

Efecto del solvente orgánico y porcentaje de agua en el electrolito de la segunda etapa de la anodización electroquímica, sobre la morfología y la mojabilidad de los nanotubos de TiO₂ para aplicaciones biomédicas

A. Octavé^{a*}, L. Gil^a, N. Angulo^a, R. Paredes^a

^a Centro de Estudios de Corrosión y Biomateriales (CECOB), Departamento de Ingeniería Metalúrgica, Universidad Nacional Experimental Politécnica “Antonio José de Sucre”, Vicerrectorado Puerto Ordaz, Estado Bolívar, Venezuela.

*Autor de Correspondencia, E-mail: aoctave.97@gmail.com.

Recibido: 16-07-22. Aceptado: 05-09-22.
Publicado: 27-09-22.

RESUMEN

En el diseño de biomateriales se ha buscado optimizar la síntesis de nanoestructuras sobre implantes metálicos con el fin de mejorar el anclaje entre el hueso y el metal, para lo cual se han aplicado diversas técnicas que permiten tener un control sobre el crecimiento y dimensiones de la capa de óxido metálico. Para el desarrollo del presente trabajo, se estudió la morfología de capas nanoestructuradas de TiO₂ anodizadas en dos pasos, empleando Glicerol y Etilenglicol como solventes orgánicos, y porcentajes de agua de 2 y 20%. Se realizó un diseño experimental para determinar el efecto de la composición del electrolito sobre la síntesis de nanoestructuras de TiO₂; posteriormente, las capas anódicas se caracterizaron por MEB y EDS; también se evaluó su respuesta frente a la mojabilidad mediante mediciones de ángulo de contacto y energía superficial, para así determinar su aplicabilidad como material biomédico. Como resultado, se observó que la variación del solvente da lugar a la formación de capas de TiO₂ nanoporosas y nanotubulares, debido a la diferencia de viscosidades y a su naturaleza polialcohólica; así mismo, el aumento en el contenido de agua favoreció el incremento en el diámetro de las nanoestructuras, influyendo a su vez, en la respuesta a la mojabilidad (un mayor diámetro induce un mayor mojado de superficie). Resultando como mejor condición, la muestra anodizada en dos pasos con Etilenglicol + 20% H₂O + 0,35% NH₄F, ya que arrojó valores aceptados para la aplicación como biomaterial.

Palabras claves: Ángulo de contacto, anodización en dos pasos, energía superficial, nanoporos/nanotubos de TiO₂, solvente orgánico.

Effect of organic solvent and percentage of water in the electrolyte of the second stage of electrochemical anodization, on the morphology and wettability of TiO₂ nanotubes for biomedical applications

ABSTRACT

In the design of biomaterials, it has been sought to optimize the synthesis of nanostructures on metallic implants in order to improve the anchorage between the bone and the metal, for which various techniques have been applied that allow control over the growth and dimensions of the metal oxide layer. For the development of this work, the morphology of TiO₂ nanostructured layers anodized in two-steps was studied, using Glycerol and Ethylene Glycol as organic solvents, and water percentages of 2 and 20%. An experimental design was carried out to determine the effect of the electrolyte composition on the synthesis of TiO₂ nanostructures; subsequently, the anodic layers were characterized by SEM and EDS; its response to wettability was also evaluated by contact angle and surface energy measurements, and thus determine its applicability as a biomedical material. As a result, it was observed that the variation of the solvent gives rise to the formation of nanoporous and nanotubular TiO₂ layers, due to the difference in viscosity and its polyalcoholic nature; likewise, the increase in the water content favored the increase in the diameter of the nanostructures, influencing, in turn, the response to wettability (a larger diameter induces a greater surface wetting). The best condition in which acceptable values were obtained for its use as a biomedical material was the sample anodized in two-steps with Ethylene Glycol + 20% H₂O + 0.35% NH₄F.

Keywords: Contact angle; two-step anodization; surface energy; TiO₂ nanoporous/nanotubular; organic solvents.

INTRODUCCIÓN

Uno de los puntos de mayor interés en los que se ha centrado la investigación en el área de diseño de biomateriales ha sido la optimización de las superficies de

los implantes médicos, con el fin de mejorar y aumentar las interacciones entre el implante y el medio biológico. Particularmente, una superficie de óxido tubular y porosa a escala nanométrica en los implantes de titanio ha llamado

la atención de los investigadores debido a que dicha capa proporciona mayores sitios de unión para los receptores de las membranas celulares, mejorando así, las etapas de adhesión, proliferación y diferenciación de las células [1]. Una de las técnicas más utilizadas para la fabricación de películas nanotubulares de dióxido de titanio (TiO_2) ha sido la anodización electroquímica, ya que permite tener un control sobre los parámetros morfométricos de la capa anódica [2]. Sin embargo, de acuerdo a revisiones bibliográficas, se puede encontrar que dichas matrices nanotubulares de TiO_2 han presentado una amplia variación en el tamaño de la boca de los nanotubos, además de geometrías irregulares y una mala alineación de la matriz [3]; estas variaciones podrían interferir en los eventos biológicos, tales como: procesos de osteointegración (es decir, afectar la etapa de unión e integración entre el tejido vivo y el implante), en la carga y descarga de fármacos, el uso de la matriz como un biosensor, entre otros [4]. Para solventar esta situación, se ha buscado poner en práctica los métodos de nanoimpresión, siendo uno de ellos el anodizado en dos pasos. Esta alternativa permite fabricar películas de TiO_2 nanotubulares más ordenadas a partir de un patrón de nanoporos, y de esta manera tener un mejor control sobre el crecimiento, el diámetro y la geometría de los nanotubos, además de minimizar la posibilidad de que los nanotubos crezcan de forma aleatoria y agrupados [3, 5]. Ahora bien, la modificación superficial en el proceso de anodizado implica estudiar de qué manera podría verse afectada la película de óxido al variar los parámetros de estudio. Es a partir de este punto que surge el interés de esta investigación, conocer cómo influye el tipo de electrolito utilizado en la segunda etapa del anodizado (empleando dos tipos de solventes orgánicos: Glicerol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$) y Etilenglicol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$), y distintos porcentajes de agua) sobre la morfología y la formación de la capa de TiO_2 . Por otra parte, hay que tener en cuenta que, al aplicar tratamientos de modificación superficial a nivel nanométrico, también se verán afectadas las propiedades de superficie tales como: la rugosidad, energía superficial y

composición química, teniendo, por consiguiente, un efecto sobre la fuerza de unión y cantidad de proteínas que se adhieren a la superficie [6].

Por tal motivo, en el presente trabajo, además de aplicar la novedosa técnica de anodización electroquímica de dos pasos para obtener nanotubos más ordenados, también se realizan estudios de mojabilidad mediante la medición del ángulo de contacto y de energía superficial, con el objetivo de determinar el grado de adsorción que puedan tener las capas de TiO_2 anodizadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación Metalográfica.

Se utilizaron muestras de Ti6Al4V, las cuales fueron desbastadas con papel de lija de SiC de grano 80, 180, 240, 320, 400 y 600 grit, realizando una limpieza en ultrasonido con agua destilada entre cada etapa de lijado. Una vez preparadas, se decaparon utilizando el reactivo *Kroll's* (2% HF + 20% HNO_3 + 78% H_2O) con un tiempo de inmersión de 30 segundos. A continuación, fueron lavadas con abundante agua destilada para eliminar los restos de *Kroll's*, y con etanol para desengrasar la superficie. Finalmente, las muestras fueron secadas con aire caliente.

Anodización Electroquímica.

Se empleó un montaje convencional cuya celda consistió en un vaso de precipitado de teflón, con dos electrodos, donde la muestra de Ti6Al4V era el ánodo, y una varilla de platino (Pt) era el cátodo, ubicados con una separación de 1 cm, y conectados, a su vez, a una fuente de poder (figura 1); todos los ensayos se realizaron a temperatura ambiente. En la tabla 1 se presenta la clasificación de las condiciones.

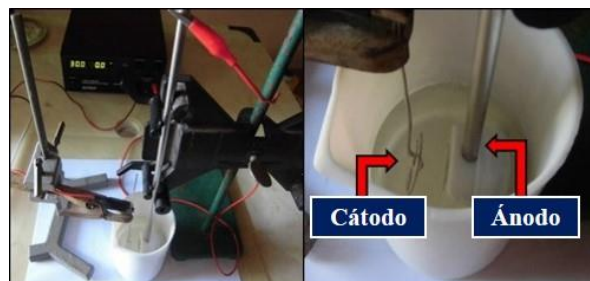


Fig. 1. Montaje para la anodización electroquímica.

Tabla 1. Clasificación de las condiciones de estudio.

