

ESTUDIO DE LA BIODEGRADACIÓN HIDROLÍTICA DE PELÍCULAS DELGADAS DE BIOPOLÍMEROS/CERÁMICO MEDIANTE EQCM.

Luisa F. Ardila⁽¹⁾, Hugo A. Estupiñán⁽²⁾, Custodio Vásquez⁽²⁾, Darío Y. Peña⁽²⁾

(1) Escuela de Ingeniería Química. Universidad Industrial de Santander. Colombia

(2) Grupo de Investigaciones en Corrosión. Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de Materiales. Universidad Industrial de Santander. Colombia

luisafardila@gmail.com

RESUMEN

Conocer la cinética de degradación que experimentan los materiales biodegradables de uso biomédico al estar en contacto con los fluidos corporales permite estimar la estabilidad de sus propiedades, las cuales deben ser conservadas por el tiempo en que cumplen su función, a medida que simultáneamente son absorbidos y excretados por el organismo, sin dejar trazas, garantizando su asimilación por los tejidos adyacentes y su correcto funcionamiento.

Algunos de los biomateriales más empleados son los biopolímeros, ácido poliláctico y ácido poliglicólico, y las cerámicas bioactivas, como la hidroxiapatita, las cuales se emplearon en este trabajo en forma de películas delgadas electrodepositadas catódicamente sobre cristales de cuarzo piezoeléctricos, empleando un electrolito de diferentes relaciones de 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 (PBS) a temperatura y pH constantes; en cada intervalo se realizaron análisis de EIS y QCM empleando un potencióstato y una microbalanza de cristal de cuarzo, respectivamente.

La interpretación cuantitativa de los datos EQCM relaciona los cambios de frecuencia con la carga total transferida. A medida que aumentaron los días del ensayo de degradación se produjo un aumento del módulo de impedancia que puede atribuirse al hinchamiento de los recubrimientos de ambos biomateriales al absorber medio electrolito, y que se tradujo en un mayor comportamiento resistivo del recubrimiento, resultados que se corroboran con los obtenidos mediante microgravimetría.

Tópico 5: Materiales Compuestos.

Palabras clave: biomateriales, impedancia, microbalanza, degradación hidrolítica.

1. INTRODUCCIÓN

La revolución en la ciencia básica de 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].

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

El ácido poliláctico (PLA) 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. El polímero es biocompatible (no provoca rechazo), biodegradable (se elimina naturalmente), inmunológicamente inerte (no produce alergias), no tóxico y reabsorbible (con reabsorción completa). [3].

El ácido poliglicólico (PGA) es un poliéster lineal biodegradable de estructura muy simple. Las fibras obtenidas a partir de PGA 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 polímeros, 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 tetracálcico, 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. Actualmente está muy bien documentado el hecho de que el hueso desarrolle una unión fuerte con implantes hechos de hidroxiapatita (HA) sinterizada, es decir que presenta una elevada bioactividad.

Finalmente y 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, las últimas décadas se han unido esfuerzos al estudio de materiales compuestos, los cuales son aquellos que están formados por combinaciones 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 necesitan propiedades combinadas, en la que un material (polímero, metal o cerámico) por sí solo no nos puede brindar. Las propiedades que se obtienen son un producto de la combinación de los refuerzos que se utilicen y de la matriz que soporta al refuerzo en los materiales compuestos.

En esta investigación por el mecanismo de electrodeposición catódica, se obtuvieron películas de PLA/HAP y PGA/HAP inmovilizadas electroquímicamente en cristales de cuarzo Au-Cr, para su posterior caracterización y el análisis de la degradación del biomaterial, para esto se empleó la combinación entre Microbalanza de Cristal de Cuarzo (QCM) y Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS). Dicha combinación además de proveer información, acerca del proceso de degradación del polímero, puede mostrar información sobre la variación de la masa, el hinchamiento, la delaminación, la viscoelasticidad y la formación de poro [4].

