

Estudio de la biodegradación hidrolítica de recubrimientos de biopolímeros/cerámico mediante EQCM

Study of Hydrolytic Biodegradation of Biopolymers/Ceramic Coatings by EQCM

Luisa F. Ardila⁽¹⁾, Hugo A. Estupiñán⁽²⁾, Custodio Vásquez^{(3)*}, Darío Y. Peña^{(4)*}

⁽¹⁾ Ingeniera Química UIS. Magister en Ingeniería de Materiales. Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de Materiales. UIS. GIC. luisafardila@gmail.com

⁽²⁾ Ph.D. Escuela de Ingeniería de Materiales. Facultad de Minas. Profesor asistente. Universidad Nacional de Colombia. haestupinand@unal.edu.co

⁽³⁾ M.Sc. Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de Materiales. GIC. Profesor Titular. custodio@uis.edu.co

⁽⁴⁾ Ph.D. Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de Materiales. GIC. Profesor asociado. dypena@uis.edu.co

* Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. Colombia.

Recibido septiembre 30 de 2010, modificado 22 de noviembre de 2011, aprobado 12 de diciembre de 2011.

Palabras claves

Biomateriales, impedancia, microbalanza, degradación hidrolítica.

Resumen

El presente trabajo incluye el estudio de la biodegradación hidrolítica de recubrimientos de ácido poliláctico, ácido poliglicólico e hidroxiapatita, obtenidos en forma de películas delgadas electrodepositadas catódicamente sobre cristales de cuarzo piezoeléctricos, empleando un electrolito de diferentes relaciones de cada polímero/cerámico a un volumen de solvente, tiempo y voltaje definidos previamente. Posteriormente, los cristales recubiertos, fueron sumergidos durante 1, 3, 5, 7 y 10 días en fluido corporal simulado a temperatura y pH constantes. Los recubrimientos fueron analizados por EIS y QCM para encontrar una correlación entre los cambios de frecuencia con la carga total transferida.

Key words

Biomaterial, impedance, microbalance, hydrolytic degradation.

Abstract

This work includes the study of the hydrolytic biodegradation of coatings based on polylactic acid, polyglycolic acid and hydroxyapatite. These coatings were obtained by cathodic electrodeposition over piezoelectric quartz crystals, using an electrolyte with different polymer/ceramic ratios but with a fixed time, voltage and volume of solvent. The films obtained were immersed into a simulated body fluid (SBF) during 1, 3, 5, 7 and 10 days at constant temperature and pH. The coatings were analyzed by EIS and QCM to find a correlation between frequency changes and the total transferred mass.

INTRODUCCIÓN

La revolución en la biología celular molecular, en combinación con los avances de la ciencia y la ingeniería de polímeros, está impulsando el campo de los biomateriales hacia nuevas aplicaciones y hacia una era de diseño molecular. Nuevas clases de materiales degradables e hidrogeles han sido desarrollados y asociados con ligandos moleculares para el control de comportamientos celulares específicos. Actualmente, existen polímeros sintéticos bioabsorbibles utilizados en el campo biomédico, los cuales tienen la capacidad de degradarse, debido a reacciones de hidrólisis en condiciones fisiológicas dentro del cuerpo humano. Después de cierto

tiempo de ser implantados dan lugar a productos que no son tóxicos y que pueden ser eliminados por el organismo o metabolizados por éste [1].

Éstos son materiales atractivos para la elaboración de soportes en ingeniería de tejidos, los soportes fabricados a partir de este tipo de polímeros ofrecen la posibilidad de crear tejidos completamente naturales. En consecuencia, dejan de lado los problemas de infección y formación de tejido fibroso, asociados a los implantes permanentes [2].

Algunos de los materiales empleados con más frecuencia en aplicaciones biomédicas son los biopolímeros como el ácido poliláctico (PLA) y el ácido poliglicólico (PGA). El primero, es un polímero sintético termoplástico de la familia de

los poliésteres alifáticos basado en ácido láctico que, como biomaterial, ha demostrado su capacidad de permitir el crecimiento controlado del tejido biológico durante su biodegradación. El PLA puede hidrolizarse fácilmente a ácido láctico, mediante un proceso de degradación hidrolítica, lo cual podría suministrar algunas ventajas en su reciclaje, a su vez es biocompatible (no provoca rechazo), biodegradable (se elimina naturalmente), inmunológicamente inerte (no produce alergias), no tóxico y reabsorbible (con reabsorción completa). [3]. El segundo, es un poliéster lineal biodegradable de estructura muy simple. Las fibras obtenidas a partir de éste se caracterizan por su alta fuerza y módulo de Young, pero son demasiado rígidas para ser usadas como suturas, excepto si se usan en forma de material trenzado. Puede emplearse como dispositivo de fijación ósea en forma de varillas, planchas o tornillos, y como implante para sustituir fragmentos óseos o como sistema de liberación de medicamentos.

