

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS E
ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA
DOS MATERIAIS

Fabricação por manufatura aditiva de *scaffolds*
cerâmicos porosos com infiltração de biovidro para
uso biomédico

Maíra Faccio

Caxias do Sul

2025

MAÍRA FACCIO

Fabricação por manufatura aditiva de *scaffolds* cerâmicos porosos com
infiltração de biovidro para uso biomédico

Tese apresentada como requisito para obtenção do
título de Doutora em Engenharia e Ciência dos
Materiais, pelo Programa de Pós-Graduação em
Engenharia e Ciência dos Materiais da Universidade
de Caxias do Sul.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Jadna Catafesta

Coorientadora: Prof^a. Dr^a Janete E. Zorzi de 21/07/2021 até 18/02/2025

Caxias do Sul

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
Sistema de Bibliotecas UCS - Processamento Técnico

F138f Faccio, Maíra

Fabricação por manufatura aditiva de *scaffolds* cerâmicos porosos com infiltração de biovidro para uso biomédico [recurso eletrônico] / Maíra Faccio. – 2025.

Dados eletrônicos.

Tese (Doutorado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, 2025.

Orientação: Jadna Catafesta.

Modo de acesso: World Wide Web

Disponível em: <https://repositorio.ucs.br>

1. Biomateriais. 2. Engenharia tecidual. 3. Ossos. 4. Ciência dos materiais.
I. Catafesta, Jadna, orient. II. Título.

CDU 2. ed.: 616-7

Catalogação na fonte elaborada pela(o) bibliotecária(o)
Carolina Machado Quadros - CRB 10/2236

MAÍRA FACCIO

Fabricação por manufatura aditiva de *scaffolds* cerâmicos porosos com
infiltração de biovidro para uso biomédico

Tese apresentada como requisito para obtenção do
título de Doutora em Engenharia e Ciência dos
Materiais, pelo Programa de Pós-Graduação em
Engenharia e Ciência dos Materiais da Universidade
de Caxias do Sul.

Banca Examinadora:

Jadna Catafesta
Orientadora

Janete Eunice Zorzi
Coorientadora de 21/07/2021 até 18/02/2025

Cesar Aguzzoli – UCS

Lucas Freitas Berti – UTFPR

Tânia Maria Haas Costa – UFRGS

Thiago Barcellos da Silva – UCS

Caxias do Sul

2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a Nossa Senhora da Santa Cruz por me iluminarem nesta trajetória de grandes desafios e escolhas. A minha mãe Elaine, meu pai Sergio e meu irmão Mateus por estarem sempre me apoiado a nunca desistir desta realização, pela compreensão ao serem privados em muitos momentos da minha companhia e atenção. Sou eternamente grata ao meu companheiro Geison por ter entrado em minha vida no meio desta caminhada, me apoiando e me incentivando a nunca desistir, por tudo que sou, por tudo que consegui conquistar até aqui e pela felicidade que tenho.

Minha gratidão especial as minhas orientadoras Prof^a. Dr^a. Jadna Catafesta e Prof^a. Dr^a. Janete Eunice Zorzi pela orientação, amizade, discussões e auxílio em todos os aspectos no decorrer deste trabalho principalmente pela ajuda nas atividades à distância.

Minha gratidão especial também a Prof^a. Dr^a. Natália Fontana Nicoletti ao Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CPTCell – UCS) pela parceria, amizade e aceitar esse desafio de contribuir com este trabalho nos estudos biológicas realizados.

Ao meu colega e amigo Dr. Diego Pires Gurgel, por aceitar e contribuir com seu conhecimento para com o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Cláudio e Aline do Laboratório de Materiais - LAMAT pela extrusão e análises termogravimétricas.

Ao MSc. Rodrigo A. Barbieri do Laboratório Central de Microscopia – LCMIC, pelas medidas no MEV.

À Universidade de Caxias do Sul pela disponibilização dos Laboratórios de Materiais Cerâmicos, LAMAT, LCMIC, Lab. de Física (V-202), Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais pela possibilidade de realização deste trabalho.

A Capes e ao PPGMAT-UCS pela oportunidade/bolsa.

A todos os colegas e amigos que contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Lesões e defeitos ósseos frequentemente requerem materiais capazes de promover o reparo, a substituição ou a regeneração tecidual. Nesse contexto, os *scaffolds* cerâmicos surgiram como alternativas promissoras para mimetizar e substituir tecidos danificados, devido à sua biocompatibilidade e versatilidade estrutural. Para tanto, este trabalho apresenta o desenvolvimento de *scaffolds* de alumina-zircônia produzidos por manufatura aditiva por extrusão de material (impressão 3D) e posteriormente infiltrados com biovidro (45S5). Os filamentos para a manufatura aditiva por extrusão de material foram obtidos em extrusora dupla-rosca pela mistura dos pós cerâmicos (55 % em massa) com o polímero polietileno de baixa densidade (45 % em massa). Para criar uma curva de degradação para remoção do polímero após a impressão, foi necessário realizar um ensaio de análise termogravimétrica. Os *scaffolds* produzidos e sinterizados foram submetidos à infiltração de biovidro e foram avaliados por meio de análises morfológicas e biológicas. Os processos de *debinding* (remoção do polímero) e sinterização resultaram em peças com tamanhos de poros internos entre 500 μm e 1 mm, com uma redução dimensional de cerca de 30 % que permitiu a infiltração do biovidro. Foi identificada a presença de Si, Ca e P em todas as misturas, elementos responsáveis por contribuir na resposta biológica. Os testes biológicos demonstraram que os *scaffolds* impressos, compostos de alumina, zircônia e uma combinação de ambas, com ou sem infiltração de biovidro, não apresentaram citotoxicidade significativa em fibroblastos epiteliais renais 3T3 ou VERO após 72 h. Dentre estes, o *scaffold* de alumina-zircônia infiltrado com biovidro destacou-se por aumentar a viabilidade e a proliferação celular em 72 h (~ 150 % de aumento). Também promoveu forte adesão celular e liberação de matriz extracelular após 5 dias, demonstrando biocompatibilidade superior e potencial atividade osteoindutora. Cabe destacar que, uma combinação de compósitos cerâmicos bioativos para a fabricação de *scaffolds* demonstrou forte potencial na promoção da regeneração tecidual, preservando a integridade do tecido hospedeiro, aspecto essencial para a prevenção de falhas clínicas.

Palavras-chave: Biomateriais, *scaffolds* cerâmicos, manufatura aditiva por extrusão de material, impressão 3D, biovidro.

ABSTRACT

Bone injuries and defects often require materials capable of promoting tissue repair, replacement, or regeneration. In this context, ceramic scaffolds have emerged as promising alternatives for mimicking and replacing damaged tissues due to their biocompatibility and structural versatility. To this end, this work presents the development of alumina-zirconia scaffolds produced by additive manufacturing by material extrusion (3D printing) and subsequently infiltrated with bioglass (45S5). The filaments for additive manufacturing by material extrusion were obtained in a twin-screw extruder by mixing ceramic powders (55% by mass) with low-density polyethylene polymer (45% by mass). To create a degradation curve for polymer removal after printing, a thermogravimetric analysis test was necessary. The produced and sintered scaffolds were subjected to bioglass infiltration and evaluated through morphological and biological analyses. The debinding (polymer removal) and sintering processes resulted in parts with internal pore sizes between 500 μm and 1 mm, with a dimensional reduction of approximately 30%, allowing bioglass infiltration. The presence of Si, Ca, and P was identified in all mixtures, elements responsible for contributing to the biological response. Biological tests demonstrated that the printed scaffolds, composed of alumina, zirconia, and a combination of both, with or without bioglass infiltration, did not present significant cytotoxicity in 3T3 or VERO renal epithelial fibroblasts after 72 h. Among these, the alumina-zirconia scaffold infiltrated with bioglass stood out for increasing cell viability and proliferation at 72 h (~150% increase). It also promoted strong cell adhesion and extracellular matrix release after 5 days, demonstrating superior biocompatibility and potential osteoinductive activity. It is worth noting that a combination of bioactive ceramic composites for the manufacture of scaffolds demonstrated strong potential in promoting tissue regeneration, preserving the integrity of the host tissue, an essential aspect for the prevention of clinical failures.

Keywords: Biomaterials, ceramic scaffold, additive manufacturing by material extrusion, 3D printing, bioglass.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mercado Global de biomateriais por aplicação em 2023.....	19
Figura 2 – Estrutura de um osso longo.....	22
Figura 3 – Obtenção de <i>scaffolds</i> via impressão 3D com aplicação em tecido ósseo.....	24
Figura 4 – Fluxograma das etapas de execução do estudo desenvolvido.....	39
Figura 5 – Modelo dos <i>scaffolds</i> desenvolvidos (dimensões em mm).....	41
Figura 6 – Fluxograma da síntese do biovidro pelo método sol-gel.	43
Figura 7 – Micrografias MEV do pó de alumina (esquerda) e pó de zircônia (direita) com magnificação de 50.000x.....	47
Figura 8 – Espectro da composição química dos pós por EDS: (a) alumina e (b) zircônia.	48
Figura 9 – Filamentos obtidos via extrusão: (a) SC/AL, (b) SC/ZR e (c) SC/AL/ZR.	49
Figura 10 – Micrografias da seção transversal dos filamentos (magnificação 125x): (a) SC/AL, (b) SC/ZR e (c) SC/AL/ZR.	50
Figura 11 – Micrografias dos filamentos e seus respectivos <i>color mape surface</i> (magnificação 20.000x): (a) SC/AL, (b) SC/ZR e (c) SC/AL/ZR.....	51
Figura 12 – <i>Scaffolds</i> produzidos por manufatura aditiva por extrusão de material: (a) SC/AL, (b) SC/ZR e (c) SC/AL/ZR.....	54
Figura 13 – Curvas de TGA/DTG dos filamentos dos <i>scaffolds</i> após impressão 3D.	56
Figura 14 – Diagrama tempo-temperatura para remoção do ligante nas misturas.	56
Figura 15 – <i>Scaffolds</i> obtidos após <i>debinding</i> : (a) SC/AL, (b) SC/ZR e (c) SC/AL/ZR.	57
Figura 16 – <i>Scaffolds</i> sinterizados a 1600 °C com as respectivas seções de corte: (a) SC/AL, (b) SC/ZR e (c) SC/AL/ZR.....	59
Figura 17 – Micrografias da seção transversal dos <i>scaffolds</i> sinterizados (magnificação de 50x e 10.000x): (a) SC/AL, (b) SC/ZR e (c) SC/AL/ZR.....	60
Figura 18 – Síntese sol-gel: teste 1 e 2. (a) biovidros obtidos e (b) biovidros secos em estufa.	62
Figura 19 – MEV-EDS dos biovidros obtidos nos testes 1 e 2 após sinterização a 1200 °C...63	
Figura 20 – MEV-EDS dos <i>scaffolds</i> infiltrado com biovidro: (a) SC/AL/BG, (b) SC/ZR/BG e (c) SC/AL/ZR/BG.....	64
Figura 21 – Efeito da incubação com SC/AL, SC/ZR, SC/AL/ZR, SC/AL/BG, SC/ZR/BG e SC/AL/ZR/BG na viabilidade celular de (a) células VERO e (b) fibroblastos 3T3 após 24, 48 e 72 h; (c) Ensaio de células vivas e mortas mostrando as células coradas em verde (indicativo da viabilidade celular) e em vermelho (indicativo de	

células mortas) com magnificação de 20x.....	68
Figura 22 – (a) e (b) Histograma representativo da solidez nuclear e do marcador de redondeza celular por DAPI; (c) Frequência de células mitóticas como parâmetro de proliferação celular após 72 h de incubação com SC/AL, SC/ZR, SC/AL/ZR, SC/AL/BG, SC/ZR/BG e SC/AL/ZR/BG; (d) Imagens representativas de células VERO mostrando figuras mitóticas (destacadas com círculos amarelos) no final da anáfase, com o aparecimento de dois discos, migrando em direção a polos opostos da célula (magnificação de 40x).....	70
Figura 23 – Morfologia de fibroblastos 3T3 MEV-FEG: (a) SC/AL/ZR e (b) SC/AL/ZR/BG (magnificação de 250x; 2.000x; 10.000x).....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades do osso cortical e esponjoso.....	21
---	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Aplicações de materiais sintéticos e naturais modificados na medicina.	20
Quadro 2 – Análise comparativa dos estudos atuais.	35
Quadro 3 – Codificação das formulações desenvolvidas.	40
Quadro 4 – Codificação dos <i>scaffolds</i> infiltrados com biovidro.	43

LISTA DE SIGLAS, TERMOS E ABREVIACÕES

AM	- Manufatura aditiva (do inglês: <i>Additive Manufacturing</i>);
ABS	- Acrilonitrila butadieno estireno;
BSE	- Elétrons retroespalhados (do inglês: <i>backscattered electrons</i>);
CC	- Criação de contorno (<i>Contour Crafting</i>);
CH	- Quitosana (do inglês: <i>Chitosan</i>);
DED	- Deposição de Energia Direta (do inglês: <i>Direct Energy Deposition</i>);
DLP	- Processamento Digital por Luz (do inglês: <i>Digital Light Processing</i>);
DSC	- Calorimetria Exploratória Diferencial;
DTG	- Termogravimetria derivada (do inglês: <i>Differential Thermogravimetry</i>);
EDS	- Espectroscopia de raios X por dispersão de energia;
FEG	- Microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (do inglês: <i>Field Emission Gun Scanning Electron Microscopy</i>);
FDM	- Modelagem por deposição fundida (do inglês: <i>Fused Deposition Modelling</i>);
FFF	- Fabricação com filamento fundido (do inglês: <i>Fused Filament Fabrication</i>);
HA	- Hidroxiapatita;
LCMIC	- Laboratório Central de Microscopia;
LMCer	- Laboratório de Materiais Cerâmicos;
LOM	- Fabricação de objetos laminados (do inglês: <i>Laminated Object Manufacturing</i>);
LPOL	- Laboratório de Polímeros;
LAMAT	- Laboratório de Materiais;
MEV	- Microscopia eletrônica de varredura;
PEBD	- Polietileno de baixa densidade;
PE	- Polietileno;
PLA	- Ácido polilático;
PMMA	- Polimetilmetacrilato;
PU	- Poliuretano;
PVA	- Poli (álcool vinílico);
RP	- Prototipagem rápida (do inglês: <i>Rapid Prototyping</i>);
SLA	- Estereolitografia (do inglês: <i>Stereolithography Apparatus</i>);
SLM	- Fusão seletiva a laser (do inglês: <i>Selective Laser Fused</i>);
SLS	- Sinterização seletiva a laser (do inglês: <i>Selective Laser Sintering</i>);
T _d	- Temperatura de degradação;
T _g	- Temperatura de transição vítrea;
TGA	- Análise termogravimétrica;
T _{onset}	- Temperatura de <i>onset</i> ;
USGS	- <i>Science for a Changing World</i> ;
UCS	- Universidade de Caxias do Sul;
UV	- Ultravioleta.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS DO TRABALHO.....	17
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
3.1	ENGENHARIA TECIDUAL	18
3.2	BIOMATERIAIS.....	18
3.3	TECIDO ÓSSEO	20
3.3.1	Testes biológicos <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	22
3.4	<i>SCAFFOLDS</i>	23
3.5	MATERIAIS UTILIZADOS PARA PRODUÇÃO DE <i>SCAFFOLDS</i>	25
3.5.1	Biomateriais cerâmicos	25
3.5.2	Matriz polimérica – aditivos para processamento cerâmico	29
3.6	MANUFATURA ADITIVA	30
3.6.1	Fabricação por manufatura aditiva por extrusão de material.....	31
3.6.2	<i>Debinding</i> e sinterização.....	32
3.7	ESTADO DA ARTE	33
4	MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1	MATERIAIS.....	38
4.2	MÉTODOS	38
4.2.1	Caracterização dos pós e obtenção dos filamentos por extrusão – ETAPA A	39
4.2.2	Fabricação dos <i>scaffolds</i> – ETAPA B	41
4.2.3	Sinterização dos <i>scaffolds</i> – ETAPA C	42
4.2.4	Caracterização e avaliação biológica dos <i>scaffolds</i> – ETAPA C	43
4.2.4.1	<i>Potencial citotóxico por MTT</i>.....	44
4.2.4.2	<i>Ensaio de células LIVE/DEAD</i>.....	45
4.2.4.3	<i>Morfologia nuclear e índice mitótico</i>	45
4.2.4.4	<i>Morfologia e adesão celular dos scaffolds</i>.....	46
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	47

5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS PÓS E OBTENÇÃO DOS FILAMENTOS POR EXTRUSÃO – ETAPA A	47
5.2	FABRICAÇÃO DOS <i>SCAFFOLDS</i> VIA IMPRESSÃO 3D – ETAPA B.....	53
5.3	SINTERIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS <i>SCAFFOLDS</i> – ETAPA C.....	55
5.3.1	<i>Debinding</i> e pré-sinterização dos <i>scaffolds</i>	55
5.3.2	Sinterização dos <i>scaffolds</i>	59
5.3.3	Infiltração dos <i>scaffolds</i> com biovidro por sol-gel	61
5.3.4	Caracterização e avaliação das propriedades biológicas dos <i>scaffolds</i>	66
6	CONCLUSÕES.....	73
7	PROPOSTAS FUTURAS	74
8	REFERÊNCIAS.....	75
9	PUBLICAÇÕES	87

1 INTRODUÇÃO

Os seres humanos estão constantemente sujeitos ao desenvolvimento de doenças, lesões ou defeitos ósseos que exigem sistemas de tratamento capazes de promover a reparação, substituição ou regeneração dos tecidos. Como resultado, milhares de procedimentos cirúrgicos, com o uso de enxertos implantáveis, são realizados anualmente em todo o mundo. A maioria dos sistemas de tratamento, baseia-se na necessidade de uma substituição parcial e/ou total de tecidos saudáveis de um local do corpo do próprio paciente (autoenxerto) ou de outra pessoa (aloenxerto) para a região tecidual comprometida (RAMÍREZ *et al.*, 2019; SMOAK; MIKOS, 2020). No entanto, essas práticas tornam-se limitadas devido à difícil disponibilidade dos implantes, como também o risco de rejeição imunológica provocando infecções ou doenças. Estes fatores impactam diretamente na busca pelo desenvolvimento de produtos sintéticos que possam ser aplicados como materiais implantáveis, garantindo a segurança e eficácia para o paciente, pilar fundamental para a engenharia de tecidos (XIE *et al.*, 2016).

Dessa forma, com a busca por uma alternativa na substituição destas estruturas, os biomateriais, a engenharia de tecidos e os órgãos artificiais, surgem como uma solução no que se diz respeito à saúde humana, economia e demais aspectos científicos, tecnológicos e clínicos. Esta solução abrange as mais diversas áreas da medicina, saúde, materiais, biologia, *design*, que desenvolve, identifica e avalia o desempenho de dispositivos e enxertos sintéticos quando implantados em um hospedeiro vivo. Os biomateriais são materiais projetados e submetidos a uma dada aplicação, com objetivo de interagir com o sistema biológico, apresentando uma interface com princípios de evolução da ciência e tecnologias nos cuidados da saúde. São dispositivos utilizados como próteses cardiovasculares, odontológicas, ortopédicas, enxertos, oftalmológicas e reconstrutivas, para liberação controlada de medicamentos, suturas cirúrgicas, e em outras intervenções como cultivo de células em cultura e aparelhos para manipulação em proteínas (HENCH; JONES, 2005; RATNER *et al.*, 2020). Entre esses biomateriais, destacam-se os *scaffolds*, estruturas projetadas para substituir tecidos ou órgãos danificados, imitando suas funções biológicas originais.

Os *scaffolds* são uma possibilidade de substituição devido a sua facilidade de produção e obtenção. São estruturas tridimensionais manufaturadas nas mais diversas configurações de acordo com a aplicação desejada como também, apresentam propriedades biocompatíveis, bioativas e biodegradáveis, fornecendo um substrato favorável para as células aderirem, proliferarem e se diferenciarem (ADITHYA *et al.*, 2020). Segundo Indurkar *et al.* (2021), o

desenvolvimento de novos tecidos funcionais inicia com a obtenção de *scaffolds* que mimetizam a matriz celular promovendo a proliferação, adesão, vascularização, diferenciação e migração da atividade celular, fornecendo propriedades estruturais e mecânicas, podendo ser fabricados a partir de uma variedade de materiais com propriedades físicas e químicas atendendo variáveis específicas de cada aplicação.

Dentro deste aspecto, características biocompatíveis, biodegradáveis e atóxicas os polímeros naturais como quitosana, quitina, alginato e o colágeno, são biomateriais versáteis e amplamente utilizados para a aplicação em tecido ósseo. Porém, outra classe de materiais são destaque, devido ao seu amplo crescimento e utilização atual para aplicações em *scaffolds*; incluem-se os polímeros sintéticos, metais, cerâmicas, biovidros, hidrogéis e compósitos (ADITHYA *et al.*, 2020; YADAV *et al.*, 2020). Apesar dos avanços atuais e das novas tecnologias, a engenharia de tecidos e a medicina regenerativa ainda são um desafio na área biomédica, devido aos altos custos de ensaios e a dificuldade das complexas interações entre contato biomateriais e hospedeiro, em que se faz necessário materiais biofuncionais que promovam a formação do novo tecido, como também promover as propriedades bioativas, utilizando métodos rápidos, não convencionais para sua obtenção (MORAN; LEVINGSTONE, 2020).

Os métodos convencionais para a fabricação de *scaffolds* normalmente abordam a mistura de pós com agentes formadores de poros, métodos com formação de espuma ou usando modelos de sacrifício, com pós-processamento de extração do ligante orgânico por rotas químicas seguido de sinterização. Já a manufatura aditiva (AM, do inglês: *additive manufacturing*), conhecida também com impressão 3D, baseia-se em modelos de *design* auxiliado por computador (CAD), adicionando materiais camada por camada até formar uma estrutura 3D. É caracterizada pela fabricação de estruturas complexas, de acordo com aplicações específicas, de modo a obter resultados com qualidade superior e de acordo com os padrões elevados exigidos, difíceis de serem desenvolvidos pela usinagem e métodos tradicionais (BAINO *et al.*, 2023; GAO *et al.*, 2021). Uma das tecnologias que fazem parte da AM é a fabricação por extrusão de material, em que o material (filamento), viscoso ou fundido, é extrudado através de um bico aquecido, sendo depositado camada por camada, solidificando e criando, com precisão tridimensional, peças com dimensões na ordem de μm . É uma alternativa econômica e com ótimo potencial de produção, sendo uma das técnicas mais utilizadas em todo mundo (SADAF; BRAGAGLIA; NANNI, 2021; WU *et al.*, 2020)

Dentro dos materiais utilizados, os materiais cerâmicos, como alumina, zircônia, hidroxiapatita e os biovidros, destacam-se como matérias-primas promissoras para a

manufatura aditiva, em razão da viabilidade de processos de impressão, *debinding* e posterior sinterização. A alumina e zircônia são biocerâmicas de alta densidade, inertes, à base de óxidos, que além de apresentarem estabilidade mecânica, se destacam pelas propriedades biológicas, levando a aplicações relevantes e inovadoras na questão biomédica. Já os biovidros possuem a característica de bioatividade e biocompatibilidade, reagindo facilmente com fluidos corporais quando empregados como reforço, criando uma interface estável com o tecido vivo, sendo usados especialmente em ortopedia e odontologia na forma de revestimentos, pastas e *scaffolds* porosos (LY *et al.*, 2022; SIMORGH *et al.*, 2022).

A utilização destes materiais cerâmicos na AM tem sido cada vez mais explorada, devido à possibilidade de moldagem de formas complexas, permitindo alcançar melhorias no ajuste de forma, tamanho, arranjo espacial de poros e reprodutibilidade, porém, é necessária ainda a seleção tanto do pó com propriedades adequadas, como dos ligantes que serão utilizados como veículo orgânico, para o transporte das partículas e a obtenção dos filamentos finais (MAMATHA *et al.*, 2018).

Com o propósito de desenvolver uma estrutura implantável e melhorar as propriedades biológicas com a utilização de materiais cerâmicos, este trabalho se propôs avaliar a obtenção de *scaffolds* cerâmicos de alumina e zircônia infiltrados com biovidro, materiais estes promissores com capacidade de contribuir com aplicações óssea através do estudo de parâmetros de impressão, avaliando propriedades biológicas e morfológicas.

2 OBJETIVOS

Produção de *scaffolds* porosos de compósitos cerâmicos com infiltração de biovidro 45S5 para uso biomédico, empregando a técnica de fabricação por manufatura aditiva por extrusão de material.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS DO TRABALHO

- Caracterizar morfologicamente os pós cerâmicos e os filamentos compósitos obtidos por extrusão identificando o comportamento, empacotamento e distribuição das partículas cerâmicas;
- Produzir os *scaffolds* por manufatura aditiva por extrusão de material;
- Produzir e caracterizar o biovidro por síntese sol-gel e avaliar a sua capacidade de infiltração por 6 dias pelo meio poroso dos *scaffolds*;
- Avaliar morfologicamente os *scaffolds* infiltrados com biovidro, identificando a presença de Ca, P e Si, elementos responsáveis pela formulação do biovidro e propriedades biológicas;
- Avaliar o potencial citotóxico dos *scaffolds* com e sem infiltração do biovidro, submetidos ao meio de cultura com linhagens celulares VERO e fibroblasto 3T3 e compará-los quando expostos em 24, 48 e 72 horas;
- Identificar a capacidade de proliferação celular dos *scaffolds* com e sem infiltração do biovidro, quando submetidos a análise de índice mitótico por meio de coloração DAPI como também, a capacidade de sobrevivência das células por ensaio *LIVE/DEAD*;
- Avaliar o efeito da adesão celular dos *scaffolds* com e sem infiltração do biovidro quando cultivados por 5 dias em fibroblastos 3T3.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 ENGENHARIA TECIDUAL

A engenharia de tecidos e a medicina regenerativa, são um campo da ciência caracterizadas por buscar desenvolver, com rapidez, novos tecidos e órgãos, visando reparar, substituir ou aumentar a função biológica, melhorando, restaurando ou mantendo a função tecidual do tecido danificado por meio da manipulação celular. A engenharia de tecidos foi criada em um simpósio em 1988 pela *National Science Foundation (NSF)*, e definida como “aplicação de métodos e princípios de engenharia e ciências biológicas para o melhor entendimento das relações estrutura-função em tecidos normais e patológicos de mamíferos, como também o desenvolvimento de substitutos biológicos a fim de restaurar, manter ou melhorar as funções do tecido” (SEFAT; MOZAFARI; ATALA, 2019).

Muitos são os motivos para a criação da engenharia tecidual, como por exemplo doenças ósseas e articulares, o envelhecimento populacional progressivo (faixa etária mais suscetível a sofrer algum tipo de acidente doméstico), tumores, infecções ou anomalias congênitas, transplantes de órgãos ou dispositivos. São estes os fatores que viabilizam novos estudos envolvendo engenharia celular, biologia molecular, imunologia, *design*, entre outros, de modo a desenvolver materiais eficientes, com o objetivo de tratamento, dando origem a uma cura permanente para pacientes que sofrem destes distúrbios (MAREW; BIRHANU, 2021).

Como base de substituição e aplicação nesta área, os *scaffolds* de biomateriais são introduzidos devido à sua alta capacidade de mimetizar o tecido hospedeiro, apresentando características de alta porosidade que permite a permeabilidade e difusão de oxigênio, crescimento celular com maiores controles de processo, suporte mecânico e estímulo a regeneração do osso e cartilagem (ARJUNAN *et al.*, 2021).

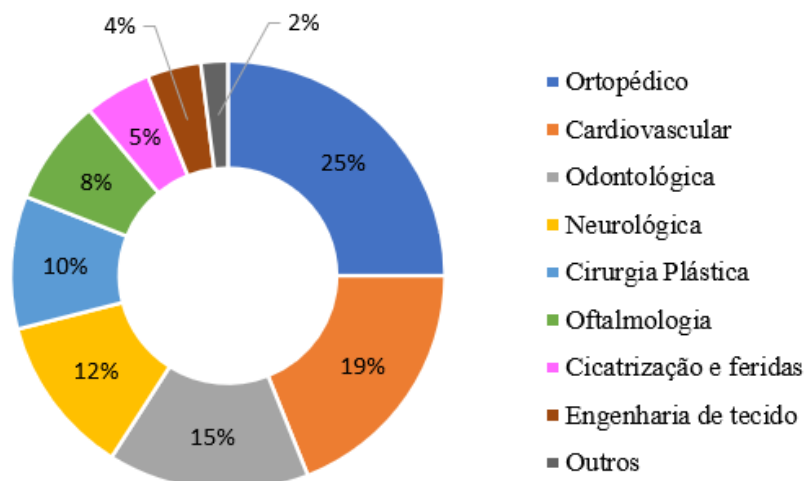
3.2 BIOMATERIAIS

Os biomateriais representam uma categoria específica dos produtos utilizados na área da saúde, com um campo de desenvolvimento que remonta a mais de 80 anos. Os primeiros dispositivos médicos baseados em princípios científicos reconhecidos para uso humano surgiram entre meados da década de 1940 e o início da década de 1950. Este avanço na fabricação de produtos a partir de biomateriais permitiu melhor qualidade de vida, como também milhares de vidas salvas. Atualmente, com o amplo domínio de utilização e

compatibilidade biológica com tecido e células, os biomateriais são utilizados para fins terapêuticos e de diagnósticos, cura ou reparo em organismo vivo (AGARWAL *et al.*, 2020; RATNER *et al.*, 2020).