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.1 Obtención de recubrimientos. Los materiales empleados para los recubrimientos fueron PLA, PGA y HAP obtenidos de la síntesis del Acido L-láctico mediante policondensación, de la síntesis de Ácido Glicólico mediante condensación y mediante precipitación acuosa de Fosfato de Amonio y Nitrato de Calcio Tetra Hidratado, respectivamente. Dichos materiales se emplearon 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 (PBS) a temperatura y pH constantes; en cada intervalo se realizaron análisis de EIS y QCM empleando un potencióstato y una microbalanza de cristal de cuarzo, respectivamente.

En la Figura No.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, probablemente producidas por el atrapamiento de aire en la interface de la película de polímero y el cristal.

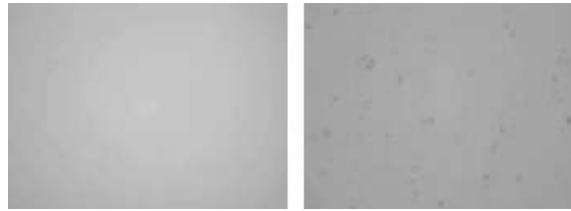


Figura No.1. Micrografía de una película de PLA/HAP tomada a 5X. Izquierda, cristal de cuarzo sin recubrimiento, y derecha, cristal de cuarzo con recubrimiento,.

2.1 Pruebas de Caracterización. Para el proceso de degradación de los materiales se empleó como electrolito Suero Fisiológico Simulado (PBS), 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. La composición del PBS 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 [5].

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 potenciostato Gamry disponiendo 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 PBS. El contra - electrodo fue grafito y el electrodo de referencia, Ag-AgCl. Todas las pruebas se realizaron manteniendo un 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 No. 2, se muestra el montaje realizado para la caracterización electroquímica y las pruebas simultáneas de QCM, estas fueron realizadas para 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 [6]:

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

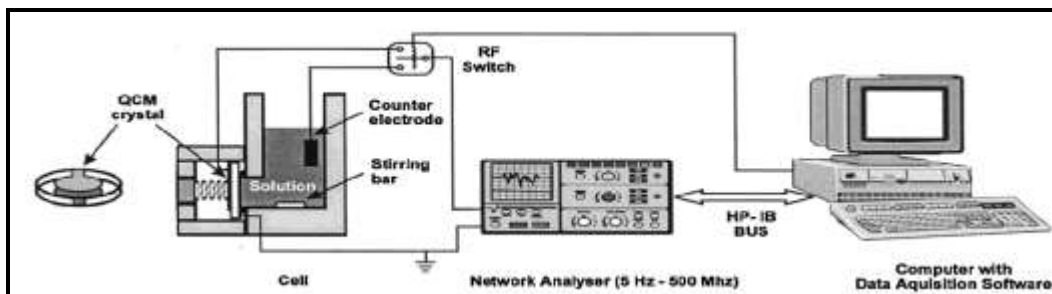


Figura No.2. Montaje Celda - Equipos para realizar las pruebas electroquímicas

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 No.3 muestra las micrografías las películas de PLA degradadas.

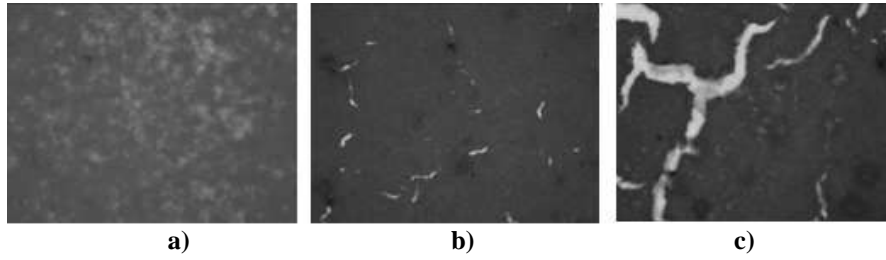
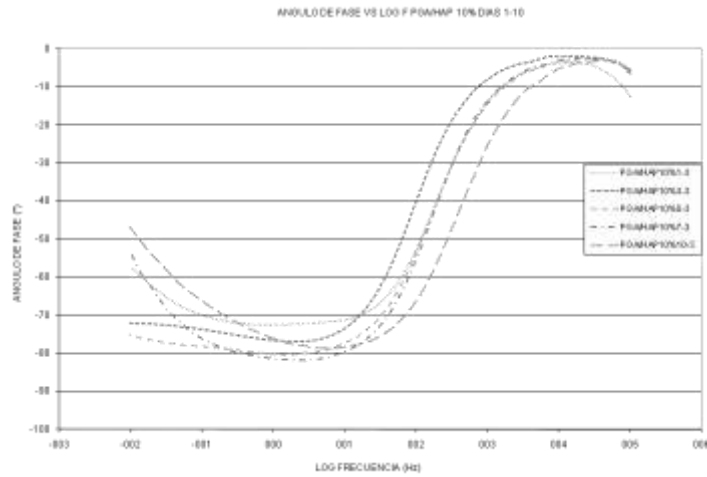


