

Diseño, construcción y aplicación de un sistema de electrodeposición química: películas de quitosán sobre acero inoxidable

C. Mendoza-Barrera^{a,b,*}, L.A. Bahena-Navarro^c, M.A. Meléndez-Lira^b y C. Velasquillo^d

^aCentro en Micro y Nanotecnología, Universidad Veracruzana, 94294, Boca del Río, Veracruz, México, Tel +52 2288 421776.

^bDepartamento de Física, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N., Apartado postal 14-740, 07000, México, D.F., México, Tel/fax +52 55 50 61 38 38.

^cAcademia de Biónica, UPIITA, IPN, 07340, México, D.F. México.

^dUnidad de Ingeniería de Tejidos y Terapia Celular, Centro Nacional de Rehabilitación, S.S., 14389, México, D.F., México, Tel +52 55 5999 1000 X 19604.

e-mail: cmendoza_barrera@hotmail.com; ing_bahena@hotmail.com; mlira@fis.cinvestav.mx; mvelasquillo@cnr.gob.mx.

Recibido el 3 de marzo de 2006; aceptado el 25 de mayo de 2006

La electrodeposición química es una técnica de crecimiento barata que presenta diversas ventajas entre ellas podemos mencionar: amplia disponibilidad de precursores que permiten controlar el pH y concentración del electrolito fácilmente, el control de espesores en las películas, uniformidad, razón de depósito y procesos isotérmicos, entre otros. En el presente trabajo reportamos el diseño, construcción y aplicación de un sistema de electrodeposición química. El desempeño del sistema es probado depositando el biopolímero quitosán, el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza, sobre acero inoxidable 316L. Las películas obtenidas fueron caracterizadas con técnicas que son empleadas comúnmente en el estudio de materiales no biológicos. Las características vibracionales, estructurales y químicas fueron obtenidas mediante espectroscopía infrarroja (IRS), microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectroscopía de energía dispersiva de rayos X (EDS). Las películas de quitosán fueron depositadas sobre el electrodo negativo, encontrándose que su morfología depende del pH y concentración de la solución.

Descriptor: Electrodeposición química; quitosán; películas poliméricas.

Chemical electrodeposition is a cheap deposition technique with several advantages, between them we can mention: a wide range of low cost precursors available allowing easily to change pHs and concentration of the electrolyte, tight control of film thickness, uniformity, deposition rate and isothermal process. In the present work we report the design, construction and application of a low cost electrodeposition system. The performance of the system is tested depositing the biopolymer chitosan, the second most abundant natural biopolymer in nature, on stainless steel 316L. Deposited films were characterized with common techniques employed in non-biological materials studies. The vibrational, structural and chemical characteristics were obtained by infrared spectroscopy (IRS), scanning electron microscopy (SEM), and X-ray energy dispersive spectroscopy (EDS). Chitosan films were deposited on the negative electrode with their morphology depending on the pH and solution molality.

Keywords: Chemical electrodeposition; Chitosan; polymeric films.

PACS: 81.15.Pq; 87.68.+z; 87.80.-y; 87.64.Ee; 87.64.Je

1. Introducción

Uno de los retos para la ciencia mexicana es desarrollar equipos que permitan realizar investigación de calidad con costos moderados a fin de propiciar el establecimiento de más grupos experimentales de investigación. También es necesario contar con un número creciente de investigadores interesados en el estudio de temas relacionados con la biología desde el punto de vista de la física. Lo anterior incluso tiene un carácter estratégico, dada la importancia de sistematizar el conocimiento de los procesos biológicos, y posee un enorme potencial de desarrollo para investigadores jóvenes.

El estudio de biomateriales se presenta en forma natural debido a la necesidad de contar con reemplazos artificiales para órganos humanos. En los últimos años la necesidad de satisfacer la creciente demanda de la población para obtener

materiales sintéticos biocompatibles ha propiciado el estudio y desarrollo de nuevos biomateriales con un enfoque multidisciplinario en el cual se involucra directamente la física y la biología.

Una de las tendencias actuales en el desarrollo de biomateriales es sintetizar materiales que se integren rápidamente al órgano o sistema a sustituir, a través del desarrollo de estructuras capaces de permitir la proliferación de un cierto fenotipo celular dentro y a través de ellas.

