalanche:

Na banda de condução, o elétron pode absorver vários fótons do laser por absorção linear, sendo então promovido para estados de maior energia na própria banda de condução. Quando essa energia exceder o mínimo da banda de condução por um valor superior que a energia do *band gap*, poderá ocorrer a ionização de outro elétron através de colisões (ionização por impacto), resultando em dois elétrons no estado de menor energia da banda de condução

(Fig. 2c). Este processo se repete enquanto o campo gerado pelo laser estiver presente, provocando um aumento exponencial da densidade de elétrons na banda de condução. Assim, mais elétrons são ionizados e o resultado deste processo é a criação de um plasma no material [14, 38].

Após o processo de absorção de energia pelo material, o plasma transfere energia para a rede, podendo originar processos físicos, químicos e modificações estruturais no material (aumento do índice de refração, formação de centro de cor, fusão, vaporização, ablação etc) [14, 38]. Embora o processo de dissipação de energia ainda não seja completamente compreendido, acredita-se que o mecanismo envolvido resulte da combinação da difusão térmica com a geração de ondas de choque [36]. Contudo, ainda é incerto qual mecanismo é dominante e isto depende das condições experimentais (fluência, taxa de repetição, etc) [14, 36].

Figura 2 – Esquema ilustrativo da promoção do elétron da banda de valência para a banda de condução por meio de processos de fotoionização induzidos por laser femtossegundo: (a) Ionização multifotônica, (b) ionização por tunelamento e (c) ionização por avalanche: absorção de fótons pelos portadores livres seguida de ionização por impacto, BV banda de valência e BC banda de condução [38].

A intensidade do feixe laser necessária para produzir modificações em um material depende de alguns parâmetros experimentais como, por exemplo, a fluência ou densidade de energia, a largura do pulso e a energia do pulso do laser, os quais estão relacionados por [36]:

$$I = \frac{F}{\tau} = \frac{E}{\tau \cdot A} \quad (1)$$

$$A = \pi w_0^2 \quad (2)$$

onde I é a intensidade, F é a fluência, τ é a largura do pulso, E é a energia do pulso do laser, A área do feixe e w_0 é o raio da cintura do feixe no foco.

Outro parâmetro experimental importante para processos de microfabricação é a taxa de repetição do laser. Em osciladores lasers de femtossegundos (sistemas de alta taxa de repetição) o intervalo de tempo entre os pulsos é menor do que o tempo de difusão térmica de materiais (da ordem de $1\mu s$) [14]. Dessa forma, à medida que o número de pulsos aumenta, a energia térmica depositada por pulso acumula dentro e em torno do foco, pois não há tempo suficiente para que se difunda para fora do volume focal antes que o próximo pulso chegue [39]. Com isso, ocorre aquecimento do material em torno do foco do feixe laser, o que resulta em modificações no material (regime acumulativo). No caso de sistemas amplificados, os pulsos são separados temporalmente por milissegundos (taxa de repetição de kHz). Tal separação é ordens de grandeza maior que o tempo necessário para que ocorra o equilíbrio térmico no material. Dessa forma, antes da chegada do pulso consecutivo, o calor terá sofrido difusão para fora do volume focal e o material estará na temperatura ambiente (regime repetitivo). Neste caso a modificação no material no volume só ocorrerá no foco do feixe laser [14, 18].

No caso em que a microfabricação é feita utilizando objetivas de microscópio para focalizar a luz laser na amostra, é necessário considerar a abertura numérica (NA) da mesma, pois ela determina a largura e profundidade do volume focal e, portanto, a dimensão da microestrutura (ranhura) resultante. A NA está relacionada com a cintura do feixe laser no foco através da relação [36]:

$$w_0 = \frac{\lambda}{\pi NA} \sqrt{1 - NA^2} \quad (3)$$

onde NA é a abertura numérica da objetiva. Dessa maneira, a intensidade do feixe do laser necessário para produzir modificações no material pode ser escrito como [14]:

$$I \propto \frac{E \cdot NA^2}{\tau \cdot \lambda^2 (1 - NA)} \quad (4)$$

Entretanto, é preciso ressaltar que a dependência da intensidade de limiar de dano (I_{th}) para a microfabricação sobre os parâmetros τ , E e NA não segue um comportamento esperado. Por exemplo, a dependência de I_{th} com τ foi investigada para valores próximos a 10 fs, e onde não se observou a relação inversa entre I e τ dado pela eq. 4. Para $\tau > 10$ ps, I_{th} varia com $\tau^{1/2}$, indicando que o efeito Joule dos elétrons excitados no início do pulso é responsável pelo dano óptico [14]. Para, $\tau < 10$ ps o limiar de dano, I_{th} aumenta três vezes quando τ é aumentado por um fator de dez [14, 40]. A pequena dependência com τ se deve ao processo de ionização em avalanche: a ionização não-linear cria os elétrons-sementes, entretanto, a dependência linear do processo de avalanche com a intensidade é a responsável pela alta densidade de excitação necessária para a microfabricação [14].

Para condições experimentais onde λ , τ e NA são fixos, o processo de absorção possui uma forte dependência na energia do pulso E [14]. Neste caso, a energia mínima requerida para que a absorção não-linear produza elétrons sementes é denominada energia de limiar. Quando a irradiação é realizada no volume do material e E é mantida próxima a esse limiar, a absorção produz uma mudança no índice de refração que está localizado ao volume focal. A magnitude do índice de refração varia de material para material, sendo reportado na literatura tanto o aumento quanto a diminuição no índice de refração [14]. A mudança de índice de refração, geralmente observada, é da mesma ordem de grandeza daquela obtida em fibras ópticas (10^{-3}) [14]. Tal mudança no índice de refração não é espacialmente homogênea, e os mecanismos responsáveis pela dependência do índice de refração com a posição ainda precisam ser mais bem investigados; *stress*, densificação, mudança de temperatura e formação de centros de cor contribuem diferentemente para cada material e para cada conjunto de condições de processamento [14]. O aumento de E acima da energia de limiar aumenta o tamanho da área afetada do material e a energia média do plasma [14]. Na medida em que a energia do plasma aumenta, a blindagem iônica é reduzida causando repulsão Coulombiana entre os íons que, quando tem energia suficiente, conduz a formação de um espaço vazio [41]. A maioria das aplicações em fotônica usa valores de energia próximos ao limiar de absorção e isso resulta em mudanças no índice de refração [14].

O intervalo de NAs que pode ser utilizado é limitado. No caso de valores baixos de NA dois processos não lineares distintos competem com a deposição de energia: autofocalização e

geração de luz branca [14]. A autofocalização ocorre quando a potência do pulso excede um valor crítico (~ 4 MW para sílica fundida), levando o pulso ao colapso em um filamento cujo diâmetro é menor do que aquele esperado por focalização externa. A geração de luz branca provoca um alargamento espectral do pulso na medida em que ele se propaga. Para NAs menores do que 0,1, o limiar de intensidade para ambos os processos é menor do que I_{th} . Os efeitos não-lineares reduzem a reprodutibilidade e o controle sobre o processo de microfabricação, resultando em tamanhos que não são possíveis de ser determinados pela focalização externa. Além de influenciar na intensidade I , a NA influencia também a geometria de estruturas produzidas em experimentos com pulsos únicos. Para NAs acima de 0,6, as microestruturas exibem características quase de simetria esférica; abaixo deste valor as estruturas resultantes são maiores e assimétricas [14].

Alguns modelos vêm sendo propostos para explicar a profundidade de ablação por laser de pulsos ultracurtos em função da fluência do pulso. Um desses modelos propõe que a profundidade como função da fluência absorvida pelo material, onde não é considerada a condução de calor dentro do alvo, é dada por [18]:

$$P \approx \alpha^{-1} \ln \left(\frac{F_a}{F_{th}} \right) \quad (5)$$

onde P é a profundidade das microranuras, α^{-1} é a profundidade de penetração óptica, F_a é a fluência laser absorvida e F_{th} é a fluência limiar para ablação com pulsos de picossegundos, a qual também pode ser usada para regimes de femtossegundos. A dependência logarítmica da profundidade de ablação com a fluência do pulso laser é bem conhecida para a ablação laser, e possui um comportamento muito similar ao da largura das microranuras, o que permite aplicar a equação da profundidade para a largura [18].

A medida precisa do limiar de ablação é extremamente importante para processos de microfabricação a laser, pois, somente a utilização de energias de pulso próximas do limiar de ablação irá garantir um processo sem acúmulo de calor na região afetada. Energias muito acima do limiar de ablação levam à ocorrência de outros fenômenos que resultam na transferência de calor para a rede e limitam a precisão do processo de microfabricação.

2.3 Microfabricação com laser com pulsos de nanossegundos

Lasers de pulsos longos (nanossegundos) são usados em diversas áreas de processamento de materiais como, por exemplo, na medicina. Neste regime a energia do laser absorvida primeiro aquece a superfície do material até a temperatura de fusão e, em seguida, para a temperatura de vaporização [42]. Neste caso, a evaporação ocorre a partir do material líquido, o que torna o processamento preciso do material muito complicado, pois esse processo causa danos colaterais na vizinhança do alvo devido às ondas de choque e de condução de calor [42, 43]. Sendo assim, o grau de efeitos depende da taxa de energia absorvida e da perda de energia devido à condução térmica do material. Geralmente, o dano colateral produzido durante o processamento do material é prejudicial e, portanto, é um fator limitante quando o objetivo é produzir ablação de alta precisão, como no caso de cirurgias. A Fig. 3 ilustra o processo de ablação e seus efeitos colaterais para lasers com pulso de nanossegundos e femtossegundos, onde pode ser visualizada a zona térmica afetada (região em preto) e as ondas de choque criadas no processo.

Figura 3 – Ilustração de ablação com laser com pulso de ns e com pulso de fs [18].

2.4 Estruturação direta por interferência

No método de estruturação direta por interferência (DLIP) do inglês *Direct Laser Interference Patterning*, o padrão de interferência criado por feixes laser é utilizado para promover a estruturação em materiais. Quando duas ou mais ondas eletromagnéticas se sobrepõem no espaço, ocorre o fenômeno de interferência, que depende da amplitude das ondas, seu grau de coerência e sua relação de fase. Como resultado desse fenômeno há a geração de um padrão de interferência com zonas de alta intensidade luminosa, onde interferência construtiva ocorre e, zonas de interferência destrutiva com intensidade nula. Um esquema representando o princípio da técnica é apresentado na Fig. 4. Dessa maneira, a exposição de uma amostra a este padrão levará a ablação da mesma nas regiões dos máximos de interferência, enquanto que nas regiões de mínimo a mesma permanecerá inalterada [44].

Figura 4 – Esquema representando a distribuição de energia no padrão de interferência e a microestrutura resultante [44].

Nesta técnica de estruturação a laser, se dois feixes laser são usados, um padrão de interferência de linhas é obtido (Fig. 5a e 5c). No caso de três feixes lasers, dependendo da amplitude do campo elétrico de cada feixe e da configuração geométrica, matrizes bidimensionais podem ser produzidas (Fig. 5b e 5d) [45].

Figura 5 – (a) padrões de linhas produzidas pela interferência de (b) dois feixes lasers; (c) padrão tipo caixa de ovos produzido pela interferência de (d) três feixes lasers [45].

A distribuição de intensidade espacial pode ser expressa por [45, 46]:

$$I = \frac{c\epsilon_0}{2} |E|^2 \quad (6)$$

onde c é a velocidade da luz e ϵ_0 é a permissividade no vácuo. Para o caso de uma interferência com dois feixes, a periodicidade ou período espacial (P) é dada por [45, 46]

$$P = \frac{\lambda}{2n \sin(\alpha)} \quad (7)$$

α é a metade do ângulo formado entre os feixes lasers, como ilustra a Fig. 5c, e n é o índice de refração do meio que a luz laser se propaga.

2.5 Ângulo de contato e superfície

Nesta seção apresentaremos uma breve revisão da termodinâmica do molhamento, especialmente com ênfase ao conceito do ângulo de contato, uma vez que esta grandeza será utilizada na caracterização de algumas das superfícies estruturadas a laser. Inicialmente, para melhor entender o conceito de ângulo de contato, apresentamos uma breve introdução à tensão superficial. Considere a interface de uma substância líquida com seu próprio vapor ou com o ar, como representado na Fig. 6. Cada molécula no interior do líquido é atraída pelas moléculas vizinhas igualmente, em todas as direções, resultando em uma força média nula. Contudo, as moléculas situadas na interface não possuem moléculas vizinhas em todas as direções para balancear a rede de forças. Sendo assim, essas moléculas são atraídas mais fortemente para o interior do líquido que em direção ao ar, criando uma pressão interna. No interior do líquido, as forças de coesão atuam no sentido de estabilizar o sistema, reduzindo a energia potencial de cada molécula. Porém, por não ter o mesmo número de moléculas vizinhas, uma molécula na superfície apresenta maior energia potencial que as no interior do líquido. A diferença de energia entre as moléculas da superfície e do interior do material é chamada de energia de superfície. Deste modo, para minimizar a energia de superfície o líquido se contrai, tendendo a uma forma com a menor área superficial. No caso de gotas ou bolhas líquidas, a superfície tende a ser esférica, pois esferas apresentam a menor razão superfície/volume [47].

Figura 6 – A tensão superficial é causada pelo desequilíbrio das forças moleculares do líquido na sua superfície [47].

Para ilustrar a situação, podemos fazer uma analogia da superfície do líquido com uma membrana de borracha sob tensão. Na deformação desta, a energia de superfície (γ) pode ser tratada como a energia requerida para aumentar a área da superfície (A), e é uma função da diferença entre a energia total do sistema antes e depois da deformação [48]:

$$\gamma = \frac{1}{A}(E_1 - E_0) \quad (8)$$

A tensão interfacial entre duas fases líquidas α e β é denominada $\gamma^{\alpha\beta}$. Imagine a interface entre essas duas fases com área unitária. Se separarmos essas fases, nós teremos uma unidade de área de uma superfície da fase pura α e uma unidade de área da superfície da fase pura β com energia de Gibbs $\gamma^{\alpha\alpha}$ e $\gamma^{\beta\beta}$, respectivamente, onde α representa a fase ar. A Figura 7 apresenta um esquema ilustrativo das fases líquidas α e β de áreas unitárias separadas e suas tensões de interfaces.

Figura 7 – Esquema ilustrativo do trabalho de adesão [18].

O trabalho de adesão entre as fases líquidas W_A^{sl} é dado por:

$$W_A^{sl} = \gamma^{sa} + \gamma^{la} - \gamma^{sl} \quad (9)$$

Historicamente esta equação inclui as definições de Athanas e Dupré, em 1869, em um trabalho de adesão para dois líquidos imiscíveis em contato [49]. Baseado nesta equação podemos descrever uma relação trigonométrica entre o ângulo θ e as forças atuando na gota líquida em equilíbrio mecânico, em uma superfície sólida (Fig. 8).

Figura 8 – Esquema ilustrativo de uma gota de um líquido sobre um sólido e a variação da área da interface devido a uma deformação [18].

Então, quando a superfície líquida é ligeiramente deformada ocorre um aumento de dA_{sl} na área de interface sólido-líquido. Logo, a variação da energia de Gibbs pode ser expressa matematicamente como [49]:

$$dG = \gamma^{sl}dA_{sl} + \gamma^{sa}dA_{sa} + \gamma^{la}dA_{la} \quad (10)$$

Pela substituição de $dA_{sa} = -dA_{sl}$ e $dA_{la} = dA_{sl}\cos\theta$ em (10), obtemos:

$$dG = (\gamma^{sl} + \gamma^{sa} + \gamma^{la}\cos\theta)dA_{sl} \quad (11)$$

Desta forma, podemos definir o parâmetro de espalhamento S para o líquido no sólido como o negativo da razão da variação da energia de Gibbs pela variação da área sólido-líquido, como mostrado a seguir [49]:

$$S = \frac{dG}{dA_{sl}} = \gamma^{sl} + \gamma^{sa} + \gamma^{la}\cos\theta \quad (12)$$

Assim, o ângulo de contato de uma gota líquida em uma superfície sólida pode ser determinado pelo equilíbrio mecânico da ação de três tensões interfaciais, ou seja, tensão superfície líquido-ar, γ^{la} , a tensão superfície sólido-ar, γ^{sa} , e a tensão sólido-líquido, γ^{sl} . Esse equilíbrio pode ser expresso como se segue [49]:

$$\cos\theta = \frac{\gamma^{sa} - \gamma^{sl}}{\gamma^{la}} \quad (13)$$

Esta equação é usualmente referenciada como equação de Young, onde θ é denominado de ângulo de contato.

