

ANÁLISIS ELECTROQUÍMICO DE LA DEGRADACIÓN DE RECUBRIMIENTOS DE PLA INMOVILIZADOS EN CRISTALES DE CUARZO Au-Cr, MEDIANTE EQCM

D.P. ALDANA¹; H. A. ESTUPIÑÁN²; C. VÁSQUEZ²; D.Y. PEÑA^{2*}

¹Escuela de Ingeniería Química, Grupo de Investigaciones en Corrosión GIC Universidad Industrial de Santander

²Escuela de Ingeniería Metalúrgica. UIS Bucaramanga. Colombia

*darioyesid@hotmail.com

Fecha Recepción: 23 de Octubre de 2009

Fecha Aceptación: 4 de Noviembre de 2009

RESUMEN

Los biomateriales poliméricos degradables poseen un alto potencial para ser aplicados como recubrimientos en las prótesis para regeneración ósea. Por tal motivo se hace necesario estudiar las propiedades de biodegradación de estos materiales con el fin de determinar su estabilidad durante los procesos de osteointegración con el cuerpo humano en la rehabilitación de huesos fracturados o en los reemplazos por enfermedad ósea. En este trabajo se monitoreó la degradación de películas delgadas del polímero de ácido poliláctico (PLA) mediante una microbalanza de cristal de cuarzo (QCM-Quartz Cristal Microbalance) y la técnica de espectroscopía de impedancia electroquímica (EIE). Con los resultados obtenidos por EIE con las impedancias medidas con la QCM, se pudo concluir que existe una pérdida de masa en la superficie del material y no sólo un hinchamiento en la fracción superior de la película del polímero.

Palabras Claves: *Impedancia Electroquímica, Impedancia Piezoeléctrica, Biomateriales, Degradación de polímeros.*

ABSTRACT

The degradable polymeric biomaterials have a high potential for application as coatings of implants in bone regeneration. In this vein is necessary to study the biodegradation properties in order to understand the stability of the material during the osseointegration process with the human body during the rehabilitation of broken bones or replace bone disease. Given by, a study was conducted to monitor the degradation of polymer thin films of poly lactic- acid (PLA) through a combination of quartz crystal microbalance (QCM) and Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS). By means of the comparison of EIS data with the results of impedance measurement's QCM is correct to conclude that there is a real loss of mass at the surface and not just a swelling in the upper fraction of the polymer film.

Key words: *electrochemical impedance, piezoelectric impedance, biomaterials, polymer degradation*

INTRODUCCIÓN

Actualmente el campo de la biomedicina emplea polímeros sintéticos bioabsorbibles para la fabricación de implantes. Después de cierto tiempo de ser introducidos en el cuerpo humano,

este tipo de polímeros, se degradan mediante reacciones de hidrólisis que ocurren bajo las condiciones fisiológicas dando lugar a productos que no son tóxicos y que pueden ser eliminados o metabolizados por el organismo [1]. Gracias a su bioabsorbilidad estos materiales resultan

atractivos para la elaboración de soportes en ingeniería de tejidos ya que ofrecen la posibilidad de crear tejidos completamente naturales dejando de lado los problemas de infecciones y formación de tejido fibroso, comúnmente asociados a los implantes permanentes [2].

El PLA es un polímero sintético de la familia de los alfa-hidroxiácidos o poliésteres alifáticos y entre sus propiedades más importantes se encuentran la biocompatibilidad (no causa rechazo), la biodegradabilidad (se elimina naturalmente), la inercia inmunológica (no produce alergias), atoxicidad y reabsorbibilidad. Las propiedades descritas anteriormente hacen del PLA un material opcionado para la fabricación de implantes [3].

En esta investigación, mediante deposición electroforética, se obtuvieron películas de PLA inmovilizadas electroquímicamente en cristales de cuarzo con electrodos de Au-Cr (SiO_2 -Au-Cr) para ser caracterizadas y poder analizar la degradación del polímero empleando una microbalanza de cristal de cuarzo (QCM por sus siglas en inglés *Quartz Cristal Microbalance*) junto con la técnica de Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIE).

Sabot y Krause [4] desarrollaron una rápida medición de la degradación in situ, mediante la interpretación de los espectros de impedancia en cristales de cuarzo, junto a los espectros de impedancia electroquímica, controlando la capacitancia y la resistencia de la película de polímero. Los análisis de estos espectros arrojaron gran información sobre la variación de la masa, hinchamiento, exfoliación y formación de poro en la película, en sistemas de degradación enzimática y por cambios controlados de pH, mostrando diferentes mecanismos para estos casos. Cambios superficiales fueron detectados mediante la variación de las constantes de fase, las cuales fueron relacionados con interferencias en la transferencia de carga a través de la interfase polímero/solución y metal/polímero, las cuales están directamente relacionadas con la pérdida de masa del polímero.

La combinación de los resultados QCM - EIE además de proveer información acerca del proceso de degradación del polímero, puede proveer información sobre las variaciones en la masa, el hinchamiento, la delaminación, la viscoelasticidad y la formación de poro [4].

