UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE ENGENHARIA - CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA

CURSO DE ENGENHARIA MECÂNICA

ARTUR VERDEROSI DO PRADO

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS PRODUZIDOS POR IMPRESSÃO 3D ADAPTADA PARA BIOMATERIAIS COM POTENCIAL APLICAÇÃO NA ÁREA DA SAÚDE

ILHA SOLTEIRA - SP
Junho de 2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA - CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA
CURSO DE ENGENHARIA MECÂNICA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS PRODUZIDOS POR IMPRESSÃO 3D ADAPTADA PARA BIOMATERIAIS COM POTENCIAL APLICAÇÃO NA ÁREA DA SAÚDE

ARTUR VERDEROSI DO PRADO

Orientador: Prof. Dr. Fauze Ahmad Aouada

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Mecânica da Faculdade de Engenharia do Câmpus de Ilha Solteira - UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Engenheiro Mecânico.

ILHA SOLTEIRA - SP
Junho de 2026

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

P896d

Prado, Artur Verderosi do.
Desenvolvimento e caracterização de hidrogéis produzidos por impressão 3D adaptada para biomateriais com potencial aplicação na área da saúde / Artur Verderosi Do Prado. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2026
52 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia Mecânica) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Engenharia, Ilha Solteira, 2026

Orientador: Fauze Ahmad Aouada

Inclui bibliografia

1. Alginato. 2. Bioimpressão. 3. Compósitos. 4. Hidroxiapatita. 5. Regeneração óssea.

Sandra Montibeller - CRB-8/060

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Ilha Solteira

Curso de Graduação
em Engenharia
Mecânica

ATA DE DEFESA

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" FACULDADE DE ENGENHARIA – CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA

CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA

TRABALHO DE GRADUAÇÃO

TÍTULO: Desenvolvimento e caracterização de hidrogéis produzidos por impressão 3D adaptada para biomateriais com potencial aplicação na área da saúde

ALUNO: Artur Verderosi do Prado RA: 202052877

Orientador: Prof. Dr. Fauze Ahmad Aouada

Aprovado (X) – Reprovado ( ) pela Comissão Examinadora

Nota obtida: 9,5

Comissão Examinadora:

Fauze Aouada...
Prof. Dr. Fauze Ahmad Aouada
Presidente (Orientador)

Rafaela P. dos Anjos
Ms. Rafaela Prediger dos Anjos

Fabrício Cerizza Tanaka
Prof. Dr. Fabrício Cerizza Tanaka

Artur Verderosi do Prado
Assinatura do Aluno

Ilha Solteira (SP) 26 de maio de 2026

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho de conclusão de curso a todos os meus familiares, amigos e a minha namorada, que estiveram ao meu lado durante essa jornada acadêmica, sempre me apoiando e incentivando a seguir em frente. Dedico também aos meus professores e orientadores, que compartilharam seus conhecimentos e experiências, contribuindo para o meu crescimento pessoal e profissional. Este trabalho é fruto do esforço e dedicação de todos aqueles que acreditaram em mim. Muito obrigado!

AGRADECIMENTOS

Quero expressar minha sincera gratidão à minha mãe Rosana, ao meu pai Janio, aos meus irmãos, aos meus avós e a minha namorada por todo apoio e incentivo ao longo do tempo. Agradeço a Deus pela oportunidade de realizar a faculdade e concluir este trabalho de conclusão.

Também quero agradecer à Faculdade de Engenharia da Unesp de Ilha Solteira (FEIS - UNESP), ao seu corpo docente e à estrutura que me proporcionaram o conhecimento necessário para esta pesquisa. Um agradecimento especial ao meu orientador Prof. Dr. Fauze Ahmad Aouada, à Profa. Dra. Marcia Regina de Moura Aouada, ao Prof. Dr. Ruís Camargo Tokimatsu e ao Dr. Bruno Crepaldi Alves por todo apoio e orientação ao longo de 3 anos de pesquisa. Agradeço também ao Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (CGNH) por permitir que eu aprendesse tanto nessa área.

Aos meus amigos da faculdade, que agora fazem parte da minha vida, meu eterno agradecimento, em especial ao meu amigo Guilherme.

E agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, ao CNPq e à Prope-UNESP pela concessão das bolsas de iniciação científica.

RESUMO

A busca por maior longevidade e qualidade de vida impulsiona o desenvolvimento de alternativas para o reparo de tecidos vivos danificados. Nesse contexto, destacam-se os biomateriais, especialmente os hidrogéis, polímeros hidrofílicos obtidos a partir de fontes naturais e renováveis. Estes possuem aspectos cruciais para o segmento em questão, essencialmente quando combinados a reforços poliméricos ou de outras classes de materiais, procedendo na formação de compósitos capazes de serem utilizados na engenharia de tecidos. O trabalho almejou a confecção de *scaffolds*, baseados em uma matriz de alginato de sódio (AS) contendo hidroxiapatita (HA), vislumbrando aplicabilidade na regeneração de tecidos, através da impressão 3D. Este é um processo favorável à fabricação de matrizes teciduais. A priori, foram aperfeiçoados os fundamentos de impressão, bem como a concentração de AS e de HA, chegando em ambas as concentrações otimizadas de 10% (m/v). Depois da padronização, os *scaffolds* foram produzidos utilizando uma impressora 3D, cujos parâmetros de impressão foram bem definidos. Após as impressões, tornou-se necessária a inserção, por 24h, das amostras à temperatura ambiente, em recipientes contendo 1,0% (m/v) de cloretos de Ca^{2+}, Fe^{2+}, Mg^{2+} ou Cu^{2+}, apresentando boa reprodutibilidade quando imersos em cloreto de cálcio. Em relação às propriedades hidrofílicas, verificou-se que a matriz de alginato de cálcio, em água deionizada e em diferentes valores de pH (2, 4, 5, 6, 8 e 10), sofre reticulação física por íons Ca^{2+} e HA, sendo dependente do pH, atingindo o estado de equilíbrio em apenas 30 minutos ($Q \approx 112$ % para os *scaffolds* de alginato de cálcio puro e $Q \approx 53$ % para os *scaffolds* contendo HA). Ademais, as observações espectroscópicas confirmam a incorporação de HA na matriz polimérica. Em relação às propriedades mecânicas, a incorporação de HA promoveu um discreto aumento na rigidez, resistência e tenacidade (aproximadamente 0,3 para 0,5 MJ/m^3) e módulo de Young (de aproximadamente 0,014 para 0,020 MPa) e da tensão de ruptura (de 0,06 para 0,08 MPa) dos *scaffolds*. Além de redução da elongação máxima na ruptura (cerca de 470 para 410%). As técnicas de DRX e MEV-EDX confirmaram a incorporação da HA, evidenciada pelo aumento da cristalinidade dos compósitos, mudança das propriedades morfológicas superficiais e presença de fósforo (P). Os resultados indicam que os *scaffolds* estudados têm potencialidade de aplicação em regeneração óssea.

Palavras-chaves: alginato, bioimpressão, compósitos, hidroxiapatita, regeneração óssea.

ABSTRACT

The pursuit of greater longevity and improved quality of life has driven the development of innovative strategies for repairing damaged living tissues. In this context, biomaterials, particularly hydrogels, have attracted significant attention due to their hydrophilic nature and their potential to be derived from natural and renewable sources. These have crucial aspects for this segment, essentially when combined with polymeric reinforcements or other classes of materials, proceeding in the formation of composites capable of being used in tissue engineering. This work aimed at the fabrication of scaffolds, based on a sodium alginate (AS) matrix containing hydroxyapatite (HA), envisioning applicability in tissue regeneration through 3D printing. This is a favorable process for the fabrication of tissue matrices. Initially, the fundamentals of printing were improved, as well as the concentration of AS and HA, reaching optimized concentrations of 10% (w/v) for both. After standardization, the scaffolds were produced using a 3D printer, whose printing parameters were well defined. After printing, it was necessary to immerse the samples at room temperature for 24 hours in containers containing 1.0% (w/v) of Ca^{2+}, Fe^{2+}, Mg^{2+}, or Cu^{2+} chlorides, showing good reproducibility when immersed in calcium chloride. Regarding hydrophilic properties, it was found that the calcium alginate matrix, in deionized water and at different pH values (2, 4, 5, 6, 8, and 10), undergoes physical crosslinking by Ca^{2+} and HA ions, being pH-dependent, reaching equilibrium in only 30 minutes ($Q \approx 112$ % for pure calcium alginate *scaffolds* and $Q \approx 53$ % for *scaffolds* with HA). Furthermore, spectroscopic observations confirm the incorporation of HA into the AS matrix. The incorporation of HA promoted a slight increase in the stiffness, strength, and toughness (from 0.3 to 0.5 MJ/m^3) and Young's modulus (approximately 0.014 to 0.02 MPa) and tensile strength (around 0.06 to 0.08 MPa), as well as a reduction in deformation (approximately 470 to 410%) of the *scaffolds*. XRD and SEM-EDX techniques confirmed the incorporation of HA, evidenced by the increased crystallinity of the composites, alteration of the surface morphological properties and by the presence of phosphorus (P). The results indicate that the scaffolds studied have potential applications in bone regeneration.

Keywords: alginate, bioprinting, composites, hydroxyapatite, bone regeneration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química do polissacarídeo AS.....06

Figura 2: Estrutura cristalina da HA.....08

Figura 3: Fotografia digital de uma solução de AS em água deionizada.....13

Figura 4: Fotografia digital de uma solução de AS e HA em água deionizada.....13

Figura 5: Modelo do *scaffold* fatiado através do UltiMaker Cura 5.5.0.....15

Figura 6: Fotografia digital de uma impressora modificada para impressão 3D.....15

Figura 7: Processo de reticulação com $CaCl_2$ (**A**), $FeCl_2$ (**B**), $MgCl_2$ (**C**) e $CuCl_2$ (**D**).....18

Figura 8: Fotografia digital indicando a comparação entre os diâmetros dos *scaffolds* secos e intumescidos.....19

Figura 9: Dependência do grau de intumescimento em função do tempo para os *scaffolds* de AS e AS com HA, ambos reticulados com íons Ca^{2+}.....20

Figura 10: Dependência do grau de intumescimento no equilíbrio em função do ciclo de intumescimento para os *scaffolds* de AS e AS com HA, ambos reticulados em Ca^{2+}.....21

Figura 11: a) Dependência do grau de intumescimento em função do pH das soluções de intumescimento para os diferentes *scaffolds* estudados. b) fotografia digital dos hidrogéis intumescidos no estado de equilíbrio em diferentes pHs (superior: *scaffold* de AS puro; inferior: *scaffold* de AS com HA). Os valores de pH da solução de intumescimento aumentam da esquerda para direita, conforme indicado na Figura.....22

Figura 12: Espectros de FTIR referentes ao alginato (AS), hidroxiapatita (HA) e seus compósitos com 2,5, 5,0 e 10,0 % (m/v) de HA.....24

Figura 13: Difratogramas de raios-x do *scaffold* de AS puro, da HA pura em pó e do *scaffold* de AS com HA.....26

Figura 14: Micrografia eletrônica, obtida por MEV, referente aos *scaffolds* de AS.....27

Figura 15: Micrografia eletrônica, obtida por MEV, referente à HA pura.....28

Figura 16: Micrografia eletrônica, obtida por MEV, referente aos *scaffolds* de AS-HA.....29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros da impressão 3D.....14

Tabela 2: Comparação das propriedades mecânicas obtidas para *scaffolds* com AC e com AC associado à HA, intumescidos em água.....25

Tabela 3: Percentuais dos elementos químicos encontrados nas superfícies analisadas.....30

LISTA DE ABREVIAÇÕES

3D: Tridimensional

AC: Alginato de cálcio

AS: Alginato de sódio

COO^-: Grupo carboxilato

COOH: Grupo carboxila

DRX: Difração de raios-x

EDX: Espectroscopia de Dispersão de energia de raios-X

HA: Hidroxiapatita

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

pH: Potencial hidrogeniônico

RBT: Registro Brasileiro de Transplantes

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO……..…..……..…01

2. JUSTIFICATIVAS……..…..…….....……..03

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA……....…….…….....……..04

3.1. BIOMATERIAIS E ENGENHARIA TECIDUAL…….....….....……04

3.2. ALGINATO DE SÓDIO (AS)……..…….....06

3.3. HIDROXIAPATITA (HA)…….....…..…..…….....07

3.4. HIDROGÉIS.....09

3.5. IMPRESSÃO 3D DE BIOMATERIAIS.....10

4. OBJETIVOS……...…….…..…….…11

4.1. OBJETIVO GERAL….....…….....….....……11

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS……..…….....11

5. MATERIAIS E MÉTODOS……...…….…….....…12

5.1. MATERIAIS……..…….....12

5.2. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DE IMPRESSÃO…….....12

5.3. GRAU DE INTUMESCIMENTO.……..….....….....…….....…16

5.4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....….…….....…16

5.5. ENSAIO DE TRAÇÃO.....…..…….....….....16

5.6. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)……...……...……...…….....…16

5.7. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E ESPECTROSCOPIA DE DISPERSÃO DE ENERGIA DE RAIOS-X (EDX)….....….17

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO……...…….……...……...…….....…..17

6.1. ESTRUTURA FÍSICA…….....….....…….....……...……...…….....…17

6.2. GRAU DE INTUMESCIMENTO...…..…….....….....….…19

6.3. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....….…….....…23

6.4. PROPRIEDADES MECÂNICAS DE TRAÇÃO...…..…….....….....….…24

6.5. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)……...……...……...…….....….25

6.6. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E ESPECTROSCOPIA DE DISPERSÃO DE ENERGIA DE RAIOS-X (EDX)….....….27

7. CONCLUSÕES……....…..…….....…30

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS……....……..…….....…..…31

Anexos.....34

1. INTRODUÇÃO

A manufatura aditiva, também denominada de impressão 3D, originou diversas técnicas de biofabricação, principalmente na última década, na qual obteve maiores avanços. Tendo em vista a possibilidade do uso de diversos materiais, seleção de células para fabricação de bioestruturas e munido do conceito de manufatura aditiva, o termo biofabricação passou a ser frequentemente associado à bioimpressão (VAZ, 2021).

As técnicas de manufatura aditiva vêm gerando crescente interesse, por conta de suas principais características: queda do custo de produção, expansão do conhecimento e das possibilidades de aplicações. Na área da saúde, essa tecnologia é considerada revolucionária, podendo ser utilizada em diversas situações, como a bioimpressão de órgãos e tecidos, desenvolvimento de próteses personalizadas, implantes, modelos anatômicos e até mesmo em pesquisas farmacêuticas que envolvem triagem de princípios ativos (OLEKSY, DYNAROWICZ e AEBISHER, 2023; RANDAZZO *et al.*, 2016; SCHUBERT, LANGEVELD, VAN e DONOSO, 2014). Mesmo com muitas possibilidades de aplicação, a bioimpressão 3D é comumente vinculada ao transplante de órgãos. Este é o único tratamento para o estágio final da falência de órgãos, como coração e fígado.