Condición de Estudio	Clasificación
Anodizada en un paso (muestra blanco)	Gli+24,5
Anodizada en primer paso (patrón de nanoporos)	Etg+3
Anodizada en dos pasos con Glicerol + 2% H ₂ O	Gli+2
Anodizada en dos pasos con Glicerol + 20% H ₂ O	Gli+20
Anodizada en dos pasos con Etilenglicol + 2% H ₂ O	Etg+2
Anodizada en dos pasos con Etilenglicol + 20% H ₂ O	Etg+20

La muestra identificada como “blanco” se anodizó utilizando un electrolito a base de Glicerol + 0,5% NH₄F + 24,5% H₂O, durante 60 minutos a 20 V. Seguidamente, se lavó con abundante agua destilada, y se llevó a una limpieza en ultrasonido con Carbonato de Sodio (Na₂CO₃) durante 15 minutos, para neutralizar los iones fluoruro; luego, se realizó una segunda limpieza en ultrasonido con agua destilada por 10 minutos, y, finalmente, se roció con etanol y se dejó secar al aire.

Para los anodizados en dos pasos se aplicó el siguiente procedimiento: las muestras de titanio fueron anodizadas utilizando una solución compuesta por Etilenglicol + 0,5% de NH₄F + 3% de H₂O, durante 15 minutos, a 60 V (figura 2a). Pasado ese tiempo, las muestras se limpiaron con agua destilada durante 15 minutos en ultrasonido para desprender la capa de nanotubos de TiO₂ formada (figura 2b), dejando la superficie del metal expuesta (figura 2c). Los parámetros de trabajo utilizados para esta primera etapa están basados en revisiones bibliográficas [7, 8, 9].

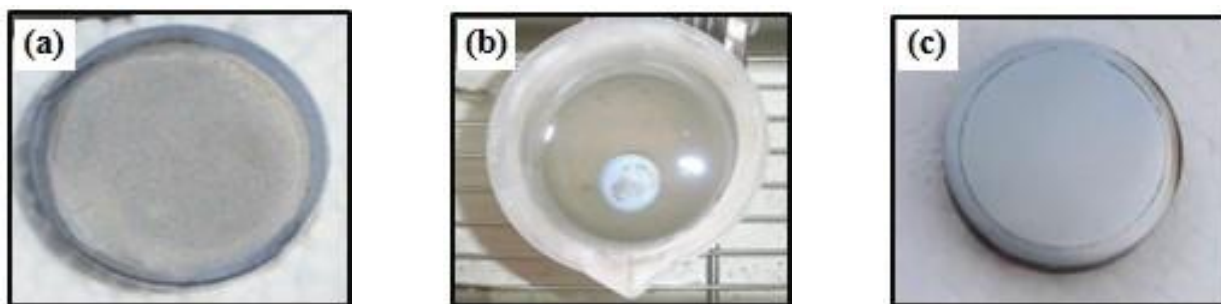


Fig. 2. Primer paso de anodizado de las muestras de Ti6Al4V (Pretratamiento): (a) apariencia de la muestra de Ti6Al4V luego de ser anodizada en primer paso; (b) desprendimiento de la capa de TiO₂ anodizada, mediante un baño ultrasónico con agua destilada; (c) apariencia de la muestra de Ti6Al4V luego de la remoción de la capa de TiO₂.

Las probetas de titanio pretratadas se sometieron a un segundo proceso de oxidación anódica, utilizando dos solventes orgánicos y dos porcentajes de agua, a 30 V y durante 60 minutos. Tras culminar el proceso, se realizó el lavado de las probetas con agua destilada y secado al aire. Los estudios morfológicos y composicionales de las muestras anodizadas en uno y dos pasos, se llevaron a cabo utilizando el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) JEOL JSM-6390, modelo 7582 con Espectrómetro de Rayos X por Energía Dispersada (EDS) incorporado.

Ensayos de Mojabilidad.

Se empleó la técnica de la gota sésil, en la que se depositaron gotas de agua destilada sobre la superficie de las muestras. El volumen de la gota fue de 5 µL, y en total se realizaron ocho (8) ensayos de gota sésil para cada condición, efectuando tomas de video durante la deposición del líquido. El ensayo se realizó por duplicado para obtener un resultado exacto de los valores de ángulo de contacto.

Cálculo de la Energía Superficial.

Se empleó la ecuación de Owens-Wendt (1), para la cual se requirió medir el ángulo de contacto con al menos dos líquidos patrón, siendo estos el agua destilada y el Etilenglicol; esta selección se realizó basándose en estudios previos [10].

$$\frac{\gamma_l(1+\cos(\theta))}{2*\sqrt{\gamma_l^d}} = \sqrt{\gamma_s^p} * \left(\frac{\sqrt{\gamma_l^p}}{\sqrt{\gamma_l^d}} \right) + \sqrt{\gamma_s^d} \quad (1)$$

Donde: γ_l es la energía superficial del líquido, γ_l^d es la componente dispersiva del líquido, γ_l^p es la componente polar del líquido, γ_s^d es la componente dispersiva del sólido, γ_s^p es la componente polar del sólido y θ es el ángulo de contacto. La energía superficial total del sólido se obtiene con la sumatoria de las componentes dispersiva y polar (es decir, $\gamma_s = \gamma_s^d + \gamma_s^p$). En la tabla 2 se presentan las propiedades de los líquidos patrón utilizados.

Tabla 2. Características de los líquidos patrón.

Líquidos	γ_l^p (mJ/m ²)	γ_l^d (mJ/m ²)	γ_l (mJ/m ²)
Agua destilada	51,0	21,8	72,8
Etilenglicol	19,0	29,0	48,0

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros operativos para la segunda etapa del anodizado.

En la tabla 3 se describen los parámetros operativos acorde a la revisión bibliográfica, que corresponden a la segunda etapa del anodizado electroquímico en dos pasos.

Tabla 3. Parámetros operativos para la segunda etapa del anodizado.

Parámetros	Condiciones
Distancia Ánodo - Cátodo	1 cm
Edad del Electrolito	< 24 h
Porcentaje de NH ₄ F	0,35%
Porcentaje de H ₂ O	2%
	20%
Tipo de solvente	Glicerol
	Etilenglicol
Temperatura del electrolito	Ambiente
Tiempo	1 hora
Voltaje	30 V

Caracterización Óptica de las superficies de Ti6Al4V anodizadas.

En la figura 3 se presentan las imágenes ópticas de las piezas anodizadas en uno y dos pasos bajo las diferentes condiciones de estudio.

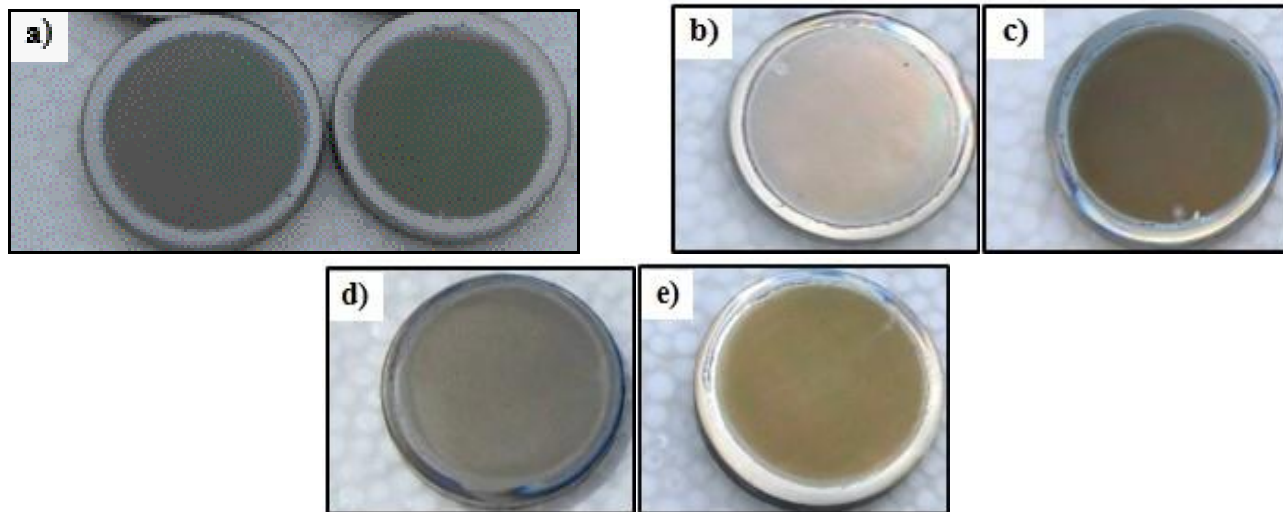


Fig. 3. Imágenes ópticas de las muestras anodizadas: a) en un paso; b) en dos pasos con Glicerol + 2% H₂O; c) en dos pasos con Glicerol + 20% H₂O; d) en dos pasos con Etilenglicol + 2% H₂O; e) en dos pasos con Etilenglicol + 20% H₂O.