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de recubrimientos. El material empleado para los recubrimientos fue PLA sintetizado, mediante policondensación a partir de ácido L-láctico de grado analítico, y caracterizado en el laboratorio [5, 6]. Se prepararon dos concentraciones de PLA, 15% p/v y 30% p/v, y mediante deposición electroforética se obtuvieron por duplicado recubrimientos de PLA sobre cristales SiO_2 -Au-Cr. Las dimensiones de los cristales fueron: una pulgada cuadrada de diámetro, 0.4430 g de peso y aproximadamente 0.0132 pulgadas de espesor.

Con una fuente de voltaje se aplicó durante 5 minutos un potencial de 3 y 9 voltios, empleando como cátodo el cristal SiO_2 -Au-Cr y como ánodo una lámina de acero. En la Figura 1 se observa una micrografía, de una película del polímero PLA electrodepositada en el cristal de SiO_2 -Au-Cr, en la cual se aprecia la presencia de irregularidades. Estas irregularidades se observaron en todas las películas y en investigaciones previas se ha comprobado que se producen por el atrapamiento de aire en la interfase película polimérica-cristal [5, 6, 7].

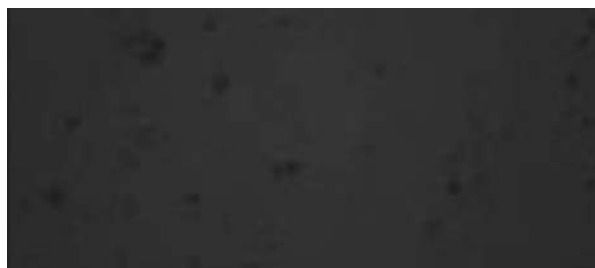


Figura 1. Micrografía de la superficie de una película de PLA tomada a 5X.

Pruebas de Caracterización. Para el proceso de degradación del PLA se emplearon dos tipos de suero fisiológico simulado: suero Ringer y PBS. El suero Ringer es una solución electrolítica salina para uso parenteral en infusión continua; para realizar los ensayos se preparó un litro de suero Ringer con un pH de 7.4, el cual contenía: 8.6 g de NaCl, 0.374 g de KCl, 0.374 g de CaCl_2 y agua destilada hasta completar el aforo [8]. El PBS es una solución salina amortiguada por fosfatos (abreviada PBS por sus siglas en inglés *phosphate buffer saline*) que simula el líquido extracelular; de este suero se preparó

un litro con un pH de 7.4 cuya 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 y agua destilada hasta completar el aforo [8].

Mediante la técnica de EIE se evaluaron las propiedades electroquímicas (resistencia de la solución electrolítica, resistencia a la polarización e impedancia de transferencia de carga en función de la frecuencia) de las películas formadas, en cada uno de los ambientes fisiológicos simulados (ver Tabla 1). Los ensayos de EIE se realizaron con un potenciostato-galvanostato marca Gamry acoplado a una celda plana vertical.

Tabla 1. Condiciones bajo las que se evaluaron las propiedades de las películas de PLA obtenidas.

Película	Concentración %p/v	Voltaje Voltios	Electrolito
1	30	9	PBS
2	30	9	Ringer
3	30	3	PBS
4	30	3	Ringer
5	15	3	PBS
6	15	3	Ringer

Como electrodo de trabajo se emplearon los respectivos cristales de $\text{SiO}_2\text{-Au-Cr}$ recubiertos de PLA, ubicados dentro del *holder* de la QCM. Como contra-electrodo se utilizó grafito y un electrodo de Ag-AgCl como electrodo de referencia. Para mejorar la simulación de las condiciones corporales se utilizó una atmósfera al 5% de CO_2 , y se mantuvo la temperatura a 37.5°C con

un baño termostático, tal como se muestra en la Figura 2. Los ensayos de EIE 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 que se realizaron para obtener las pérdidas de masa. La relación entre los cambios en masa por unidad de área (Δm) y la frecuencia (Δf), están dados por la ecuación 1 propuesta por Sauerbrey [9]:

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

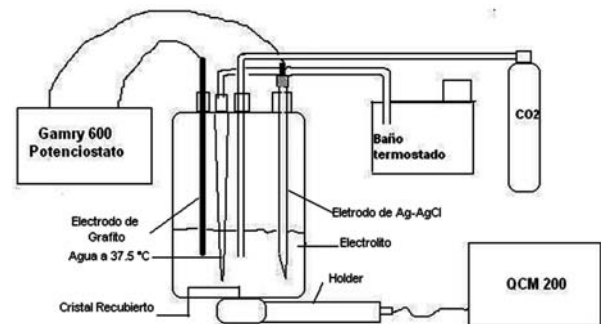


Figura 2. Esquema del montaje de la celda plana acoplada a los equipos que se utilizó para realizar las pruebas electroquímicas.

El proceso de degradación de las películas de PLA inmovilizadas electrolíticamente en los cristales de $\text{SiO}_2\text{-Au-Cr}$, fue llevado a cabo durante tres días consecutivos. Durante cada día se realizaron, por triplicado y simultáneamente, las mediciones electroquímicas y las mediciones de pérdida de masa. La Figura 3 muestra las micrografías de una de las películas de PLA degradada.