Figura No.3. Micrografía de una película de PLA/HAP degradada. Tomadas a a)5X, b)10X y c)20X respectivamente.

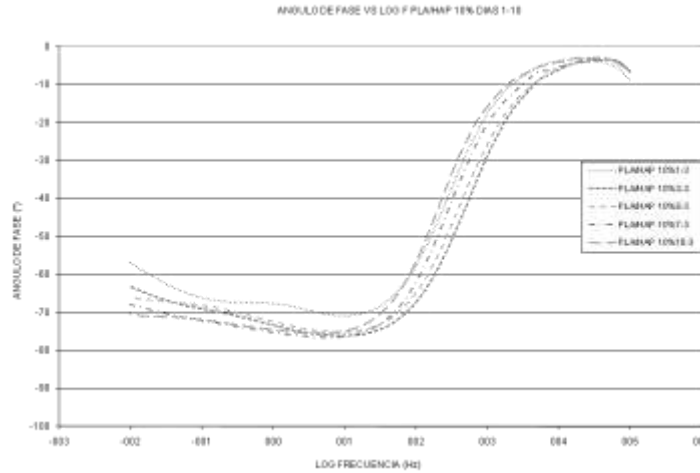
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

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 se repite para los demás porcentajes polímero/cerámico estudiados (95/5 y 85/15).

En los diagramas de ángulo de fase vs logaritmo de la frecuencia (Ver Figura No.4), obtenidos en las pruebas electroquímicas se puede observar una tendencia similar de las curvas para los dos materiales estudiados, a bajas frecuencias el ángulo de fase toma valores más negativos a medida que aumentan los días del ensayo de degradación, mientras que a altas frecuencias se presenta el efecto contrario.



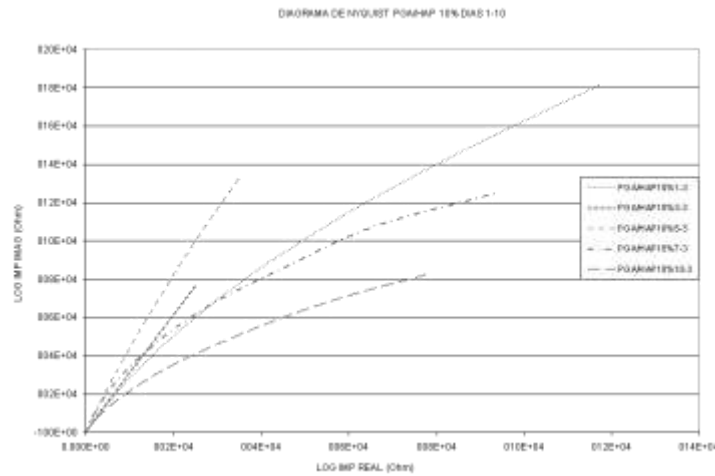
a)



