

Desenvolvimento e avaliação de tintas cerâmicas à base de PEG/Laponita e biovidro 45S5

Denise Sayuri Sato^{1,2}, Kaline do Nascimento Ferreira¹, Juliana Kelmy Macário Barboza Daguano¹

kalinenferreira@outlook.com.br, Juliana.daguano@cti.gov.br

**¹*Divisão de Tecnologias para Produção e Saúde
CTI/MCTI Renato Archer – Campinas/SP***

²*Universidade Estadual de Campinas UNICAMP – Campinas/SP*

Abstract: *Hydrogels have been gaining some importance within the field of tissues engineering because of 3D bioprintings, especially because of its capacity of forming tridimensional structures, also known as scaffolds. They mimitize the natural cellular microenvironment, turning fundamental the making of the compositions that combine good mechanical stability and response to physiological stimulus. This research aims the development and evaluation of ceramic pastes containing PEG, Laponite and Bioglass 45S5.*

Resumo. *Hidrogéis vêm ganhando destaque na bioimpressão 3D voltada para a engenharia de tecidos, principalmente por sua capacidade de formar estruturas tridimensionais conhecidas como scaffolds. Esses mimetizam o microambiente celular natural, tornando-se fundamental desenvolver composições que combinem boa estabilidade mecânica e responsividade a estímulos fisiológicos. Este trabalho tem como foco o desenvolvimento e a avaliação de tintas cerâmicas preparadas com PEG, Laponita e biovidro 45S5.*

Palavras-chave: *Hidrogéis, tintas cerâmicas, impressão 3D.*

1. Introdução

No campo da bioengenharia e engenharia de tecidos, a bioimpressão tem se destacado como uma área promissora, impulsionada pela versatilidade do processo de impressão 3D. Concomitantemente à engenharia de bioprocessos, atua no estudo de técnicas voltadas à reconstrução de novos tecidos e órgãos. Entre os materiais utilizados nos processos de bioimpressão, os hidrogéis ocupam um lugar de destaque [1].

Estes são compostos por moléculas hidrofílicas com grande potencial para encapsular células, formando as chamadas biotintas, que possibilitam a produção de estruturas tridimensionais semi-sólidas e estáveis, nas quais as células podem aderir, diferenciar-se e proliferar. Essas estruturas tridimensionais são baseadas na deposição de materiais camada por camada, para que sejam depositadas células, buscando reproduzir estruturas biológicas com alta fidelidade e biocompatibilidade. Para o sucesso dessa técnica, é essencial que as biotintas utilizadas sejam capazes de formar filamentos contínuos e uniformes durante a impressão 3D, garantindo precisão estrutural e estabilidade [2].

Dentre os hidrogéis utilizados para a bioimpressão, o uso do poli(etilenoglicol) (PEG) tem atraído atenção por suas diversas propriedades, principalmente por ser biocompatível, de degradação controlável, imunogênico, por apresentar capacidade adsorvente e ser altamente hidrofílico. Por sua vez, o biovidro 45S5 é um dos biomateriais importantes para o reparo de defeitos ósseos, sendo um vidro de silicato degradável com alto teor de cálcio e capaz de formar uma ligação com tecidos moles e duros. Assim, quando o vidro bioativo interage com fluidos biológicos, pode formar uma camada de hidroxiapatita carbonatada semelhante ao mineral ósseo em sua superfície [3].

Portanto, é fundamental estudar a capacidade de impressão dessas tintas visando viabilizar a produção de *scaffolds* com elevada precisão geométrica, robustez mecânica e estabilidade estrutural, estabelecendo fundamentos para futuras aplicações em regeneração óssea.

2. Objetivo

O presente trabalho tem como objetivo principal desenvolver e caracterizar hidrogéis à base de poli(etilenoglicol) (PEG), nanosilicato Laponita e biovidro 45S5, com a finalidade de uso como tintas cerâmica para impressão 3D por extrusão, por meio da avaliação da estabilidade estrutural e da extrudabilidade.