En ellas se puede observar la formación de una capa coloreada sobre la superficie de la aleación. La muestra anodizada con Glicerol en un paso (figura 3a), adoptó un color principalmente verde con algunas zonas rosadas. En los anodizados en dos pasos, para la condición Gli+2 (figura 3b) se puede apreciar una capa de tono grisáceo con reflejos rosados y verdes; para la condición Gli+20 (figura 3c), la capa presenta un color amarillo oscuro. Mientras que, utilizando el segundo solvente (Etilenglicol), la condición Etg+2 (figura 3d) adquirió una coloración entre amarillo y gris opaco, y para la condición Etg+20 (figura 3e) la capa presentó una coloración amarilla similar a la condición Gli+20. Estos resultados coincidieron con los reportados en la bibliografía [11]. Cabe mencionar que, esta variación de coloración de las capas se atribuye al fenómeno de interferencia de la luz que se refleja tanto en la superficie metálica como en la capa de óxido, haciendo que un determinado color (o colores) se intensifique o bien, no sea visible. El resultado dependerá del espesor de la capa de óxido [12].

Caracterización de la muestra anodizada en un paso: Gli+24,5 (muestra blanco).

En la figura 4a se presenta la imagen obtenida por MEB (a X100000) de la muestra anodizada en un paso con Glicerol + 0,5% NH_4F + 24,5% de H_2O . Se observa la formación de una capa nanotubular uniforme, con espacios intertubulares, y cuya forma en la boca de los nanotubos es cuasi-circular. En la figura 4b se expone el espectro y los porcentajes de elementos detectados por la técnica de análisis de Espectroscopia de Rayos X por Energía Dispersada (EDS), en donde se observa que los elementos que se encuentran en mayor proporción son el titanio (Ti) y el oxígeno (O) con 69,02% y 23,75%, respectivamente, los cuales constituyen la capa de óxido. La presencia de aluminio (Al) y de vanadio (V) detectados en menor proporción en un porcentaje de 3,34% y 3,89%, respectivamente, corresponden a los otros elementos presentes en la aleación Ti6Al4V.

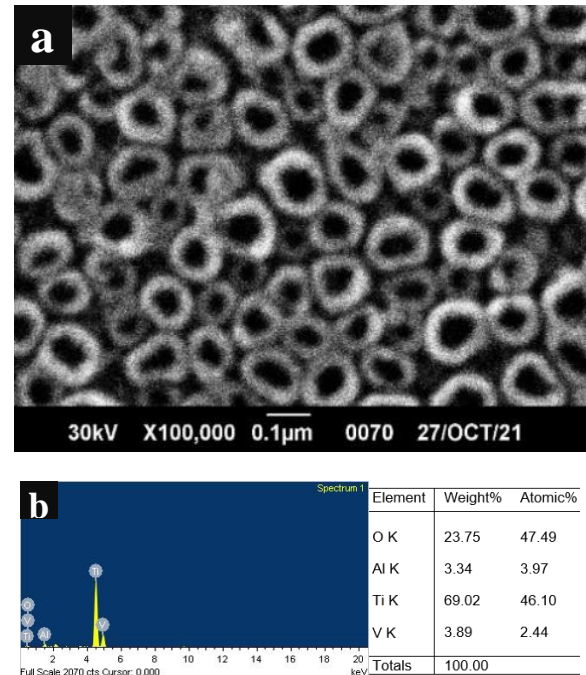


Fig. 4. a) Imagen obtenida por MEB de la condición Gli+24,5; b) Análisis EDS de la capa nanotubular bajo la condición Gli+24,5

Caracterización del patrón de nanoporos.

En la figura 5 se muestra la micrografía obtenida por MEB del patrón de nanoporos resultante luego de la limpieza por baño ultrasónico (condición Etg+3). Con esta imagen se confirma que la técnica de vibración ultrasónica remueve la capa de TiO_2 nanotubular formada en la primera etapa del anodizado. Se puede observar que, la formación de los nanoporos tuvo lugar en la mayor parte de la superficie.

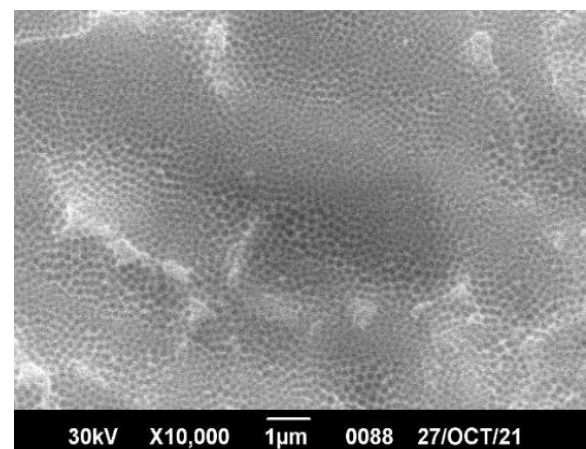


Fig. 5. Imagen obtenida por MEB de la condición Etg+3 luego de la remoción de la capa de TiO_2 en ultrasonido, a X10000.

En la figura 6 se presenta el patrón de nanoporos con una mayor magnificación (a X50000). En ella se puede apreciar que el patrón tiene una apariencia similar a la de un panal de abeja (en inglés “*honeycomb*”) en el que los nanoporos presentan una forma cuasi-hexagonal.

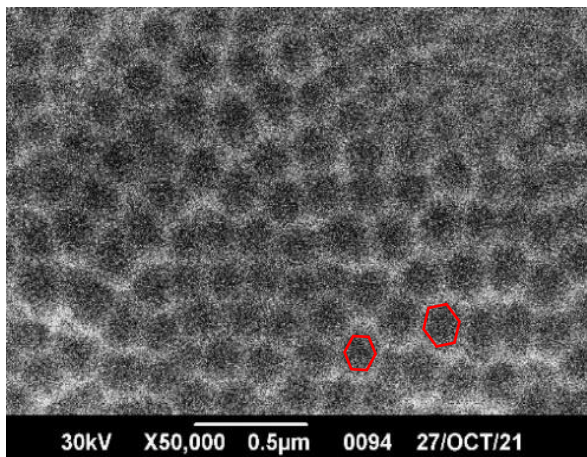


Fig. 6. Imagen obtenida por MEB de la condición Etg+3 luego de la remoción de la capa de TiO₂ en ultrasonido, a X50000.

La etapa de desprendimiento de la película de TiO₂ anodizada dejó expuesta a la superficie metálica, tal como lo demuestra el análisis EDS (figura 7), en el que se comprobó que las especies químicas presentes corresponden exactamente a las que constituyen la aleación

de estudio, siendo el Ti el que se encuentra en mayor proporción con un 89,36%, seguido del Al con un 6,42% y finalmente el V con un 4,22%.

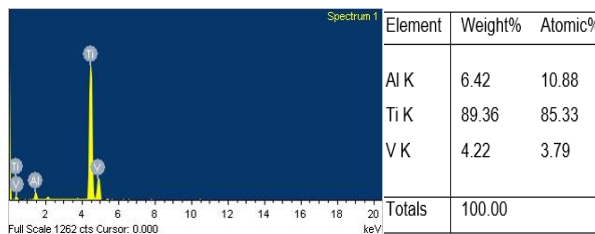


Fig. 7. Análisis EDS del patrón de nanoporos anodizado bajo la condición de Etg+3

Caracterización de las muestras anodizadas en dos pasos: Gli+2 y Gli+20.

En la figura 8a se presenta la imagen obtenida por MEB (a X10000) de la muestra anodizada en el segundo paso para la condición Gli+2. Se aprecia la formación de una película nanoporosa de TiO₂ ordenada y uniforme; además, se observa que la capa se formó sobre toda la superficie de estudio. Mientras que, en la figura 8b, con una magnificación de X100000, se puede detallar que la morfología resultante de la condición Gli+2 es de tipo “*panal de abeja*”, en la cual los poros presentan una forma hexagonal, coincidiendo con los resultados obtenidos en otras investigaciones [5].

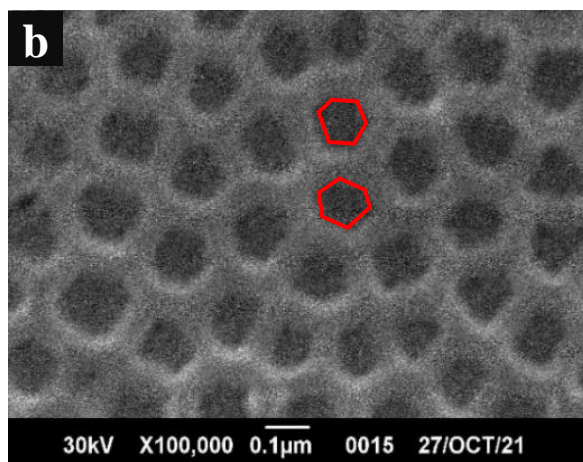
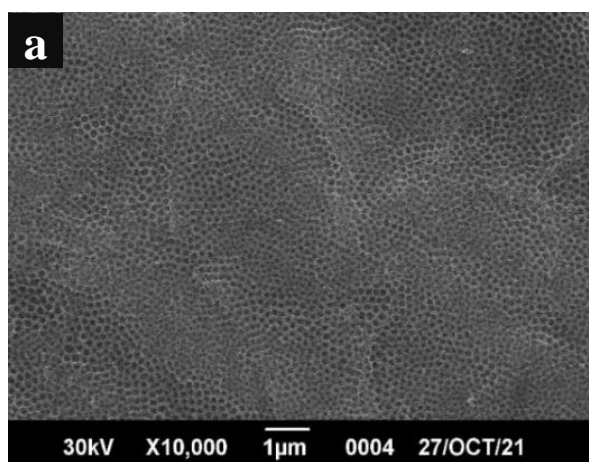


Fig. 8. Imagen obtenida por MEB de la muestra anodizada bajo la condición Gli+2: a) a X10000; b) a X100000.