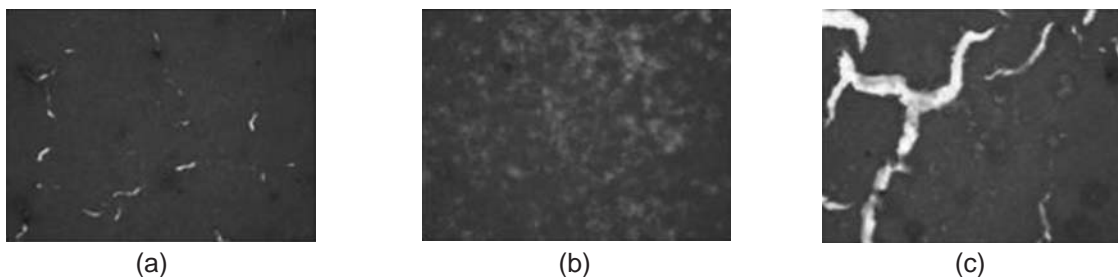


Figura 3. Micrografías de una película de PLA degradada. Tomadas a: a) 5X, b) 10X y c) 20X, respectivamente

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 4 se presenta el espectro de infrarrojo del polímero ensayado.

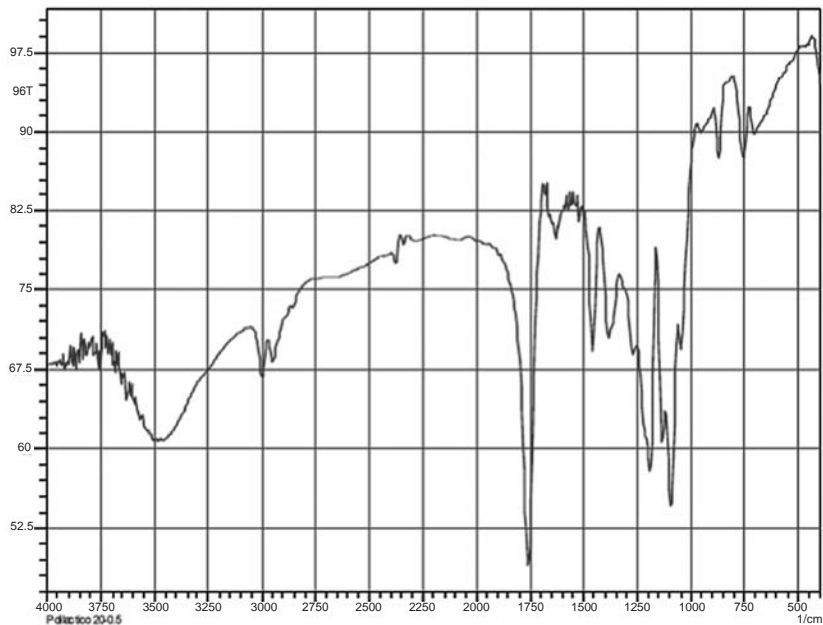
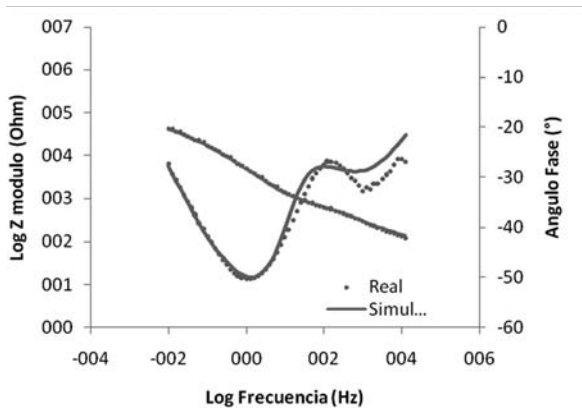


Figura 4. Espectro infrarrojo del PLA empleado en los ensayos de degradación.

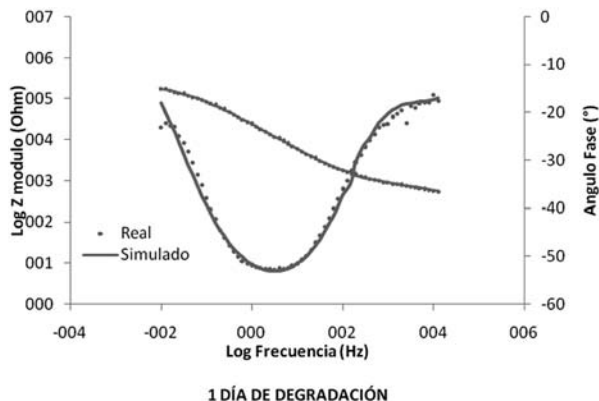
Este espectro muestra la absorción característica del PLA; el pico que se presenta en 1751 cm^{-1} indica la presencia del grupo C=O. Otro pico en 3000 cm^{-1} es debido al grupo C-H y entre 1000 y 1200 cm^{-1} se encuentra otro pico sobresaliente que indica la presencia de un enlace C-C en el polímero.

Los recubrimientos de PLA presentaron espesores de $200\mu\text{m}\pm 10$, con incrementos de masa sobre los discos de cuarzo de 2-3 mg.