Combinando (9) com (13) obtemos a Equação de Young-Dupré [49]:

$$W_A^{sl} = \gamma^{la}(1 + \cos\theta) \quad (14)$$

Através desta equação podemos determinar o ângulo de contato θ e a tensão superficial do líquido γ^{la} . Então, se o ângulo de contato for igual a zero ($\theta = 0$) o trabalho de adesão sólido-líquido $W_A^{sl} = 2\gamma^{la}$ será igual ao trabalho de coesão do líquido $W_c^l = 2\gamma^{la}$. Sendo assim, o líquido molhará completamente a superfície. Por outro lado, se o ângulo de contato for menor ou igual a 90° a superfície tenderá a molhar mais facilmente. Para $\theta > 90^\circ$ não haverá dispêndio de energia para separar o sólido do líquido, então o líquido não molhará a superfície do sólido. Um esquema ilustrando cada caso é mostrado na Fig. 9.

Figura 9 – Ilustração dos ângulos de contato formados sobre uma gota líquida e uma superfície sólida lisa [47].

Nosso objetivo neste trabalho foi desenvolver superfícies rugosas com características hidrofílicas para a combinação sólido-líquido. De acordo com Wenzel e mais tarde Cassie e Baxter, existem dois possíveis modelos para regimes de molhamento em uma superfície rugosa: interface homogênea (Wenzel) e interface composta (Cassie-Baxter) [50]. Um resumo desses modelos é apresentado a seguir.

2.5.1 Modelo de Wenzel

Wenzel formulou um modelo que considera toda a superfície sólida da interface sólido-líquido, a qual ele denominou como superfície real. Segundo Wenzel, a área da interface sólido-

líquido é maior do que a área observada da geometria aparente (Fig. 10a) [51]. Logo, o líquido preenche as ranhuras da superfície rugosa (Fig. 10b), formando um contato molhado.

Figura 10 – Ilustração de uma gota líquida sobre uma superfície (a) lisa e (b) rugosa preenchendo as ranhuras. θ_r é o contato aparente e, θ_e é o ângulo de contato intrínseco

Considerando-se que o equilíbrio entre a superfície e as tensões interfaciais na direção horizontal é dado pela equação de Young (eq. 13), o ângulo de contato de uma gota líquida sobre uma superfície rugosa pode ser escrito como:

$$\cos \theta_r = \frac{r(\gamma^{sa} - \gamma^{sl})}{\gamma^{la}} \quad (15)$$

onde, r é o coeficiente de rugosidade e se refere a razão da área da interface sólido-líquido pela projeção horizontal da área de contato. Logo, a relação entre o ângulo de contato aparente, θ_r , de uma gota líquida sobre uma superfície sólida rugosa e o ângulo de contato intrínseco θ_e , é dado pela eq. (16) combinada com as Eqs. (13 e (15):

$$\cos \theta_r = r \cos \theta_e \quad (16)$$

Se a superfície em questão for perfeitamente lisa, o ângulo de contato aparente é igual ao ângulo de contato intrínseco (Fig. 10) [51]. Segundo Wenzel, a rugosidade em uma superfície reforça as propriedades de molhamento do sólido [51]. Isto é, se uma superfície lisa é hidrofílica, o líquido tenderá a se espalhar mais rapidamente na superfície rugosa. No entanto, se a superfície lisa for hidrofóbica, ela tenderá a repelir a água se ela for rugosa [51].

2.5.2 Modelo de Cassie-Baxter

Baseado nas investigações de Wenzel sobre como uma superfície rugosa pode influenciar no ângulo de contato aparente, Cassie-Baxter estenderam esta investigação para superfícies porosas [52]. Eles consideram a existência de bolhas de ar no interior dos poros, por baixo do líquido. Neste contexto, o líquido não molha a área de contato da superfície rugosa, como ilustrado na Fig.11. Assim, o que era chamado de interface aparente sólido-líquido é na verdade uma interface composta por sólido, líquido e ar. Com isso foi necessário desenvolver um modelo que se adequasse a essa nova situação, ou seja, que poderia se aplicado também a superfícies porosas [52].

Figura 11 – Ilustração de uma superfície rugosa com uma gota líquida, não preenchendo as ranhuras.

Para a formulação do modelo do ângulo de contato aparente para superfícies rugosas, Cassie-Baxter consideraram que a energia líquida E_D gasta para formar a unidade de área geométrica da interface é [52]:

$$E_D = f_1(\gamma^{ls} - \gamma^{sa}) + f_2\gamma^{la} \quad (17)$$

f_1 é a área total da interface sólido-líquido e f_2 é a área da interface líquido-ar. Se considerarmos θ_a como o ângulo de contato intrínseco (ângulo de contato da superfície lisa) para a interface sólido-líquido, como a seguir [52]:

$$\cos \theta_a = (\gamma^{sa} - \gamma^{sl})/\gamma^{la} \quad (18)$$

a Eq. 17 torna-se

$$E_D = \gamma^{la}(f_2 - f_1 \cos \theta_a) \quad (19)$$

Logo, a Eq. (19) pode ser escrita como:

$$\cos \theta_a = E/\gamma^{la} \quad (20)$$

sendo, E , a energia líquida gasta para formar a unidade de área geométrica da interface sólido-líquido. Desde modo, Cassie-Baxter chegaram na expressão para ângulo de contato aparente de uma superfície rugosa θ_D , como segue [52]:

$$\cos \theta_D = -\frac{E}{\gamma^{la}} = f_1 \cos \theta_a - f_2 \quad (21)$$

A Eq. 21 é proposta na literatura para ser usada no caso de superfícies hidrofóbicas, ou seja, $\theta > 90^\circ$.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo, descrevemos as diferentes amostras poliméricas utilizadas neste trabalho, bem como o modo de preparo de cada uma.

3.1 MEH-PPV

Polímero conjugado é o nome dado à classe de polímeros cuja cadeia principal é caracterizada pela alternância de ligações simples e duplas. Devido às suas excelentes propriedades fotoluminescentes e eletroluminescentes, tem sido demonstrado que estes materiais são tecnologicamente ativos, sendo, portanto, bastante promissores para o desenvolvimento de uma grande variedade de dispositivos fotônicos e optoeletrônicos, tais como chaves ópticas, diodos emissores de luz (PLEDs), células eletroquímicas emissoras de luz (LECs), transistores de efeito de campo (FETs), células fotovoltaicas, sensores fotossensíveis, etc [53-55].

O poli(fenilenovinileno) (PPV), foi um dos primeiros polímeros eletroluminescentes aplicados na fabricação de dispositivos, sendo ainda um dos mais estudados atualmente. Esse polímero tem a desvantagem de apresentar baixa solubilidade em solventes orgânicos comuns e, portanto, menor versatilidade de processamento, principalmente na forma de filmes finos. Para solucionar tal problema e facilitar a fabricação de dispositivos orgânicos, foram adicionados grupos laterais na cadeia do PPV, dando origem a uma vasta família de polímeros. Dentre eles, o poli(2-metoxi-5-(2'etilhexiloxi)-p-fenilenovinileno) (MEH-PPV) é sem dúvida um dos mais famosos e aplicados em dispositivos, apresentando boa solubilidade na maioria dos solventes orgânicos [56]. A Fig. 12 ilustra a fórmula estrutural do MEH-PPV.

Figura 12 – Estrutural química do polímero conjugado MEH-PPV.

Neste trabalho, estudamos os processos de microfabricação com pulsos de fs em filmes do polímero MEH-PPV, determinando a influência da energia dos pulsos e velocidade de translação nas estruturas obtidas.

3.1.1 Filmes de MEH-PPV

Para a microfabricação do polímero MEH-PPV, foram empregadas duas metodologias para produção de filmes produzidos por soluções e métodos diferentes. Na primeira delas, os filmes foram obtidos pelo método de casting: o MEH-PPV (Sigma-Aldrich) foi previamente dissolvido em concentração 5 mg/mL em clorofórmio. Em seguida, a solução foi depositada em um recipiente de teflon contendo substratos de vidro e armazenada a temperatura ambiente, em atmosfera saturada de clorofórmio, para garantir a boa uniformidade dos filmes durante o processo de secagem, e protegidos da luz para evitar fotodegradação. Os filmes obtidos apresentaram espessura de 14 μm . A vantagem deste método é que possibilita a obtenção de filmes bastante espessos, os quais podem ser utilizados para microfabricação volumétrica. Um esquema ilustrativo das etapas de preparação destes filmes é apresentado na Fig. 13.

Figura 13 – Esquema ilustrativo do processo de produção de filmes de MEH-PPV.

A segunda amostragem de filme foi produzida com intuito de avaliar as propriedades ópticas das regiões microfabricadas. Primeiramente, o MEH-PPV foi dissolvido em concentração de 8 mg/mL em clorofórmio e, em seguida, a solução permaneceu em agitação por 20 minutos a 50 °C. Depois de filtrada com algodão, a solução foi depositada em substratos de vidros pelo método de *spin coating* (otimizado com 1000 rpm por 30 segundos). Foram obtidos filmes com 280 nm de espessura.

3.1.2 Produção do dispositivo eletroluminescente baseado no polímero MEH-PPV

A descoberta da eletroluminescência no poli(p - fenilenovinileno)(PPV) no ano de 1990, despertou um crescente interesse por pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de dispositivos emissores de luz utilizando polímeros conjugados como material ativo, bem como estudos em busca da melhor compreensão acerca da física e química envolvidas, tanto na fabricação quanto na operação desses dispositivos [57].

A estrutura típica, e mais simples, de um dispositivo polimérico emissor de luz consiste de uma fina camada polimérica depositada entre um eletrodo transparente e um eletrodo metálico. O óxido de estanho e índio (ITO) é o eletrodo transparente comumente utilizado em dispositivos poliméricos por apresentar alta condutividade e transparência na região visível do espectro. Este eletrodo é utilizado como injetor de portadores de carga positiva, comumente conhecidos como buracos. Para a injeção de portadores de carga negativa, diversos materiais podem ser utilizados, como por exemplo, o Alumínio (Al), o Cálcio (Ca) e o Magnésio (Mg).

Nestes dispositivos uma tensão elétrica é aplicada entre os eletrodos. O ITO é positivamente polarizado, e através dele ocorre a injeção de buracos; o metal polarizado negativamente injeta elétrons. Dois portadores de cargas opostas formam na estrutura molecular conjugada em uma interação coulombiana, deformando a cadeia e formando um éxciton molecular (estado singlete). Pela sua estabilidade energética, o éxciton decai radiativamente emitindo luz, dando origem ao fenômeno conhecido como eletroluminescência.

Neste trabalho, visando demonstrar as potencialidades da técnica de microfabricação a laser nas aplicações em sistemas poliméricos baseados em dispositivos fotônicos, nós confeccionamos um dispositivo eletroluminescente. Para preparar os dispositivos, seguimos um método simples e eficaz. Esse método consistiu primeiramente em limpar os substratos de vidro/ITO com acetona e álcool isopropílico, para retirada de eventuais produtos orgânicos adsorvidos pela superfície. Em seguida, para proteger a área de interesse, uma fita adesiva foi colocada sobre a região central, na superfície da camada do ITO. Uma suspensão de pó de Zinco em água foi espalhada sobre a superfície do substrato e, após os substratos estarem secos, eles foram imersos em solução aquosa de ácido clorídrico 1 Mol.L^{-1} por cerca de 30 segundos. Após a superfície do ITO não protegida pela fita ser corroída, todo o óxido foi removido da superfície do vidro. Por último, os substratos foram lavados com acetona e álcool isopropílico em ebulição e, posteriormente, secos em nitrogênio. Como resultado, a região do ITO que foi protegida com o adesivo permaneceu na amostra, enquanto que em toda a superfície de vidro restante ele foi removido.

Para a produção de filmes de MEH-PPV, foi preparada uma solução de MEH-PPV dissolvendo o mesmo em clorofórmio em concentração 4 mg/ml . Essa solução permaneceu em agitação durante 20 minutos a 50°C , e em seguida foi filtrada para remoção de impurezas. Depositamos a solução resultante sobre substratos de vidros recobertos com ITO pelo método de *spin coating* a 1000 rpm por 30 segundos, sendo obtidos filmes poliméricos de 70 nm de espessura. Após a obtenção dos filmes, através do sistema laser composto por espelho de varreduras (Fig. 19), foram fabricadas estruturas na superfície do mesmo. Finalmente, foi evaporado Alumínio (eletrodo metálico) sob o filme polimérico usando uma máscara de sombra. O Alumínio foi evaporado em uma pressão de 10^{-6} mbar em uma taxa de evaporação de $1,0 \text{ Å/s}$. A espessura média dos eletrodos de alumínio foi de 70 nm e a área ativa do dispositivo obtido foi de 10 mm^2 . A Fig. 14 exemplifica a sequência de todo o processo de produção do dispositivo (decapagem, tratamento químico, limpeza do substrato, deposição do filme, microfabricação das estruturas e a evaporação da camada de Alumínio como eletrodo metálico).

Figura 14 – Esquema ilustrativo da sequência dos procedimentos para desenvolvimento do dispositivo.

Nós produzimos duas amostragens de dispositivos usando os mesmos procedimentos de produção, mas microfabricações diferentes. A primeira amostragem foi microfabricada apenas linhas sob a superfície do filme polimérico. A segunda amostragem de dispositivo foi produzida como o objetivo demonstrar a potencialidade da técnica, a qual permite fabricar estruturas com geometrias complexas. Assim, nesta etapa do trabalho, nós produzimos dispositivos com o acrônimo da Universidade de São Paulo (USP) escrito na superfície do filme polimérico.

3.2 Quitosana

Outros tipos de materiais poliméricos têm também despertado muita atenção nos últimos anos devido a características distintas, como por exemplo, biocompatibilidade, biodegradabilidade e atoxicidade, o que permite que eles sejam aplicados na indústria farmacêutica e biomédica [58-60]. As mais importantes aplicações biomédicas de polímeros biodegradáveis são nas áreas de sistemas de entrega controlada de fármacos, implantes e dispositivos para a reparação de fraturas, reconstrução de ligamentos e curativos cirúrgicos [60-64]. Em outras aplicações, podem ser usados polímeros não biodegradáveis como, por exemplo,

válvulas artificiais do coração, lentes de contato, marca-passos cardíacos, enxertos vasculares, substitutos traqueais, e regeneração de órgãos [65-67].

Um dos materiais poliméricos que vem sendo bastante explorado pela comunidade científica mundial é a quitosana, um biopolímero funcional derivado da quitina, o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, depois da celulose [68-73]. A quitosana é obtida a partir da reação de desacetilação da quitina, que se encontra presente principalmente no exoesqueleto de crustáceos marinhos como, por exemplo, camarão, caranguejo e lagosta [73]. Durante a reação de desacetilação, os grupos acetamido ($-\text{NHCOCH}_3$) da quitina são transformados, em graus variados, em grupos amino ($-\text{NH}_2$), dando origem a quitosana [73]. A Fig. 15 ilustra a estrutura química da quitina e da quitosana.

Figura 15 – Ilustração da fórmula estrutural da quitina e da quitosana, mostrando as mudanças que originam a quitosana.

