

Síntese e Dopagem de Scaffolds com Materiais Luminescentes para Sensores Ópticos de Temperatura

Karoline V. S. Carvalho^{1,2}, Karina F. Santos¹, Juliana Daguano¹, Claudio Y. Morassuti^{1*}

¹ CTI Renato Archer - Campinas/SP - Biofabricação

² Universidade Estadual de Campinas – Campinas/SP

karoline.carvalho@cti.gov.br
[claudio.morassuti@cti.gov.br*](mailto:claudio.morassuti@cti.gov.br)

Resumo

Scaffolds são estruturas tridimensionais amplamente utilizadas na regeneração de tecidos, exigindo materiais biocompatíveis e funcionalmente avançados. Neste contexto, materiais fluorescentes têm se destacado como ferramentas de rastreamento não invasivo, permitindo monitorar a interação dos scaffolds com sistemas biológicos. Este estudo teve como objetivo desenvolver tintas fluorescentes baseadas em Han Purple (HP) para aplicações em impressão 3D e sensores ópticos responsivos à temperatura. Foram preparadas tintas contendo polietilenoglicol e nanosilicato Laponita (7,5%), combinadas com HP em concentrações de 0,5% e 2%. As formulações foram impressas por extrusão em 3D e caracterizadas por FTIR, MEV e análises ópticas. Os resultados revelaram boa estabilidade química, distribuição uniforme das partículas e emissão fluorescente no intervalo de 850-1000 nm sob excitação entre 475-700 nm. Conclui-se que o HP é um material promissor para o desenvolvimento de sensores fluorescentes aplicados à impressão 3D, oferecendo novas perspectivas para a área biomédica.

Palavras-Chave: Púrpura Han ; Fluorescência; Temperatura; Impressão 3D; Sensores ópticos

Abstract

Scaffolds are three-dimensional structures widely used in tissue regeneration, requiring biocompatible and functionally advanced materials. In this context, fluorescent materials have emerged as non-invasive tracking tools, enabling the monitoring of scaffold interactions with biological systems. This study aimed to develop fluorescent inks based on Han Purple (HP) for applications in 3D printing and temperature-responsive optical sensors. Inks containing polyethylene glycol and Laponite nanosilicate (7.5%) were prepared and combined with HP at concentrations of 0.5% and 2%. The formulations were 3D-printed using an extrusion-based technique and characterized by FTIR, SEM, and optical analyses. The results revealed good chemical stability, uniform particle distribution, and fluorescent emission in the 850-1000 nm range under excitation between 475-700 nm. It is concluded that HP is a promising material for developing fluorescent sensors applied to 3D printing, offering new perspectives for biomedical applications.

Keywords: Han purple; Fluorescence; Temperature; 3D printing; Optical sensors

1. Introdução

A busca por materiais com propriedades únicas é essencial para o avanço da ciência e da tecnologia, especialmente na área biomédica. Um desses materiais promissores é o Han Purple (HP), um pigmento histórico que tem despertado interesse recente devido às suas notáveis propriedades fluorescentes e ao seu potencial em aplicações biomédicas.

Desenvolvido na China antiga por volta de 700 a.C., o HP é um pigmento de coloração arroxeadas, utilizado para decorar vasos, tijolos, paredes, azulejos e outros objetos. Na antiguidade, apenas a China dominava a fabricação desse material, mantendo o processo em segredo e reservando seu uso para a elite. Ao longo dos séculos, os artesãos chineses aperfeiçoaram a técnica, produzindo tons de púrpura cada vez mais vibrantes (Chen et al., 2014; Santos et al., 2024).

A HP cuja fórmula química é BaCuSi₂O₆, destaca-se pela sua complexa síntese e propriedades fluorescentes sob condições específicas. Sua produção envolve a combinação precisa de precursores como carbonato de bário (BaCO₃), dióxido de silício (SiO₂) e óxido de cobre (CuO), seguida por processos térmicos rigorosamente controlados (Johnson-McDaniel

& Salguero, 2014a; Loch et al., 2020; Pozza et al., 2000) .Essa composição única confere ao HP uma fluorescência na faixa do espectro visível, o que tem atraído interesse recente em sua aplicação como sensor biomédico e marcador fluorescente em ensaios biológicos. As propriedades ópticas do HP também têm sido exploradas para possíveis aplicações em dispositivos de imagem e diagnóstico(Chen et al., 2014; Johnson-McDaniel & Salguero, 2014a).