Desde el punto de vista de la física del estado sólido, el hueso o el diente constituyen los biomateriales más parecidos a los materiales no-orgánicos estudiados tradicionalmente por esta rama de la física, y por tanto es de esperar una aplicación directa de las técnicas empleadas sistemáticamente en la síntesis y caracterización de materiales. Asimismo, otros biomateriales poliméricos presentes en muchos organis-

mos superiores, como el cartílago, pueden ser estudiados siguiendo esta misma metodología. La investigación en el área de biomateriales posee una gran importancia, sin embargo en México existen muy pocos grupos dedicados a esta rama de la ciencia, por lo que sería deseable formar un número creciente de investigadores de alto nivel. En este trabajo se presenta la implementación de un sistema de depósito electroquímico y los resultados de su aplicación en el crecimiento de biomateriales. La parte instrumental posee una amplia aplicabilidad y podría ser desarrollada fácilmente en un semestre de estudios a nivel universitario, y aplicándolo para desarrollar biomateriales podría fácilmente constituirse en tema de investigación para desarrollo de tesis de licenciatura o de postgrado [1,2].

El depósito electroquímico puede ser empleado para el depósito de macromoléculas, partículas coloidales, proteínas y células [3–7]. En particular, en un país como México, en donde las necesidades de la población son numerosas y los recursos económicos limitados, el empleo de tecnologías que disminuyan costos es muy atractivo. El depósito electroquímico es una técnica que puede ser fácilmente re-escalable por lo que constituye una opción para trasladar los resultados obtenidos en un laboratorio de investigación a escala industrial.

En este trabajo también se reportan los resultados de la caracterización de películas del polisacárido quitosán sobre acero inoxidable 316L (grado médico) obtenidas empleando el sistema de depósito electroquímico de bajo costo mencionado anteriormente. El quitosán es un polisacárido semicristalino biocompatible obtenido por N-deacetilación de la quitina, quien a su vez es un polisacárido de origen proteico, cuya estructura es un glicosaminoglicano (GAG) presente en los exoesqueletos (caparazones) de artrópodos, en hongos y en algunos insectos. Las aplicaciones de este biomaterial son múltiples, desde el tratamiento de semillas y hojas, control en la erosión de la tierra, liberación controlada de químicos, inmovilizador permanente de químicos, células o enzimas, hasta sus diversas aplicaciones biomédicas como la producción de lentes intraoculares y, recientemente, ha encontrado una gran aplicabilidad en la ingeniería de tejidos [8–10]. La ingeniería de tejidos estudia diversos biomateriales que pueden ser utilizados como “estructuras” o “armazones” para la proliferación celular de tejidos específicos en una amplia variedad de aplicaciones. El material óptimo debe cumplir con dos funciones básicas: la de proveer un soporte estructural y la de actuar como reservorio de sustancias bioactivas. Esto debe influenciar directamente el desarrollo de colonias de células, permitiendo una mejor formación del tejido.

En particular se ha reportado que el quitosán y sus derivados son materiales potencialmente favorables como sustratos para el crecimiento de muchas células, entre ellas las células endoteliales, osteoblastos y condrocitos [11–14].

Se encontró que sobre el electrodo negativo de acero inoxidable se forman fibras de quitosán anisótropas cuya morfología depende del pH del baño químico, así como de la concentración de la solución. Las películas fueron caracterizadas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM),

espectroscopía de energía dispersiva de rayos X (EDS) y espectroscopía infrarroja (IRS). Nuestros resultados podrían ser aplicados en la producción de armazones para el crecimiento de condrocitos y, por tanto, en la producción de cartílago artificial susceptible de emplearse en la reparación de lesiones.

2. Detalles experimentales

2.1. Diseño y construcción del sistema de electrodeposición química

La técnica de electrodeposición o deposición electroquímica está ampliamente estudiada [15], consiste básicamente en la inmersión de dos electrodos en un baño químico que contenga iones, por el cual se hace pasar una corriente eléctrica con la finalidad de llevar los iones del material deseado hacia un electrodo con el objetivo de producir una película homogénea sobre éste (ver Fig. 1). En esta técnica las variables que deben controlarse son pH, tiempo de depósito, voltaje (o corriente) y concentración de la solución. En este trabajo se emplearon dos sistemas de depósito. Un primer sistema de electrodeposición química fue habilitado utilizando un potenciostato EGG Instruments modelo 362, el cual fue empleado para calibrar un segundo sistema diseñado e implementado por nuestro grupo que cumple con los requerimientos necesarios además de que es más pequeño, de bajo costo y fácil manejo.

El sistema desarrollado posee las siguientes especificaciones:

1. Fuente de voltaje variable 0-15V y corriente constante de 100 mA.
2. Sensor medidor de temperatura con un intervalo de 0-99°C.
3. Medidor de pH (comercial).
4. Agitador de soluciones con velocidad controladas.