En la Figura 5 se muestran los diagramas de bode obtenidos y los simulados con el programa Zview 3.1, para las seis películas obtenidas por electroforesis, durante el primer día de degradación.



a) 30% p/v, 9 voltios, PBS



b) 30% p/v, 9 voltios, Ringer

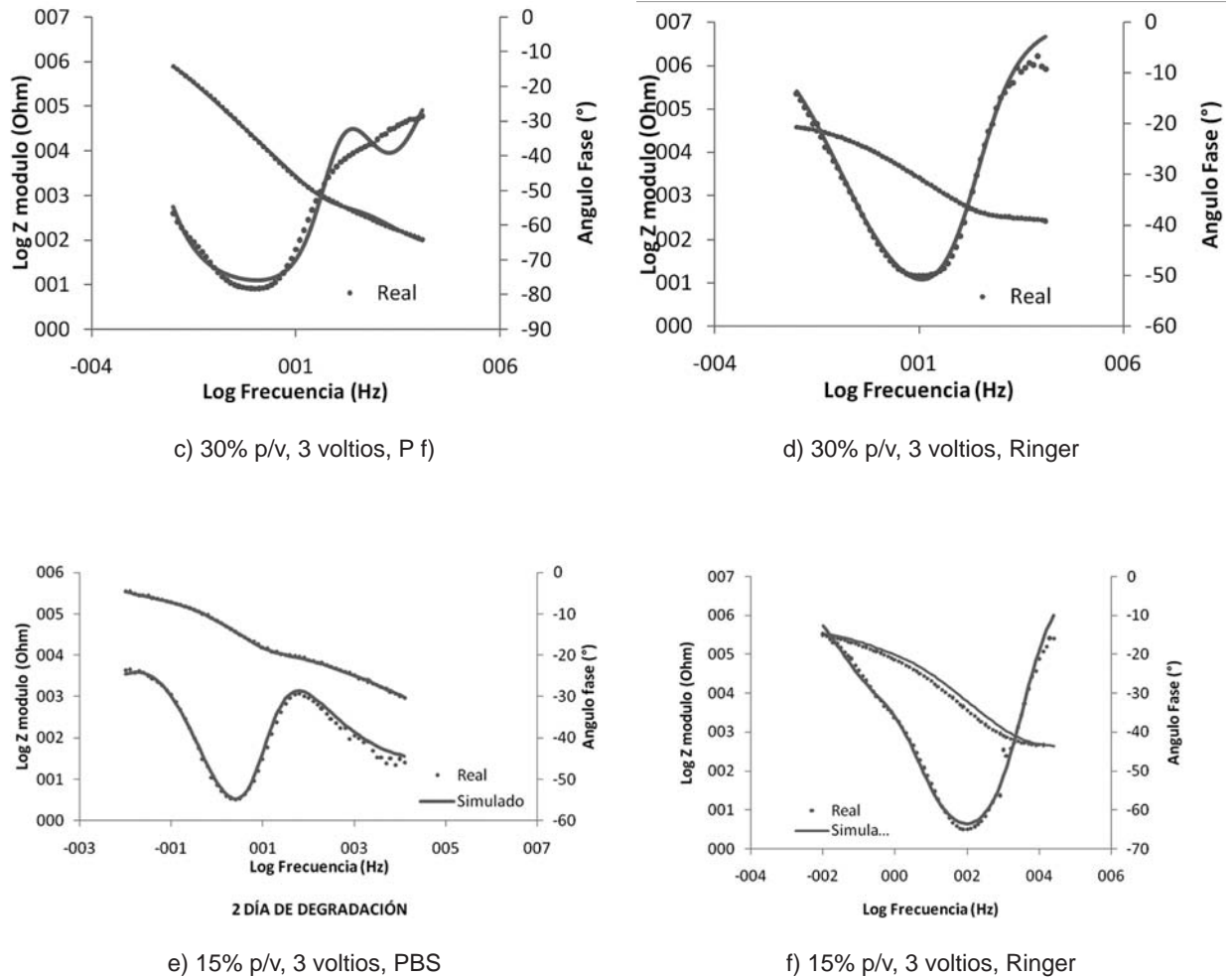


Figura 5. Diagramas de Bode experimentales, línea punteada, y simulados con el programa Zview 3.1, línea continua, obtenidos para las seis películas de PLA inmovilizadas electroquímicamente en cristales de SiO_2 -Au-Cr, durante el primer día de degradación.

Los diagramas de Bode obtenidos para la degradación de las películas de PLA en solución de PBS presentaron tres constantes de tiempo, mientras que los diagramas obtenidos para la degradación en la solución Ringer presentaron solamente dos constantes de tiempo. Esto indica que los mecanismos de degradación de las películas de PLA en solución de PBS y en solución Ringer son diferentes. En la gráfica del módulo de impedancia contra el logaritmo de la frecuencia y fase de la impedancia contra logaritmo de la frecuencia, se presentaron dos comportamientos en las interfases de los electrodos. A baja frecuencia, un comportamiento capacitivo, definiendo la transferencia de carga en la interfase

electrodo de cuarzo/recubrimiento y a altas frecuencias, un comportamiento más resistivo, definiendo los procesos de transferencia asociados a la interfase recubrimiento/electrolito. Para efectos de analizar la degradación del polímero, se presenta una discusión de los procesos farádicos a altas frecuencias, correspondientes a esta interfase. Calculando la pendiente de la gráfica obtenida del logaritmo de la impedancia contra el logaritmo de la frecuencia, se obtuvo la fase capacitiva en cada caso en un día de degradación, para la zona de finida a alta frecuencia (100-10.000 Hz), En la Tabla 2 se muestran los resultados de este cálculo.