A fluorescência, característica de certos elementos, resulta da excitação por radiação específica, e sua análise pode fornecer informações valiosas em diversas áreas, desde a física até a medicina (Nicola et al., 2009; Verri et al., 2009). No caso do HP, sua emissão fluorescente no espectro visível tem sido alvo de estudos recentes devido ao seu potencial em aplicações biomédicas.

Além do HP, os biomateriais à base de hidrogéis são amplamente utilizados devido à sua capacidade de absorver e reter grandes quantidades de água, o que os torna especialmente atraentes para a engenharia de tecidos. Esses materiais permitem a fabricação de *Scaffolds* tridimensionais utilizando técnicas aditivas, como a impressão 3D por extrusão (Kyle et al., 2017; Sevcik et al., 2024).

A impressão 3D por extrusão é uma técnica popular para a criação de estruturas complexas, utilizando tintas viscosas, derivadas de biomateriais, que são extrudadas sobre um substrato com alta precisão, controlada por sistemas computadorizados (Kyle et al., 2017; Santos et al., 2022). Um dos polímeros amplamente utilizado nesses processos é o polietilenoglicol (PEG), conhecido por sua versatilidade, embora sozinho não forme hidrogéis. A adição de modificadores reológicos, como a Laponita XLG, um nanosilicato, é essencial para formar as redes tridimensionais necessárias (Santos et al., 2022; Tomás et al., 2018).

Portanto, este estudo tem como objetivo realizar a síntese e caracterização do HP e sua incorporação em hidrogéis, com o intuito de melhorar as propriedades fluorescentes de *scaffolds* baseados na variação de temperatura. Este trabalho busca avançar no entendimento da integração de materiais fluorescentes em hidrogéis para aplicações em engenharia de tecidos, contribuindo para o desenvolvimento de novas abordagens na medicina regenerativa.

2. Materiais e métodos

2.1 Materiais

Para a realização deste estudo, foram utilizados os seguintes materiais: Polietilenoglicol-400 (PEG) de MM 380-420 g.mol⁻¹ (Dinâmica), Laponite XLG da (Colormix), e os reagentes para a síntese do Han Purple (HP), que incluem carbonato de bário (BaCO₃), dióxido de silício (SiO₂) e óxido de cobre (CuO), adquiridos de (Dinâmica).

2.2 Síntese da Han Purple (HP)

Para a obtenção do pigmento HP, foram misturados carbonato de bário (BaCO₃), dióxido de silício (SiO₂) e óxido de cobre (CuO) nas proporções molares de 1:2:1, respectivamente, conforme reportado anteriormente por McDaniel e Salguero (2014). A homogeneização dos materiais foi realizada utilizando o equipamento SpeedMixer™ (Hauschild DAC 250, Alemanha). Após a homogeneização, a mistura de pós foi submetida a ciclos térmicos de sinterização. Inicialmente, os pós foram aquecidos a 1000°C com uma taxa de aquecimento de 7°C/min. Após essa etapa, os pós foram desaglomerados e sujeitos a um segundo ciclo térmico a 1050°C, com uma taxa de aquecimento de 5°C/min, por 3 horas. Após o processo de sinterização, o material foi resfriado até atingir a temperatura ambiente de 25°C (Johnson-McDaniel & Salguero, 2014b). A equação global (Eq. 1), que considera a decomposição do BaCO₃ e a subsequente formação do HP, é utilizada para descrever a reação química envolvida, é:



2.3 Preparação dos hidrogéis dopado com a HP

Para a obtenção dos hidrogéis de PEG-Laponita a 7,5% (P7L), o método descrito por Santos e colaboradores (2022) foi utilizado. Inicialmente, a solução de PEG com concentração de 44% (v/v) foi misturada com Laponita num teor de 7,5% (m/v) utilizando o misturador SpeedMixer™ (Hauschild) a uma velocidade de 1000-1200 rpm por 2 minutos (Daguano et al., 2022; Santos et al., 2024). O gel resultante foi então mantido em refrigeração por 24 a 48 horas a uma temperatura de 4-8°C para seu envelhecimento.