También fue construido con la capacidad de emular las condiciones obtenidas con el implementado con el potenciostato

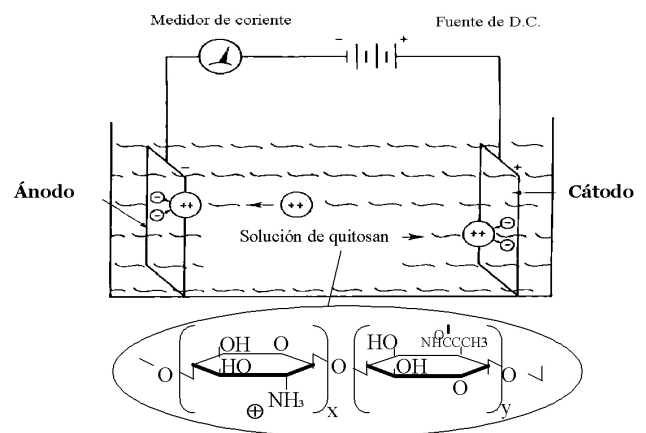


FIGURA 1. Electrodeposición de macromoléculas de solución ácida catiónica de quitosán sobre acero inoxidable.

tato EGG Instruments modelo 362. Para ello se diseñó un sensor de temperatura con un intervalo entre 0 y 99°C, una fuente de voltaje variable con un intervalo de 1 a 15V; y dado que la solución precursora debe ser homogénea durante todo el depósito, se diseñó un agitador magnético de velocidad controlada basado en un modulador de ancho de pulsos. Los dos sistemas se operaron empleando condiciones similares de depósito, a saber, pH, tiempo de depósito, concentración, voltaje, y tipo de sustratos. En ambos casos los depósitos obtenidos fueron reproducibles, como fue establecido mediante espectroscopía infrarroja.

2.1.1. Sensor de temperatura

En la Fig. 2 se presenta el diseño del circuito para el sensor de temperatura configurado con una ganancia de 100X para una fácil lectura dado que el sensor tiene una variación de 10 mV por grado centígrado. Los componentes que se seleccionaron fueron: 1) Sensor de temperatura centígrada de precisión LM35, 2) un amplificador operacional LM741 y 3) resistencias.

2.1.2. Fuente de voltaje variable

La Fig. 3 muestra el circuito correspondiente a la fuente de voltaje variable. Esta fuente se diseñó para que brindara un voltaje de 1 a 15 V, trabajando a 100 mA. Las películas de origen orgánico usualmente se depositan con un voltaje entre 0.5 y 3 V, con lo cual se cubren los requerimientos deseados. Los componentes elegidos para su construcción fueron los siguientes: 1) Transformador con derivación central de 24 V a 500 mA (elegido así para poder utilizarlo en la alimentación del motor de agitación) y 2) regulador de voltaje positivo

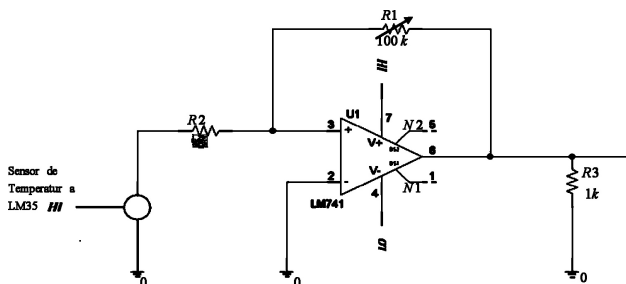


FIGURA 2. Diagrama del sensor de temperatura.

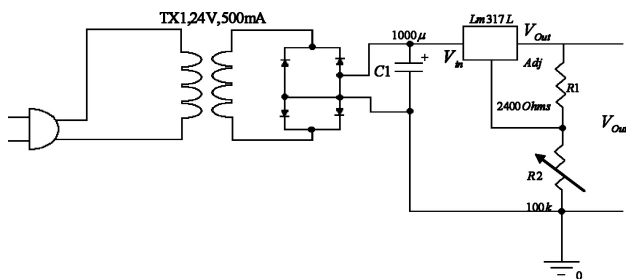


FIGURA 3. Diagrama de la fuente de voltaje variable.

LM317L. Al igual que en el caso del amplificador operacional LM741, éste fue elegido por su bajo costo y sencilla configuración.

2.1.3. Agitador magnético

El modulador por ancho de pulsos se diseñó basado en un temporizador LM555, comercial y de bajo costo. La salida de la señal modulada fue amplificada por un puente H LMD18201 con intervalo de 3 A a 55 V que fue conectado a un motor de corriente directa de 20 V a 100 mA (ver Fig. 4).