La figura 9a presenta la micrografía obtenida por MEB (a X25000) de la muestra anodizada en dos pasos para la

condición Gli+20. Se puede observar la formación parcial de la capa nanoporosa sobre el Ti6Al4V, producto de la

disolución de la fase β . La fase β está enriquecida con V, y sus óxidos presentan poca estabilidad en comparación con la fase α (rica en Al), por lo cual tienden a ser atacados preferencialmente [13]. En la figura 9b se expone la imagen obtenida por MEB de la muestra anodizada bajo la condición Gli+20, con un aumento de X100000. En este caso, la apariencia de la capa de óxido es descrita por varios

autores como “raíz de loto” (en inglés *lotus-root-shaped*). Algunos poros presentan formas de pentágonos, hexágonos y otros cuasi-circulares. También se detalla la formación de la segunda película de óxido nanoestructurada dentro de los nanoporos, considerándose esto como un indicativo de que hubo una falla en el efecto guía del patrón de nanoporos del primer paso.

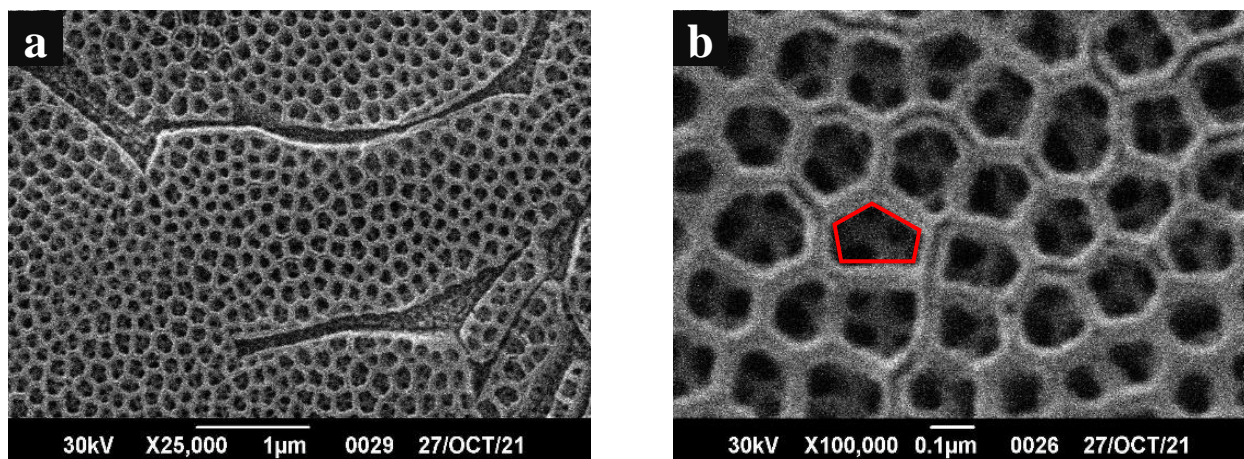


Fig. 9. Imagen obtenida por MEB de la muestra anodizada bajo la condición Gli+20: a) a X25000; b) a X100000.

El análisis EDS de la muestra anodizada bajo la condición Gli+2 se muestra en la figura 10a, en la cual se detectaron Ti y O como elementos principales por ser los que constituyen la capa de óxido, con porcentajes de 65,32% y 26,24%, respectivamente; y el Al y V en menor proporción

con 4,07% y 4,36%, respectivamente, como elementos que conforman la aleación. Mientras que, el porcentaje de elementos resultantes para la condición Gli+20 se expone en la figura 10b, con valores de 64,95% de Ti, 28,07% de O, 3,52% de Al y 3,46% de V.

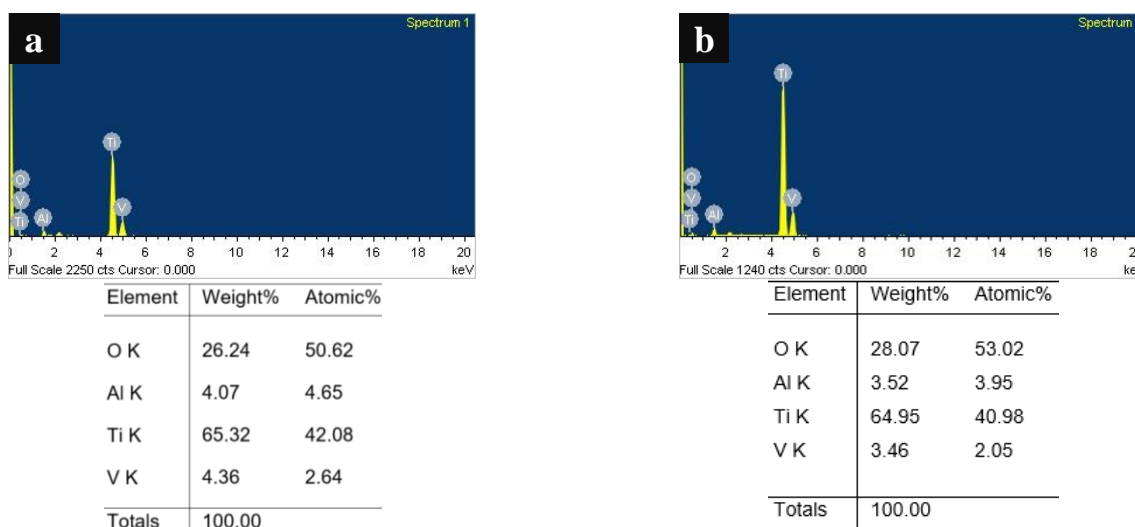


Fig. 10. Análisis EDS de la capa nanoporosa anodizada: a) bajo la condición de Gli+2; b) bajo la condición de Gli+20.

Caracterización de las muestras anodizadas en dos pasos: Etg+2 y Etg+20.

En la figura 11a se presenta la micrografía obtenida por MEB (a X25000) de la muestra anodizada en dos pasos para la condición Etg+2, en la cual se puede notar la formación de una película nanoporosa, así como también, regiones libres de capa nanoestructurada; dichas zonas corresponden a la disolución de la fase β , como se mencionó anteriormente.

En la figura 11b se detalla la superficie anodizada con Etg+2, a una mayor magnificación (X100000). En ella se puede notar que la morfología obtenida es similar a la de la

condición Gli+20, donde se puede observar poros con formas pentagonal, hexagonal (algunos ligeramente distorsionados) y poros irregulares. También, se detalla la formación de una segunda película de óxido nanoestructurada dentro de los nanoporos (identificados con las flechas amarillas); al igual que en la condición Gli+20, en ésta se puede notar que las nanoestructuras del interior no coinciden con las dejadas por el patrón de nanoporos del primer paso. Este tipo de morfología bajo condiciones similares ha sido reportado por otros autores [8, 9].

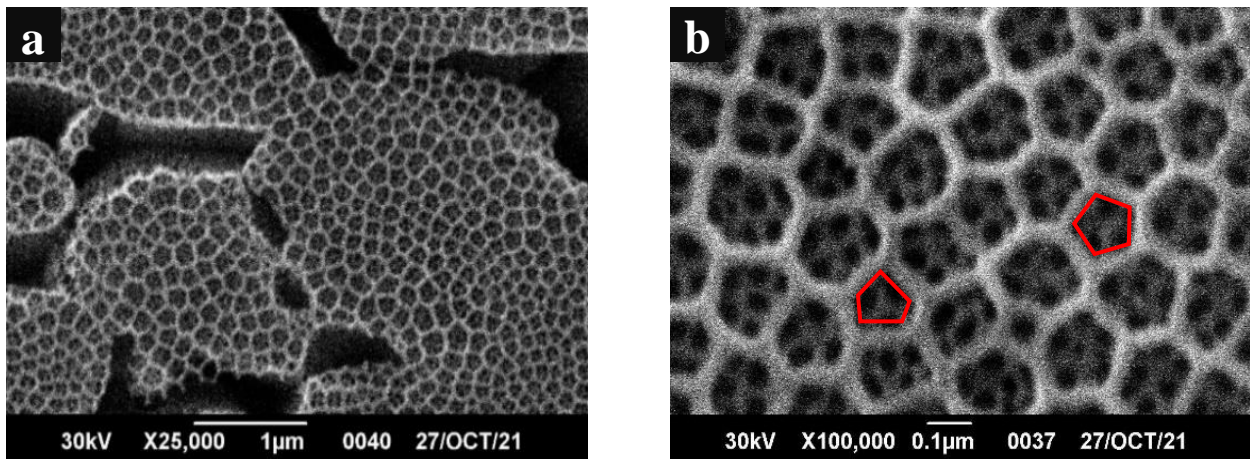


Fig. 11. Imagen obtenida por MEB de la muestra anodizada bajo la condición Etg+2: a) a X25000; b) a X100000.