Tabla 2. Resultados del cálculo de las pendientes de $\log(Z'')$ vs $\log(\text{frecuencia})$.

Película	Concentración %p/v	Voltaje (Voltios)	Electrolito	fase
1	30	9	PBS	0,655
2	30	9	Ringer	0,584
3	30	3	PBS	0,652
4	30	3	Ringer	0,577
5	15	3	PBS	0,541

Se observó menores valores de la fase de las respectivas capacitancias para los recubrimientos degradados en solución Ringer, mostrando una mayor degradación en esta solución, exceptuando la fase del recubrimiento obtenido con menor concentración (p/v) de PLA en acetona obtenido electroforéticamente, aunque no se presentó una tendencia definida de las variables de obtención del recubrimiento con el valor de esta fase, sin embargo el estudio permitió realizar en 5 tipos de recubrimientos, procesos de degradación con

análisis puntuales para cada caso. Las diferencias de estas fases respecto a la unidad, indican la depresión de los semicírculos de las gráficas de Z'_{real} vs $Z''_{\text{imaginario}}$. Esta depresión está relacionada con irregularidades en la transferencia de carga en la interfase polímero/solución respecto al electrodo de trabajo, que en el caso del estudio de la degradación del recubrimiento, se presentan por irregularidades superficiales, tales como formación de poros, erosión, agrietamiento, producto del ataque del electrolito a la película polimérica.

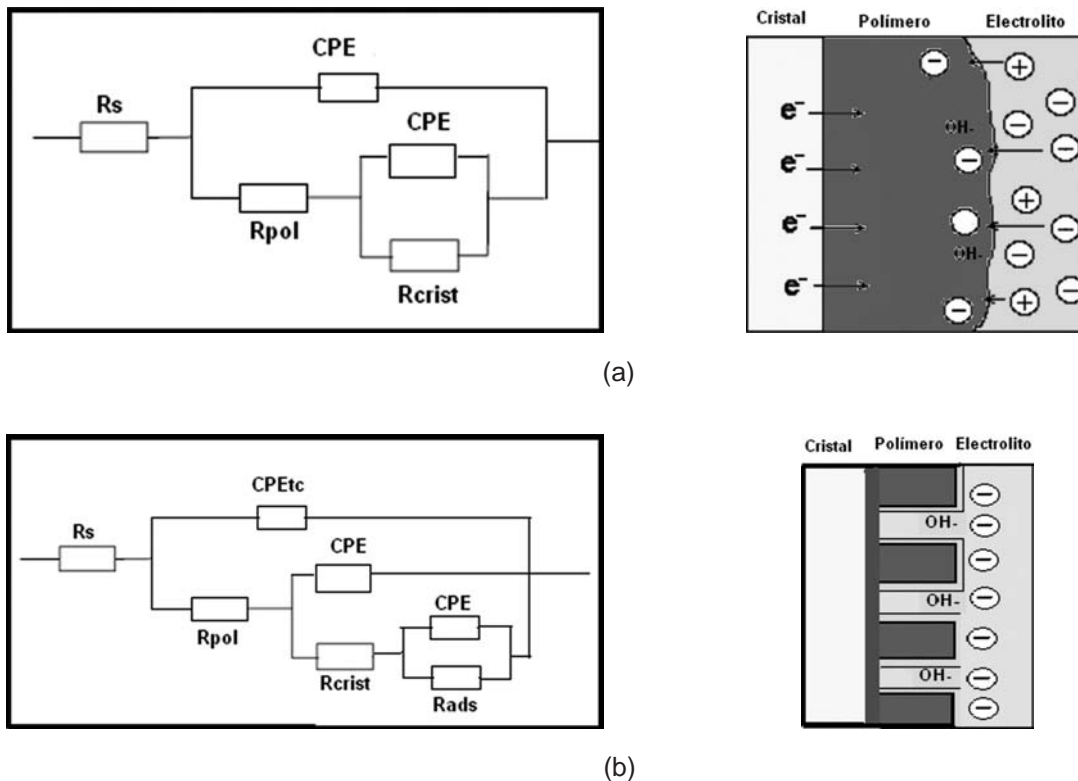


Figura 6. Circuitos equivalentes: a) Circuito con dos interfaces, b) Circuito con tres interfaces.

La Figura 6a) representa la degradación de las películas de PLA en solución Ringer y la Figura 6b) representa la degradación de las películas en solución de PBS. En la Figura 6b) se observan tres interfaces: polímero/electrolito, capa adsorbida/polímero y cristal/polímero. En este caso, se presentan tres constantes de tiempo, pero estas constantes se traslapan debido a las similitudes en el transporte de carga entre las interfaces. La presencia de una interface relacionada con adsorción, se debe a la interacción entre los iones calcio y fosfato del electrolito, formando productos en la superficie del polímero en constante degradación.

Mediante la técnica de EIE se determinó a altas frecuencias los valores de la resistencia las soluciones, la resistencia del polímero R_{pol} a medias frecuencias (resistencia de la doble capa, relacionada con la transferencia de carga de la interface polímero/solución) y la resistencia del cristal R_{cris} (resistencia de la doble capa, relacionada con la transferencia de carga de la interface cristal/polímero) a bajas frecuencias, para los distintos voltajes de electrodeposición y de solución salina; estos datos se muestran en las Tabla 3.