La Fig. 5 muestra el diagrama general de la conexión de los componentes del sistema de depósito electroquímico propuesto. Dado que este sistema fue empleado en soluciones iónicas a temperatura ambiente no fue necesario el empleo de un compensador de temperatura.

2.2. Soluciones de quitosan

El quitosan es un biopolímero de peso molecular alto, 650 kDa, contiene grupos aminos con una acidez pK_a de alrededor de 6.3 [16–18]. A pHs menores a pK_a la mayoría de los grupos aminos (-NH₂) son protonados formando grupos aminos catiónicos (-NH₃⁺) y haciendo que el quitosan sea soluble en agua en la forma de un polielectrolito catiónico [19]. En este caso se emplearon hojuelas de quitosan deacetilado poli(D-glucosamino) con un porcentaje mayor al 85 % de deacetilación, según el fabricante (Sigma), las cuales fueron añadidas bajo condiciones constantes de rotación en agua destilada por un periodo de 10 minutos. El pH se mantuvo menor o igual a 5 añadiendo HCl (Merck), trabajando en condiciones normales de presión y temperatura. El material no disuelto fue separado de la solución mediante filtrado. El quitosan en soluciones ácidas con pHs menores a 6 tiende a solubilizarse en agua formando soluciones iónicas, facilitando que se obtengan diversas formas (gotas, membranas y películas). Una característica especial de los grupos amino es el de conferirle propiedades nucleofílicas; específicamente, los grupos amino deprotonados tienen un par de electrones sin compartir que pueden reaccionar con una variedad de

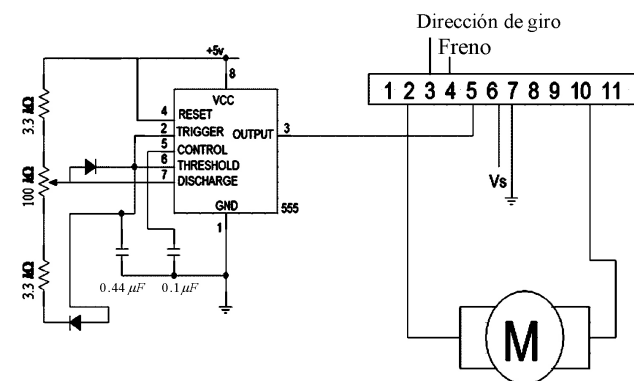


FIGURA 4. Diagrama del control de velocidad basado en un modulador por ancho de pulsos PWM.