La falla en el efecto guía del patrón de nanoporos, que se pudo apreciar en las condiciones Gli+20 y Etg+2 se puede atribuir a la diferencia de voltajes manejados entre el primer y segundo anodizado [8, 14].

Existe una relación de proporcionalidad entre el voltaje y espesor de la capa de óxido. Al trabajar con voltajes menores al del primer paso del anodizado, la capa compacta que se crea al iniciar el segundo paso será más delgada, lo que provocará que la presión que la película de óxido ejerza sobre las burbujas de oxígeno sea menor, por consiguiente, habrá un mayor número de burbujas de oxígeno que migrarán hacia la película de TiO_2 , y que comenzarán a nuclear y formar “embriones de poros” en el interior de un nanoporo (teoría del molde de burbuja de oxígeno) [14]. A

partir de este punto, el óxido comenzará a fluir a lo largo de las burbujas, provocando la ruptura superficial y dando lugar a la característica forma del nanotubo [8, 9]. Simultáneamente, ocurrirá la disolución química en la superficie de los nanoporos y nanotubos, y en las paredes internas por parte de los iones H^+ y F^- .

En la figura 12a, se presenta la imagen obtenida por MEB (a X25000) de la muestra anodizada en dos pasos para la condición Etg+20; en este caso se observa la formación de una película de TiO_2 nanotubular, cubriendo la mayor parte de la superficie metálica, y sin dejar rastro alguno de la capa nanoporosa del primer paso. De igual manera, se puede notar las regiones donde no se visualiza capa nanoestructurada, producto de la disolución localizada de

la fase β . Por otro lado, en la figura 12b, con una mayor magnificación (X100000), se puede detallar que dicha capa

nanotubular se caracteriza por ser uniforme y presentar espacios intertubulares (señalado con flechas rojas).

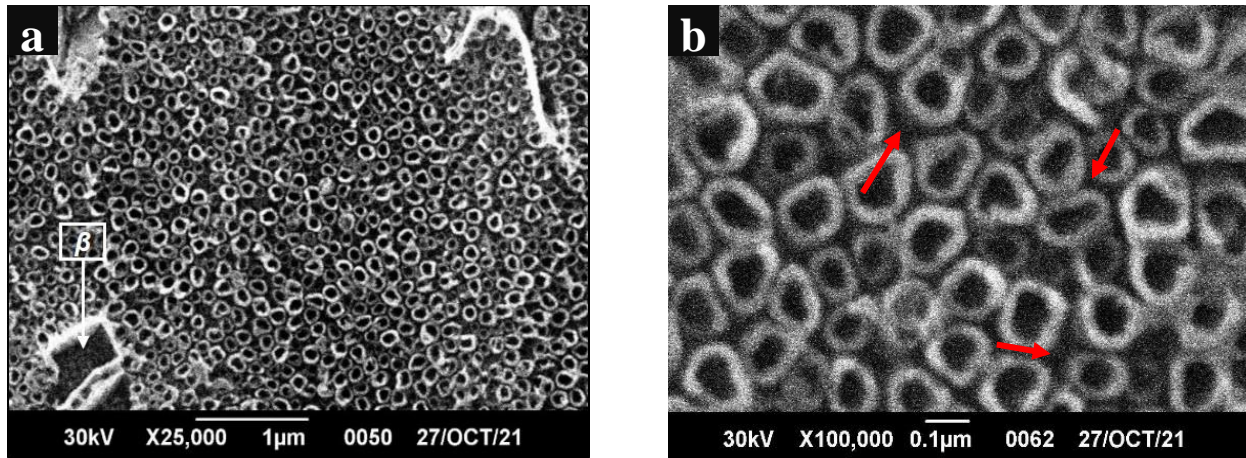


Fig. 12. Imagen obtenida por MEB de la muestra anodizada bajo la condición $E_{tg}+20$: a) a X25000; b) a X100000.

Los resultados del análisis composicional arrojados por el EDS de las condiciones $E_{tg}+2$ y $E_{tg}+20$, se exponen en las figuras 13a y 13b, respectivamente. En el primer tratamiento, se observa que el Ti se encuentra presente en

un 59,11%, seguido del O con un 34,98%, luego el Al con 3,24% y finalmente el V con un 2,68%.

Mientras que, en el segundo caso, el Ti se encuentra en 64,58%, el O en 30,00%, el Al en 3,37% y el V en 2,05%.

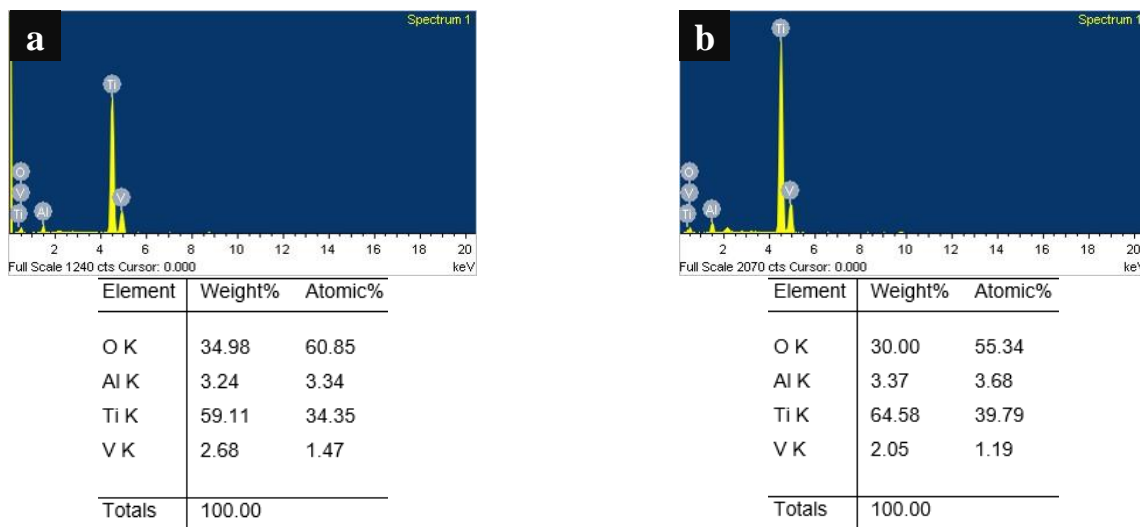
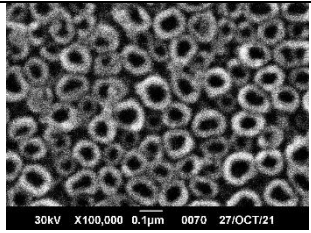
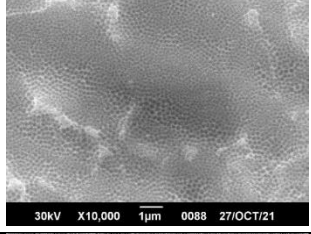
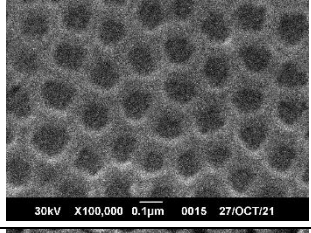
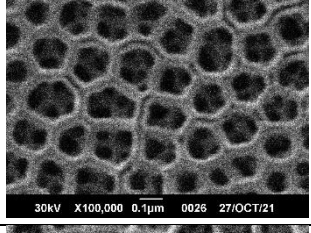
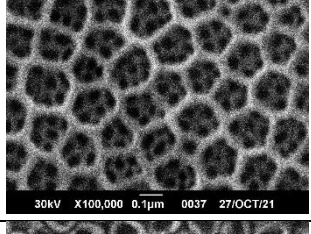
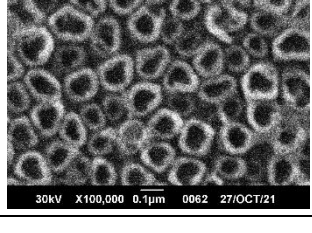


Fig. 13. Análisis EDS de: a) la capa nanoporosa anodizada bajo la condición de $E_{tg}+2$; b) la capa nanotubular anodizada bajo la condición de $E_{tg}+20$.