A bioimpressão 3D deriva da impressão 3D, que consiste em formar objetos a partir da deposição e sobreposição de múltiplas camadas, podendo ser realizadas a base de polímeros, metais, cerâmicas, líquidos e até mesmo células (SCHUBERT *et al.*, 2014). Por sua vez, a saúde dos ossos influencia diretamente a qualidade de vida e diversos fatores vêm aumentando a demanda da reparação osteocondral, que é um defeito na cartilagem de uma articulação e no osso subjacente. Dentre os fatores, destacam-se os danos relacionados ao crescente número de lesões esportivas, traumas de acidentes, patologias congênitas e não congênitas (SEOL, *et al.*, 2013).

O tecido ósseo pode se recuperar naturalmente quando ocorrem fraturas milimétricas. Entretanto, para extensões maiores, o reparo espontâneo não recupera a forma ou funcionalidade natural do osso. Os enxertos ósseos têm sido, tradicionalmente, realizados por meio de transplantes de tecidos ósseos. No entanto, há vários problemas na utilização, tanto de aloenxertos (transplante entre indivíduos geneticamente diferentes, de uma mesma espécie) quanto autoenxertos (material retirado do próprio corpo do paciente), incluindo infecções e respostas imune patogênicas para o primeiro caso e a

morbidade do sítio doador e a quantidade limitada de tecido ósseo utilizável para o segundo caso (VURAL, *et al*., 2024).

A engenharia de tecidos surge como promissora alternativa em casos de perda óssea, superando problemas de rejeição e escassez de doadores. Combinando estruturas 3D, os *scaffolds*, células e materiais com alta propriedade hidrofílica, que mimetizam o ambiente aquoso vivo, a engenharia de tecidos busca soluções duradouras e funcionais para regeneração óssea. Hidrogéis vêm sendo amplamente estudados como matrizes 3D por serem sistemas promissores para cura e regeneração de tecidos danificados, justamente por serem altamente permeáveis e facilitar o transporte de nutrientes e metabólitos (PAYANDEHJOO; KWOK, 2023).

Os polissacarídeos são estruturas muito versáteis, permitindo o carregamento de moléculas sinalizadoras (fatores de crescimento, biomoduladores, medicamentos, etc.) e uma interação com componentes inorgânicos. Dentre eles, o alginato de sódio (AS) é um polissacarídeo natural, biocompatível, extraído de algas marinhas, injetável e biodegradável, sendo composto pelos meros β-D-manuronato e α-L-guluronato, e conhecido por formar géis na presença de cátions bivalentes. Dadas essas características, esse polímero tem sido amplamente utilizado como carreadores de fármacos e fatores de crescimento, encapsulamento celular, e como *scaffolds* em aplicações na engenharia de tecidos. No entanto, este polissacarídeo apresenta limitações para aplicação como tecido ósseo, como ausência de sítios de ligação celular ou interações com o tecido receptor, limitando sua funcionalidade a longo prazo. Estas são prejudicadas, tanto pela desintegração na implantação desses hidrogéis, quanto pelas baixas propriedades biomecânicas. A hidroxiapatita (HA) é comumente utilizada na regeneração de tecido ósseo, devido a sua similaridade química com o componente inorgânico da matriz óssea e por apresentar biocompatibilidade, osteoindução, osteocondução e osteointegração. Portanto, seu uso pode contribuir para superar algumas das limitações apresentadas pelo AS (SOUSA, *et al.*, 2025; FATEMA, 2025; SEZEN, 2025).

Como mencionado anteriormente, o uso da impressão 3D em engenharia de tecido é promissor, sendo uma metodologia que auxilia na regeneração óssea, mimetizando as propriedades do osso mineral, fornecendo a construção óssea e proporcionando orientações de crescimento tecidual. Para uma regeneração óssea bem-sucedida, as matrizes devem estar totalmente interconectadas, capazes de degradar de forma controlada, apresentando aumento na difusão de oxigênio e transporte de nutrientes, além de promover às células fixação, proliferação e formação tecidual (ALVES, 2024). Em

muitas aplicações clínicas, onde há suporte de carga, a integridade estrutural é de suma importância para a regeneração tecidual.

A relevância deste estudo está em desenvolver soluções precursoras de AS, reforçadas com HA, e utilizar impressão 3D na tentativa de sintetizar *scaffolds* que possuam propriedades adequadas para uso em reparações teciduais ósseas. Pretende-se entender a influência da quantidade de HA como reforço na matriz de alginato de cálcio (AC). Esse projeto visa também estudar os íons Ca^{+2}, Fe^{+2}, Mg^{+2} e Cu^{+2} como agentes reticuladores, possibilitando a comparação entre eles, almejando-se o entendimento e controle das diferentes propriedades estudadas. Com isso, acredita-se que esse Trabalho de Graduação possa contribuir para a área de conhecimento inerente ao mesmo.

2. JUSTIFICATIVAS

A justificativa para este trabalho se baseia na possibilidade de contribuir para o avanço científico na área da saúde. Espera-se compreender como a quantidade de HA e tipo de reticulador podem influenciar nas propriedades físico-químicas de *scaffolds* com potencialidade de aplicação em regenerações teciduais. O grupo de pesquisa vem desenvolvendo trabalhos relacionados ao desenvolvimento de metodologias para obtenção de soluções precursoras, baseadas em diferentes polissacarídeos, com propriedades adequadas para bioimpressão 3D para diferentes aplicações, dentre elas, as voltadas para a área médica.

Os resultados têm demonstrado que estes *scaffolds* tem propriedades físico-químicas e tecnológicas inovadoras, que nos motiva a continuar esta investigação, visando sua aplicação. Esta linha de pesquisa está intimamente ligada às áreas prioritárias definidas pelo MCTI (Portaria MCTIC nº 1.122/2020, com texto alterado pela Portaria MCTIC nº 1.329/2020), mais especificamente na área de Tecnologia para Qualidade de Vida (Saúde), sobrepondo com o setor de Biotecnologia dentro de Tecnologias Habilitadoras. Em relação aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, preconizados pela ONU, este trabalho está diretamente relacionado ao Objetivo 3 (Boa Saúde e Bem-Estar).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. BIOMATERIAIS E ENGENHARIA TECIDUAL

Ferimentos, lesões e condições de saúde adquiridas ou inatas são os principais fatores responsáveis por causar danos ou deficiências em tecidos e órgãos. Devido à atual carência de órgãos disponíveis para transplante, estão sendo exploradas novas soluções, com o intuito de reduzir a crescente lista de espera de pacientes. A área que se destaca como tendo grande potencial de diferenciação é a medicina regenerativa, um campo que resulta da combinação da biologia das células-tronco, terapias celulares, terapia genética, transplante de órgãos, biomateriais e engenharia de tecidos (DAAR, 2013).

Além disso, material biológico deve apresentar biocompatibilidade, isto é, manifestar uma resposta apropriada a sua aplicação, manter-se biologicamente estável, ser passível de esterilização, desprovido de toxicidade, inflamação ou propriedades carcinogênicas, e exibir características mecânicas compatíveis com a sua finalidade. É viável categorizar esses materiais em duas principais classes: naturais (como fibras proteicas e polissacarídeos) e artificiais (tais como metais, cerâmicas e polímeros). Ainda, podem ser classificados como materiais absorvíveis ou temporários (por exemplo, suturas e enxertos) e estáveis ou permanentes (como válvulas cardíacas, próteses de articulações e implantes ósseos metálicos) (RATNER *et al.*, 2013).

Desde o final do século passado, pesquisas dentro da área de materiais biológicos têm demonstrado grande potencial para oferecer alternativas mais viáveis aos procedimentos cirúrgicos, relacionados a tecidos, implantes e próteses. Nesse contexto, os biomateriais desempenham um papel crucial. Na engenharia de tecidos, células são cultivadas em ambientes controlados e, posteriormente, inseridas em uma estrutura sintética (conhecida como matriz suporte), que é, depois, implantada no paciente. O objetivo da engenharia de tecidos é estimular o desenvolvimento de um tecido saudável, à medida que a matriz de suporte se decompõe, permitindo a formação gradual de novo tecido (PIRES, BIERHALZ e MORAES, 2015).

Scaffolds são definidos como estruturas 3D com a finalidade de atuar como suporte para o crescimento das células e a regeneração dos tecidos (SULTANA, COLE e STRACHAN, 2024). Este deve cumprir as necessidades mecânicas do tecido em que é implantado, facilitar a adesão e multiplicação das células, possuir uma taxa de degradação compatível com a formação de novos tecidos, e seus produtos de degradação não devem

ser prejudiciais ou desencadear respostas inflamatórias tóxicas. A porosidade é um aspecto fundamental a ser considerado. O tamanho ideal dos poros está diretamente relacionado ao tamanho das células, que varia de acordo com o tipo celular e a aplicação específica. Além disso, a rigidez do material utilizado no *scaffold* também deve ser avaliada. No caso de polímeros, por exemplo, a estrutura do *scaffold* é mais flexível, permitindo que as células atravessem, mesmo com poros de menor tamanho. Quando implantado com as células, o *scaffold* passa a ser denominado de "*construct*" ou dispositivo (ALVES, 2024).

Os biopolímeros são amplamente disponíveis na natureza e seus produtos resultantes da degradação são compatíveis com organismos vivos e não causam toxicidade, tornando-os seguros para a criação de biomateriais. Além disso, eles são economicamente viáveis e podem ser obtidos, a partir de fontes renováveis (ALVES, 2024). Na medicina regenerativa, esses materiais têm diversas aplicações, como no tratamento de lesões cutâneas e na administração controlada de substâncias medicamentosas, entre outras. Isso se deve a sua capacidade de se decompor naturalmente, ser bem tolerado pelo corpo, possuir semelhanças com a estrutura extracelular e promover a cicatrização de feridas. Outrossim, os polímeros naturais contêm grupos funcionais, como amina, carboxila e hidroxila, que podem ser facilmente modificados por meio de processos químicos (como hidrólise, oxidação, redução, esterificação, ligação cruzada etc.) e enzimáticos. Isso permite a interação com outras moléculas, levando à produção de uma ampla variedade de produtos com propriedades personalizáveis. Um exemplo relevante de polímero natural na área médica é o AS, um polissacarídeo linear de elevada massa molecular, obtido principalmente a partir das paredes celulares de várias espécies de algas marinhas pardas (PIRES, BIERHALZ e MORAES, 2015).

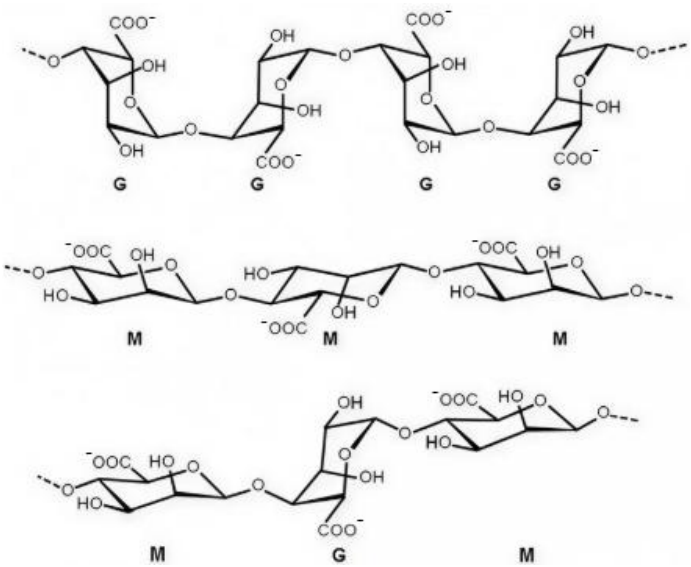
Materiais cerâmicos, tais como HA, vidros que promovem bioatividade e fosfato tri cálcico, têm sido amplamente empregados na área médica, especialmente para promover a restauração de ossos. Estes materiais exibem compatibilidade com tecidos vivos e capacidade de condução de crescimento ósseo, devido a sua semelhança estrutural com a parte mineral dos ossos. Adicionalmente, os íons cálcio, liberados pelas estruturas cerâmicas, estimulam a mineralização das células formadoras de osso (osteoblastos) e contribuem para a regeneração do tecido ósseo. Contudo, a fragilidade inerente a esses materiais torna desafiadora a sua adaptação na produção de implantes, o que limita a sua utilização (LI *et al.*, 2023; SEOL, *et al.*, 2013).

O uso de compósitos surge como um método que possibilita aproveitar as propriedades, tanto do polímero, quanto da cerâmica, visando obter materiais com alta rigidez e alta tenacidade. Tais compósitos podem possuir matriz cerâmica ou polimérica, desde que apresentem poros para atender os requisitos biológicos para regeneração tecidual (PEROGLIO, 2007).

3.2. ALGINATO DE SÓDIO (AS)

É um polissacarídeo, obtido a partir de algas marrons da classe *Phaeophyceae*, bem como de bactérias *Pseudomonas* e *Azotobacter*. Ele constitui um copolímero composto por cadeias lineares, que incluem segmentos rígidos e flexíveis. Estas cadeias lineares consistem em unidades monossacarídicas de ácido β-D-manurônico (conhecido como bloco M) e α-L-gulurônico (referido como bloco G), que se encontram conectadas por ligações glicosídicas do tipo α (ver Figura 1). A cadeia polimérica do AS pode ser constituída exclusivamente pelo bloco M, somente pelo bloco G ou por uma combinação de ambos (FERNANDES, 2020).

Figura 1. Estrutura química do polissacarídeo AS.



Fonte: (LEE e MONEY, 2012)

Além das características mencionadas anteriormente, o AS é reconhecido por ser não tóxico e biocompatível, desde que utilizado em concentrações adequadas. Em concentrações elevadas, entretanto, pode apresentar toxicidade celular, evidenciando a importância da realização de testes de citotoxicidade. O material também se destaca por

sua resistência a altas temperaturas e por possuir custo relativamente acessível. Ademais, os grupos funcionais hidroxila e carboxila presentes em sua estrutura despertam interesse em aplicações que demandam materiais com elevada capacidade de captura, uma vez que conferem à cadeia polimérica notável afinidade para absorver e reter água e outras substâncias (FERNANDES, 2020).

Quando inserido em soluções que contenham íons divalentes, como o Ca^{+2}, o AS manifesta a capacidade de, imediatamente, criar hidrogéis compatíveis com o ambiente biológico, com uma estrutura semelhante à matriz extracelular de tecidos vivos. Isso possibilita diversas aplicações na área de engenharia de tecidos, na administração de substâncias bioativas e medicamentos, na estimulação da multiplicação celular e na aceleração do processo de cicatrização de feridas (TAVAKOLI *et al.*, 2019). Vale destacar que a proporção de unidades G/M influencia as características físicas dos hidrogéis. Consequentemente, hidrogéis derivados de AS que contenham uma maior proporção de unidades G se tornam mais rígidos, enquanto aqueles com uma maior proporção de unidades M se tornam mais flexíveis (FERNANDES, 2020).