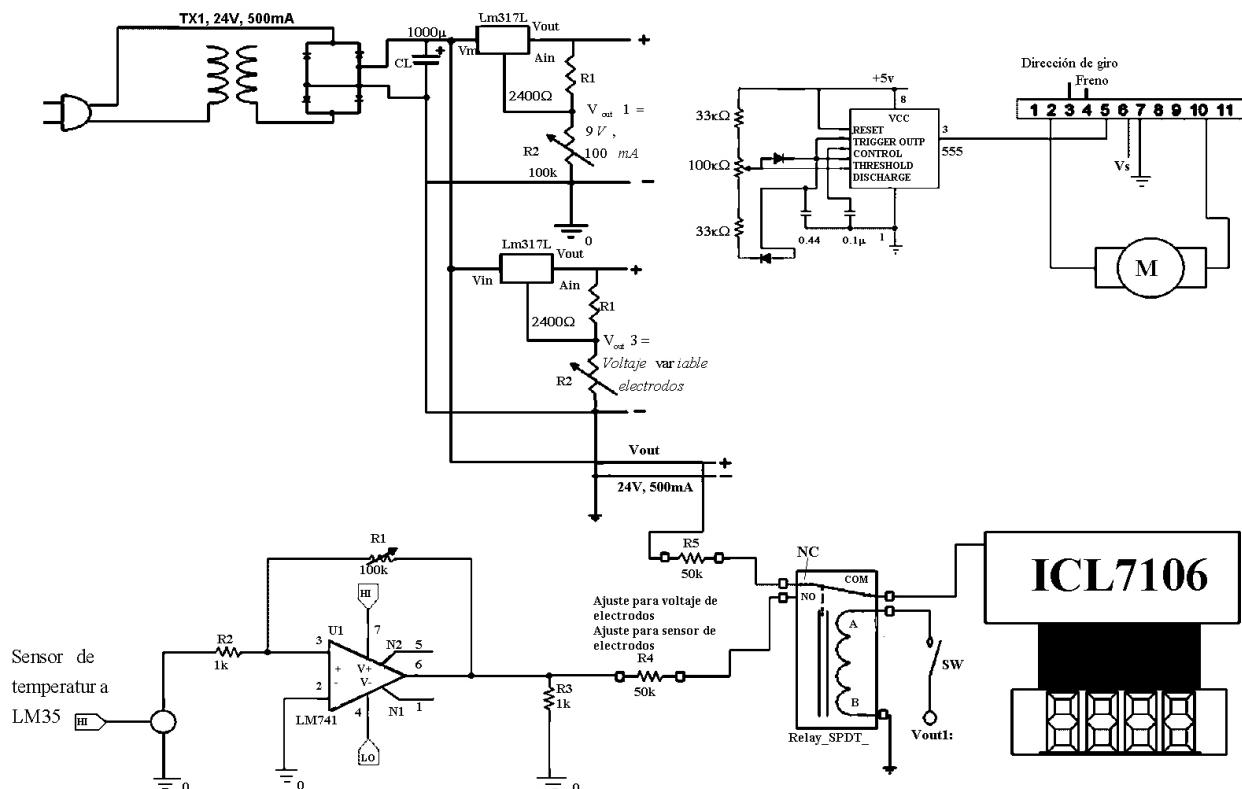


FIGURA 5. Diagrama general del sistema de electrodeposición química.

neutrófilos. Como resultado, varios compuestos pueden incorporarse a la red del quitosan como sustitutos [20].

Los electrodos empleados fueron de acero inoxidable 316L (grado médico) de 0.5 cm de diámetro y 0.2 cm de espesor (AI316L). Placas de acero inoxidable industrial de aproximadamente 1cm² de superficie y 0.05 mm de espesor fueron empleados como controles (AII). Las placas, previamente pulidas, fueron lavadas ultrasónicamente en xileno y acetona por 10 minutos, lavadas con agua destilada, pasivadas mediante inmersión en HF y vueltas a lavar extensamente antes del depósito. Ambos electrodos –muestras y controles– fueron tratados bajo las mismas condiciones de limpieza. Para el depósito de las películas los electrodos fueron sumergidos en soluciones catiónicas de quitosan sometidas a una diferencia de potencial constante de 1V por un periodo de 10 minutos, variando los siguientes parámetros: pH (1, 3 y 5) y concentración (1.5 y 2% w/v). La Tabla I resume las condiciones de depósito empleadas durante el proceso de electrodeposición. Después del depósito, cada película fue neutralizada con NaOH 1M (Merck), lavada profusamente y secada en una mufla a 60°C por 3 horas en ambiente normal. El electrodo positivo fue cambiado en cada nuevo depósito.

La morfología de las películas se estudió mediante microscopía electrónica de barrido SEM (JSM 6300 JEOL) a 5 kV y diferentes ampliaciones. Las películas depositadas se caracterizaron mediante espectroscopía infrarroja de reflectancia (IRS) entre 400 y 4000 cm⁻¹ (Nicolet 750). Las concentraciones porcentuales de carbono y oxígeno se determinaron

TABLA I. Condiciones de depósito de quitosan sobre acero inoxidable industrial y 316L grado médico.

Nombre de la muestra*	Tiempo de depósito (min)	Voltaje aplicado (V)	pH	Concentración (% peso/volumen)
A1I, A1M	10	1	1	2.0 %
A2I, A2M	10	1	3	2.0 %
A3I, A3I	10	1	5	2.0 %
D4I, D4M	10	1	5	1.5 %
D5I, D5M	10	1	3	1.5 %
D6I, D6M	10	1	1	1.5 %

*I: Acero industrial ; M: Acero 316L

empleando espectroscopia de energía dispersiva EDS en un área de 250 µm²(sistema NORAN 1100/1110EDX).

3. Resultados y discusión

En los espectros de reflexión infrarrojas las bandas de absorción que se presentan proporcionan información sobre la estructura de la molécula. Cada banda de absorción corresponde a la energía asociada con una transición vibracional en la molécula. Para moléculas orgánicas, el espectro infrarrojo puede dividirse en tres regiones. Las absorciones entre 4000 y 1300 cm⁻¹ se deben principalmente a grupos funcionales específicos y a tipos de enlaces presentes en la molécula.

la. Aquellas entre 1300 y 900 cm^{-1} , la región característica de la molécula, se deben a interacciones más complejas, y las correspondientes entre 900 y 650 cm^{-1} usualmente están asociadas con la presencia de anillos bencénicos presentes en la molécula.