Williams (2009) define que um biomaterial é um material projetado e submetido a uma dada aplicação (individual ou complexa), com objetivo de interagir com o sistema biológico, apresentando uma interface com princípios de evolução da ciência e tecnologias nos cuidados da saúde. A pesquisa e desenvolvimento de novos biomateriais tornou-se o maior contribuinte para o entendimento das interações de cada material com o ambiente fisiológico, onde este é aplicado, como pode ser visto na Figura 1, que apresenta a estimativa percentual das aplicações de biomateriais em escala global.

Figura 1 – Mercado Global de biomateriais por aplicação em 2023.



Fonte: Adaptado de *Grand View Research*, (2024).

Segundo pesquisas da *Grand View Research* (2024), o mercado global de biomateriais deverá crescer a uma taxa anual de 15,6 % de 2024 – 2030, atingindo US\$ 448,7 bilhões de dólares em 2030, contando com os principais fatores para esse crescimento o aumento de lesões acidentais e condições crônicas, avanços na tecnologia e o uso de biomateriais.

Os biomateriais são classificados quanto à sua origem, natural ou sintética, utilizados em dispositivos médicos com intenção de entrar em contato com um sistema biológico, sem produzir algum efeito nocivo no tecido. No Quadro 1 são apresenta algumas aplicações destes materiais, viabilizando assim a aplicação adequada para o reparo, substituição e tratamento desejado.

Quadro 1 – Aplicações de materiais sintéticos e naturais modificados na medicina.

Aplicação	Tipos de materiais
Sistema esquelético, substituição de articulações (quadril, joelho)	Titânio, liga Ti – Al – V, aço inoxidável, polietileno.
Placa óssea para fixação de fratura	Aço inoxidável, liga cobalto-cromo
Tecido ósseo	Cerâmicas bioativas, Materiais compósitos – polímero/ cerâmico.
Cimento ósseo	Poli (metacrilato de metila) (PMMA).
Tendão artificial e ligamento	Teflon
Implantes dentários	Titânio, aço inoxidável, alumina, zircônia, polietileno.
Sistema cardiovascular, próteses de vasos sanguíneos, válvulas cardíacas	Teflon, poliuretano; Aço inoxidável, tecido reprocessado.
Cateter	Silicone, teflon e poliuretano.
Órgãos	Cardíacos: poliuretano, policarbonato, aço inoxidável; Rim artificial: celulose, poliácrlonitrila
Lentes de contato	Hidrogel, silicone, PMMA, poli(HEMA).

Fonte: Adaptado de Ratner *et al.* (2020).

3.3 TECIDO ÓSSEO

O tecido ósseo humano é responsável por desempenhar várias funções no organismo, conferindo proteção aos órgãos vitais, como também, o armazenamento de compostos minerais e produção de células na medula óssea. Atualmente, é o segundo tecido mais transplantado, sendo seu reparo possível com tecido ósseo fornecido direto do paciente ou de doadores compatíveis (COLLINS *et al.*, 2021).

O osso é um material biológico complexo, composto majoritariamente por 50 a 70 % de constituintes inorgânicos (principalmente hidroxiapatita), 20 a 40 % de componentes orgânicos, (colágeno), além de 5 a 10 % de água e cerca de 3 % de lipídios. Apresenta uma estrutura hierárquica única, caracterizada por elevada resistência mecânica e tenacidade à fratura. Estruturalmente, o osso é dividido em dois tipos principais: o osso esponjoso (ou trabecular), que possui porosidade volumétrica entre 50 e 90 %, e o osso cortical (ou compacto), localizado mais externamente, com porosidade inferior a 10 %. Ambas as estruturas são altamente dinâmicas, capazes de sofrer processos de remodelação, maturação e reabsorção controlada.

Esses processos são mediados por células especializadas: os osteoblastos, responsáveis pela formação de novo tecido ósseo, e os osteoclastos, que atuam na reabsorção do osso antigo (COLLINS *et al.*, 2021; LI *et al.*, 2021).

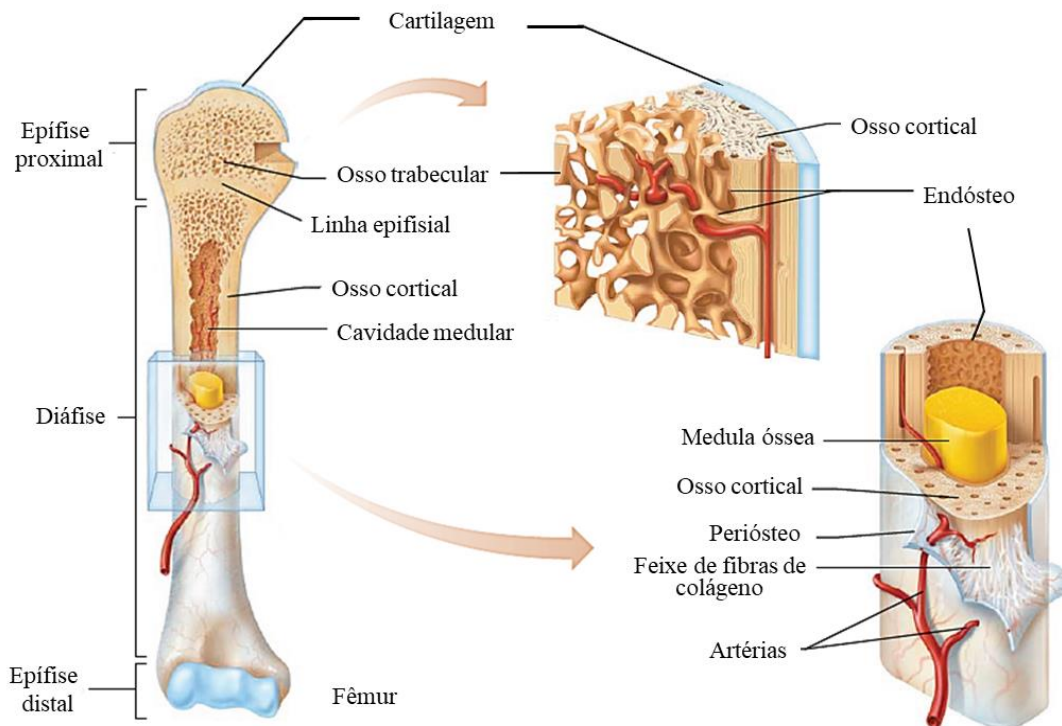
Na Tabela 1 são apresentadas algumas propriedades comuns de ossos esponjosos e corticais.

Tabela 1 – Propriedades do osso cortical e esponjoso.

Propriedade	Osso cortical	Osso esponjoso
Densidade aparente (kg/m ³)	1800-2000	100-900
Módulo de elasticidade (GPa)	7-30	0,05-0,5
Resistência mecânica à compressão (MPa)	100-230	2-12
Referências	(KOKUBO; KIM; KAWASHITA, 2003; PIAIA; SALMORIA; HOTZA, 2018)	(KOKUBO; KIM; KAWASHITA, 2003; PIAIA; SALMORIA; HOTZA, 2018)

O osso cortical representa 80 % da massa óssea total e é composto por um mineral ósseo e elementos da matriz extracelular, vasos sanguíneos penetrantes e osteócitos. Já o osso esponjoso, presente na parte mais interna do osso, constitui cerca de 20 % da massa óssea total, sendo composto por finas espículas revestidas por osteoblastos e osteoclastos, células responsáveis pela renovação e remodelação óssea (BORON; BOULPAEP, 2012). A remodelação óssea ocorre em três fases sequenciais — reabsorção, reversão e formação — e é um processo contínuo, regulado em resposta às diferentes tensões mecânicas aplicadas sobre o tecido ósseo. Essa atividade é desempenhada por três principais células individuais localizadas dentro do osso: os osteoblastos, osteoclastos e os osteócitos, conhecidas como unidade multicelular básica (BMU). Os osteoblastos são responsáveis pela formação óssea, os osteoclastos promovem a reabsorção óssea e os osteócitos são encontrados dentro da matriz óssea e são responsáveis por sentirem o estresse mecânico no osso, estimulando fatores de crescimento, via secreção, instigando os osteoblastos e células de revestimento. Para se ter uma remodelagem óssea é necessário um equilíbrio entre a manutenção ou perda de massa óssea associada com as atividades osteoclásticas e osteoblásticas (BORON; BOULPAEP, 2012; ELEFTERIOU, 2018; HALL, 2016; NIEDERMAIR *et al.*, 2020). Na Figura 2 é apresentado um esquema do osso cortical e do osso trabecular em um osso longo.

Figura 2 – Estrutura de um osso longo.



Fonte: Adaptado de Marieb, Wilhelm e Mallatt (2014).

O tecido ósseo é caracterizado pelas suas habilidades de autocura, porém quando o defeito se apresenta em grande escala, essa autocura pode ser incapacitada, retardada e em muitas vezes não consolidada, necessitando de uma intervenção externa para seu reparo. Diante da necessidade de superar estas limitações, o desenvolvimento de *scaffolds* tridimensionais têm se mostrado uma abordagem promissora para a regeneração óssea, ao permitir a combinação de biomateriais, células e fatores de crescimento incorporados e até mesmo infiltrados, suprimindo esse crescimento deficiente e melhorando as funções *in vivo* (MAREW; BIRHANU, 2021). Os testes *in vivo* e *in vitro* permitem garantir a eficiência na aplicação de biomateriais para o desenvolvimento da engenharia tecidual.

3.3.1 Testes biológicos *in vivo* e *in vitro*

Atualmente com o controle rigoroso do uso de animais de laboratório para testes iniciais, houve a necessidade de melhorar os testes *in vitro* com o objetivo de detectar a toxicidade dos dispositivos utilizados, visto que a compatibilidade é uma das propriedades mais importantes na aplicação de biomateriais.

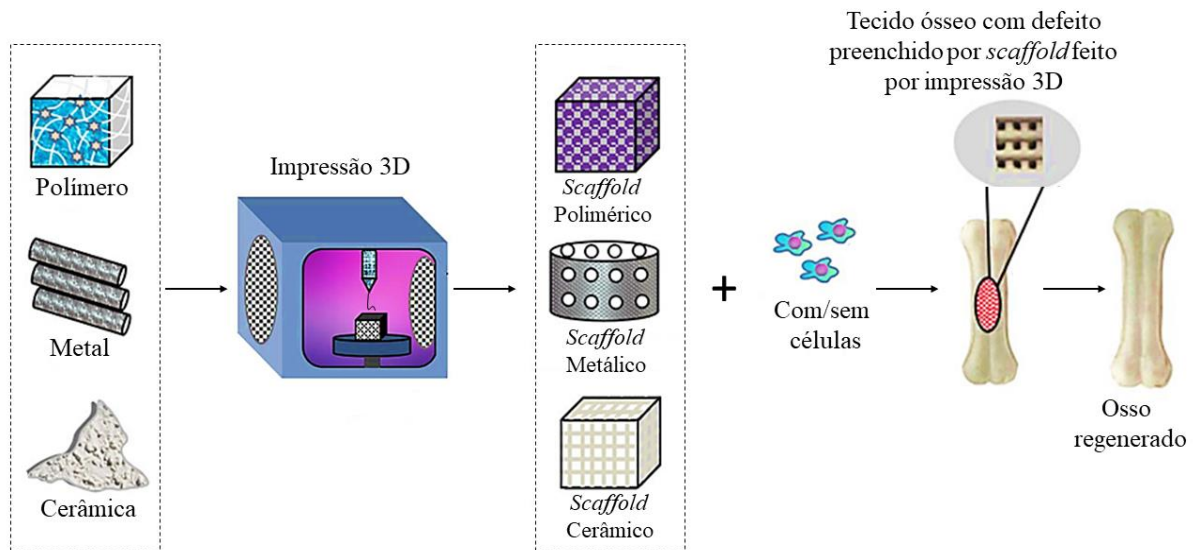
A citotoxicidade refere-se à capacidade de um material induzir alterações metabólicas em células cultivadas, permitindo a avaliação de parâmetros como viabilidade celular, proliferação ou morte celular. De acordo com o Órgão Internacional de Padronização (*International Standard Organization*) – ISO 10993 (2009), o teste de citotoxicidade *in vitro* é um dos primeiros testes que permitem avaliar a biocompatibilidade de qualquer material que é utilizado como dispositivo médico. Este consiste em colocar o material em contato com uma cultura de células de mamíferos incorporando estímulos bioquímicos e físicos promovendo o crescimento e formação óssea e/ou de colônia celular, avaliando seu desempenho clínico. O método apresenta vantagens devido à alta reprodutibilidade, facilidade de realização, minimização de testagem em animais e obtenção de resultados em períodos de tempos mais curtos (LARRAMENDY; SOLONESKI, 2018; ROGERO *et al.*, 2003).

Já o teste *in vivo*, nada mais é que a implantação cutânea ou subcutânea do biomaterial em um hospedeiro vivo, que visa acompanhar e oferecer uma visão completa da resposta ao corpo estranho submetido, por meio de avaliações clínicas de propriedades mecânicas, químicas e histológicas às reações desenvolvidas. Possui desvantagens devido à ocorrência de inflamações, alto custo, alto controle, avaliação limitada das vias imunológicas e avaliação crítica à resposta fibrótica (SALEH; BRYANT, 2017). Os *scaffolds* se caracterizam como alternativa para aplicação deste método como a unidade básica para o desenvolvimento da engenharia na área de biomateriais.

3.4 SCAFFOLDS

Os *scaffolds* são estruturas tridimensionais obtidas por inúmeras técnicas como eletrofição, formação de espuma, *freeze drying* e manufatura aditiva. Esta última permite a criação de geometrias personalizadas, integrando-se à medicina por meio do uso de dados anatômicos específicos do paciente. Esses dados são processados e convertidos em modelos digitais por *softwares* de *design*, os quais são então utilizados para gerar estruturas físicas por impressão 3D. Dependendo a modelagem necessária, é possível variar tipo de material (polímero, cerâmico, metal, compósito), geometria, dimensões, propriedades mecânicas, porosidade obtendo um modelo que promova a formação de tecido, crescimento e proliferação celular quando cultivado *in vivo* ou *in vitro* (CHENG *et al.*, 2021; COLLINS *et al.*, 2021; DONG *et al.*, 2021). A Figura 3 apresenta a obtenção de *scaffolds* por impressão 3D, com utilização de diferentes materiais para aplicação em tecido ósseo.

Figura 3 – Obtenção de *scaffolds* via impressão 3D com aplicação em tecido ósseo.



Fonte: Adaptado de Cheng *et al.* (2021).

Os *scaffolds* são desenvolvidos para estimular a regeneração de tecidos que sofreram comprometimentos severos, seja por alterações congênitas, processos patológicos, traumas físicos, remoção cirúrgica ou degradação estética significativa. Para desempenhar essa função, essas estruturas devem fornecer suporte espaço-temporal ao crescimento e à diferenciação celular, replicando características essenciais do microambiente natural do tecido. Entre os principais requisitos estão: alta porosidade, interconexão de poros, componentes biomiméticos, topografia superficial favorável e propriedades arquitetônicas e bioquímicas que permitam a infiltração, adesão e proliferação celular na matriz porosa interligada (MA *et al.*, 2021; YAMADA; SHANBHAG; MUSTAFA, 2021).

Atualmente uma ampla gama de materiais são utilizados e ainda estudados para produção e modelagem de *scaffolds*, destacando entre eles: os biomateriais inorgânicos, que compreendem os metais como titânio e suas ligas, as biocerâmicas como fosfato de cálcio, hidroxiapatita, vitrocerâmicos, alumina e zircônia, polímeros naturais, como colágeno, quitosana, ácido hialurônico e alginato, polímeros sintéticos como poliuretanos, poliácido láctico e policaprolactona, elastômeros termoplásticos, materiais compósitos e nanofibras (DONG *et al.*, 2021).

Uma estrutura deficiente pode influenciar diretamente nas propriedades mecânicas e biológicas na arquitetura do tecido ósseo quando aplicada em um hospedeiro. Ao realizar suas funções, o *scaffold* não pode resultar em algum tipo de reação ou falha, mas sim permitir uma vascularização, proliferação e migração celular. Para isso, o controle de porosidade é

fundamental, considerando diâmetros ideais na faixa de 100 μm a 900 μm (com um tamanho médio de 550 μm) e 50 – 90 % de permeabilidade para promover a difusão de nutrientes, oxigênio e outros fluidos. O aumento do tamanho de poro permite maior permeabilidade e crescimento ósseo devido ao espaço fornecido viabilizar a interação célula-estrutura, difusão de oxigênio e nutrientes (COLLINS *et al.*, 2021; ROACHO-PÉREZ *et al.*, 2022).

Finalmente, um estudo arquitetônico é necessário para o desenvolvimento de uma estrutura de *scaffolds*, com capacidade de reproduzir e atender as características de tecido desejado, mimetizando e permitindo substituir o tecido danificado.

3.5 MATERIAIS UTILIZADOS PARA PRODUÇÃO DE *SCAFFOLDS*

3.5.1 Biomateriais cerâmicos

O avanço das tecnologias na área da saúde tem impulsionado significativamente o campo das intervenções cirúrgicas, possibilitando a substituição total ou parcial de tecidos danificados e, conseqüentemente, melhorando a qualidade de vida dos pacientes. Esse progresso evidenciou a necessidade do desenvolvimento de novos materiais, com destaque para os biomateriais cerâmicos, reconhecidos por suas propriedades cristalográficas e elevada compatibilidade química com o meio fisiológico, especialmente quando aplicados em contextos ósseos e odontológicos (VAIANI *et al.*, 2023). Entre as principais cerâmicas utilizadas, destacam-se os materiais bioinertes (como a alumina e a zircônia), os bioativos (como os biovidros e as vitrocerâmicas) e os bioreabsorvíveis (como o fosfato tricálcico e a hidroxiapatita porosa). A seguir, são apresentadas as principais características dos materiais selecionados para este estudo.

3.5.1.1 Alumina

O óxido de alumínio, conhecido também como alumina (Al_2O_3), é um composto químico obtido da bauxita, uma rocha de cor avermelhada rica em alumínio, com mais de 40 % de alumina. Considerado um dos biomateriais cerâmicos mais importantes, utilizados para as mais diversas aplicações devido às suas excelentes propriedades mecânicas, dielétricas e resistência química (LUZ; LINS, 2008). Segundo dados atualizados do *International Aluminium Institute (World Aluminium)* (2022), 95 % de toda a alumina mundial produzida é extraída da bauxita pelo processo Bayer, com mais de 138,2 mil toneladas produzidas. O Brasil destaca-se como

sendo o 3º maior produtor mundial de alumina com 11.000 t/ano no ano de 2021, perdendo apenas pela Austrália com produção de 21.000 t/ano e China com produção mundial de 74.000 t/ano, comprovando a importância dessa matéria-prima para o mercado mundial (MA *et al.*, 2022; USGS, 2022).

A alumina é amplamente utilizada devido às suas excelentes propriedades de resistência ao desgaste e à corrosão, dureza elevada, baixa condutividade térmica com faixa de trabalho que variam de 1850 °C a 1950 °C e temperatura de fusão de 2054 °C. Pode possuir uma pureza de 99,99 % com ampla gama de tamanhos de partículas disponíveis comercialmente, viabilizando uma sinterização mais eficiente, devido à maior área superficial das partículas finas. Na área médica, a alumina é classificada como uma biocerâmica inerte, não reativa, biocompatível, aplicada na confecção de implantes protéticos e componentes de articulações, implantes odontológicos e ortopédicos, armadura corporal, engenharia de tecido, coberturas antioxidantes e membranas (GROSSIN *et al.*, 2021; KOKUBO, 2008).

Outro fator importante que torna a alumina um material adequado para aplicação biomédica e que pode ser produzida com uma porosidade acima de 90 %, o que permite o crescimento celular em ambientes fisiológicos, vascularização, migração de células e penetração de líquidos na aplicação *in vivo*, garantindo resistência a longo prazo (ROSETO-ALZATE *et al.*, 2021; RUYS, 2019). Dentre as desvantagens está presente a baixa tenacidade à fratura, relacionada a interconectividade e a quantidade dos poros impactando diretamente nas propriedades de fadiga da alumina. Sendo assim, as propriedades mecânicas ainda decorrem principalmente da presença de defeitos presentes (ALASVAND *et al.*, 2020).

3.5.1.2 Zircônia

Descoberto em 1789 pelo químico Martin Heinrich Klaproth, o zircônio é um metal de estrutura cristalina hexagonal, não sendo encontrado na natureza de forma pura, mas sim em conjunto com o óxido denominando-se dióxido de zircônio (ZrO₂). Caracteriza-se por ser um óxido polimórfico, sendo encontradas três estruturas cristalinas que determinam suas propriedades: a monoclinica fase estável à temperatura ambiente (1170 °C), a tetragonal (2370 °C) e a cúbica (2680 °C) (ISPAS *et al.*, 2021; PUNJ; SINGH; SINGH, 2022).

Introduzida comercialmente da década de 1990, o dióxido de zircônio ou zircônia é amplamente utilizado na área odontológica protética, devido às suas excelentes propriedades de biocompatibilidade, alta resistência mecânica, resistência à fadiga superior, alta resistência à fratura, elevado módulo de Young e estabilidade química. Devido às mudanças de fases, são

criados defeitos, como formação de trincas, durante o processo de resfriamento e aquecimento; óxidos como o de magnésio (MgO), cálcio (CaO), cério (CeO₂) ou de ítrio (Y₂O₃) são adicionadas à zircônia como agentes dopantes para estabilizar as fases cúbica e tetragonal. Dentre os tipos de zircônia utilizados na odontologia, se destacam a zircônia parcialmente estabilizada com o cátion magnésio (Mg-PSZ), a alumina tenacificada com zircônia (ZTA) e a zircônia tetragonal policristalina estabilizada com cátion ítrio (Y-TZP), sendo esta (estabilizada com 3 % mol de Y₂O₃) a principal zircônia indicada, devido ao grau biomédico, para obter as propriedades mecânicas desejadas (GROSSIN *et al.*, 2021; ISPAS *et al.*, 2021).

A zircônia apresenta propriedades mecânicas semelhantes ao aço inoxidável, com resistência à tração de 900-1200 MPa e compressão de 2000 MPa. Possui uma temperatura de fusão de 1852 °C, boa resistência a fratura, é um material translúcido com habilidade radiopacificante, inerte, não citotóxico e com boa capacidade de cultivo e proliferação celular quando aplicado em engenharia de tecido ósseo (ISPAS *et al.*, 2021; PATIL; KANDASUBRAMANIAN, 2020). De acordo com relatório emitido pela *Research and Markets* (2023), o zircônio apresenta imenso potencial para um amplo espectro de aplicações sendo seu mercado global estimado em 204,9 mil toneladas métricas em 2022 e deve atingir 224,1 mil toneladas métricas até 2026, refletindo uma taxa de crescimento anual de 2,7 %.

Dentre as principais aplicações da zircônia, se enquadram as biomédicas, implantes cirúrgicos, odontológicos (coroas, pontes, implantes e facetas), células combustíveis, revestimentos ópticos, suporte catalítico e sensores (ZHANG; WU; SHI, 2020).

3.5.1.3 Biovidros

Além das cerâmicas cristalinas alumina e zircônia, os biovidros ou vidros bioativos são uma classe de materiais inorgânicos e sintéticos, com capacidade biocompatível que induz a regeneração e formação óssea por sua capacidade de desenvolver forte ligação com o tecido. Os biovidros são compostos principalmente de óxido de silício (SiO₂), cálcio (Ca) e fósforo (P), com capacidade de formar uma camada bioativa na superfície de um implante quando submetidos em uma solução biológica que simula o plasma sanguíneo. Esta propriedade permite a adesão do implante ao osso, auxiliando na reparação do tecido lesado sem causar fibrose ou resposta imunológica ao corpo implantável (SCHARDOSIM, 2016; RIBAS *et al.*, 2019).

O primeiro biovidro foi estudado no ano de 1969 pelo Professor Larry Hench, que descobriu um biovidro à base de silicato conhecido como *45S5 Bioglass®* com uma composição

de molar de 46,1 % SiO_2 , 24,4 % Na_2O , 26,9 % CaO e 2,6 % P_2O_5 . É considerado historicamente um dos principais biovidros, devido à sua alta bioatividade de superfície, biocompatibilidade, propriedades osteocondutoras (*in vivo* ou *in vitro*) e atividade antimicrobiana, e é aplicado na área ortopédica e odontológica desde a década de 80 (EGE; ZHENG; BOCCACCINI, 2022; SPIRANDELI *et al.*, 2021). Além do biovidro tradicional, outras composições de biovidros foram desenvolvidas, sendo categorizados (i) à base de silicato, empregados em aplicações clínicas; e (ii) à base de fosfato e borato, aplicados como cicatrizantes, devido à alta taxa de dissolução. É importante destacar que os vidros bioativos a base de silicato oferece vantagens sobre o fosfato tricálcico e hidroxiapatita devido à presença de silício, aumentando a migração de grupos Ca^{2+} e PO_4^{3-} para a superfície criando ligações provenientes de uma série de reações que ocorrem em contato com os tecidos promovendo a ligação e proliferação celular (CHATZISTAVROU *et al.*, 2013; SERGI; BELLUCCI; CANNILLO, 2020).

De acordo com Hench (2006), a composição dos biovidros também é um fator determinante na rapidez de ligações com o tecido, as taxas mais rápidas para vidros com composição de SiO_2 , CaO , Na_2O e P_2O_5 são obtidas com teores de SiO_2 de 45 a 52 % em peso, surgindo após 5 a 10 dias tanto em tecidos moles ou duros; as composições com teores de SiO_2 de 55 a 60 % em peso exibem taxas de ligações mais lentas necessitando de maior tempo para formar um vínculo com osso; e as composições com mais de 60 % de SiO_2 não se ligam ao osso nem aos tecidos moles sendo bioinertes.

Para aplicações biomédicas os biovidros podem ser produzidos por duas técnicas: a *melt-quenching* (têmpera por fusão) e o método sol-gel. No método *melt-quenching*, o vidro a granel é obtido pela mistura de óxidos ou carbonatos a temperaturas de 1300 – 1500 °C, resfriado rapidamente e apresentam-se na forma de monólitos altamente densos. Já a síntese de sol-gel é definida por seguir etapas de preparação de um sol, gelificação do sol e remoção do solvente, permitindo obter materiais homogêneos e quimicamente puros em baixas temperaturas, com textura nanoporosa (BEN-ARFA; PULLAR, 2020). Atualmente o método sol-gel também é usado para obter biovidros no sistema binário (CaO - SiO_2), terciário (SiO_2 - CaO - P_2O_5) ou quaternário (SiO_2 - CaO - P_2O_5 - MgO), cada qual com um certo grau de bioatividade. Devido as suas baixas propriedades mecânicas quando utilizado individualmente, os biovidros são empregados a granel, pó, fibras, infiltrado ou como revestimento em substratos/compósitos promovendo o crescimento, proliferação e diferenciação celular atraindo atenção significativa para área médica (FARIAS, 2015).

3.5.2 Matriz polimérica – aditivos para processamento cerâmico

Os materiais poliméricos com baixo ponto de fusão são os preferidos para a utilização no processo de impressão 3D devido ao baixo custo, peso e flexibilidade de processamento e, uma vez que sejam reforçados com fibras, partículas ou nanomateriais, possibilitaram a obtenção de resultados promissores no desenvolvimento de novos materiais compósitos. Como ligantes principais desenvolvidos neste trabalho destacamos o polietileno de baixa densidade.

3.5.2.1 Polietileno de baixa densidade (PEBD)

O polietileno de baixa densidade (PEBD) é um polímero obtido pela polimerização em altas pressões do etileno e sua baixa densidade está relacionada à presença de uma pequena quantidade de ramificações. É um polímero de cadeia carbônica parcialmente cristalina (50 – 60 %), flexível, de monômeros de hidrocarbonetos alifáticos insaturados, contendo uma dupla ligação de carbono-carbono (CH_2), finalizada com grupo CH_3 sendo as ramificações que caracterizam suas propriedades como cristalização, temperatura de transição vítrea e tamanho de cristalitos (GHATGE *et al.*, 2020; KUMAR SEN; RAUT, 2015).

Além de baixo custo, o PEBD apresenta propriedades particulares devido a ampla gama de aplicações que se estendem desde a produção de sacolas e embalagens plásticas, embalagens alimentícias, brinquedos, filmes médicos estéreis e saúde pessoal. Caracteriza-se por apresentar uma densidade entre $0,910 - 0,94 \text{ g.cm}^{-3}$, fácil processamento, baixa resistência à tração, alta resistência ao impacto, resistência química, flexibilidade mesmo em baixa temperatura, elevada resistência à corrosão, excelentes propriedades elétricas devido à sua estabilidade térmica, boas propriedades ópticas e baixa toxicidade (COUTINHO; MELLO; SANTA MARIA, 2003; OLESIK; GODZIERZ; KOZIOŁ, 2019).

Os polietilenos em geral, podem ser encontrados de vários tipos diferindo-se pelas suas ramificações, densidade, peso molecular, variando em propriedades térmicas, mecânicas, químicas, elétricas, ópticas e biomédicas. É importante ressaltar que o polietileno (PE) representa o polímero mais popular utilizado mundialmente, com volume de mercado de 106 milhões de toneladas e expectativa de 135 milhões de toneladas até 2029, representando a sua grande importância perante as necessidades de suas aplicações (PAXTON *et al.*, 2019; STATISTA RESEARCH DEPARTMENT, 2022).