Como se pudo notar, bajo las condiciones $G_{li}+2$, $G_{li}+20$ y $E_{tg}+2$ se obtuvieron capas nanoporosas, donde los poros conservaron una geometría (cuasi) hexagonal; pues bien, dicha capa nanoporosa corresponde al patrón de nanoporos creados en el primer paso de anodizado, mostrando una buena resistencia a la disolución, sirviendo, además, como

una película protectora ante el agrupamiento de los nuevos nanotubos que se forman debajo de la misma [5]. En la tabla 4 se agrupan las dimensiones morfológicas de las capas nanoestructuradas de TiO_2 de cada condición de estudio.

Tabla 4. Parámetros morfológicos en función de las condiciones de estudio.

Condición de Estudio	Nanoporos	Nanotubos	Imagen por MEB
Gli+24,5	—	D _i : 88,19 ± 11,26 D _e : 134,04 ± 17,58 E: 45,85 ± 19,40	 30kV X100,000 0.1µm 0070 27/OCT/21
Etg+3	D _i : 139,87 ± 20,54	—	 30kV X10,000 1µm 0088 27/OCT/21
Gli+2	—	D _i : 147,59 ± 16,00	 30kV X100,000 0.1µm 0015 27/OCT/21
Gli+20	D _i : 149,13 ± 34,26	D _i : 62,33 ± 12,42	 30kV X100,000 0.1µm 0028 27/OCT/21
Etg+2	D _i : 176,97 ± 26,78	D _i : 46,59 ± 7,44	 30kV X100,000 0.1µm 0037 27/OCT/21
Etg+20	—	D _i : 97,26 ± 14,01 D _e : 141,17 ± 19,26 E: 43,91 ± 14,29	 30kV X100,000 0.1µm 0062 27/OCT/21

D_i: diámetro interno; *D_e*: diámetro externo; *E*: espesor de pared.

De la tabla 4 se puede observar que, el porcentaje de agua en la solución y el diámetro de los nanoporos/nanotubos son directamente proporcionales. Además, tuvo lugar el crecimiento de una nueva película nanotubular durante el

segundo anodizado, tal como se pudo evidenciar en la condición Gli+20 (donde se crearon nanotubos con diámetros de 62,33 nm) y en la condición de Etg+2 (donde se formaron nanotubos con diámetros de 46,59 nm). La

adición de agua al electrolito aumenta la difusión de las especies iónicas (H^+ y F^-) al proporcionar un medio en el cual estas se puedan disolver y movilizar fácilmente, provocando la expansión en el diámetro de las nanoestructuras [15].

Con el aumento del contenido de agua en la condición de Etg+20, además de incrementar el diámetro de los nanotubos respecto a la condición de Etg+2, se logró disolver la película nanoporosa superficial, revelando así la matriz nanotubular de TiO_2 .

Planteamiento del mecanismo de reacción de los diferentes anodizados.

La variación en las morfologías de las capas de TiO_2 se puede explicar en función de las propiedades de los solventes orgánicos, en conjunto con los modelos de disolución química, molde de Burbuja de Oxígeno y de Flujo Plástico.

El tipo de solvente (Glicerol y Etilenglicol) influyó sobre la morfología y dimensiones de los nanoporos/nanotubos. Al iniciar la segunda etapa de anodizado, primeramente, se forma una capa de óxido barrera debajo del patrón de nanoporos [9, 14]. Una vez formada, comienza la formación de embriones (los cuales darán origen a los nanotubos), y la disolución de la capa de TiO_2 . La velocidad de estos procesos pudo haber sido afectada por las propiedades del electrolito [7, 16, 17]. A continuación, se presentan los mecanismos que pudieron haber tenido lugar durante los diferentes tratamientos de anodizado.

Para el anodizado bajo la condición Gli+2, se cree que el espesor de la capa de óxido no llegó a alcanzar el valor crítico a partir del cual se comenzarían a formar las burbujas de oxígeno en su interior, debido a la alta viscosidad del Glicerol (934 cP, a 25°C), la cual ralentiza la movilidad de los iones H^+ , OH^- y de los iones F^- , teniendo, por consiguiente, un efecto “desacelerador” sobre los procesos de disolución química y oxidación; este hecho se explica por la relación de Stokes-Einstein, en la que se describe que la difusión de especies iónicas a través de un

fluido es inversamente proporcional a la viscosidad del fluido [18].

Esta propiedad del solvente también podría explicar la poca diferencia observada en el diámetro de los nanoporos obtenidos bajo las condiciones de Gli+2 (147,59 nm) y de Gli+20 (149,13 nm), puesto que la viscosidad del solvente restringía la acción de los iones H^+ y F^- . En cuanto a la muestra anodizada con el solvente Etilenglicol, para la condición Etg+2, éste posee una menor viscosidad (16 cP, a 25°C) respecto al Glicerol, lo que facilitó el transporte de especies iónicas, y condujo tanto al crecimiento de nuevos nanotubos en el interior de los nanoporos de la superficie metálica como al aumento en el diámetro de los nanoporos de la capa de óxido (alcanzando valores de 176,97 nm).

Cabe destacar que, además de la combinación de solventes orgánicos con altas viscosidades y bajo porcentaje de agua, es posible que el contenido de NH_4F empleado en la solución no haya sido suficiente para disolver completamente las paredes de la capa nanoporosa superficial de las condiciones Gli+20 y Etg+2. Así mismo, este hecho explicaría la poca solubilidad de la capa anódica observada en la condición Gli+2 y que permitió que ésta creciera sobre toda la superficie sin sufrir una disolución química (o una mínima disolución).

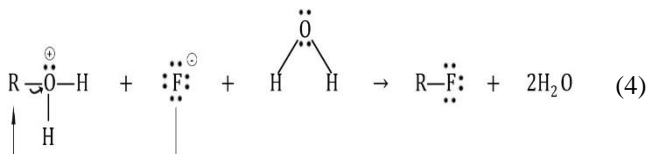
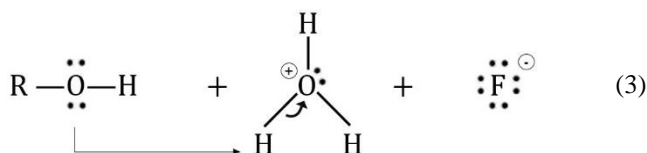
Finalmente, para la condición Etg+20, se presume que el aumento en el contenido de agua en el medio lo hizo más agresivo (disminuyendo la viscosidad) y facilitando el transporte de las especies iónicas. De igual forma, durante el crecimiento de la película nanoestructurada bajo esta condición tuvo lugar el aumento del espesor de la capa de TiO_2 tipo barrera debajo de los nanoporos, seguido del efecto de molde de burbuja para dar lugar a la creación de los nuevos nanotubos mientras que, gradualmente, se iba disolviendo la capa nanoporosa por efecto del ataque químico.

Por otra parte, también es posible que la difusión de iones en este tipo de electrolitos haya sido lenta debido a la naturaleza polialcohólica del Glicerol y del Etilenglicol [19]. A continuación, se presenta el posible mecanismo de

reacción que pudo haber tenido lugar en los dos tipos de electrolitos empleados para la anodización. Primeramente, el NH_4F se disuelve en H_2O , haciendo que el pH de la disolución disminuya un poco (ecuación 2).

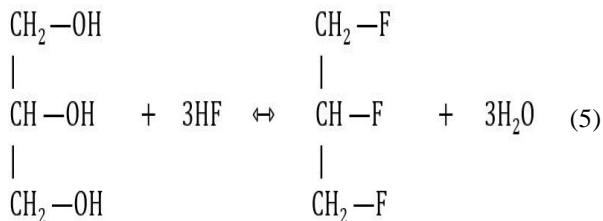


Seguidamente, ocurre la reacción del tipo “sustitución nucleofílica”, en la cual el grupo hidroxilo (OH^- , presente en el solvente orgánico) se protona con el ion hidronio (H^+ , proveniente del HF), el cual es desplazado como H_2O por el ion F^- (ecuaciones 3 y 4).

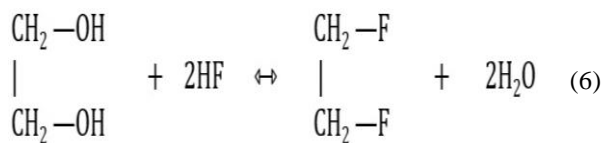


Las ecuaciones (5) y (6) representan las interacciones químicas finales entre las moléculas de Glicerol y de Etilenglicol con iones F^- , respectivamente.

GLICEROL + F^-



ETILENGLICOL + F^-



En base a lo descrito anteriormente, se puede considerar la condición Etg+20 como la condición que cumple con las características y rangos establecidos (película nanotubular, con diámetros entre 30 – 100 nm) para garantizar un proceso de osteointegración efectivo, tal como lo describen los autores [13].

Influencia de la morfología de los nanotubos de TiO_2 sobre la mojabilidad de la superficie.

Con el fin de determinar si existían o no diferencias significativas entre los ángulos de contacto izquierdo y derecho de cada gota, se realizó una prueba T de Student para muestras emparejadas, trabajando con un nivel de confianza del 95%.