En la Fig. 6 se muestran los espectros típicos normalizados obtenidos por espectroscopía infrarroja para muestras de películas de quitosán con pH's 1 y 5. Se observa la banda de absorción correspondiente al radical $-\text{OH}$ de 3450 a 3100 cm^{-1} , la banda alifática de C-H entre 2990 y 2850 cm^{-1} ; entre 1633 y 1550 cm^{-1} se presentan las regiones de absorción amida I, amida II y amina. La otra región característica del quitosán es la correspondiente a 1220-1020 cm^{-1} , aquí se localiza el grupo primario amino libre ($-\text{NH}_2$) en la segunda posición del C_2 de la glucosamina, siendo el mayor grupo presente en el quitosán. En todas las películas crecidas se observó mayor o menor absorción en 1647 cm^{-1} , la cual corresponde a la presencia de grupos aminos acetilados de la quitina; esto se atribuye a que el producto inicial de quitosán presenta alrededor de 85 de deacetilación. Para pH = 1 se presentó el pico de absorción ($-\text{C}-\text{O}$) del grupo alcohólico primario ($-\text{CH}_2-\text{OH}$) [8-10,19-21]. Las películas con pH ligeramente ácido presentan una atenuación en las bandas de absorción en todas las regiones correspondientes a bandas de absorción de quitosán, lo cual nos indica una disminución en el depósito del material sobre el electrodo.

Después del depósito de las películas se realizaron análisis de EDS e IRS en los electrodos positivos de acero inoxidable sin encontrar depósito de quitosán sobre ellos.

Las Figs. 7 y 8 muestran micrografías analizadas por SEM de las películas de quitosán obtenidas sobre el electrodo negativo cuando una diferencia de potencial de 1V es aplicada a un par de electrodos que son sumergidos en una solución acuosa de quitosán con pH = 1, 3 y 5, y concentración 2 % w/v. Se observa que dependiendo del tipo de electrodo y de los valores del pH y la concentración del electrolito se ob-

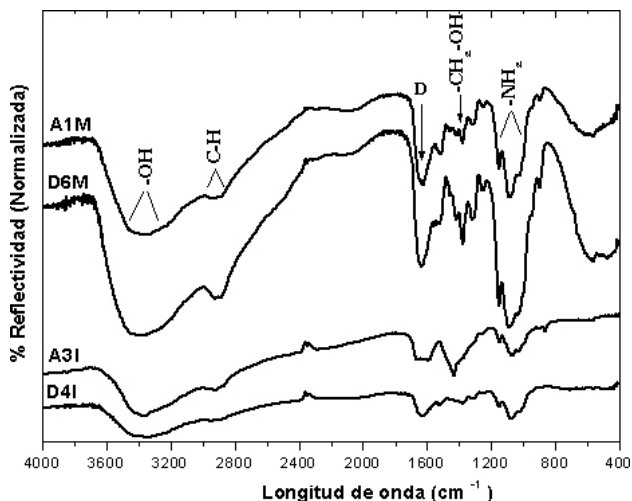


FIGURA 6. Espectro infrarrojo de las películas de quitosán depositadas sobre aceros inoxidables industrial y 316L para soluciones con pH's 1 y 5.

tienen recubrimientos con diferentes morfologías. Los depósitos que fueron realizados empleando un electrolito con un valor de pH = 1 mostraron granulaciones del quitosán (Fig. 6a y 6b). Estas granulaciones y rugosidades de la superficie posiblemente estén asociadas con las sales del polielectrolito de quitosán que no fueron neutralizadas por el NaOH 1M. Con pH's menos ácidos se obtuvieron fibras de diversos espesores (Fig. 6c y 6d). De hecho, bajo las mismas condiciones de depósito (1v, t = 600 s., pH = 5) pero diferentes electrodos, las fibras obtenidas en el caso de acero inoxidable industrial se configuran en casilleros cuasi-tridimensionales cuando son depositadas en acero inoxidable 316L. Este tipo de morfologías-consideramos-serían las adecuadas para su empleo como armazones para la proliferación de cartílago dado que células de las dimensiones de los condrocitos podrían encontrar en este tipo de formas, espacios para adherirse y duplicarse. Se observó que conforme la concentración de quitosán aumenta las fibras aumentan en densidad y grosor (Fig. 7). Los electrodos positivos fueron analizados con y