3. Metodologia

3.1) Método de preparo da pasta cerâmica com 45S5

O gel utilizado para o preparo das tintas de 40 e 60% de biovidro 45S5 foram preparados dispersando 7,5% em massa de Laponita XLG (BYK/Colormix Ltda., Brasil) em uma solução aquosa contendo 44% v/v de (PEG). A mistura foi mantida em repouso a 8 °C por 48 horas para formação do gel. Em seguida, os pós cerâmicos foram incorporados ao hidrogel utilizando um SpeedMixer. Após homogeneização, foram adicionados PEG (400 g mol⁻¹) e dibutilftalato (DBP, 278,35 g mol⁻¹; Synth, Brasil) como dispersantes, e a mistura foi novamente homogeneizada por 4 minutos. Esta formulação segue o método descrito por [4]. As tintas cerâmicas produzidas seguiram as proporções de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Formulação da pasta cerâmica com 45S5.

<i>Componente</i>	<i>Gel</i>	<i>45S5</i>	<i>DBP</i>	<i>PEG (400)</i>
60%	5,25g	9,57g	0,25 ml	12 gotas
40%	5,245g	4,85g	0,25 ml	12 gotas

3.2) Caracterização do biovidro 45S5

O pó do biovidro 45S5 foi analisado por difração de raios X com equipamento XDR 600 da Shimadzu com radiação Cu-K α ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) e 2θ na faixa entre 10° e 80° . O objetivo era identificar as fases cristalinas e amorfas.

O estudo da distribuição do tamanho de partículas de material foi realizado por meio da técnica de granulometria a laser, sendo essa, uma técnica amplamente utilizada como forma de determinar a distribuição do tamanho de partículas em pó e suspensão, com o objetivo de avaliar a distribuição de tamanho das partículas e sua adequação ao processo de extrusão. Portanto, foi utilizado um analisador de distribuição de tamanho de partículas com sistema de difração de raios laser (HORIBA, modelo PARTICA LA-950-V2), com bomba interna para dispersantes aquosos, utilizando dispersão úmida em álcool isopropílico.

As características morfológicas das partículas foram analisadas por meio da microscopia eletrônica de varredura, equipamento da marca Tescan MIRA 3. O pó do biovidro 45S5 foi disperso em álcool isopropílico e, posteriormente depositado diretamente na fita de carbono, sendo subsequencialmente recoberto com ouro, em um sputtering de pulverização catódica (BALTEC modelo BALZERS SCD 050). As amostras foram escaneadas no MEV, utilizando uma distância de trabalho (WD) de 15 mm e tensão de aceleração de 15 kV.

3.3) Teste de filamento

Para o teste de filamento, cada formulação foi carregada em seringas de 10ml, a mesma usada na bioimpressora. As tintas cerâmicas foram extrudadas sobre uma estrutura em formato de ponte [Figura 1], contendo lacunas de 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5 cm, utilizando a ponteira de 20G (diâmetro interno de $0,60 \pm 0,02 \text{ mm}$) para que fosse analisada a fluidez, rompimento do filamento e colapso lateral das tintas de 40 e 60%.



Figura 1. Exemplo de estrutura usada para a realização do teste de filamento.

3.4) FTIR - Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

A caracterização das amostras foi realizada por meio de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Figura 2, no espectrômetro de Infravermelho -

Spectrum 100 - Perkin Elmer, com o objetivo de identificar os grupos funcionais presentes nos hidrogéis formulados. As amostras analisadas correspondem à formulação em gel composta por PEG, Laponita e DBP, e com a adição de 60% de biovidro 45S5. Os espectros foram adquiridos em condições controladas, utilizando número de varreduras igual a 32 e resolução de 4 cm^{-1} , cobrindo a faixa de 4000 a 400 cm^{-1} , a fim de garantir boa resolução e reprodutibilidade dos dados. As medições foram realizadas em temperatura ambiente, cobrindo a faixa espectral de interesse para os constituintes da formulação.



Figura 2. fluxograma do processo de formulação das pastas, caracterizadas por espectroscopia no infravermelho com transformador de Fourier (FTIR).

3.5) Análise reológica

As composições foram caracterizadas no reômetro a fim de obter informações sobre sua imprimibilidade, utilizando um equipamento compacto modular Anton Paar MCR-102. Os testes foram conduzidos a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, usando uma geometria placa-placa com 50 mm de diâmetro em um espaço de 1 mm. Para determinação de viscosidade, foram realizadas medidas na faixa de taxa de cisalhamento de 1 a 1000 s^{-1} .