Los resultados indicaron que no se encontraron diferencias significativas entre ambos ángulos para cada par de muestras ensayadas bajo las condiciones de Gli+24,5, Gli+2, Gli+20 y Etg+20 ($p > 0,05$); mientras que con el tratamiento Etg+2 solo un par mostró tener diferencias significativas ($p < 0,05$), siendo éste, el par 1.

Las variaciones resultantes entre los ángulos pueden deberse a que, al tratarse de un sistema manual, pueda haber ligeros movimientos o desviaciones de la micropipeta durante la deposición, así como también, por efectos en la asimetría de la aguja y la gota [20]. Considerando que los ángulos pertenecen a la misma gota, se trabajó con la media de ambos ángulos para el análisis e interpretación de los resultados posteriores.

En la tabla 5 se presentan los valores de ángulo de contacto (AC°) de las diferentes condiciones de anodizado.

Tabla 5. Ángulos de contacto (AC°) para cada condición de estudio.

Condición de Estudio	AC°
Gli+24,5	21°
Gli+2	55°
Gli+20	37°
Etg+2	47°
Etg+20	30°

Los resultados presentados en la tabla 5 se obtuvieron luego de haber aplicado una prueba T de Student para muestras independientes, para evaluar si existían o no diferencias significativas entre los ángulos de contacto de cada muestra tratada con diferentes condiciones de anodizado.

De acuerdo con los resultados obtenidos por esta prueba, se obtuvo que las muestras anodizadas bajo las condiciones Gli+24,5; Gli+2 y Etg+20 no mostraron diferencias significativas entre las medias de los ángulos de cada muestra ($p > 0,05$), por lo cual se trabajó con la media de ambas muestras. Por otra parte, las anodizadas bajo las condiciones Gli+20 y Etg+2 sí presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$); en este caso, se seleccionaron aquellas que presentarían la menor desviación estándar.

Como se pudo notar, en la segunda etapa del anodizado mientras mayor es el contenido de agua en la disolución, el ángulo de contacto tiende a disminuir, debido al incremento en el diámetro de los nanotubos; adicionalmente, la formación de espacios intertubulares permitió una fácil penetración del agua a través de la película nanotubular [15]. Este comportamiento se demostró con los valores de ángulo de contacto de los 4 tratamientos de anodizado en dos pasos, destacándose la condición de Etg+20, al ser ésta la que presentó un mejor mojado, seguido de las condiciones Gli+20 y Etg+2. Sin embargo, para la condición de Gli+2, a pesar de haber alcanzado el mayor valor en diámetro (147,59 nm), fue la que presentó el mayor ángulo de contacto (es decir, un carácter menos hidrofílico); es posible que, además del tamaño del diámetro, existan otros aspectos interfiriendo en el mojado de la superficie, como por ejemplo la longitud de las nanoestructuras formadas [21].

Por otra parte, a pesar de que los resultados de ángulo de contacto indican que las superficies anodizadas en uno y dos pasos presentan un comportamiento hidrofílico (ya que $\theta < 90^\circ$), en el caso de las condiciones Gli+2, Gli+20, Etg+2 y Etg+20 (anodizadas en dos pasos), se observa que no hubo una mejora respecto a la condición Gli+24,5

(anodizado en un paso), siendo ésta la que obtuvo el menor ángulo de contacto (21°).

El mojado parcial de las superficies que se observó en las muestras anodizadas en dos pasos describe un comportamiento intermedio entre los estados de Wenzel y Cassie-Baxter [6, 22]

Esta diferencia de mojabilidad entre las muestras anodizadas en uno y en dos pasos también se puede explicar, por una parte, a que existen diferencias en la química de la superficie [13], y, por otra parte, a la fotosensibilidad de la capa de TiO_2 [6, 23]; en este sentido, cuando la superficie de TiO_2 (la cual consiste en puentes de oxígeno) es expuesta a la luz, se crean defectos en la capa de óxido (vacancias de oxígeno), convirtiendo el Ti^{4+} en Ti^{3+} , los cuales reaccionarán con el agua formando grupos con tendencia hidrofílica. No obstante, para el caso de la presente investigación, una vez que las muestras fueron anodizadas en dos pasos, estas se almacenaron en la oscuridad, provocando que los grupos hidroxilo quimisorbidos se reemplazaran con oxígeno del aire.

Efecto de la morfología nanoestructurada de TiO_2 sobre la variación de la energía superficial.

Las propiedades de una superficie como lo son mojabilidad, rugosidad, composición química y energía superficial están relacionadas entre ellas [6]. Aunque las mediciones de mojabilidad suelen ser suficientes, en ocasiones se requiere de un conocimiento cuantitativo de la energía superficial (γ_s), la cual no es más que el resultado directo de las interacciones moleculares entre el líquido y el sólido. En base a ello, se determinó la energía superficial de las 5 condiciones de estudio, aplicando nuevamente el método de gota sécil, utilizando como segundo líquido de ensayo Etilenglicol y empleando la ecuación de Owens-Wendt.

En la tabla 6 se exponen los resultados de la energía superficial de los diferentes tratamientos de anodizado. La energía superficial refleja el estado de desequilibrio entre las interacciones moleculares que ocurren en la interfaz

entre dos superficies (como la interfaz líquido-sólido). Como se puede notar, en la tabla 6 la muestra Gli+24,5 obtuvo el mayor valor de energía superficial, siendo éste de 81,17 mJ/m². Por otra parte, dentro de las muestras anodizadas en dos pasos, las condiciones Etg+20 y Gli+20 fueron las que obtuvieron los valores de energía superficial más alta, alcanzándose los 76,68 mJ/m² y 70,78 mJ/m², respectivamente. Las muestras anodizadas con Etg+2 y Gli+2 obtuvieron los valores más bajos: 58,29 mJ/m² y 45,19 mJ/m², respectivamente. Los resultados de energía superficial concuerdan con los obtenidos en otras investigaciones [6, 10].

Tabla 6. Energía superficial de las diferentes condiciones de estudio.

Condición de Estudio	Energía superficial (mJ/m ²)
Gli+24,5	81,17
Gli+2	45,19
Gli+20	70,78
Etg+2	58,29
Etg+20	76,68

La variación de los resultados obtenidos en la energía superficial se puede deber a la química de la superficie. En este sentido, ésta determina cuáles grupos funcionales están disponibles para la interacción con las biomoléculas; dependiendo del tipo de especies disponibles y de su exposición, las biomoléculas pueden tener diferentes afinidades sobre varias superficies, y al alterar los grupos funcionales presentes en la superficie, se verán afectados la mojabilidad y la energía superficial [24]. En este sentido, durante el anodizado además de formarse el compuesto de TiO₂, se pueden incorporar moléculas de OH⁻ a la capa de óxido (que provengan de los solventes orgánicos utilizados: Glicerol y Etilenglicol) [21]. Tanto este grupo funcional como el compuesto de TiO₂ presentan un carácter polar, los cuales tenderán a reaccionar con el agua (es decir, tendrán afinidad por ella), formando el grupo Ti-OH (estos, a su vez, servirán de puntos de anclaje para los iones calcio, favoreciendo la formación del hueso) [6].

Sin embargo, es evidente la formación de una capa de óxido sobre la superficie del titanio bajo las 5 condiciones de estudio, es por ello que la diferencia de energías superficiales se puede deber, además, por otros aspectos, como lo es la topografía superficial. La modificación superficial a escala nanométrica, particularmente, una película de tipo nanotubular, incrementa los contactos locales entre las células y los implantes, influyendo a su vez en la adhesión y proliferación de los osteoblastos, y en el crecimiento del hueso. De esta manera, la morfología nanotubular de la condición Etg+20 favoreció el aumento en la energía superficial debido al incremento en el área real (esto es considerando el área tanto externa como interna de los nanotubos), en comparación con las condiciones restantes en las que se presume que la capa nanoporosa que se encontraba en la parte superior de los nanotubos actuaba como una barrera ante el mojado de superficies, lo que reducía el área de contacto real del sólido.

Tomando en cuenta que diversos autores han encontrado que las superficies hidrofílicas tienden a mejorar las primeras etapas de adhesión, proliferación, diferenciación y mineralización celular (en comparación con las superficies hidrofóbicas) [24], se puede considerar que dentro de los anodizados en dos pasos, la muestra Etg+20 es la condición adecuada para aplicaciones biomédicas debido a que presentó el mayor valor de energía superficial ($\gamma = 76,68$ mJ/m²), lo cual fue evidente al haber alcanzado el menor valor de ángulo de contacto (30°, presentando un carácter más hidrofílico), atribuido a su morfología nanotubular (sin la presencia de una capa porosa sobre la superficie que interfiera en el mojado de superficie), así como también, por ser sido la muestra que presentó el mayor valor de diámetro ($D_i = 97,26$ nm).