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_{pol} . De la tabla 3 se puede concluir que el valor mayor de R_{pol} se presentó el primer día de degradación de la película número 6 del polímero (15%p/v, 3 voltios, Ringer) indicando una disminución en la degradación del material. Finalmente, el valor más alto de $R_{cristal}$ se observó en la película número 5 de PLA (15% p/v, 3 voltios, PBS), la cual mostró posiblemente, una mayor resistencia a la degradación debido a la estabilidad y compactibilidad que presentó la capa de polímero.

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_{pol} . De la tabla 3 se puede concluir que el valor mayor de R_{pol} se presentó el primer día de degradación de la película número 6 del polímero (15%p/v, 3 voltios, Ringer) indicando una disminución en la degradación del material. Finalmente, el valor más alto de $R_{cristal}$ se observó en la película número 5 de PLA (15% p/v, 3 voltios, PBS), la cual mostró posiblemente, una mayor resistencia a la degradación debido a la estabilidad y compactibilidad que presentó la capa de polímero.

Tabla 3. Valores de las resistencias de la solución, del polímero y del cristal durante los tres días de degradación

Película	R_{sol} (Ohm)			R_{pol} (Ohm)			R_{cris} (Ohm)		
	Día1	Día2	Día3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3
1	663.5	273.8	88.0	2536.8	3103.2	4910.1	20756.1	42981.6	37057.3
2	416.0	391.3	93.5	20312.2	17528.5	11004.6	157616.9	406845.4	24827.4
3	186.4	184.2	65.3	17754.6	28445.1	23715.1	62030.4	75492.6	754692.6
4	403.3	94.3	88.3	7867.3	16914.7	10573.8	29689.9	265590.2	475990.6
5	426.9	354.1	212.1	54207.8	18022.7	15236.7	124666.6	321330.5	325110.1
6	386.1	185.4	65.2	134090.6	42015.3	31756.4	225016.4	306560.3	355650.5

A partir de los espectros de Nyquist se analizaron los valores de la resistencia del polímero (R_{pol}). En la Figura 7 se muestran las variaciones de de la resistencia del polímero

(R_{pol}) obtenidos de los espectros de Nyquist, durante los tres días de degradación, para las seis películas del PLA obtenidas.