Após a preparação do gel P7L, diferentes concentrações de Han Purple (HP) foram incorporadas, com 0,5% e 2% (m/m). As tintas contendo HP foram submetidas a agitação novamente no SpeedMixer™ a 1000-1200 rpm por 2 minutos. Após a mistura, as tintas foram

condicionadas em refrigeração até o momento da impressão, a Figura ilustra o processo desde obtenção da HP (Etapa 1) até o processo de impressão de preparação das tintas até a impressão (Etapa 2):

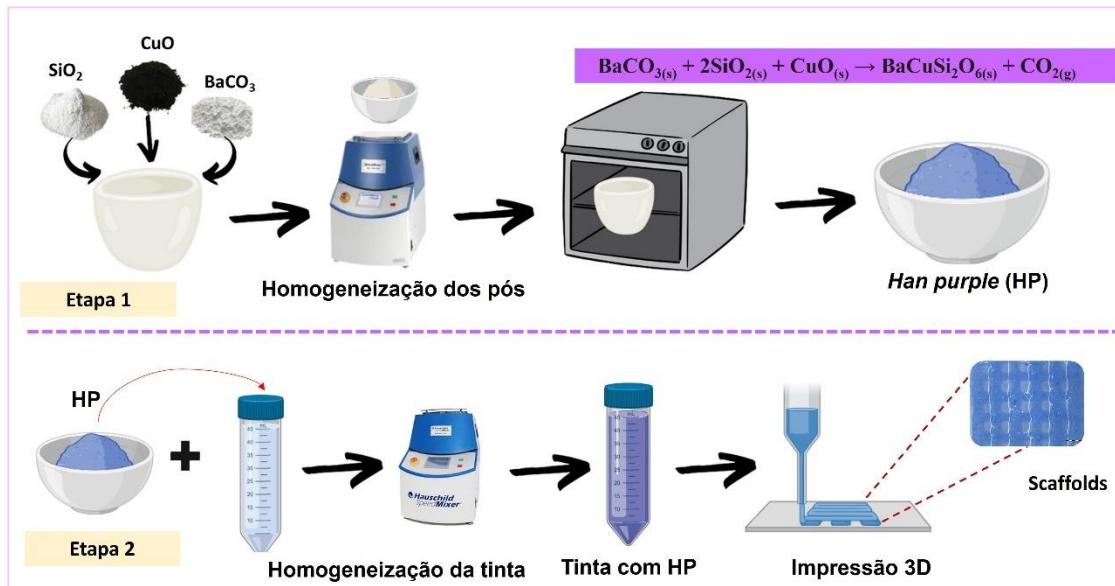


Figura 1 - Esquema ilustrativo de obtenção da HP (Etapa 1); e processo de preparo das tintas até impressão por extrusão das amostras (Etapa 2).

2.4 Impressão dos *Scaffolds* baseada em extrusão

Os *Scaffolds* foram impressos utilizando o software BioScaffold AV.2, que gerou os dados de impressão com dimensões de 10 mm x 10 mm x 2 mm e compostos por 10 camadas. A velocidade de impressão foi de 12 mm/s e o bico utilizado tinha um diâmetro de 410 μm . A impressão foi realizada na impressora modelo 593iCAN, equipada com cabeçote de extrusão (Dávila et al., 2022)(593iCAN, Brasil).

Para determinar a fidelidade de forma dos *scaffolds* obtidos, foi calculado o poro geométrico (Pr) para $n = 5$, métrica que auxilia na avaliação da precisão das estruturas produzidas em relação ao design projetado (Naghieh & Chen, 2021). O cálculo foi realizado com base na Equação (2), apresentada a seguir:

$$\frac{2}{16A} \quad \text{Eq. (2)}$$

Onde: (A) É a área do poro; (L) é o perímetro do poro; (Pr) poro geométrico.