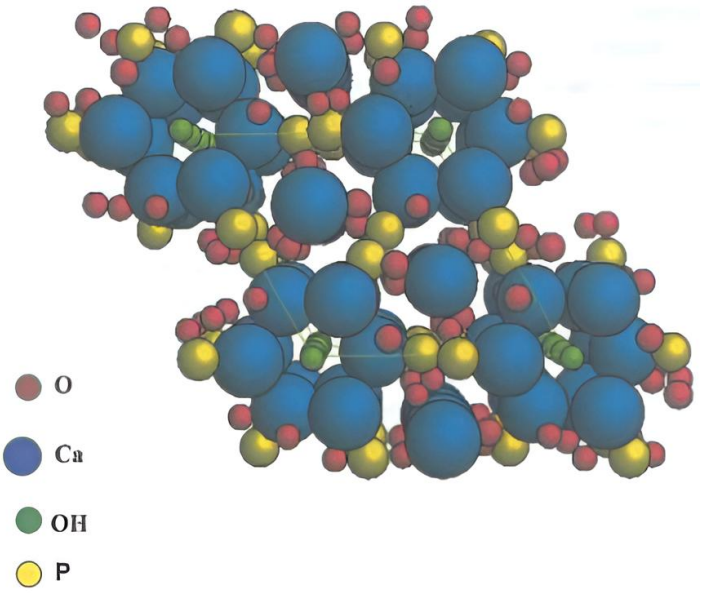
Entretanto, quando aplicado ao tecido ósseo, o AS apresenta algumas limitações, como ausência de locais para fixação celular, propriedades biomecânicas fracas e interações com o tecido natural, o que impede o uso de AS a longo prazo em tecidos ósseos. Portanto, o uso de HA como componente de reforço pode contribuir para superar algumas dessas potenciais limitações (BARROS *et al.*, 2019).

3.3. HIDROXIAPATITA (HA)

É um dos materiais mais empregados em estudos relacionados à regeneração de tecido ósseo. Ela pode ser encontrada na forma de um mineral natural, um componente dos ossos e pode ser produzida de maneira sintética, sendo facilmente fabricada sob a forma de pó. Uma das primeiras publicações que descreveu as aplicações biomédicas desse material envolveu a compressão a quente do pó de HA, em modelos utilizados em experimentos biológicos. Desde então, tem sido amplamente utilizada em pesquisas, visando desenvolver materiais para fins biomédicos. No entanto, existem indícios de que o nácar utilizado em implantes durante a pré-história pode ter alcançado sua eficácia, devido à presença da HA, uma vez que foi comprovado que o carbonato de cálcio presente no nácar tem a capacidade de converter soluções de fosfato em HA (RATNER *et al.*, 2013).

Portanto, ela é o componente mineral natural presente no tecido ósseo, representando de 30% a 70% da sua massa, enquanto na forma sintética exibe características de compatibilidade biológica e integração óssea. Essas propriedades, juntamente com sua notável capacidade de captar moléculas, conferem à HA um notável suporte para a liberação prolongada de agentes anticancerígenos no tratamento de tumores ósseos. Simultaneamente, é eficaz na remoção de metais pesados em ambientes aquáticos e solos contaminados (NISHIYAMA *et al.*, 2016). Possui fórmula mínima $Ca_5(PO_4)_3OH$, podendo ser escrita como $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, mostrando que há 2 unidades na célula unitária. A estrutura cristalina da HA está representada na Figura 2.

Figura 2. Estrutura cristalina da HA.



Fonte: (KAY, YOUNG e POSNER, 1964)

Sua estrutura permite substituições catiônicas e aniônicas isomorfas com grande facilidade, sendo referida como capaz de incorporar metade dos elementos da tabela periódica em sua estrutura, sendo essa uma de suas mais importantes propriedades. Todas as substituições podem alterar a cristalinidade, os parâmetros de rede, as dimensões dos cristais, a textura superficial, a estabilidade e a solubilidade dela que, por sua vez, alteram a degradação e o comportamento *in vivo* (GUASTALDI e APARECIDA, 2010).

Devido sua facilidade nas substituições catiônicas e aniônicas, atua como reservatório de cálcio e fósforo nos organismos vivos, regulando diferentes íons nos líquidos corporais por meio de sua liberação e armazenamento.

3.4. HIDROGÉIS

Podemos descrever os hidrogéis como materiais poliméricos compostos por estruturas 3D com alta afinidade pela água. A atração pela água se deve à existência de grupos com carga elétrica. Estas estruturas 3D podem ser formadas por interações físicas ou iônicas, ou então através de ligações químicas (FERNANDES, 2020).

Quando os hidrogéis são reticulados fisicamente, eles costumam manifestar uma menor resistência e uma estabilidade de longo prazo reduzida. Por outro lado, quando são reticulados por meio de reações químicas, tendem a demonstrar estabilidade e propriedades mecânicas superiores. No entanto, ficam limitados pela toxicidade que algumas substâncias iniciais da síntese interagirem com as células e os medicamentos, resultando em efeitos indesejáveis para aplicações médicas (DRAGAN e DINU, 2019).

Devido às propriedades hidrofílicas dos hidrogéis, quando entram em contato com a água ou algum líquido aquoso, eles intumescem, ou seja, aumentam consideravelmente seu volume. Inicialmente, as moléculas de água são atraídas para as regiões polares da estrutura, hidratando-as por meio de interações eletroestáticas. Posteriormente, as moléculas do solvente internas à matriz interagem com as moléculas externas, facilitando a difusão para o interior do hidrogel. Além disso, ocorre um fenômeno osmótico que direciona o solvente do ambiente circundante para o interior, até que o ponto de saturação ou equilíbrio seja alcançado. Nesse momento, as forças osmóticas e elásticas (relacionadas à expansão da cadeia polimérica) se igualam, atingindo o estado de equilíbrio (FERNANDES, 2020).

Os precursores de materiais para sintetizar hidrogéis podem ser categorizados quanto a sua origem, seja natural, sintética ou semissintética (FERNANDES, 2016). Normalmente, hidrogéis obtidos a partir de polímeros de fonte natural são preferidos em aplicações biomédicas, por conta de suas propriedades bioativas, capacidade de degradação biológica, compatibilidade com organismos vivos e semelhanças na estrutura com a matriz extracelular. Devido a sua rápida taxa de expansão, habilidade de ajuste da superfície, controle sobre a estrutura porosa, resistência ao calor e facilidade de permeabilidade e difusão, esses materiais têm encontrado aplicações em diversos setores tecnológicos notáveis, incluindo tecnologia alimentar, engenharia de recursos hídricos, tratamento de água e efluentes (incluindo a remoção de íons metálicos, resíduos de medicamentos e corantes prejudiciais), agricultura, medicina, dentre outros campos (SINHA e CHAKMA, 2019).

Na área da biomedicina, os hidrogéis têm a capacidade de serem empregados no controle da dosagem de medicamentos a patamares terapêuticos ideais, aprimorando a eficácia dos tratamentos e minimizando a frequência das doses, consequentemente diminuindo a toxicidade associada (ALVES, 2024; ZHENG, 2025). Na engenharia de tecidos, esses materiais podem ser aplicados, devido a sua estrutura altamente porosa, comparável à de um osso. Sua afinidade pela água favorece a aderência das células, enquanto a sua semelhança com a matriz extracelular permite o transporte de nutrientes, a manutenção do equilíbrio interno e o apoio ao crescimento, à multiplicação e à especialização das células (FERNANDES, 2020).

3.5. IMPRESSÃO 3D DE BIOMATERIAIS

A manufatura aditiva, também denominada de impressão 3D, originou diversas técnicas de biofabricação, principalmente na última década em que obteve maiores avanços. Tendo em vista a possibilidade do uso de diversos materiais, seleção de células para fabricação de bioestruturas e munido do conceito de manufatura aditiva, o termo biofabricação passou a ser frequentemente associado à impressão de biomateriais (VAZ, 2021).

As estratégias de fabricação aditiva têm despertado interesse crescente, devido as suas principais características, que incluem a redução dos custos de produção e a ampliação do conhecimento e das possibilidades de aplicação (ALVES, 2024). Na esfera da saúde, essa tecnologia é vista como inovadora, com a capacidade de ser aplicada em diversas situações, como a criação de órgãos e tecidos por meio de impressão, a fabricação de próteses sob medida, a produção de implantes, a elaboração de modelos anatômicos e até mesmo em pesquisas farmacêuticas, voltadas para a seleção de ingredientes ativos (OLEKSY, DYNAROWICZ e AEBISHER, 2023; RANDAZZO *et al.*, 2016; SCHUBERT, LANGEVELD, VAN e DONOSO, 2014).

Apesar das inúmeras oportunidades de aplicação, a tecnologia de impressão 3D de biomateriais frequentemente está associada ao campo dos transplantes de órgãos. Isso ocorre, porque, atualmente, o transplante representa a única terapia viável para tratar casos avançados de insuficiência de órgãos, como o coração e o fígado. De acordo com o RBT, existe uma enorme lista de espera por órgãos no Brasil. Essa situação, combinada com a escassez de doadores no mesmo período, evidencia a relevância da impressão 3D de biomateriais como um possível recurso para reduzir as extensas filas de espera.

Contudo, para efetivar esse cenário, será necessário um esforço significativo. Além disso, é crucial o desenvolvimento de outras aplicações para essa tecnologia. Um exemplo é a customização de tratamentos, onde a partir de informações médicas e células de biópsias, passa a ser viável produzir estruturas personalizadas e conduzir experimentos de medicamentos e terapias específicas (VAZ, 2021).

A tecnologia de impressão 3D, conhecida como impressão 3D de biomateriais, é uma evolução da impressão 3D convencional. Nesse método, os objetos são criados através da construção progressiva de diversas camadas, utilizando materiais que variam desde polímeros, metais, cerâmicas e líquidos, até mesmo células. Quando aplicada à criação de estruturas biológicas, essa técnica recebe o nome de impressão 3D de biomateriais. O processo de fabricação pode ser detalhado em uma sequência de etapas, iniciando-se com a modelagem CAD e a geração de um arquivo no formato STL. Em seguida, ocorre a fase de fatiamento, durante a qual um software ajusta parâmetros específicos para gerar um arquivo no formato GCODE. Após isso, o arquivo é importado para o software que controla a impressora. Finalmente, o processo de fabricação é executado, culminando na obtenção da estrutura final.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo desenvolver e caracterizar *scaffolds* de hidrogéis de AC incorporados com HA, produzidos por bioimpressão 3D, visando sua aplicação como substitutos de tecido ósseo.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver metodologia adequada e reprodutível de obtenção de matrizes *scaffolds* 3D impressas, a partir de AS reticulado com íons bivalentes (Ca^{2+}, Fe^{2+}, Mg^{2+} ou Cu^{2+}) e HA;
- Caracterizar as propriedades hidrofílicas, através da determinação do grau de intumescimento em meios com diferentes pHs;
- Caracterizar as propriedades espectroscópicas e morfológicas utilizando as técnicas de FTIR, MEV e EDX, respectivamente;

- Estudar as propriedades estruturais pela técnica de DRX e mecânicas a partir de medidas de tração.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. MATERIAIS

O AS (Mv: 85.000 g/mol) foi fornecido pela Cromoline Química Fina, enquanto a HA, com tamanho médio de partícula de 5 μm (nanoXIM.HAp202), foi adquirida da Fluidinova S.A. Já o cloreto de cálcio anidro ($CaCl_2$) (MM: 110,99 g/mol) foi obtido da Vetec Química Fina. Todos os reagentes foram empregados conforme recebidos, sem a realização de etapas adicionais de purificação.

5.2. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DE IMPRESSÃO

Após vários testes iniciais, a solução com concentração de 10% (m/v) de AS se mostrou a mais adequada, Figura 3. O parâmetro de análise foi a viscosidade da solução e testes de impressão. Estas soluções foram obtidas utilizando água deionizada como solvente, agitação mecânica e temperatura ambiente.

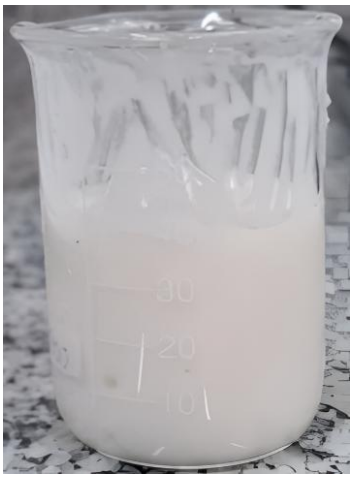
Em seguida, HA foi adicionada em diferentes concentrações (2,5%, 5,0% e 10% (m/v)), utilizando agitação mecânica (aproximadamente 800 rpm), visto que a adição dela desencadeia um aumento da viscosidade, embora esse incremento de viscosidade não foi tão significativo à medida que se aumentou a quantidade de HA na solução. Utilizando o mesmo critério adotado para os *scaffolds* de AS, a concentração mais promissora de HA foi de 10%, pois proporciona melhor adequação à viscosidade que, para essa concentração, é de 1211 Pa.s (LEE, 2021), da solução obtida e favorece a realização dos testes de impressão (Figura 4).

Figura 3. Fotografia digital de uma solução de AS em água deionizada.



Fonte: Elaboração própria

Figura 4. Fotografia digital de uma solução de AS e HA em água deionizada.



Fonte: Elaboração própria

Depois, o UltiMaker Cura 5.5.0 (software fatiador), com parâmetros de impressão otimizados (Tabela 1), foi utilizado, atendendo os requisitos do projeto. Os modelos (Figura 5) foram gerados baseados em estudos prévios realizados pelo Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (UNESP/FEIS).

No que diz respeito à impressora 3D de biomateriais, ela consiste, praticamente, numa impressora 3D tradicional, alterada no cabeçote, onde é colocado um sistema de compressão de um êmbolo e de uma seringa, mantendo-se a extrusão, decorrente de um motor de passo, que "injeta" a solução pela extrusora, tornando-se necessária, apenas, uma nova interpretação do significado de cada parâmetro no novo modo, Figura 6.

Tabela 1. Parâmetros da impressão 3D.

Parâmetros	AS10	HA2,5	HA5	HA10
Velocidade de extrusão (mm/s)	8	7	7	7
Número de camadas	5	5	5	5
Diâmetro do bico (mm)	0,4	0,4	0,4	0,4
Temperatura de extrusão (ºC)	25	25	25	25
Multiplicador de extrusão	0.45	0.45	0.45	0,45
Diâmetro da extrusora (diâmetro do filamento) (mm)	1.55	1.55	1.55	1,55
Comprimento de retração (mm)	7	5	5	5
Velocidade de retração (mm/s)	9	15	15	15

Fonte: (ALVES, 2024)

Referente aos parâmetros apresentados na Tabela anterior, a velocidade de impressão é responsável pela movimentação dos motores nos eixos da impressora e pelo controle da extrusão do material. Outro parâmetro importante é o número de camadas, que define em quantas partes o modelo será dividido, sendo necessário considerar a capacidade das camadas inferiores de suportarem as superiores, especialmente no caso do AS, cuja viscosidade limita a altura da estrutura antes do colapso.

O diâmetro do bico da extrusora também exerce influência significativa, pois determina a saída do material depositado, podendo variar conforme o uso de pontas ou agulhas hipodérmicas acopladas à seringa. Já a temperatura de extrusão, embora essencial em impressões com filamentos convencionais, possui menor impacto na impressão de AS, sendo suficiente o controle da temperatura ambiente. Além disso, o multiplicador de extrusão atua diretamente na rotação do motor responsável pelo deslocamento do êmbolo da seringa, controlando, consequentemente, o fluxo de material extrudado.