Na manufatura aditiva, o PEBD apresenta desvantagens como baixa resistência e rigidez, baixa adesão e alto encolhimento podendo resultar em defeitos durante a impressão, por outro

lado, alguns destes problemas podem ser evitados quando reforçado com partículas metálicas ou cerâmicas na produção de compósitos, melhorando seu módulo de armazenamento, aumentando as propriedades mecânicas e reduzindo o encolhimento, fator relevante no desenvolvimento deste trabalho (OLESIK; GODZIERZ; KOZIOŁ, 2019).

3.6 MANUFATURA ADITIVA

A manufatura aditiva (AM) é um processo que consiste em imprimir artefatos tridimensionais de diversos formatos camada por camada, uma sobre as outras. Essa tecnologia foi desenvolvida por Charles Hull em 1986, pela técnica de estereolitografia (SL), onde os modelos tridimensionais eram produzidos por resina fotorreticuláveis, usando uma luz ultravioleta (UV) para iniciar a reação de polimerização. Esse processo foi seguido por desenvolvimentos subsequentes, como fusão em leito de pó, modelagem por fusão e deposição (FDM), impressão a jato de tinta e elaboração/criação de contorno (CC – *Contour Crafting*) (BHATIA; SEHGAL, 2023; NGO *et al.*, 2018). A impressão consiste na utilização de um *software* de desenho auxiliado por computador (AutoCAD e *Solidworks*), exportado para um arquivo com extensão STL que permite que o arquivo tridimensional desenhado seja dividido em camadas 2D, e a máquina de impressão 3D projeta e cria o caminho das direções X e Y para fabricação direta da peça, e após, em forma tridimensional nas orientações X, Y e Z aplicando uma camada sobre a outra (BOSE *et al.*, 2018).

Dentro da manufatura aditiva diferentes processos podem ser utilizados para produção de peças, sendo os mais utilizados a Fabricação com Filamento Fundido (*Fused Filament Fabrication* - FFF), Fabricação por fusão e deposição (*Fused Deposition modeling* - FDM), Sinterização Seletiva a Laser (*Selective Laser Sintering* - SLS), Fusão Seletiva a Laser (*Selective Laser Fused* - SLM), Estereolitografia (*Stereolithography* - SL), Deposição de Energia Direta (*Direct Energy Deposition* - DED), Manufatura laminar de Objetos (*Laminated Object Manufacturing* - LOM) e, mais recentemente, tem se destacado a técnica de Processamento Digital por Luz (*Digital Light Processing* - DLP). Cada técnica possui características particulares de aplicabilidade, estado físico (líquido, pó ou sólido) e materiais utilizados em cada processo (ZHANG; LIU; QIU, 2021).

A manufatura aditiva caracteriza-se por ser usada na manufatura em pequena escala, para produzir produtos de baixo custo, peças fortes e leves, projetos flexíveis e detalhados sem desperdício de materiais, com liberdade de acesso e *design*, customização e produção rápida. Essa facilidade permite a utilização de vários materiais como metais e ligas, polímeros,

compósitos, cerâmicos, pós, resinas, vidro, materiais biodegradáveis, cada um com seu propósito e método projetado para uma finalidade específica de pós-processamento (BHATIA; SEHGAL, 2023; ZHANG; LIU; QIU, 2021).

3.6.1 Fabricação por manufatura aditiva por extrusão de material

A fabricação por extrusão de material é uma técnica da manufatura aditiva para peças complexas desenvolvida em 1980, comercializada pela primeira vez como modelagem por deposição fundida (FDM), desenvolvida e patenteada por Scott Crump, cofundador da empresa *Stratasys Inc.* dos EUA em 1990. Essa técnica baseia-se no uso de filamentos termoplásticos contínuos puxados por engrenagens e fundidos através de um bico aquecido, que se move ao longo do plano X-Y, depositado sobre uma mesa que se move na direção do eixo Z, produzindo a peça 3D camada por camada que solidifica em temperatura ambiente (SUBRAMANIYAN *et al.*, 2021).

A técnica tem se mostrado relevante nos mais diversos campos como por exemplo, aeroespacial, medicina, bioquímica, eletrônica, indústria automotiva, biotecnologia, alimentos, produtos farmacêuticos, engenharia de equipamentos e projetos de reatores químicos. É uma das técnicas mais difundidas, em virtude das suas vantagens econômicas, volumes e escalas versáteis de construção, capacidade de co-imprimir composições múltiplas compatíveis com uma ampla gama de materiais. Os filamentos utilizados podem ser modificados com a adição de partículas funcionais, para melhorar o desempenho mecânico e pode-se também utilizar variações de bicos de impressão. Porém, limitações como fraca adesão interfacial, alta porosidade, vazios, interação (ligação) entre as fibras e a matriz e, entre a carga e a matriz, concentração de tensões e vedação insatisfatória ainda são limitações desta tecnologia (GORDEEV; GALUSHKO; ANANIKOV, 2018; TAO *et al.*, 2021).

Muitos são os parâmetros utilizados que possuem um impacto significativo nas peças construídas, afetando diretamente as propriedades, qualidade de construção das peças, precisão dimensional, propriedades tribológicas, mecânicas e eficiência do processo. Estes parâmetros são de suma importância, destacando-se mais relevantes a velocidade de impressão, a espessura da camada, a orientação, o ângulo varredura em relação ao eixo X, o padrão de preenchimento, a densidade de preenchimento, a temperatura de extrusão e os tratamentos térmicos (como *debinding* e sinterização) (DEY; YODO, 2019; KAUR; SINGARI; KUMAR, 2022). A velocidade de impressão é um dos fatores mais tolerantes, pois é responsável pela velocidade do bocal de impressão no plano bidimensional, define a velocidade de alimentação afetando o

fluxo, o diâmetro de impressão e determina a distância entre as camadas depositadas, aumentando ou diminuindo o diâmetro do filamento impresso (MONTICELI *et al.*, 2022).

Dentre os aspectos descritos, a utilização de filamentos compósitos, especificamente os de matriz polimérica com preenchimento, é uma opção viável para aplicações específicas em que se deseja melhorar desempenho com propriedades únicas, estudo que está sendo desenvolvido neste trabalho. Estes filamentos necessitam atender requisitos específicos sendo fator primordial a adesão entre polímero e reforço, como também a viscosidade em que suas propriedades são dependentes (DEY; EAGLE; YODO, 2021; SHAQOUR *et al.*, 2021).

3.6.2 *Debinding* e sinterização

O processo de *debinding* consiste em remover controladamente um ligante polimérico adicionado ao pó durante a conformação de uma peça, degradando-o ou fundindo-o termicamente. Durante este processo a peça é submetida a um aquecimento lento apropriado para o material e ligante, usando um forno programável sob uma atmosfera controlada usando gás de proteção, ou ao ar sobre um leito de pó conhecido como *wicking*. O processo de *debinding* também pode ser realizado via solvente (hexano), água ou catálise (vapor de ácido catalítico), que vai variar a depender da combinação específica de materiais (LOTFIZAREI *et al.*, 2023).

A sinterização é definida como um processo físico, no qual agregados de partículas, compactados ou não, são transformados em corpos sólidos por mecanismos de transporte atômico difusionais, adquirindo resistência mecânica com auxílio de aquecimento em altas temperaturas. A força motriz da sinterização é a minimização da energia livre total das partículas, enquanto o principal mecanismo é a difusão entre elas, ocorrendo não só nos contornos de grãos, entre as partículas, como também no interior dos grãos. Já o aumento de temperatura durante o processo, atribui a consolidação da peça a verde, com remoção dos aditivos de moldagem, redução de porosidade através da coalescência das partículas, resultando em um corpo rígido e com resistência mecânica (GIBSON *et al.*, 2021; THÜMMLER; THOMMA, 2013).

Os dois principais tipos de sinterização são com fase sólida, quando o aquecimento atinge temperaturas abaixo do ponto de fusão do material (ordem de 70 % da temperatura de fusão em Kelvin), com exigências de controle de temperatura, tempo, atmosfera do forno e tamanho das partículas de pó; e a sinterização com fase líquida, quando 1 a 20 % do volume cerâmico está

em fase líquida, enquanto o restante permanece sólido, exigindo temperaturas não tão elevadas, com redução de microporosidade. No entanto, nos materiais cerâmicos como os vidros, ocorre a sinterização no estado líquido por fluxo viscoso, produzido pela tensão superficial, neste caso mais fortemente influenciada pela dimensão dos pós que provoca um aumento da área de contato entre as partículas, melhorando o empacotamento e densificação do sistema (BERGMANN; STUMPF, 2013; RICHERSON, 2006). O processo de sinterização com fase sólida utilizada neste trabalho para a obtenção dos *scaffolds* é dividido em três estágios caracterizados em termos de mudanças físicas nos corpos compactados, tamanho de grão, densidade relativa, volume e variação nas propriedades mecânicas. São eles: (i) estágio inicial, com partículas em contato; (ii) estágio intermediário ou densificação com aglomeração das partículas e crescimento de grão; e por fim (iii) o estágio final com redução de energia livre do sistema com área de contato máxima entre os grãos (SHACKELFORD; DOREMUS, 2008).

Entretanto, muitos são os fatores relacionados à sinterização em estado sólido, como tamanho de partícula, presença de aglomerados, densidade do corpo a verde, temperatura, tempo de processo, taxa de aquecimento e resfriamento. Dentre eles, o tamanho de grão, tempo e temperatura são os mais influentes da densificação e propriedades finais, sendo necessário levar em consideração a combinação dos parâmetros de sinterização e controle rigoroso de variáveis para um processo ideal (LANDEK *et al.*, 2021). Finalmente, para que a difusão atômica ocorra, a temperatura de sinterização deve ficar abaixo da temperatura de fusão do material e é extremamente importante para as técnicas de metalurgia do pó, cerâmicas e aglomerações finas de minérios.

3.7 ESTADO DA ARTE

A revisão do estado da arte elucidou a relevância da produção de *scaffolds* compósitos para aplicações biomédicas, destacando-se a técnica de fabricação por extrusão de material, a FDM e FFF pela sua capacidade de fabricar estruturas geométricas complexas, muitas vezes inviáveis por métodos convencionais de manufatura. Além disso, a aplicação de revestimentos bioativos, como o biovidro, tem se mostrado eficaz na modificação de superfícies, promovendo bioatividade e melhor adesão ao tecido biológico.

Dessa forma, a revisão bibliográfica deste trabalho foi fundamentada em estudos que investigam propriedades semelhantes às abordadas nesta pesquisa, ainda que com diferentes composições de materiais. A ampla utilização da manufatura aditiva na produção de biomateriais compósitos envolvendo variáveis (tipos de carga, agentes ligantes, processo de

FDM e FFF, etapas de *debinding* e sinterização, aplicação de biovidros, revestimentos bioativos e infiltração) serviu como base para a análise comparativa apresentada no Quadro 2, com foco em aplicações ósseas e odontológicas.

Quadro 2 – Análise comparativa dos estudos atuais.

Tipo de compósito	Descrição	Resultados	Ref.
ZrO ₂ , PEBD, parafina e ácido esteárico	Avaliação das propriedades reológicas de peças fabricadas pelo processo FFF e submetidas a pós-processamento de <i>debinding</i> e sinterização. A mistura consistiu na escolha adequada da carga, ligantes e surfactantes misturados em uma proporção de 50 % vol. carga cerâmica e 50 % vol. de ligantes (40 % polímero e 60 % cera).	A influência do ácido esteárico no comportamento do fluxo, estabeleceu valores baixos de viscosidade adequados para a FFF mesmo com 50 % vol. carga de ZrO ₂ , bem como excelentes valores de densidade de sinterização (99,2 %), caracterizando a capacidade de aumento na concentração de carga, impressão de peças complexas, com prospecção de boas propriedades mecânicas.	NÖTZEL <i>et al.</i> (2021)
Zetamix: poliolefina e Al ₂ O ₃	Avaliação das propriedades mecânicas de peças cerâmicas de Al ₂ O ₃ obtidas por FFF. O filamento foi produzido pela Zetamix (França) com um sistema ligante a base de poliolefina com 48 %vol. e a proporção de Al ₂ O ₃ (tamanho de partícula <1 µm) de 52 %vol.	Os valores de resistência a flexão variaram entre 316,12–331,61 MPa, 30 % maior em relação a resultados obtidos em peças fabricadas por SLS e 26 % superior a moldagem por injeção de pó. A retração média da peça sinterizada foi de 22,5 % e a dureza máxima atingida foi de 2428 ±209 HV10 (dureza Vickers com carga de 10 kg).	TRUXOVÁ <i>et al.</i> (2022)
Al ₂ O ₃ , PEBD, PLA, cera parafínica e anidrido maleico	Avaliação das propriedades microestruturais e mecânicas de pré-formas de alumina porosa obtidas por FDM e infiltradas com vidro à base de lantânio para aplicação em restauração dentária. O filamento consistiu em uma mistura de pó de alumina (50 e 57 vol%) e um sistema orgânico multicomponente contendo PEBD, PLA, cera parafínica e anidrido maleico. O pó de vidro a base de lantânio foi infiltrado aplicando-se uma fina camada na superfície da peça porosa de alumina e fundida.	Maior viscosidade presente na mistura contendo 57 vol% de alumina, sendo ambos os filamentos podendo ser impressos via FFF. Após a infiltração do vidro ambas as misturas apresentaram um encolhimento de ~6 % para misturas com 50 vol% de alumina e ~14 % para as misturas com 57 vol% de alumina, com tamanhos de poros distribuídos entre 100 e 500 nm. Para os resultados de teste de três pontos, a amostra infiltrada com maior carga de alumina mostra resistência de 10 % maior (264 MPa) em comparação a misturas com carga mais baixa (238 MPa).	ARNESANO <i>et al.</i> (2020).
Biovidro e nanopartículas de ZrO ₂	Avaliação das propriedades biomecânicas e os efeitos antibacterianos de <i>scaffolds</i> de biovidro e nanopartículas de ZrO ₂ (BG- ZrO ₂) produzidos por precursor de espuma de poliuretano (PU).	A incorporação de ZrO ₂ na matriz do biovidro produziram <i>scaffolds</i> com boas propriedades, com tamanho de poro na faixa de 190 à 208 µm o que facilita o transporte de nutrientes e migração celular. Os resultados biológicos indicaram boa atividade antimicrobiana e ação inibitória a bactérias <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> , concluindo que os <i>scaffolds</i>	KUMAR <i>et al.</i> (2020)

		biofuncionais pode ser aplicação para prevenção e tratamento de infecções.	
Hidroxiapatita e PLA	Os autores estudaram o efeito da adição de partículas de hidroxiapatita (HA) em <i>scaffolds</i> de poliácido láctico (PLA) produzidos por FFF. A mistura consistiu em 10 % em peso de HA e 90 % em peso do PLA misturados em uma extrusora dupla rosca com produção do filamento, seguido de peletização. Os <i>scaffolds</i> cilíndricos foram impressos por FFF.	Os resultados morfológicos permitiram identificar tamanhos de poros entre 200 µm e 500 µm indicado para uma boa regeneração óssea. As propriedades biológicas avaliadas com células-tronco mesenquimais (MSCs) de polpa dentária por 7, 14 e 21 dias de cultura, mostraram uma maior eficiência no <i>scaffold</i> de PLA puro em comparação ao PLA/HA, resultando em melhor adesão inicial. Após 5 meses de condicionamento, os testes de GPC identificaram um aumento de 50 % no volume dos <i>scaffolds</i> de PLA/HA devido à HA ser muito hidrofílica e absorver umidade contida no meio da cultura celular mais rapidamente, melhorando a degradabilidade. A resistência à compressão do PLA/HA diminuiu com a adição de HA (21,2 MPa para PLA/HA contra 31,2 MPa para PLA).	BAYART <i>et al.</i> , 2022
ZrO ₂ , hidroxiapatita, zinco e biovidro.	Avaliação do desempenho mecânico e biológico de <i>scaffolds</i> de ZrO ₂ , revestidos com HA dopada com zinco e infiltração de vidro (Zn-HA/vidro). O método consistiu em 40 %vol. de carga de zircônia estabilizada com ítria, misturada aos ligantes PEBD, parafina e ácido esteárico. Os <i>scaffolds</i> foram produzidos em uma impressora tipo dispensador pneumático <i>hot melt</i> , secos, sinterizados e submetidos a infiltração de vidro e revestimento de Zn-HA.	Os resultados de compressão identificaram que as amostras infiltradas com vidro apresentaram maior resistência que a amostra referência, podendo estar relacionado aos efeitos de ligação das camadas de vidro infiltrada. Nas propriedades biológicas os <i>scaffolds</i> infiltrados com vidro apresentaram melhor densidade celular, adesão celular e diferenciação, sugerindo que o composto Zn-HA/vidro é uma alternativa para aplicação de regeneração óssea de suporte de carga.	SAKTHIABIRAMI <i>et al.</i> (2021)

Os estudos realizados pelos autores citados apresentam abordagens semelhantes à deste trabalho, uma vez que também avaliam propriedades biológicas de modelos de *scaffolds* com a incorporação de materiais cerâmicos e vidro bioativo. Contudo, é importante considerar que, para a obtenção de peças totalmente cerâmicas, todas as fases orgânicas incluindo ligantes e aditivos devem ser completamente removidas por meio do processo de *debinding*. Essa etapa pode ocorrer através de tratamento térmico único ou por remoção líquida assistida por solvente, sendo fundamental antes da sinterização final (NÖTZEL; HANEMANN, 2020).

Além disso, no estudo biológico, a avaliação da viabilidade celular e da citotoxicidade é fundamental para garantir a eficácia do produto desenvolvido. É imprescindível que o biomaterial consiga mimetizar o ambiente natural das células ósseas, promovendo a diferenciação em osteoblastos e apresentando propriedades mecânicas compatíveis com o tecido nativo. Além disso, o material deve possibilitar o condicionamento funcional adequado e contribuir para a regeneração tecidual, possuindo capacidade controlada de degradação após a implantação. (BAYART *et al.*, 2022).

É importante destacar que muitos estudos não apresentam a obtenção de *scaffolds* compósitos cerâmicos totalmente densos que passaram pela etapa de *debinding* realizada em um único tratamento térmico antes da sinterização, utilizando ligantes de baixo custo que funcionam como materiais de sacrifício. Ademais, diversos trabalhos empregam o método de revestimento via sol-gel como etapa complementar, um dos processos mais eficazes para materiais porosos, amorfos ou cristalinos, devido à sua versatilidade, economia e rapidez, além de garantir resultados de alta qualidade. A síntese por sol-gel permite a obtenção de diferentes morfologias, promovendo melhorias nas propriedades, biocompatibilidade e bioatividade dos implantes, favorecendo a interação e a adesão entre o biomaterial e os tecidos corporais (FERNÁNDEZ-HERNÁN *et al.*, 2022; PUSPASARI *et al.*, 2022).

Com base nas considerações e pesquisas previamente realizadas, identificou-se a necessidade de um estudo aprofundado no desenvolvimento de *scaffolds* de compósitos cerâmicos fabricados por manufatura aditiva por extrusão de material. A proposta consiste na combinação de materiais inertes de elevada dureza, como a alumina, resistência mecânica proporcionada pela zircônia e a bioatividade induzida pelos biovidros, visando a regeneração e formação óssea, sem a necessidade de aditivos ou processos complementares. Desta forma, esta pesquisa busca ampliar o conhecimento sobre o uso de materiais compósitos alternativos com características biológicas, estabelecendo uma solução que minimize os problemas existentes nas aplicações biomédicas em tecido ósseo e contribua para que esse sistema seja viável, compatível e funcionalmente aplicável.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste Capítulo são apresentados os materiais, métodos e técnicas utilizadas para a produção dos *scaffolds* cerâmicos durante as etapas de realização.

4.1 MATERIAIS

Neste trabalho foram utilizados os seguintes materiais:

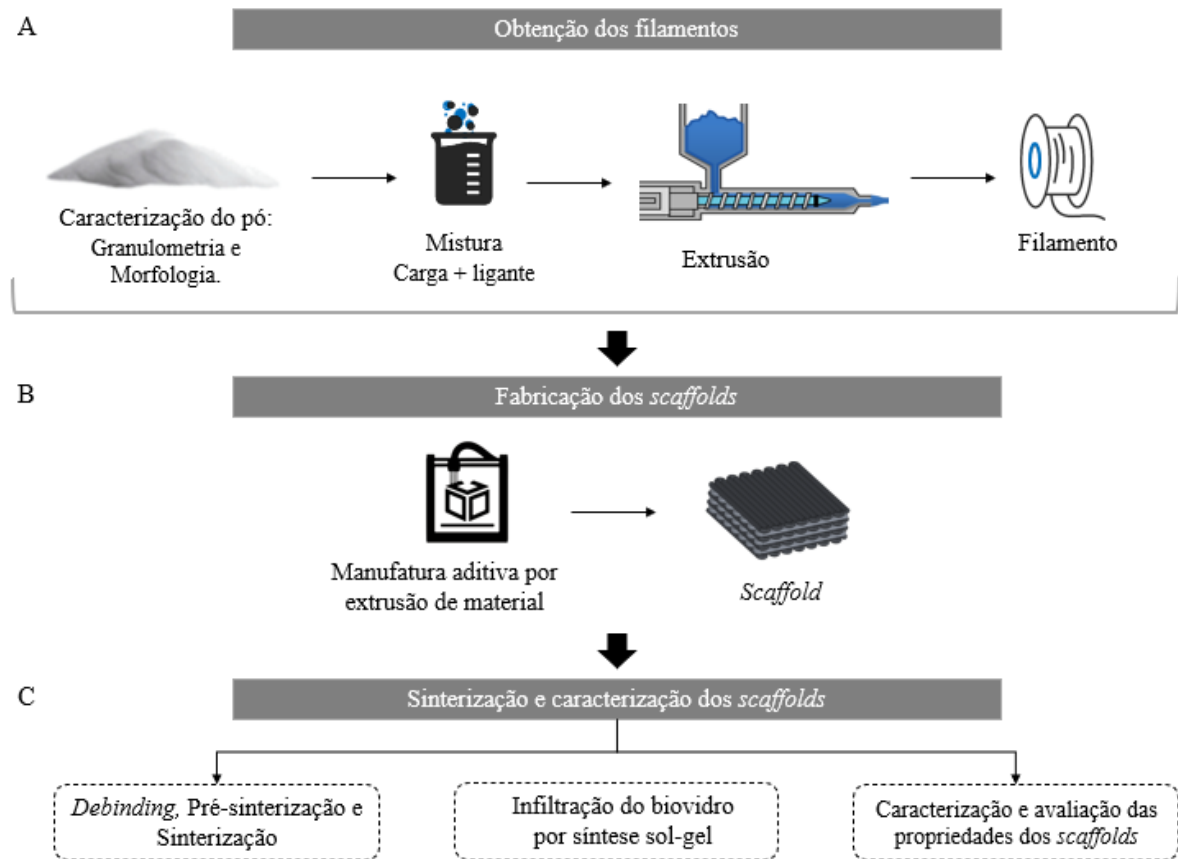
- a) Alumina A-1000SG (99,8 %), com tamanho médio de partícula de 0,4 μm , densidade a verde de 2,11 g.cm^{-3} e densidade após sinterização de 3,93 g.cm^{-3} , fornecidos pela empresa Almatiss.
- b) Zircônia TZ-3YS (99,8 %), com 3 % mol de Y_2O_3 , tamanho médio de partícula de 0,09 μm , densidade de a verde de 2,61 g.cm^{-3} e densidade após sinterização 6,05 g.cm^{-3} , fornecidos pela empresa Tosoh Corporation.
- c) Polietileno de baixa densidade (PEBD) – Roto-K Natura da empresa Karina Indústria e Comércio de Plásticos Ltda, fornecido pela empresa Giroplastic da cidade de Caxias do Sul, pó com densidade de 0,937 g.cm^{-3} .
- d) Ortossilicato de tetraetila ($\text{C}_8\text{H}_{20}\text{O}_4\text{Si}$, 98 %) (TEOS) fornecido pela Sigma-Aldrich e usado como precursor de SiO_2 ;
- e) Ácido ortofosfórico (H_3PO_4 , 85 %)/ Trietil fosfato ($\text{C}_6\text{H}_{15}\text{O}_4\text{P}$) (TEP) fornecidos pela Sigma-Aldrich e usado como precursor de P_2O_5 ;
- f) Nitrato de cálcio tetrahidratado ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 99 %) fornecido pela Dinâmica Química Contemporânea Ltda e usado como precursor de CaO ;
- g) Nitrato de sódio (NaNO_3 , 99 %) fornecido pela Cinética, e usada como precursor de Na_2O .
- h) Ácido nítrico concentrado (HNO_3 , $\geq 65\%$) fornecido pela empresa Química Moderna.

4.2 MÉTODOS

Para melhor descrever as diferentes partes deste estudo, este trabalho foi dividido em etapas conforme apresenta o fluxograma da Figura 4. Etapa A, contempla a caracterização dos pós cerâmicos e a obtenção do filamento por extrusão; a etapa B apresenta a fabricação dos *scaffolds* por manufatura aditiva por extrusão de material; e a etapa C o processo de *debinding*,

pré-sinterização, sinterização e infiltração do biovidro com caracterização e avaliação de propriedades.

Figura 4 – Fluxograma das etapas de execução do estudo desenvolvido.



Fonte: O Autor (2022).

4.2.1 Caracterização dos pós e obtenção dos filamentos por extrusão – ETAPA A

A morfologia das partículas cerâmicas foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura, em um microscópio eletrônico com emissão de campo (MEV-FEG) marca Tescan, modelo Mira3 (República Tcheca), com sistema de espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS), operando em tensão de aceleração de 10 kV. A análise foi realizada no Laboratório Central de Microscopia Professor Israel Baumvol (LCMIC – UCS). Para a realização da análise, a amostra de cada pó foi fixada em um porta amostras, onde ocorreu a deposição de uma fina camada de ouro (Au) por *magnetron sputtering* para tornar o material condutor, com uma corrente de 30 mA e tempo de deposição de 30 s. A análise granulométrica foi caracterizada com auxílio do *software* ImageJ (“ImageJ - Image processing and analysis in Java”, 2023) e a composição química foi determinada pela técnica de EDS.

A obtenção dos filamentos foi feita na extrusora dupla-rosca modelo ES 35 F-R Seibt, no Laboratório de Polímeros do LAMAT (UCS). O Quadro 3 apresenta a codificação e a composição das formulações desenvolvidas.

Quadro 3 – Codificação das formulações desenvolvidas.

Código	Formulações (% vol.)	Formulações (% peso)
SC/AL	65 % de PEBD e 35 % de alumina.	45 % de PEBD e 55 % de alumina.
SC/ZR	70 % de PEBD e 30 % de zircônia.	45 % de PEBD e 55 % de zircônia.
SC/AL/ZR	67 % de PEBD, 18 % de alumina e 15 % de zircônia.	45 % de PEBD, 27,5 % de alumina e 27,5 % de zircônia.

Na primeira etapa de pré-processamento, os polímeros foram secos a 60 °C/ 1 h e as cargas cerâmicas a 60 °C/ 5 h. As cargas foram misturadas manualmente em béqueres separados com o PEBD na proporção em peso calculada. Após as misturas passaram por extrusão na extrusora dupla-rosca, que funciona com 3 zonas de aquecimento de acordo com a temperatura de processo para cada formulação: zonas de alimentação (125 °C à 160 °C), zona de plastificação (190 °C) e zona de dosagem (170 °C à 180 °C).

Após extrudados, os filamentos são tracionados por puxadores automáticos dentro de uma calha com água para resfriamento, e assim, é definido o diâmetro de 1,75 mm (em média), com auxílio de um paquímetro obedecendo às especificações de uso da impressora 3D. Por fim, os filamentos foram enrolados em uma bobina plástica, secos em uma estufa a 40 °C/ 24 h e dessecados para posterior impressão 3D.

A morfologia e a distribuição dos pós cerâmicos no filamento a verde foram avaliadas por MEV-FEG no LCMIC – UCS e o tamanho de partícula foi avaliado usando o *software* ImageJ. As micrografias foram obtidas no modo BSE (elétrons retroespalhados), para destacar o contraste das partículas cerâmicas através do peso atômico do material. A seção transversal das amostras foi obtida através de fratura criogênica (em nitrogênio líquido), e após, foram fixadas em um porta amostras, para a deposição de uma fina camada de Au por *magnetron sputtering* (corrente de 30 mA e tempo de deposição de 30 s).