2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi realizada com o auxílio do equipamento FEG-MIRA 3 (TESCAN, República Tcheca). As amostras particuladas foram recobertas com uma camada de ouro com espessura de 10 nm.

2.6 Espectroscopia no infravermelho por Transformada de Fourier com Reflexão total atenuada (FTIR-ATR)

A composição química das amostras foram avaliadas utilizando o equipamento Perkin Elmer (Spectrum 100), no modo de reflexão atenuada (ATR). Os espectros foram adquiridos na faixa de 450 a 4500 cm⁻¹, com resolução de 4 cm⁻¹ e varredura de 16 vezes por amostra. Os dados obtidos dos espectros de absorção foram coletados e tratados com o auxílio do software Origin 8.5.

2.7 Espectroscopia de excitação e emissão

Foi utilizado o equipamento Fluorímetro (HORIBA Instruments Incorporated) para realização das medições dos espectros de emissão (800nm à 1000nm) e excitação (400 à 700nm). Os pós de HP foram inseridos em uma cubeta de quartzo com água deionizada. As fendas de excitação e emissão foram ajustadas para 5nm e um tempo de integração de 2 segundos foi utilizado. Cada espectro é uma média de 5 aquisições por excitação. A excitação foi variada de 5 em 5 nm, de 400 a 700 nm. Cada espectro foi normalizado pela intensidade da linha de excitação correspondente.

Resultados e Discussão

Esta seção apresenta uma visão geral e discussão dos resultados obtidos na análise das amostras de HP sintetizado, bem como sua aplicação nas tintas à base de P7L. As tintas foram formuladas como P7HP-0,5 e P7HP-2, com concentrações de HP de 0,5% e 2%, respectivamente, e foram impressas utilizando a técnica de impressão 3D por extrusão.

2.8 Análise morfológica do pó de HP após síntese

A Figura 1 é apresentada a micrografia do pó de HP após a sua síntese.

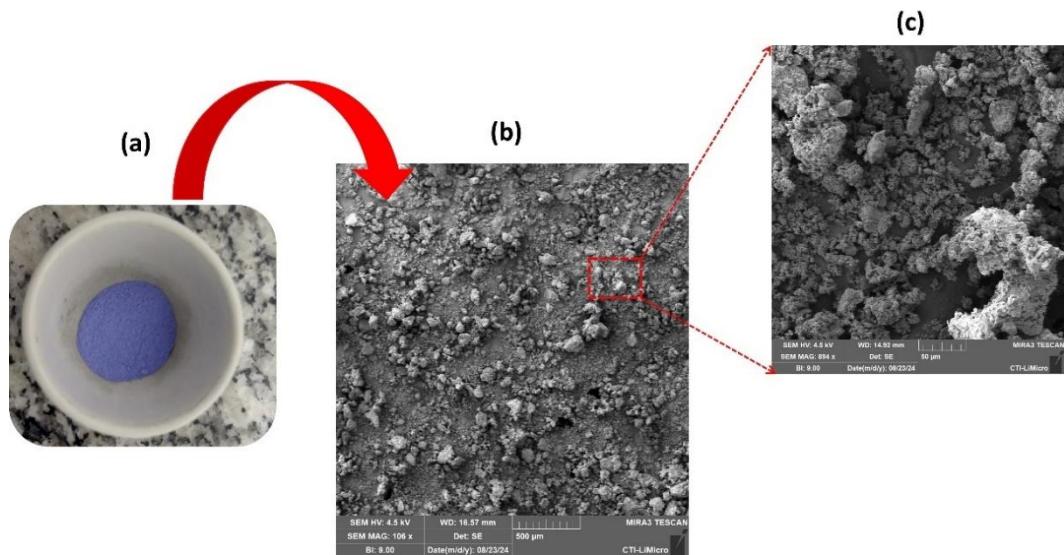


Figura 2 - Micrografia do pó de HP após a síntese e a morfologia de suas partículas. Sendo (a) pós sinterização e (b e c) correspondem a morfologia do pó.