Os grupos aminos livres que compõem a cadeia da quitosana adquirem carga positiva na presença de soluções ácidas diluídas, conferindo propriedades surpreendentes a quitosana, das quais se destaca a capacidade de ligação. Muitos materiais que possuem cargas negativas, como por exemplo, as proteínas, ácidos nucleicos, ácidos graxos e outros, são capazes de estabelecer interações com a quitosana carregada positivamente [73]. Esta importante propriedade permite que a quitosana seja amplamente aplicada, como mencionado anteriormente, em áreas farmacêuticas, alimentícia e biomédica [60-74]. Podemos listar outras interessantes propriedades benéficas da quitosana, as quais incluem: anti-tumoral, antifúngico,

antibacteriano e anti-inflamatória [68-72]. A atividade anti-microbiana da quitosana contra diferentes grupos de microrganismos, tais como bactérias, levedura e fungos, tem recebido considerável atenção nos últimos anos [68-75]. Dois principais mecanismos têm sido sugeridos como sendo a causa da inibição de células microbianas pela quitosana, sendo o mais aceito a interação entre carga positiva da quitina/moléculas de quitosana e membranas de célula microbiana, carregada negativamente [73]. Neste caso, a interação é mediada por forças eletrostáticas entre grupos protonados do tipo NH_3^+ e os resíduos negativos na superfície dos microrganismos [73].

Desta forma, em virtude da grande importância deste biopolímero, neste trabalho investigamos a influência da irradiação laser de femtossegundos na superfície de filmes de quitosana, determinando os parâmetros ótimos para sua estruturação. Para demonstrar a funcionalidade das amostras microestruturadas, estas foram usadas para investigar o desenvolvimento de células microbianas.

3.2.1 Filmes de quitosana

Filmes de quitosana com espessura de aproximadamente 100 nm foram obtidos a partir da dissolução de 4,0% de quitosana (Galena Química e Farmacêutica Ltda, Brasil) purificada (em massa) em solução aquosa ácida (ácido acético). Esta solução foi depositada em substratos de vidros pelo método de *spin coating* (otimizado com 1000 rpm por 30 segundos). Estas amostras foram utilizadas no estudo acerca da estruturação com pulsos de fs.

Filmes com 3,0 μm de espessura foram obtidos a partir da dissolução de 4,0% de quitosana purificada (em massa) em solução aquosa ácida (ácido acético) e depositados em substratos de vidro, pelo método *casting*. Estas amostras foram utilizadas para estudar o desenvolvimento de biofilme de *Staphylococcus aureus* em superfícies microestruturadas com pulsos de fs.

3.2.2 *Staphylococcus aureus*

Os filmes de quitosana microestruturados foram submetidos a testes para avaliar o desenvolvimento de biofilme de *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) é uma bactéria esférica do grupo dos cocos gram-positivos, com diâmetro de 0,5-1,0 μm e, caracterizada por se dividir formando grupos que se assemelham a cachos de uva [76]. Essa bactéria pode viver tanto em meios aeróbios, usando oxigênio, ou anaeróbios através de

fermentação, mas crescem muito mais rápido aerobicamente. Ela é uma bactéria que coloniza preferencialmente o corpo humano, frequentemente encontrada na pele e nas fossas nasais de 20 a 30% da população [76, 77, 78]. Entretanto, pode provocar doenças que vão desde uma simples infecção (espinhas e furúnculos) até infecções graves (meningite, seps e, endocardite, pneumonia etc) [78]. Além disso, *S. aureus* está entre os maiores agentes causadores de infecção comunitária e hospitalar em todo o mundo [79]. Algumas das principais fontes de contaminação são os equipamentos e superfícies de materiais, podendo sobreviver por algumas semanas e em alguns casos, por meses [80].

A maturação de biofilme é um processo de desenvolvimento complexo que envolve vários estágios, cada um com características únicas que devem ser consideradas na concepção de estratégias para o tratamento de biofilme como, por exemplo, com antibióticos. Um diagrama representativo ilustrando os diferentes estágios de formação de um biofilme é mostrado na Fig. 16. Observe que após o processo de adesão de bactérias, que ocorre de forma isolada em uma superfície (Fig. 16a), pequenas colônias se formam. A formação de colônias de bactérias pode ocorrer em poucas horas e, por serem tolerantes a agentes antimicrobianos, tanto a antibióticos como meticilina e vancomicina, quanto a desinfetantes, são difíceis de serem removidas (Fig. 16b) [80, 81]. A densidade e complexidade do biofilme (característica gelatinosa) aumentam à medida que as células se dividem (ou morrem), formando várias camadas espessas, e os componentes extracelulares produzidos pelas bactérias interagem com moléculas orgânicas e inorgânicas do ambiente circundante para formar uma matriz extracelular, composta por polissacarídeos, proteínas, ácidos nucleicos e lipídios (Fig. 16c), e assim conseguir o amadurecimento da formação do biofilme (Fig. 16d). Quando o biofilme atinge uma determinada massa crítica e o equilíbrio dinâmico é alcançado, as camadas mais externas do biofilme começam a liberar células em estado planctônico (células livres), que podem rapidamente se dispersar e multiplicar, colonizando novas superfícies e organizando novos biofilmes em outros locais (Fig. 16e) [79, 82]. As células contidas em biofilmes são 10-1000 vezes mais resistentes aos efeitos de vários agentes antimicrobianos quando comparadas às mesmas bactérias cultivadas de forma isolada (estado planctônico), tornando difícil erradicar a infecção [79].

Figura 16 – Ilustração dos vários estágios de desenvolvimento de biofilme: (a) fixação, (b) multiplicação e formação de colônias, (c) aumento da densidade de colônias, (d) maturação e (e) dispersão de bactérias [79].

3.2.3 Testes de desenvolvimento de biofilme

Os testes de desenvolvimento de biofilme foram realizados em colaboração com a Prof^a. Carla Raquel Fontana da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCFAR), Universidade Estadual Paulista (UNESP). Para comparação, filmes de polimetilmetacrilato de metila (PMMA), microestruturados nas mesmas condições empregadas para as amostras de quitosana, também foram testados. Os filmes de PMMA foram obtidos dissolvendo 10% de PMMA (Sigma-Aldrich) (em massa) em Clorofórmio e depositados em substratos de vidro, pelo método *casting*.

Para os testes, as amostras de quitosana e PMMA microestruturadas foram colocadas em recipientes específicos para crescimento de bactérias (placas com 24 poços) contendo meio de cultura TSB (*TrypticSoyBroth*). Cerca de aproximadamente $1,0 \times 10^8$ UFC/mL (UFC/mL = unidade de formação de colônias por mL) de *S. aureus* foram adicionados em cada poço para o desenvolvimento do biofilme *in vitro*. A incubação do biofilme foi feita em aerobiose a 36,5°C por quatro dias. Nas primeiras 48 horas de incubação não foi realizada nenhuma troca de meio. Após o período de desenvolvimento do biofilme, as amostras foram retiradas dos poços e analisadas por microscópio óptico. Um conjunto de amostras foram secas em dessecador com sílica por 72 horas e, analisadas em microscópio eletrônico de varredura (Hitachi TM3000 *Scanning Electron Microscope*) operado em 15 KV.

3.3 Poliuretano

Poliuretano (PU) é um polímero constituído por uma cadeia de unidades orgânicas unidas por ligações uretânicas, podendo ser extraído de petróleo e óleos vegetais como, por exemplo, do óleo da semente da mamona (*Ricinus communis*) [83]. O primeiro relato sobre o desenvolvimento dos poliuretanos é atribuído ao químico industrial alemão Otto Bayer, que junto com seus colaboradores foi capaz de produzir os primeiros poliuretanos de aplicação comercial [83]. A origem de poliuretano remonta ao início da Segunda Guerra Mundial, quando foi desenvolvido pela primeira vez para ser um substituto para a borracha [84]. A Fig. 17 mostra a estrutura química de poliuretano formada pela união de dois monômeros de uretano (em azul).

Figura 17 – Ilustração da estrutura química de poliuretano composto por grupos uretanos (destacados pela cor azul).

Os poliuretanos podem ser sintetizados com diferentes variedades de estruturas, sendo possível obter as mais diversas propriedades [83]. Dessa forma, é possível encontrar poliuretanos com comportamento típico, por exemplo, de material rígido, elastomérico e expandido. Além disso, no que diz respeito à estrutura interna, é possível desenvolver

poliuretanos que apresentam características tanto termoplásticas quanto termofixas [85]. Como material com fins tecnológicos, atualmente existe um vasto campo de aplicações de poliuretano na indústria, abrangendo desde a produção de plásticos para dispositivos eletrônicos, até o desenvolvimento de órgãos artificiais e sistemas de entrega de drogas (medicamentos) [86]. O primeiro relato do uso do poliuretano em aplicações biomédicas foi publicado em 1969 [87]. Nesse trabalho, o poliuretano foi explorado especificamente para a produção de válvulas cardíacas. Alguns anos mais tarde, mais precisamente no ano de 1967, uma classe de poliuretanos segmentados foi desenvolvida, mostrando boa biocompatibilidade e excelente flexibilidade em soluções biológicas, confirmando, portanto, a sua aplicabilidade como material protético em diversas circunstâncias [88].

Existe uma grande importância em relação ao emprego de poliuretano em dispositivos médicos. Dependendo de propriedades, como por exemplo, a dureza e a rigidez, eles podem ser empregados com diferentes finalidades [83]. Por serem vastamente utilizados na área cardiovascular, os poliuretanos precisam conter propriedades compatíveis com o sangue [83]. Esse tipo de propriedades abre oportunidades para que, eventualmente, esse polímero também seja aplicado na confecção, por exemplo, de bolsas de sangue e cateteres vasculares e, pequenos enxertos vasculares e reconstrução artificial, que tem demonstrado sua versatilidade e sua aplicação usada clinicamente com sucesso [83].

Neste trabalho, investigamos a influência da densidade de energia (fluência) do laser com duração de pulso na faixa de nanossegundos, sobre as características do polímero. Por meio do uso da técnica padrão de interferência laser, produzimos microestruturas na superfície de membranas de poliuretano, visando o desenvolvimento de substratos para crescimento de tecido vascular. Nesta investigação, empregamos poliuretanos derivado de óleo vegetal com estrutura compatível com o sistema biológico. Esse tipo de poliuretano é considerado um material atóxico, por não liberar substâncias prejudiciais aos organismos vivos [83]. Além disso, este poliuretano faz parte uma classe de polímeros à base de moléculas oriundas de óleo de mamona, desenvolvido em 1984 por pesquisadores da Universidade de São Paulo, sendo mais tarde aprovado pelo Ministério da Saúde do Brasil como biomaterial [83]. No ano de 2003, este material foi atestado pela agência do governo norte-americano responsável pela liberação de novos alimentos e medicamentos – Food and Drug Administration (FDA). Os biomateriais aprovados nos testes realizados pelo FDA abriram caminho para o mercado mundial na área da saúde e, garantiram a visibilidade científica e comercial dos mesmos [83].

3.3.1 Membranas de poliuretano

Neste trabalho foram utilizadas membranas de poliuretano de óleo vegetal em forma de disco com 5,0 cm de diâmetro e 1,0 mm de espessura. As membranas foram fornecidas pelo Instituto do Coração (InCor), da Universidade de São Paulo e, utilizadas como recebidas.

4 SISTEMAS DE MICROFABRICAÇÃO

Neste capítulo, descrevemos os sistemas experimentais empregados e os métodos referentes ao processo empregado para a produção das microestruturas. Por fim, é feita uma breve descrição das técnicas utilizadas para caracterização das amostras.

4.1 Sistemas de microfabricação com pulsos de fs e estágios de translação

Para microfabricar os filmes de MEH-PPV e a primeira amostragem de dispositivos, usamos o sistema de microfabricação constituído por estágios de translação controlados via *software* (Fig. 18). Este sistema possibilita escrever com o feixe laser estruturas com geometrias simples em diferentes materiais. O aparato experimental, basicamente, consiste em um laser Ti:Safira emitindo pulsos 50 fs centrados em 800 nm (operando a uma taxa de repetição de 5.2 MHz), uma lente, uma lente objetiva de microscópio (40x - NA 0.67), uma câmera CCD, dois espelhos e um porta-amostra fixado em estágios de translação (x, y, z), cujos movimentos são controlados via computador. O movimento do porta-amostra no eixo x é feito manualmente por meio de um micrômetro localizado em uma das laterais da placa metálica, atrás do porta-amostra. A iluminação da amostra é feita por um LED fixado dentro do porta-amostra, o que facilita a visualização das microestruturas. Para amostras que não são transparentes, fixamos um LED na lateral do porta-amostra, de tal forma que a imagem é feita por reflexão. A sequência do procedimento experimental pode ser mais bem compreendida pelo esquema apresentado na Fig. 18, onde o feixe laser está representado pela linha vermelha. Basicamente, o procedimento para microfabricação e estruturação no sistema é o seguinte: (I) o feixe laser é focalizado sobre a superfície da amostra através de uma objetiva de microscópio; (II) a amostra é transladada por estágios de translação acionados por motores de passos controlados por computador; (III) estruturas predefinidas são criadas na amostra; (IV) a imagem da microfabricação é capturada pela câmera CCD em tempo real e (V) visualizada no computador. Nesse sistema a amostra foi transladada a uma velocidade constante em relação ao feixe laser, produzindo microranhuras na superfície da mesma. A potência do feixe laser foi medida usando um medidor de potência.

Figura 18 – Esquema do sistema de microfabricação e estruturação por ablação a laser: (I) feixe laser, (II) objetiva de microscópio, (III) estruturas pré-definidas sendo microfabricadas, (IV) câmera CCD e (V) imagem visualizada no computador.

Para a primeira amostragem de filmes de MEH-PPV, foram escritas estruturas de linhas com 1,5 mm de comprimento e espaçadas por 15 μm . Para microfabricar essas linhas foram empregadas velocidades de translação de 25, 50 e 75 $\mu\text{m/s}$ e energias de pulso de 0,2-2,0 nJ. A caracterização das linhas foi feita empregando técnicas de microscopia óptica e de força atômica. Já a segunda amostragem de filmes foi microfabricada (áreas de 2,5 x 2,5 mm) com linhas espaçadas por 4,0 μm , formando estruturas de grade. Para a microfabricação foi empregada velocidade de translação de 50 $\mu\text{m/s}$ e energias de pulso de 0,6-2,0 nJ. Quanto aos dispositivos, na primeira amostragem, estruturas de linhas simples de 500 μm de comprimento espaçadas por 12 μm foram escritas sobre os filmes poliméricos, usando energia de pulso de 0,8 nJ, a uma velocidade de translação 75 $\mu\text{m/s}$.

Também utilizamos este sistema para produzir microestruturas na superfície de filmes de quitosana. A primeira amostragem de filme de quitosana usando uma objetiva de 40x (NA - 0.67) e velocidade de translação 100 $\mu\text{m/s}$, empregando diferentes energias de pulso do laser, no intervalo de 3,8 a 21,0 nJ. Já na segunda amostragem, produzida para estudos de molhabilidade, uma área com dimensões 3,0 mm² foi microestruturada na superfície de filme de quitosana. Essa área foi microestruturada usando uma objetiva de 40x (NA - 0.67), empregando energia de pulso do laser 30,0 nJ, velocidade de translação 100 $\mu\text{m/s}$ e periodicidade de 10,0 μm (periodicidade das microestruturas). Na terceira amostragem de

quitosana, produzida com o objetivo de investigar a formação de biofilme em superfícies de materiais poliméricos, microambientes com dimensões de $500\text{ }\mu\text{m}^2$ foram produzidos na superfície de filme de quitosana. Esses microambientes (quadrados) foram preenchidos por linhas fabricadas com diferentes periodicidades (variando de $4,0$ a $12,0\text{ }\mu\text{m}$). As linhas foram produzidas usando uma objetiva de $40\times$ (NA - 0.67), energia de pulso do laser $10,0\text{ nJ}$ e velocidade de translação $30,0\text{ }\mu\text{m/s}$. Para efeito de comparação, também fabricamos microambientes em filmes de PMMA empregando os mesmos parâmetros, utilizados para microfabricar os microambientes em filmes de quitosana. Todas as microfabricações foram conduzidas em condições de pressão e temperatura ambiente.