Adicional a los biopolímeros, como la fase mineral del hueso está constituida por un fosfato cálcico, dentro de los biomateriales también se han estudiado las cerámicas biocompatibles, entre las cuales se encuentran diferentes tipos de fosfatos cálcicos (CaP): hidroxiapatita, fosfato tricálcico, hidroxiapatita carbonatada, apatita pirofosfato, fosfato tetra-cálcico, etc. La ventaja de este tipo de materiales es que se unen directamente al hueso sin ningún tipo de tejido fibroso en la interfaz, es decir, presentan una alta bioactividad. Entre estos fosfatos cálcicos, la composición química está muy cercana a la del fosfato cálcico del hueso. En la actualidad está muy bien documentado el hecho de que el hueso desarrolle una fuerte unión con implantes hechos de hidroxiapatita (HAP) [4].

Teniendo en cuenta que, en la mayoría de los casos un material por sí solo no puede cubrir todos los requerimientos de propiedades mecánicas, biocompatibilidad etc., se presentan los materiales compuestos como una alternativa, por la combinación de las propiedades de metales, cerámicos y polímeros. Las propiedades que se obtienen de estas combinaciones son superiores a la de los materiales que los forman por separado, lo que hace que su utilización cada vez sea más imponente, sobre todo en aquellas piezas en las que se requieren

propiedades combinadas, en la que un material (polímero, metal o cerámico) por sí solo no las presenta [5].

En este trabajo se obtuvieron películas de PLA/HAP y PGA/HAP inmovilizadas electroquímicamente en cristales de cuarzo Au-Cr por electrodeposición catódica, para su posterior caracterización y análisis de la degradación, empleando la combinación de técnicas de Microbalanza de Cristal de Cuarzo (QCM) y Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS). Dicha combinación además de proveer información, acerca del proceso de degradación del material compuesto, puede mostrar información sobre la variación de la masa, el hinchamiento, la delaminación, la viscoelasticidad y la formación de poro [6]. Los comportamientos más estables o de menor degradación, se observaron en las mezclas de PLA/HAP.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

OBTENCIÓN DE RECUBRIMIENTOS

Los materiales empleados para los recubrimientos fueron PLA, PGA y HAP, obtenidos de la síntesis del Ácido L-láctico mediante policondensación, de la síntesis de Ácido Glicólico por medio de condensación y precipitación acuosa de Fosfato de Amonio y Nitrato de Calcio Tetra Hidratado, respectivamente. Estos materiales se utilizaron en forma de películas delgadas electrodepositadas catódicamente sobre cristales de cuarzo piezoeléctricos, empleando un electrolito de material compuesto/acetona al 15%, a un tiempo de 9 minutos y un voltaje de 9 V que fueron definidos en ensayos preliminares.

Posteriormente los cristales recubiertos fueron sumergidos durante 1, 3, 5, 7 y 10 días en fluido corporal simulado (SBF) a temperatura y pH constantes, respectivamente; en cada intervalo se realizaron análisis de EIS y QCM empleando un potencióstato en el primer caso y una microbalanza de cristal de cuarzo en el segundo.

En la Figura 1 se pueden observar micrografías de las películas de polímero electrodepositadas sobre el cristal de cuarzo. En la figura de la derecha se observa la presencia de irregularidades morfológicas de la superficie de la película de polímero.