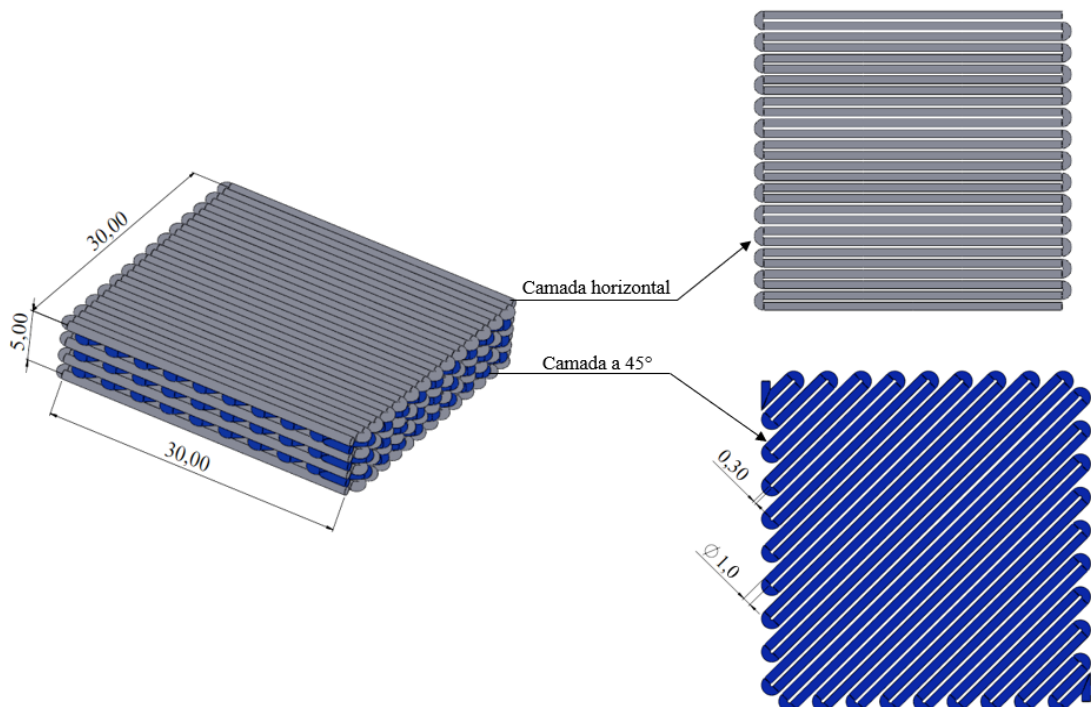
A diferença de altura da superfície fraturada foi analisada com o auxílio do *software* OriginPro 9 com a projeção da variação das cores. Essa técnica é usada para exibir um raster de banda única em que cada valor de pixel está associado a uma cor, definindo um conjunto de valores, sendo que a cor azul indica a superfície mínima e a vermelha a altura máxima, visualizada em cada imagem de microscopia.

4.2.2 Fabricação dos *scaffolds* – ETAPA B

A obtenção dos *scaffolds* por fabricação por manufatura aditiva por extrusão de material foi realizada na impressora 3D modelo RepRap Graber i3 (impressora 3D de mesa e de código aberto) controlada pela plataforma de prototipagem Arduino, com mesa aquecida do Laboratório de Física da UCS. O modelo computacional foi produzido utilizando o *software* SolidWorks® e após salvo em arquivo SLT compatível com a programação da impressora 3D. Para a impressão dos *scaffolds*, foi utilizado tamanho de bico de 1 mm para todas os filamentos.

Os *scaffolds* foram impressos com as temperaturas do bico do extrusor para o SC/AL de 205 °C, SC/ZR de 190 °C e SC/AL/ZR de 185 °C, mantendo-se para todos as mesmas temperaturas de mesa de 40 °C e velocidade de impressão de 40 mm.s⁻¹. A geometria tridimensional utilizada teve como base estudos já avaliados por Faccio *et al.* (2021) obedecendo as dimensões de 5 mm x 30 mm (altura x lateral), espaçamento entre filamentos de 0,300 mm e orientações de impressão de camadas 0°/ 45°. Foram impressos em torno de 15 *scaffolds* cada formulação.

Figura 5 – Modelo dos *scaffolds* desenvolvidos (dimensões em mm).



Fonte: O Autor (2022).

4.2.3 Sinterização dos *scaffolds* – ETAPA C

4.2.3.1 *Debinding e pré-sinterização dos scaffolds*

Com o objetivo de definir a etapa de remoção do ligante orgânico (*debinding*), foram realizados ensaios de análise térmica. Os ensaios termogravimétricos (TGA) foram realizados em um analisador termogravimétrico Shimadzu TGA-50, com taxa de aquecimento de $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, sob atmosfera de oxigênio, de $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ até $900\text{ }^{\circ}\text{C}$ (fluxo de gás $63\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$), realizadas no LAMAT – UCS. Os resultados permitiram determinar a curva de degradação e a temperatura de degradação (T_d) do material polimérico, para posterior construção da rampa de aquecimento para remoção do ligante orgânico na etapa de *debinding*.

Os processos de *debinding* em leito de pó e de pré-sinterização, foram realizados em um forno marca Sanchis do Laboratório de Materiais Cerâmicos (LMCer – UCS), com rampas de aquecimento conforme resultado obtido nos ensaios termogravimétricos. Foi desenvolvido um diagrama tempo-temperatura para cada polímero com base em estudos já realizados para extração do ligante, de modo a obtermos os *scaffold* cerâmico final. Após processo de *debinding*, os *scaffolds* são retirados do leito de pó e são pré-sinterizados ao ar sintético a uma taxa de $2\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ até $1000\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2 h. Conhecida também como uma queima intermediária, a pré-sinterização contribui na facilidade de manuseio, redução da porosidade, melhoria na densificação e um pequeno aumento na resistência mecânica.

4.2.3.2 *Sinterização dos scaffolds*

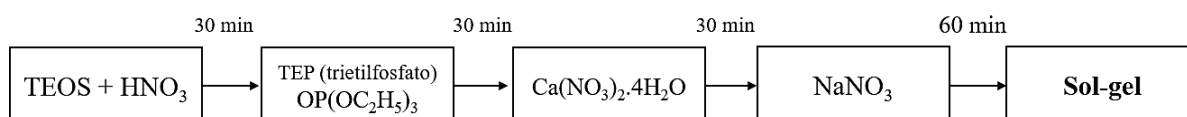
Após a pré-sinterização, os *scaffolds* foram submetidos à sinterização realizada a uma taxa de $1\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ até $1600\text{ }^{\circ}\text{C}$, mantendo-se nesta temperatura por 2 h, em um forno marca Lindberg BlueM, do LMCer – UCS, para posterior infiltração com biovidro.

4.2.3.3 *Síntese do biovidro por sol-gel*

A síntese pelo método sol-gel para a preparação dos biovidros foi baseada e ajustada nos métodos propostos por Bem-Afa *et al.* (2016), Santos (2016) e Spirandeli *et al.* (2021), um sistema quaternário, em que $29,1\text{ mL}$ de TEOS (tetraetilortosilicato, $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$) foram diluídos em $63,6\text{ mL}$ de uma solução aquosa de ácido nítrico (HNO_3) $0,1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ em

temperatura ambiente. Essa mistura ficou sob agitação até que a solução se tornou límpida; desta forma pode-se garantir a hidrólise e policondensação completa do TEOS. Em seguida, os demais reagentes foram adicionados respeitando um intervalo de 30 min até que a solução se tornasse límpida: 3,3 mL de TEP (triethylfosfato, $\text{OP}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$), 12,4 g de nitrato de cálcio tetra hidratado ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) e 1,7 g de nitrato de sódio (NaNO_3). Para finalizar, a solução continuou sob agitação por mais 1 hora de acordo como mostra o fluxograma da Figura 6.

Figura 6 – Fluxograma da síntese do biovidro pelo método sol-gel.



Fonte: O Autor (2023).

Ao finalizar o processo de mistura, a solução foi acondicionada em recipientes de vidro à temperatura ambiente e os *scaffolds* foram imersos por 6 dias para permitir a devida impregnação e formação do gel pelo meio poroso. Após retirados da mistura, os *scaffolds* foram secos em estufa a 60 °C/ 72 h e sinterizados em um forno tubular Sanchis do LMCer – UCS, a 600 °C com taxa de aquecimento de 5 °C.min⁻¹, permanecendo 4 h nesta temperatura e após em 1200 °C a uma taxa de 5 °C.min⁻¹ permanecendo por mais 2 h para fusão e incorporação do biovidro impregnado. Por fim, os *scaffolds* infiltrados foram cortados e a morfologia da seção transversal foi avaliada por MEV-EDS sendo codificados conforme Quadro 4 mantendo-se as mesmas formulações apresentadas conforme descritas no item 4.2.1.

Quadro 4 – Codificação dos *scaffolds* infiltrados com biovidro.

Código	Descrição
SC/AL/BG	<i>Scaffolds</i> de alumina com infiltração de biovidro
SC/ZR/BG	<i>Scaffolds</i> de zircônia com infiltração de biovidro
SC/AL/ZR/BG	<i>Scaffolds</i> de alumina e zircônia com infiltração de biovidro

4.2.4 Caracterização e avaliação biológica dos *scaffolds* – ETAPA C

Os estudos biológicos foram analisados com base na biocompatibilidade e avaliação citotóxica conforme recomendado pela ISO 10993 (2020/2023), para a avaliação biológica de dispositivos médicos estéreis que entram em contato com o corpo humano. As análises foram realizadas no Centro de Produção e Terapias Celulares (CPTCell – UCS) e foram

disponibilizadas cinco amostras de cada *scaffold* com e sem infiltração do biovidro (SC/AL; SC/ZR; SC/AL/ZR; SC/AL/BG; SC/ZR/BG; SC/AL/ZR/BG).

Os protocolos gerais de cultura celular consistiram na utilização das linhagens celulares VERO (células epiteliais renais de macaco verde africano) e 3T3 (fibroblastos murinos), adquiridas da *American Type Culture Collection* (ATCC-Rockville, Maryland, EUA). As células foram cultivadas em meio Eagle modificado por Dulbecco, suplementado com 10 % de soro fetal bovino (SFB), 100 U. mL⁻¹ de penicilina e 100 µg. mL⁻¹ de estreptomicina, a uma temperatura de 37 °C, umidade relativa mínima de 95 % e atmosfera de 5 % de CO₂ no ar. Os *scaffolds* foram desinfetados com etanol a 70 °C e expostos à luz UV por 30 min de cada lado, em uma cabine de segurança classe II para o protocolo de descontaminação.

As linhagens celulares VERO e 3T3 foram semeadas a 3-5x10³ células por poço em placas de 96 poços, ou 15-20x10³ células por poço em placas de 24 poços, dependendo do protocolo experimental, sendo expostas a todos os *scaffolds* (SC/AL; SC/ZR; SC/AL/ZR; SC/AL/BG; SC/ZR/BG; SC/AL/ZR/BG) por métodos de eluição a 6 cm². mL⁻¹.

Os ensaios biológicos, incluindo coloração com MTT e DAPI, foram realizados em triplicata, seguindo as diretrizes da ISO 10993 para a avaliação biológica de dispositivos médicos.

4.2.4.1 Potencial citotóxico por MTT

A viabilidade celular foi determinada utilizando o ensaio de MTT para medir a produção de brometo de Formazan [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-2-H-tetrazólio] (Sigma Aldrich, Missouri, EUA). Após a exposição dos *scaffolds* (SC/AL; SC/ZR; SC/AL/ZR; SC/AL/BG; SC/ZR/BG; SC/AL/ZR/BG) por 24, 48 e 72 horas, as células 3T3 e VERO foram incubadas com uma solução de MTT a 0,5 mg. mL⁻¹ diluída em solução salina tamponada com fosfato (PBS) (pH 7,4) por três horas a 37 °C e protegidas da luz. As células foram expostas a 300 µL por poço de dimetilsulfóxido (DMSO; Sigma-Aldrich, Missouri, EUA). A absorbância foi medida a 570 nm usando o espectrofotômetro Bio-Rad (Bio-Rad Laboratories, Califórnia, EUA). Os valores de absorbância foram convertidos em porcentagens usando a fórmula: (absorvência média dos tratamentos × 100) / (absorvência média do controle). Os dados foram analisados usando análise de variância unidirecional (ANOVA), seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni (GraphPad Prism, San Diego, CA, EUA). Os resultados são expressos como média

± desvio padrão (DP), e as diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$ em comparação com o grupo controle.

4.2.4.2 Ensaio de células LIVE/DEAD

O ensaio *LIVE/DEAD Cell Viability Assay* (Abbikine, China, número de catálogo #KTA1001) foi empregado para identificar e quantificar células mortas em tipos de células de mamíferos expostas aos *scaffolds* (SC/AL; SC/ZR; SC/AL/ZR; SC/AL/BG; SC/ZR/BG; SC/AL/ZR/BG) por 48 horas. As células VERO foram incubadas para marcação celular, seguindo as especificações do fabricante. Neste ensaio, carregamos as células com Calceína-AM mais iodeto de propídio (PI), que penetram nas células vivas (fluoróforo verde) e mortas (fluoróforo vermelho), respectivamente, e são contadas as células fluorescentes vermelhas/verdes. Em seguida, as células foram colocadas de volta na incubadora por 30 min para permitir a permeação de Calceína-AM e PI. As imagens de aquisição foram tiradas imediatamente usando um microscópio invertido para microscopia de fluorescência AXIOVERTII (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Alemanha) e seu respectivo *software Zen Blue*.

4.2.4.3 Morfologia nuclear e índice mitótico

A coloração com 4,6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) foi realizada para estabelecer o índice mitótico como parâmetro de proliferação celular. Resumidamente, VERO e 3T3 foram semeados em placas de 24 e 96 poços e incubados com os *scaffolds* (SC/AL; SC/ZR; SC/AL/ZR; SC/AL/BG; SC/ZR/BG; SC/AL/ZR/BG) por até 72 h. Após a incubação, as células foram lavadas três vezes com solução PBS e fixadas com formaldeído a 4 % à temperatura ambiente por 15 min. As células fixadas foram permeabilizadas com Triton X-100 a 0,1 % em PBS e coradas com uma solução de DAPI 300 nM (Santa Cruz, CA, EUA) à temperatura ambiente por 10 min. A morfologia nuclear das células foi examinada em microscópio de fluorescência (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Alemanha). A coloração com DAPI delimita figuras mitóticas e permite a determinação do índice mitótico para cada contagem automática de células. O índice mitótico foi calculado como o número de eventos mitóticos em 10 campos por poço. Os dados foram analisados por ANOVA unidirecional seguida pelo teste *post hoc* de *Bonferroni* (GraphPad Prism, San Diego, CA, EUA). Os resultados são apresentados como

média $\pm$ erro padrão da média (EPM), e valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

4.2.4.4 Morfologia e adesão celular dos scaffolds

Para avaliar a morfologia e a adesão da célula-*scaffold*, amostras de SC/AL/ZR e SC/AL/ZR/BG foram colocados em placas profundas de 24 poços, as células 3T3 foram semeadas a uma densidade de $15-20 \times 10^3$ células por poço. As culturas foram mantidas por 5 dias em condições padrão de incubação. Após a incubação, as amostras foram fixadas com glutaraldeído a 2,5 %, desidratadas em uma série graduada de etanol (50 %, 70 %, 85 %, 95 % e 100 %) e revestidas com ouro usando a técnica de *magnetron sputtering*. As análises topográficas e morfológicas foram realizadas por MEV-FEG.

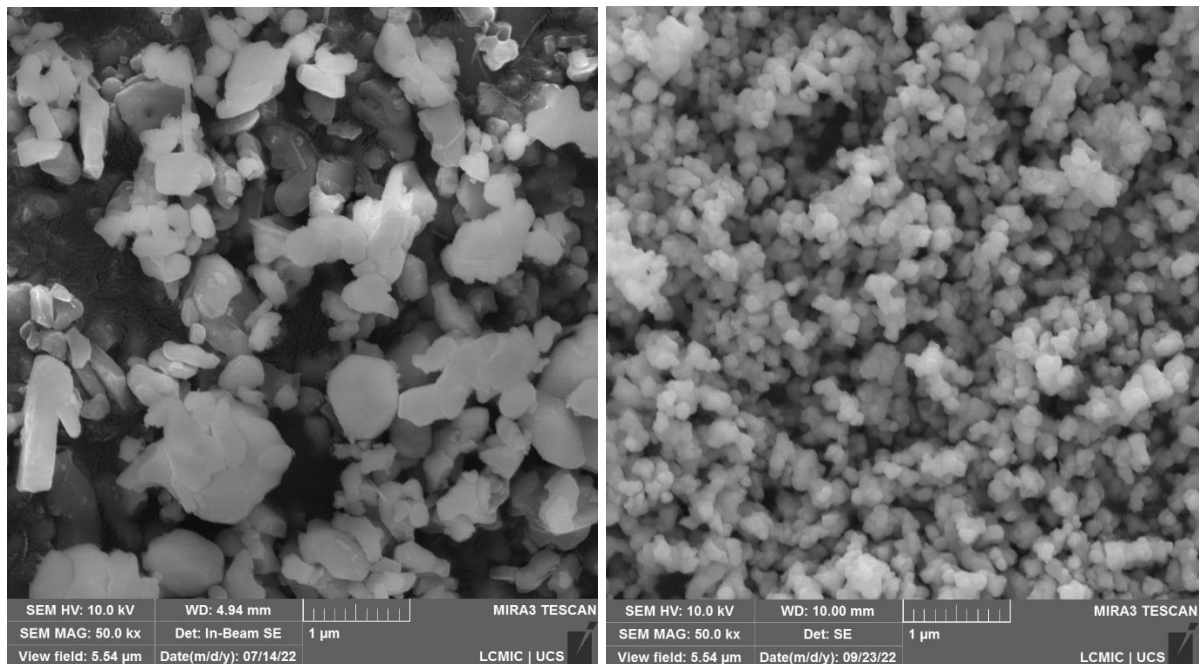
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A seguir estão descritos os resultados obtidos neste trabalho, considerando as etapas realizadas, tais como a caracterização dos pós cerâmicos, a produção dos filamentos, a caracterização dos filamentos, a impressão dos *scaffolds* por manufatura aditiva por extrusão de material e a avaliação das propriedades dos *scaffolds* produzidos.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PÓS E OBTENÇÃO DOS FILAMENTOS POR EXTRUSÃO – ETAPA A

As micrografias das partículas dos pós de alumina e zircônia estão apresentadas na Figura 7, onde é possível de identificar a diferença de tamanho de partícula de cada cerâmica comprovando a compatibilidade dos dados fornecidos pelo fabricante. A medição foi realizada separadamente (contagem de $\sim 100 - 200$ partículas), e separadas por tamanho para contagem final. A alumina se caracteriza por apresentar uma geometria irregular com tamanhos de partículas entre $0,4$ e $0,6 \mu\text{m}$ e a zircônia uma geometria mais esférica e regular com tamanhos de partículas entre $0,09$ e $0,2 \mu\text{m}$.

Figura 7 – Micrografias MEV do pó de alumina (esquerda) e pó de zircônia (direita) com magnificação de $50.000\times$.

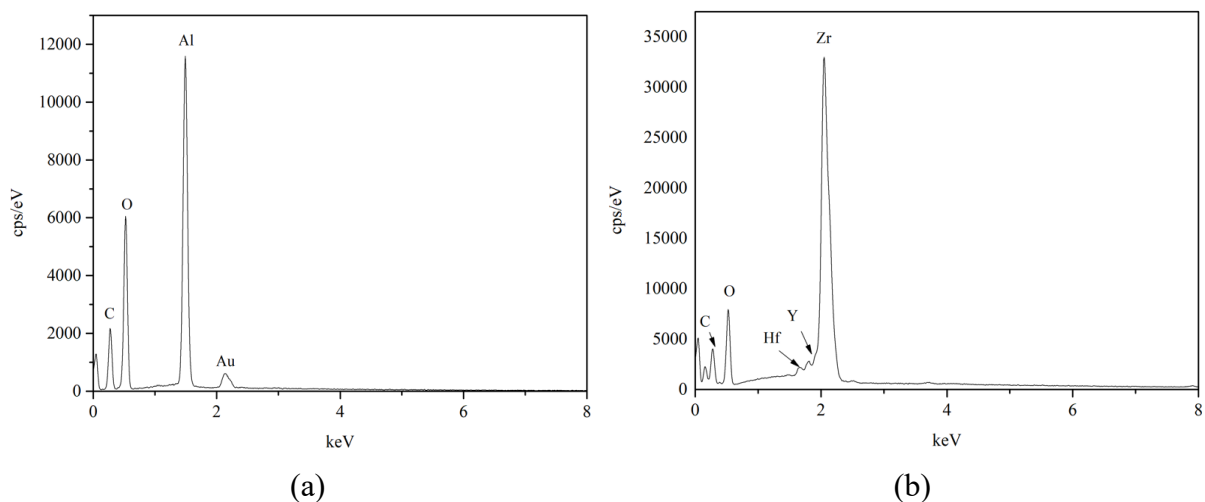


Fonte: O Autor (2022).

A análise de EDS para caracterização química (Figura 8) apresenta o espectro da análise

qualitativa com os respectivos elementos em maiores proporções para o pó de alumina e zircônia. Foi possível observar que os maiores picos para o pó de alumina são relacionados aos elementos oxigênio (45 %) e alumínio (25 %) presentes em maior percentual em massa. Já para o pó de zircônia temos o zircônio (45 %), oxigênio (26 %) e ítrio (1,6 %), com uma pequena contaminação de háfnio como uma impureza natural do pó da zircônia. Os elementos encontrados, confirmam a composição das fases presentes em cada pó, além da presença de carbono e ouro que diz respeito ao procedimento para realização da análise descrita no item 4.2.1. em que o ouro é depositado por *magnetron sputtering* para tornar a amostra condutora e o carbono está relacionado a fita de fixação das amostras.

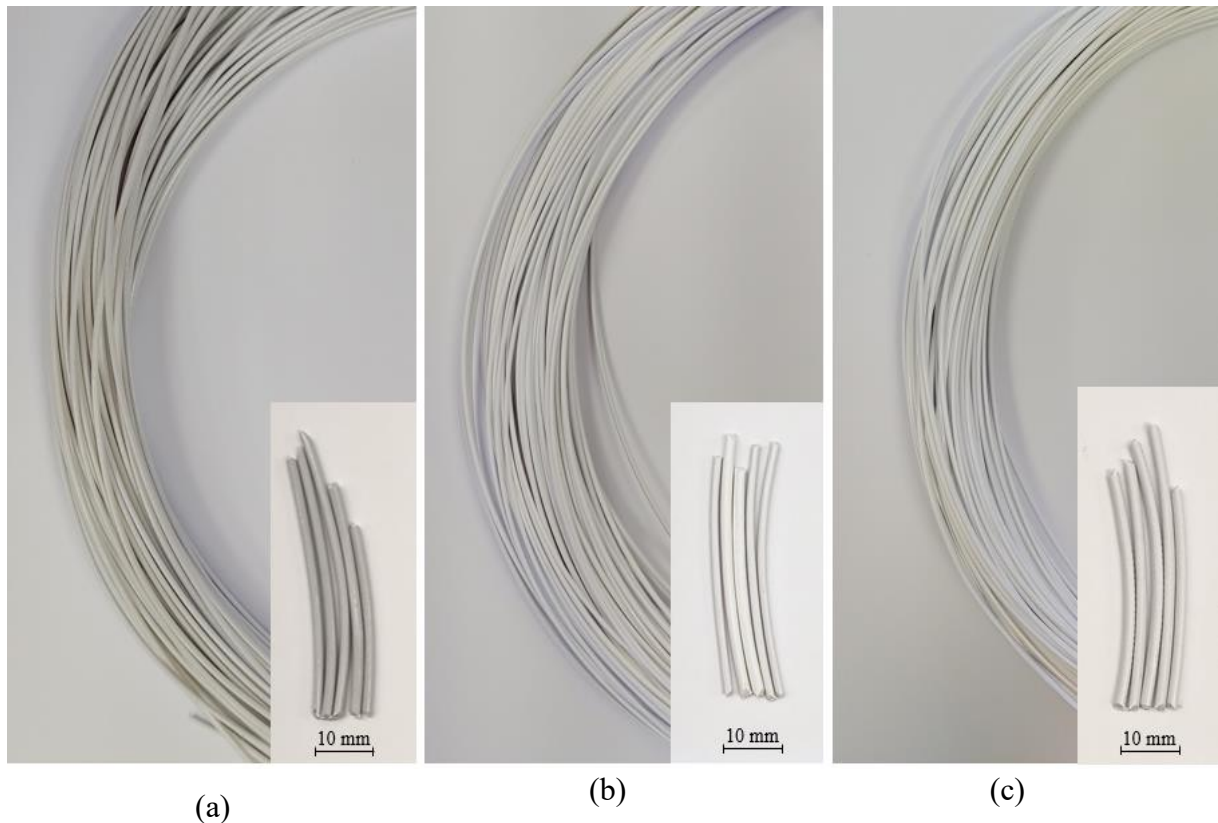
Figura 8 – Espectro da composição química dos pó por EDS: (a) alumina e (b) zircônia.



Fonte: O Autor (2023).

Os filamentos obtidos por extrusão (Figura 9) apresentaram superfície lisa, sem defeitos visíveis a olho nu, além de boa maleabilidade, o que permitiu seu bobinamento adequado. A adição de material cerâmico em proporções superiores a 30 % em volume (equivalente a 55 % em massa) não impôs limitações ao processo de extrusão. Pelo contrário, observou-se facilidade no controle dos parâmetros operacionais, possivelmente relacionado à característica física do PEBD ser em pó, facilitando a mistura no canhão de extrusão. De acordo com estudos, o teor de carga cerâmica ideal adicionada em uma matriz polimérica varia entre 45 e 60 % em volume, faixa que assegura a integridade estrutural necessária durante as etapas de remoção de ligantes, como o *debinding* e a sinterização. Essa proporção favorece a obtenção de peças com alta densificação e qualidade final. Quando o conteúdo de pó cerâmico é inferior a 50 % em volume, a eficiência da sinterização e a densidade final da peça são significativamente comprometidas (CONZELMANN *et al.*, 2020).

Figura 9 – Filamentos obtidos via extrusão: (a) SC/AL, (b) SC/ZR e (c) SC/AL/ZR.



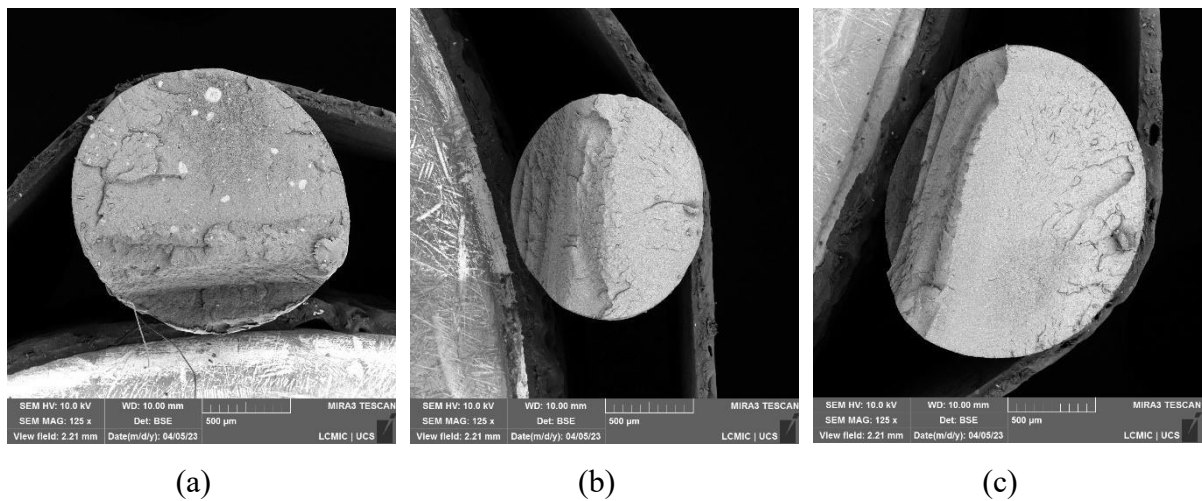
Fonte: O Autor (2024).

A análise de MEV-FEG dos filamentos após fratura criogênica, permitiram revelar o grau de dispersão das partículas no ligante polimérico como também as imperfeições internas dos filamentos, presença de vazios, poros e uniformidades após extrusão.

Nas micrografias da seção transversal dos filamentos (Figura 10), é possível observar a diferença no diâmetro de cada filamento, relacionado a não utilização de calibradores no final da extrusora, necessitando de uma medição manual para se ter um tamanho adequado de 1,75 mm para a utilização na impressora. Também é identificada uma superfície sem presença de vazios, fato este estar favorecido pela forma em pó do PEBD, onde seu menor tamanho de partícula favorece a dispersão e evita a formação de bolhas de ar, resultando em uma estrutura densa e lisa, com maior grau de enchimento. Além disso, outro fator relacionado é a utilização de ligantes em forma de *pellets*, que pode favorecer o aprisionamento de ar durante o carregamento na extrusora, contribuindo para a formação de vazios na matriz do filamento. Em contrapartida, muitos filamentos produzidos com ligantes poliméricos como o ABS, frequentemente apresentam cavidades decorrentes da redução da adesão interfacial durante o processo de extrusão, promovendo a geração de vazios ou defeitos. A adesão interfacial é

inversamente proporcional à tensão interfacial, relacionada ao aumento ou diminuição da temperatura no canhão de extrusão, resultando na aceleração do processo de degradação e aumentando da viscosidade do material em altas temperaturas, com a diminuição do fluxo e plastificação quando em baixas temperaturas (DING; ABEYKOON; PERERA, 2022; FACCIO, M. *et al*, 2021; ZAVŘEL *et al.*, 2022). Neste trabalho, a utilização do PEBD na forma de pó favoreceu o melhor processamento e produção dos filamentos, evitando a formação desses defeitos macroscópicos.

Figura 10 – Micrografias da seção transversal dos filamentos (magnificação 125x): (a) SC/AL, (b) SC/ZR e (c) SC/AL/ZR.