4.2 Sistema de microfabricação com pulsos de fs e espelhos de varredura

Para microfabricar a segunda amostragem de dispositivos, usamos o sistema de microfabricação constituído de espelhos de varredura que, como dito antes, permite produzir estruturas mais complexas como, por exemplo, o acrônimo da Universidade de São Paulo (USP), que foi escrito na superfície do filme de MEH-PPV. O esquema do sistema experimental para a microfabricação do acrônimo da USP via espelhos de varredura é ilustrado na Fig. 19. O sistema é composto pelo o mesmo sistema laser para geração dos pulsos (50 fs , 800 nm e 5.2 MHz) descrito anteriormente, um obturador, um espelho de varredura, cujos movimentos são controlados via software, uma lente e um porta amostra. Neste experimento nós empregamos uma lente comum devido a maior área disponível para a incidência do feixe laser (defletido pelo espelho de varredura), em comparação com uma objetiva de microscópio. O procedimento para microfabricação no sistema é o seguinte: (1) o feixe laser, representado pela linha vermelha na Fig. 19, primeiramente incide no obturador; (2) se este estiver aberto o feixe será defletido pelo espelho de varredura, (3) sendo focalizado na superfície da amostra através de uma lente.

Figura 19 – Esquema do sistema de microfabricação e estruturação por ablação a laser.

Uma vez que neste sistema o feixe laser não é focalizado com uma lente de microscópio, que proporciona um maior confinamento do feixe, para a realização da escrita do acrônimo foi necessário usar uma energia maior que aquela usada para microfabricar a primeira amostragem de dispositivos. Dessa maneira, o acrônimo USP foi produzido (em condições de pressão e temperatura ambiente) com energia 40 nJ e velocidade de translação de 100 $\mu\text{m/s}$. Uma ilustração da estrutura do dispositivo com a microestrutura fabricada com o laser de femtossegundos na camada polimérica é apresentada na Fig. 20. Foram obtidas medidas de corrente-tensão e intensidade de luz dos dispositivos.

Figura 20 – Estrutura do dispositivo ilustrando a microestrutura na camada polimérica (entre o eletrodo metálico e o transparente).

4.3 Sistema de microfabricação com pulsos ns e estágios de translação

Usando a técnica de Estruturação direta por interferência (DLIP), nós produzimos padrões de linhas na superfície das amostras de PU utilizando pulsos laser Nd:YAG. O comprimento de onda fundamental do laser Nd:YAG é 1064 nm, mas pode ser utilizado nos comprimentos de onda menores, com o uso de geradores de harmônicos. As amostras de PU foram irradiadas com comprimento de onda 266 nm. Este comprimento de onda foi selecionado devido à alta absorção do PU na região do ultravioleta-visível (UV) [89]. A taxa de repetição e a duração do pulso foi de 10 Hz e 8 ns, respectivamente. Um esquema do aparato experimental usado para fabricar os padrões de interferências nas amostras de PU é mostrado na Fig. 21 [90]. Como pode ser visto neste aparato, inicialmente um feixe laser primário é dividido em dois feixes iguais por um divisor de feixe (50%). Em seguida, três espelhos guiam esses dois feixes laser ao longo do sistema, recombinando-se sob a superfície da amostra de PU, originando padrões de interferência. A amostra foi posicionada em um sistema de 4 eixos (X, Y, Z, rotação), o qual permitiu através de um *software* movimentá-la e produzir uniformemente estruturas de linhas em toda a amostra. Os pulsos do laser foram controlados por um obturador mecânico. A potência do feixe do laser foi medida usando um medidor de potência.

Figura 21 – Esquema ilustrativo do sistema experimental de padrão de interferência laser usado para fabricação das amostras de PU usando a configuração de dois feixes [90].

Como ilustra a Fig. 21, os padrões de linhas foram produzidos na superfície do filme de PU usando dois feixes lasers. As periodicidades empregadas foram entre 500 nm e 5,0 μm e a fluência do laser de 0,15 e 0,58 J/cm^2 . Para calcular a fluência do laser referente a cada valor de potência, primeiramente determinamos a dimensão do dano provocado no material, o qual

está diretamente ligado à fluência do pulso incidente (F). Neste caso, consideramos a dimensão do dano como o diâmetro medido na região afetada, ou seja, o diâmetro das áreas microestruturadas (Fig. 22). O diâmetro foi medido com um microscópio óptico (Keyence VHX-100K).

Figura 22 – Imagem de microscopia óptica, mostrando a medida do diâmetro da microestrutura fabricada na membrana de PU.

Após medir o diâmetro da microestrutura, a fluência do laser foi determinada usando a Eq. 26:

$$F = \frac{P * \eta}{A * f} \quad (26)$$

onde P é a potência do feixe laser (em Watts), η é o coeficiente de correção que considera as perdas da potência no experimento, A é a área (em cm^2) do dano provocado no material e f é a frequência do laser. Todos os experimentos foram conduzidos em condições de pressão e temperatura ambiente. Os parâmetros ótimos para o processamento a laser das amostras de PU foram determinados. Uma foto de uma amostra de PU após o processo de microfabricação por DLIP é mostrado na Fig. 23.

Figura 23 – Amostra de PU após processo de microfabricação por DLIP. A potência do feixe laser (P) e a periodicidade das microestruturas estão especificadas na imagem.

4.4 Caracterização das amostras

4.4.1 Amostras de MEH-PPV

As microestruturas produzidas na superfície dos filmes de MEH-PPV foram analisadas por microscopia óptica e de força atômica. Para as medidas de largura das microestruturas utilizamos um microscópio óptico da marca Zeiss modelo LSM 700, com uma câmera CCD acoplada. Para as análises de superfície como, por exemplo, rugosidade e profundidade das microestruturas, foi utilizado um microscópio de Força Atômica (AFM, atomic force microscopy), da marca Nanosurf EasyScan, modelo 2 FlexAFM, configurando para trabalhar no modo de não-contato. As imagens AFM foram analisadas através do software livre *Gwyddion*, possibilitando a avaliação de parâmetro, como por exemplo, a rugosidade. Nós também analisamos as propriedades ópticas das amostras por espectroscopia de absorção na região do UV-VIS. Para isso foi usado um espectrofotômetro UV-Vis (marca Shimadzu, modelo UV-1800). As medidas de corrente-tensão foram realizadas utilizando um medidor Keithley (modelo 2400) e a intensidade da luz foi obtida com um fotodiodo de silício calibrado, mediante uma varredura de tensão de 0 a 12 V.

4.4.2 Caracterização das amostras de Quitosana

As microestruturas produzidas na superfície dos filmes de quitosana foram analisadas por microscopia óptica (microscópio da marca Zeiss modelo LSM 700) e de força atômica (Nanosurfe EasyScan 2 FlexAFM). Após os testes de desenvolvimento de biofilme, as amostras de quitosana e PMMA foram analisadas por um microscópio eletrônico de varredura (Hitachi TM3000 Scanning Electron Microscope) operado em 15 kV. Os ângulos de contato foram medidos com ajuda de um tensiômetro da marca KSV Instruments (modelo CAM 200). A imagem da gota de água destilada (3,0 μL) depositada nas superfícies da amostra foi capturada usando uma câmera CCD. A partir desta imagem o ângulo de contato foi medido por meio de um software da mesma marca que o tensiômetro.

4.4.3 Amostras de PU

As superfícies de membranas de PU microestruturadas foram analisadas por meio de um microscópio eletrônico de varredura (Jeol JSM 6610LV) operando com 5 kV. Para melhorar a visualização das microestruturas, as superfícies das amostras foram recobertas com uma camada de grafite. A morfologia e a profundidade das microestruturas foram determinadas por meio de um microscópio de força atômica (JEOL JSPM-5200) e um microscópio óptico (Leica DCM 3D). As medidas de AFM foram conduzidas no modo contato. O diâmetro das áreas microestruturadas foram medidas através de um microscópio óptico (Keyence VHX-100K).

Para determinar a molhabilidade da superfície das amostras após o processo de microestruturação, e determinar os efeitos da rugosidade sobre a hidrofiliabilidade, medimos o ângulo de contato estático com água nas direções paralela e perpendicular às microestruturas (linhas). O equipamento utilizado para a determinação do ângulo de contato foi um tensiômetro da marca Surftens 2.0 (OEG GmbH, Frankfurt/Mai). A imagem da gota de água destilada (2,5 μL) depositada nas superfícies da amostra foi capturada usando uma câmera CCD. A partir desta imagem o ângulo de contato foi medido por meio de um software também da marca Surftens. Todo o processo de microfabricação e caracterização das amostras de PU microestruturadas foi realizado no Instituto Fraunhofer IWS, em Dresden, Alemanha.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Caracterização das estruturas microfabricadas em filmes de MEH-PPV

A Fig. 24 apresenta imagens das linhas (1,5 mm de comprimento e separadas por 20 μm) microfabricadas na superfície de filmes de MEH-PPV usando diferentes energias de pulso (0,2-2 nJ) e velocidade de translação (25; 50 e 75 $\mu\text{m/s}$), com uma objetiva de 40x (0.67 - NA).

Figura 24 – Imagens de microscopia óptica de transmissão de linhas microfabricadas em filme de MEH-PPV com diferentes energias de pulso e velocidades de translação.

Como pode ser observado na Fig. 24, o contraste da luz visível através das linhas aumenta com a energia de pulso. Para o grupo de linhas microfabricadas com velocidade de translação de 75 $\mu\text{m/s}$ e energia de pulso de 0,29 nJ, a menor energia empregada, não foi obtida marcação pelo laser na superfície do filme polimérico, enquanto para os grupos de linhas microfabricadas com a mesma energia mas com velocidades de 50 e 25 $\mu\text{m/s}$, verifica-se que houve a marcação no mesmo, sendo mais visível para a menor velocidade usada, ou seja, para a velocidade de 25 $\mu\text{m/s}$. Por outro lado, para todas as velocidades estudadas e com energia acima de 0,29 nJ pode-se observar leves marcações na superfície do filme. Para energias mais altas, marcações ainda mais nítidas podem ser visualizadas. Isso indica que a interação dos

pulsos laser com o polímero possui dois regimes: o limiar de mudança estrutural/morfológica, que ocorre para baixas energias e o limiar de ablação do material que ocorre quando são usadas altas energias de pulso laser, o que resulta em mudanças visíveis produzidas na superfície do filme [91-93]. Para uma velocidade de translação 75 $\mu\text{m/s}$, o limiar de energia de pulso para causar alterações estruturais na superfície da amostra é acima de aproximadamente 0,29 nJ, enquanto para as velocidades de 50 e 25 $\mu\text{m/s}$ é abaixo de 0,2 nJ [91]

Através de imagens semelhantes às mostradas na Fig. 24, foi possível investigar a dependência das larguras das linhas como função da energia de pulso. Foram produzidos três grupos de seis linhas empregando diferentes energias de pulso, com velocidades de translação variando de 25 a 75 $\mu\text{m/s}$. O perfil desta dependência é ilustrado na Fig. 25, onde cada ponto corresponde a duas medidas da largura em seis linhas produzidas com os mesmos parâmetros.

Figura 25 – Largura média das linhas em função da energia de pulso do laser.

Como pode ser observado na Fig. 25, a largura das linhas aumenta com a energia de pulso para as três velocidades de translação; quando a energia de pulso varia de 0,2 para 1,8 nJ, a largura das linhas aumenta de 0,6 para 10 μm . Sendo o limiar de energia para induzir mudanças visíveis no filme de MEH-PPV determinado como sendo em torno de 0,2 nJ

(dependendo da velocidade de translação). Este resultado mostra claramente que a interação dos pulsos laser com o polímero possui dois regimes, sendo um para altas energias e outro para baixas energias. Para avaliar o efeito da irradiação laser durante a microfabricação sobre as propriedades ópticas da do filme de MEH-PPV, foi medido a absorção de áreas ($2,5 \text{ mm}^2$ - linhas microfabricadas separadas por $4,0 \mu\text{m}$) da amostra fabricadas com diferentes energias de pulso e velocidade de translação de $50 \mu\text{m/s}$. Os espectros de absorbância obtidos em cada região microfabricada na superfície do filme, bem como para uma região que não foi microfabricada (linha preta) são apresentados na Fig. 26.

Figura 26 – Espectro de absorbância do filme MEH-PPV não microfabricado e após microfabricação com diferentes energias de pulso.

Como pode ser observado na Fig. 26, a banda de absorção centrada em torno de 500 nm, que corresponde à transição eletrônica típica de MEH-PPV ($\pi \rightarrow \pi^*$), diminui em função da energia de pulso usada para microfabricar as amostra [94]. Esta redução indica que a amostra pode ter sofrido processo de foto-degradação durante a microfabricação, induzido pela exposição à luz laser [95, 96]. As mudanças ocorridas no espectro de absorção têm sido atribuídas à foto-oxidação [97]. Devido ao MEH-PPV apresentar processos não lineares relativamente altos, com forte seção de choque de absorção de dois fótons em 800 nm, sendo transparente na região usada para a microfabricação, atribuímos o foto-branqueamento observado ao processo de foto-oxidação induzido via absorção multi-fóton do MEH-PPV. Dado

que a absorção por dois fótons é relativamente alta para o MEH-PPV, tal processo é mais provável por mecanismo de dois fótons [97, 98]. Os dados na Fig. 26 apresentam uma mudança mais pronunciada quando a microfabricação laser é realizada usando energias acima de 1,0 nJ (o limiar entre as alterações morfológicas e o processo de ablação da amostra), indicando que existe uma combinação de outros processos fotoquímicos, tais como explosão de Coulomb, expansão térmica, carbonização do polímero etc, conduzindo a degradação da amostra, como pode ser claramente visto na Fig. 26 para a amostra microfabricada com 2,0 nJ [99, 100]. Resultados semelhantes também foram observados para MEH-PPV após exposição a laser usando uma taxa de repetição distinta [5]. No entanto, a degradação da amostra após a exposição à luz laser pode ser minimizada realizando a irradiação numa atmosfera sem oxigênio. Estes resultados indicam que a escolha apropriada da energia de pulso utilizada no processo de microfabricação pode levar a um controle das alterações induzidas nas propriedades ópticas do MEH-PPV, fazendo com que tal abordagem seja útil para o processamento deste tipo de amostra.

Os distintos regimes de microfabricação a laser de fs observados para o MEH-PPV foram confirmados por microscopia de força atômica, obtidos para o grupo de linhas fabricadas com energia de pulso de 0,6 a 1,1 nJ e velocidade de translação de 25, 50 e 75 $\mu\text{m/s}$. A Fig. 27 ilustra algumas micrografias de força atômica dessas linhas.

Figura 27 – Imagens de microscopia de força atômica das linhas fabricadas em filme de MEH-PPV.

Como pode ser observado na Fig. 27, para as velocidades 50 e 75 $\mu\text{m/s}$ e energias de pulso do laser acima de 1,0 nJ ocorre a remoção de material na superfície da amostra (ablação), enquanto que para energias de pulso laser abaixo de 1,0 nJ é observado apenas a formação de uma saliência na superfície do filme polimérico (mudança morfológica). Para a amostra microfabricada com velocidade de translação de 25 $\mu\text{m/s}$, verificou-se que a formação da saliência ocorreu quando foi usado uma energia de pulso inferior a 0,6 nJ, enquanto que para as amostras microfabricadas com velocidades de translação de 50 e 75 $\mu\text{m/s}$ esta ocorreu com a energia de 0,87 nJ. A altura da saliência apresentada na estrutura fabricada com velocidade de translação de 50 $\mu\text{m/s}$ e energia de pulso laser de 0,87 nJ, é de aproximadamente 0,5 μm , enquanto que para a estrutura fabricada com velocidade 75 $\mu\text{m/s}$ foi de 0,3 μm . Resultados similares foram observados para um filme de ouro, revelando que o processo de formação da saliência ocorre devido ao aquecimento e, posterior amolecimento do filme na superfície do vidro [101]. As profundidades das estruturas produzidas com energia de pulso do laser de 1,37

nJ com velocidades de translação de 25; 50 e 75 $\mu\text{m/s}$ foram de cerca de 3,75; 3,5 e 30 μm , respectivamente. Na Fig. 28 é ilustrado um esquema ilustrativo das etapas de formação da saliência a qual, acreditamos que, provavelmente, ocorre da seguinte forma: (a) após a exposição do pulso laser de femtossegundos na superfície do filme, este é (b) radialmente aquecido pela radiação e, em seguida, fundido; (c) O material derretido apresenta densidade menor que o sólido, o que causa tensões no filme e, em seguida, sua expansão; (d) devido a limitações impostas pela lâmina de vidro e pelo material sólido, o líquido é acelerado perpendicularmente em direção contrária a lâmina de vidro, se separando dela e formando uma saliência.

