

PROJETANDO IMPRESSORA 3D E TINTAS DE HIDROGÉIS BIOCOMPATÍVEIS: UMA ABORDAGEM INTEGRADA

Viana, T. N.

Heinze, D. A.

UFABC

thiago.nunes@aluno.ufabc.edu.br; daniel.heinze@aluno.ufabc.edu.br

Titotto, S.

UFABC

silvia.titotto@ufabc.edu.br

Champeau, M.

UFABC

mathilde.champeau@ufabc.edu.br

Resumo. O objetivo deste trabalho é desenvolver tintas para manufatura aditiva que sejam biocompatíveis a base de pluronic f-127 e poli(ácido acrílico). Além disto, pretende-se implementar uma impressora 3D que possua funcionalidades úteis ao desenvolvimento e processamento dos hidrogéis. A temperatura de gelificação foi avaliada pelo método do tubo invertido e a reometria rotacional utilizada para obter características mecânicas do hidrogel. A adição de ácido acrílico aumenta (até extinguir) a temperatura de gelificação, além de reduzir o módulo de armazenamento e aumentar o tempo de recuperação.

Palavras chave: Impressão 3D. Hidrogel polimérico. Reologia. Biomaterial.

1. INTRODUÇÃO

A moderna tecnologia de manufatura aditiva apóia-se fortemente em sistemas inicialmente criados para o controle da manufatura por usinagem. Esses sistemas dividem-se em três partes: CAD, CAM e CNC. O CAD (*Computer Aided Design*) tem como função compilar informações a respeito da geometria do objeto que se pretende construir (ou seja permitir que se desenhe o objeto, nos atuais sistemas com interface gráfica). Enquanto o CAM (*Computer-Aided Manufacturing*) serve como interface entre o CAD e o CNC, atuando para gerar uma estratégia de movimentos. Já o CNC (*Computer Numeric Control*) tem como finalidade controlar os movimentos da máquina. Assim estabelece-se o seguinte fluxo de trabalho: criar a geometria do objeto com sistemas CAD; criar uma estratégia de movimentação da máquina com sistemas CAM e por fim usar máquinas CNC para processar o material. (Ahrens et al., 2008) Porém a tecnologia de manufatura aditiva traz novas demandas para cada um destes subsistemas. Como o objeto impresso pode ser constituído por múltiplos materiais, além das relações geométricas, é necessário especificar/armazenar informação sobre qual material constitui cada área de impressão, durante a etapa de desenho (CAD). (Suk et al., 2008)

Uma classe especial de materiais utilizados em manufatura aditiva são os hidrogéis. De acordo com a definição da IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), os géis são polímeros ou redes coloidais que são expandidas por um fluido e são sistemas semi-sólidos. Caso o fluido expansor seja água, o gel é chamado de hidrogel. Os hidrogéis são, portanto, redes poliméricas que podem absorver mais de 90% do seu peso seco em água, enquanto a reticulação química e física das cadeias poliméricas as tornam insolúveis em água. O interesse nesses materiais vem de sua capacidade em servir como suporte para sistemas biológicos, onde o hidrogel mimetiza o meio intercelular de tecidos moles. Sendo assim, há potencial para aplicação deste material na construção de arcabouços que serão posteriormente colonizados por células (Armstrong et al., 2016 e Zhang et al., 2017). Uma característica importante dos hidrogéis é a sua temperatura de gelificação (T_{gel}), que marca uma transição entre o comportamento líquido para um comportamento semi-sólido. A adição de outras moléculas a um hidrogel pode alterar a sua T_{gel} , ainda assim, é vantajosa a combinação de moléculas a fim de obter um hidrogel que possa possua características adequadas a ao processamento por extrusão e capacidade de retenção do formato extrudado através de reticulações químicas. O estado

semi-sólido de hidrogéis é extensamente utilizado como um meio para reter o formato impresso em sistemas de impressão 3D por extrusão.