Observa-se na Figura 2(a) que o pó de HP foi obtido com sucesso e apresentou a coloração púrpura esperada, devido à sua composição à base de carbonato de bário. A micrografia exibida nas Figuras 2(b) e 2(c) revela que a morfologia da amostra apresentou uma distribuição de partículas menos homogênea do que o esperado para esse pigmento. As imagens mostram que as partículas de HP possuem formatos irregulares e, devido à ausência do tratamento usualmente aplicado a esse tipo de material, foi observada uma quantidade significativa de aglomerados (Pozza et al., 2000). Além disso, os tratamentos térmicos realizados resultaram em partículas com dimensões aumentadas, indicando que a sinterização favoreceu uma maior conexão entre as partículas, conferindo-lhes um aspecto mais alongado (Johnson-McDaniel & Salguero, 2014a; Pozza et al., 2000). Em trabalhos recentes reportados por Santos et al. (2024) observaram mesmo fenômeno na obtenção da HP, que a distribuição da HP foi menos homogênea do que o esperado. Também observaram irregularidades na morfologia e agregados devido à ausência de etapas convencionais de tratamento (Santos et al., 2024).

2.9 Análise composicional das tintas contendo HP por FTIR-ATR

Figura 3, são apresentados os espectros FTIR das tintas obtidas. A tinta P7L, que serve como controle, não contém pigmento, enquanto as tintas HP-0,5% e HP-2% correspondem às formulações preparadas com teores de 0,5% e 2% de HP respectivamente.

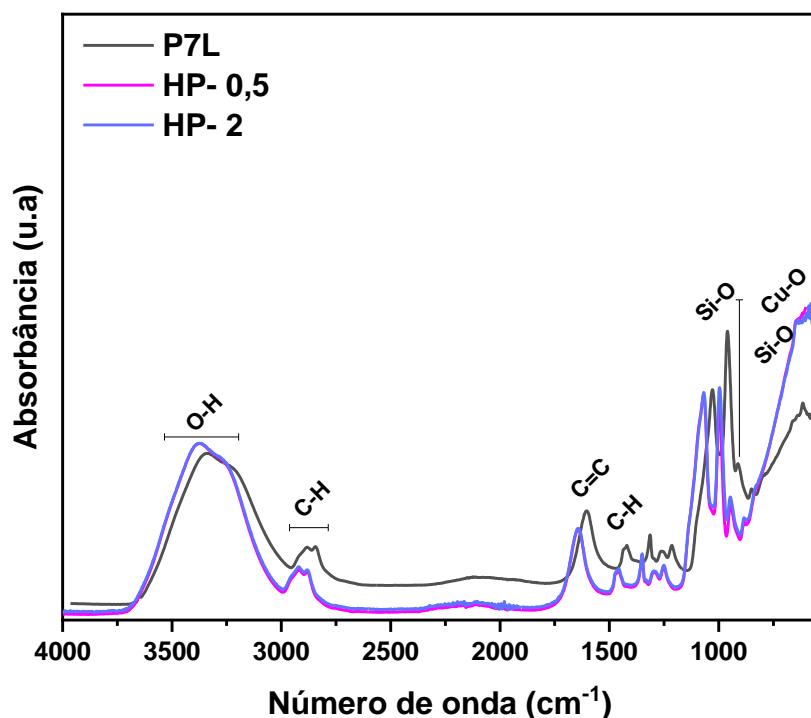


Figura 3 - FTIR das tintas de PLHP-0,5 e PLHP-2 conteúdo teor de HP 0,5 e 2% respectivamente. A Tinta P7L utilizada como controle sem pigmentos presentes.