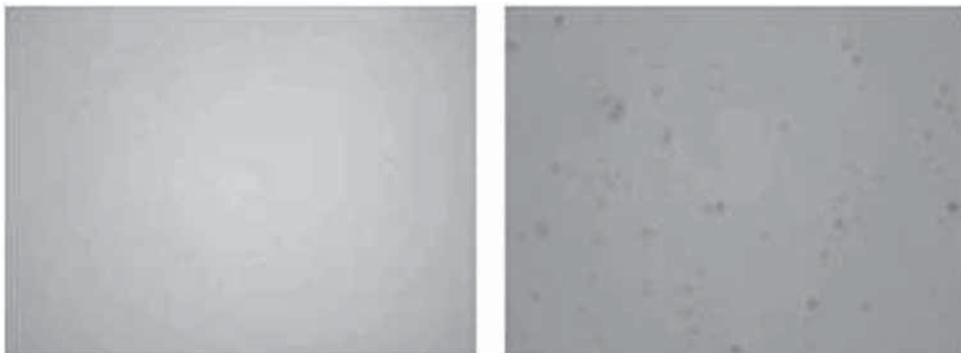


Figura 1. Micrografía de una película de PLA/HAP tomada a 5X. Izquierda, cristal de cuarzo sin recubrimiento, y derecha, cristal de cuarzo con recubrimiento

PRUEBAS DE CARACTERIZACIÓN

Para el proceso de degradación de los materiales se empleó como electrolito, SBF, el cual es una solución salina amortiguada por fosfatos, constituye una solución comúnmente empleada para procedimientos bioquímicos. Su osmolaridad y concentración de iones (Cl^- , Na^+ y K^+) es muy semejante a la del líquido extracelular de los mamíferos. Esta solución se prepara a partir de Cloruro de Sodio y Fosfato de Sodio. Su composición fue la siguiente: 8.6 g de NaCl, 0.22 g de KCl, 2.444 g de NaH_2PO_4 , 0.374 g de KH_2PO_4 , aforado con agua destilada hasta completar un litro y un pH de 7.4 [7].

Se realizó la evaluación de las propiedades electroquímicas (resistencia de la solución electrolítica, resistencia a la polarización e impedancia de transferencia de carga, en función de la frecuencia) del sustrato formado, en el ambiente biológico simulado. Esta evaluación se realizó utilizando EIS, la cual permitió el estudio tanto de la corriente como de la impedancia de transferencia del sistema estudiado.

Las pruebas de EIS se realizaron utilizando un potencióstato Gamry y se dispuso de una celda plana vertical con su respectivo cristal recubierto, el cual fue ubicado dentro del holder de la QCM, sistema que fue llenado con SBF. El contra-

electrodo fue grafito y el electrodo de referencia, Ag-AgCl. Todas las pruebas se realizaron manteniendo el pH en 7 y la temperatura en 25°C. Los ensayos de EIS se realizaron a una amplitud de voltaje de corriente alterna de 10 mV, con un barrido de frecuencia desde 0,01 Hz hasta 100.000 Hz. En el esquema de la Figura 2, se muestra el montaje realizado para la caracterización electroquímica y las pruebas simultáneas de QCM, estas últimas permitieron obtener las pérdidas de masa. La relación entre los cambios en masa por unidad de área (Δm) y la frecuencia (Δf) es dada por la ecuación Sauerbrey [8]:

$$\Delta f = \frac{-2\Delta m n f_0^2}{A \sqrt{\rho_q \mu_q}} \quad (1)$$

El proceso de degradación de las películas inmovilizadas en los cristales de cuarzo se realizó durante 10 días consecutivos. Para cada día se realizaron tres mediciones electroquímicas y mediciones de pérdida de masa, simultáneamente. La figura 3 muestra las microfotografías de las películas de PLA degradadas.