4 Resultados

O padrão de difração de raios X (Figura 3) mostra um perfil de material amorfo, com a presença de um grande halo, mas sem a presença de picos de cristalização bem definidos.

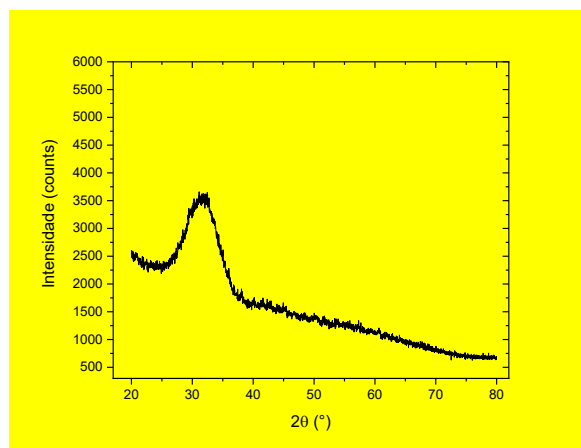


Figura 3. Difratograma de raios X da amostra de biovidro 45S5.

Devido ao fato de que a formulação de pastas cerâmicas para impressão 3D por extrusão é altamente influenciada pela carga adicionada, faz-se extremamente necessário caracterizar o tamanho de partícula do biovidro 45S5 utilizado nesse estudo, uma vez que o excesso de carga cerâmica pode comprometer a reologia e a estabilidade das suspensões. Ainda, altas frações sólidas muitas vezes dificultam a dispersão do aglutinante, promovendo a formação de aglomerados que prejudicam a fidelidade da extrusão e a resolução estrutural.

A Figura 4 apresenta em (a) distribuição do tamanho de partícula de 45S5 por análise de granulometria a laser e (b) imagens obtidas por STEM-MEV dessas partículas. A análise da distribuição do tamanho e das imagens das partículas mostram um material com tendência à aglomeração e tamanho médio maior do que 15µm.

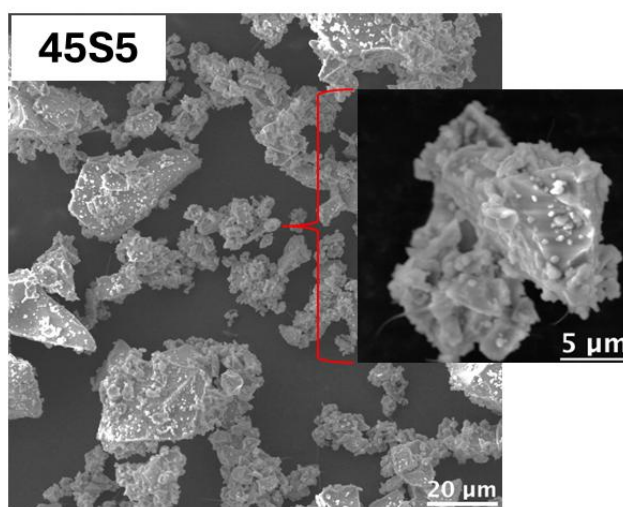
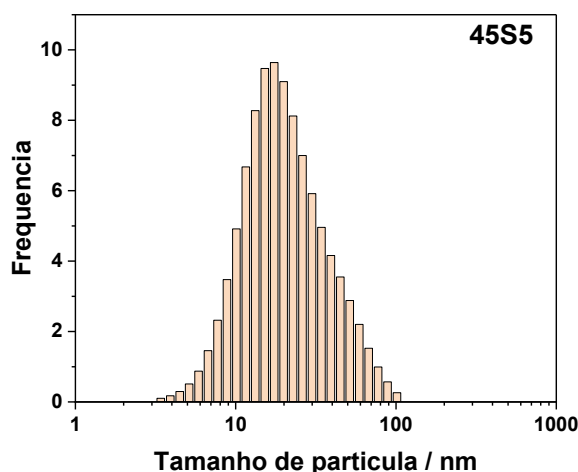


Figura 4. (a) Distribuição do tamanho de partícula do biovidro 45S5 por análise de granulometria a laser, (b) Imagens obtidas por STEM-MEV das partículas do biovidro 45S5.