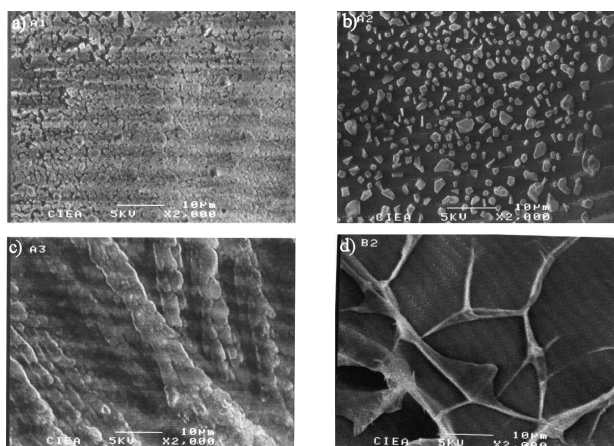


FIGURA 7. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de las diferentes muestras obtenidas a 1V, 10 min y con a) pH= 1, electrodo: AII b) pH= 1, electrodo: AI316L, c) pH= 5, electrodo: AII y d) pH= 5, electrodo: AI316L.

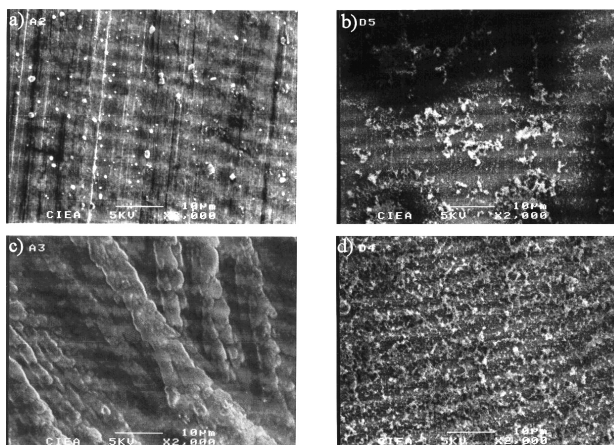


FIGURA 8. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de las diferentes muestras obtenidas a 1V, 10 min y con a) pH= 3, 2 % w/v, b) pH= 3, 1.5 % w/v, c) pH= 5, 2 % w/v y d) pH= 5, 1.5 % w/v.

TABLA II. Porcentaje en peso de carbono y oxígeno depositados sobre las películas de quitosan. Se muestra la concentración correspondiente a un sustrato de acero inoxidable por comparación.

Muestra	Carbono (% peso)	Oxígeno (% peso)
A3M	90.0 ± 1.0	10.0 ± 3.04
A2M	68.0 ± 1.0	37.0 ± 1.0
A1M	55.0 ± 1.04	45.0 ± 2.0
D4M	88.0 ± 2.0	12.0 ± 5.0
D5M	66.0 ± 1.0	34.0 ± 1.0
D6M	52.0 ± 2.0	48.0 ± 6.0
Sustrato	0.38 ± 0.02	0.05 ± 0.02

sin neutralización por NaOH, sin encontrar depósito alguno de cristales y/o fibras.

La Tabla II muestra las concentraciones porcentuales, obtenidas mediante EDS, de carbono y oxígeno que se presentaron en las películas de quitosan depositadas sobre acero 316L. También se anexan, por comparación, las concentraciones de carbono y oxígeno presentes en un sustrato de acero 316L sin depósito alguno. La región analizada en cada muestra fue de 500 μm^2 . Aun teniendo en cuenta al carbono adventicio que podría presentarse por la exposición de las muestras a un ambiente normal, se encontró un incremento porcentual de carbono y oxígeno dependiendo de la concentración y acidez de la solución, esto es, a concentraciones mayores y pH menos ácidos existe un depósito mayor de quitosan sobre el acero.

La Fig. 9 presenta los resultados obtenidos mediante espectroscopia infrarroja para películas de quitosan obtenidas bajo las mismas condiciones de depósito – pH, voltaje y tiempo de depósito- en los dos sistemas empleados. Estos resultados son representativos de las muestras producidas y ponen de manifiesto la reproducibilidad que se puede alcanzar empleando el sistema reportado en este trabajo. En todos los espectros se observan las mismas bandas de absorción, tanto las correspondientes a los radicales –OH y amino libre (-NH₂) como a las regiones amidas y amina. En particular se observa nuevamente la presencia de la región característica del quitosan, en la banda 1220-1020 cm^{-1} .