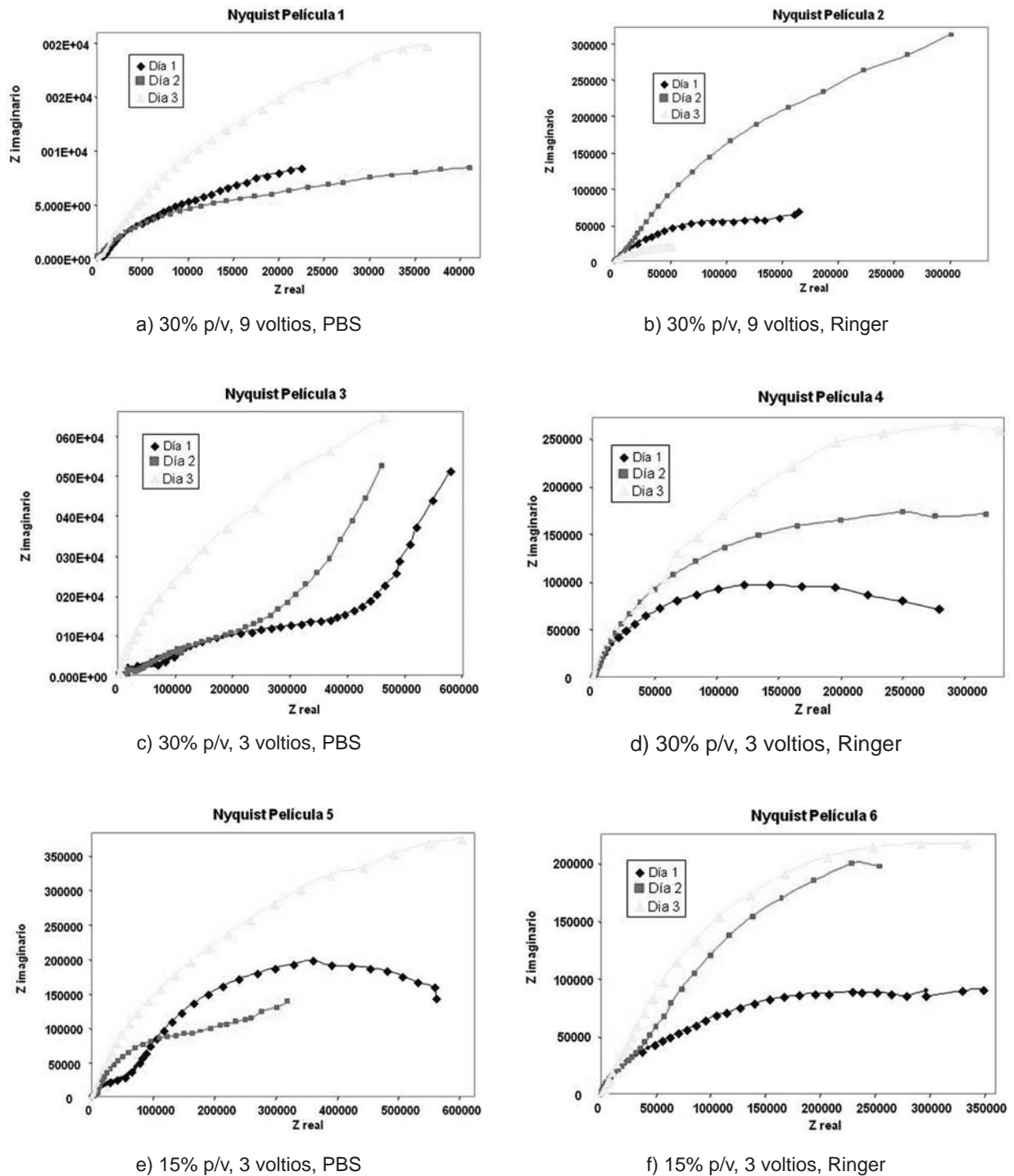


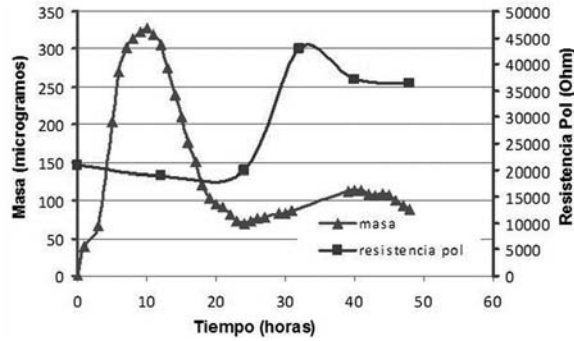
Figura 7. Diagrama de Nyquist para dos películas de PLA.

Se observa un aumento en el módulo de impedancia de la constante de tiempo a bajas frecuencias en el segundo día de degradación, debido posiblemente al hinchamiento de la

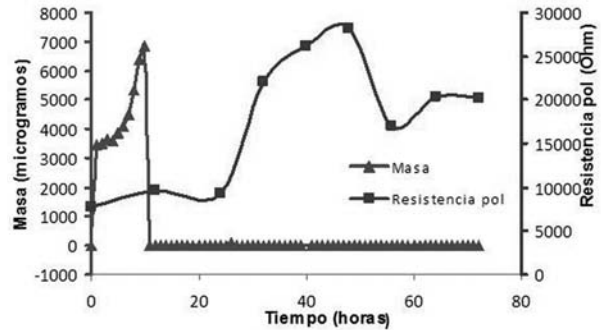
película por la absorción del medio acuoso. En estos espectros se observa una mayor incidencia de la constante de tiempo que define a la interfase película/electrodo, mostrando que a mayor tiempo

de degradación, el electrodo estará más expuesto a la solución, eliminando interferencias en la interfase con el polímero, lo cual es consecuente con el aumento en la resistencia a la transferencia de carga del electrodo.

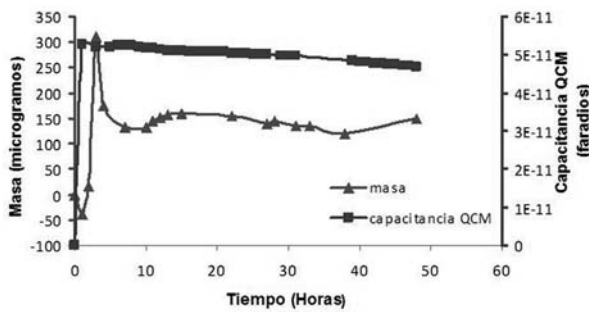
Los masogramas mostrados en la Figura 8 muestran los espectros, de las seis películas del polímero de PLA, obtenidos mediante la microbalanza de cristal de cuarzo debido a la degradación con las respectivas soluciones salinas.