Para uma compreensão mais aprofundada dos componentes presentes nas formulações estudadas, foram obtidos espectros FTIR das amostras de gel base (PEG/Laponita) e das tintas cerâmicas com 45S5 na concentração de 60%. Observou-se que o gel de PEG/Laponita apresentou bandas características em torno de 3430 cm^{-1} , atribuídas ao estiramento O–H da água adsorvida e dos grupos hidroxila do polímero, além de picos na região de $2920\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$ referentes aos estiramentos C–H alifáticos. A banda intensa próxima a 1630 cm^{-1} corresponde ao modo de deformação da água ligada, enquanto a região de $1000\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$ evidenciou o estiramento assimétrico Si–O–Si da Laponita.

Para a tinta cerâmica contendo 60% de biovidro 45S5, verificou-se a presença das mesmas bandas do gel base, porém com intensificação na região de 900–1100 cm^{-1} devido à contribuição das ligações Si–O–Si e Si–O do biovidro. Adicionalmente, um ombro discreto próximo a 1450 cm^{-1} foi atribuído à presença de grupos carbonato (CO_3^{2-}), possivelmente provenientes da interação com o CO_2 atmosférico durante o preparo. Esses resultados confirmam a incorporação efetiva da carga cerâmica à matriz polimérica.

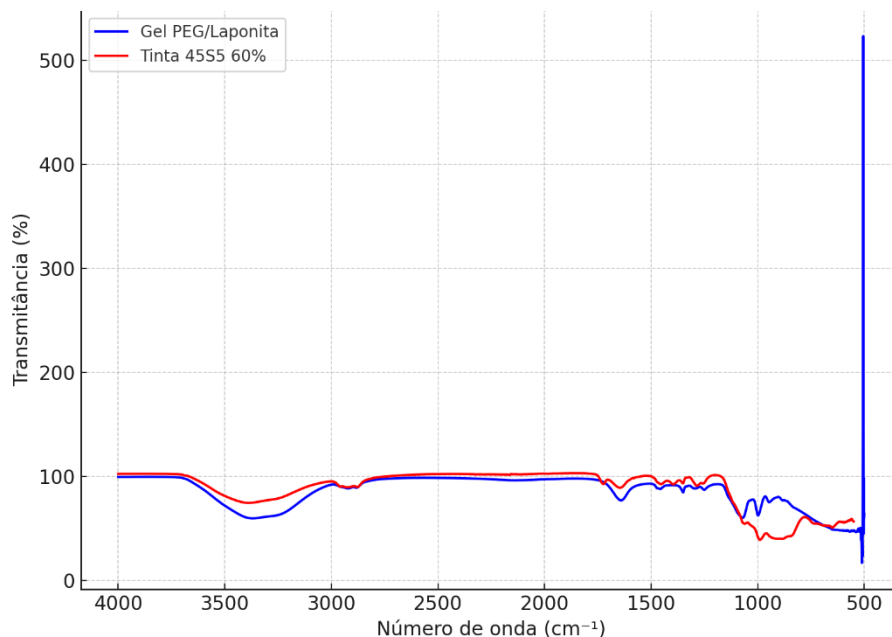


Figura 5. Espectro FTIR comparativo entre gel PEG/Laponita e a tinta 45S5.

A análise FTIR comparativa permitiu identificar diferenças sutis, mas relevantes, entre o gel base e a tinta 45S5 60%. Enquanto o gel apresentou perfil típico de PEG e Laponita, a formulação cerâmica exibiu aumento na intensidade das bandas de Si–O–Si, indicando maior densidade de ligações siloxano resultante da adição do 45S5.

Outro aspecto observado foi o deslocamento leve da banda associada ao estiramento O–H (de 3430 cm^{-1} para ~3415 cm^{-1}), o que pode sugerir interações de hidrogênio mais fortes entre a matriz polimérica e os grupos funcionais do biovidro. Esse fenômeno é coerente com a literatura que descreve a capacidade do 45S5 de formar ligações químicas superficiais com matrizes poliméricas hidrofílicas, favorecendo a estabilidade estrutural.

Os espectros também não mostraram bandas adicionais que indicassem degradação química significativa durante o preparo, corroborando a preservação dos componentes originais. Essa estabilidade é fundamental para assegurar que as propriedades mecânicas e bioativas sejam mantidas ao longo da impressão 3D e aplicação *in vitro*.