A curva FTIR do P7L apresenta picos característicos na faixa de 3000-3600 cm^{-1} , atribuídos ao modo de estiramento do grupo O-H, pertencente à solução de PEG. Os picos em 1463, 1352 e 1246 cm^{-1} são atribuídos aos grupos C-H dos grupos alquila do PEG, enquanto o pico em 1090 cm^{-1} é associado ao grupo carbonila. A banda em 980 cm^{-1} pode ser atribuída à ligação Si-O-C, possivelmente devido à adsorção da Laponita nas cadeias de PEG (Daguano et al., 2022; Dávila & d'Ávila, 2019). Para as tintas HP-0,5 e HP-2, observa-se que, de forma análoga ao P7L, a adsorção das partículas de HP também causou um leve deslocamento das bandas, como mostrado na Figura 2. As bandas características do HP ($\text{BaCuSi}_2\text{O}_6$) em 800 e 1100 cm^{-1} estão associadas ao modo de estiramento antissimétrico Si-O, enquanto os picos em 725 cm^{-1} e 676 cm^{-1} correspondem ao estiramento simétrico Si-O (Chen et al., 2014). Isso indica que a tinta obtida não formou novas ligações químicas, mas sim houve a adsorção das partículas de HP nas cadeias poliméricas do PEG (Daguano et al., 2022; Santos et al., 2024).

2.10 Impressão dos *Scaffolds*

Na Figura 4 são apresentados os *Scaffolds* impressos utilizando a técnica de impressão por extrusão. Na Figura 4(a), é possível observar o scaffold contendo 2% de Han Purple (HP), enquanto a Figura 3(b) exibe o scaffold com 0,5% de HP.

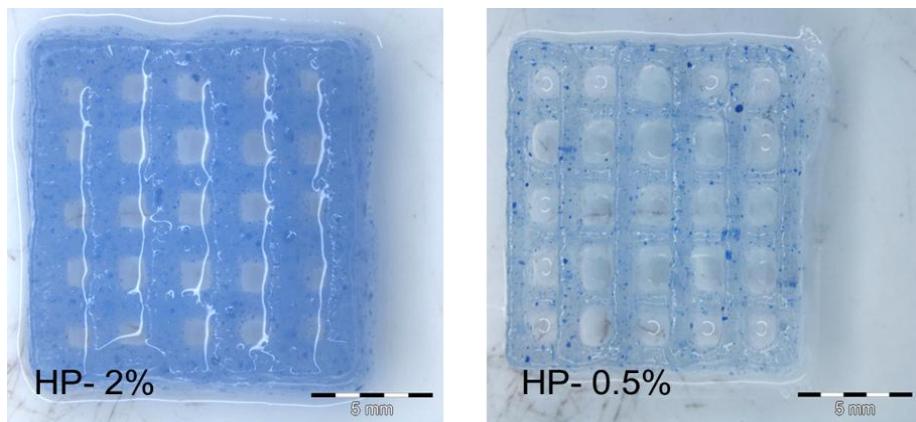


Figura 4 -obtidos após impressão das tintas contento HP nos teores de 0,5 e 2% em sua composição

Ainda na Figura 4, durante a impressão dos *Scaffolds*, foram observadas dificuldades significativas ao utilizar amostras com 2% de partículas de HP, em comparação com as tintas contendo 0,5% de HP. Essas dificuldades podem ser atribuídas à alta concentração de partículas e à sua morfologia irregular, que causou maior dificuldade no fluxo de escoamento da tinta durante o processo de impressão. No entanto, esse fator pode ser contornado com uso de bicos com maiores diâmetros. Apesar desses desafios, como mostrado na Figura 4, os *scaffolds* produzido apresentaram boa fidelidade de forma, com valores de $Pr \sim 0,92$ indicando que os obtidos são semelhantes ao design projetado (Klar et al., 2019; Naghieh & Chen, 2021; Santos et al., 2024).

2.11 Espectroscopia de excitação e emissão – mapa

Na Figura 5 é apresentado o mapa de intensidade do *Scaffolds* de P7L dopado com HP-05%.