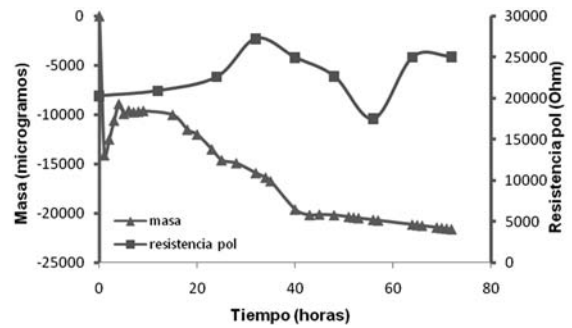
a) 30% p/v, 9 voltios, PBS



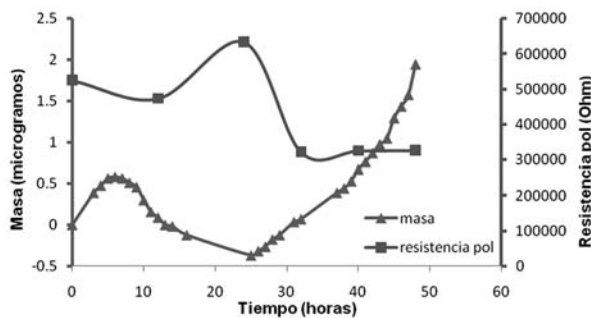
b) 30% p/v, 9 voltios, Ringer



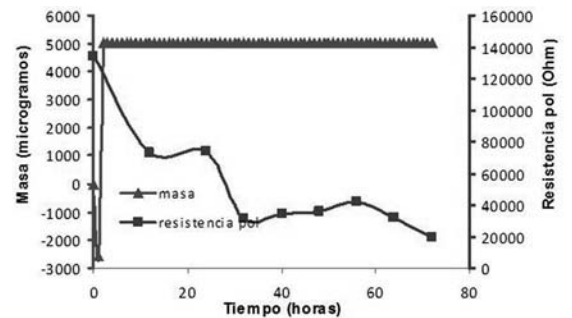
c) 30% p/v, 3 voltios, PBS



j) 30% p/v, 3 voltios, Ringer



k) 15% p/v, 3 voltios, PBS



l) 15% p/v, 3 voltios, Ringer

Figura 8. Variación de la masa con el tiempo y la medida de la resistencia del polímero para cada prueba de EIS.

En la Figura 8a) se observa que la película obtenida y degradada a (30% p/v, 9 voltios, PBS) presentó hinchamiento las primeras 15 horas, después se presentó la degradación de la película, la cual está asociada a una disminución de la masa del recubrimiento, aumentando el comportamiento resistivo por la formación de poros. La disminución en la resistencia (bajas frecuencias) se debe principalmente a la formación de poros en la película de PLA y a la captura de electrolitos en estos poros. Después de penetrar en los poros, la propagación del electrolito entre el metal y la película delgada, aumenta la fracción del área del cristal expuesto a la solución. Al mismo tiempo, el valor de la fase del CPE disminuyó de su valor inicial, lo cual confirma un aumento de heterogeneidades superficiales de la capa parcialmente degradada.

En la Figura 8e) se observa que la película obtenida y degradada con (15% p/v, 3 voltios, PBS) presentó un comportamiento de hinchamiento a las primeras 10 horas, presentando luego, degradación constante, incrementando el valor de la resistencia hasta un tiempo aproximado de 30 horas, sin embargo un aumento en la resistencia después de este tiempo, evidencia que la película presentó hinchamiento debido a la penetración de agua en el polímero. Los valores de resistencia aumentan con el incremento de la masa debido a la disminución en la superficie activa del polímero degradado.

CONCLUSIONES

Por medio de la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica se observó que las películas de PLA inmovilizadas electroquímicamente en los cristales de cuarzo presentaron una disminución en la resistencia del polímero, consecuente con un aumento en la resistencia a la transferencia de carga del electrodo de trabajo. Sin embargo se evidenciaron fases intermedias de hinchamiento o penetración de agua dentro del volumen de la película polimérica, mostrando un leve aumento en la resistencia a la transferencia de carga del polímero.

La información obtenida utilizando simultáneamente ambas técnicas de EIE y QCM es realmente complementaria. Se puede demostrar que la película de PLA es degradada, por el constante aumento en la cantidad de todo el proceso de degradación. Sin embargo, sólo

mediante la comparación de los datos de EIE con los resultados de la medición de la QCM, se da razón del mecanismo de degradación de la película de polímero.

La estimación de la fase del elemento de fase constante relacionada con la interfase polímero/solución, permite cuantificar electroquímicamente la pérdida de masa de la superficie de la película de PLA, mostrando que un aumento en la fase del elemento resistivo relacionado con el polímero, se relaciona con el aumento de poros, defectos, grietas, etcétera, o con un aumento en la degradación.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Industrial de Santander, a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión por el financiamiento del proyecto promisorio y de consolidación de grupos, al Grupo de Investigaciones en Corrosión GIC y a Colciencias.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Conde, A. De Damborenea, J.J. Electrochemical impedance spectroscopy for studying the degradation of enamel coatings. *Corrosion Science*. Vol. 44, 2001, pgs.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", Universidad Industrial de Santander. 2009.
- [3] Rodriguez Ruiz, D. Obtención de capas de nitrato de titanio mediante tratamiento termoquímico en titanio y Ti6Al4V y caracterización de sus propiedades para aplicaciones biomédicas. Universidad Politécnica de Cataluña. 2000.
- [4] Andrea S; Steffi K. 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, N. 14, 2002, pgs. 3304–3311.

- [5] Parada, D. Quinaya, P. Trabajo de Grado “Obtención, electrodeposición y caracterización de un polímero bioabsorbible a partir de ácido L-láctico para aplicaciones biomédicas”, Universidad Industrial de Santander. 2007.

- [6] Carreno, I., Tenjo, I. Trabajo de Grado “Detección y caracterización electroquímica de la adsorción de monocapas proteínicas sobre soportes copolímericos biodegradables semiconductores de poliláctico-poliglicólico”, Universidad Industrial de Santander. 2009.

- [7] Gómez, L. Trabajo de Grado “Modificación Superficial de Biopolímeros Semiconductores para Aplicaciones Biomédicas”, Universidad Industrial de Santander. 2009.

- [8] Kumar Saha S. Effects of molecular weight and small amounts of d-lactide units on hydrolytic degradation of poly(l-lactic acid)s. *Polymer Degradation and Stability*, Vol. 91, N. 8, 2006, pgs.1665-1673. .

- [9] Voinova, M., Jonson, M. ‘Missing mass’ effect in biosensor’s QCM applications *Biosensors and Bioelectronics*, Vol. 17, N. 10, 2002, pgs. 835-841.