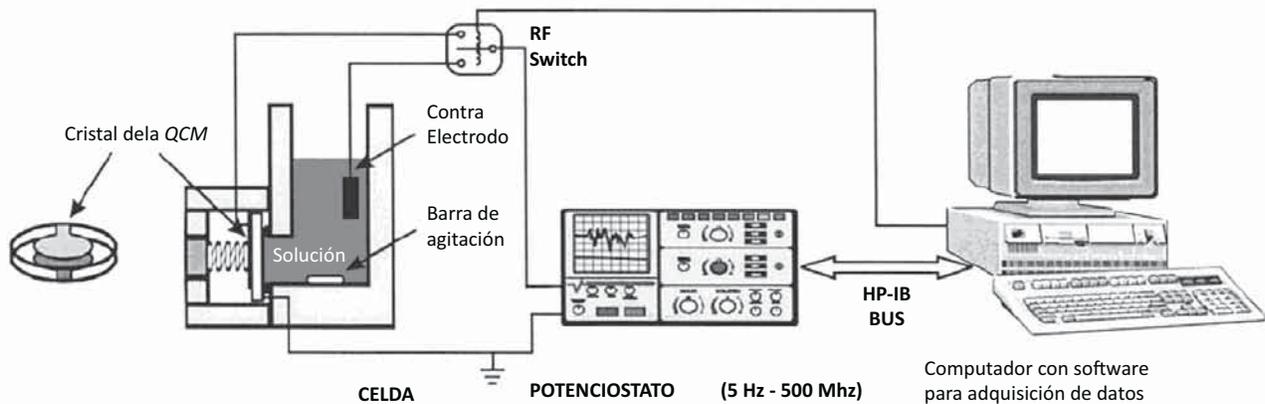


Figura 2. Montaje Celda - Equipos para realizar las pruebas electroquímicas

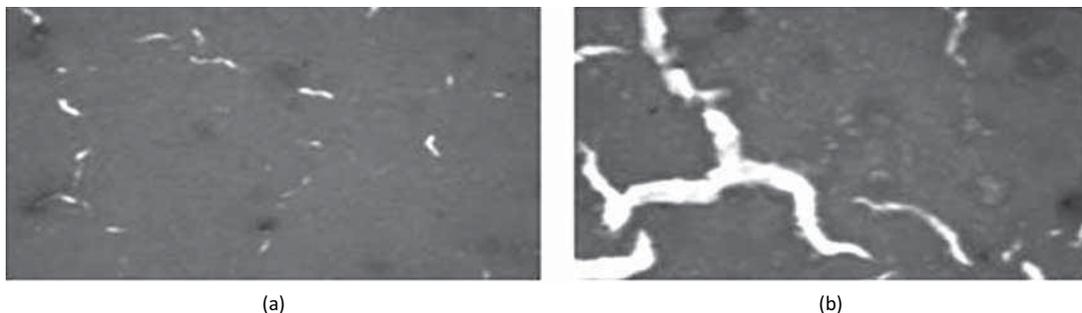


Figura 3. Micrografía de una película de PLA/HAP degradada. Tomadas a a) 5X, y b) 20X respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cada uno de los ensayos se realizó por duplicado, y cada uno de los cristales recubiertos fue ensayado 3 veces cada día. A continuación se encuentran consignados los resultados obtenidos en la tercera corrida de cada día para los cristales con un porcentaje de polímero/cerámico 90/10 ya que su comportamiento es muy similar para los demás porcentajes polímero/cerámico estudiados (95/5 y 85/15).

En la Figura 4 se aprecia una representación del comportamiento electroquímico de los sistemas PLA/HAP y PGA/HAP mediante un circuito equivalente, el elemento de fase constante (CPE3) y la resistencia de la doble capa (R4) se encuentran relacionados con el efecto de la HAP en el recubrimiento; el elemento de fase constante (CPE2) y la resistencia de la doble capa (R3) corresponden al sustrato (metal del cristal Au -Cr); la capacitancia (C1) y la resistencias R2 pertenecen a la polarización del recubrimiento y la resistencia R1 al efecto del electrolito. El modelo con elementos de fase constante, representa irregularidades a la transferencia de carga en la interfase del electrodo (cristal) respecto a la película polimérica y de poros, posiblemente debido a la pérdida de cristalinidad del polímero, con presencia de irregularidades en las zonas amorfas.

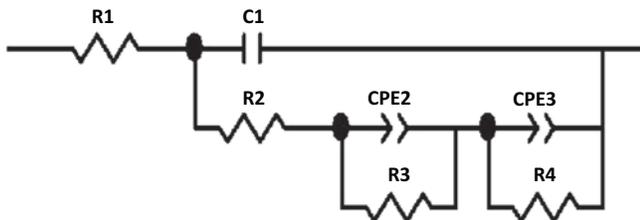


Figura 4. Circuito equivalente propuesto para los sistemas PLA/HAP y PGA/HAP obtenidos por electrodeposición catódica