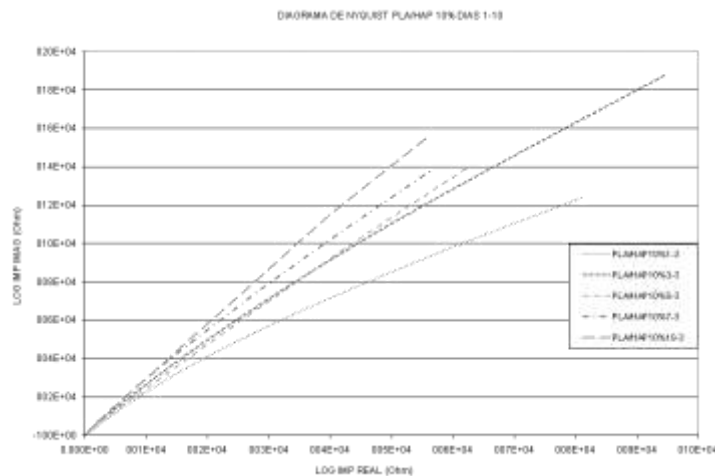
b)

Figura No.4 Diagramas de Ángulo de fase vs Logaritmo de la frecuencia. a) PGA/HAP (90/10)%, b) PLA/HAP (90/10%)

En los diagramas de Nyquist (Ver Figura No.5) 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 medio electrolito (pbs). La corriente que pasa a través de la interface polímero/electrolito, es conducida por los iones en solución, el efecto resistivo en la migración de los iones es representado por la resistencia del polímero R_p .



a)

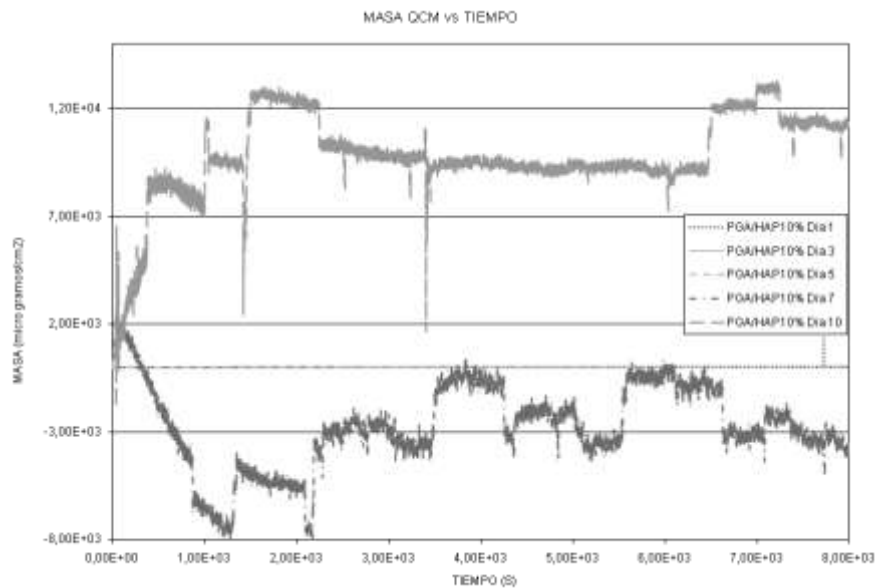


b)

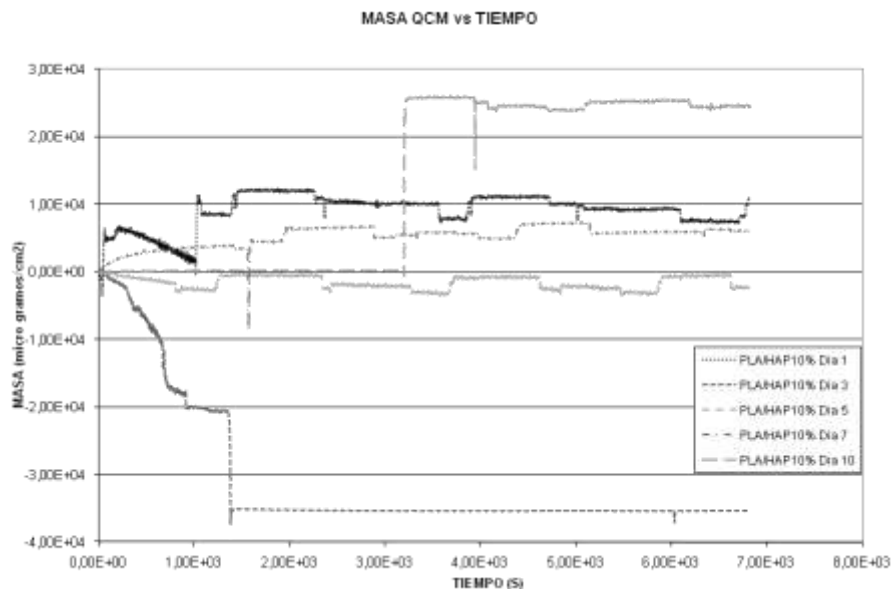
Figura No.5. Diagramas de Nyquist. a) PGA/HAP (90/10)%, b) PLA/HAP (90/10)%.