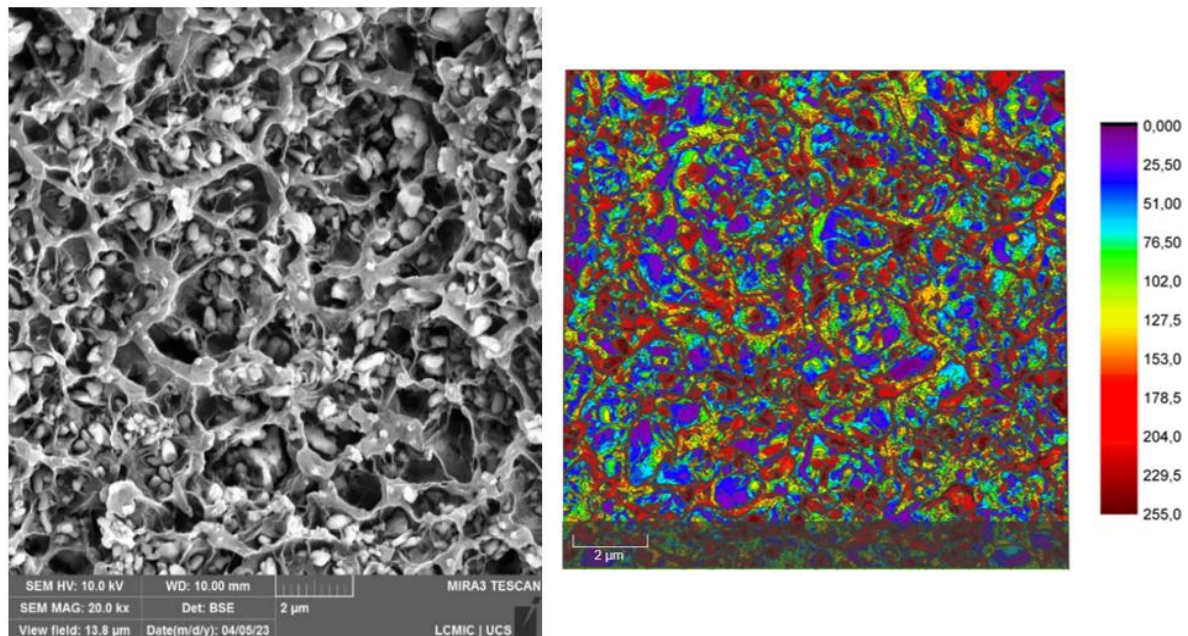
Fonte: O Autor (2023).

Nas micrografias com maior magnificação (Figura 11) 20.000x, foi possível avaliar a distribuição das partículas no filamento e a interação entre polímero/cerâmica, apresentando uma dispersão mais irregular com presença de cavidades e vazios em nível submicrométrico em todas as misturas, não sendo observadas anteriormente em menor magnificação. A presença desses defeitos microscópicos como buracos e vazios está relacionada a natureza semicristalina do PEBD ao ser fraturado, dependente das características moleculares e morfológicas induzidas pelo processamento. A introdução de cargas cerâmicas nesta matriz resulta em um sistema heterogêneo nesse nível de observação e quando uma carga externa é aplicada, induz a concentração de tensões e mecanismos de deformação no compósito, iniciando uma deformação plástica com separação de partículas, provocando a criação de vazios e cavidades.

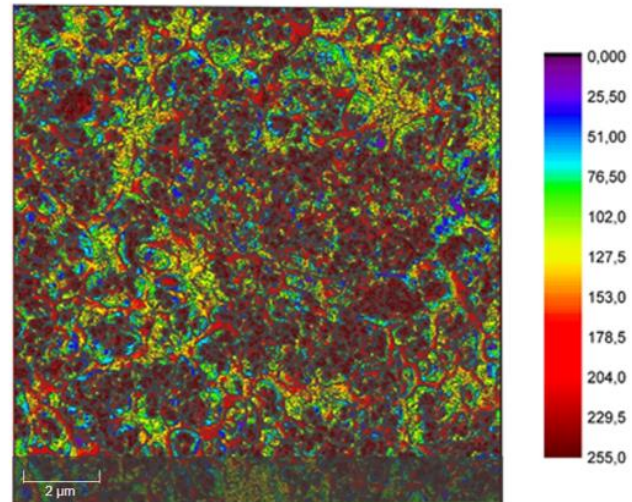
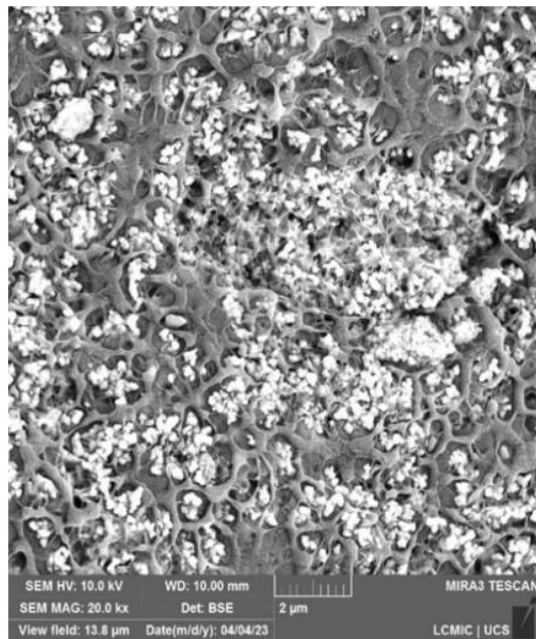
Essas regiões sofrem estiramento localizado até o ponto de ruptura, o que pode ser identificado pela variação de altura na superfície fraturada. Essa diferença é evidenciada por meio da projeção de cores em um gráfico de superfície mapeada por cor (*color map surface*

graph) de cada filamento, que a partir dos conjuntos de dados (x e y), são gerados valores de superfície representados por diferentes cores em cada ponto, revelando as variações topográficas mais acentuadas entre os diferentes filamentos. Nesse mapeamento, a cor vermelha indica as regiões fraturadas mais superficiais, associadas a valores elevados de superfície, enquanto a cor azul representa as áreas mais profundas, com valores inferiores de superfície resultantes da fratura. Devido à baixa polaridade e à reduzida energia livre superficial do PEBD, ocorre uma fraca adesão interfacial, o que facilita a separação entre a matriz e a carga. Essa separação é claramente observável nas micrografias apresentadas (ARENCÓN; VELASCO, 2009).

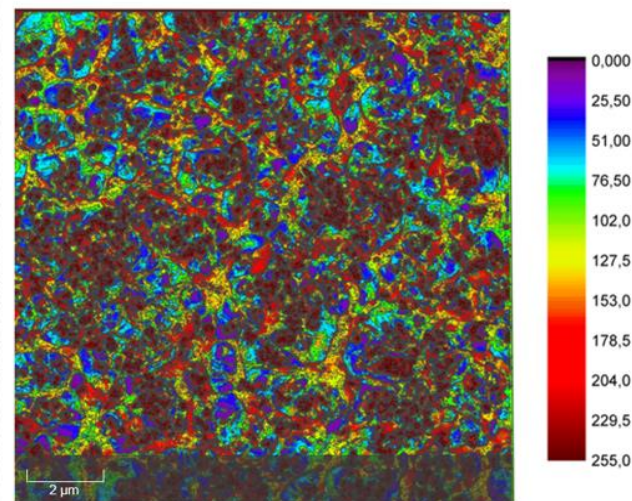
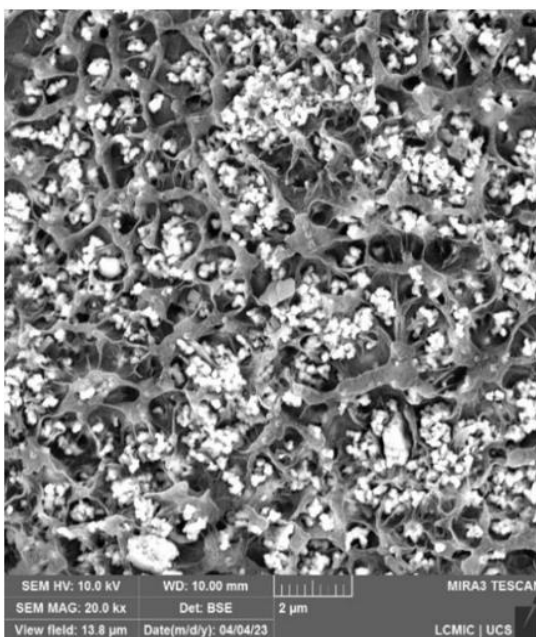
Figura 11 – Micrografias dos filamentos e seus respectivos *color map* *surface* (magnificação 20.000x): (a) SC/AL, (b) SC/ZR e (c) SC/AL/ZR.



(a)



(b)



(c)

Fonte: O Autor (2023).

Além disso, com a deformação plástica aplicada durante a fratura, esses vazios tendem a crescer na direção da tensão, formando os buracos em forma de covinhas dentro da fase de enchimento ao redor das partículas resultando em uma fratura mais dúctil com falha adesiva entre a matriz e as partículas (descolamento interfacial). Esses defeitos evidenciados nas misturas tendem a não serem prejudiciais uma vez que no processo de sinterização as partículas

são transformadas em corpos sólidos por mecanismos de transporte atômico difusionais, adquirindo resistência mecânica (AWAJA *et al.*, 2016).

Os pontos brancos (Figura 11 a – c, à esquerda) representam as partículas cerâmicas incorporadas na matriz, relevando-se mais expressivamente pela presença de cavidades onde as partículas cerâmicas foram acomodadas. Por fim, pode-se identificar a presença de pequenos aglomerados nas amostras contendo zircônia, característico do seu tamanho de partícula $< 0,2 \mu\text{m}$ que não são acentuados (Figura 11 b – c). É importante frisar que no processo de mistura de compósitos, as partículas tendem a se aglomerarem quando a razão % em peso for aumentada como também, provocar uma distribuição pouco uniforme com tamanhos de partículas maiores (BERNARDO; DA SILVA; MATTOSO, 2021; MOCANU *et al.*, 2022).

Portanto, atingir uma distribuição homogênea das cargas em uma matriz polimérica com uma quantidade superior a 30 % vol. de carga cerâmica é um verdadeiro desafio, devido à facilidade de formação de aglomerados como presença de vazios. Uma vez aumentada essa proporção de carga cerâmica, deve-se levar em consideração problemas que podem ser ocasionados no processo de fabricação por manufatura aditiva por extrusão de material. É necessária uma escolha adequada das matérias-primas, pois as características morfológicas, tamanho de partícula e composição química do pó podem levar a alterações de propriedades impedindo muitas vezes a impressão, provocando instabilidades e entupimento do bocal alterando a qualidade do produto final (BACKES *et al.*, 2021). Foi observado que o tamanho dos pós cerâmicos afeta significativamente a flexibilidade e rigidez do filamento, viscosidade, rugosidade da superfície, reatividade e molhabilidade com o ligante para a resolução do produto impresso, portanto os tamanhos de partículas típicos usados não devem exceder a faixa de 0,3 a 0,8 mm, sendo finos o suficiente para evitar a obstrução do bico de impressão (GONZÁLEZ-GUTIÉRREZ *et al.*, 2018; TOSTO *et al.*, 2022).

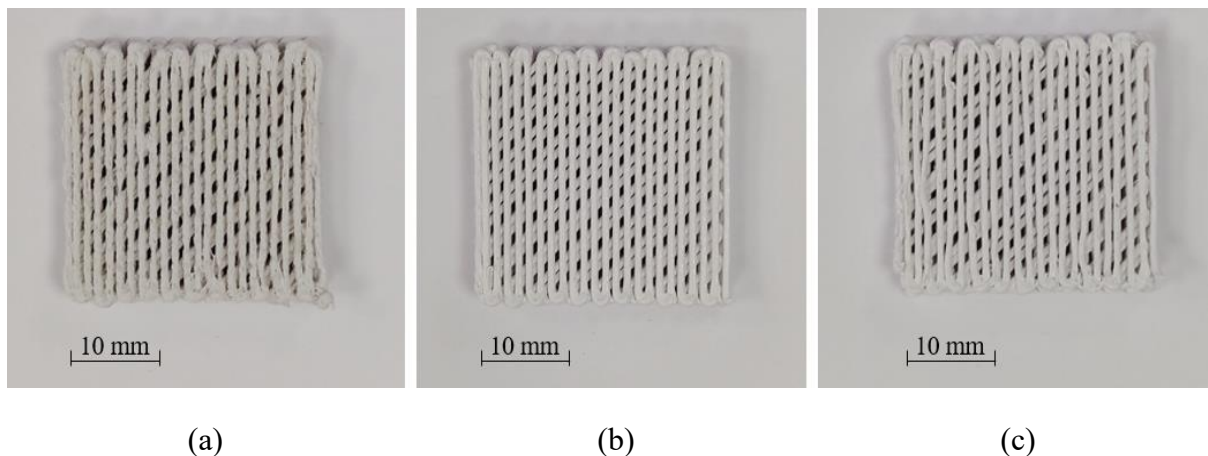
5.2 FABRICAÇÃO DOS SCAFFOLDS VIA IMPRESSÃO 3D – ETAPA B

Os *scaffolds* foram impressos com os parâmetros estabelecidos, conforme as características de cada filamento descritas no item 4.2.2. As dimensões cúbicas propostas para as peças impressas foram definidas de acordo com a literatura, levando em consideração a porosidade, uma das variáveis mais importantes para produção de *scaffolds*. Segundo Collins *et al.* (2021), uma faixa de trabalho ideal de tamanho de poro é de 100 μm à 900 μm para aplicação em tecido ósseo, devido ao espaço suficiente fornecido para suprimento de nutrientes e oxigênio, vascularização, permeabilização, crescimento celular e melhor interação para

formação do novo tecido. A Figura 12 apresenta os *scaffolds* produzidos por manufatura aditiva por extrusão de material.

Durante o processo de impressão dos *scaffolds*, observou-se certa dificuldade relacionada ao rápido resfriamento do filamento, além do travamento dos puxadores da impressora. Esses problemas estão associados às características físicas do filamento de PEBD, uma vez que na sua produção não foi possível se ter uma estabilidade dimensional no diâmetro do filamento devido à falta de calibradores na saída da extrusora. De acordo com Guadagno *et al.* (2023), materiais como ABS, PLA e TPU (poliuretano termoplástico) também são comumente utilizados na impressão por manufatura aditiva por extrusão de material devido à facilidade no controle dos parâmetros de processo, menor susceptibilidade à retração térmica e boas propriedades mecânicas. No entanto, como apontado por Ranjan *et al.* (2023), mesmo com controle otimizado, o PEBD se destaca por permitir maior incorporação de partículas cerâmicas (> 50% em volume), mantendo uma viscosidade adequada à impressão, identificada e mencionada anteriormente na etapa de obtenção dos filamentos.

Figura 12 – *Scaffolds* produzidos por manufatura aditiva por extrusão de material: (a) SC/AL, (b) SC/ZR e (c) SC/AL/ZR.



Fonte: O Autor (2024).

Os *scaffolds* para todas as misturas obtidas não apresentaram descolamento de camada e de filamento a cada passo, como também empenamento que é causada por tensões residuais, devido à variação de temperatura durante o resfriamento rápido. É importante frisar que a temperatura do bico de impressão, deve estar acima da temperatura de fusão do filamento, a fim de aumentar a fluidez permitindo sua extrusão, pois uma temperatura de extrusão inferior promove o aumento da viscosidade, dificultando a extrusão contínua e, uma temperatura acima provocará a não solidificação instantânea após deposição, causando defeitos como distorções

da forma (LIU *et al.*, 2019; WICKRAMASINGHE; DO; TRAN, 2020).

Um fator importante e imprescindível nesta etapa é o alinhamento do bico com a mesa de impressão, pois uma pequena variação pode provocar uma impressão desnivelada ou inclinada, preenchimento deformado e fraco, ou até mesmo provocar danos nos componentes da impressora. Para isso, é necessário que os quatro pontos (cantos) da mesa sejam alinhados junto ao bico, o que é realizado por meio de inspeção visual ou até mesmo usando sensores eletrônicos. Além disso, o deslocamento e falta de adesão após a impressão é outro defeito evidente, sendo necessário a utilização de agentes adesivos externos, controle na temperatura da mesa, como o controle da velocidade de impressão, pois uma impressão rápida resulta em baixa adesão. Este fator foi evidenciado nas primeiras impressões para todas as misturas, sendo necessário o uso de um *spray* adesivo juntamente com a mesa aquecida, também em muitos casos, uma alternativa seria optar pela utilização de impressoras fechadas ou com uma câmara isolada, para melhorar a eficiência durante o processo (YADAV *et al.*, 2022).

Como resultado, se faz necessária a otimização simultânea das variáveis de operação como máquina, material, temperatura do bico e mesa, umidade, geometria estando estas diretamente interconectadas, obedecendo parâmetros definidos que permitem a redução de defeitos com aplicação de metodologia de otimização, garantindo a obtenção de peças de alta qualidade e com boa resistência (RAMKUMAR; RIJWANI, 2022; YADAV *et al.*, 2022).

5.3 SINTERIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS *SCAFFOLDS* – ETAPA C

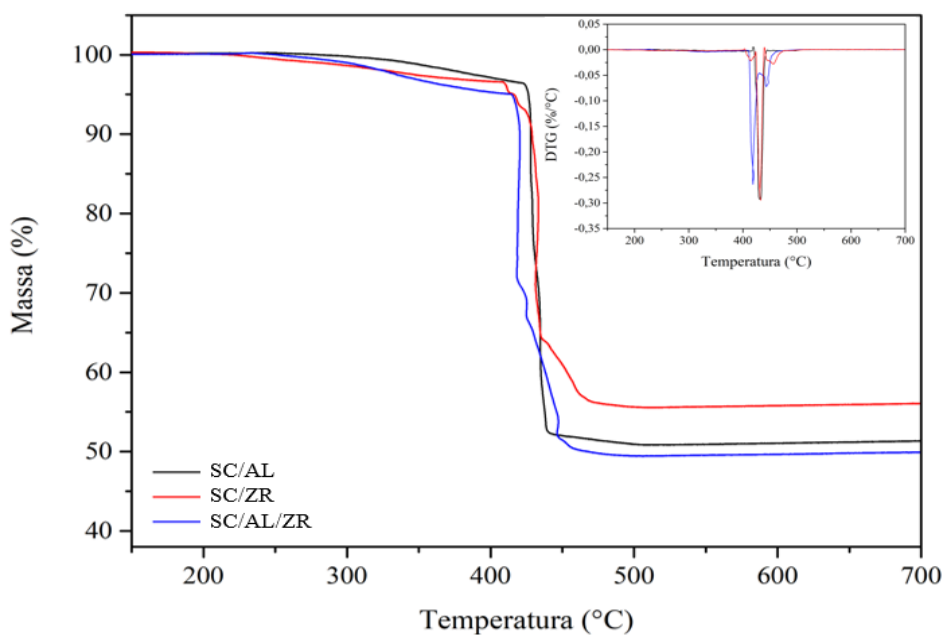
5.3.1 *Debinding* e pré-sinterização dos *scaffolds*

A etapa de extração do ligante orgânico, ou processo de *debinding*, acontece por degradação ou fusão, tendo sua remoção através do meio poroso formado pelo corpo, por difusão ou permeação. As análises de TGA/DTG dos filamentos após impressão (Figura 13), possibilitaram avaliar o processo de degradação de cada material para a construção das rampas de aquecimento e também baseada na análise da literatura (SADAF; BRAGAGLIA; NANNI, 2021).

Foi possível observar a partir dos gráficos de TGA que a decomposição térmica para as misturas é semelhante, com uma perda de massa entre 400 °C e 450 °C, sendo $T_d = 430$ °C e $T_{onset} \approx 250$ °C. Nestas regiões observadas com altas taxas de perda de massa, foi definido um tempo maior de permanência no forno com temperaturas menores que T_d e T_{onset} , com 600 min (10 h) de isoterma em 200 °C e 390°C e cerca de 120 min em 450 °C para que uma remoção

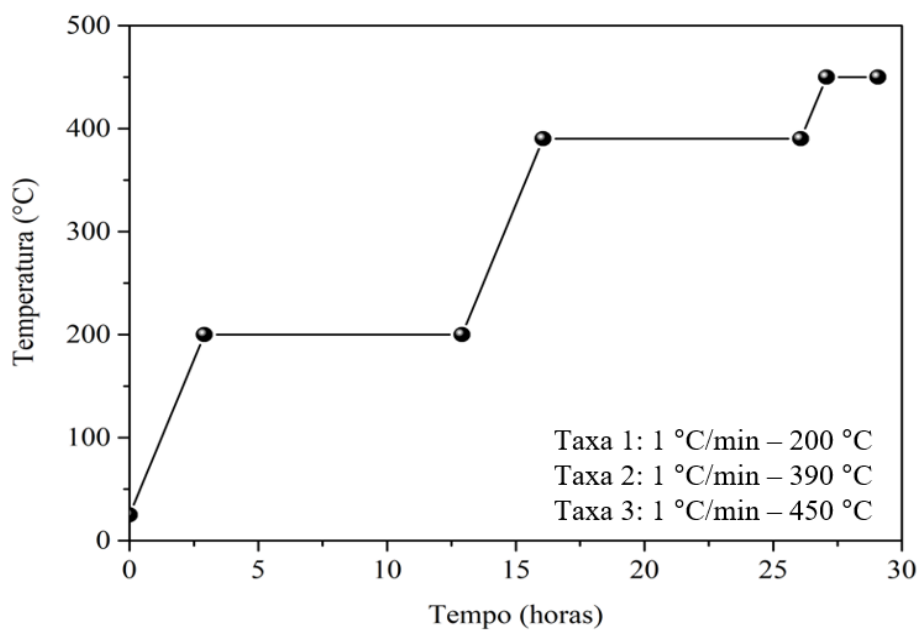
gradual do ligante pudesse ser alcançada, uma vez que a evaporação repentina faz com que o caminho de saída pelos poros não se forme, fazendo a peça perder a integridade, ou até mesmo promova um inchaço devido ao gás aprisionado formado pela decomposição do polímero (ENNETI *et al.*, 2012). A rampa de aquecimento é apresentada na Figura 14.

Figura 13 – Curvas de TGA/DTG dos filamentos dos *scaffolds* após impressão 3D.



Fonte: O Autor (2023).

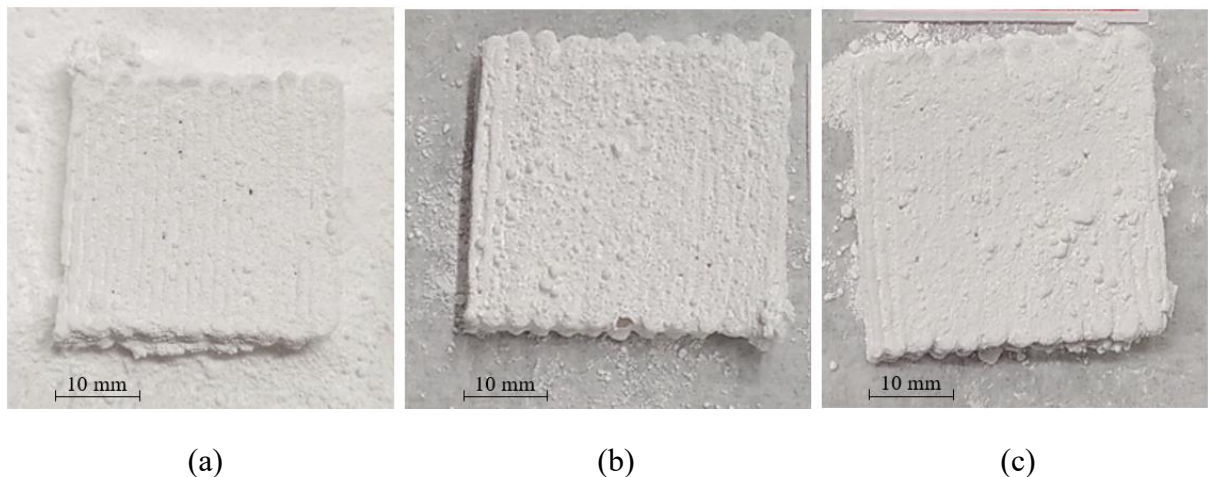
Figura 14 – Diagrama tempo-temperatura para remoção do ligante nas misturas.



Fonte: O Autor (2023).

Após *debinding*, foi possível visualizar a consolidação externa para todos os *scaffolds* (Figura 15) com uma estrutura resistente e presença de porosidade remanescente na parte superior em todas as amostras, característica considerada essencial para aplicações em que a estrutura necessita de porosidade controlada para crescimento celular. Esta etapa do processo ainda é um grande desafio devido à formação de defeitos, o que pode ser evitado em processos que demandem aquecimentos graduais que podem chegar até 300 horas. É nesta etapa que a peça é aquecida lentamente e o ligante é amolecido abrindo canais para que possa ser eliminado através dos poros abertos por forças capilares, tornando a peça menos resistente, quebradiça e suscetível a rachaduras (HADIAN *et al.*, 2021; LOTFIZAREI *et al.*, 2023). Sendo assim, a fim de evitarmos a formação de defeitos, foram consideradas taxas de aquecimento e isothermas para os *scaffolds* desenvolvidos neste trabalho, resultando em um tempo total de *debinding* e pré-sinterização de ~ 40 horas.

Figura 15 – *Scaffolds* obtidos após *debinding*: (a) SC/AL, (b) SC/ZR e (c) SC/AL/ZR.



Fonte: O Autor (2024).

Com o objetivo de evitar a presença de defeitos na etapa de *debinding*, muitos estudos avaliaram a utilização de um sistema multicomponente, combinações de ligantes composto por polímeros, aditivos e ceras (dispersantes, plastificantes e surfactantes), que desempenham um papel significativo no processo de impressão sendo estes com eficiência suficiente para decompor e evaporar sem danificar a amostra. Estudos de Faccio *et al.* (2021) e Momeni *et al.* (2023) caracterizam que a utilização de ligantes multicomponentes para aplicação em fabricação por manufatura aditiva por extrusão de material, como a utilização de polímeros combinados com aditivos como ácido esteárico, anidrido maleico e parafina apresentam efeito importante nas propriedades mecânicas, reológicas e térmicas, além da facilidade durante a

impressão promovendo a redução de aglomerados, dispersão das partículas e homogeneização da microestrutura. Esses aditivos por apresentarem menor ponto de fusão são removidos nos estágios iniciais, em temperaturas mais baixas (~ 200 °C), com menor efeito exotérmico e o restante dos ligantes são removidos em temperaturas mais altas com maior reação exotérmica (~ 450 °C), reduzindo ou evitando a formação de defeitos, como bolhas e rachaduras. O ligante presente em maior quantidade com 50 % a 90 % em volume, chamado também de *backbone* ou suporte espinhal, é responsável por garantir a integridade da peça moldada, mantendo as partículas coesas até as etapas finais de remoção, sendo eliminado por meio de tratamento térmico antes ou durante a sinterização. Neste trabalho, os *scaffolds* desenvolvidos utilizaram como ligante principal apenas o PEBD, previamente descrito nas formulações. Devido às suas propriedades físicas adequadas, o PEBD foi capaz de assegurar a estabilidade estrutural dos *scaffolds*, tornando desnecessária a adição de aditivos complementares. Embora aditivos sejam comumente empregados para otimizar a etapa de *debinding*, sua utilização não foi necessária neste estudo.

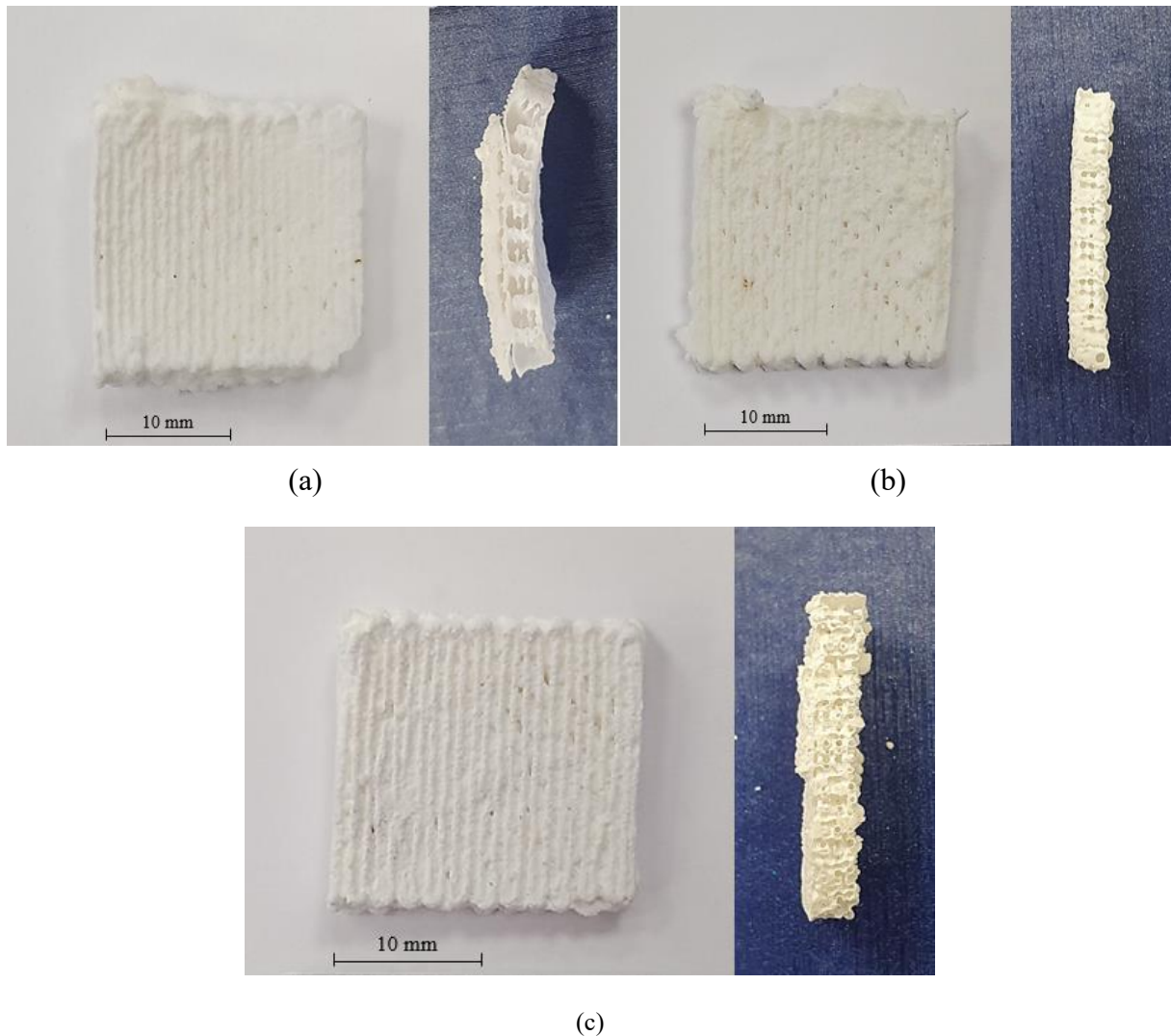
Dentre os principais termoplásticos utilizados comercialmente como *backbone* temos o ABS e o PLA, caracterizados pelas suas boas propriedades mecânicas, custo-benefício, reutilização e que podem ser preenchidos com um conteúdo de 5 a 65 % em massa. Já os materiais não preenchidos mais comuns e estudados atualmente para aplicação com carga são as poliolefinas, como polietileno de alta e baixa densidade (PEBD e PEAD) e polipropileno (PP), poliamida (PA), policarbonato (PC), polietileno tereftalato (PET), poliéterimida (PEI), acrilonitrila estireno acrilato (ASA), poliuretano termoplástico (TPU), elastômero termoplástico (TPE), poliéter éter cetona (PEEK), polióxido de metileno (POM), entre outros com baixa viscosidade, que não reagem com vapores ácidos e degradam somente antes da sinterização (GARCÍA *et al.*, 2020; GONZÁLEZ-GUTIÉRREZ *et al.*, 2018). Esses polímeros mais comuns são uma escolha como material de sacrifício para aplicações que necessitem etapas de pós-processamento como a sinterização.