Figura 28 – Mecanismo responsável pela formação da saliência no filme de MEH-PPV [101].

A partir das micrografias, como as apresentadas na Fig. 27, avaliamos a média da rugosidade em diferentes regiões da amostra, microfabricada com energia de pulso de 0,9 a 1,1 nJ e velocidade de translação de 25; 50 e 75 $\mu\text{m/s}$. Os resultados são resumidos na Fig. 29. Para a região próxima das linhas microfabricadas, a rugosidade é cerca de duas vezes maior do que a rugosidade observada em uma região distante das linhas, provavelmente devido a resíduos depositados próximos a linha durante o processo de microfabricação (ablação). Além disso, os resultados indicam um aumento da rugosidade conforme se aumenta a energia de pulso, bem como a velocidade de translação. Com o aumento da velocidade ocorre uma diminuição na dose de energia por unidade de comprimento, e o material é ejetado a partir da amostra com uma velocidade mais baixa, o que leva a uma acumulação de resíduos na vizinhança da região microfabricada, aumentando a rugosidade nesta região. Por outro lado, através da redução da velocidade a dose de energia (fluência) é aumentada e, conseqüentemente, o material ejetado é movido para mais longe da região microfabricada. Em outros trabalhos com materiais poliméricos também foi observado um aumento da rugosidade do material após irradiação com

luz laser [102]. Esta rugosidade da superfície pode ser reduzida por um tratamento térmico após o processo de microfabricação [102, 103].

Figura 29 – Regiões diferentes usadas para avaliar a rugosidade no filme de MEH-PPV após microestruturação: distante e perto das linhas microfabricadas.

5.2 Caracterização do dispositivo de MEH-PPV

Para demonstrar o potencial da técnica de microfabricação com laser de fs como método de produção de dispositivos, usamos os parâmetros aqui determinados para a microfabricação do MEH-PPV, para produzir um dispositivo eletroluminescente baseado neste polímero. Neste caso, o filme (com espessura aproximadamente de 300 nm) foi depositado sobre uma camada de ITO (depositada no substrato vidro (anodo) pelo método de deposição *spin coating*). Na Fig. 30 é apresentado um esquema ilustrativo mostrando uma foto do dispositivo com os eletrodos sobre o filme de MEH-PPV, obtidos com a evaporação de Alumínio. A direita da foto é mostrada uma imagem de microscopia óptica (no modo transmissão) das linhas escritas com irradiação do laser na área ativa do dispositivo, antes do processo de deposição de alumínio. Veja que o processo de metalização não comprometeu a visualização das linhas.

Figura 30 – Esquema ilustrativo mostrando uma imagem do dispositivo com uma imagem ampliada da região micro fabricada.

Embora tenham sido observados resíduos do polímero na região onde foi realizada a escrita das linhas, a uniformidade da superfície do filme nesta região é boa. Como pode ser verificado na Fig. 31, a qual apresenta imagens do dispositivo antes e após a aplicação da tensão, tais resíduos não comprometeram o bom funcionamento do dispositivo. Além disso, com a emissão de luz pelo dispositivo durante a aplicação da tensão, é possível visualizar as linhas que foram escritas com o feixe laser (linhas escuras).

Figura 31 – Imagem da região microfabricada do dispositivo: (a) sem emissão de luz e (b) com emissão de luz.

Na Fig. 32 é apresentada uma imagem de microscopia óptica do acrônimo USP, produzido com feixe laser sob a superfície do filme de MEH-PPV (espessura de 300 nm) antes

da evaporação de Alumínio. Veja que a região de contorno do acrônimo apresentou boa qualidade de escrita. Além disso, pode-se observar que na região do filme onde foi realizada a escrita (microfabricação a laser) o polímero não foi totalmente removido, permanecendo uma fina camada do mesmo sob o substrato.

Figura 32 – Imagem de microscopia óptica do acrônimo da Universidade de São Paulo produzido na superfície do MEH-PPV.

Um esquema do dispositivo fabricado é ilustrado na Fig. 33a. O processo de microfabricação via laser de fs foi realizada sobre a superfície do filme de MEH-PPV antes da evaporação do alumínio (cátodo). O padrão (USP) foi produzido com uma energia de pulso de 40 nJ e velocidade de translação de 100 μm/s, mantendo o mesmo nível de intensidade anteriormente encontrado para produzir ablação na amostra. A Fig. 33b apresenta uma imagem de microscópio (modo de transmissão) do dispositivo enquanto ele estava desligado (sem tensão aplicada) e a Fig. 33c, quando a iluminação do microscópio foi desligada. Ao ligar o dispositivo (tensão de 8 V), uma emissão de luz de cor alaranjada pôde ser observada, evidenciando a microfabricação produzida via laser fs (USP), como visto na Fig. 33d. A microfabricação foi realizada de tal modo a remover apenas o MEH-PPV, evitando danificar a camada de ITO, uma condição que é necessária para o bom funcionamento do dispositivo, como observado na Fig. 33d. As imagens de microscópio foram obtidas com o dispositivo em condições ambientes, que como é conhecido degradam muito rapidamente [104]. A mancha observada na parte direita das Figs. 33b e 33d foi provavelmente causada por uma reação do polímero com o alumínio, como descrito nas referências 105 e 106.

Figura 33 – Esquema representativo do dispositivo eletroluminescente microfabricado (a); o acrônimo da Universidade de São Paulo sobre a superfície do filme com iluminação (b) e sem iluminação (c). Finalmente, durante o tempo em que o dispositivo estava ligado (d).

As respostas do dispositivo, tais como a corrente elétrica e luminância (no vácuo) como uma função da tensão aplicada também foram caracterizadas (Fig. 34). Observa-se que o processo de microfabricação não altera a resposta do dispositivo, ou seja, após o processo de microfabricação o dispositivo continua com um comportamento de diodo e a luminância acompanha o comportamento da corrente elétrica, mostrando que eles são correlacionados. O dispositivo começou a emitir luz com uma tensão de aproximadamente 8 V [104, 57].

Figura 34 – Medida de corrente versus tensão com variação.

5.3 Microfabricação em Quitosana

A Fig. 35 apresenta uma imagem de microscopia óptica de transmissão ilustrando, por meio de microestruturas produzidas na superfície de um filme de quitosana, o efeito da variação da energia do pulso do laser no polímero. As microestruturas, em forma de linhas com comprimento de 500 μm e periodicidade 10 μm , foram produzidas na superfície do filme de quitosana usando uma objetiva de 40x (NA - 0.67), velocidade de translação 100 $\mu\text{m/s}$ e empregando diferentes energias de pulso do laser, no intervalo de 3,8 a 21,0 nJ. Pela imagem de microscopia óptica ilustrada na Fig. 35, observa-se que não houve marcação apreciável para energias inferiores a 9,2 nJ, sendo as microestruturas com melhor definição observadas para energias acima de 11,8 nJ.

Figura 35 – Imagem de microscopia óptica de transmissão das microestruturas produzidas no filme de quitosana com diferentes energias de pulso do laser.

Através de imagens semelhantes à apresentada na Fig. 35, determinamos a largura média das microestruturas produzidas em função da energia de pulso do laser. Com isso, podemos selecionar energias moderadas, as quais possibilitam remover o material com o mínimo de defeitos indesejáveis e, conseqüentemente, fabricar microestruturas homogêneas e bem definidas. A Fig. 36 ilustra a dependência da largura das microestruturas em função da energia de pulso para a velocidade de translação de 100 $\mu\text{m/s}$. Cada ponto na curva se refere a três medidas da largura ao longo de quatro microestruturas produzidas com os mesmos parâmetros (energia de pulso, velocidade de varredura, etc). Como pode ser observado na Fig. 37, a largura das microestruturas aumenta com o aumento da energia de pulso do laser. Quando a energia de pulso varia de 3,8 para 21,0 nJ, a largura das linhas aumenta de 0,54 para 1,76 μm , sendo o limiar de energia para induzir mudanças visíveis no filme de quitosana determinado como sendo 6,2 nJ (para a taxa de repetição de 5,2 MHz e velocidade de translação de 100 $\mu\text{m/s}$).

Figura 36 – Largura média das microestruturas produzidas com uma objetiva de 40x (NA - 0.67) em função da energia do pulso laser (círculos pretos) e o ajuste teórico representado pela linha vermelha.

A topografia das microestruturas produzidas pelo método de ablação, usando pulsos laser fs, foi investigada através de AFM. A Fig. 37 apresenta imagens tridimensionais AFM de algumas microestruturas produzidas, empregando diferentes energias de pulso do laser, na superfície do filme de quitosana. Estas imagens ilustram a influência da variação da energia do pulso na estruturação produzida na superfície do filme polimérico. Dessa forma, pelas imagens (Fig. 37) é possível avaliar o efeito da variação da energia de pulso na superfície do filme. Observe que pulsos com energias abaixo de 6,2 nJ (Fig. 37a) não produziram ablação no material. No entanto, esse valor de energia não foi suficiente para promover a remoção de material da superfície, causando apenas uma marcação na superfície da amostra, como mostrado na Fig. 35. Por outro lado, observamos que energias entre 6,2-21,0 nJ (Fig. 37a e 37e) produzem visíveis modificações morfológicas no material, sendo o limiar de energia para ocorrer ablação próximo de 6,2 nJ. Estes resultados mostram que a interação da luz (laser de fs) com a quitosana possui dois regimes, sendo um para altas energias de pulso laser e outro para baixas energias. Através das imagens AFM, nós também determinamos a rugosidade média de uma área não microestruturada (50 μm²), sendo da ordem de 16 nm.

Figura 37 – Imagens de AFM das microestruturas produzidas com velocidade de translação 100 $\mu\text{m/s}$, periodicidade 10,0 μm e diferentes energias de pulso do laser: (a) 3,8; (b) 6,2; (c) 9,2; (d) 14,4 e (e) 21,0 nJ.

A partir das imagens de microscopia de força atômica, similares as apresentadas na Fig. 37, foi possível determinar a média da profundidade das microestruturas em função da energia do pulso, para a velocidade de translação de 100 $\mu\text{m/s}$. Na Fig. 38 apresentamos os resultados obtidos para microestruturas fabricadas com diferentes energias de pulso, no intervalo de 3,8 a 21,0 nJ. Como pode ser observado na Fig. 38, a profundidade de ablação aumenta com a energia do pulso laser. Além disso, neste gráfico pode-se verificar um limiar de energia de 3,8 nJ, que corresponde ao ponto onde se inicia a modificação estrutural no filme de quitosana. Acima desse valor de energia, próximo de 6,2 nJ, começa ocorrer a remoção de material, ou seja, o

processo de ablação. Dessa forma, se a energia do pulso do laser é aumentada para 9,2 nJ, por exemplo, podemos verificar que uma remoção significativa de material é alcançada, com uma profundidade de ablação de aproximadamente de 139 nm. É interessante notar que aumentando duas vezes a energia, ou seja, para aproximadamente 18,2 nJ, observamos uma profundidade de ablação de 322 nm, que corresponde 2,32x da profundidade em 9,2 nJ.

Figura 38 – Profundidade média das microestruturas produzidas com uma objetiva de 40x (NA - 0.67) em função da energia do pulso laser (círculos pretos) e o ajuste teórico representado pela linha vermelha.

Com o objetivo de investigar o efeito da energia do laser na superfície do filme de quitosana, realizamos testes de hidrofiliicidade nas amostras microestruturadas e não microestruturadas. Para a realização destas medidas, microestruturamos na superfície de um filme de quitosana, com periodicidade de 10,0 μm , uma área com dimensões 3,0 mm^2 . As linhas foram produzidas usando uma objetiva de 40x (NA - 0.67), empregando energia de pulso do laser 30,0 nJ e velocidade de translação 100 $\mu\text{m/s}$. Os detalhes da microestruturação feita na superfície do filme de quitosana podem ser observados na Fig. 39, que mostra a imagem obtida através de microscopia óptica (Fig. 39a) e de força atômica (Fig. 39b). As microestruturas

apresentaram profundidade média de 507 nm. Pelas imagens apresentadas na Fig. 39, podemos notar que foi possível produzir microestruturas homogêneas e de alta qualidade (livres de defeitos), o que por sua vez demonstra a viabilidade da produção de microambientes para investigação de crescimento e diferenciação celular e/ou mesmo a modificação de superfícies para inibir, retardar ou prevenir o crescimento e proliferação de bactérias. Além disso, note que não há traços de material fundido na área microestruturada (Fig. 39b), sendo este resultado um fator importante, que pode contribuir para a realização de estudos de molhabilidade em superfícies microestruturadas.

Figura 39 – (a) imagem de microscopia óptica da área microestruturada e (b) imagem tridimensional AFM mostrando a topografia da área microestruturada em um filme de quitosana.

A influência do processo de microestruturação por laser na hidrofilicidade dos filmes de quitosana foi determinada através de medições de ângulo de contato estático realizadas com água. Apresentamos na Fig. 40 imagens de gotas de água sobre a superfície do filme de quitosana não microestruturada (Fig. 40a) e microestruturada (Fig. 40b e Fig. 40c), obtidas durante os testes de hidrofilicidade. Nestes testes, determinamos o ângulo de contato estático de uma superfície microestruturada na direção paralela e perpendicular, com relação à orientação das microestruturas. Os resultados mostraram que a superfície do filme de quitosana não microestruturado (Fig. 40a), apresentou caráter hidrofílico ($\theta = 77^\circ$), sendo comparável com a literatura [107]. No caso das da superfície da área microestruturada (Fig. 40b e Fig. 40c), a análise do ângulo de contato (Fig. 40b e Fig. 40c), comparado a referência (Fig. 40a), revelou que o processo de microestruturação foi capaz de reduzir o ângulo de contato, tornando os filmes de quitosana mais hidrofílicos ainda ($\theta = 42$ e 39°). O comportamento da gota de água sobre a superfície microestruturada pode ser explicado pela teoria de Wenzel [51]. Além disso, o comportamento de molhabilidade em superfícies lisas de alguns materiais pode ser reforçado em função da rugosidade desta superfície [108]. Desta forma, a quitosana, originalmente

hidrofílica torna-se mais hidrofílica ainda, devido ao aumento da rugosidade na superfície do filme polimérico, obtido aqui pelo processo de microestruturação a laser fs. Neste caso, acreditamos que as áreas ablacionadas pela irradiação laser levam a um contato homogêneo entre a gota de água e a superfície do filme de quitosana, como ilustrado na Fig. 10.

Figura 40 – Perfil das gotas de água: (a) sobre uma superfície não microestruturada e (b) sobre uma superfície microestruturada olhando na direção perpendicular com relação à orientação das linhas. A superfície do filme de quitosana foi microestruturada usando uma objetiva de 40x (NA - 0.67), empregando energia de pulso do laser 30,0 nJ e velocidade de translação 100 $\mu\text{m/s}$ e $\lambda = 10,0 \mu\text{m}$.

Para demonstrar o potencial da utilização de superfícies de quitosana microestruturadas em aplicações biológicas, investigamos a formação de biofilme por *Staphylococcus aureus* nestas amostras. Para a realização dos experimentos com bactérias, microestruturamos na superfície do filme de quitosana microambientes com dimensões de 500 μm^2 . Esses microambientes (quadrados) foram preenchidos por linhas fabricadas com diferentes periodicidades (variando de 4,0 a 12,0 μm). As linhas foram produzidas usando uma objetiva de 40x (NA - 0.67), energia de pulso do laser 10,0 nJ e velocidade de translação 30,0 $\mu\text{m/s}$. Para cada periodicidade, foram microestruturados três microambientes com os mesmos parâmetros (periodicidade, energia do pulso e velocidade de translação). A Fig. 41 apresenta uma foto de uma das amostras de quitosana, onde é possível visualizar os microambientes fabricados em triplicata. Detalhes da superfície microestruturada podem ser observados nas Figs. 41b e Fig.41c. Veja que para periodicidades maiores do que 4,0 μm foi possível produzir microambientes com linhas bem definidas e com ótima resolução.