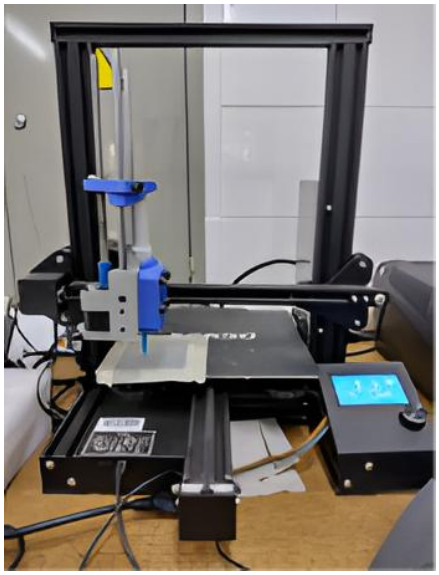
Outro fator relevante é o diâmetro da extrusora, relacionado ao volume de material alimentado, influenciando a força aplicada ao êmbolo e a quantidade de material depositado. Por fim, os parâmetros de retração, como comprimento e velocidade, são fundamentais para evitar o escoamento indesejado do material durante movimentos sem deposição, contribuindo para maior precisão e qualidade na bioimpressão (ALVES, 2024).

Figura 5. Modelo do *scaffold* fatiado através do UltiMaker Cura 5.5.0.



Fonte: Elaboração própria

Figura 6. Fotografia digital de uma impressora modificada para impressão 3D.



Fonte: Elaboração própria

Após a impressão, os *scaffolds* foram imersos em soluções, com concentrações de 1,0% (m/v), dos reticuladores cloreto de cálcio ($CaCl_2$), ferro (II) ($FeCl_2$), magnésio ($MgCl_2$) e cobre (II) ($CuCl_2$), por 24 horas à temperatura ambiente. Posteriormente, estes foram inseridos em água deionizada por 48 horas para diálise (remoção de íons e outras espécies que não participaram da reação) e secos em estufas por 24 horas à temperatura de 40°C.

5.3. GRAU DE INTUMESCIMENTO

As propriedades hidrofílicas dos hidrogéis foram analisadas, determinando o grau de intumescimento (Q) em função do tempo. Foram utilizadas água deionizada e soluções com diferentes pHs (2, 4, 5, 6, 8 e 10) como meios de intumescimento. Para determinação dos valores de Q (%), foi utilizada a relação $[(\frac{M_t - M_s}{Ms}).100]$, onde os hidrogéis previamente secos foram pesados (Ms) em uma balança analítica e, depois, imersos na solução, onde, posterior a períodos pré-determinados (0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8 e 24h), foram retirados e pesados novamente (Mt).

5.4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

O uso da técnica de FTIR objetivou esclarecer a identificação de possíveis pontos de interações existentes entre AS e a HA. Neste sentido, as amostras secas de hidrogéis foram maceradas, misturadas ao brometo de potássio e pressionadas, visando à obtenção de pastilhas para posterior incorporação ao espectrômetro FTIR Nicolet - NEXUS 670. Foram realizadas 128 varreduras entre 400 e 4000 cm^{-1}, com resolução de 2 cm^{-1}.

5.5. ENSAIO DE TRAÇÃO

O comportamento mecânico dos diferentes *scaffolds* foi investigado a partir das análises das propriedades mecânicas de tração, utilizando o texturômetro TA.XT/Express, seguindo as normas ASTM D 790-03. Para os testes, foram usados os seguintes parâmetros: velocidade da medida = 8,3 $mm.seg^{-1}$ e distância entre as garras = 1 cm. O equipamento utilizado, bem como o procedimento do ensaio de tração, pode ser visualizado por meio do QR Code apresentado no gráfico (Anexos 1-4), que direciona para os vídeos correspondentes.

5.6. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)

As propriedades estruturais dos hidrogéis foram analisadas para verificar se a presença de HA altera a organização estrutural das cadeias de AS. Para isso,

primeiramente, *scaffolds* secos, compostos somente por AC, AC com HA, bem como HA em pó, foram macerados, separadamente, alocados em porta amostras de vidro e posicionados no difratômetro (Shimadzu - XRD600). Adotou-se os seguintes parâmetros de análise: fonte de raios-X de Cu_{α}; λ = 0,154 nm; voltagem = 30 kV; corrente de 40 mA; intervalo angular 2θ de 5 a 50° e velocidade de varredura de 2°/min.

5.7. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E ESPECTROSCOPIA DE DISPERSÃO DE ENERGIA DE RAIOS-X (EDX)

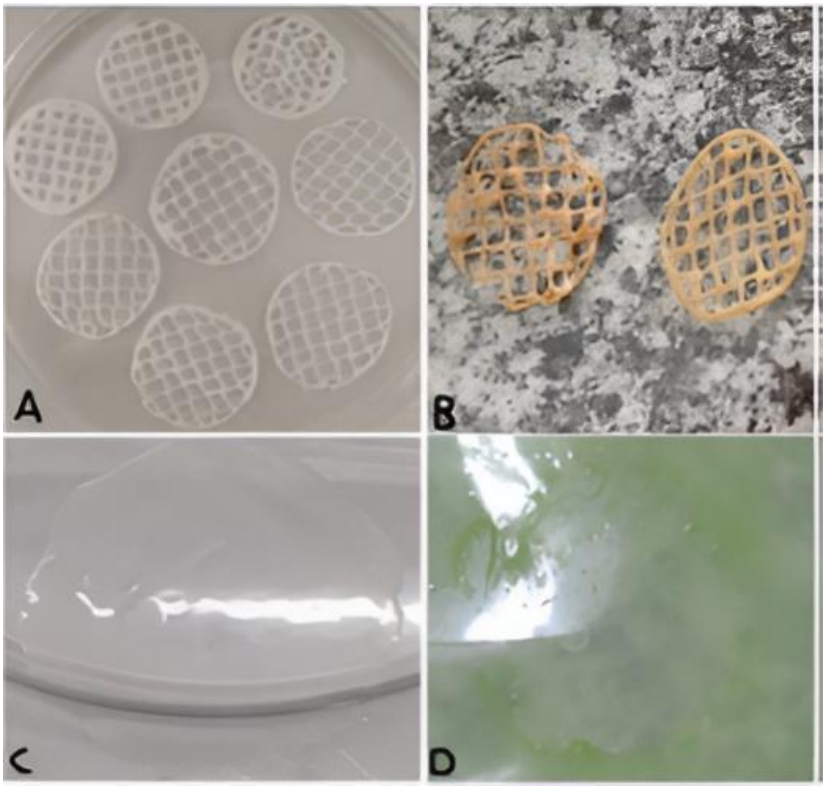
Por fim, a técnica de MEV foi utilizada para obter informações morfológicas dos materiais estudados. Os elementos químicos presentes puderam ser também identificados por meio da técnica de EDX, na qual é acoplada ao microscópio MEV EVO Carl Zeiss LS15. Desta forma, esta técnica foi implementada, a fim de avaliar possíveis pontos de separação de fases entre HA e AC, além de informar sobre sua porosidade (tamanho, formato, interconectividade entre os poros), e se a dispersão de HA era homogênea na matriz 3D. As ampliações nominais usadas foram 5, 10 e 20 kX, enquanto as tensões de aceleração foram 10 kV para os *scaffolds* de AC e AC com HA, e 20 kV para a HA pura.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. ESTRUTURA FÍSICA

Ao analisar a estrutura física dos *scaffolds*, observou-se que apenas os *scaffolds* reticulados em cloreto de cálcio não tiveram sua morfologia e propriedades hidrofílicas alteradas, conforme representados na Figura 7. Em contraste, os demais reticuladores não promoveram a formação efetiva da rede polimérica, resultando em estruturas reticuladas pouco desenvolvidas ou praticamente ausentes. Desta forma, constatou-se que os *scaffolds* reticulados em Ca^{2+} mantiveram a rigidez e o formato projetado, sendo viável à movimentação em cirurgias, e tiveram alta reprodutibilidade, devido aos parâmetros de impressão, onde o formato “giróide” foi escolhido, por conta da sua semelhança com o aspecto dos ossos. Além disso, após o processo de reticulação, não houve mudança no modelo, apresentando superfícies bem lisas e intumescidas, com melhor printabilidade. Essas características desejáveis foram atribuídas a presença de HA.

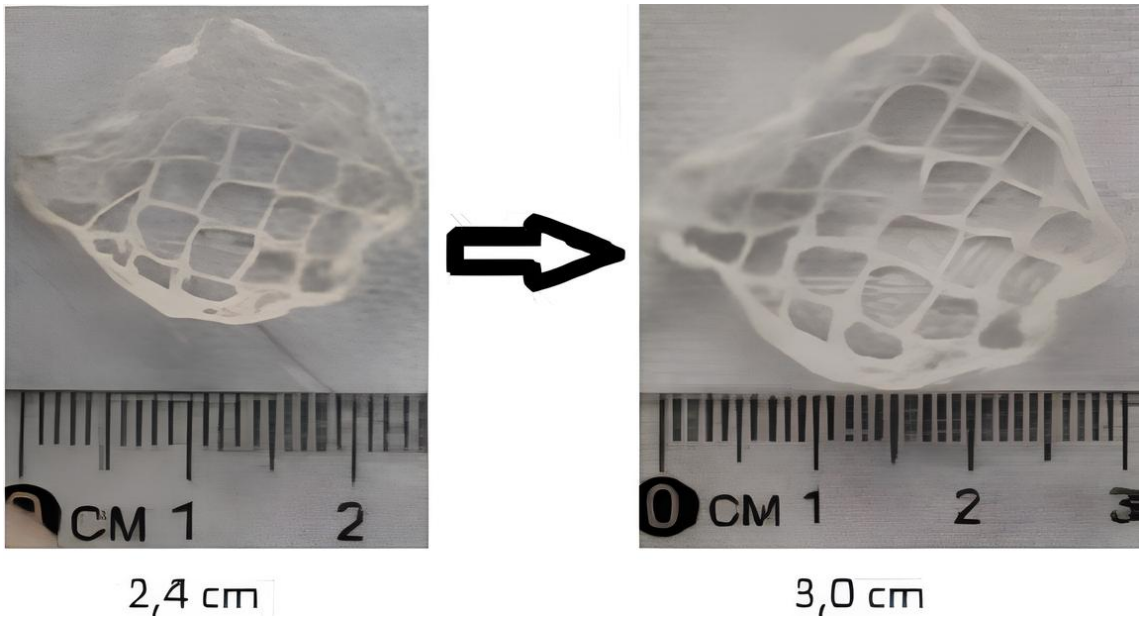
Figura 7. Processo de reticulação com $CaCl_2$ (**A**), $FeCl_2$ (**B**), $MgCl_2$ (**C**) e $CuCl_2$ (**D**).



Fonte: Elaboração própria

Por outro lado, a reticulação na presença de íons Fe^{2+} resultou na obtenção de apenas um *scaffold*, evidenciando baixa reprodutibilidade e reduzida eficiência do processo. Não foi observado o processo de reticulação dos *scaffolds* quando mantidos em contato com íons Mg^{2+} ou Cu^{2+}. O resultado insatisfatório referente à reticulação com íons Cu^{2+} não se mostra tão indesejável, uma vez que esses íons, dependendo da concentração utilizada, podem apresentar toxicidade. Assim, pode-se concluir que o tamanho do raio iônicos dos íons reticuladores contribui para a reprodutibilidade na síntese, visto que os valores destes para os íons Ca^{2+}, Fe^{2+}, Mg^{2+} e Cu^{2+} são, respectivamente, 100, 76, 72 e 72 pm. Na Figura 8 são apresentadas fotografias digitais de *scaffolds* reticulados na presença de íons Ca^{2+}.

Figura 8. Fotografia digital indicando a comparação entre os diâmetros dos *scaffolds* secos e intumescidos.



Fonte: Elaboração própria

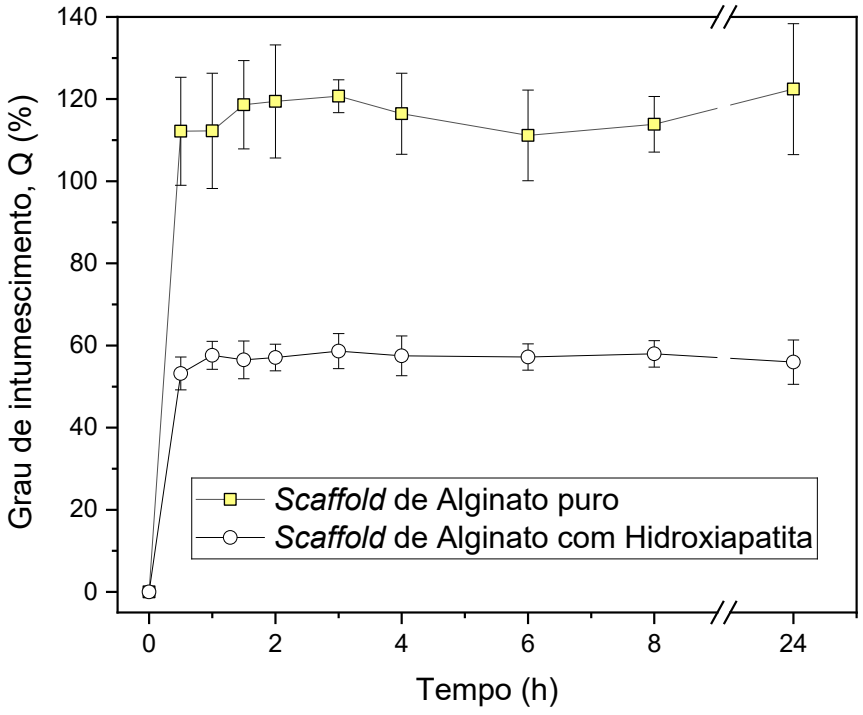
6.2. GRAU DE INTUMESCIMENTO (Q)

A molhabilidade e o processo de intumescimento dos *scaffolds* são aspectos relevantes, que interferem, de maneira direta, na adesão e propagação de células no interior desses arranjos (*templates*). Um preenchimento ósseo biodegradável precisa aparar tais procedimentos, enquanto é, aos poucos, deteriorado numa taxa sincronizada com a regeneração óssea. Exemplificando, o intumescimento resulta em um crescimento da dimensão dos poros, facilitando a difusão de nutrientes, elevando a infiltração e, com isso, proliferação celular. Entretanto, o inchaço em excesso pode diminuir a resistência mecânica, tornando-se menos propício para usos em tecidos ósseos.

A partir dos resultados obtidos (Figura 9), pode-se observar que os valores de Q diminuíram com a presença de HA (mesmo efeito observado com a reticulação física ocasionada pela presença de íons Ca^{2+}). Esta diminuição pode ser atribuída ao fato das cadeias reticuladas de AS se aproximarem devido a prováveis efeitos de reticulações físicas com moléculas de HA. Isto provoca uma diminuição na capacidade de absorção de água dos *scaffolds*. Além disso, o tempo de equilíbrio de absorção de água é de apenas 30 minutos. Os valores obtidos, tanto para o grau de intumescimento quanto para o tempo de equilíbrio, demonstram resultados ainda mais promissores quando comparados aos já

reportados na literatura para *scaffolds* produzidos por bioimpressão 3D à base de polímeros naturais e HA, cujo tempo de equilíbrio foi de 5h (ALVES, 2024).