Os sistemas de deposição empregados na impressão 3D de hidrogéis vão desde modificações em cartuchos de impressoras, sistemas a LASER até sistemas de extrusão (Leberfinger, 2017). No caso dos sistemas de extrusão, pode-se utilizar ar comprimido em contato direto com o hidrogel a ser impresso ou um êmbolo pneumático. Enquanto sistemas de ar comprimido em contato direto exigem cuidados para que o ar não contamine o material, sistemas a êmbolo (pneumático) exigem calibração para garantir que o atrito necessário para mover êmbolo não esteja comprometendo o uso da pressão no controle da taxa de deposição. Outra estratégia citada na literatura é o uso de rosca, como em extrusoras para polímeros. (Katja et al., 2016, Leberfinger, 2017)

Uma vez definido o material a ser impresso (no caso hidrogéis) parte-se para o entendimento de seu comportamento. Para obter informações sobre a processabilidade por extrusão é interessante o estudo de suas características reológicas, onde três ensaios são primordiais: ensaio de viscosidade, ensaio de varredura em frequência e teste de recuperação. O ensaio de viscosidade provê informação preliminar sobre a resistência ao fluxo do hidrogel quando diferentes taxas de cisalhamento são aplicadas. É desejável que o material apresente alta viscosidade inicial (para que não escoe quando estiver apenas sob ação da gravidade) e que uma vez no capilar de extrusão a viscosidade decaia rapidamente - comportamento pseudoplástico. O segundo ensaio de interesse é a varredura em frequência, que tem o propósito de mensurar o comportamento do hidrogel, dividindo-o em duas componentes: uma elástica - onde o hidrogel é modelado como um sólido hookeano - e outra viscosa - onde o hidrogel é modelado como um fluido newtoniano. Pode-se assim obter informação sobre a resistência do material a esforços quase estáticos (como a ação da gravidade), e estimar se o material irá ou não colapsar caso seja submetido a uma tensão estática. Por fim, o teste de recuperação determina o tempo necessário para que o material recupere sua viscosidade inicial ao cessar a aplicação de altas taxas de cisalhamento. É desejável que o material tenha o menor tempo de recuperação possível, a fim de que ele possa reter o formato impresso. Estes parâmetros irão ter influência nas variáveis controláveis da impressora. Com exceção da viscosidade, os demais ensaios reológicos ainda não possuem uma metodologia estabelecida, limitando a comparação entre os resultados obtidos (Li, 2016; Leberfinger, 2017).

O objetivo deste trabalho é desenvolver uma tinta composta de hidrogel biocompatível a base de pluronic F127 e ácido acrílico (F127/AA), que possa ser utilizado em manufatura aditiva por extrusão. É investigado o comportamento do hidrogel com o aumento da temperatura (temperatura de gelificação) e a influência da variação da concentração de ácido acrílico na temperatura de gelificação e reologia da tinta. Além disso procurou-se desenvolver uma impressora 3D, a partir do olhar da engenharia de materiais. Neste hidrogel, o pluronic F-127 é o polímero com capacidade de auto-agregação, formação de micelas, e a agregação dessas micelas proporciona propriedades mecânicas ao hidrogel no momento da impressão. O ácido acrílico tem o papel de monômero reticulante, pois uma vez impresso a sua polimerização é iniciada para que o objeto impresso tenha sua forma retida. Assim o ácido acrílico garantirá a integridade do material impresso, no longo prazo. Também realizou-se a construção de uma impressora 3D.

2. METODOLOGIA

O preparo dos hidrogéis começa com a diluição da solução aquosa de pluronic F127 40 %m/v, para se obter soluções com 30% m/v de pluronic e uma concentração variável de ácido acrílico (18,4 e 20,4 (% m/v)).

A temperatura de gelificação foi obtida através do método do “tubo invertido”, consistindo do aquecimento em banho maria de 5 mL de hidrogel em tubo falcon. Regularmente o tubo falcon foi retirado do banho e “invertido” a fim de verificar se o hidrogel estava em estado líquido ou gel (se não escorrer).

Para uma estimativa inicial do cisalhamento imposto ao material pela impressora, a taxa de cisalhamento foi avaliada do seguinte modo: Obteve-se a massa de hidrogel depositada para uma faixa de pressões de extrusão entre 1,5 até 2,7 bar (com incrementos de 0,2 bar). A pressão aplicada ao sistema de extrusão foi obtida do manômetro existente na linha que pressuriza a seringa (utilizou-se manômetro classe C com escala de 0 - 6 Bar). Três segmentos de reta (com 10 mm de comprimento) foram obtidos para cada pressão de impressão, obtendo-se uma média de massa impressa, para cada pressão. O capilar da agulha utilizada possui diâmetro interno de 0,39 mm e comprimento de 9,62 mm. Este teste foi realizado a temperatura ambiente, em uma impressora 3D desenvolvida pelo autor.