Figura 41 – Esquema ilustrativo mostrando (a) foto da amostra de quitosana microestruturada; (b) imagens de microscopia óptica das microestruturas produzidas com diferentes periodicidades e (c) imagens de microscopia óptica dos detalhes destas microestruturas. A periodicidade das microestruturas está especificada nas imagens

Na Fig. 42 apresentamos as micrografias de força atômica tridimensionais das superfícies microestruturadas com diferentes periodicidades. Pelas micrografias (Fig. 42) podemos confirmar a alta qualidade e resolução das microestruturas, mesmo para a menor

periodicidade (Fig. 42a). Além disso, note que as microestruturas não apresentaram resíduos oriundos do processo de microestruturação do polímero.

Figura 42 – Imagens AFM das microestruturas de quitosana produzidas na com diferentes periodicidades: (a) 4,0; (b) 6,0; (c) 8,0; (d) 10 e (e) 12 μm .

Na Fig. 43 apresentamos imagens obtidas por microscopia óptica das amostras de PMMA (Fig. 43a, 43b e 43c) e quitosana (Fig. 43d, 43e e 43f) após o crescimento de bactérias nas superfícies microestruturadas com diferentes periodicidades (8, 10 e 12 μm). Não apresentamos aqui os resultados obtidos para as amostras microestruturadas com periodicidades menores que 8 μm (4 e 6 μm), pois estas apresentaram defeitos (as microestruturas se colapsaram) após os testes de desenvolvimento de biofilme. Pelas imagens apresentadas na Fig. 43 (a, b e c) verifica-se que houve formação de biofilme em todas as amostras de PMMA. Verifica-se ainda que o biofilme cresceu de forma uniforme tanto fora quanto dentro das microestruturas, não apresentando diferenças para as periodicidades das microestruturas. Comparando a área microestruturada e a não microestruturada, observa-se que o biofilme

cobriu ambas as áreas de forma uniforme. Este resultado indica que as microestruturas com diferentes periodicidades não influenciaram a formação de biofilme nas amostras de PMMA. Por outro lado, para as amostras de quitosana, as imagens apresentadas na Fig. 43 (d, e e f) revelaram uma maior densidade de bactérias nas áreas microestruturadas, principalmente nas regiões próximas as bordas das microestruturas. Além disso, observa-se que a formação de biofilme nas superfícies microestruturadas, com diferentes periodicidades, ocorreu de forma diferente. Comparando as imagens das amostras de quitosana, verifica-se uma maior densidade de bactérias na área microestruturada com a menor periodicidade, ou seja, 8 μm (Fig. 43d). Comparando as imagens das amostras microestruturadas com maior periodicidade (Fig. 44e e Fig. 43f), ou seja 10 e 12 μm , observa-se que a área microestruturada com a maior periodicidade (12 μm) apresentou menor densidade de bactéria.

Figura 43 – Imagens de microscopia óptica do desenvolvimento de bactérias na superfície microestruturada de amostras de PMMA (a, b e c) e quitosana (d, e, e f). A periodicidade (λ) das microestruturas está indicada na figura.

Apresentamos na Fig. 44 imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das amostras de PMMA (Fig. 44a, b e c) e quitosana (Fig. 44d, e, e f) após o crescimento de bactérias nas superfícies microestruturadas com diferentes periodicidades (8, 10 e 12 μm). As imagens da Fig. 44 confirmam o desenvolvimento uniforme de biofilme em toda superfície das

amostras de PMMA, as quais foram microestruturadas com diferentes periodicidades. Comparando as imagens da Fig. 44, observa-se que as bactérias ocuparam também as regiões do filme de PMMA onde houve remoção de material polimérico (ablação), sendo mais evidente nas amostras microestruturadas com periodicidade 8 e 10 μm (Fig. 44a 44b).

Figura 44 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura do desenvolvimento de bactérias na superfície microestruturada de amostras de PMMA (a, b e c) e quitosana (d, e, e f). A periodicidade (λ) das microestruturas está indicada na figura.

Quanto às amostras de quitosana, as imagens apresentadas na Fig. 44 exibem a formação de biofilme em todas as amostras microestruturadas com diferentes periodicidades. Verifica-se ainda nessas imagens, que o biofilme preencheu parcialmente as áreas ablacionadas das amostras microestruturadas com periodicidade de 8 e 10 μm , e totalmente da amostra microestruturada com periodicidade 12 μm . Além disso, pelas imagens (Fig. 44a 44b) observa-se uma maior densidade de bactérias nas regiões microestruturadas, principalmente nas bordas das microestruturas, como mostrado anteriormente nas imagens de microscopia óptica da Fig. 43. Observa-se também que uma parte significativa da superfície da amostra de quitosana, microestruturada com periodicidade 8 μm , foi colonizada pelas bactérias (Fig. 44d) enquanto que, para a amostra microestruturada com periodicidade 10 μm (Fig. 44e), as colônias de bactérias são menores. Para as microestruturas com maior periodicidade (Fig. 45f), tais colônias

são ainda menores e mais dispersas, sendo possível encontrar bactérias isoladas (estado planctônico), como indicado pela seta na imagem da Fig. 44f. Ainda na Fig. 44f, comparando a área não microestruturada e a microestruturada, observa-se que a formação de colônias é similar para ambas as áreas, o que indica que a superfície microestruturada com periodicidade de 12 μm não influenciou no comportamento de adesão e maturação do biofilme.

O método de microestruturação de superfícies apresentado nesta sessão permite produzir microestruturas padronizadas em alta resolução. Além disso, através do controle sobre as morfologias das microestruturas produzidas é possível controlar as propriedades de molhamento da superfície do material em estudo. Esse método, portanto, é uma ferramenta promissora para a estruturação de superfícies poliméricas capazes de inibir a formação de biofilme, viabilizando o seu uso e reduzindo a taxa de infecção de implantes biomédicos, por exemplo.

5.4 Microfabricação em Poliuretano

Neste trabalho investigamos a influência da fluência do laser nas características de microestruturas produzidas na superfície de membranas de poliuretano através do método de DLIP. Como indicado na Eq. 7, a periodicidade é determinada pelo comprimento de onda do laser e o ângulo entre os feixes lasers que incide na amostra. Ajustando o ângulo, a periodicidade pode ser variada de centenas de nanômetros até dezenas de micrometros. Deste modo, usando dois feixes lasers com mesma intensidade, microfabricamos na superfície das membranas de poliuretano estruturas com diferentes periodicidades, através da técnica de DLIP.

Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura de algumas das microestruturas fabricadas na superfície da membrana de PU são apresentadas na Fig. 45. As microestruturas foram fabricadas empregando diferentes fluências (densidades de energias), especificamente variando entre 0,15 e 0,58 J/cm^2 , e periodicidade entre 500 nm e 5,0 μm . Pela comparação das microestruturas apresentadas na Fig. 45 verifica-se que com o emprego de densidades de energia moderadas, para periodicidades maiores que 500 nm, foi possível produzir na superfície das amostras de PU microestruturas (ou padrões de linhas) homogêneas e bem definidos. Por outro lado, observa-se que para a periodicidade de 500 nm, (para ambas as fluências empregadas), as linhas apresentaram formas irregulares ou com defeitos como, por

exemplo, regiões onde as linhas colapsam (Fig. 45a e 45b), provavelmente devido ao aquecimento da região irradiada que conduziu ao surgimento de tensões térmicas significativa, as quais foram capazes de destruir parcialmente as microestruturas. Esse efeito apresentou-se mais visível nas amostras que foram microestruturadas com periodicidade de 500 nm e fluência 0,37 J/cm² (Fig. 45b).

Figura 45 – Micrografias de microscopia eletrônica de varredura obtidas para a microestruturas fabricadas com periodicidade de 500 nm (a, b); 2,0 (c, d) e 5,0µm (e, f). As médias das fluências do laser foram (a) 0,15; (b) 0,37; (c) 0,15; (d) 0,59 (e) 0,15 e (f) 0,58 J/cm².

Analizamos ainda a morfologia das microestruturas produzidas por meio de microscopia de força atômica e microscopia óptica. Na Fig. 46 são apresentadas imagens das microestruturas, produzidas na superfície das membranas de poliuretano, obtidas tanto por microscopia óptica (Fig. 46a e Fig. 46b) quanto por AFM (Fig. 46c e Fig.46d). Estas microestruturas foram fabricadas com periodicidade de 500 nm e 4,0 µm. Pelas imagens

verifica-se que as microestruturas apresentam morfologia basicamente definida pelo espaçamento entre duas linhas e pela largura das mesmas. Como pode ser verificado nestas imagens (Fig. 46), os perfis das microestruturas são diferentes. Para as microestruturas com periodicidade grande ($4,0\text{ }\mu\text{m}$), nota-se um perfil mais achatado ou plano no topo. Durante o processo de tratamento com laser UV com pulsos de nanossegundos, a distribuição de energia senoidal da interferência de dois feixes é transferida para o material [109]. Desse modo, a amostra de PU é ablacionada nas posições de máximos (material é derretido e evaporado). O processo de ablação nestas posições pode ser relacionado com um processo de foto-dissociação induzida pela absorção de um ou mais fótons (ablação fotoquímica) ou devido a fônons (ablação fototérmica) [110]. No caso de DLIP, esses mecanismos, geralmente, produzem estruturas com superfícies planas na parte superior [110]. Por outro lado, observa-se que para fluências altas, as microestruturas apresentaram um perfil com contorno arredondado no topo (Fig. 46b). Este perfil é típico de processo de ablação conduzido por mecanismos fototérmicos [111]. Neste caso, o material polimérico é fundido nas posições de máximos, e em seguida, por alta pressão, esse material é empurrado na direção das posições de mínimos, onde se solidifica, resultando em um perfil com contorno arredondado. Este perfil foi observado para as microestruturas com periodicidades 500 nm (Fig. 46c e Fig. 46d) e para periodicidades maiores que $2,0\text{ }\mu\text{m}$ (Fig. 45b, Fig. 45c, Fig. 45d e Fig. 45f).

Figura 46 – Imagens de perfilômetro óptico (a e b) e AFM (c e d) de microestruturas fabricada em filme de poliuretano com periodicidade de (a) 4,0 μm e (b) 500 nm. As fluências do laser empregadas para produzir as microestruturas são indicadas nas imagens.

A partir de imagens das microestruturas, obtidas por microscopia óptica e AFM, como as apresentadas na Fig. 46, foi possível determinar a profundidade das regiões ablacionadas com diferentes periodicidades e energias. A profundidade das áreas ablacionadas foram medidas em seis diferentes posições dentro da área microestruturada no filme de PU. A dependência da profundidade das áreas ablacionadas em função da fluência do laser é mostrada na Fig. 47. Observa-se pela Fig. 47 que as microestruturas podem ser observadas no PU quando a energia excede 0,15 J/cm². Além disso, pode-se também notar que a profundidade das microestruturas aumenta linearmente com o aumento da fluência do laser até cerca de 0,37 J/cm². Acima deste valor, para as periodicidades de 500 nm e 1,0 μm , a profundidade decresce com o aumento da fluência do laser, resultando em vários defeitos, como mostrado nas Figs. 45a e 45b. Por outro lado, para periodicidades acima de 2,0 μm a profundidade aumenta (de 0,33 até 0,90 μm) até próximo de 0,30 J/cm², depois começa decrescer.

Figura 47 – Dependência da profundidade das microestruturas com a energia do laser para periodicidades entre 500 nm e 5,0 μm.

Determinamos também a largura das áreas ablacionadas por meio das imagens obtidas por microscopia óptica e AFM. As larguras foram medidas em seis diferentes posições dentro da área microestruturada. A largura das áreas ablacionadas em função da fluência do laser é ilustrada na Fig. 48. Para pequenas periodicidades, verifica-se que a largura das áreas ablacionadas apresentou-se quase estável com o aumento da fluência do laser. Por outro lado, pela Fig. 48 observa-se que para periodicidades maiores que 1,00 μm, a largura da área ablacionada aumenta com o aumento da fluência do laser. No caso das microestruturas produzidas com periodicidade 2,0 μm, a largura aumentou de 0,65 para 0,90 μm, enquanto que para periodicidades maiores como, por exemplo, 5,0 μm, verifica-se um aumento de 1,92 para 2,64 μm.

Figura 48 – Largura média das microestruturas em função da fluência do laser para periodicidades entre 500 nm - 5,0 μm .

Com o objetivo de investigar a influência da energia do laser na superfície das membranas de poliuretano, realizamos testes de hidrofobicidade nas amostras microestruturadas e não microestruturadas. Determinamos o ângulo de contato estático com água das superfícies microestruturadas nas direções paralela e perpendicular, com relação à orientação das microestruturas. Vale ressaltar que o ângulo de contato não é um bom indicador de biocompatibilidade de um material, entretanto, algumas informações importantes podem ser obtidas para a compatibilidade de sangue e/ou outros tipos de tecido [112, 113]. Nas Figs. 49a e 49b são apresentadas imagens de uma gota de água sobre a superfície das membranas de PU (a) não microfabricada e (b) microfabricada com periodicidade 5,0 μm e fluência 0,57 J/cm^2 . Apesar do comportamento hidrofílico apresentado na amostra não microestruturada ($\theta = 80^\circ$), a análise do ângulo de contato determinado na direção perpendicular às linhas microfabricadas revelou um comportamento hidrofóbico ($\theta = 105^\circ$).

Figura 49 – Perfil das gotas de água: (a) sobre uma superfície não microestruturada e (b) sobre uma superfície microestruturada olhando na direção perpendicular com relação à orientação das linhas. A superfície foi microestruturada com $\lambda = 5,0 \mu\text{m}$ e fluência do laser $0,58 \text{ J/cm}^2$.

Determinamos ainda o ângulo de contato estático, com água, para as microestruturas produzidas com menores periodicidades. As Figs. 50 e 51 apresenta os ângulos de contato, em função da fluência do laser, medidos nas superfícies das membranas de PU após o processo de microfabricação. Veja que no caso da medida realizada na direção perpendicular às microestruturas (Fig. 50), o máximo ângulo de contato observado foi de cerca de 102° , para a amostra fabricada com periodicidade $3,0 \mu\text{m}$. Além disso, para as energias até $0,58 \text{ J/cm}^2$ foi observado um aumento do ângulo de contato com o aumento da fluência do laser. Após este valor, o ângulo de contato diminuiu até 91° para periodicidades acima de $2,0 \mu\text{m}$. No sentido paralelo (Fig. 51), o ângulo de contato diminuiu significativamente com o aumento da fluência do laser. Sendo observados valores mais baixos (até 69°) para as amostras produzidas com periodicidades de $2,0$ e $3,0 \mu\text{m}$. Um baixo ângulo de contato ($\theta < 90^\circ$) tem sido atribuído a comportamento hidrofílico, enquanto um alto ângulo de contato ($\theta > 90^\circ$) é indicativo de um comportamento hidrofóbico da superfície em análise [114, 115]. Dessa maneira, para todas as superfícies das microestruturas produzidas com grandes periodicidades ($2,0$; $3,0$; $4,0$ e $5,0 \mu\text{m}$), empregando altas energias, os ângulos de contato medidos na direção perpendicular (Fig. 50) foram consideradas como moderadamente hidrofóbicos. Por outro lado, superfícies microfabricadas com pequenas periodicidades (500 nm e $1,0 \mu\text{m}$) foram consideradas como hidrofílicas para todos os valores de energia empregados. Para a direção paralela (Fig. 51), as superfícies das microestruturas produzidas com periodicidades $2,0$; $3,0$; $4,0$ e $5,0 \mu\text{m}$ foram consideradas hidrofílicas, uma vez que os seus valores de ângulo de contato estavam na faixa de 69° - 85° [116]. No entanto, as superfícies microfabricadas com periodicidades de 500 nm e $1,0 \mu\text{m}$ foram exceções. Elas tendem a apresentar um comportamento um pouco menos hidrofóbico para baixos valores de energia. A mudança do ângulo de contato da superfície de PU após a irradiação laser, provavelmente, é devido à formação de grupos hidrofílicos, sendo um processo que envolve duas etapas: a primeira é a criação de radicais livres no material

poliméricos pela irradiação laser; a segunda etapa é uma interação entre novos radicais livres formados em cadeias poliméricas e oxigênio, resultando na formação de grupos polares como carboxil, carbonil, hidroxil e grupos ésters [117]. Além disso, o baixo ângulo de contato indica uma maior adesão entre a gota líquida e a superfície de biomateriais devido à existência de uma área de contato maior entre a área adesiva e o substrato.