Figura 9. Dependência do grau de intumescimento em função do tempo para os *scaffolds* de AS e AS com HA, ambos reticulados com íons Ca^{2+}.

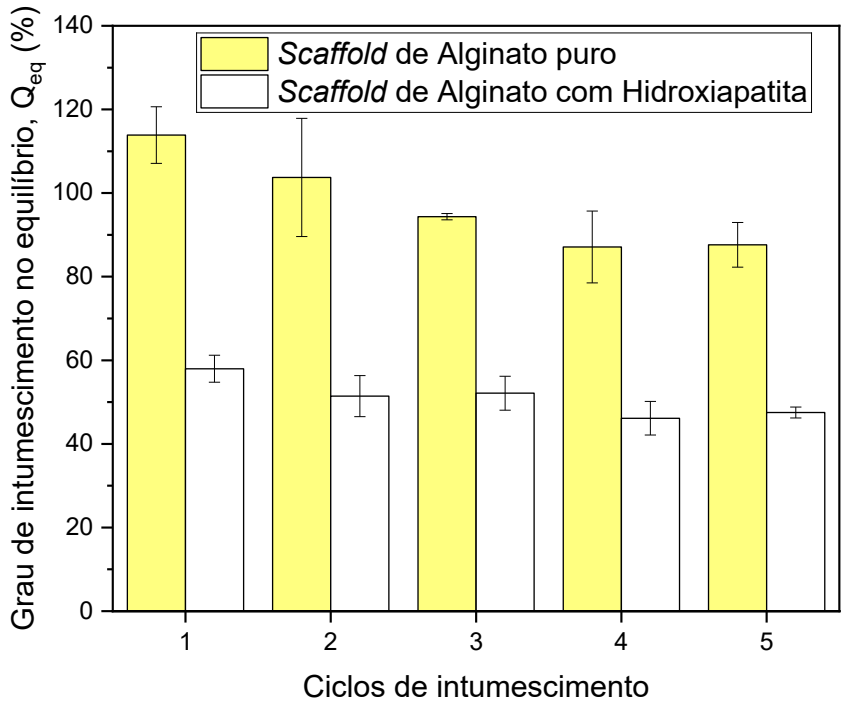


Fonte: Elaboração própria

Esse resultado, como já afirmado anteriormente, é bastante promissor, tendo em vista que a rápida absorção de água é fundamental para garantir a segurança, visibilidade e eficácia de procedimentos cirúrgicos.

A partir da análise dos ciclos de intumescimento no estado de equilíbrio, obtendo o valor de Q_{eq} após 8h em cada ciclo, extrai-se que ele não apresenta variações significativas até o 3º ciclo de intumescimento. Após, observa-se ligeiro decaimento na absorção de água para os últimos 2 ciclos, Figura 10. Esses resultados demonstram que estes materiais podem ser aplicados pelo menos 3 vezes, sem perder sua integridade física.

Figura 10. Dependência do grau de intumescimento no equilíbrio em função do ciclo de intumescimento para os *scaffolds* de AS e AS com HA, ambos reticulados com íons Ca^{2+}.

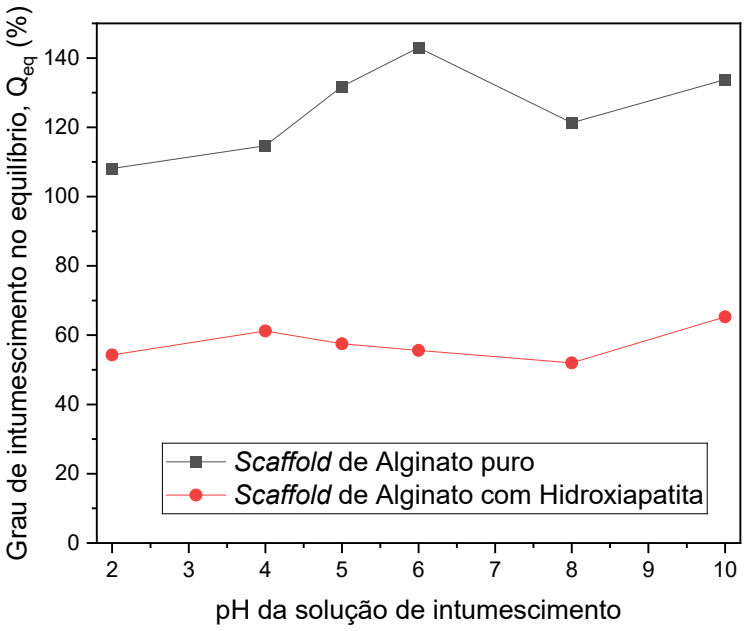


Fonte: Elaboração própria

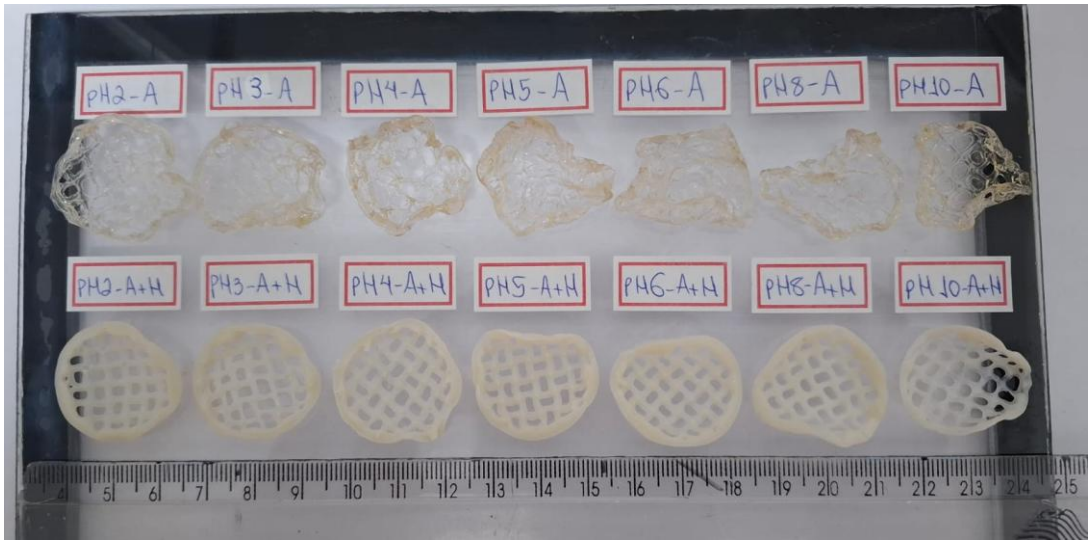
Em relação ao grau de intumescimento obtido utilizando soluções com diferentes valores de pH como meio de intumescimento (Figura 11), observa-se um incremento na capacidade de absorção de água para os s*caffolds* de AC até pH = 6,0. Esse comportamento está associado ao fato do polissacarídeo AS possuir grupamentos carboxila com pKa entre 3,5 e 4,5. Desta forma, a diminuição da concentração de H^+ no meio favorece a repulsão entre as cadeias poliméricas, permitindo maior entrada de água. Para solução com valor de pH < pKa, os grupamentos carboxila estarão predominantemente na forma não ionizada (COOH). Como consequência, há diminuição da repulsão entre as cadeias, ou maior compactação, reduzindo o grau de intumescimento. Nos pHs 5,0 e 6,0, a ionização dos grupamentos carboxilas (COO^-) intensifica a repulsão entre as cadeias poliméricas, favorecendo a absorção de água. Nos pHs 8,0 e 10,0, esperava-se um aumento ainda maior na capacidade de absorção de água pelas matrizes. No entanto, isso não foi observado, possivelmente devido ao uso de solução NaOH no ajuste dos valores de pH. Os íons Na^+ interagem com os grupos COO^-, diminuindo a

repulsão entre as cadeias, resultando em menor grau de intumescimento. Outro fator que pode estar contribuindo para diminuição do grau de intumescimento é a provável competição entre os íons Na^+ e Ca^{2+} com os grupos carboxila em sua forma ionizada COO^-. A substituição dos íons Ca^{2+} por íons Na^+ pode contribuir para diminuição do processo de reticulação entre as cadeias de AS (YAMAUCHI, 2024).

Figura 11. a) Dependência do grau de intumescimento em função do pH das soluções de intumescimento para os diferentes *scaffolds* estudados. b) fotografia digital dos hidrogéis intumescidos no estado de equilíbrio em diferentes pHs (superior: *scaffold* de AS puro; inferior: *scaffold* de AS com HA). Os valores de pH da solução de intumescimento aumentam da esquerda para direita, conforme indicado na Figura.



(a)



(b)

Fonte: Elaboração própria

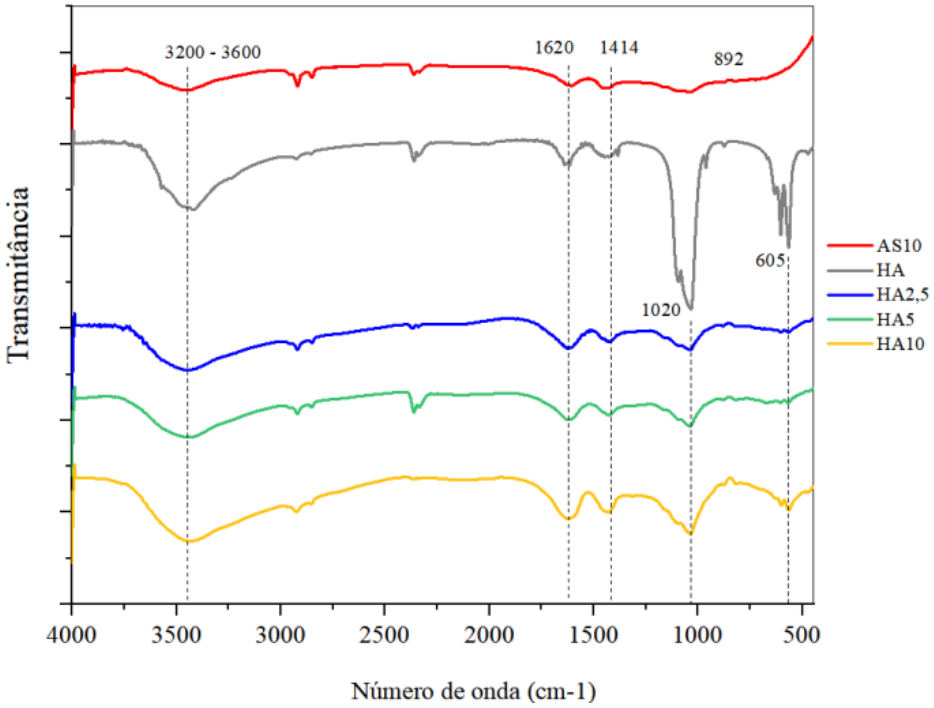
Em relação aos *scaffolds* de AC com HA, de modo geral, observa-se menor capacidade de absorção de água em comparação ao AC puro. Esses resultados foram similares ao estudo de grau de intumescimento em água, como apresentado anteriormente nas Figuras 9 e 10. Não foi observada influência do pH da solução de intumescimento nos valores de grau de intumescimento. Isto indica uma possível interação da HA com os grupos carboxila presente na estrutura das cadeias de AS, visto que esses grupos são influenciados pela variação de pH do meio de intumescimento.

6.3. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Esta técnica espectroscópica foi utilizada com o intuito de analisar as energias associadas as vibrações das ligações químicas dos grupos químicos presentes nas estruturas da HA, do AC, bem como as eventuais interações intermoleculares entre os componentes dos *scaffolds*. Foi observada a presença de uma banda discreta, referente às vibrações de alongamentos dos grupos éteres de anel de piranose presente na estrutura do AC (entre 1000-1150 cm^{-1}), bem como as bandas de flexão e alongamento do grupo fosfato (1020 e 605 cm^{-1}) que, no caso dos compósitos, podem ser atribuídos à sobreposição do alongamento de COO^- do AC (1620-1414 cm^{-1}) e do grupo fosfato da HA, Figura 12 (ALVES, 2024). Além destes, o aumento da intensidade das bandas espectroscópicas relacionadas ao grupo fosfato, especialmente em 1020 cm^{-1}, observado

nos compósitos com o incremento da concentração de HA, conclui-se que ocorreram alterações significativas na estrutura dos materiais, confirmando a incorporação bem-sucedida da HA à matriz polimérica.

Figura 12. Espectros de FTIR referentes ao alginato (AS), hidroxiapatita (HA) e seus compósitos com 2,5, 5,0 e 10,0 % (m/v) de HA.



Fonte: ALVES, 2024

6.4. PROPRIEDADES MECÂNICAS DE TRAÇÃO

Foi possível observar que a incorporação de HA, em virtude de sua elevada cristalinidade e das interações efetivas estabelecidas com a matriz polimérica, promove um discreto aumento na tensão de ruptura e no módulo de Young dos compósitos. Em contrapartida, a presença de HA também ocasiona uma leve redução na deformação na ruptura desses materiais, quando considerados os valores absolutos obtidos. No entanto, devido aos desvios padrão observados em comparação aos valores absolutos, não é possível confirmar de forma conclusiva o efeito de carga ou reforço da HA sobre a matriz polimérica. Os parâmetros mecânicos apresentados na Tabela 2 foram obtidos a partir dos gráficos contidos nos Anexos 1–4.

Tabela 2. Comparação das propriedades mecânicas obtidas para *scaffolds* com AC e com AC associado à HA, intumescidos em água.