O teste de colapso do filamento das pastas cerâmicas de 45S5 40% e 45S5 60% foi conduzido para avaliar a capacidade de extrusão contínua e a manutenção da integridade estrutural dos filamentos impressos sem suporte externo. Conforme apresentado nas Figuras 6 (a) e 6 (b), as pastas cerâmicas foram depositadas sobre uma matriz linear composta por seis pilares, espaçados progressivamente em incrementos de 0,5 cm.

Nos ensaios realizados com a ponteira de 20G, observou-se que apenas a formulação 45S5 40% sofreu ruptura após 1,0 cm de extensão (Figura 6 (a)). Enquanto a formulação 45S5 60% sofreu ruptura após 1,5 cm de extensão. O rompimento dos filamentos da pasta 45S5 40% está diretamente relacionado a carga cerâmica, que não foi o suficiente para a formação de um filamento encorpado, dessa forma, sofrendo maior influência da força gravitacional. Além disso, sua menor viscosidade, resultante da reduzida fração de carga cerâmica em comparação à tinta 45S5 60%, indica comportamento reológico menos pseudoplástico e baixa tixotropia. Essas características comprometem a estabilidade estrutural e dificultam a manutenção dos filamentos sem colapso.

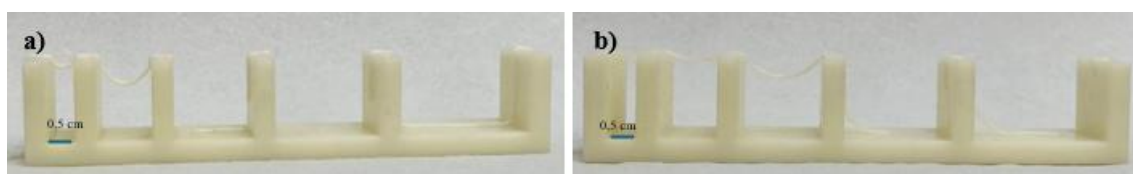


Figura 6. Teste de colapso de filamento: a) 45S5 40% e b) 45S5 60%.

As pastas foram analisadas em reometria, conforme mostra a Figura 7.

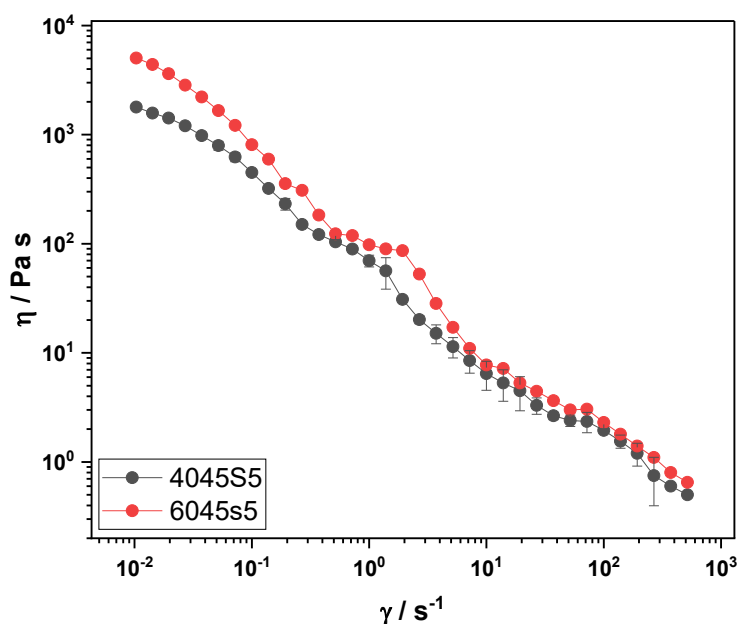


Figura 7. Análise de reologia das tintas de concentração de a) 40% e b) 60% de biovidro 45S5.