Figura 50 – Ângulo de contato em função da fluência medido na superfície microestruturada, na direção perpendicular as microestruturas.

Figura 51 – Ângulo de contato em função da fluência medida na superfície micro estruturada na direção paralela as microestruturas.

Desta maneira, a análise topográfica das microestruturas obtidas por DLIP nos leva a acreditar na contribuição de um mecanismo fotofísico (mistura de mecanismo fototérmico e fotoquímico) para que o processo de formação de microestrutura, usando o laser de ns no comprimento de onda de 266 nm, ocorresse. Quanto ao método de estruturação de superfícies apresentado nesta sessão, ele nos fornece algumas vantagens sobre outros métodos de estruturação que empregam lasers pulsados: primeiramente, devido a altas intensidades alcançadas, não há a necessidade de focalização nem de translação da amostra; além disso, o método descrito aqui permite a estruturação padronizada de grandes áreas de uma só vez. Além disso, através do controle sobre as morfologias produzidas, é possível controlar as propriedades de molhamento do polímero. Portanto, essa técnica é uma interessante opção para o controle das propriedades física de superfícies poliméricas, viabilizando o seu uso para a fabricação de dispositivos com propriedades de molhamento controlável.

6 CONCLUSÃO

Esse trabalho consistiu da investigação das possibilidades do uso de pulsos laser de nano e femtossegundos como ferramentas para processamento de superfícies poliméricas. Primeiramente, investigamos a influência da energia de pulsos laser de femtossegundos e da velocidade de translação na morfologia de microestruturas fabricadas em filmes de MEH-PPV. Observamos que a largura das microlinhas aumenta com a energia de pulso para as três velocidades de translação estudadas, com tendência para a saturação que ocorre acima de 1,73 nJ. Além disso, observamos que o processo de microfabricação possui dois regimes: (i) a ablação que ocorre para energias elevadas, resultando em mudanças visíveis (remoção de material) e, provavelmente, (ii) mudança estrutural/morfológica, a qual ocorre para baixas energias, resultando em uma marcação leve na superfície do filme ou a formação de uma saliência. Dessa maneira, as menores estruturas podem ser produzidas utilizando energias próximas ao limiar de mudança morfológica. Quanto à influência da velocidade de translação na morfologia das estruturas, verificamos que quanto menor a velocidade, maior será a largura das microlinhas. Sendo assim, as dimensões dessas estruturas podem ser controladas através dos parâmetros do laser e do sistema de microfabricação, como a energia de pulso e a velocidade de translação. Além disso, demonstramos que apesar da ocorrência da fotodegradação do polímero durante o processo de microfabricação, para o regime de energia próximo de 0,8 nJ as propriedades ópticas do polímero são preservadas. Quanto ao dispositivo microfabricado, verificamos que após o processo de microfabricação o dispositivo continua com um comportamento de diodo e a eletroluminescência acompanha o comportamento da corrente elétrica, ou seja, o processo de microfabricação não compromete o funcionamento do mesmo. Sendo assim, estes resultados além de demonstrarem a potencialidade da técnica de microfabricação a laser com pulsos de fs, fornece importantes informações sobre os parâmetros ótimos para microfabricação em filmes de poli(2-metóxi-5-(2-etil-hexiloxi)-1,4-fenilenovinileno), visando aplicações em sistemas poliméricos baseados em dispositivos fotônicos.

Em uma segunda vertente do trabalho, investigamos a influência da energia do pulso de fs sobre as propriedades de filmes de quitosana, sendo possível determinar aquelas que ocasionam mudança estrutural e remoção do material. Observamos que a largura das microestruturas aumenta com o aumento da energia de pulso do laser (para a velocidade de translação 100 $\mu\text{m/s}$). Quando a energia de pulso varia de 3,8 para 21,0 nJ, observamos que a largura das microestruturas sofre um aumento de cerca de 1,22 μm . A partir da análise

topográfica das microestruturas, verificamos que sua profundidade aumenta com o aumento de energia. Com isso, foi possível determinar o limiar de energia capaz de causar mudança estrutural/morfológica, bem como o limiar de energia que causa remoção de material no filme de quitosana. Dessa maneira, observamos que para uma velocidade de translação de 100 $\mu\text{m/s}$ e taxa de repetição de 5,2 MHz, o limiar de energia correspondente ao ponto onde se inicia a modificação estrutural no filme é em torno de 3,8 nJ; acima desse limiar de energia, próximo de 6,2 nJ, começa ocorrer o processo de ablação. Através da análise do ângulo de contato das superfícies microestruturadas, observamos que o comportamento de molhabilidade da superfície do filme de quitosana foi reforçado em função da rugosidade produzida pelo processo de microfabricação usando laser de fs. Observamos que o processo de microestruturação tornou as superfícies de filmes de quitosana mais hidrofílicos ainda, concordando com a teoria de Wenzel. Dessa maneira, fomos capazes de produzir microestruturas homogêneas e de alta qualidade (livres de defeitos), demonstrando a viabilidade da produção de microambientes para investigação de crescimento e diferenciação celular e/ou mesmo a modificação de superfícies para inibir, retardar ou prevenir o crescimento e proliferação de bactérias.

Nesse sentido, exploramos os resultados aqui obtidos para produzir superfícies microestruturadas em filmes de quitosana e PMMA com o objetivo de investigar o potencial das mesmas para a inibição do processo de adesão de bactéria *Staphylococcus aureus*, e a consequente formação de biofilme. Fabricamos microambientes com dimensões de 500 μm^2 na superfície dos filmes poliméricos, empregando energia de pulso de 10,0 nJ e velocidade de translação 30,0 $\mu\text{m/s}$. Fomos capazes de produzir microestruturas na forma de linhas com diferentes periodicidades (variando de 4 a 12 μm). Todas as microestruturas apresentaram boa integridade estrutural, independente da periodicidade. Porém, após realizarmos os testes com crescimento de biofilme nas superfícies poliméricas, verificamos que as microestruturas com menores periodicidades (4 e 6 μm) apresentaram defeitos, logo, elas foram descartadas da análise de formação de biofilme. Através da análise da formação de biofilme nas superfícies poliméricas, observamos que não houve diferença no comportamento de formação de biofilme para todas as amostras de PMMA. Observamos que o biofilme cresceu, de forma uniforme e semelhante, tanto fora quanto dentro das microestruturas, como também na área que não foi microestruturada. Este resultado indica que as microestruturas com diferentes periodicidades não influenciaram a formação de biofilme nas amostras de PMMA. Quanto às amostras de quitosana, observamos que as bactérias apresentaram uma preferência por superfícies mais rugosas, com uma tendência para ocupar regiões de bordas das microestruturas. Dessa forma, a investigação da dinâmica da formação de biofilme em superfícies microestruturadas mostrou

que, para alguns materiais poliméricos, a rugosidade das superfícies pode influenciar na adesão de bactérias, sendo, portanto, um método eficaz e atraente para reduzir a contaminação microbiana em superfícies sem o uso de agentes antimicrobianos.

Por fim, investigamos a influência da densidade de energia (fluência) de pulsos de nanossegundos na microestruturação de superfícies de membranas de poliuretano. Empregando a técnica de estruturação direta por interferência, fabricamos microestruturas (padrões de linhas) com diferentes periodicidades (500 nm-5 μ m) e com profundidades variando de 0,04 até 1,25 μ m. As microestruturas produzidas com periodicidade acima de 500 nm apresentaram alta qualidade, enquanto que as estruturas obtidas com esse valor de periodicidade apresentaram alguns defeitos, provavelmente devido ao aquecimento. Acreditamos que essas microestruturas foram formadas com a contribuição de mecanismos de ablação fotofísico. No que diz respeito às características de molhamento das amostras, um comportamento de molhamento anisotrópico foi observado, ou seja, dependendo da direção (paralelo ou perpendicular às microestruturas) na qual se deseja tal propriedade, esta apresentará valores distintos. Além disso, dois mecanismos principais podem ser identificados em função da periodicidade. Para periodicidades maiores ($> 2,0 \mu$ m) o ângulo de contato, medido na direção perpendicular as microestruturas, aumentou de 80° para 102° . Na direção paralela às linhas o ângulo de contato foi reduzido até 73° . Para as microestruturas produzidas com periodicidade 500 nm e 1,0 μ m, o ângulo de contato foi reduzida para valores abaixo do ângulo de contato do material não tratado, na direção perpendicular às linhas. Na direção paralela às microestruturas, o ângulo de contato foi aumentado até 96° , reduzindo com o aumento da fluência do laser.

Ambas as técnicas de microestruturação de superfícies apresentadas neste trabalho demonstram a possibilidade da produção de microestruturas padronizadas, com alta resolução e livres de defeitos. Além disso, através do controle da morfologia das microestruturas produzidas é possível controlar as propriedades de molhamento da superfície do material em estudo. Tais técnicas abrem possibilidades para amplas investigações em diversas áreas do conhecimento, tanto para o desenvolvimento de novas técnicas e dispositivos, quanto para estudos de caráter mais básico. Dessa forma, essas técnicas poderão ser empregadas em diversas pesquisas e aplicações que vão desde o desenvolvimento de dispositivos fotônicos até materiais biomédicos. No caso da microestruturação de superfícies, essa técnica pode ser utilizada em investigações para prever diversas superfícies microestruturadas, as quais podem ser eficazes na inibição da formação de biofilme em materiais implantáveis, viabilizando o seu uso e reduzindo a taxa de infecção hospitalar.

REFERÊNCIAS

- 1 CHAKRABORTY, S. **Microfluidics and microfabrication**. New York: Springer Science+Business Media, 2010.
- 2 JÖRGK, W. K. The Femtosecond pulse laser: a new tool for micromachining. **Laser Physics**, v. 9, n. 1, p. 30-40, 1999.
- 3 LASAGNI, F. A.; LASAGNI, A. F. **Fabrication and characterization in the micro-nano range**: new trends for two and three dimensional structures. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2011.
- 4 WU, M. C. Micromachining for optical and optoelectronic systems. **Proceedings of the IEEE**, v. 85, n. 11, p.1833-1856, 1997.
- 5 MENDONÇA, C. R. M et al. Femtosecond laser micromachining in the conjugated polymer MEH-PPV. **Applied Surface Science**, v. 254, n.4, p.1135-1139, 2007.
- 6 CORREA, D. S. et al. Femtosecond laser in polymer materials: microfabrication of doped structures and micromachining. **IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics**, v. 18, n. 1, p. 176-186, 2012.
- 7 MAIMAN, T. H. Stimulated optical radiation in ruby. **Nature**, v. 187, n. 4736, p. 493-494, 1960.
- 8 MACHADO, L. M. **Microusinagem de dieletricos com pulsos laser de femtossegundos**. 2012. 143 f. Tese (Doutor em Ciências) - Centro de Lasers e Aplicações, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São José dos Campos, 2012.
- 9 DANILEIKO, Y. K.; MANENKOV, A. A.; NECHITAILO, V. S. Investigation of laser-induced depth damage and scattering of light in crystals and glasses. **Journal of Soviet Laser Research**, v. 1, n. 3, p. 210-247, 1980.
- 10 ZHOU, Y. et al. Physical mechanism of silicon ablation with long nanosecond laser pulses at 1064 nm through time-resolved observation. **Applied Surface Science**, v. 257, n. 7, p. 2886–2890, 2011.
- 11 ZHOU, Y.; WU, B. Experimental study on infrared nanosecond laser-induced back side ablation of sapphire. **Journal of Manufacturing Processes**, v. 12, n. 1, p. 57–61, 2010.
- 12 BIVER, E. Influence of pyrene grafting on PMMA nanosecond laser ablation at 248 nm. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 6, n. 1, p. 41–48, 2014.
- 13 SUGIOKA, K.; MEUNIERAND, M.; PIQUÉ, A. **Laser precision microfabrication**. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2010. (Springer Series in Materials Science).
- 14 GATTASS, R. R.; MAZUR, E. Femtosecond laser micromachining in transparent materials. **Nature Photonics**, v. 2, p. 219-225, 2008

-
- 15 PERRY, M. D. et al. Ultrashort-pulse laser machining of dielectric materials. **Journal of Applied Physics**, v. 85, n. 9, p. 77-79, 1999.
 - 16 KRÜGER, J.; KAUTEK, W. Ultrashort pulse laser Interaction with dielectrics and polymers. **Polymers and Light Advances in Polymer Science**, v. 168, p. 247-290, 2004.
 - 17 KRÜGER, J.; KAUTEK, W. The Femtosecond pulse laser: a new tool for micromachining. **Laser physics**, v. 9, n. 1, p. 30–40, 1999.
 - 18 CARDOSO, M. R. **Microestruturação de superfíciespoliméricas a laser; fabricação de superfícies superhidrofóbicas**. 2010. 111f. Tese (Doutor em Ciências e Engenharia de Materiais) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.
 - 19 SCHAFFER, C. B. et al. Micromachining bulk glass by use of femtosecond laser pulses with nanojoule energy. **Optics Letters**, v. 26, n. 2, p.93-95, 2001.
 - 20 KAWATA, S. et al. Finer features for functional microdevices. **Nature**, v. 412, p. 697-698, 2001.
 - 21 SCHAFFER, C. B. et al . **Structural changes induced in transparent materials with ultra short laser pulses**. New York: Ultrafast lasers: technology and applications, 2002.
 - 22 TRIBUZI, V. et al. Birefringent microstructures fabricated by two-photon polymerization containing azo polymer. **Optical Materials Express**, v. 3, n. 1, p. 21-26, 2013.
 - 23 AMS, M. et al. Photonic waveguide devices directly written into dielectric materials using femtosecond laser pulses. **PIERS online**, v. 4, n. 1, p.146-150, 2008.
 - 24 OTUKA A. J. G. et al. Emission features of microstructures fabricated by two-photon polymerization containing three organic dyes. **Optical Materials Express**, v.2, n. 12, p.803-1808, 2012.
 - 25 SHEN, M. Y. et al. Femtosecond laser-induced formation of submicrometers pikes on silicon in water. **Applied Physics Letters**, v. 85, n. 23. p. 5694–5696, 2004.
 - 26 SHAO, G. **Polymer based microfabrication and its applications in optical mems and biomems**. 2011. 92 f. Thesis (Doctor of Philosophy) - Agricultural and Mechanical College, Louisiana State University. Baton Rouge, 2011.
 - 27 DORAISWAMY, A. Two photon induced polymerization of organic–inorganic hybrid biomaterials for microstructured medical devices. **Acta Biomaterialia**, v. 2, p. 267-275, 2006.
 - 28 TRIBUZI, V. et al. Indirect doping ofmicrostructuresfabricatedbytwo-photonpolymerization with gold nanoparticles. **Optics Express**, v. 20, n. 19, p. 21107-21113, 2012.
 - 29 BRETTSCHEIDER, T. et al. Laser micromachining as a metallization tool for microfluidic polymer stacks. **Journal of Micromechanics and Microengineering**, v. 23, n. 3,. 2013. Doi: 10.1088/0960-1317/23/3/035020.