Com o *debinding* realizado, foi possível observar uma fragilidade elevada nos *scaffolds*, porém com uma estrutura estável. Por este motivo, foi necessário um maior cuidado de manuseio na etapa posterior de pré-sinterização. A pré-sinterização possibilita um aumento maior de resistência e/ou um estado intermediário de resistência mecânica, o que permite melhores condições de manejo nas próximas fases do trabalho.

5.3.2 Sinterização dos *scaffolds*

A Figura 16 apresenta os *scaffolds* sinterizados e suas respectivas seções de corte, permitindo visualizar a redução dimensional com uma contração $\sim 30\%$ em todas as misturas e uma distribuição de poros bimodais. Os *scaffolds* não apresentaram defeitos como rachaduras na superfície, nem defeitos de interface entre filamentos depositados, caracterizando um processo de impressão adequada com uma união entre camadas no momento da deposição do filamento fundido e solidificado.

Figura 16 – *Scaffolds* sinterizados a $1600\text{ }^{\circ}\text{C}$ com as respectivas seções de corte: (a) SC/AL, (b) SC/ZR e (c) SC/AL/ZR.

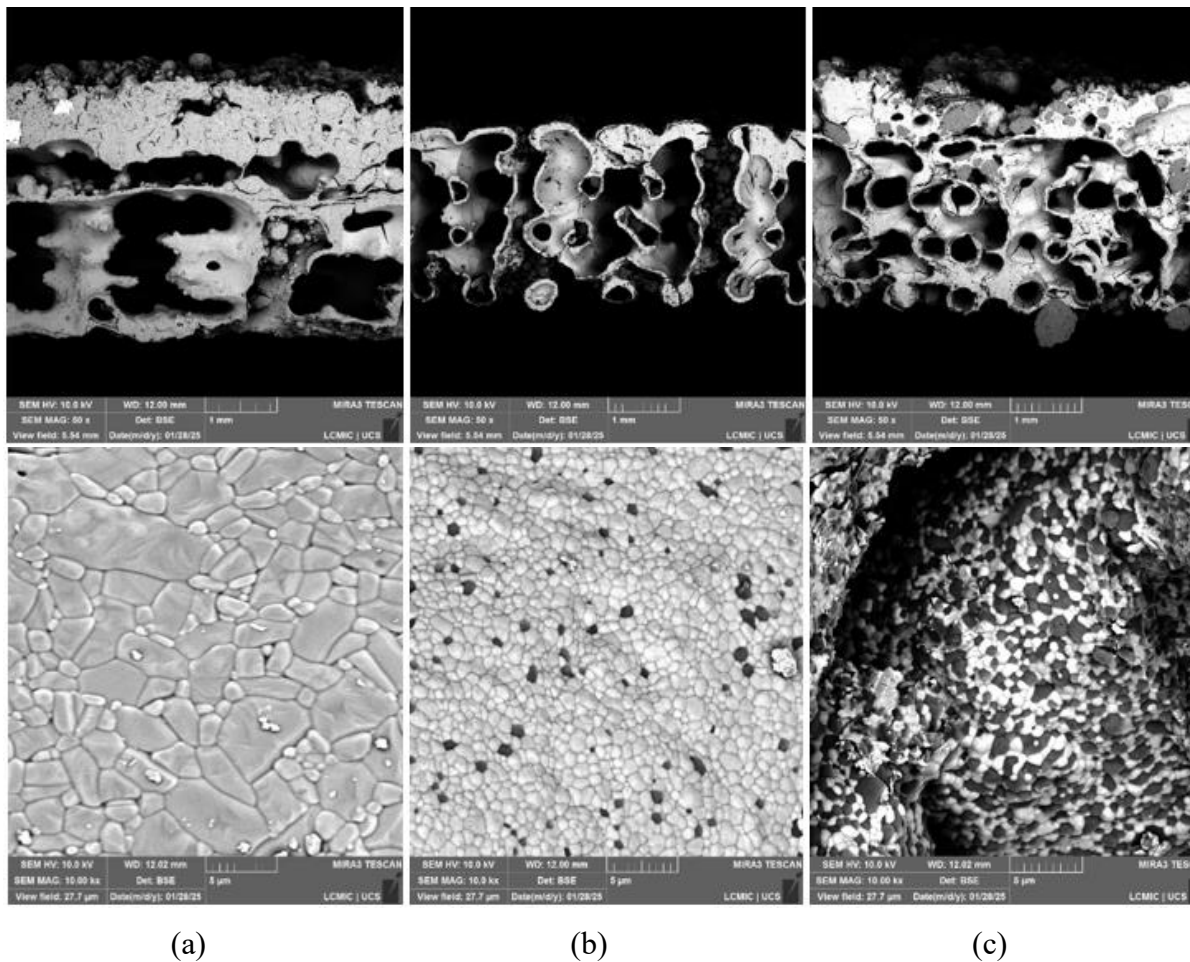


Fonte: O Autor (2023).

A Figura 17 apresenta as micrografias das seções transversais dos *scaffolds*, bem como também das microestruturas com a distribuição dos tamanhos de grãos das partículas cerâmicas

após sinterização a 1600 °C. Nas micrografias da seção transversal (magnificação 50x) foi possível observar tamanhos de poros distribuídos entre 500 µm e 1 mm para todas as misturas, corroborando com os estudos já realizados por Collins (2021) e Roacho- Pérez (2022), onde relatam que o controle de porosidade é fundamental considerando diâmetros ideais na faixa de 100 µm a 900 µm a fim de promover a difusão de nutrientes, oxigênio e outros fluidos. O aumento do tamanho de poro permite maior permeabilidade e crescimento ósseo devido ao espaço fornecido viabilizar a interação célula-estrutura, difusão de oxigênio e nutrientes (COLLINS *et al.*, 2021; ROACHO-PÉREZ *et al.*, 2022).

Figura 17 – Micrografias da seção transversal dos *scaffolds* sinterizados (magnificação de 50x e 10.000x): (a) SC/AL, (b) SC/ZR e (c) SC/AL/ZR.



Fonte: o Autor (2025).

Nas micrografias com magnificação de 10.000x (Figura 17), é possível observar o contorno dos grãos, grãos mais esféricos com uma sinterização adequada para todas as misturas; o tamanho de partícula cresceu em uma ordem de magnitude em relação ao pó cerâmico, formando um corpo cerâmico denso na micrografia (a) relacionada ao SC/AL. Na

micrografia (c) o contraste dos grãos mais escuros está relacionado a alumina e os claros relacionados a zircônia da mistura SC/AL/ZR, essa diferença se dá devido a identificação composicional atômica, gerando o espectro característico baseado em seu número atômico. Além disso, é possível identificar uma boa dispersão e contato interfacial entre ambos os pós, já na micrografia (b) característico dos SC/ZR é possível observar alguns grãos escuros aleatórios relacionados com a contaminação da alumina devido ao processo de sinterização ser em leito de pó, onde foi utilizada a alumina como meio para a eliminação do ligante por fluxo capilar, que foi comprovada também por EDS pontual. É importante salientar em um processo de sinterização, que temperaturas mais altas e tempos maiores de permanência, levam a tamanhos de grãos maiores (DENRY; HOLLOWAY, 2010).

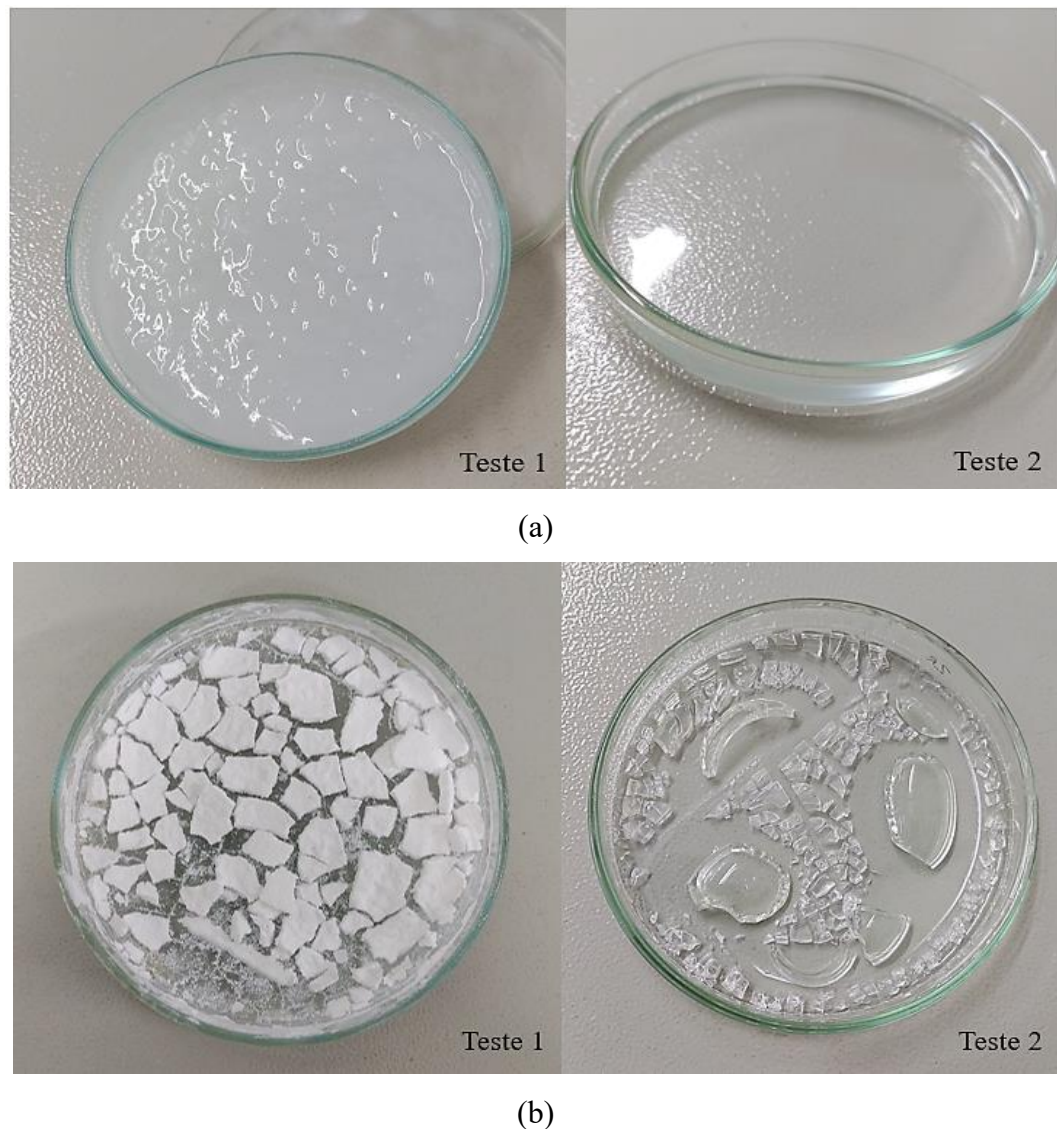
Finalmente, em compósitos cerâmicos além da porosidade, a capacidade de fixação interfacial deve ser adequada entre o material de suporte inerte e o revestimento bioativo, pois sua adesão e a morfologia da camada bioativa que é formada neste substrato são dependentes da superfície do material, por esse motivo a rugosidade superficial deve ser levada em consideração. Ainda, em relação ao formato das partículas, a atividade celular também pode ser afetada, pois partículas esféricas são preferidas em vez de partículas finas/afiadas devido a estas provocarem lesões no citoplasma celular (SANTOS *et al.*, 2017).

5.3.3 Infiltração dos *scaffolds* com biovidro por sol-gel

O processo de obtenção do biovidro consiste no sol que é definido por uma suspensão de coloides com tamanhos de partículas sólidas que variam de 1 a 100 nm, e o gel que é uma estrutura rígida, interconectada com poros submicrométricos imersa em uma fase secundária, que é geralmente líquida. Ao remover-se a fase líquida da mistura por evaporação térmica, temos o monólito ou xerogel (BAINO *et al.*, 2018). Na obtenção do biovidro, foi necessário realizar dois métodos de síntese sol-gel para avaliação: no método 1, foi possível observar que a solução apresentou um aumento de viscosidade e uma coloração translúcida (esbranquiçada) ao fim da mistura; já o método 2 apresentou uma característica menos viscosa, aspecto transparente, incolor e homogêneo com a maior capacidade formadora de vidro. Muitas das soluções de sol-gel preparadas podem apresentar-se com uma coloração esbranquiçada que depende em grande parte da composição do biovidro, que pode estar relacionada à adição do sódio e água durante a síntese, identificadas também em estudos realizados por Yusof *et al.* (2022) e Farias (2015), onde a maior concentração de sódio resultou em um biovidro com

coloração mais branca do que em estudos que relacionam composição terciária (SiO_2 - CaO - P_2O_5) sem a presença de sódio, que resultou em biovidros transparentes e incolores. Na Figura 18 pode-se observar os testes realizados com os dois métodos para a obtenção do biovidro, onde ficam evidentes as características físicas obtidas antes e após a secagem em estufa.

Figura 18 – Síntese sol-gel: teste 1 e 2. (a) biovidros obtidos e (b) biovidros secos em estufa.

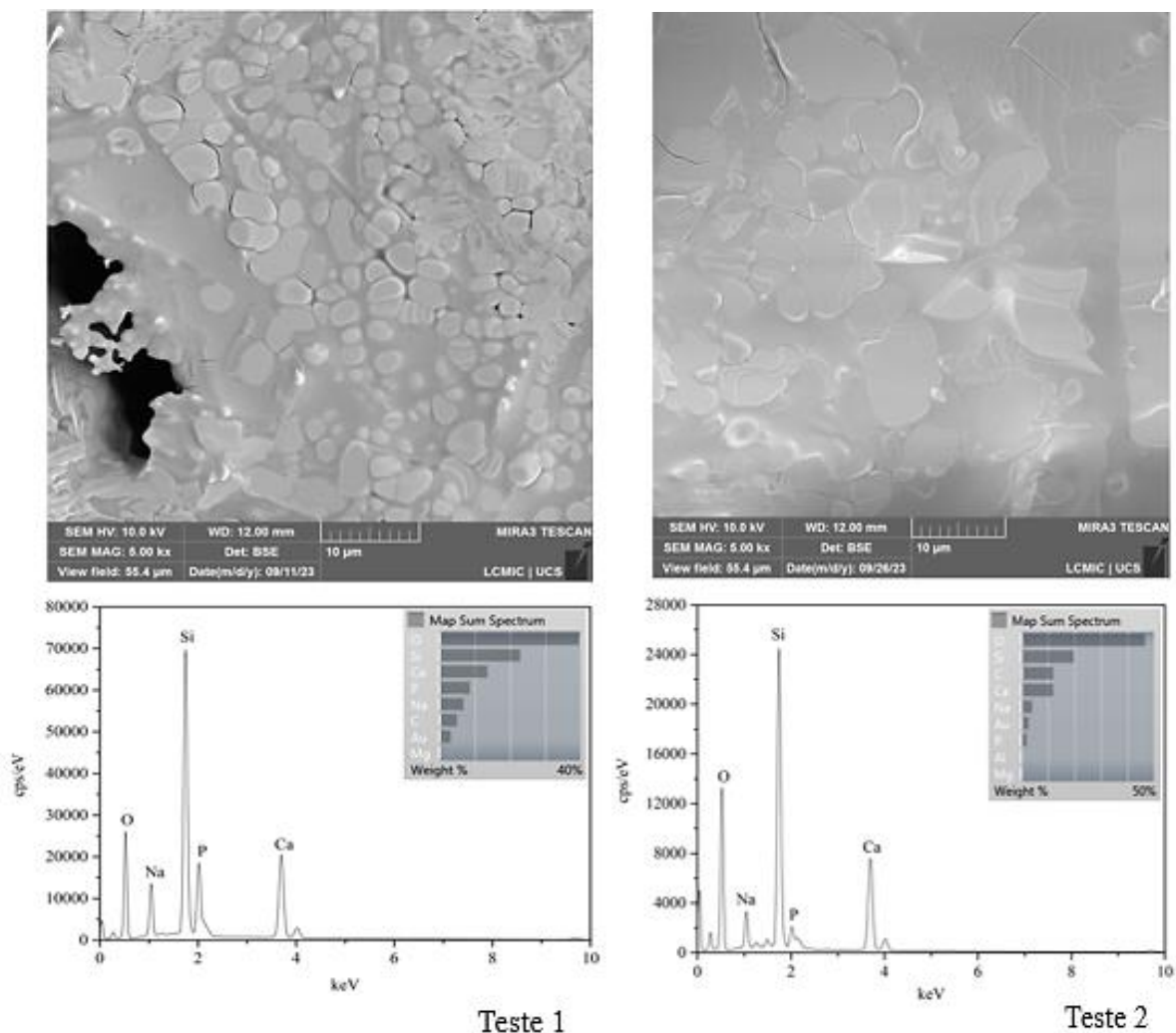


Fonte: O Autor (2023).

Na Figura 19 podemos ver as imagens obtidas no MEV-EDS dos biovidros produzidos e sinterizados a $1200\text{ }^{\circ}\text{C}$. A morfologia de ambos os biovidros é semelhante, apresentando regiões heterogêneas e a presença de pequenas partículas associadas à sinterização viscosa. Nesse processo, o transporte de átomos ocorre em direção a um fluxo viscoso gerado pela tensão superficial, assim, as partículas menores tendem a coalescer mais rapidamente, enquanto nas

partículas maiores a coalescência é mais lenta, dificultando a fusão completa entre elas (BARSOUM, 2003). Na maioria dos materiais sinterizados, as partículas cristalinas da fase $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ se formam e se hospedam na matriz amorfa, no entanto, quando a sinterização ocorre em altas temperaturas pode provocar segregação da fase vítrea (SPIRANDELI, 2021; CHEN *et al.*, 2012). Além disso, a formação do gel em temperatura ambiente é devido à reação de polimerização de uma solução que contém um precursor ácido, escolhido de acordo com o propósito final, sendo neste trabalho utilizado o ácido nítrico. A imersão e o tempo de secagem por 6 dias em temperatura ambiente são necessários para permitir a infiltração do sol pelos poros dos *scaffolds* (BAINO *et al.*, 2018).

Figura 19 – MEV-EDS dos biovidros obtidos nos testes 1 e 2 após sinterização a 1200 °C.

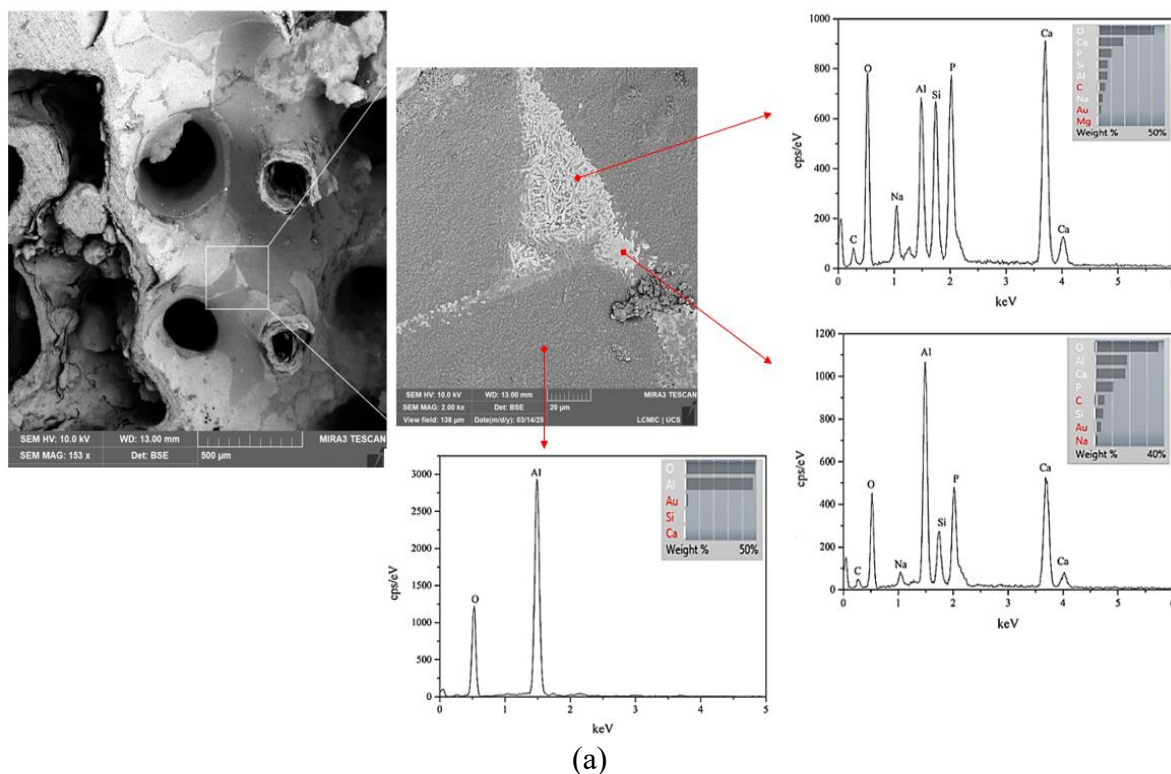


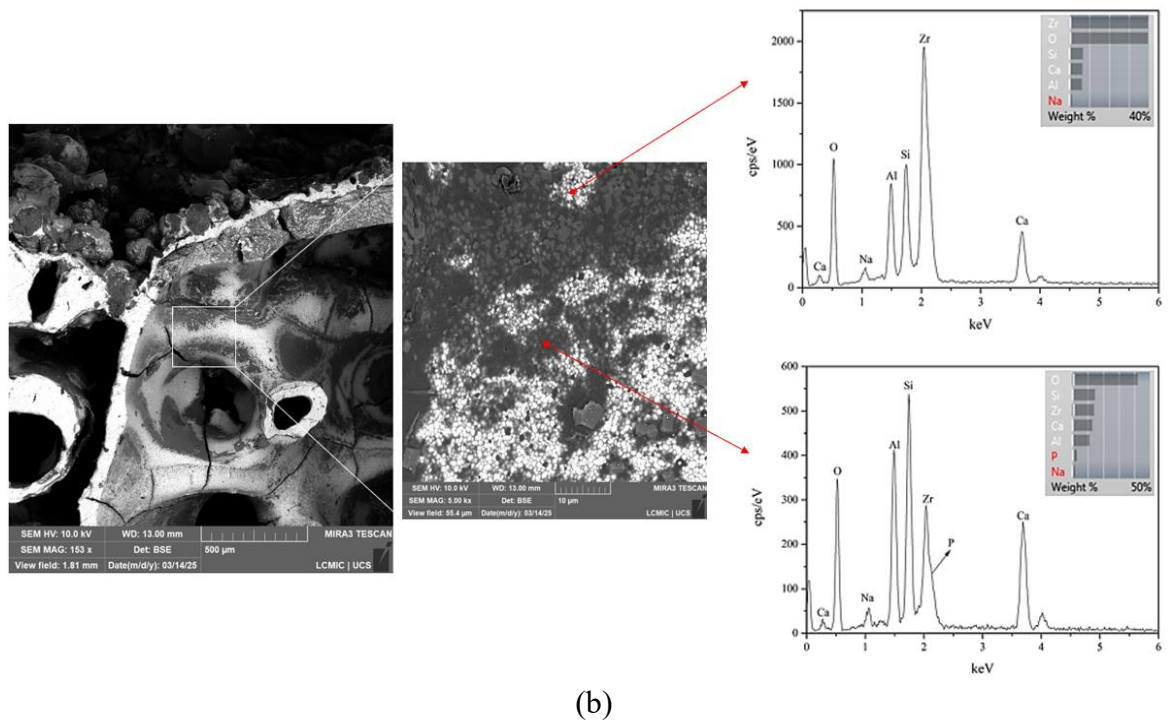
Fonte: O Autor (2023).

A partir dos resultados obtidos, concluiu-se que o biovidro obtido após secagem e sinterização foi o teste 2, que apresentou melhores características sendo replicado para a

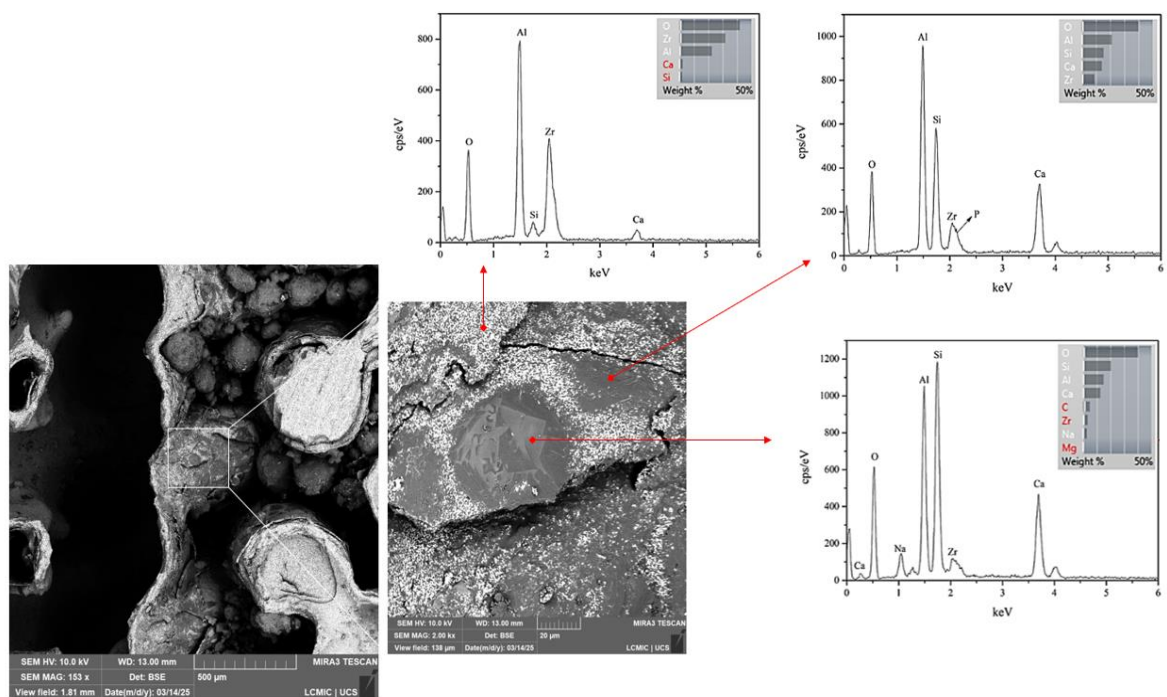
infiltração sequente nos *scaffolds* (SC/AL; SC/ZR; SC/AL/ZR; SC/AL/BG; SC/ZR/BG e SC/AL/ZR/BG). A análise por MEV-EDS confirmou a capacidade do biovidro poder atuar como revestimento, a partir da infiltração pelo meio poroso dos *scaffolds* por um período de 6 dias, seguido de tratamento térmico. A Figura 20 apresenta as imagens obtidas por MEV e os respectivos gráficos de análise química elementar pontual via EDS para a síntese do biovidro: para todas os *scaffolds* a presença em maiores percentuais dos elementos silício (Si) 15 % – 20 %, oxigênio (O) 40 % e cálcio (Ca) 15 % – 25 % estão relacionadas a composição utilizada em maior quantidade, além do fósforo em menores quantidades (P) de 5 % – 15 %, identificados também em estudos de Farias (2015) com biovidro sintetizados por sol-gel. As zonas do biovidro presentes na Figura 19 (a) são as mais claras em formato de agulhas/cristais, ricas em Ca, P e Si e as zonas mais escuras com maiores quantidades de Al e O são características da estrutura do SC/AL/BG. Na Figura 19 (b) e (c) o biovidro caracteriza-se com zonas mais escuras e lisas com maiores quantidades de Ca, Si e quantidades razoáveis P e as zonas mais claras com partículas brancas e pretas que apresentam maiores quantidade de Zr, Al e O são referentes à estrutura do SC/ZR/BG e ao SC/AL/ZR/BG. A análise permitiu validar a capacidade formadora do biovidro infiltrado pelo meio poroso formado nas estruturas dos *scaffolds*.