Propriedade mecânica	***Scaffold* com alginato**	***Scaffold* com alginato e hidroxiapatita**
Tensão de ruptura (MPa)	0,06 ± 0,02	0,08 ± 0,03
Tenacidade (MJ/m^3)	0,30 ± 0,05	0,50 ± 0,20
Módulo de Young (MPa)	0,014 ± 0,005	0,020 ± 0,008
Deformação (%)	$(4{,}7 \pm 0{,}3).10^2$	$(4{,}1 \pm 0{,}7).10^2$

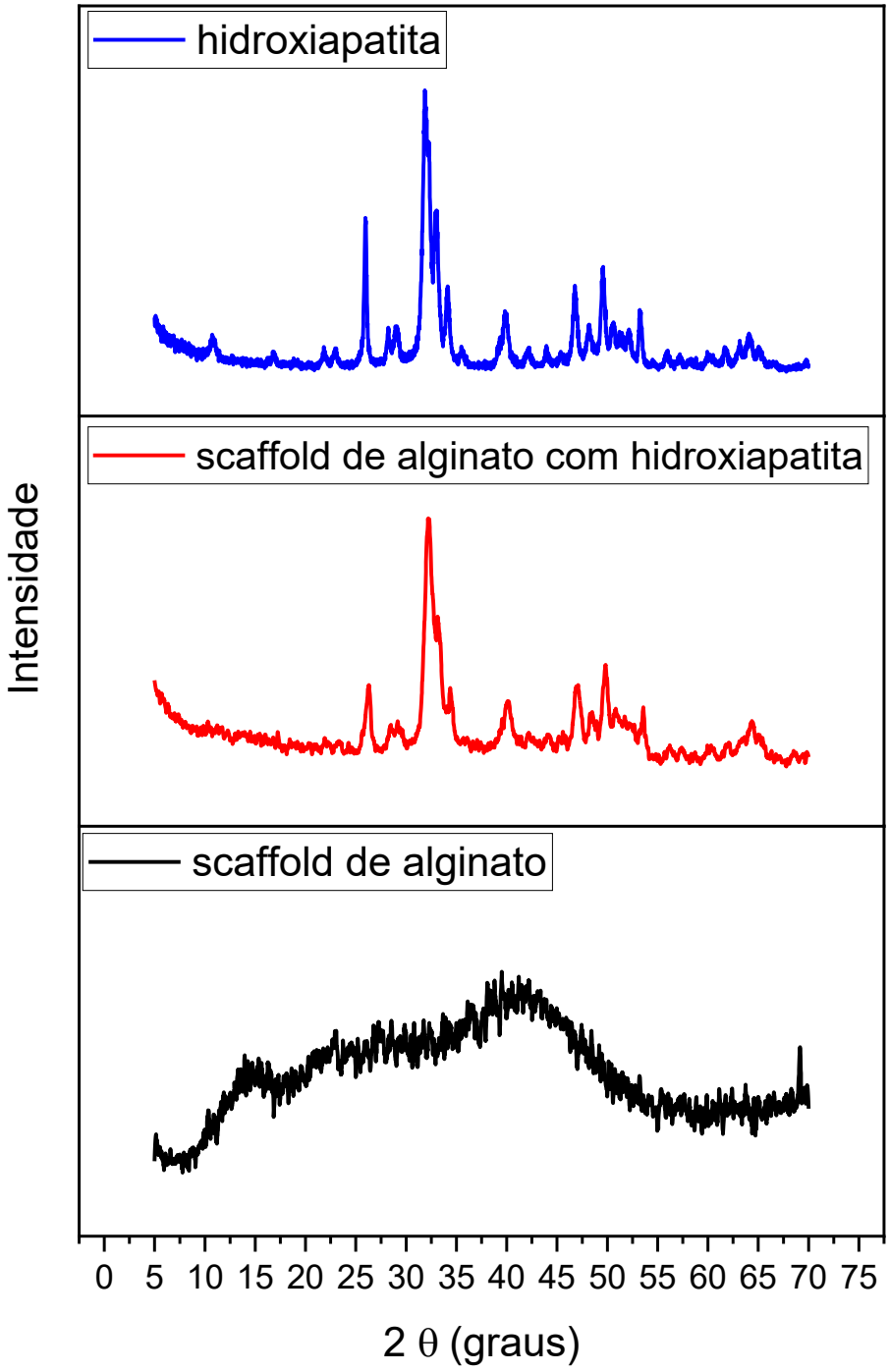
Fonte: Elaboração própria

Observa-se também um discreto aumento na tenacidade, isto é, na capacidade de absorção de energia antes da fratura, considerando apenas os valores absolutos obtidos. Entretanto, novamente, a comparação entre os desvios padrão e os valores absolutos não permite afirmar esses aspectos de forma conclusiva.

6.5. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)

Foi constatado, a partir da técnica de DRX, que o *scaffold* de AS puro (Figura 13) apresenta característica predominantemente amorfa, o que era esperado, pois sua estrutura é basicamente formada por cadeias reticuladas. Em relação à HA, esta apresenta perfil característico de materiais cristalinos. Os picos de difração estão coerentes com os padrões de difração identificados pelas fichas cristalográficas indexadas no JPDS 00-009-0432, 00-004-0740 (brushita) e 00-002-0415 (ARAUJO, 2020). Em relação ao compósito AC-HA, foi observado que o difratograma do *scaffold* de AS com HA é bem similar ao difratograma da HA. Este aumento de cristalinidade ocasionada pela incorporação da HA também converge com os resultados de intumescimento, pois entende-se que o aumento de sua cristalinidade confirma o efeito de carga.

Figura 13. Difratogramas de raios-x do *Scaffold* de AS puro, da HA pura em pó e do *Scaffold* de AS com HA.

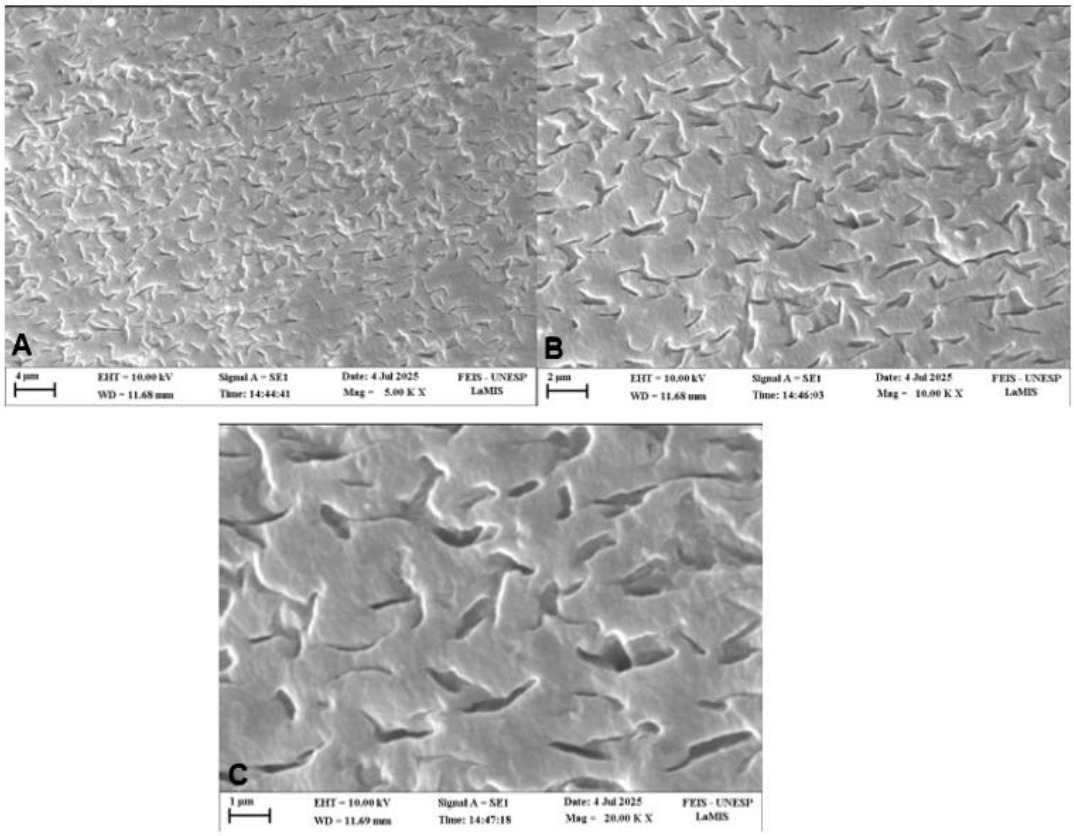


Fonte: Elaboração própria

6.6. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E ESPECTROSCOPIA DE DISPERSÃO DE ENERGIA DE RAIOS-X (EDX)

Pode-se observar, a partir da Figura 14, a presença de rugosidades nos *scaffolds* contendo apenas AS, uma vez que a análise por MEV foi realizada superficialmente, sem a quebra das amostras para avaliação da porosidade interna (GUPTA, 2025).

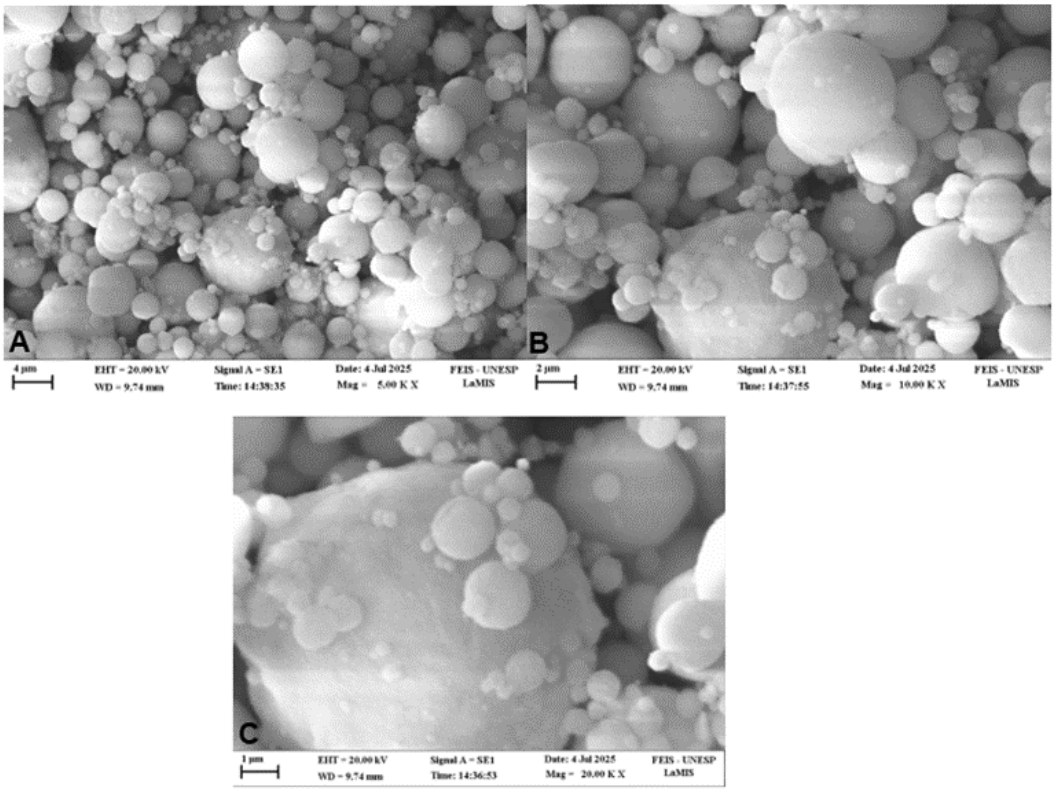
Figura 14. Micrografia eletrônica, obtida por MEV, referente aos *scaffolds* de alginato.



Fonte: Elaboração própria

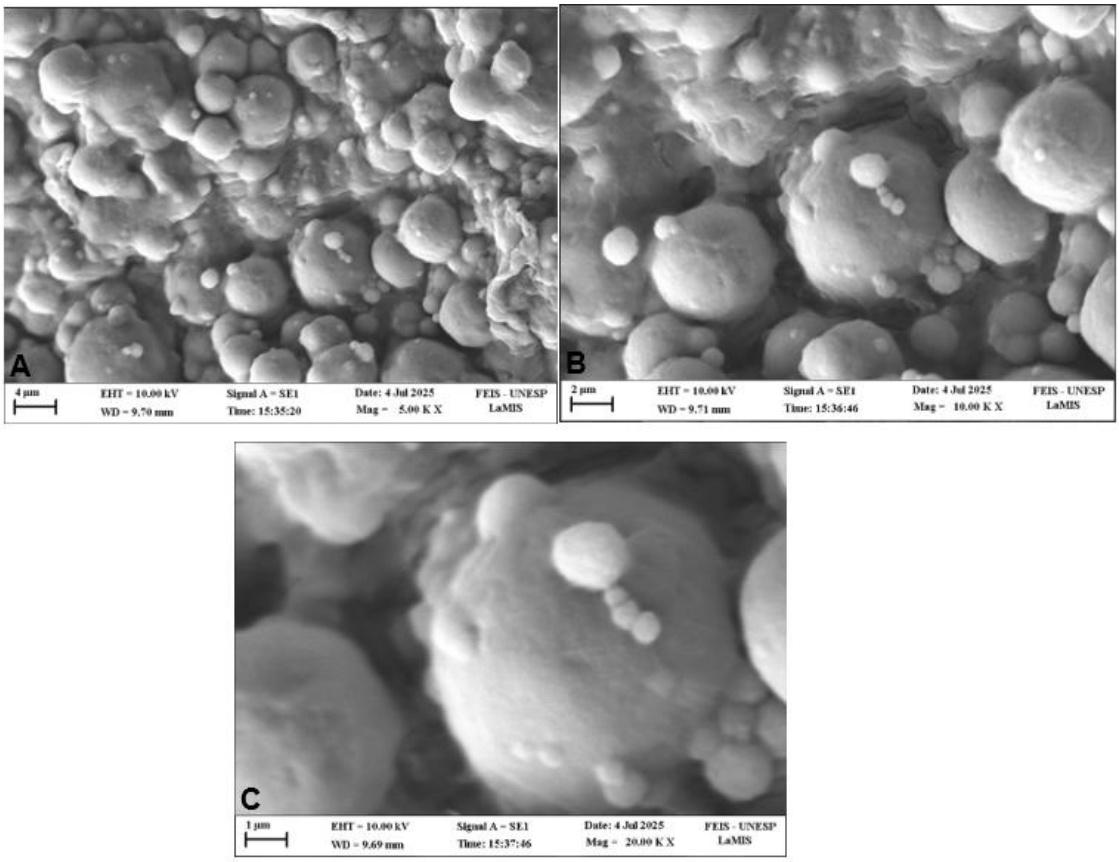
A partir da Figura 15, é possível inferir que a HA apresenta uma estrutura granular e de tamanho heterogêneo, variando entre as escalas nanométrica e micrométrica. Já na Figura 16, referente aos *scaffolds* de AC contendo HA, observa-se uma sobreposição da HA sobre a matriz de AC, preenchendo parte de suas rugosidades. Entretanto, como o MEV foi realizado apenas superficialmente, não é possível desenvolver discussões mais aprofundadas acerca da incorporação da HA à matriz.

Figura 15. Micrografia eletrônica, obtida por MEV, referente à hidroxiapatita pura.



Fonte: Elaboração própria

Figura 16. Micrografia eletrônica, obtida por MEV, referente aos *scaffolds* de alginato contendo hidroxiapatita.



Fonte: Elaboração própria

No Anexo 5 é apresentado o mapa de cores que representam todos os elementos químicos presentes no AC e na HA identificados pela técnica de EDX. A partir da imagem de EDX, Anexo 6, pode-se identificar os elementos carbono (C), oxigênio (O) e cálcio (Ca) na estrutura do AC. Além disso, é válido dizer que o elemento ouro (Au) deve ser desconsiderado da análise, pois na preparação das amostras é necessário realizar uma cobertura com ouro para tornar as amostras condutoras, evitando o acúmulo de carga elétrica na região a ser analisada. A partir do Anexo 7, pode-se confirmar que a HA é composta pelos elementos oxigênio (O), cálcio (Ca) e fósforo (P), pois há a presença de regiões azuladas, remetendo ao O, esverdeadas, relativas ao Ca, e avermelhadas, relacionadas ao P. A imagem de EDX, referente aos *scaffolds* de AS e HA (Anexo 8), mostra uma combinação dos elementos químicos presentes tanto no AC, quanto na HA, por conta das colorações já explicadas anteriormente. Além disso, pelo mapa de

distribuição do elemento fósforo (P) conclui-se que a HA se encontra homogeneamente distribuída na superfície da matriz de AS.

