



# IMPRESSÃO TRIDIMENSIONAL POR EXTRUSÃO DE HIDROGÉIS NANOCOMPÓSITOS-INFLUÊNCIA DAS PROPRIEDADES REOLÓGICAS E PARÂMETROS DE PROCESSO NA QUALIDADE DA IMPRESSÃO

Palavras-Chave: HIDROGÉIS, IMPRESSÃO TRIDIMENSIONAL, SCAFFOLDS

Autores(as):

BRUNA LETÍCIA DE CAMARGO, FEM – UNICAMP

Prof<sup>(a)</sup>. Dr<sup>(a)</sup>. MARCOS AKIRA D'ÁVILA (orientador), FEM- UNICAMP

## 1. INTRODUÇÃO

Hidrogéis são estruturas poliméricas tridimensionais e hidrofílicas capazes de absorver uma grande quantidade de água, isso devido as ligações cruzadas químicas e/ou física presentes na sua composição (CHIMENE et al.,2020). Sua alta capacidade de absorver água torna o material poroso e permeável, o que permite a rápida difusão de oxigênio e nutrientes (CHIMENE et al.,2020). Por conta dessa característica, são a classe de matérias que mais se aproximam de tecidos biológicos, sendo amplamente utilizados para aplicações biomédicas, engenharia tecidual e medicina regenerativa, já que simulam um microambiente tecidual adequado para a proliferação celular (CALÓ E KHUTORYANSKIY,2014).

A partir dos hidrogéis e utilizando a técnica de impressão 3D ou manufatura aditiva (MA) por extrusão, é possível obter estruturas biocompatíveis, denominadas scaffolds, que servem de suporte para a inserção de células e sua consequente proliferação (FEDOROVICH et al.,2007). A MA é um processo que permite a fabricação de estruturas com geometrias complexas com alta precisão, baixo custo e sem a utilização de moldes (JUNGST et al., 2016). Para que seja impresso uma estrutura tridimensional com tolerâncias dimensionais adequadas, é preciso que as tintas possuam propriedades mecânicas e reológicas satisfatórias (PAXTON et al.,2017).

Nesse presente projeto de iniciação científica, foi estudada a reologia de hidrogéis nanocompósitos de carboximetilcelulose (CMC), Laponita e nanocristais de celulose (CNC) dispersos em uma solução aquosa. O CMC é um polissacarídeo celulósico hidrossolúvel obtido por meio da reação de celulose alcalina em NaOH aquoso com ácido monoclóricoacético (SHIU et al., 2017). A Laponita é um nanosilicato biocompatível, composto por sódio, lítio e magnésio. E o CNC são nanopartículas produzidas a partir do isolamento dos nanocristais da celulose através de tratamentos químicos com a utilização de ácidos (hidrólise ácida) (HABIBI et al.,2007).

Para o estudo da reologia, foram realizados ensaios com o auxílio de um reômetro, sendo eles: Ensaio da curva de viscosidade, ensaio de amplitude, ensaio de tixotropia de três pontos(3ITT), ensaio de frequência e ensaio de histerese. A partir da reologia, foram realizadas correlações entre o comportamento reológico das composições e os parâmetros de impressão através de modelos de fluidos não-Newtonianos e por meio de testes de formação, fusão e colapso de filamentos com a finalidade de definir uma ótima tinta para a impressão de scaffolds.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1. Preparação das amostras

Os materiais utilizados para a preparação das amostras foram: carboximetilcelulose de sódio (CMC-Mw=250.000g.mol<sup>-1</sup>, DS=0,7, Sigma-Aldrich, Saint Louis-MO, EUA), Laponita XLG (Southern Clay Products, Inc., USA), nanocristais de celulose em pó (Celluforce) e água deionizada (pH 7,0). Foram preparadas soluções aquosas de CMC com concentração de 1% em massa com dispersões de Laponita de 2% e de 3% em massa, com a utilização de um agitador de vórtice. Foi feito o mesmo com dispersões de CNC de 6% e 8% em massa.

O preparo das amostras iniciou-se por meio da pesagem dos materiais com uma balança analítica. Em seguida, ajustou-se o agitador para uma rotação de 400 rpm, e adicionou-se lentamente o CMC na água deionizada para agitação por 60 minutos (Figura 1). Após esse tempo, foi adicionado a nanopartícula para agitação por 120 minutos.