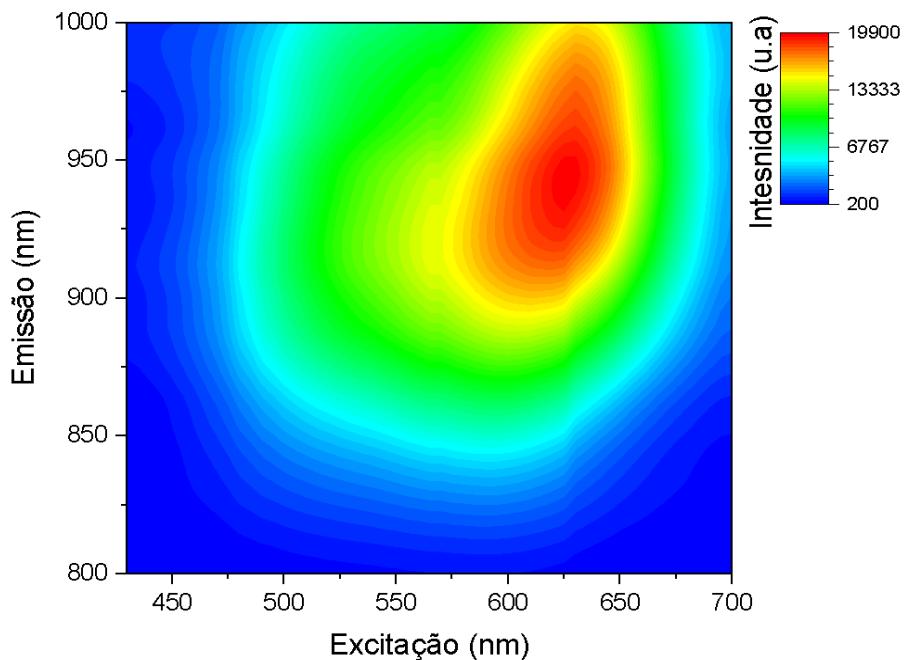


Figura 5 -obtidos após impressão das tintas conteúdo HP nos teores de 0,5 e 2% em sua composição.

Podemos observar que no mapa de excitação e emissão da amostra P7L dopada com HP 0,5 % exibe uma fotoluminescência máxima de emissão em 925 nm e excitação em 612nm, valores semelhantes ao que foi reportado na literatura (Chen et al., 2014; Smith et al., 2009). Possivelmente por causa dos níveis de energia do cobre (Cu^{2+}) com as transições escolhidas para esta análise de termometria óptica. Indicando uma possível aplicação desse material na termometria óptica. No entanto, também observado que a fluorescência do material pode ser afetada por falta de tratamento das partículas, como é realizado com *Egyptian Blue* (EB) pigmento similar a HP (Johnson-McDaniel & Salguero, 2014a).

3. Conclusão

Neste estudo, realizamos a síntese do pó de EB e investigamos sua aplicação em *Scaffolds* à base de PEG-Laponita nas concentrações de 0,5% e 2%. Os resultados mostraram que, após a sinterização, os pós apresentaram partículas com formato mais alongado e menos homogêneo. Observou-se também que a adição do pó à tinta P7L resultou na adsorção do material pelas cadeias do hidrogel, o que foi confirmado por análises FTIR que detectaram interações físicas. Além disso, o HP incorporado ao hidrogel revelou fluorescência após teste no fluorímetro, embora com intensidade reduzida. Esses resultados sugerem que o HP possui

potencial para ser utilizado em hidrogéis, destacando-se como uma inovação, uma vez que sua aplicação como sensor de temperatura ainda não foi relatada na literatura.