A Figura 7 mostra as curvas de viscosidade, onde pode ser observado um ligeiro aumento nessa propriedade devido a maior adição do biovidro 45S5. As duas concentrações de tinta cerâmica avaliadas possuem comportamento pseudoplástico. Esse comportamento é

associado à formação da estrutura de “castelo de cartas” proporcionado pela presença do nanosilicato no gel de PEG/Laponita, quando o mesmo não está submetido a uma tensão de cisalhamento. Quando é aplicado a tensão, a estrutura é destruída progressivamente em função da taxa de cisalhamento. Como resultado, a viscosidade diminui de maneira significativa, o que é de grande importância durante o processo de impressão. Como já reportado por Daguano et al., O comportamento pseudoplástico permite depositar o gel na plataforma da impressora 3D de uma maneira controlada e sem a necessidade de aplicar uma alta pressão no cabeçote, inclusive em géis com altos teores de sólidos. Durante a extrusão são geradas altas taxas de cisalhamento nas paredes do bico da impressora, nesse momento, a viscosidade diminui permitindo o fácil escoamento do material. No entanto, a viscosidade deve ser recuperada quando o material está depositado na plataforma de construção, para manter a estruturação durante o processo.

5. Conclusões gerais

O presente estudo aponta que, para mimetizar a eficácia do microambiente celular, são necessárias formulações com uma porcentagem balanceada de compostos. O biovidro 45S5 foi adicionado na base de PEG-Laponita, como fase cerâmica nas tintas, devido sua alta capacidade de promover ligações diretas com o tecido ósseo. Após a realização da análise por FTIR, pôde-se confirmar sua integridade química, devido às bandas características das ligações Si–O–Si e Si–O.

Porém, após a realização dos testes de filamento, é possível notar que há diferença significativa entre as concentrações de carga cerâmica, sendo que a tinta com concentração de 60% de 45S5 apresenta maior estabilidade estrutural e resistência à ruptura, como constatado também pelo desempenho reológico das pastas com essa fração volumétrica de carga. Por outro lado, a tinta de formulação com 40% de 45S5 apresentou escoamento excessivo e baixa coesão, comprometendo a fidelidade geométrica durante a impressão.

Portanto, as tintas cerâmicas oferecem caminhos promissores para o desenvolvimento de *scaffolds* impressos tridimensionalmente, potencializando sua aplicação na biomedicina. Desde que, sejam cuidadosamente formulados para que supram suas demandas, com balanceamento mais cuidadoso de suas naturezas poliméricas, cargas inorgânicas e estabilidade dimensional.

6. Referências

Saadi, M. A. S. R. “Direct Ink Writing: A 3D Printing Technology for Diverse Materials”. *Advanced Materials* v.34, 4 mar. 2022.

Santos, K.F, Dávila, J.L, D’ávila, M.A., Rodas, A.C.D., da Silva, J.V.L, Daguano, J.K.M.B. “Rheological study of PEG-Laponite-alginate composite hydrogels aiming 3D extrusion-based printing”, *Revista Materia* v.27, p.1517-7076, 2022.

NAIR, Lekshmi S.; GILBERTSON, Thomas A.; VISHNUBHOTLA, Raj; et al. *Gelatin-based hydrogels in biomedical applications*. *Bioengineering & Translational Medicine*, [S.l.], v. 6, n. 2, p. e10124, 2021.

V. Mironov, N. Reis and B. Derby, "Review: bioprinting: a beginning," *Tissue Eng.*, vol. 12, no. 4, pp. 631-634, 2006.

HENCH, L. L. *Direct chemical bond of bioactive glass-ceramic materials to bone and muscle*. *Journal of Biomedical Materials Research*, v. 7, n. 3, p. 25–42, 1973.

MANCHA SÁNCHEZ, E.; GÓMEZ-BLANCO, J. C.; LÓPEZ NIETO, E.; CASADO, J. G.; et al. *Hydrogels for Bioprinting: A Systematic Review of Hydrogels Synthesis, Bioprinting Parameters, and Bioprinted Structures Behavior*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 8, 2020.

HAN, X.; CHANG, S.; ZHANG, M.; BIAN, X.; LI, C.; LI, D. *Advances of Hydrogel-Based Bioprinting for Cartilage Tissue Engineering*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 9, 2021.

DAGUANO, J. K. M. B. et al. Shear-thinning sacrificial ink for fabrication of Biosilicate® osteoconductive scaffolds by material extrusion 3D printing. *Materials Chemistry and Physics*, v. 287, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2022.126286>.