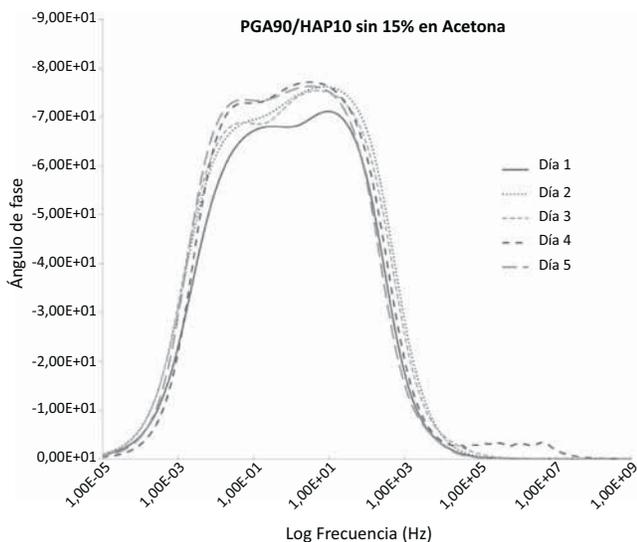


Figura 5(a). Diagrama de Ángulo de fase vs Logaritmo de la frecuencia. PGA/HAP (90/10)%

En los diagramas de ángulo de fase Vs. logaritmo de la frecuencia (Figura 5), simulados para los datos obtenidos en las pruebas electroquímicas se puede observar una tendencia similar de las curvas para los dos materiales estudiados. Se evidenció un comportamiento propio de un recubrimiento de muy baja conductividad y capacitancia, entre 0,1 y 10 Hz, con ángulos de fase altos ($>60^\circ$), así como una inestabilidad en el diagrama a 1Hz, debido, probablemente, a la presencia de la cerámica bioactiva.

En los diagramas de Nyquist (Figura 6) de cada recubrimiento de material compuesto, se puede observar un comportamiento similar; a medida que aumentan los días del ensayo de degradación se produce un aumento del módulo de impedancia que puede atribuirse al hinchamiento del recubrimiento al absorber electrolito. La corriente que pasa a través de la interface recubrimiento/electrolito, es conducida por los iones en solución, el efecto resistivo en la migración de los iones es representado por la resistencia del mismo, la cual aumenta a medida que aumentan los días del ensayo, teniendo valores más bajos de resistencia a menos tiempo los recubrimientos a base de ácido poliglicólico que los de poliláctico.

Al analizar los datos obtenidos de pérdida de masa en el tiempo (Figura 7) se puede observar la diferencia notoria en la pérdida de masa de los recubrimientos de PGA respecto a los de PLA, lo cual corrobora las diferencias encontradas en los valores de los elementos del circuito equivalente obtenidos en la simulación de los datos de los ensayos electroquímicos.

En ambos recubrimientos se presentó una variación apreciable en la degradación durante los 5 primeros días con un traslape de las mediciones, que nuevamente se repitieron para los días 7 y 10, en los cuales la pérdida fue mucho más representativa, lo que muestra una aparente degradación e hinchamiento generalizado del recubrimiento. En los maso-

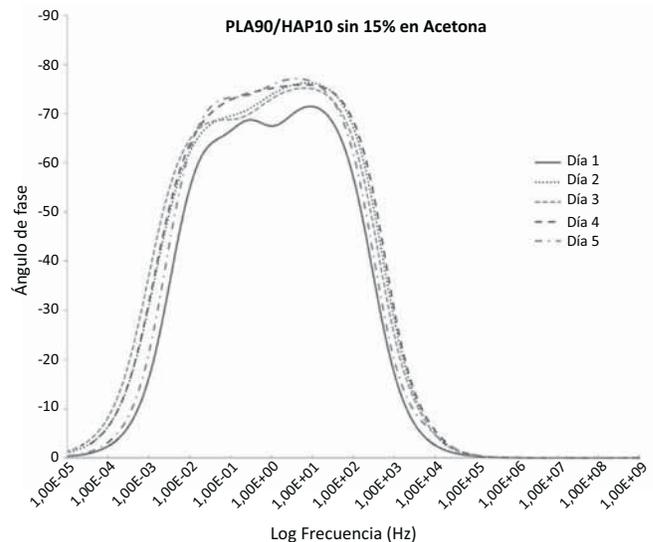


Figura 5(b). Diagrama de Ángulo de fase vs Logaritmo de la frecuencia. PLA/HAP (90/10)%