A Tabela 3 mostra o percentual dos elementos químicos encontrados na superfície da HA, *scaffolds* de AC contendo ou não HA, extraídos dos resultados de EDX. A presença do elemento P, juntamente com os resultados do FTIR e do DRX, confirmam a incorporação de HA nos *scaffolds* de AC.

Tabela 3. Percentuais dos elementos químicos encontrados nas superfícies analisadas.

Elemento	***Scaffold* com alginato**	**Hidroxiapatita**	***Scaffold* com alginato e hidroxiapatita**
C	44,9 ± 0,1 %	-	(3,7 ± 0,6).10 %
O	(4,3 ± 0,1).10 %	(5,3 ± 0,2).10 %	(4,0 ± 0,2).10 %
P	-	16,0 ± 0,8 %	(0,7 ± 0,1).10 %
Ca	(1,2 ± 0,1).10 %	(3,1 ± 0,2).10 %	(1,6 ± 0,2).10 %

Fonte: Elaboração própria

7. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, foi possível desenvolver *scaffolds* de hidrogéis de AC incorporados com HA por meio da bioimpressão 3D, atingindo o objetivo geral proposto neste trabalho. A definição adequada dos parâmetros de impressão e da etapa de reticulação permitiu a obtenção de estruturas com boa estabilidade e reprodutibilidade. Embora os resultados obtidos por MEV tenham sido limitados por se restringirem a análises superficiais e os ensaios mecânicos de tração tenham apresentado resultados inconclusivos devido aos elevados desvios padrão em relação aos valores absolutos, observou-se uma discreta tendência de aumento da rigidez com a incorporação de HA, enquanto as caracterizações por FTIR, DRX e EDX confirmaram sua incorporação à matriz de AS. Além disso, os materiais apresentaram comportamento hidrofílico adequado e elevada capacidade de intumescimento, características relevantes para aplicações em regeneração óssea. Dessa forma, os resultados indicam que os *scaffolds* desenvolvidos possuem potencial para utilização como substitutos de tecido ósseo, mostrando-se promissores para futuras aplicações em engenharia tecidual.

Adicionalmente, testes *in vivo* estão sendo realizados em parceria com a Universidade de Rio Verde (GO), com o objetivo de confirmar essa potencialidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, B. C. Impressão 3D de *scaffolds* de alginato/hidroxiapatita para aplicação em regeneração óssea. 2024. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Ilha Solteira, 2024.

ARAUJO, M. N. C. Obtaining and characterizing hydroxyapatite obtained by hydrothermal synthesis and characterization. *Research, Society and Development*, 9, 11, 2020.

BARROS, J.; FERRAZ, M. P.; AZEREDO, J.; FERNANDES, M. H.; GOMES, P. S.; MONTEIRO, F. J. Alginate-nanohydroxyapatite hydrogel system: Optimizing the formulation for enhanced bone regeneration. *Materials Science & Engineering C*, 105, 1, 2019.

DAAR, A. S. The future of replacement and restorative therapies: From organ transplantation to regenerative medicine. *Transplantation Proceedings*, 45, 3450, 2013.

DRAGAN, E. S.; DINU, M. V. Polysaccharides constructed hydrogels as vehicles for proteins and peptides: A review. *Carbohydrate Polymers*, 225, 115210, 2019.

FATEMA, K. N. Hydrogel-integrated biomimetic hydroxyapatite scaffolds with tunable porosity. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 114, 107572, 2025.

FERNANDES, R. S. Desenvolvimento de hidrogéis bionanocompósitos ativos baseados em amido e alginato com potencial aplicação na agricultura e na biomedicina. 2020. 212. Tese (Doutorado em Ciências dos Materiais) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Ilha Solteira, 2020.

FERNANDES, R. S. Síntese e caracterização de hidrogéis nanoestruturados contendo argila e zeólita com potencialidade de aplicação em sistemas de liberação controlada de fármacos. 2016. 116. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Ilha Solteira, 2016.

GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, A. H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. *Química Nova*, 33, 1352, 2010.

GUPTA, S. *et al*. Alginate-hydroxyapatite scaffolds: A comprehensive characterization study. *National Library of Medicine,* 15, 555, 2025.

LEE, J. S. *et al*. Three-Dimensional Printable Hydrogel Using a Hyaluronic Acid/Sodium Alginate Bio-Ink. *National Library of Medicine*, 13, 794, 2021.

LI, J.; YANG, Y.; HE, X.; WEI, X.; TAN, Q.; WANG, Y.; XU, S.; CHANG, S.; LIU, W. Biocompatibility and osteointegration capability of β-TCP manufactured by stereolithography 3D printing: In vitro study. *Open Life Sciences*, 18, 20220530, 2023.

NISHIYAMA, Y.; HANAFUSA, T.; YAMASHITA, J.; YAMAMOTO, Y.; ONO, T. Adsorption and removal of strontium in aqueous solution by synthetic hydroxyapatite. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 307, 1279, 2016.

OLEKSY, M.; DYNAROWICZ, K.; AEBISHER, D. Rapid Prototyping Technologies: 3D Printing Applied in Medicine. *Pharmaceutics*, 15, 2169, 2023.

PAYANDEHJOO; KWOK. Embedding ionic hydrogel in 3D printed human-centric devices for mechanical sensing. *Journal of Manufacturing Processes*, 100, 1, 2023.

PEROGLIO, M.; GREMILLARD, L.; CHEVALIER, J.; CHAZEAU, L.; GAUTHIER, C.; HAMAIDE, T. Toughening of bio-ceramics scaffolds by polymer coating. *Journal of the European Ceramic Society*, 27, 2679, 2007.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, A. M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. *Química Nova*, 38, 7, 957, 2015.

RANDAZZO, M., et al. 3D printing in neurosurgery: a systematic review. *Surgical Neurology International*, 7, 33, S801, 2016.

RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; LEMONS, J. E. Biomaterials Science: An evolving, multidisciplinary endeavor. In: RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; LEMONS, J. E. (Eds.). *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*. Oxford: Elsevier, 2013.

SCHUBERT, C.; LANGEVELD, M.; DONOSO, L. Innovations in 3D printing: a 3D overview from optics to organs. *The British Journal of Ophthalmology*, 98, 159, 2014.

SEOL, Y.-J.; PARK, D. Y.; PARK, J. Y.; KIM, S. W.; PARK, S. J.; CHO, D.-W. A new method of fabricating robust freeform 3D ceramic scaffolds for bone tissue regeneration. *Biotechnology and Bioengineering*, 110, 1444, 2013.

SEZEN, S. Novel alginate-hydroxyapatite composite cryogel for bone regeneration. *Materials Today: Low-Dimensional Systems*, 42, 102456, 2025.

SINHA, V.; CHAKMA, S. Advances in the preparation of hydrogel for wastewater treatment: A concise review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7, 103295, 2019.

SOUSA, A. C. *et al.* Hybrid scaffolds for bone tissue engineering: Integration of composites and bioactive hydrogels. *Biomaterials Advances*, 166, 214042, 2025.

SULTANA, N. *et al*. Biocomposite Scaffolds for Tissue Engineering: Materials, Fabrication Techniques and Future Directions. *Materials*, 17, 5577, 2024.

TAVAKOLI, J.; LAISAK, E.; GAO, M.; TANG, Y. AIEgen quantitatively monitoring the release of Ca2+ during swelling and degradation process in alginate hydrogels. *Materials Science and Engineering: C,* 104, 109951, 2019.

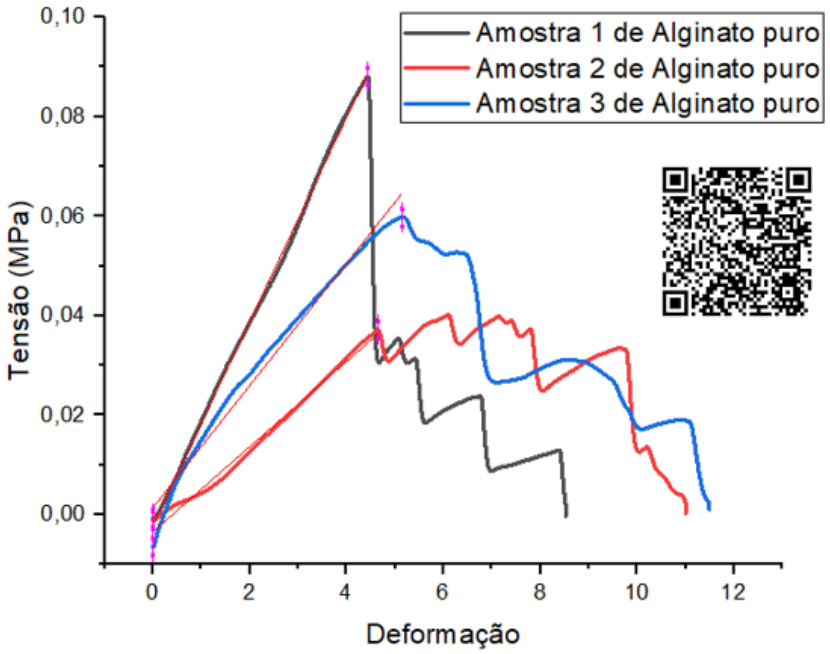
VAZ, G. M. R. Printabilidade de biotinta para processos de bioimpressão 3D por extrusão: abordagem de design e parâmetros de impressão. 2021. 91. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade de Brasília, 2021.

VURAL, C.; ODABAS, O.; KORKUSUZ, P.; SAĞLAM, Y. S. Cranial bone regeneration via BMP-2 encoding mesenchymal stem cells. *National Library of Medicine*, 45, 544, 2026.

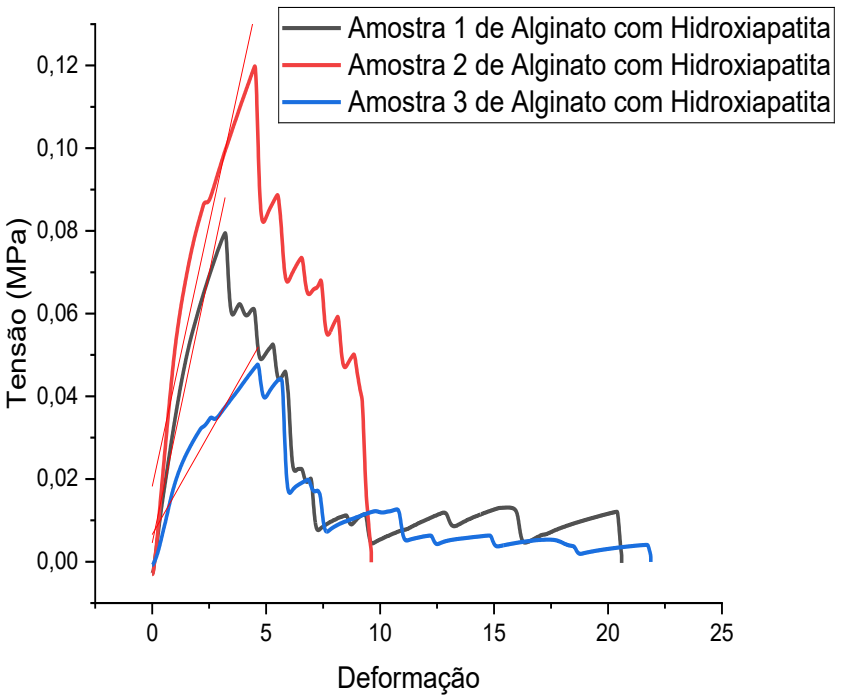
YAMAUCHI, K. et al. Swelling behavior of calcium ion-crosslinked sodium alginate in an in vitro hemostatic tamponade model. *National Library of Medicine*, 265, 131060, 2024.

ZHENG, T. Injectable sustained-release hydrogel for high-concentration antibody delivery. *RSC Pharmaceutics*, 2, 186, 2025.

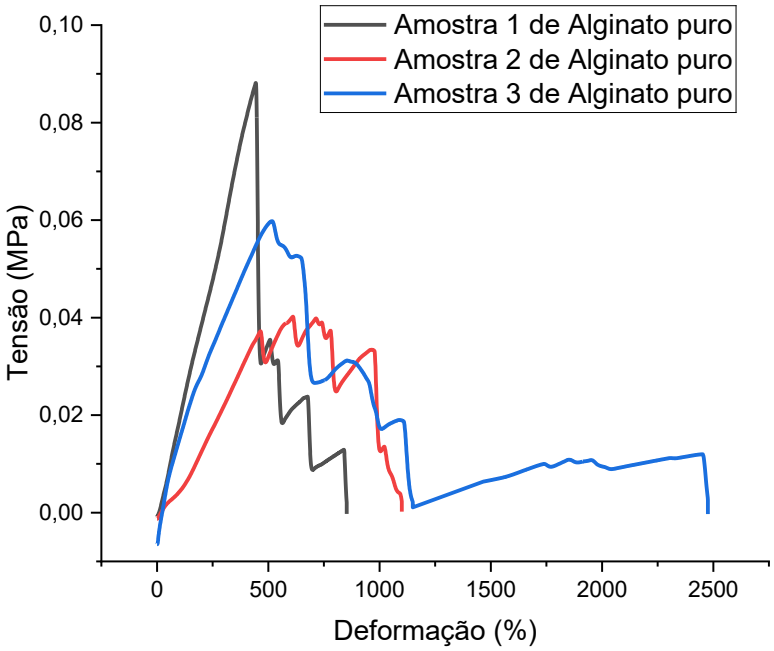
Anexo 1: Gráfico de Tensão x Deformação das três amostras de AC puro, necessário para os cálculos dos módulos de Young.



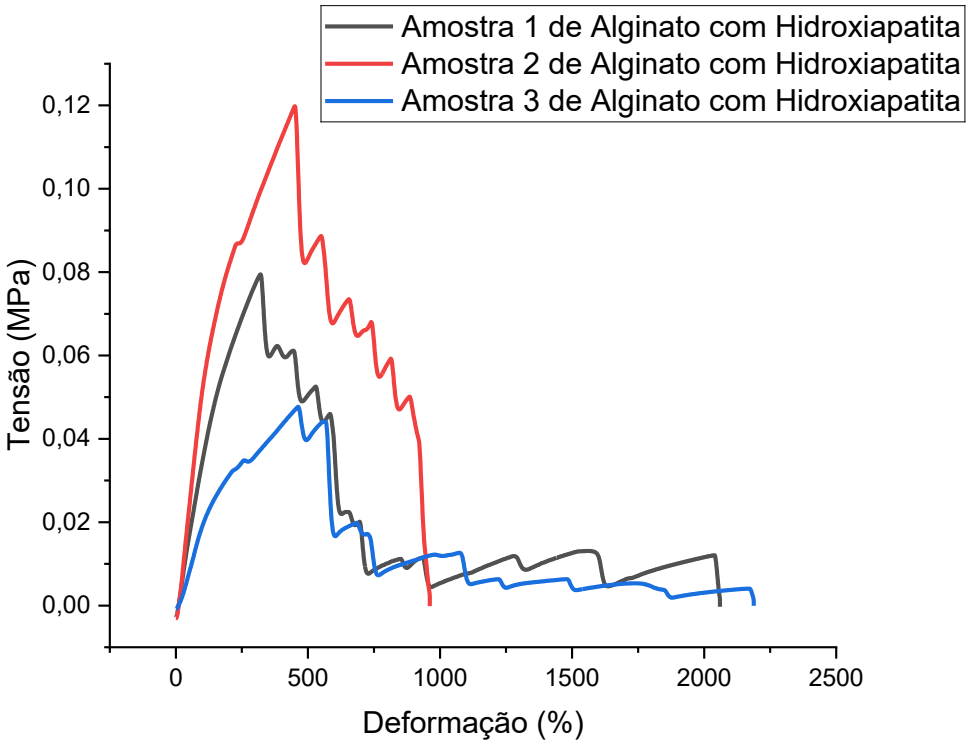
Anexo 2: Gráfico de Tensão x Deformação das três amostras de AS com HA, necessário para os cálculos dos módulos de Young.