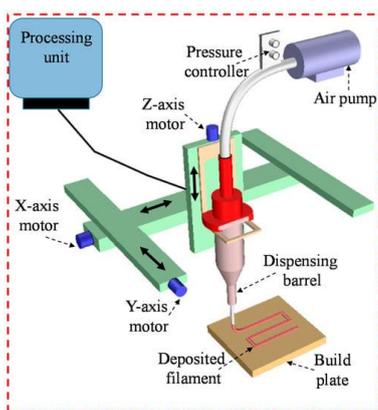
**Figura 1** Preparo de amostra CMC/Laponita no agitador mecânico.

### 2.2. Caracterização reológica

As propriedades reológicas foram medidas com a utilização de: um reômetro modular compacto Anton Paar MCR-102, uma geometria cone-placa (50 mm de diâmetro, ângulo de cone de 0,9815° e truncamento de 0,97µm) e Silicone para evitar a evaporação da água.

No Reômetro, foram realizados ensaios de amplitude, frequência, histereses, tixotropia e de viscosidade. Os ensaios já haviam sido pré-programados pela equipe de laboratório do Prof. Dr. Marcos Akira d'Ávila.

### 2.3. Impressão de Scaffolds



**Figura 2** Esquema de impressão 3D de um Scaffold. Fonte: (Habib, 2018)

Para a impressão dos Scaffolds, primeiramente os géis foram armazenados em uma seringa descartável (EFD, Nordson) e centrifugados por 3 minutos a uma rotação de 4000 rpm. Em seguida, o material foi impresso com a utilização de uma impressora 3D, onde o gel foi dispensado através de uma agulha cônica (EFD, Nordson, diâmetro interno de 0,41mm) e depositado em uma placa fixada em um leito de impressão estacionária, conforme é demonstrado no esquema da Figura 2.

Os scaffolds impressos foram previamente modelados em um software (BioScaffolds), onde foram definidos o número de camadas e o tamanho dos scaffolds (15 mmx15mm).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

### 3.1. Comportamento reológico

### 3.1.1. Ensaio de Curva de Viscosidade

A partir dos gráficos das figuras 3 e 4, observa-se que a viscosidade, tanto para o sistema com CNC quanto para o sistema com Laponita, é inversamente proporcional a taxa de cisalhamento, devido ao comportamento não newtoniano do material.

Por meio do modelo de Ostwald-de-Waele (Lei de potências) (Equação 1) foi possível observar o comportamento pseudoplástico das amostras. Pela equação  $\eta$  é a viscosidade,  $\dot{\gamma}$  é a taxa de cisalhamento,  $m$  é o índice de consistência de fluxo e  $n$  é o índice de power-law. O índice  $m$  está relacionado a magnitude da viscosidade e o índice  $n$  determina o grau de pseudoplasticidade, quanto menores os valores de  $n$ , maior o grau de pseudoplasticidade, sendo sempre  $0 < n < 1$ . (MORRISON, 2001). Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1

$$\eta(\dot{\gamma}) = m\dot{\gamma}^{n-1}$$

**Equação 1** Lei de Potências

Tabela 1 Resultados da Lei de Potências

Sistemas	Consistên cia de fluxo (m)	Índice de power- law(n)
1% CMC 2% Laponita	118,67	0,098
1% CMC 3 % Laponita	249,89	0,051
1% CMC 6% CNC	73,029	0,209
1% CMC 8% CNC	82,479	0,256



Figura 3 Ensaio de viscosidade sistema 1% CMC e 2% Laponita

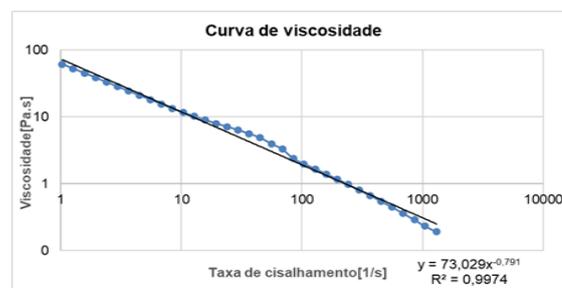


Figura 5 Ensaio de viscosidade sistema 1% CMC e 6% CNC

### 3.1.2. Ensaio de amplitude

Esse ensaio de reologia tem por finalidade analisar o caráter viscoelástico do material, na qual, o comportamento elástico está associado ao módulo de armazenamento ( $G'$ ) e o comportamento viscoso ao módulo de perda ( $G''$ ). A partir da Figura 5, observa-se que conforme o material se deforma,  $G''$  aumenta e  $G'$  diminui, sugerindo que o hidrogel passa a apresentar um comportamento do tipo sólido (solid-like) ( $G'' > G'$ ). Todas as amostras apresentaram um comportamento semelhante ao representado no gráfico da Figura 5.