CONCLUSIONES

Los parámetros operativos para la segunda etapa del anodizado en dos pasos se fijaron en 1 hora, 30 V y 0,35% de NH₄F, empleándose como solventes orgánicos: Glicerol y Etilenglicol, con porcentajes de agua de 2 y 20%.

Se obtuvieron películas nanoporosas y nanotubulares de TiO₂, cuyos diámetros internos variaron entre 46,59 - 176,97 nm. Estas morfologías se atribuyen a la diferencia de viscosidad de los solventes y a la naturaleza polialcohólica del Glicerol y del Etilenglicol, inhibiendo así la acción por parte de los iones F⁻. Adicionalmente, el aumento en el contenido de agua es directamente proporcional al diámetro de los nanoporos y nanotubos, ya que se favorece la movilidad de las especies iónicas en la solución.

La modificación de la capa nanoestructurada de TiO₂ mediante el anodizado en dos pasos y la variación en la composición del electrolito, condujo a la obtención de valores de ángulo de contacto de 55°, 37°, 47° y 30° para las condiciones Gli+2, Gli+20, Etg+2 y Etg+20, respectivamente; mientras que, para la muestra Gli+24,5 (anodizado en un paso), alcanzó el valor de 21°. El mojado parcial en las muestras anodizadas en la segunda etapa se explica por la diferencia en la química de la superficie y la hidrofobicidad inducida de las muestras tras ser almacenadas en la oscuridad luego del anodizado.

En los anodizados en dos pasos, se obtuvieron valores de energía superficial de 76,68 mJ/m², 70,78 mJ/m², 58,29 mJ/m² y 45,19 mJ/m², para las condiciones Etg+20, Gli+20, Etg+2 y Gli+2, respectivamente. Y para la muestra anodizada en un paso se obtuvo un valor de 81,17 mJ/m² (condición Gli+24,5). La variación en los parámetros de anodizado tiene un efecto sobre la morfología de la película nanoporosa/nanotubular, influyendo sobre la respuesta de los líquidos que se depositan sobre la superficie, así como también, sobre la energía superficial al incorporar grupos y compuestos polares, e incrementando el área de contacto real.

La muestra que se espera que tenga un mejor comportamiento para la adhesión y proliferación celular, es la tratada bajo la condición Etg+20, anodizada con Etilenglicol + 0,35% NH₄F + 20% H₂O, ya que para ésta se alcanzó el menor ángulo de contacto, y, por consiguiente, el mayor valor de energía superficial, lo cual pudo deberse

a la morfología nanotubular (sin la presencia de una capa nanoporosa en la parte superior de los nanotubos) y al diámetro final de las nanoestructuras.

REFERENCIAS

- [1] Su P., Justin D.F., Pratt C.R., Sarin V.K., Nguyen V.S., Oh S., Jin S. (2018) "Effects of titanium nanotubes on the osseointegration, cell differentiation, mineralisation and antibacterial properties of orthopaedic implant surfaces" *The Bone & Joint Journal* 100-B(1):9-16.
- [2] Fu Y., Mo A. (2018) "A Review on the Electrochemically Self-organized Titania Nanotube Arrays: Synthesis, Modifications, and Biomedical Applications" *Nanoscale Res Lett* 13(187):1-21.
- [3] Le P.H., Leu J. (2016) "Recent Advances in TiO₂ Nanotube-Based Materials for Photocatalytic Applications Designed by Anodic Oxidation", En *Titanium Dioxide - Material for Sustainable Environment*, Yang D. (Ed.), Malasia, Pearson, pp. 131-150.
- [4] Gulati K., Aw M.S., Findlay D., Losic D. (2012) "Local drug delivery to the bone by drug-release implants: perspectives of nano-engineered titania nanotube arrays" *Therapeutic Delivery* 3(7):857-873.
- [5] Ali G., Chen C., Yoo S.H., Kum J.M., Cho S.O. (2011) "Fabrication of complete titania nanoporous structures via electrochemical anodization of Ti" *Nanoscale Res Lett* 6(332).
- [6] Lario J., Fombuena V., Segovia F., Amigó V. (2018) "Influencia de la morfología nanotubular en la mojabilidad y ángulo de contacto de las aleaciones Ti6Al4V ELI" *Rev Metal* 54(4):130.
- [7] Niu D., Han A., Cheng H., Ma S., Tian M., Liu L. (2019) "Effects of organic solvents in anodization electrolytes on the morphology and tube-to-tube spacing of TiO₂ nanotubes" *Chem Phys Lett* 735.

- [8] Jin R., Fan H., Liu Y., Ma W., Lu H., Yang P., Ma W. (2016) "Formation Mechanism of Lotus-root-shaped Nanostructured during Two-step Anodization" *Electrochimica Acta* 188:421-427.
- [9] Yan S., Chen Y., Wang Z., Han A., Shan Z., Yang X., Zhu X. (2017) "Essential distinction between one-step anodization and two-step anodization of Ti" *Mater Res Bull* 95:444-450.
- [10] Qadir M., Lin J., Biesiekierski A., Li Y., Wen C. (2020) "Effect of anodized TiO₂Nb₂O₅-ZrO₂ nanotubes with different nanoscale dimensions on the biocompatibility of Ti35Zr28Nb alloy" *ACS Appl Mater Interface* 12(5):6776-6787.
- [11] Correia M. (2019) "Efecto del voltaje y electrolito en la morfología y comportamiento a la corrosión de capas nanoestructuradas de TiO₂ en sustratos de Ti6Al4V para uso biomédico" (Trabajo de Grado). Departamento de Ingeniería Metalúrgica, Universidad Nacional Experimental Politécnica "Antonio José de Sucre", Puerto Ordaz, Venezuela.
- [12] Napoli G., Zitelli C., Corapi D., Di Schino A. (2018) "Titanium Alloys Anodic Oxidation: Effect of Experimental Parameters on Surface Colouring" *Mater Sci Forum* 941:730-734.
- [13] Mansoorianfar M., Tavooosi M., Mozafarinia R., Ghasemi A., Doostmohammadi A. (2017) "Preparation and characterization of TiO₂ nanotube arrays on Ti6Al4V surface for enhancement of cell treatment" *Surf Coat Technol* 321:409-415.
- [14] Yu D., Song Y., Zhu X., Yang R., Han A. (2013) "Morphological evolution of TiO₂ nanotube arrays with lotus-root-shaped nanostructure" *Appl Surf Sci* 276:711-716.
- [15] Simi V.S., Rajendran N. (2017) "Influence of tunable diameter on the electrochemical behavior and antibacterial activity of titania nanotube arrays for biomedical applications" *Mater Charact* 129:67-79.
- [16] Albu S.P. (2012) "Morphology and Growth of Titania Nanotubes. Nanostructuring and Applications" (Tesis Doctoral). Universidad de Erlangen-Núremberg, Alemania.
- [17] Indira K., Kamachi U., Nishimura T., Rajendran N. (2015) "A Review on TiO₂ Nanotubes: Influence of Anodization Parameters, Formation Mechanism, Properties, Corrosion Behavior, and Biomedical Applications" *Journal of Bio- and Tribo-Corrosion* 1(4).
- [18] Mateus H. (2017) "Cinética del crecimiento de nanoestructuras de TiO₂ mediante procesos de anodización usando EG: Estudio de la Estructura y Estabilidad Térmica" (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- [19] Yurkanis Bruce P. (2016) *Essential Organic Chemistry* (3^o ed.). Malasia, Pearson, pp. 334.
- [20] Milne P. (2015) "Evaluación del efecto de la topografía superficial sobre la mojabilidad de la aleación Ti6Al4V-ELI empleando el método de la gota sésil" (Trabajo de Grado). Departamento de Ingeniería Metalúrgica, Universidad Nacional Experimental Politécnica "Antonio José de Sucre", Puerto Ordaz, Venezuela.
- [21] Torres-Ávila I.P., Padilla-Martínez I.L., Pérez-Hernández N., Bañuelos-Hernández A.E., Velázquez J.C., Castrejón-Flores J.L., Hernández-Sánchez E. (2020) "Surface Modification of the Ti-6Al-4V Alloy by Anodic Oxidation and its Effects on Osteoarticular Cell Proliferation" *Coatings* 10(5).
- [22] Kulkarni M., Patil-Sen Y., Junkar L., Kulkarni C., Lorenzetti M., Iglie A. (2015) "Wettability studies of topologically distinct titanium surfaces" *Colloids Surf B* 129:47-53.
- [23] Taleb S., Darmanin T., Guittard F. (2018) "Switchable and Reversible Superhydrophobic Surfaces: Part One", En *Interdisciplinary Expansions*

in Engineering and Design With the Power of Biomimicry, Kakturk G. y Altun D., Eds., pp. 123-158.

- [24] Nouri A., Wen C. (2015) "Introduction to Surface coating and modification for metallic biomaterials", En *Surface Coating and Modification of Metallic Biomaterials*, Wen C., Ed., Woodhead Publishing, pp. 3-60.