Al analizar los datos obtenidos de pérdida de masa en el tiempo (Ver Figura No.6) se puede observar que el comportamiento de los recubrimientos de cada material compuesto ya no es tan parecido. Para el recubrimiento de PLA/HAP (90/10)%, se encontró que no hubo una variación apreciable durante los 5 primeros días pero a en el 7 y 10 día la pérdida fue mucho más representativa indicándonos una aparente degradación del recubrimiento durante el Día 7 y un hinchamiento generalizado del mismo durante el Día 10.

A diferencia de éste, en los masogramas del recubrimiento de PGA/HAP (90/10)% se presentaron variaciones apreciables de la masa desde el primer día, dichas variaciones están relacionadas asociadas a la degradación e hinchamiento simultáneo de los recubrimientos hasta el Día 7 y finalmente al Día 10 se observa en su mayoría el hinchamiento del polímero que aún se encuentra adherido a la superficie del cristal.



a)



b)

Figura No.6 Masogramas a) PGA/HAP (90/10)%, b) PLA/HAP (90/10)%.

4. CONCLUSIONES

Los recubrimientos de materiales compuestos, PLA/HAP y PGA/HAP presentaron en el rango de frecuencias medias un comportamiento capacitivo por la alta resistencia de la doble capa electroquímica en la transferencia de carga de la interface polímero/electrolito, mientras que en el rango de frecuencias bajas se obtuvo un comportamiento resistivo debido a la formación de poros en la película de polímero, producto de la biodegradación, mostrando valores bajos del modulo de impedancia, teniendo valores más altos de resistencia a menos tiempo los recubrimientos a base de ácido poliglicólico, lo cual se verificó nuevamente en los masogramas. Dicho efecto resistivo en la migración de los iones en solución está representado por la resistencia del polímero R_p , el cual disminuyó a medida que aumentaron los días del ensayo.

Los recubrimientos de PLA/HAP y PGA/HAP presentan un comportamiento de hinchamiento y degradación los cuales se verifican con una disminución de los valores de resistencia debido al incremento de masa asociado a la adsorción de agua en el polímero. Siendo nuevamente menores las pérdidas de masa obtenidas para los diferentes recubrimientos de PLA/HAP que los de PGA/HAP. 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.

REFERENCIAS

- [1] CONDE A., DE DAMBORENEA J.J. "Electrochemical impedance spectroscopy for studying the degradation of enamel coatings". Corrosion Science. Vol. 44 Sep. 2001 pp. 155-1567
- [2] ALVAREZ, N., MANTILLA, J. Trabajo de Grado "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" (2009)
- [3] RODRIGUEZ RUIZ, Daniel. Obtención de capas denitrado de titanio mediante tratamiento termoquímico en titanio y Ti6Al4V y caracterización de sus propiedades para aplicaciones biomédicas.
- [4] SABOT, Andrea; KRAUSE, Steffi. Simultaneous quartz crystal microbalance impedance and electrochemical impedance measurements. investigation into the degradation of thin polymer films. Department Of Chemistry, The University Of Sheffield. Analytical Chemistry, Vol. 74, No. 14, July 15, 2002. Pág: 3304 - 3311
- [5]<http://www.farmaciasahumada.cl/fasaonline/fasa/mft/producto/p6799.htm>
- [6] SANTOS, Flavio; MENDEZ, Renata; TATSUO, Lauro. Applications of QCM, EIS and SPR in the investigation of surfaces and interfaces for the development of biosensors. Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas. Quim. Nova, Vol. 27, No. 6, 970-979, 2004. Pág: 1- 5