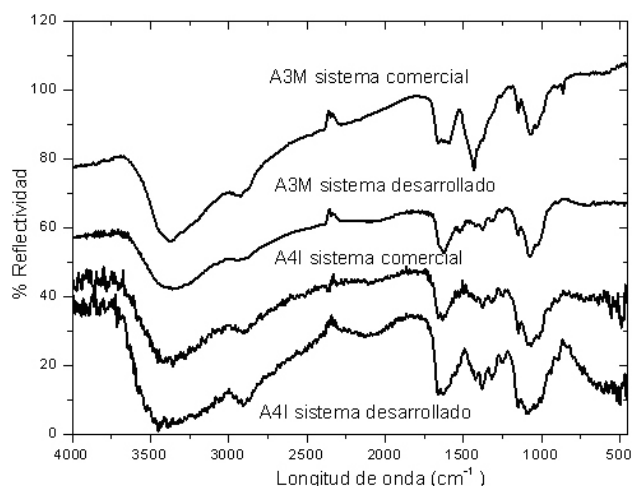


FIGURA 9. Espectro infrarrojo de películas de quitosan depositadas sobre aceros inoxidables industrial y 316L empleando los dos sistemas de depósito (comercial y desarrollado) y bajo condiciones de pH=5, 2 % w/v, V= 1V y tiempo de depósito de 10 minutos.

4. Conclusiones

Se diseñó y construyó un sistema de electrodeposición químico con condiciones para el depósito de películas orgánicas sobre sustratos de diversas geometrías. Este sistema cuenta con controles de temperatura, agitación y corriente-voltaje. El sistema se ha utilizado para producir exitosamente recubrimientos de quitosan, empleando este sistema sobre dos tipos de electrodos negativos –acero industrial y 316L grado médico– los cuales presentan morfologías y espesores que dependen del sustrato, pH y concentración de la solución del polisacárido. Se formaron redes de quitosan sobre acero 316L de entre 10 y 25 micras (pH=3, t=10 min., 2 % w/v). No se encontró presencia de depósito alguno sobre los electrodos positivos

Agradecimientos

Los autores agradecen a Ana B. Soto Guzmán, Marcela Guerreo (Departamento de Física CINVESTAV-IPN), Ángel L. Rodríguez Morales y María del Carmen Mendoza Ruiz (Centro de Investigación en Micro y Nanotecnología, Universidad Veracruzana) por la asistencia técnica prestada. Este trabajo fue apoyado parcialmente por CONACYT-México.

* Author de contacto.

1. P.X. Ma, *Materials Today*, **8** (2004) 30.
2. D. Williams, *Materials Today*, **8** (2004) 24.
3. G.M. Foo and R.B. Pandey, *Biomacromolecules*, **1** (2000) 407.
4. M. Bohmer, *Langmuir*, **12** (1996) 5747.
5. D.J. Strike, N.F. Rooij y M. de Koudelka-Hep, *Biosens Bioelectron* **10** (1995) 61.

6. S. Cosnier, *Biosens Bioelectron*, **14**(1999) 443.
7. C. Kurzawa, A. Hengstenberg y W. Schuhmann, *Anal. Chem.* **74** (2002) 355.
8. Ed. J.P. Zikakis, *Chitin, chitosan, and related enzymes*, Delaware Univ. Press, (1984).
9. Ed. R. Muzzarelli, C. Jeuniaux y G.W. Gooday, *Chitin in Nature and Technology*, Plenum Press, NY (1985).

10. Ed. G. Skjak-Braek, T. Anthonsen y P. Sandford, *Chitin and Chitosan: Sources, Chemistry, Biochemistry, Physical properties and applications*, Elsevier Applied Science, NY (1988)
11. A. Denuziere, D. Ferrier, O. Damour y A. Domard, *Biomaterials* **19** (1998) 1275.
12. A. Lahiji, A. Sohrabi, D.S. Hungerford y C.G. Frondoza, *J Biomed. Mater. Res.* **51** (2000) 586.
13. T. Mori *et al.*, *Biomaterials* **18** (1997) 947.
14. T. Mori *et al.*, *J Biomed. Mater. Res.* **43** (1998) 469.
15. A.J. Bard y L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications* Ed. Wiley. New York, (1980).
16. J.K.F. Suh y H.W.T. Matthew, *Biomaterials* **21** (2000) 2589.
17. M. Rinaudo, G. Pavolov y J. Desbrieres, *Polymer* **40** (1999)7029.
18. P. Sorlier, A. Denuziere A., C. Viton y A. Domand, *Biomacromolecules* **2** (2001) 765.
19. S.C. Yang, H.X. Ge, Y. Hu, X.Q. Jiang y C.Z. Yang, *Colloid Polym. Sci.* **78** (2000) 285.
20. L.Q. Wu, A.P. Grade, H. Yi, M.J. Castantin y G.W. Rubloff, *Langmuir* **18** (2002) 8620.
21. S.C. Yang, H.X. Ge, Y. Hu, X.Q. Jiang y C.Z. Yang, *Colloid Polym. Sci.* **78** (2000) 285.