Figura 20 – MEV-EDS dos *scaffolds* infiltrado com biovidro: (a) SC/AL/BG, (b) SC/ZR/BG e (c) SC/AL/ZR/BG.





(b)



(c)

Fonte: O Autor (2025).

A maioria dos biovidros produzidos atualmente possui em sua composição o Si que é essencial para a formação óssea; o Ca que é responsável por estimular a proliferação,

crescimento, diferenciação osteoblástica e migração de células para cicatrização e o P, que é responsável por estimular as proteínas ósseas (BARRETO *et al.*, 2023). Como apresentado no decorrer do trabalho, os biovidros são muito fracos e quebradiços se utilizados como suporte devido a sua rede tridimensional amorfa, sendo eficientes quando utilizados como material de revestimento, apresentando propriedades bioativas superiores em comparação com a hidroxiapatita. Segundo Marques *et al.* (2021), comparado com a alumina e zircônia, o biovidro tem menor dureza, mas pode causar remineralização da superfície contrastando a alumina. Sendo assim, a rapidez de ligação aos tecidos depende de vários fatores sendo um deles a composição, pois uma composição em peso a base de 45 % de silício e adição de 6 % de P_2O_5 torna o biovidro extremamente bioativo, promovendo reações de ligação e proliferação celular quando em contato com o tecido (JAYASWAL; DANGE; KHALIKAR, 2010).

A bioatividade para uma composição de biovidro deve ser bem definida, tendo a capacidade de interagir com os fluidos corporais promovendo a troca de íons e aumentando o pH, desenvolvendo uma camada rica em sílica que provoca o crescimento de uma camada de Ca-P na sua superfície. Além disso, essa camada combinada com carbonatos, cristaliza formando hidroxiapatita que ajuda na ligação ao osso, proliferação, colonização e diferenciação celular (PUNJ; SINGH; SINGH, 2022).

É importante salientar que a combinação de materiais compósitos cerâmicos para a obtenção de *scaffolds*, promovam a regeneração e formação do tecido danificado com propriedades bioativas e biocompatíveis com resultados eficientes possíveis de serem aplicados, sem danificar a integridade do hospedeiro que possa resultar em uma falha clínica. Isso se resume nas características estruturais do tecido ósseo, que apresenta alta resistência e tenacidade a fratura, contribuindo com a necessidade de desenvolver estruturas tridimensionais compatíveis que permitem mimetizar o tecido prejudicado com finalidade bioativa promovendo a adesão do implante ao osso, auxiliando na reparação e colaborando com o crescimento no que se diz respeito ao campo biomédico.

5.3.4 Caracterização e avaliação das propriedades biológicas dos *scaffolds*

5.3.4.1 Potencial citotóxico e LIVE/DEAD

Todos os *scaffolds* foram avaliados quanto à citotoxicidade e biocompatibilidade de acordo com a norma ISO 10993, utilizando as linhagens celulares VERO e 3T3, escolhidas por

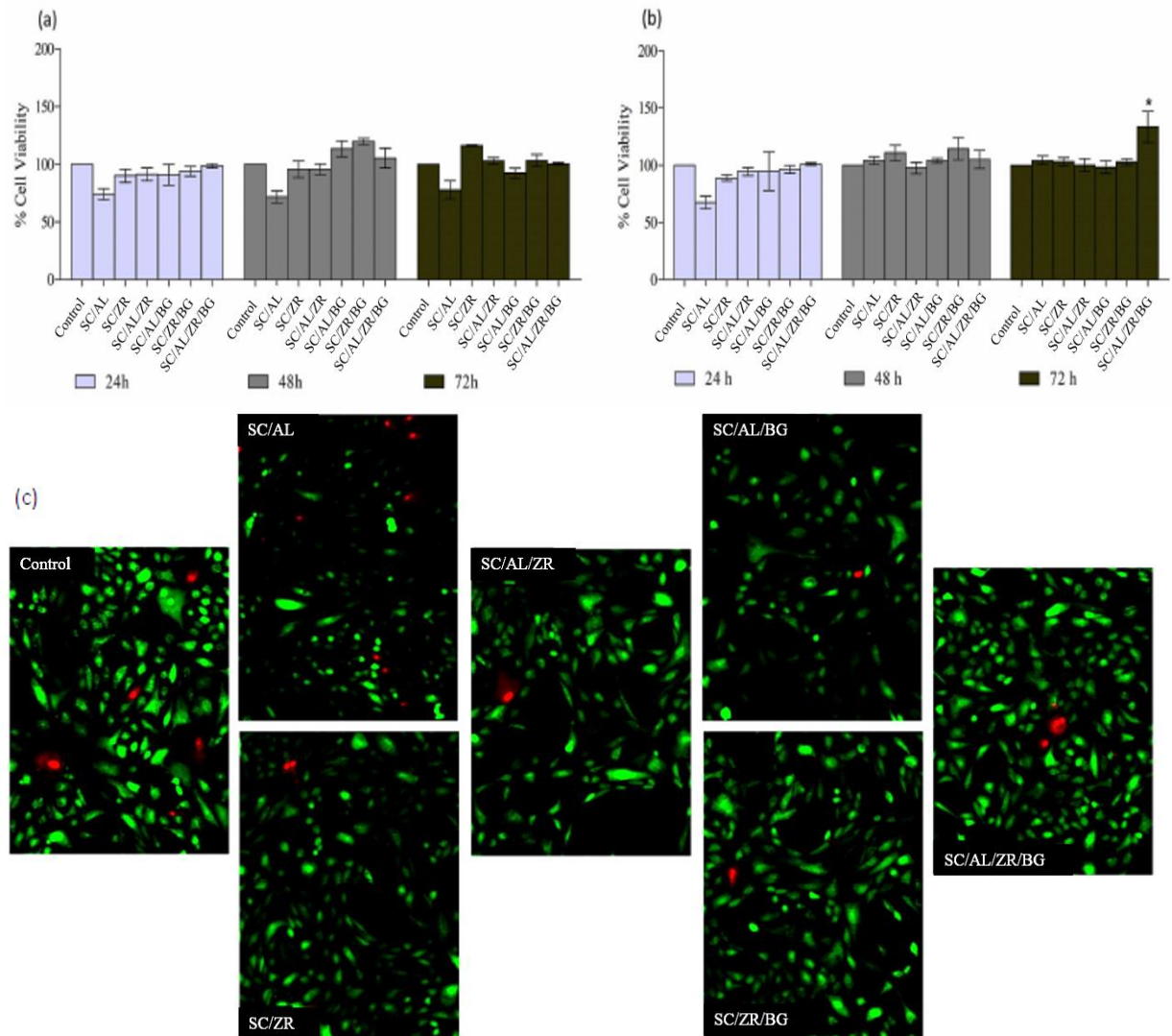
serem consideradas linhagens padrão recomendadas pela norma. A linhagem celular 3T3, derivada de fibroblastos embrionários murinos, é amplamente utilizada em testes de citotoxicidade devido à sua alta reprodutibilidade, crescimento estável e previsível e sensibilidade a substâncias potencialmente citotóxicas, permitindo a detecção precisa de efeitos adversos. Por outro lado, a linhagem celular VERO, derivada do epitélio renal do macaco-verde-africano (*Cercopithecus Aethiops*), é particularmente útil em avaliações citotóxicas devido à sua alta sensibilidade a compostos tóxicos e à sua capacidade de avaliar a seletividade de substâncias entre células normais e patológicas.

Os resultados mostraram que SC/AL e SC/ZR (infiltrados ou não com biovidro) não apresentaram citotoxicidade significativa em fibroblastos 3T3 ou células renais epiteliais VERO até 72 h após a exposição, sugerindo que os materiais não comprometem o ambiente celular (Figura 21. a – b). Notavelmente, o SC/AL apresentou uma tendência à redução da viabilidade celular (cerca de 30 % de morte celular; $p > 0,06$) nas primeiras 24 h em células 3T3 e persistiu por 72 h na linhagem VERO. Por outro lado, SC/AL/ZR/BG apresentaram aumento na viabilidade celular e possíveis taxas de proliferação em 72 h após a exposição em células 3T3 ($p > 0,182$).

Estudos realizados por Marques *et al.* (2021), identificaram que a alumina quando aplicada em *scaffolds* apresenta uma grande desvantagem devido a sua bioinércia, pois apresenta uma dificuldade de osseointegração por si só, sendo necessário um revestimento bioativo para que esse fenômeno ocorra, como também é limitada quando se diz respeito a desenvolver uma membrana fibrosa, não aderindo na interface quando usada como implante. Também a baixa capacidade biológica do SC/AL/BG comparado as outras formulações revestidas, pode estar relacionada a presença do biovidro em forma de pequenos cristais/agulhas identificadas na análise de MEV-EDS discutida anteriormente (Figura 20. a), em que o biovidro tende a cristalizar em altas temperaturas devido ao teor elevado de sílica e esta cristalização consequentemente reduz sua capacidade bioativa (PUNJ; SINGH; SINGH, 2022).

A avaliação da morte celular foi comparada em todos os *scaffolds* testados, onde o canal verde representa células vivas e o canal vermelho representa células comprometidas/mortas. A análise de fluorescência adicionada às imagens mescladas na Figura 21 (c) mostrou que a linhagem celular VERO não apresentou padrões de taxas de morte celular em nenhum dos *scaffolds* analisados, corroborando com a biocompatibilidade de todas as formulações testadas.

Figura 21 – Efeito da incubação com SC/AL, SC/ZR, SC/AL/ZR, SC/AL/BG, SC/ZR/BG e SC/AL/ZR/BG na viabilidade celular de (a) células VERO e (b) fibroblastos 3T3 após 24, 48 e 72 h; (c) Ensaio de células vivas e mortas mostrando as células coradas em verde (indicativo da viabilidade celular) e em vermelho (indicativo de células mortas) com magnificação de 20x.



* Nas Figuras (a) e (b), os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão do teste (EPM). $p < 0,05$ versus controle.

Foto: O Autor (2025).

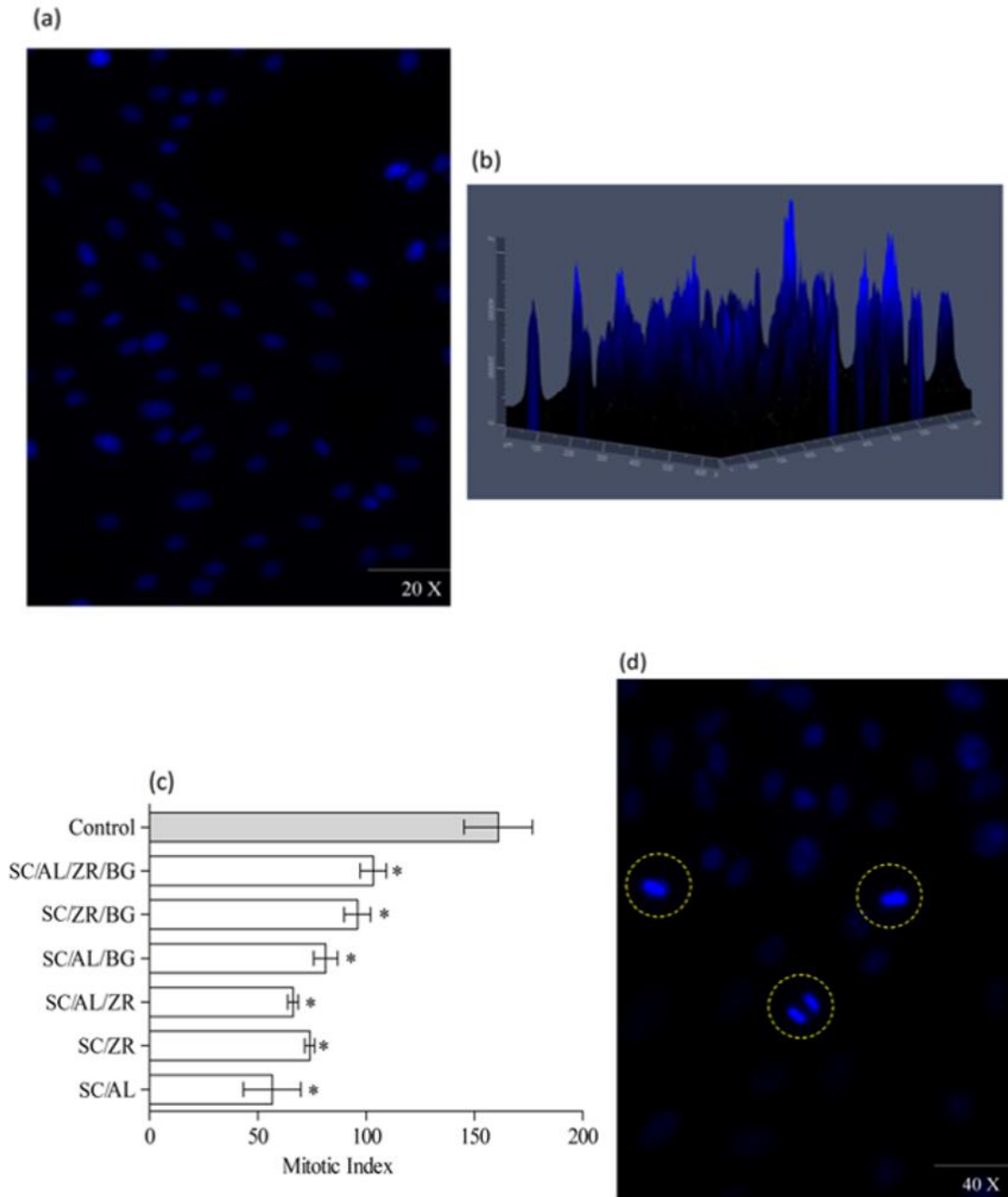
De acordo com uma revisão bibliográfica sobre a biocompatibilidade da alumina na forma não nanoparticulada e seus efeitos biológicos listados na norma ISO 10993-1, não houve citotoxicidade em diferentes linhagens celulares (DENES *et al.*, 2018). Já outro estudo avaliou a proliferação de fibroblastos e osteoblastos na presença de partículas de alumina e zircônia a $100 \mu\text{g. mL}^{-1}$ de 3 a 15 dias de cultura e observou um aumento regular do crescimento celular para ambos os tipos celulares (ROUALDES *et al.*, 2010). No presente estudo, os SC/AL/BG e

SC/ZR/BG mostraram-se mais favoráveis ao crescimento celular. Esses materiais biocompatíveis que auxiliam na regeneração óssea não devem apenas auxiliar na reconstrução mais rápida do tecido ósseo, mas também não apresentar citotoxicidade. Além disso, estudos *in vitro* utilizando células MC3T3 demonstraram alta bioatividade e excelente biocompatibilidade em compósitos à base de biovidro (CHRANIUK *et al.*, 2022; FERNANDEZ-YAGUE *et al.*, 2015).

5.3.4.2 Morfologia nuclear e índice mitótico

A coloração DAPI fornece características morfológicas nucleares (área, circularidade e solidez) e pode estar relacionada a vários mecanismos que afetam os processos de sobrevivência celular. As células VERO e 3T3 expostas aos diferentes *scaffolds* por até 72 h não apresentaram sinais morfológicos de irregularidades nucleares pela análise morfométrica. Todas as células analisadas apresentaram formato redondo regular e superfície nuclear bem definida (Figura 22 a – b). Para reforçar a compatibilidade biológica, foi determinado um perfil celular proliferativo pelo índice mitótico por DAPI. Neste conjunto de análises, todos os testículos de *scaffold* reduziram acentuadamente o índice mitótico nas células VERO nas 72 h após a exposição quando comparados à célula controle, denotando que os biomateriais poderiam interagir negativamente de maneira dependente do ciclo celular para este tipo de célula. No entanto, o perfil morfológico dessas células pode indicar apenas uma regulação negativa na progressão do ciclo celular (interrompida entre G_0/G_1) como um mecanismo de proteção (Figura 22 c – d). Sabe-se que eventos reversíveis de fosforilação de proteínas desempenham um papel crucial nas vias de sinalização de pontos de verificação intracelular, que regulam a progressão do ciclo celular e, consequentemente, o potencial proliferativo.

Figura 22 – (a) e (b) Histograma representativo da solidez nuclear e do marcador de redondeza celular por DAPI (magnificação 20x); (c) Frequência de células mitóticas como parâmetro de proliferação celular após 72 h de incubação com SC/AL, SC/ZR, SC/AL/ZR, SC/AL/BG, SC/ZR/BG e SC/AL/ZR/BG; (d) Imagens representativas de células VERO mostrando figuras mitóticas (destacadas com círculos amarelos) no final da anáfase, com o aparecimento de dois discos, migrando em direção a polos opostos da célula (magnificação de 40x).



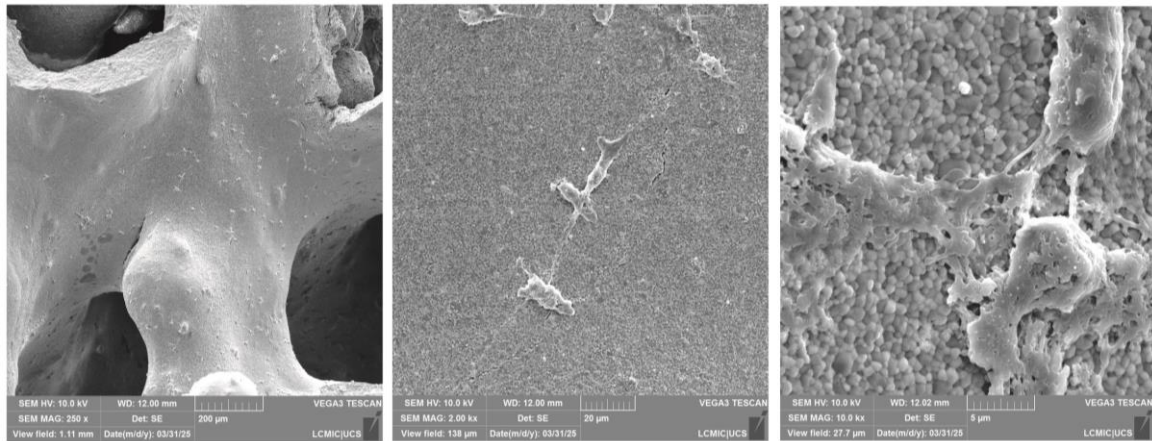
* Nas Figuras (a) e (b), o índice mitótico foi estabelecido para a linhagem celular VERO. Cada coluna representa a média do erro padrão de erro padrão (EPM). * $p < 0,05$ versus controle.

Fonte: O Autor (2025).

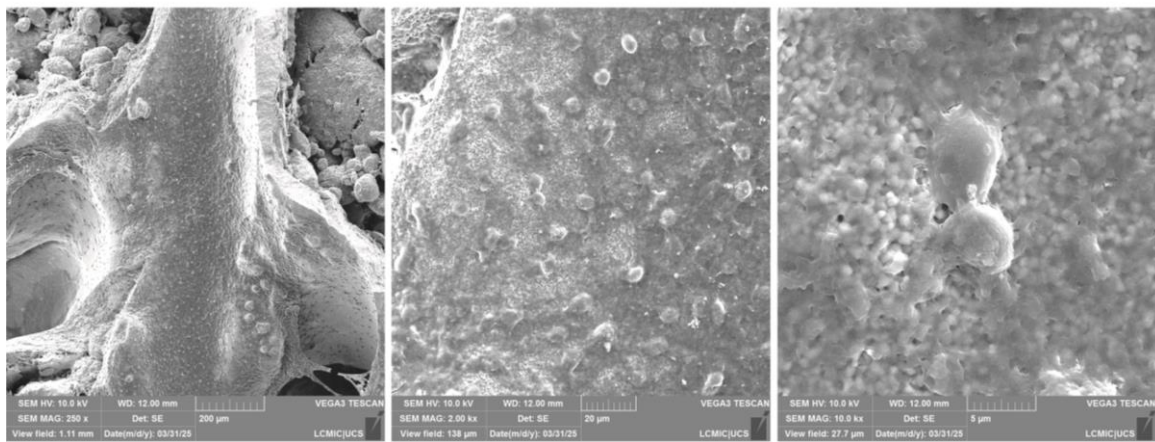
5.3.4.3 Morfologia e adesão celular

Para avaliar as interações células-*scaffolds* em maiores detalhes, fibroblastos 3T3 foram cultivados por 5 dias nas superfícies dos *scaffolds* e analisados por MEV-FEG (Figura 23). SC/AL/ZR/BG promoveram adesão celular favorável e extensa deposição de matriz extracelular (MEC). Essa forte interação celular indica a recuperação da atividade proliferativa, consistente com achados anteriores do índice mitótico. O biovidro é fisiologicamente compatível com a composição óssea e forma fortes ligações mecânicas com os tecidos moles que circundam o osso. Assim, os biomateriais infiltrados com biovidro não apenas servem como suportes biocompatíveis, mas também atuam como estímulos osteoindutivos e osteocondutivos inerentes, o que reforma o ambiente regenerativo (KRISHNAN *et al.*, 2024). É amplamente pesquisado que quando os biovidros são aplicados com *scaffolds* 3D porosos/enxertos ósseos, o método de preparação escolhido também é relevante porque determina precisamente a morfologia, a porosidade e o desempenho mecânico, químico e até biológico do material, afetando a migração celular, a adesão, o crescimento de células ósseas e a formação de novos ossos (KAOU *et al.*, 2023).

Figura 23 – Morfologia de fibroblastos 3T3 MEV-FEG: (a) SC/AL/ZR e (b) SC/AL/ZR/BG (magnificação de 250x; 2000x; 10.000x).



(a)



(b)

Fonte: O Autor (2025).

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho e estudos já realizados, os SC/AL/ZR/BG são amplamente considerados a melhor opção para enxertos/aplicação ósseos devido a mimetizarem de perto o tecido ósseo e serem biocompatíveis. Além disso, a inclusão da ZrO_3 em uma matriz de Al_2O_3 resulta em uma combinação microestrutural e propriedades homogêneas, já em relação a condições biológicas resulta em um compósito inerte que não altera o tecido circundante (SANTOS *et al.*, 2017; VIDANE *et al.*, 2023).

A combinação de compósitos cerâmicos bioativos para a fabricação de *scaffolds* demonstra forte potencial na promoção da regeneração tecidual, preservando a integridade do tecido hospedeiro, o que é fundamental para evitar falhas clínicas. Esses sistemas visam imitar o osso natural, criando estruturas tridimensionais capazes de promover a adesão celular, melhorar a osseointegração e contribuir para resultados regenerativos em aplicações biomédicas e tecido ósseo.

6 CONCLUSÕES

Esta pesquisa demonstrou o desenvolvimento bem sucedido de *scaffolds* compósitos de alumina-zircônia revestidos com biovidro, enfatizando sua integridade estrutural, bioatividade e biocompatibilidade para aplicações biomédicas. Os pós cerâmicos exibiram tamanhos de partículas distintos distribuídos entre 0,09 e 0,6 μm , que influenciaram a dispersão dentro da matriz polimérica, mas não impediram a extrusão do filamento ou a impressão dos *scaffolds*.

O processo de *debinding* em leito de pó e a sinterização subsequente produziram *scaffolds* mecanicamente estáveis com remoção efetiva do polímero e uma contração dimensional de 25-30 %. As micrografias das seções transversais confirmaram a presença de porosidade interna com tamanhos variando entre 500 μm e 1 mm para todas as misturas, o que permite melhor infiltração do biovidro. Os resultados morfológicos foram capazes de confirmar a capacidade de infiltração do biovidro, avaliados por MEV-EDS, identificando a presença de Ca, P e Si, elementos essenciais responsáveis por estimular a proliferação, o crescimento celular, a diferenciação dos osteoblastos e estimular proteínas ósseas. Além disso, os testes de citotoxicidade e biocompatibilidade identificaram que os SC/AL e SC/ZR, infiltrados ou não com biovidro, não apresentaram citotoxicidade significativa em fibroblastos renais epiteliais 3T3 ou VERO até 72 h após a exposição. Por outro lado, os substratos SC/AL/BG e SC/ZR/BG pareceram ser mais compatíveis com o crescimento de células livres. Os melhores resultados observados foram para o SC/AL/ZR/BG que promoveu um aumento na viabilidade celular e nas possíveis taxas de proliferação em 72 h após a exposição, bem como adesão e crescimento celular favoráveis à matriz, com ampla liberação de matriz extracelular (MEC) em 5 dias após a semeadura dos fibroblastos 3T3.

De modo geral, a combinação de cerâmicas de alumina-zircônia com infiltração de biovidro oferecem uma plataforma bioativa, biocompatível e estruturalmente robusta para a regeneração óssea. Essas descobertas reforçam o potencial deste sistema de *scaffolds* de compósitos cerâmicos como candidatos promissores para uso clínico em engenharia de tecidos duros e medicina regenerativa.

7 PROPOSTAS FUTURAS

- Produção de filamentos com maior quantidade em % vol. de pó cerâmico e mistura de aditivos;
- Obtenção de novas configurações dimensionais de *scaffolds*, avaliando o comportamento na infiltração do biovidro;
- Avaliação dos *scaffolds* com e sem infiltração de biovidro quanto as propriedades mecânicas de porosidade e compressão.

8 REFERÊNCIAS

- ADITHYA, S. P. *et al.* Nanosheets-incorporated bio-composites containing natural and synthetic polymers/ceramics for bone tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 1960–1972, 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.08.053
- AGARWAL, K. M. *et al.* Comprehensive study related to advancement in biomaterials for medical applications. **Sensors International**, v. 1, n. November, p. 100055, 2020. DOI: 10.1016/j.sintl.2020.100055
- ALASVAND, N. *et al.* Cellular response to alumina. Em: **Handbook of Biomaterials Biocompatibility**. [S.l.] LTD, 2020. p. 335–352. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102967-1.00016-5>
- ARENCÓN, D.; VELASCO, J. I. Fracture toughness of polypropylene-based particulate composites. **Materials**, v. 2, n. 4, p. 2046–2094, 2009. DOI: 10.3390/ma2042046
- ARJUNAN, A. *et al.* Future directions and requirements for tissue engineering biomaterials. **Reference Module in Materials Science and Materials Engineering**, n. January, p. 1–25, 2021. DOI: 10.1016/B978-0-12-815732-9.00068-1
- ARNESANO, A. *et al.* Fused deposition modeling shaping of glass infiltrated alumina for dental restoration. **Ceramics International**, v. 46, n. 2, p. 2206–2212, 2020. DOI: 10.1016/j.ceramint.2019.09.205
- AWAJA, F. *et al.* Cracks, microcracks and fracture in polymer structures: Formation, detection, autonomic repair. **Progress in Materials Science**, v. 83, p. 536–573, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2016.07.007>
- BACKES, E. H. *et al.* Development and characterization of printable PLA/ β -TCP bioactive composites for bone tissue applications. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 138, n. 5, p. 1–10, 2021. DOI: 10.1002/app.49759
- BAINO, F. *et al.* Bioactive sol-gel glasses: Processing, properties, and applications. **International Journal of Applied Ceramic Technology**, v. 15, n. 4, p. 841–860, 2018. DOI: 10.1111/ijac.12873.
- BAINO, F. *et al.* Making foam-like bioactive glass scaffolds by vat photopolymerization. **Open Ceramics**, v. 15, n. 100392, p. 1–8, 2023. DOI: 10.1016/j.oceram.2023.100392
- BARRETO, M. E. V. *et al.* Gelatin and bioactive glass composites for tissue engineering: A review. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 14, n. 23, p. 1–37, 2023. DOI: 10.3390/jfb14010023
- BARSOUM, M. W. **Fundamentals of ceramics**. IOP ed. [S.l.] Institute of Physics Publishing, London, 2003.

BAYART, M. *et al.* Pellet-based fused filament fabrication (FFF)-derived process for the development of polylactic acid/hydroxyapatite scaffolds dedicated to bone regeneration. **Materials**, v. 15, n. 16, p. 1–19, 2022. DOI: 10.3390/ma15165615

BEN-ARFA, B. A. E. *et al.* A hundred times faster: Novel, rapid sol-gel synthesis of bio-glass nanopowders (Si-Na-Ca-P system, Ca:P = 1.67) without aging. **International Journal of Applied Glass Science**, v. 8, n. 3, p. 337–343, 2016. DOI: 10.1111/ijag.12255

BEN-ARFA, B. A. E.; PULLAR, R. C. A comparison of bioactive glass scaffolds fabricated by robocasting from powders made by sol-gel and melt-quenching methods. **Processes**, v. 8, n. 615, p. 1–18, 2020. DOI:10.3390/pr8050615

BERGMANN, C. P.; STUMPF, A. **Dental Ceramics: Microstructure, Properties and Degradation**. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil: Springer Berlin, Heidelberg, 2013. DOI 10.1007/978-3-642-38224-6

BERNARDO, M. P.; DA SILVA, B. C. R.; MATTOSO, L. H. C. Development of three-dimensional printing filaments based on poly(lactic acid)/hydroxyapatite composites with potential for tissue engineering. **Journal of Composite Materials**, v. 55, n. 17, p. 1–12, 2021. DOI: 10.1177/0021998320988568

BHATIA, A.; SEHGAL, A. K. Additive manufacturing materials, methods and applications: A review. **Materials Today: Proceedings**, v. 81, p. 1060–1067, 2023. DOI: 10.1016/j.matpr.2021.04.379

BORON, W. F.; BOULPAEP, E. L. **Medical Physiology**. 2nd. ed. Philadelphia: United States, 2012.