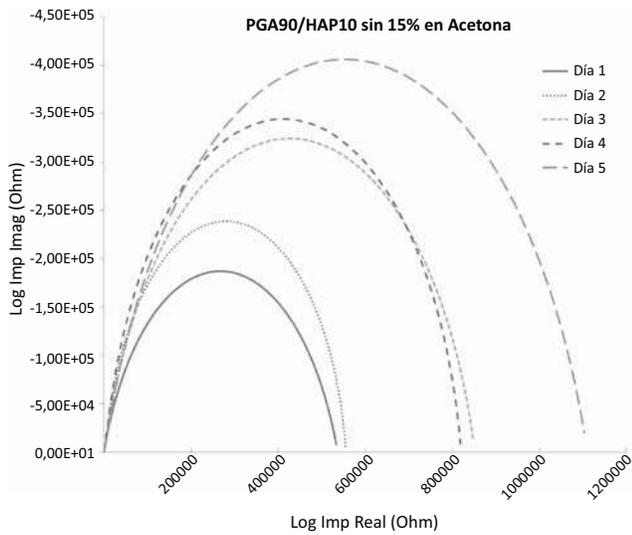


Figura 6(a). Diagrama de Nyquist. PGA/HAP (90/10)%

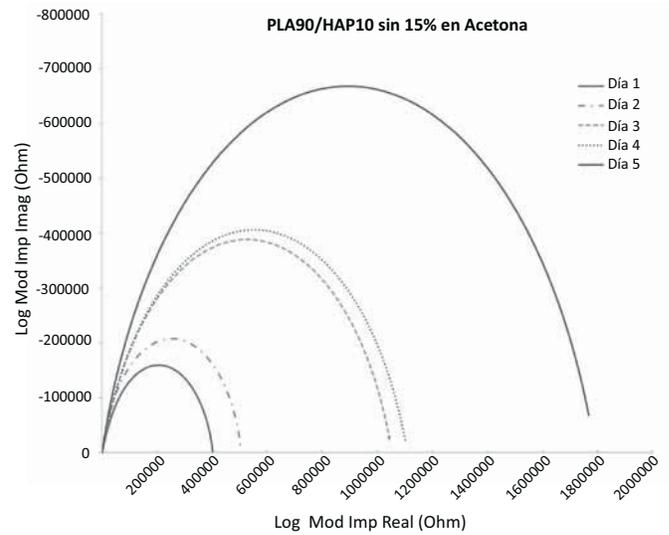


Figura 6(b). Diagrama de Nyquist. PLA/HAP (90/10)%.