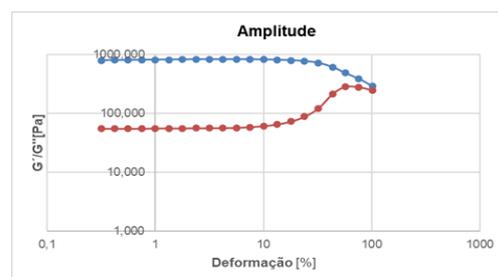


Figura 6 Ensaio de Amplitude sistema 1% CMC e 3% Laponita

### 3.1.3. Ensaio de frequência

A figura 7 apresenta os resultados do ensaio de frequência, que assim como o ensaio de amplitude analisa o caráter viscoelástico do gel, porém em termos de frequência angular. Observa-se que os módulos  $G'$  e  $G''$  são lineares e paralelos, com o  $G'$  maior que o  $G''$ , mostrando que não há dependência da frequência angular e que o material se encontra no formato de gel. Todas as amostras apresentaram um comportamento semelhante ao representado no gráfico da Figura 7.

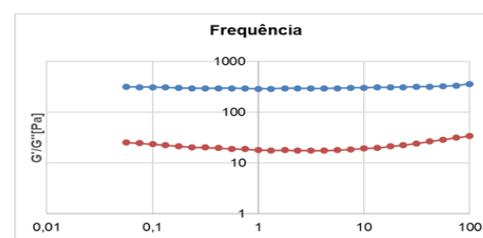


Figura 7 Ensaio de frequência sistema 1% CMC e 2% Laponita

### 3.1.4. Ensaio de tixotropia (3ITT) e de Histerese

Ambos os ensaios têm a finalidade de analisar o comportamento tixotrópico do material. Com o ensaio de 3ITT observou-se o tempo de recuperação do gel , após a aplicação de uma tensão de cisalhamento ao seu estado estacionário. E com o ensaio de Histerese, por meio de análise gráfica, verificou-se que os géis apresentam um comportamento tixotrópico. No entanto, nesses testes , ocorreram maiores divergências nos resultados quando comparados os sistemas com Laponita e CNC, pois os gráficos representando as amostras com CNC apresentaram valores inconstantes e diferentes do que é previsto na literatura.

### 3.2. Avaliação da capacidade de impressão :Testes de filamento, fusão e colapso

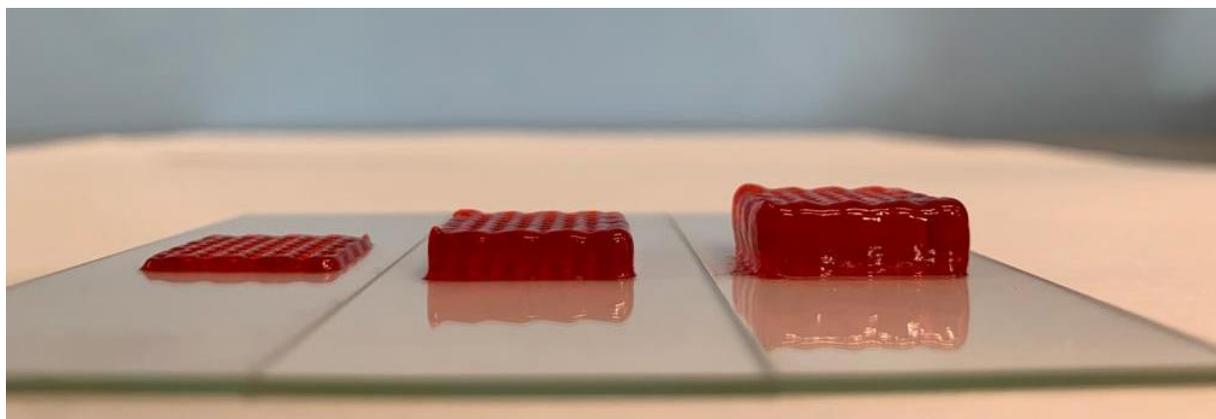
Nessa etapa da pesquisa, foram feitas comparações entre as melhores velocidades de impressão das amostras, na qual foram escolhidas 3 velocidades: 5 mm/s, 7,5mm/s e 10 mm/s. Além disso, também foram comparados os fatores de extrusão, que representam a quantidade de material extrudada, quanto maior o fator de extrusão, maior é a quantidade de material extrudada. Os fatores de extrusão escolhidos foram de : 100, 125 e 150. Estes testes foram realizados com o objetivo de escolher o melhor fator de extrusão e a melhor velocidade para a impressão dos scaffolds.