BOSE, S. *et al.* Additive manufacturing of biomaterials. **Progress in Materials Science**, v. 93, p. 45–111, 2018. DOI: 10.1016/j.pmatsci.2017.08.003

CHATZISTAVROU, X. *et al.* Sol-gel derived bioactive glass ceramics for dental applications. Em: VALLITTU, P. (Ed.). **Non-Metallic Biomaterials for Tooth Repair and Replacement**. Philadelphia, USA: Woodhead Publishing Limited, 2013. p. 194–231. DOI: <https://doi.org/10.1533/9780857096432.2.194>

CHENG, L. *et al.* 3D printing of micro-and nanoscale bone substitutes: a review on technical and translational perspectives. **International Journal of Nanomedicine**, v. 16, n. June, p. 4289–4319, 2021. DOI: 10.2147/IJN.S311001

CHRANIUK, M. *et al.* The Preliminary Assessment of New Biomaterials Necessitates a Comparison of Direct and Indirect Cytotoxicity Methodological Approaches. **Polymers**, v. 14, n. 21, p. 1–14, 2022. DOI: 10.3390/polym14214522

COLLINS, M. N. *et al.* Scaffold fabrication technologies and structure/function properties in bone tissue engineering. **Advanced Functional Materials**, v. 31, n. 21, 2021. DOI:

10.1002/adfm.202010609

CONZELMANN, N. A. *et al.* Manufacturing complex Al₂O₃ ceramic structures using consumer-grade fused deposition modelling printers. **Rapid Prototyping Journal**, [S.l.], v. 26, n. 6, p. 1035–1048, 2020. DOI: 10.1108/RPJ-05-2019-0133

COUTINHO, F. M. B.; MELLO, I. L.; SANTA MARIA, L. C. D. Polietileno : Principais Tipos, Propriedades e Aplicações. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 3, n. 1, p. 1–13, 2003. DOI 10.1590/S0104-14282003000100005

LUZ, A. B. D.; LINS, F. A. F. **Rochas e Minerais Industriais**. 2^a ed. [S.l.] CETEM, 2008. v. 15

DENES, E. *et al.* Alumina biocompatibility. **Journal of Long-Term Effects of Medical Implants**, v. 28, n. 1, p. 9–13, 2018. DOI: 10.1615/JLongTermEffMedImplants.2018025635

DENRY, I.; HOLLOWAY, J. A. Ceramics for dental applications: A review. **Materials**, v. 3, n. 1, p. 351–368, 2010. DOI:10.3390/ma3010351

DEY, A.; EAGLE, I. N. R.; YODO, N. A review on filament materials for fused filament fabrication. **Journal of Manufacturing and Materials Processing**, v. 5, n. 3, p. 1–40, 2021. DOI: 10.3390/jmmp5030069

DEY, A.; YODO, N. A systematic survey of FDM process parameter optimization and their influence on part characteristics. **Journal of Manufacturing and Materials Processing**, v. 3, n. 3, p. 1–30, 2019. DOI: 10.3390/jmmp3030064

DING, Y.; ABEYKOON, C.; PERERA, Y. S. The effects of extrusion parameters and blend composition on the mechanical, rheological and thermal properties of LDPE/PS/PMMA ternary polymer blends. **Advances in Industrial and Manufacturing Engineering**, v. 4, n. 100067, p. 1–11, 2022. DOI: 10.1016/j.aime.2021.100067

DONG, Q. *et al.* 3D-printed Mg-incorporated PCL-based scaffolds: a promising approach for bone healing. **Materials Science and Engineering C**, v. 129, p. 112372, 2021. DOI: 10.1016/j.msec.2021.112372

SANTOS, K. H. D. *et al.* Influence of different chemical treatments on the surface of Al₂O₃/ZrO₂ nanocomposites during biomimetic coating. **Ceramics International**, v. 43, n. 5, p. 4272–4279, 2017. DOI: 10.1016/j.ceramint.2016.12.069

EGE, D.; ZHENG, K.; BOCCACCINI, A. R. Borate Bioactive Glasses (BBG): Bone Regeneration, Wound Healing Applications, and Future Directions. **ACS Applied Bio Materials**, v. 5, n. 8, p. 3608–3622, 2022. DOI: 10.1021/acsabm.2c00384

ELEFTERIOU, F. Impact of the autonomic nervous system on the skeleton. **Physiological Reviews**, v. 98, n. 3, p. 1083–1112, 2018. DOI: 10.1152/physrev.00014.2017

ENNETI, R. K. *et al.* Review: Thermal debinding process in particulate materials processing. **Materials and Manufacturing Processes**, v. 27, n. 2, p. 103–118, 2012. DOI: : 10.1080/10426914.2011.560233

FACCIO, M. *et al.* Efeito do ácido esteárico em scaffolds de alumina obtidos por manufatura aditiva usando o método de fabricação por filamento fundido. **Cerâmica**, v. 67, n. 384, p. 486–497, 2021. DOI: 10.1590/0366-69132021673843182

FARIAS, A. C. B. **Síntese sol-gel de biomateriais à base de água de fontes hidrotermais para otimização do comportamento celular e regeneração dos tecidos ósseos**. [S.l.] Dissertação de Mestrado em Ciências Biomédica. Universidade do Açores. Ponta Delgada, Portugal., 2015. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.3/3783>. Acesso: agosto de 2023.

FERNÁNDEZ-HERNÁN, J. P. *et al.* The Role of the Sol-Gel Synthesis Process in the Biomedical Field and Its Use to Enhance the Performance of Bioabsorbable Magnesium Implants. **Gels**, v. 8, n. 426, p. 1–31, 2022. DOI: 10.3390/gels8070426

FERNANDEZ-YAGUE, M. A. *et al.* Biomimetic approaches in bone tissue engineering: Integrating biological and physicommechanical strategies. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 84, p. 1–29, 2015. DOI: 10.1016/j.addr.2014.09.005

GAO, X. *et al.* Fused filament fabrication of polymer materials: a review of interlayer bond. **Additive Manufacturing**, v. 37, p. 101658, 2021. DOI: 10.1016/j.addma.2020.101658

GARCÍA, E. *et al.* Comparative study of geometric properties of unreinforced PLA and PLA-Graphene composite materials applied to additive manufacturing using FFF technology. **Polymer Testing**, v. 91, n. June, p. 1–16, 2020. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2020.106860

GHATGE, S. *et al.* Biodegradation of polyethylene: a brief review. **Applied Biological Chemistry**, v. 63, n. 1, p. 1–14, 2020. DOI: 10.1186/s13765-020-00511-3

SCHARDOSIM, G. M. **Síntese e caracterização de compósitos tipo PLGA-apatita/biovidro macroporosos para aplicações biomédicas**. Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais (PGETEMA). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, ago. 2016. Disponível em: <https://tede2.pucrs.br/tede2/handle/tede/6999>. Acesso: março de 2023.

GIBSON, I. *et al.* **Additive Manufacturing Technologies**. 3 ed ed. [S.l.] Springer. New York, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-56127-7>

GONZÁLEZ-GUTIÉRREZ, J. *et al.* Additive manufacturing of metallic and ceramic components by the material extrusion of highly-filled polymers: A review and future perspective. **Materials**, v. 11, n. 840, p. 1–36, 2018. DOI: 10.3390/ma11050840

GORDEEV, E. G.; GALUSHKO, A. S.; ANANIKOV, V. P. Improvement of quality of 3D printed objects by elimination of microscopic structural defects in fused deposition modeling.

PLOS ONE, v. 13, n. 6, p. 1–19, 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0198370

GRAND VIEW RESEARCH. Biomaterials Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product (Natural, Metallic, Polymer), By Application (Cardiovascular, Orthopedics, Plastic Surgery), By Region, And Segment Forecasts, 2024 - 2030. **Grand View Research**, p. 1–12, 2024. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/biomaterials-industry#>. Acesso: novembro de 2024.

GROSSIN, D. *et al.* A review of additive manufacturing of ceramics by powder bed selective laser processing (sintering / melting): Calcium phosphate, silicon carbide, zirconia, alumina, and their composites. **Open Ceramics**, v. 5, n. 100073, p. 1–21, 2021. DOI: 10.1016/j.oceram.2021.100073

GUADAGNO, L. *et al.* Electrical anisotropy controlled heating of acrylonitrile butadiene styrene 3D printed parts. **Materials and Design**, v. 225, p. 1–14, 2023. DOI: 10.1016/j.matdes.2022.111507

HADIAN, A. *et al.* Material extrusion based additive manufacturing of large zirconia structures using filaments with ethylene vinyl acetate based binder composition. **Additive Manufacturing**, v. 47, n. 102227, p. 1–12, 2021. DOI: 10.1016/j.addma.2021.102227

HALL, S. J. **Biomecânica Básica**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

HENCH, L. L. The story of Bioglass®. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 17, n. 11, p. 967–978, 2006. Disponível em: <https://cienciadotreinamento.com.br/wp-content/uploads/2020/04/BIOMECANICA-BASICA.pdf>. Acesso em: março de 2024.

HENCH, L. L.; JONES, J. R. **Biomaterials, Artificial Organs and Tissue Engineering**. 1ª ed. England: Woodhead Publishing, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/book/9781855737372/biomaterials-artificial-organs-and-tissue-engineering#book-info>. Acesso em: setembro de 2022.

INDURKAR, A. *et al.* Plant-based biomaterials in tissue engineering. **Bioprinting**, v. 21, n. July 2020, p. e00127, 2021. DOI: 10.1016/j.bprint.2020.e00127

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - ISO 10993-5. **Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity**. Switzerland, 2009.

ISPAS, A. *et al.* Zirconia in dental medicine: a brief overview of its properties and processing techniques. **Human & Veterinary Medicine. International Journal of the Bioflux Society**, v. 13, n. 1, p. 33–39, 2021. Disponível em: <https://hvm.bioflux.com.ro/docs/2021.33-39.pdf>. Acesso em: setembro de 2022

JAYASWAL, G. P.; DANGE, S. P.; KHALIKAR, A. N. Bioceramic in dental implants: A review. **Journal of Indian Prosthodontist Society**, v. 10, n. 1, p. 8–12, 2010. DOI:

10.1007/s13191-010-0002-4

KAOU, M. H. *et al.* Advanced Bioactive Glasses: The Newest Achievements and Breakthroughs in the Area. **Nanomaterials**, v. 13, n. 16, p. 1–33, 2023. DOI: 10.3390/nano13162287

KAUR, G.; SINGARI, R. M.; KUMAR, H. A review of fused filament fabrication (FFF): Process parameters and their impact on the tribological behavior of polymers (ABS). **Materials Today: Proceedings**, v. 51, p. 854–860, 2022. DOI: 10.1016/j.matpr.2021.06.274

KOKUBO, T. **Bioceramics and their Clinical Applications**. England: Woodhead Publishing, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/book/9781845692049/bioceramics-and-their-clinical-applications>. Acesso em: julho de 2023.

KOKUBO, T.; KIM, H. M.; KAWASHITA, M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. **Biomaterials**, v. 24, n. 13, p. 2161–2175, 2003. DOI: 10.1016/S0142-9612(03)00044-9

KRISHNAN, L. *et al.* Bioglass and nano bioglass: A next-generation biomaterial for therapeutic and regenerative medicine applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 277, n. 133073, 2024. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.133073

KUMAR, P. *et al.* Fabrication and characterization of ZrO₂ incorporated SiO₂–CaO–P₂O₅ bioactive glass scaffolds. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 109, n. 103854, p. 1–10, 2020. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2020.103854

KUMAR SEN, S.; RAUT, S. Microbial degradation of low density polyethylene (LDPE): A review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 3, n. 1, p. 462–473, 2015. DOI: 10.1016/j.jece.2015.01.003

LANDEK, D. *et al.* Optimization of sintering process of alumina ceramics using response surface methodology. **Sustainability**, v. 13, n. 12, p. 1–14, 2021. DOI: 10.3390/su13126739

LARRAMENDY, M. L.; SOLONESKI, S. **Genotoxicity: A Predictable Risk to Our Actual World**. London: IntechOpen, 2018. DOI: 10.5772/intechopen.69556

LI, Y. *et al.* Collagen-based biomaterials for bone tissue engineering. **Materials and Design**, v. 210, p. 110049, 2021. DOI: 10.1016/j.matdes.2021.110049

LIU, C. *et al.* Image analysis-based closed loop quality control for additive manufacturing with fused filament fabrication. **Journal of Manufacturing Systems**, v. 51, n. October 2018, p. 75–86, 2019. DOI: 10.1016/j.jmsy.2019.04.002

LOTFIZAREI, Z. *et al.* Overview of debinding methods for parts manufactured using powder material extrusion. **Additive Manufacturing**, v. 61, p. 103335, 2023. DOI: 10.1016/j.addma.2022.103335

- LY, M. *et al.* 3D Printing of Ceramic Biomaterials. **Engineered Regeneration**, v. 3, n. 1, p. 41–52, 2022. DOI: 10.1016/j.engreg.2022.01.006
- MA, P. *et al.* Biomimetic gelatin/chitosan/polyvinyl alcohol/nano-hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering. **Materials and Design**, v. 207, p. 109865, 2021. DOI: 10.1016/j.matdes.2021.109865
- MA, Y. *et al.* Circular economy and life cycle assessment of alumina production: simulation-based comparison of pedersen and Bayer processes. **Journal of Cleaner Production**, v. 366, n. May 2021, p. 1–13, 2022. DOI: 10.1016/j.jclepro.2022.132807
- MAMATHA, S. *et al.* 3D printing of complex shaped alumina parts. **Ceramics International**, v. 44, n. 16, p. 19278–19281, 2018. DOI: 10.1016/j.ceramint.2018.07.153
- MAREW, T.; BIRHANU, G. Three dimensional printed nanostructure biomaterials for bone tissue engineering. **Regenerative Therapy**, v. 18, p. 102–111, 2021. DOI: 10.1016/j.reth.2021.05.001
- MARIEB, E. N.; WILHELM, P. B.; MALLATT, J. **Anatomia Humana**. 7^a ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2014.
- MARQUES, A. *et al.* Review on current limits and potentialities of technologies for biomedical ceramic scaffolds production. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 109, n. 3, p. 377–393, 2021. DOI: 10.1002/jbm.b.34706
- MOCANU, A. C. *et al.* Influence of ceramic particles size and ratio on surface—volume features of the naturally derived HA-reinforced filaments for biomedical applications. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 13, n. 4, p. 1–19, 2022. DOI: 10.3390/jfb13040199
- MOMENI, V. *et al.* Effects of different polypropylene (PP)-backbones in aluminium feedstock for fused filament fabrication (FFF). **Polymers**, v. 15, n. 14, p. 1–18, 2023. DOI: 10.3390/polym15143007
- MONTICELI, F. M. *et al.* Prediction of bending properties for 3d-printed carbon fibre/epoxy composites with several processing parameters using ANN and statistical methods. **Polymers**, v. 14, n. 17, p. 1–19, 2022. DOI: 10.3390/polym14173668
- MORAN, C.; LEVINGSTONE, T. **Biofunctional materials for bone and cartilage tissue engineering**. [S.l.] Elsevier Ltd., 2020. DOI: 10.1016/b978-0-12-803581-8.11791-6
- NGO, T. D. *et al.* Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges. **Composites Part B: Engineering**, v. 143, p. 172–196, 2018. DOI: 10.1016/j.compositesb.2018.02.012
- NIEDERMAIR, T. *et al.* Absence of α -calcitonin gene-related peptide modulates bone remodeling properties of murine osteoblasts and osteoclasts in an age-dependent way. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 189, 2020. DOI: 10.1016/j.mad.2020.111265

NÖTZEL, D. *et al.* Printing of zirconia parts via fused filament fabrication. **Materials**, v. 14, n. 19, p. 1–15, 2021. DOI: 10.3390/ma14195467

NÖTZEL, D.; HANEMANN, T. New feedstock system for fused filament fabrication of sintered alumina parts. **Materials**, v. 13, n. 19, p. 1–12, 2020. DOI:10.3390/ma13194461

OLESIK, P.; GODZIERZ, M.; KOZIOŁ, M. Preliminary characterization of novel ldp-based wear-resistant composite suitable for FDM 3D printing. **Materials**, v. 12, n. 16, p. 1–19, 2019. DOI:10.3390/ma12162520

PATIL, N. A.; KANDASUBRAMANIAN, B. Biological and mechanical enhancement of zirconium dioxide for medical applications. **Ceramics International**, v. 46, n. 4, p. 4041–4057, 2020. DOI: 10.1016/j.ceramint.2019.10.220

PAXTON, N. C. *et al.* Biomedical applications of polyethylene. **European Polymer Journal**, v. 118, p. 412–428, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.05.037>

PIAIA, L.; SALMORIA, G. V.; HOTZA, D. Additive manufacturing of nanostructured bone scaffolds. Em: **Nanostructured Biomaterials for Cranio-Maxillofacial and Oral Applications**. [S.l.] Elsevier Inc., 2018. p. 181. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814621-7.00010-X>

PUNJ, S.; SINGH, J.; SINGH, K. Ceramic biomaterials: Properties, state of the art and future perspectives. **Ceramics International**, v. 47, n. 20, p. 1–16, 2022. DOI: 10.1016/j.ceramint.2021.06.238

PUSPASARI, V. *et al.* ZnO-based antimicrobial coatings for biomedical applications. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 45, n. 9, p. 1421–1445, 2022. DOI: 10.1007/s00449-022-02733-9

RAMÍREZ, J. A. *et al.* Influence of geometry on cell proliferation of PLA and alumina scaffolds constructed by additive manufacturing. **Journal of Materials Research**, v. 34, n. 22, p. 3757–3765, 2019. DOI: 10.1557/jmr.2019.323

RAMKUMAR, P.; RIJWANI, T. Additive manufacturing of metals and ceramics using hybrid fused filament fabrication. **Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering**, v. 44, n. 455, p. 1–17, 2022. DOI: 10.1007/s40430-022-03762-x

RANJAN, N. *et al.* On fabrication of acrylonitrile butadiene styrene-zirconium oxide composite feedstock for 3D printing-based rapid tooling applications. **Journal of Thermoplastic Composite Materials**, v. 0, p. 1–21, 2023. DOI: 10.1177/08927057231186310

RATNER, B. D. *et al.* Introduction to biomaterials science: an evolving, multidisciplinary endeavor. Em: **Biomaterials Science**. Fourth Ed. ed. [S.l.] Elsevier, 2020. p. 3–19. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816137-1.00001-5>

RESEARCH AND MARKETS. **Zirconium - Global Market Trajectory & Analytics**.

Disponível em:
https://www.researchandmarkets.com/reports/338438/zirconium_global_strategic_business_report?utm_source=BW&utm_medium=PressRelease&utm_code=ccj9bx&utm_campaign=1720137+Global+Zirconium+Market+Trajectory+%26+Analytics+Report+2022%3A+Intriguing+Properties. Acesso em: julho de 2023.

RIBAS, R. G. *et al.* Current advances in bone tissue engineering concerning ceramic and bioglass scaffolds: A review. **Ceramics International**, v. 45, n. 17, p. 21051–21061, 2019. DOI: 10.1016/j.ceramint.2019.07.096

RICHERSON, D. W. **Modern Ceramic Engineering: Properties, Processing, and Use in Design**. New York: CRC Press, 3rd edition, 2006.

ROACHO-PÉREZ, J. A. *et al.* Artificial Scaffolds in Cardiac Tissue Engineering. **Life**, v. 12, n. 1117, p. 1–21, 2022. DOI: 10.3390/life12081117

ROGERO, S. O. *et al.* Teste in vitro de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, v. 6, n. 3, p. 317–320, 2003. DOI:10.1590/S1516-14392003000300003

ROSETO-ALZATE, É. L. *et al.* Influence of porosity on the biomimetic growing patterns of bone-like apatite on the surface of calcium phosphate – calcium titanate – alumina compounds. **Revista DYNA**, v. 88, n. 218, p. 24–33, 2021. DOI: <https://doi.org/10.15446/dyna.v88n218.91651>

ROUALDES, O. *et al.* In vitro and in vivo evaluation of an alumina-zirconia composite for arthroplasty applications. **Biomaterials**, v. 31, n. 8, p. 2043–2054, 2010. DOI:10.1016/j.biomaterials.2009.11.107

RUYS, A. Dental, tissue scaffold, and other specialized biomedical applications of alumina. Em: **Alumina Ceramics Biomedical and Clinical Applications**. [S.l.] Woodhead Publishing, 2019. p. 123–137. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102442-3.00005-1>

SADAF, M.; BRAGAGLIA, M.; NANNI, F. A simple route for additive manufacturing of 316L stainless steel via fused filament fabrication. **Journal of Manufacturing Processes**, v. 67, p. 141–150, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmapro.2021.04.055>

SAKTHIABIRAMI, K. *et al.* Hybrid porous zirconia scaffolds fabricated using additive manufacturing for bone tissue engineering applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 123, n. 111950, p. 1–14, 2021. DOI: 10.1016/j.msec.2021.111950

SALEH, L. S.; BRYANT, S. J. In vitro and in vivo models for assessing the host response to biomaterials. **Drug Discovery Today: Disease Models**, v. 24, p. 13–21, 2017. DOI: 10.1016/j.ddmod.2018.04.002

SANTOS, S. C. **Formação de nanocristais de hidroxiapatita durante a síntese de um**

biovidro quaternário do tipo $\text{SiO}_2\text{.Na}_2\text{O.CaO.P}_2\text{O}_5$ via sol-gel. [S.l.] Dissertação de Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais - Universidade Federal de Sergipe, 2016. Disponível em: <https://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/3535>. Acesso em: março de 2023.

SEFAT, F.; MOZAFARI, M.; ATALA, A. Introduction to tissue engineering scaffolds. Em: **Handbook of Tissue Engineering Scaffolds: Volume One.** [S.l.] Elsevier Ltd, 2019. p. 3–22. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102563-5.00001-0>

SERGI, R.; BELLUCCI, D.; CANNILLO, V. A comprehensive review of bioactive glass coatings: State of the art, challenges and future perspectives. **Coatings**, v. 10, n. 8, p. 1–30, 2020. DOI:10.3390/coatings10080757

SHACKELFORD, J. F.; DOREMUS, R. H. **Ceramic and Glass Materials: Structure, Properties and Processing.** [S.l.] Springer. New York, 2008.

SHAQOUR, B. *et al.* Gaining a better understanding of the extrusion process in fused filament fabrication 3D printing: a review. **International Journal of Advanced Manufacturing Technology**, v. 114, n. 5–6, p. 1279–1291, 2021. DOI: 10.1007/s00170-021-06918-6

SIMORGH, S. *et al.* Additive manufacturing of bioactive glass biomaterials. **Methods**, v. 208, p. 75–91, 2022. DOI: 10.1016/j.ymeth.2022.10.010

SMOAK, M. M.; MIKOS, A. G. Advances in biomaterials for skeletal muscle engineering and obstacles still to overcome. **Materials Today Bio**, v. 7, n. July, p. 100069, 2020. DOI: 10.1016/j.mtbio.2020.100069

SPIRANDELI, B. R. *et al.* Incorporation of 45S5 bioglass via sol-gel in β -TCP scaffolds: Bioactivity and antimicrobial activity evaluation. **Materials Science and Engineering C**, v. 131, n. 112453, p. 1–12, 2021. DOI: 10.1016/j.msec.2021.112453

STATISTA RESEARCH DEPARTMENT. **Global market volume of polyethylene 2015-2029.** Disponível em: <https://www.statista.com/statistics/1245162/polyethylene-market-volume-worldwide/>. Acesso em: maio de 2025.

SUBRAMANIYAN, M. *et al.* State of art on fusion deposition modeling machines process parameter optimization on composite materials. **Materials Today: Proceedings**, v. 45, p. 820–827, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.02.865>

TAO, Y. *et al.* A review on voids of 3D printed parts by fused filament fabrication. **Journal of Materials Research and Technology**, p. 1–68, 2021. DOI: 10.1016/j.jmrt.2021.10.108

THÜMMLER, F.; THOMMA, W. The sintering process. **Metallurgical Reviews**, p. 69–108, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1179/mtlr.1967.12.1.69>

TOSTO, C. *et al.* Fused filament fabrication of alumina/polymer filaments for obtaining ceramic parts after debinding and sintering processes. **Materials**, v. 15, n. 7399, p. 1–20, 2022. DOI: 10.3390/ma15207399

TRUXOVÁ, V. *et al.* Alumina manufactured by fused filament fabrication: a comprehensive study of mechanical properties and porosity. **Polymers**, v. 14, n. 5, p. 1–13, 2022. DOI: 10.3390/polym14050991

USGS. **Bauxite and Alumina in the first quarter 2022**. Disponível em: <https://www.usgs.gov/centers/national-minerals-information-center/mineral-industry-surveys>. Acesso em: julho de 2023.

VAIANI, L. *et al.* Ceramic materials for biomedical applications: an overview on properties and fabrication processes. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 14, n. 3, p. 1–22, 2023. DOI: 10.3390/jfb14030146

VIDANE, A. S. *et al.* Biocompatibility and interaction of porous alumina-zirconia scaffolds with adipose-derived mesenchymal stem cells for bone tissue regeneration. **Heliyon**, v. 9, n. 9, p. 1–10, 2023. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e20128

WICKRAMASINGHE, S.; DO, T.; TRAN, P. FDM-Based 3D printing of polymer and associated composite: A review on mechanical properties, defects and treatments. **Polymers**, v. 12, n. 7, p. 1–42, 2020. DOI:10.3390/polym12071529

WILLIAMS, D. F. On the nature of biomaterials. **Biomaterials**, v. 30, n. 30, p. 5897–5909, 2009. DOI:10.1016/j.biomaterials.2009.07.027

WORLD ALUMINIUM. **International Aluminium Institute**. Disponível em: <https://international-aluminium.org/>. Acesso em: julho de 2022.

WU, H. *et al.* Recent developments in polymers/polymer nanocomposites for additive manufacturing. **Progress in Materials Science**, v. 111, n. 100638, p. 1–47, 2020. DOI: 10.1016/j.pmatsci.2020.100638

XIE, L. *et al.* Preparation, characterization and in vitro dissolution behavior of porous biphasic α/β -tricalcium phosphate bioceramics. **Materials Science and Engineering C**, v. 59, p. 1007–1015, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2015.11.040>

YADAV, A. *et al.* Fused filament fabrication: A state-of-the-art review of the technology, materials, properties and defects. **International Journal on Interactive Design and Manufacturing**, p. 1–23, 2022. DOI: 10.1007/s12008-022-01026-5

YADAV, D. *et al.* 3D printable biomaterials for orthopedic implants: solution for sustainable and circular economy. **Resources Policy**, v. 68, p. 101767, 2020. DOI: 10.1016/j.resourpol.2020.101767

YAMADA, S.; SHANBHAG, S.; MUSTAFA, K. Scaffolds in periodontal regenerative treatment. **Dental Clinics of North America**, v. 66, n. 1, p. 111–130, 2021. DOI: 10.1016/j.cden.2021.06.004

YUSOF, N. N. *et al.* A novel borate-based 45S5 Bioglass®: In vitro assessment in phosphate-

buffered saline solution. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 596, n. 121843, p. 1–14, 2022. DOI: 10.1016/j.jnoncrysol.2022.121843

ZAVŘEL, F. *et al.* Development of Hot-Melt Extrusion Method to Produce Hydroxyapatite/Polycaprolactone Composite Filaments. **Advanced Engineering Materials**, v. 24, n. 3, p. 1–12, 2022. DOI: 10.1002/adem.202100820

ZHANG, D.; LIU, X.; QIU, J. 3D printing of glass by additive manufacturing techniques: a review. **Frontiers of Optoelectronics**, v. 14, n. 3, p. 263–277, 2021. DOI: 10.1007/s12200-020-1009-z

ZHANG, X.; WU, X.; SHI, J. Additive manufacturing of zirconia ceramics: a state-of-the-art review. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 9, n. 4, p. 9029–9048, 2020. DOI: 10.1016/j.jmrt.2020.05.131

9 PUBLICAÇÕES

ORNAGHI, H. L.; FACCIO, M.; SOARES, M. R. F. Thermal degradation kinetics of natural fibers: determination of the kinetic triplet and lifetime prediction. **Polysaccharides**, v. 5, p. 169-183, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/polysaccharides5030013>

RIBEIRO, W. B. *et al.* Evaluation of biochar production temperature in interaction with elastomers of different polarities. **Materials Research**, v. 26, p. 1980-5373-mr-20, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/1980-5373-MR-2022-0341>

SILVA, A. L. E. *et al.* Development and characterization of pla biofilament combined with perfiton biomass for 3D printing. **Concilium (English Language Edition)**, v. 23, p. 327-344, 2023. DOI: <https://doi.org/10.53660/CLM-1788-23M20>

AGNOL, L. D. *et al.* Production of a thermoplastic polyurethane/silver nanoparticles filament with antiviral properties to combat -2. **Polymer Engineering And Science**, v. 63, p. 1-12, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/pen.26534>

FACCIO, M. *et al.* Efeito do ácido esteárico em scaffolds de alumina obtidos por manufatura aditiva usando o método de fabricação por filamento fundido. **Cerâmica**, v. 67, p. 486-497, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/0366-69132021673843182>

FACCIO, M.; CATAFESTA, J.; ZORZI, J. E. Aditivos para fabricação por manufatura aditiva de pós-cerâmicos pela técnica de filamento fundido: uma breve revisão. **Revista Tecnologia**, v. 42, p. 1-12, 2021. DOI: <https://doi.org/10.5020/23180730.2021.11960>