-
- 30 GITTARD, S. D. et al. Fabrication of polymer microneedle using a two-photon polymerization and micromolding process. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v.3, n.2, p. 304-11, 2009.
 - 31 GÓMEZ, D. et al. Femtosecond laser ablation for microfluidics. **Optical Engineering**, v.44, n.5, 2005. Doi: 10.1117/1.1902783.
 - 32 CARDOSO, M. R. et al. Laser microstructuring for fabricating superhydrophobic polymeric surfaces. **Applied Surface Science**, v. 257, n.8, p. 3281-3284, 2011.
 - 33 SANFELICE, R. C. et al. Hydrophobic methacrylic copolymers containing azobenzene moieties. **Polymer**, v.52, n. 21, p. 4703-4708, 2011.
 - 34 LANGHEINRICH, D. et al. Control of cell growth direction by direct fabrication of periodic micro- and submicrometer arrays on polymers. **Journal of Polymer Science Part B: polymer physics**, v. 50, p.415-422, 2011.
 - 35 OVSIANIKOV, A.; CHICHKOV, B. N. Three-dimensional microfabrication by two-photon polymerization. **Methods in Molecular Biology**, v. 868, p. 311-325, 2012.
 - 36 KROL, D.M. Femtosecond laser modification of glass. **Journal of Non-crystalline Solids**, v. 354, p. 416-424, 2008.
 - 37 OTUKA A. J. G. **Fabricação de microestruturas com múltiplas dopagem via fotopolimerização por absorção de dois fótons**. 2012. 113 f. Dissertação (Mestre em Ciências e Engenharia de Materiais) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.
 - 38 AMS, M. et al. Investigation of ultrafast laser-photonics material interactions: challenges for directly written glass photonics. **IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics**, v. 14, n. 5, p. 1370-1381, 2008.
 - 39 SCHAFFER, C.B, GARCIA, J.F; MAZUR, E. Bulk heating of transparent materials using a high-repetition-rate femtosecond laser. **Applied Physics A**, v. 76, p. 351-354, 2003.
 - 40 TIEN, A. et al. Short-pulse laser damage in transparent materials as a function of pulse duration. **Physical Review Letters**, v. 82, n. 19, p. 3833, 1999.
 - 41 GLEZER, E. N.; MAZUR, E. Ultrafast-laser driven micro-explosions in transparent materials. **Applied Physics Letters**, v. 71, p. 882-884, 1997.
 - 42 CHICHKOV, B.N. et al. Femtosecond, picosecond and nanosecond laser ablation of solids. **Applied Physics A**, v. 63, p. 109-115, 1996.
 - 43 GAMALY, et al. Ablation of solids by femtosecond lasers: ablation mechanism and ablation thresholds for metals and dielectrics. **Physics of Plasmas**, v. 9, n. 3, p.1-27, 2002.
 - 44 YU, F. **Laser interference lithography micropatterning of polymer surface for cell adhesion**. 2006. 134 f. Thesis (Doctor of Engineering and Natural Sciences) - Scientific-

technical Faculty III Chemistry, Pharmacy, Biology and Material Science, Saarland University, Saarbücken, 2006.

- 45 LASAGNI, A. F. **Advanced design of periodical structures by laser interference metallurgy in the micro/nano scale on macroscopic areas**. 2006. 191 f. Thesis (Doctor of Engineering and Natural Sciences) - Scientific-technical Faculty III Chemistry, Pharmacy, Biology and Material Science, Saarland University, Saarbücken, 2006.
- 46 YUAN, D. **Laser direct-write microfabrication and patterning**. 2008. 176 f. Thesis (Doctor of Mechanical Engineering) - Horace H. Rackham School of Graduate Studies, The University of Michigan, Ann Arbor , 2008.
- 47 YUAN, Y.; LEE, T. R. **Surface science techniques**. New York: Springer, 2013. (Series in surface sciences).
- 48 HARDT, S.; SCHÖNFELD, F. **Microfluidic technologies for miniaturized analysis systems**. New York: Springer Science+Business Media, 2007.
- 49 SCHRADER, M. E. Young-dupre revisited. **Langmuir**, v.11, n. 9, p. 3585-3589, 1995.
- 50 BHUSHAN, B. et al. Micro-, nano- and hierarchical structures for superhydrophobicity, self-cleaning and low adhesion. **The Royal Society: philosophical e transations A**, v. 367, n. 1894, p. 1631-1672, 2009.
- 51 WENZEL, R. N. Resistance of solid surfaces to wetting by water. **Industrial and Engeneering Chemistry**, v. 28, p. 988-994, 1936.
- 52 CASSIE, A. B. D.; BAXTER, S. Wettability of porous surfaces. **Transactions of the Faraday Society**, v. 40, p. 546-551, 1944.
- 53 BURROUGHES, J. H. et al. Light-emitting diodes based on conjugated polymers. **Nature**, v. 347, p. 539-541, 1990.
- 54 SIRRINGHAUS, H. et al. High-resolution inkjet printing of all-polymer transistor circuits. **Science**, v. 290, n. 5499, p. 2123-2126, 2000.
- 55 HO, P. K. H. et al. All-polymer optoelectronic devices. **Science**, v. 285, n. 5425, p. 233-236, 1999.
- 56 CORREA, D. S. **Absorção de multi-fótons em polímeros e resinas poliméricas: espectroscopia não-linear e microfabricação**. 2009. 175 f. Tese (Doutor em Ciências e Engenharia de Materiais) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.
- 57 QUEIROZ, E. L. **Estudos das propriedades elétricas de diodos poliméricos com eletrodo injetor à base de óxido de zinco**. 2012. 145 f. Tese (Doutor em Ciências) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.
- 58 QUIN, C. et al. Water-solubility of chitosan and its antimicrobial activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, n. 3, p. 367–374, 2006.

-
- 59 RAAFAT, D. et al. Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound. **Applied and Environmental Microbiology**, v.74, n. 12, p. 3764–3773, 2008.
- 60 VENKATESAN, J.; KIM, S. Chitosan composites for bone tissue engineering-an overview. **Marine Drugs**, v. 8, n. 8, p. 2252-2266, 2010.
- 61 BHATTARAI, N.; GUNN, J.; ZHANG, M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 1, p.83-99, 2010.
- 62 HUANG, X. et al. Using absorbable chitosan hemostatic sponges as a promising surgical dressing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 75, p. 322–329, 2015.
- 63 STANISH, W. D. et al. Novel scaffold-based bst-cargel treatment results in superior cartilage repair compared with microfracture in a randomized controlled trial. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 95, n. 18, p. 1640 -1650, 2013.
- 64 LEVY, R. et al. Controlled release implants for cardiovascular disease. **Journal of Controlled Release**, v. 11, p. 245-254 1990.
- 65 AMER, Z. J. A.; AHMED, J. K.;ABBAS, S. F. Chitosan/PMMA bioblend for drug release applications. **International Journal of Engineering and Technology**, v. 4, n. 5, p. 318-324, 2014.
- 66 AMNON, S. et al. Cardiac controlled release for arrhythmia therapy: lidocaine-polyurethane matrix studies. **Journal of Controlled Release**, v. 2, n. 8, p.157-165, 1988.
- 67 GWON, A.; GRUBER, L. Engineering the crystalline lens with a biodegradable or non-degradable scaffold. **Experimental Eye Research**, v. 91, n. 2, p. 220–228, p. 2010.
- 68 QUAN, H. et al. Mechanism of anti-angiogenic activities of chitooligosaccharides may be through inhibiting heparanase activity. **Medical Hypotheses**, v. 73, n. 2, p. 205-206, 2009.
- 69 PANGESTUTI, R.; KIM, S. Neuroprotective properties of chitosan and its derivatives. **Marine Drugs**, v. 8, p. 2117-2128, 2010.
- 70 YANG, E. J. et al. Anti-inflammatory effect of chitosan oligosaccharides in RAW 264.7 cells. **Central European Journal of Biology**, v. 5, p. 95-102, 2010.
- 71 ZHENG, L.; ZHU, L. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, n. 4, p. 527–530, 2003.
- 72 QI, L.; XU, Z. In Vivo antitumor activity of chitosan nanoparticles. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, n. 16, p. 4243-4245, 2006.
- 73 GOY, R.; BRITTO, D.; ASSIS, O. A Review of the antimicrobial activity of chitosan. **Polímeros: ciência e tecnologia**, v. 19, n. 3, p. 241-247, 2009.
- 74 FERNANDES, J. C. et al. Antimicrobial effects of chitosans and chitooligosaccharides, upon *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, in food model systems. **Food Microbiology**, v. 25, p. 922-928, 2008.

-
- 75 YOUNG, D. H.; KAUSS, H. Release of calcium from suspension-cultured glycine max cells by chitosan, other polycations, and polyamines in relation to effects on membrane permeability. **Plant Physiology**, v. 73, n. 3, p.698-702, 1983.
- 76 HARRIS, L.G.; FOSTER, S. J.; RICHARDS, R.G. An Introduction to Staphylococcus aureus, and techniques for identifying and quantifying S. aureus adhesins in relation to adhesion to biomaterials: review. **European Cells and Materials**, v. 4, p. 39-60, 2002.
- 77 OTTO, M. Staphylococcus colonization of the skin and antimicrobial peptides. **Expert Review of Dermatology**, v. 5, n. 2, p. 183-195, 2010.
- 78 FOSTER, T. J. Adhesion, invasion and evasion: themany functions of the surface proteins of Staphylococcus aureus. **Nature Reviews Microbiology**, v. 12, p. 49-62, 2014.
- 79 DAVIES, D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. **Nature Reviews**. v. 2, p. 114-122, 2003.
- 80 MANN, E. E. et al. Surface micropattern limits bacterial contamination. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, v. 3, n. 28 p.1-8, 2014.
- 81 KISKÓ, G.; SZABÓ-SZABÓ, O. Biofilm removal of pseudomonas strains using hot water sanitation. **Acta Universitatis Sapientia e Alimentaria**, v. 4, p. 69-79, 2011.
- 82 SAUER, K. et al. Pseudomonas aeruginosa displays multiple phenotypes during development as a biofilm. **Journal of Bacteriology**, v. 184, n. 4, p. 1140-1154, 2002.
- 83 CARVALHO, J. E. **Caracterização depoliuretano de óleo vegetal para confecção de dispositivo de assistência ventricular**. 2014. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Engenharia de Materiais) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.
- 84 PRISACARIU, C. **Polyurethane elastomers: from morphology to mechanical aspects**. Iasi: Springer-Verlag/Wien, 2011.
- 85 LEE, S.; PARK, C. B.; RAMESH, N. S. **Polymericfoams: science and technology**. Boca Raton: Taylor & Francis; CRC, 2007.
- 86 THOMSON, T. **Polyurethanes as specialty chemicals: principles and applications**. Boca Raton : CRC, 2005.
- 87 KOLFF, W. J. Artificial heart in the chest and use of polyurethane for making hearts, valves and aortas. **American Society for Artificial Internal Organs**, v. 5, n. 1, p. 298-303, 1959.
- 88 BORETOS, J. W.; PIERCE, W. S. Segmented polyurethane: a new elastomer for biomedical applications. **Science**, v. 158, n. 3807, p. 1481-1482, 1967.
- 89 KÜPER, S.; BRANNON, J. KrF-laser ablation of polyurethane. **Applied Physics A**, v. 57, n. 3, p. 255-259, 1993.

-
- 90 BIEDA, M. et al. Ultra-low friction on 100Cr6-steel surfaces after direct laser interference patterning. **Advanced Engineering Materials**, v. 17, n. 1, p. 102–108, 2015.
 - 91 CRAWFORD, T. H. R.; BOROWIEC, A.; HAUGEN, H. K. Femtosecond laser micromachining of grooves in silicon with 800 nm pulses. **Applied Physics A**, v. 80, n. 8, p. 1717-1724, 2005.
 - 92 FURUSARA, K. et al. Ablation characteristics of Au, Ag, and Cu metals using a femtosecond Ti:sapphire laser. **Applied Physics A**, v. 69, n. 1, p. 359-366, 1999.
 - 93 AMS, M. et al. Investigation of ultrafast laser–photonic material interactions: challenges for directly written glass photonics. **IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics**, v. 14, n. 5, p. 1370-1381, 2008.
 - 94 SHIH, T. et al. Faraday rotation in femtosecond laser micromachined waveguides. **Optics Express**, v. 15, n. 9, p. 5809-5814, 2007.
 - 95 SUTHERLAND, D. G. J. et al. Photo-oxidation of electroluminescent polymers studied by core-level photoabsorption spectroscopy. **Applied Physics Letters**, v. 68, n. 15, p. 2046-2048, 1996.
 - 96 HOLZER, W. et al. Photodegradation of some luminescent polymers. **Chemical Physics**, v. 248, n. 2-3, p. 273-284, 1999.
 - 97 FERREIRA, P. H. D. et al. MEH-PPV photobleaching control by femtosecond pulse shaping. **Physica Status Solidi A**, v. 206, n. 1, p. 126-130, 2009.
 - 98 DE BONI, L. et al., Nonlinear absorption spectrum in MEH-PPV/chloroform solution: a competition between two-photon and saturated absorption processes. **Physical Chemistry B**, v. 108, n. 17, p. 5221-5224, 2004.
 - 99 FERREIRA, P. H. D. et al. Femtosecond laser fabrication of waveguides in DR13-doped PMMA. **Optics Communications**, v. 318, p. 53-56, 2014.
 - 100 HOLZER, W. et al. Photodegradation of some luminescent polymers. **Chemical Physics**, v. 248, n. 2-3, p. 273-284, 1999.
 - 101 UNGER, C. et al. Time-resolved studies of femtosecond-laser induced melt dynamics. **Optics Express**, v. 20, n. 22, p. 24866, 2012.
 - 102 CHENG, J. et al. Direct-write laser micromachining and universal surface modification of PMMA for device development. **Sensors and Actuators B: chemical**, v. 99, n. 1, p. 186-196, 2004.
 - 103 LIU, C. et al. Fabrication of three-dimensional microfluidic channels inside glass using nanosecond laser direct writing. **Optics Express**, v. 20, n. 4, p. 4291-4296, 2012.
 - 104 BIACHI, R. F. **Estudos de propriedades eletrônicas e ópticas de filmes e dispositivos poliméricos**. 2002. 159 f. Tese (Doutorado em Ciências e Engenharia de Materiais) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

-
- 105 KREBS, F.C. et al. Life times of organic photovoltaics: photochemistry, atmosphere effects and barrier layers in ITO-MEHPPV:PCBM-aluminium devices. **Solar Energy Materials & Solar Cells**, v. 86, n. 4, p. 499-516, 2005.
- 106 JORGENSEN, M.; NORRMAN, K.; KREBS, F. C. Stability/degradation of polymer solar cells. **Solar Energy Materials & Solar Cells**, v. 92, n. 7, p. 686-714, 2008.
- 107 RIVERO, S.; GARCÍA, M. A.; PINOTTI, A. Physical and chemical treatments on chitosan matrix to modify film properties and kinetics of biodegradation. **Journal of Materials Physics and Chemistry**, v.1, n. 3, p. 51-57. 2013.
- 108 WENZEL, R. N. Resistance of solid surfaces to wetting by water. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 28, n. 8, p. 988-994, 1936.
- 109 LIN, H. et al. Deep ultraviolet laser direct write for patterning sol-gel In GaZnO semiconducting micro/nanowires and improving field-effect mobility. **Scientific Reports**, v. 5, n.10490, 2015. Doi: 10.1038/srep10490.
- 110 GUENTHER, A. H. **International trends in applied optic**. Washington: The International Society for Optical Engineering, 2002.
- 111 LASAGNI, A. et al. Laser ablation modeling of periodic pattern formation on polymer substrates. **Advanced Engineering Materials**, v. 10, n. 5, p. 488-493, 2008.
- 112 FLEMMING, R.G. et al. Effects of synthetic micro- nano-structured surfaces on cell behavior. **Biomaterials**, v. 20, n. 6, p.573-88, 1999.
- 113 SIRKECIOGLU, A. et al. Physical and surface properties of polyurethane hydrogels in relation with their chemical structure. **Polymer Engineering and Science**, v. 54, n. 5, p. 1182-1191, 2014.
- 114 GUANGYAO, L. et al. Synthesis, characterizations and biocompatibility of alternating block polyurethanes based on P3/4HB and PPG-PEG-PPG. **Journal of Biomedical Materials Research A**, v. 98, n. 1, p. 88-99, 2011.
- 115 YUAN, Y.; LEE, T. R. Contact angle and wetting properties. **Springer Series in Surface Sciences**, v. 51, p. 3-34, 2013.
- 116 HANS, M. et al. Direct laser interference structuring as a tool to gradually tune the wetting response of titanium and polyimide surfaces. **Advance Engineering Materials**, v. 11, n.10, p.795-800, 2009.
- 117 LU, M. et al. Physical properties and biocompatibility of UHMWPE-derived materials modified by synchrotron radiation. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 25, n. 8, p.1843-1852, 2014.