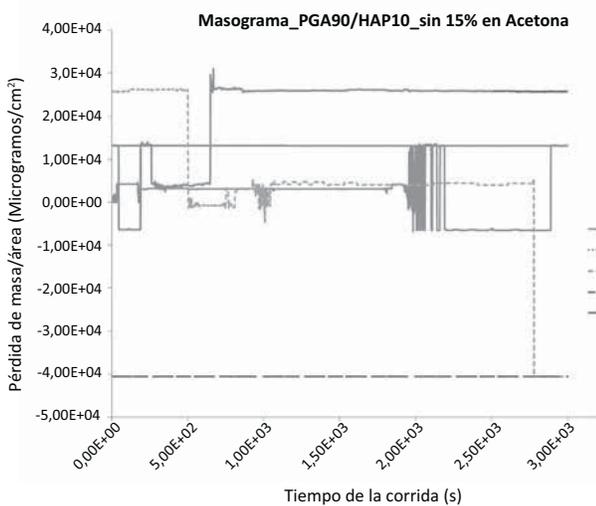


Figura 7(a). Masograma. PGA/HAP (90/10)%

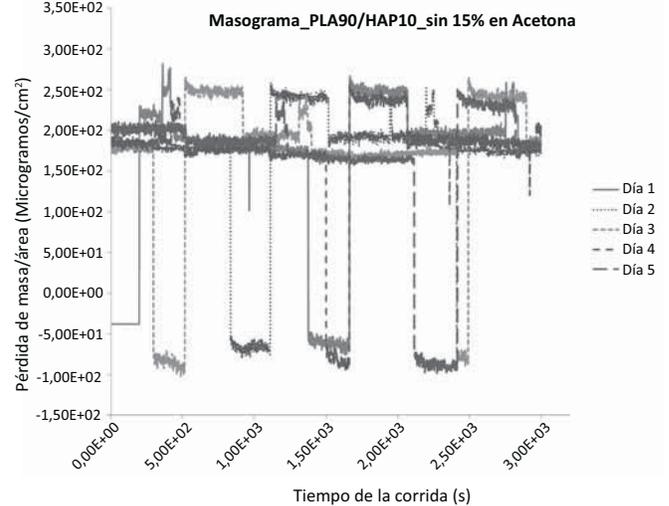


Figura 7(b). Masograma. PLA/HAP (90/10)%

gramas del recubrimiento de PGA/HAP (90/10)%, se evidencia que las variaciones de masa fueron mucho más significativas que en la mezcla de PLA/HAP.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados de los ensayos electroquímicos, los recubrimientos de las mezclas de PLA/HAP y PGA/HAP presentaron un comportamiento capacitivo con dos relajaciones de la transferencia de carga en el intervalo de frecuencia de medición, en el que a altas frecuencias predominaron los mayores valores de ángulo de fase, causados por el hinchamiento de la estructura, con ligeras variaciones debidas a la degradación del material o posible formación de poros. A más bajas frecuencias, se atribuye la disminución en la transferencia de carga a procesos en el electrodo rela-

cionados con transferencia iónica de la película polimérica e inestabilidad en la reacción, respecto al metal base. Se obtuvo un incremento de la resistencia a la transferencia de carga del sistema con el tiempo, donde los comportamientos más estables o de menor degradación, se observaron en las mezclas de PLA/HAP. No es claro, que la capacidad para aumentar la resistencia del sistema o para presentar hinchamiento por más tiempo sin degradarse, por parte de la mezcla de PLA/HAP, se produzca por la interacción entre el soluto biocerámico y la matriz polimérica o a diferencias estructurales entre el PGA y el PLA. La presencia de una interface relacionada con adsorción, se debe a la posible interacción entre los iones calcio y fosfato del electrolito, formando productos en la superficie del polímero en constante degradación. Ambas mezclas ensayadas han mostrado comportamientos diferentes relativos a su biodegradabilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] A. Conde, J.J. de Damborenea. "Electrochemical impedance spectroscopy for studying the degradation of enamel coatings". *Corrosion Science*. Corros. Sci. Vol. 44, No. 7, July, 2001, pp. 1555-1567.
- [2] N. Álvarez, J. Mantilla. *Evolución de la cristalinidad de copolímeros de PLGA (70:30 y 50:50) mezclados con hidroxiapatita al 5% y al 10%, sometidos a degradación hidrolítica en fluido fisiológico simulado a 37°C*. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander, 2009.
- [3] D. Rodríguez. *Obtención de capas de nitruro de titanio mediante tratamiento termoquímico en titanio y Ti6Al4V y caracterización de sus propiedades para aplicaciones biomédicas*. Cataluña: Universidad Politécnica de Cataluña, 2009.
- [4] M. P. Ginebra. *Desarrollo y caracterización de un cemento óseo basado en fosfatos tricálcico- α para aplicaciones quirúrgicas*. Cataluña: Universidad Politécnica de Cataluña, 1996.
- [5] R. J. González, et al. "Caracterización mediante FTIR y DSC de la interacción Colágeno – Hidroxiapatita". *International Federation for Medical and Biological Engineering Proceedings*. IFMBE Proceedings, Vol. 18, No. 20, 2008, pp. 1246-1249.
- [6] A. Sabot, S. Krause. "Simultaneous quartz crystal microbalance impedance and electrochemical impedance measurements. investigation into the degradation of thin polymer films". *Analytical Chemistry*. Anal. Chem., Vol. 74, No. 14. May, 2002, pp. 3304 – 3311.
- [7] E. Orava, J. Korventausta. "In vitro degradation of porous poly (DL-lactide-co-glycolide) (PLGA)/bioactive glass composite foams with a polar structure". *Polymer Degradation and Stability*. Polym. Degrad. Stab., Vol. 92, No. 1. January, 2007, pp. 14-23.
- [8] A. Rámila, et al. "Drug release and in vitro assays of bioactive polymers/glass mixtures". *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. JSST, 26, Vol. 1-3. January, 2003, pp. 1195-1198.
- [9] F. Santos, R. Méndez. "Applications of QCM, EIS and SPR in the investigation of surfaces and interfaces for the development of biosensors". *Química Nova*. Quim. Nova., Vol. 27, No. 6. November, 2004, pp. 1-5.