Todos os testes foram realizados somente com as amostras do sistema Laponita , assim como a impressão final dos scaffolds , pois o sistema de amostras CMC/CNC apresentou muitas inconstâncias na análise de reologia , diferentemente das amostras com Laponita , que apresentaram bons resultados para a impressão.

Com os testes de fusão e filamento foi possível calcular a taxa de difusão e o índice de capacidade de impressão. A partir da taxa de difusão, tem-se que quanto mais próximos de 0 os valores , melhor é a o material para a impressão , pois significa que o gel não irá espalhar pelo scaffold. Já o índice de impressão garante que quanto mais próximos de 1 os valores, mais o poro quadrado do scaffold é perfeito.

Com o teste de colapso, calculou-se o fator de área de colapso, onde quanto mais próximo de 0 os valores, mais os materiais são fluidos, o que indica uma maior dificuldade na formação de filamentos. Já quanto mais próximos de 1 os valores, melhores são os filamentos formados e menor a chance haver colapso.

Por meio da análise gráfica, foi possível verificar que a melhor tinta para impressão foi a de concentração 1%CMC e 3% Laponita, com uma velocidade de impressão de 5mm/s e fator de extrusão de 150. Alguns scaffolds impressos com essa tinta podem ser visualizados na **Figura 8**, onde pode ser averiguado que mesmo com diferentes números de camadas, os scaffolds apresentaram uma boa fidelidade de forma e consistência estrutural.



*Figura 8 Scaffolds com 10, 30 e 50 camadas da esquerda para a direita*

## 4. CONCLUSÕES:

A partir dos estudos e resultados obtidos nesse trabalho, verificou-se a importância do estudo do comportamento reológico dos hidrogéis, para que esses possam ser utilizados para a produção de scaffolds de boa qualidade e serem utilizados em aplicações de engenharia tecidual. Visando-se uma tinta de ótima qualidade os ensaios reológicos realizados mostraram que a composição altera a viscosidade, o comportamento viscoelástico e tixotrópico do material, sendo que quanto maior a concentração da nanopartícula (Laponita ou CNC) maior o grau de pseudoplasticidade e do módulo de armazenamento  $G'$ , podendo-se deduzir que esse material pode ser sujeito a maiores tensões de cisalhamento. Além disso, verificou-se o sistema CMC/CNC apresenta maior instabilidade e necessita de maior tempo de agitação na preparação da mistura.

A partir dos testes realizados para verificar a capacidade de impressão, pode-se concluir que a melhor tinta para a impressão de scaffolds foi a de concentração 1%CMC e 3% Laponita, com uma velocidade de impressão de 5mm/s e fator de extrusão de 150.

## 5. BIBLIOGRAFIA

- CALÓ, E.; KHUTORYANSKIY, V. V. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *European Polymer Journal*, v. 65, p. 252–267, 2015.
- Chimene, D; Kaunas, R. R.; Gaharwar, A. K.; *Adv. Mat.* 32, 1902026 (2020)
- Dávila, J. L.; d'Ávila, M. A.; *Carbohydr. Pol.* 157, 1-8 (2017).
- Dávila, J.L., Manzini, B.M., d'Ávila, M.A., da Silva, J.V.L.; *Rapid Prototyp. J.* (2022). DOI: 10.1108/RPJ-09-2021-0245
- FEDOROVICH, N. E. et al. Hydrogels as Extracellular Matrices for Skeletal Tissue Engineering: State-of-the-Art and Novel Application in Organ Printing. *Tissue Engineering*, v. 13, n. 8, p. 1905–1925, 2007.
- Habibi, Y., Foulon, L., Aguié-Béghin, V., Molinari, M., Douillard, R., Langmuir-blodgett films of cellulose nanocrystals: Preparation and characterization, *Journal of Colloid and Interface Science*, (2007), 316, 388
- JUNGST, T. et al. Strategies and Molecular Design Criteria for 3D Printable Hydrogels. *Chemical Reviews*, v. 116, n. 3, p. 1496–1539, 2016
- Paxton N.; Willi S.; Böck T.; Melchels F.; Groll J. and Jungst T.; *Biofabrication* 9, 044107 (2017).