Referências

- Chen, Y., Zhang, Y., & Feng, S. (2014). Hydrothermal synthesis and properties of pigments Chinese purple BaCuSi₂O₆ and dark blue BaCu₂Si₂O₇. *Dyes and Pigments*, 105, 167–173. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2014.01.017>
- Daguano, J. K. M. B., Giora, F. C., Santos, K. F., Pereira, A. B. G. C., Souza, M. T., Dávila, J. L., Rodas, A. C. D., Santos, C., & Silva, J. V. L. (2022). Shear-thinning sacrificial ink for fabrication of Biosilicate® osteoconductive scaffolds by material extrusion 3D printing. *Materials Chemistry and Physics*, 287. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2022.126286>
- Dávila, J. L., & d'Ávila, M. A. (2019). Rheological evaluation of Laponite/alginate inks for 3D extrusion-based printing. *International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 101(1–4), 675–686. <https://doi.org/10.1007/s00170-018-2876-y>
- Dávila, J. L., Manzini, B. M., Lopes da Fonsêca, J. H., Mancilla Corzo, I. J., Neto, P. I., Aparecida de Lima Montalvão, S., Annichino-Bizzacchi, J. M., Akira d'Ávila, M., & Lopes da Silva, J. V. (2022). A parameterized g-code compiler for scaffolds 3D bioprinting. *Bioprinting*, 27. <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2022.e00222>
- Johnson-McDaniel, D., & Salguero, T. T. (2014a). Exfoliation of Egyptian blue and han blue, two Alkali earth copper silicate-based pigments. *Journal of Visualized Experiments*, 86. <https://doi.org/10.3791/51686>
- Klar, V., Pere, J., Turpeinen, T., Kärki, P., Orelma, H., & Kuosmanen, P. (2019). Shape fidelity and structure of 3D printed high consistency nanocellulose. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40469-x>
- Kyle, S., Jessop, Z. M., Al-Sabah, A., & Whitaker, I. S. (2017). ‘Printability’ of Candidate Biomaterials for Extrusion Based 3D Printing: State-of-the-Art’. *Advanced Healthcare Materials*, 6(16), 1700264. <https://doi.org/10.1002/adhm.201700264>
- Loch, P., Martin, T., Grüner, M., Kaupp, G., Schwieger, W., & Breu, J. (2020). Synthesis of Large Platelets of Egyptian Blue via Pseudomorphosis after NaRUB-18. *Zeitschrift Fur Anorganische Und Allgemeine Chemie*, 646(18), 1570–1574. <https://doi.org/10.1002/zaac.202000203>
- Naghieh, S., & Chen, X. (2021). Printability—A key issue in extrusion-based bioprinting. In *Journal of Pharmaceutical Analysis* (Vol. 11, Issue 5, pp. 564–579). Xi'an Jiaotong University. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2021.02.001>
- Pozza, G., Ajò, D., Chiari, G., De Zuane, F., & Favaro, M. (2000). Photoluminescence of the inorganic pigments Egyptian blue, Han blue and Han purple. In *Journal of Cultural Heritage* (Vol. 1, Issue 4, pp. 393–398). [https://doi.org/10.1016/S1296-2074\(00\)01095-5](https://doi.org/10.1016/S1296-2074(00)01095-5)

Santos, K. F., Dávila, J. L., D'ávila, M. A., Rodas, A. C. D., da Silva, J. V. L., & Daguano, J. K. M. B. (2022). Rheological study of PEG-Laponite-alginate composite hydrogels aiming 3D extrusion-based printing. *Revista Materia*, 27(2). <https://doi.org/10.1590/S1517-707620220002.1374>

Santos, K. F., Morassutia, C. Y., Ribeiro, D. A., Carvalho, K. V. S., Sabino, M. A. G. ;, Silva, J. V. L., & Daguano, J. K. M. B. (2024). Photoluminescent gels based on han purple: new frontiers in biotechnology. *International Journal of Advances in Medical Biotechnology - IJAMB*, 6(2), 91–103. <https://doi.org/10.52466/ijamb.v6i2.129>

Sevcik, M. J., Bjerke, G., Wilson, F., Kline, D. J., Morales, R. C., Fletcher, H. E., Guan, K., Grapes, M. D., Seetharaman, S., Sullivan, K. T., Belof, J. L., & Eliasson, V. (2024). Extrusion parameter control optimization for DIW 3D printing using image analysis techniques. *Progress in Additive Manufacturing*, 9(2), 517–528. <https://doi.org/10.1007/s40964-023-00470-3>

Smith, A. M., Mancini, M. C., & Nie, S. (2009). Bioimaging: Second window for *in vivo* imaging. In *Nature Nanotechnology* (Vol. 4, Issue 11, pp. 710–711). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nnano.2009.326>

Tomás, H., Alves, C. S., & Rodrigues, J. (2018). Laponite®: A key nanoplatform for biomedical applications? *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 14(7), 2407–2420. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2017.04.016>