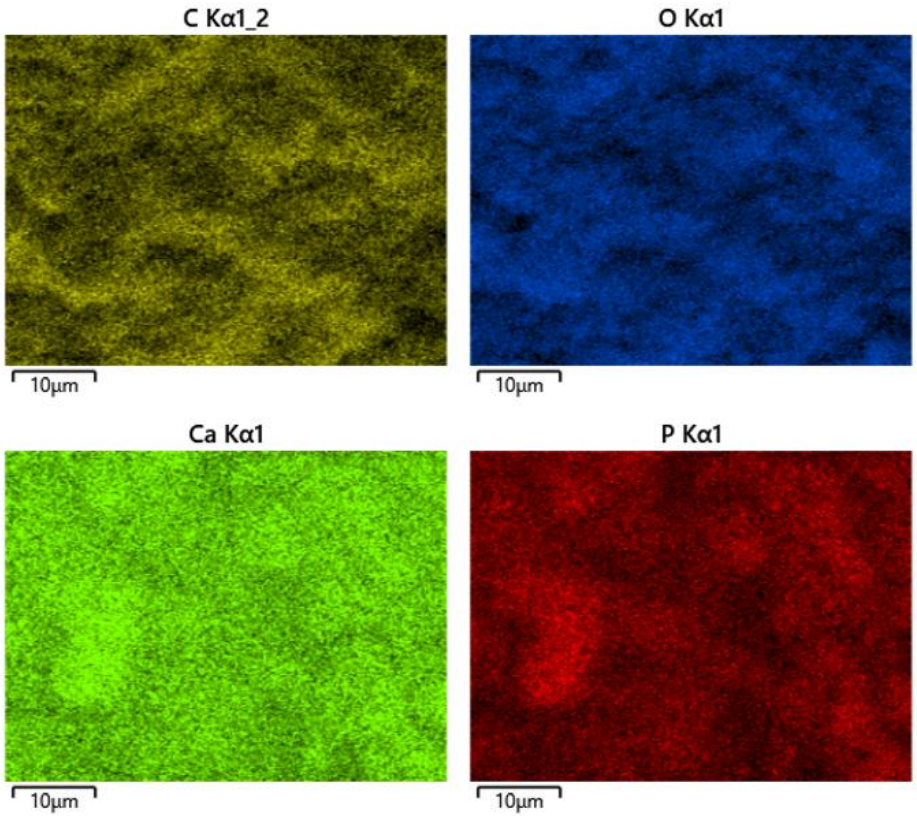
Anexo 3: Gráfico de Tensão x Deformação das três amostras de AC puro, necessário para extrair as deformações percentuais.



Anexo 4: Gráfico de Tensão x Deformação das três amostras de AC com HA, necessário para extrair as deformações percentuais.

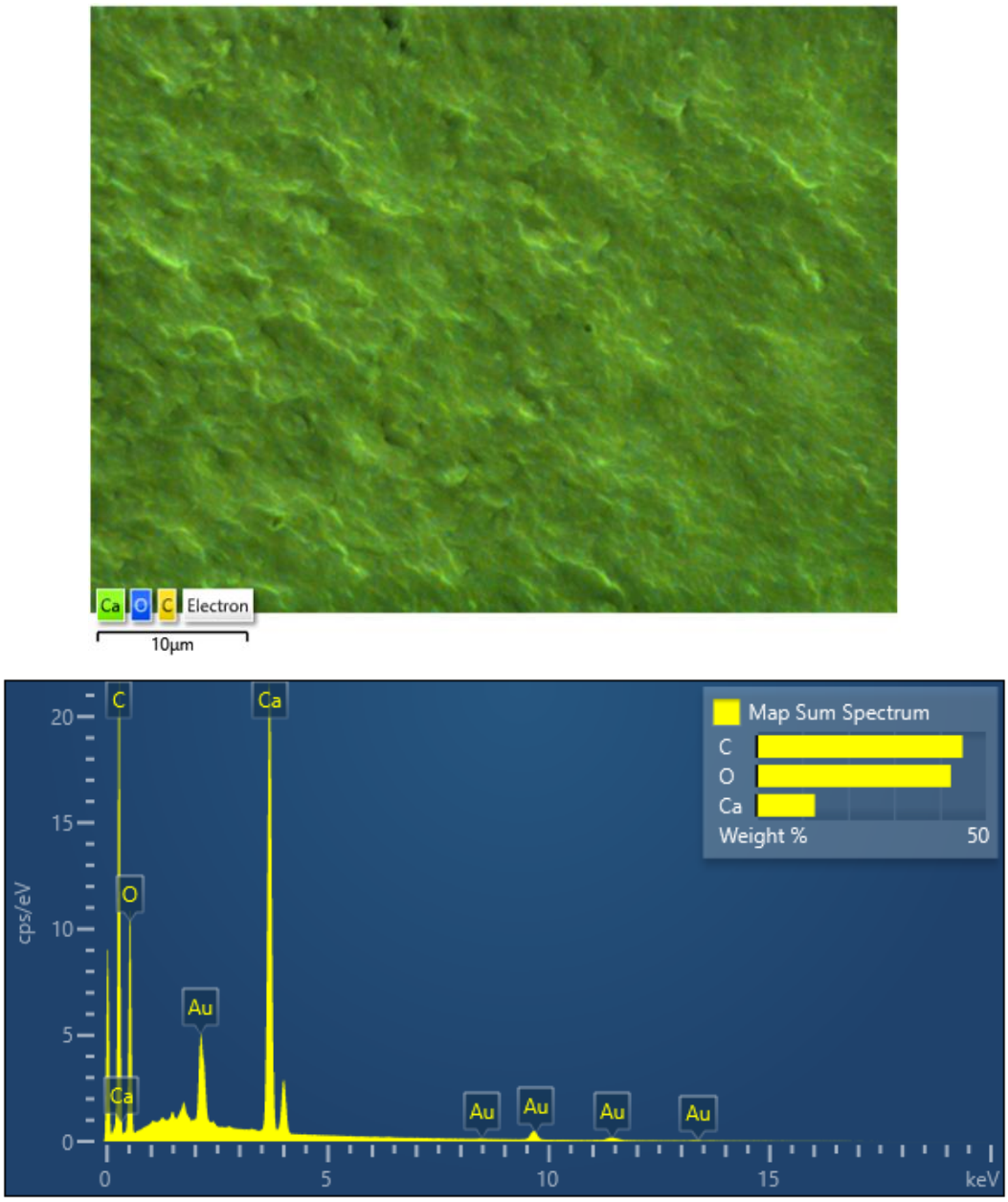


Anexo 5. Colorações representativas no EDX dos elementos químicos presentes no AS e na HA.



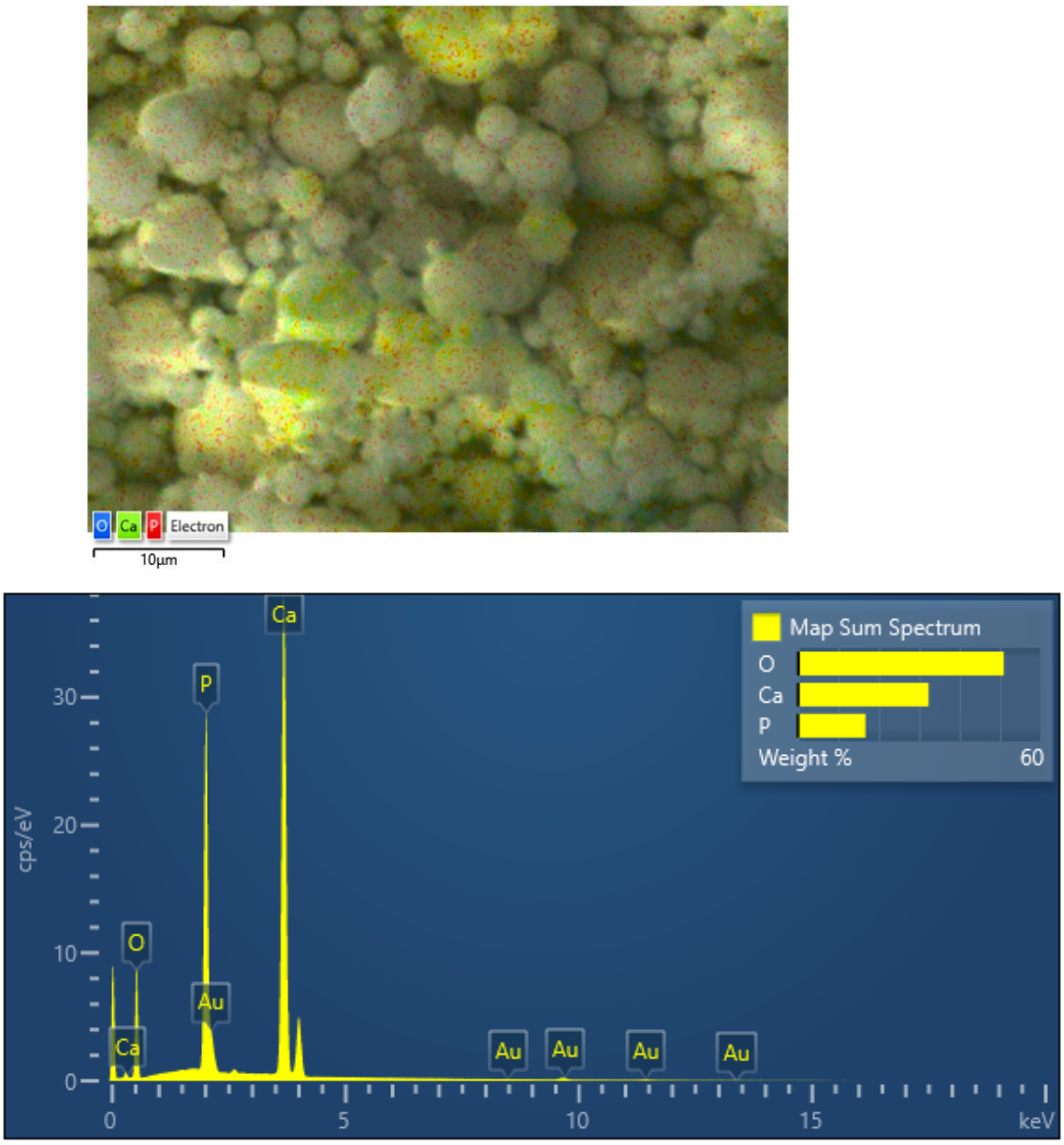
Fonte: Elaboração própria

Anexo 6. EDX referente aos *scaffolds* de AC.



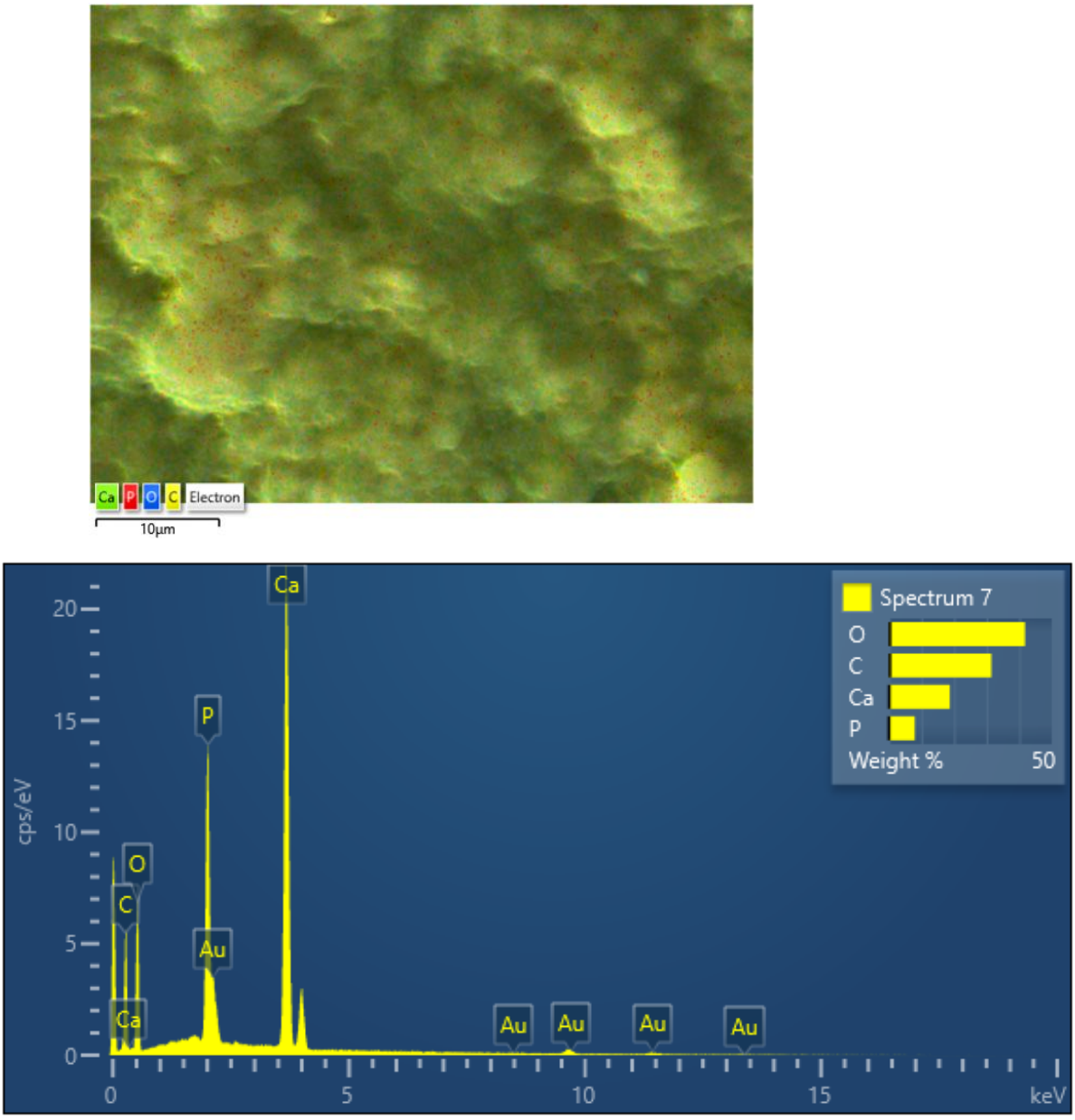
Fonte: Elaboração própria

Anexo 7. EDX referente à HA pura.



Fonte: Elaboração própria

Anexo 8. EDX referente aos *scaffolds* de AC contendo HA.



Fonte: Elaboração própria