A reologia foi avaliada utilizando um reômetro Anton Paar modelo MCR 502® com geometria de placas paralelas de 25 mm e distância entre placas de 1 mm. O comportamento da viscosidade foi avaliado para taxas de cisalhamento na faixa de 0,1 a 910 s⁻¹. O ensaio de recuperação foi realizado em três etapas. Durante a etapa inicial, aplicou-se uma

taxa de cisalhamento de $0,1 \text{ s}^{-1}$ durante 60 s. Seguiu-se uma etapa de 10 s com taxa de cisalhamento de 100 s^{-1} e então, concluiu-se o ensaio com uma taxa de cisalhamento de $0,1 \text{ s}^{-1}$ durante 60 s. Os ensaios oscilatórios foram realizados com deformações de 0,3 %, para frequências no intervalo de 0,01 a 100 rad s^{-1} . Os ensaios reológicos foram realizados à temperatura de 20°C .

Com relação a impressora utilizada (construída pelo autor, com base em modelos existentes - Fig. 1A), preferiu-se pela construção de uma máquina (ao invés da montagem de um “kit”) onde o cabeçote de impressão realiza toda a movimentação relativa à deposição de material. Para a movimentação do cabeçote de impressão, escolheu-se pelo uso de eixos “sem fim” (Fig.1B) ao invés de correias e polias. Sendo o eixo “sem fim” sempre uma engrenagem motora, apenas movendo (girando) a engrenagem sem fim (o eixo) é possível movimentar o cabeçote de impressão.

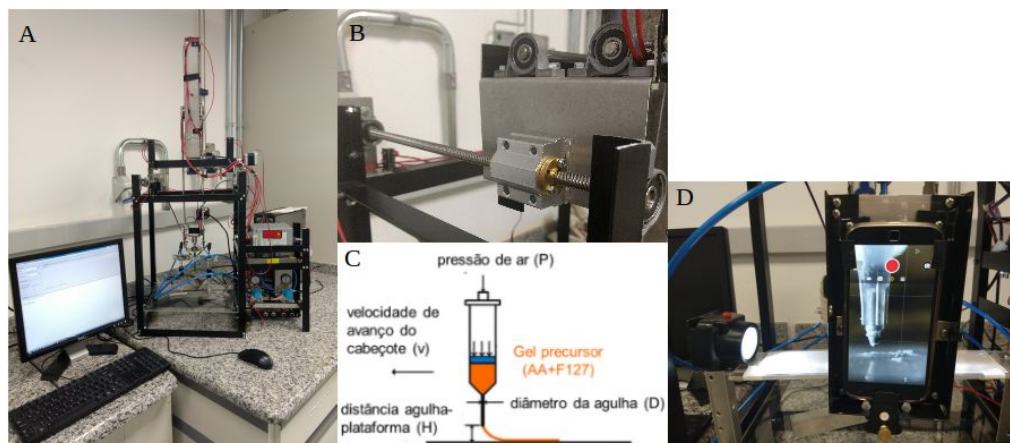


Figura 1. (A) Impressora 3D; (B) Eixo “sem fim”; (C) Esquema da seringa de impressão; (D) Dispositivo de aquisição de imagens. (Figuras A, B, D do próprio autor. Figura (C), adaptado de He *et al*, 2016)

Com relação ao software de controle preferiu-se a utilização do sistema open CNC GRBL, devido a facilidade de integrar comandos para o controle das válvulas eletropneumáticas do cabeçote de impressão. No cabeçote de impressão, optou-se pelo sistema pneumático de extrusão, onde uma seringa foi adaptada (Fig. 1C). Isto permite o controle da taxa de cisalhamento aplicada ao hidrogel pela escolha de agulhas (capilares) com diâmetros internos diferentes (comercialmente disponíveis) e por modificação da pressão do ar comprimido. Para monitorar a impressão foi criado um suporte, onde através da câmera de celular pode-se filmar a impressão (Fig. 1D).

3. RESULTADOS

A influência da adição de ácido acrílico (AA) na temperatura de gelificação pode ser vista na Tab 1.

Tabela 1. Influência da adição de ácido acrílico na T_{gel} .

	F127 30%	F127 30% AA 18,4%	F127 30% AA 20,4%
$T_{gel} (^\circ\text{C})$	17	18	não gelifica

Na Tab. 1, observa-se que a T_{gel} obtida para a solução de F127 30 % é próxima ao valor relatado na literatura (19°C (Gioffredia *et al*, 2016)) e próxima ao valor obtido para o hidrogel com 18,4% de AA. Porém a adição de 20,4% de AA inibe a gelificação.

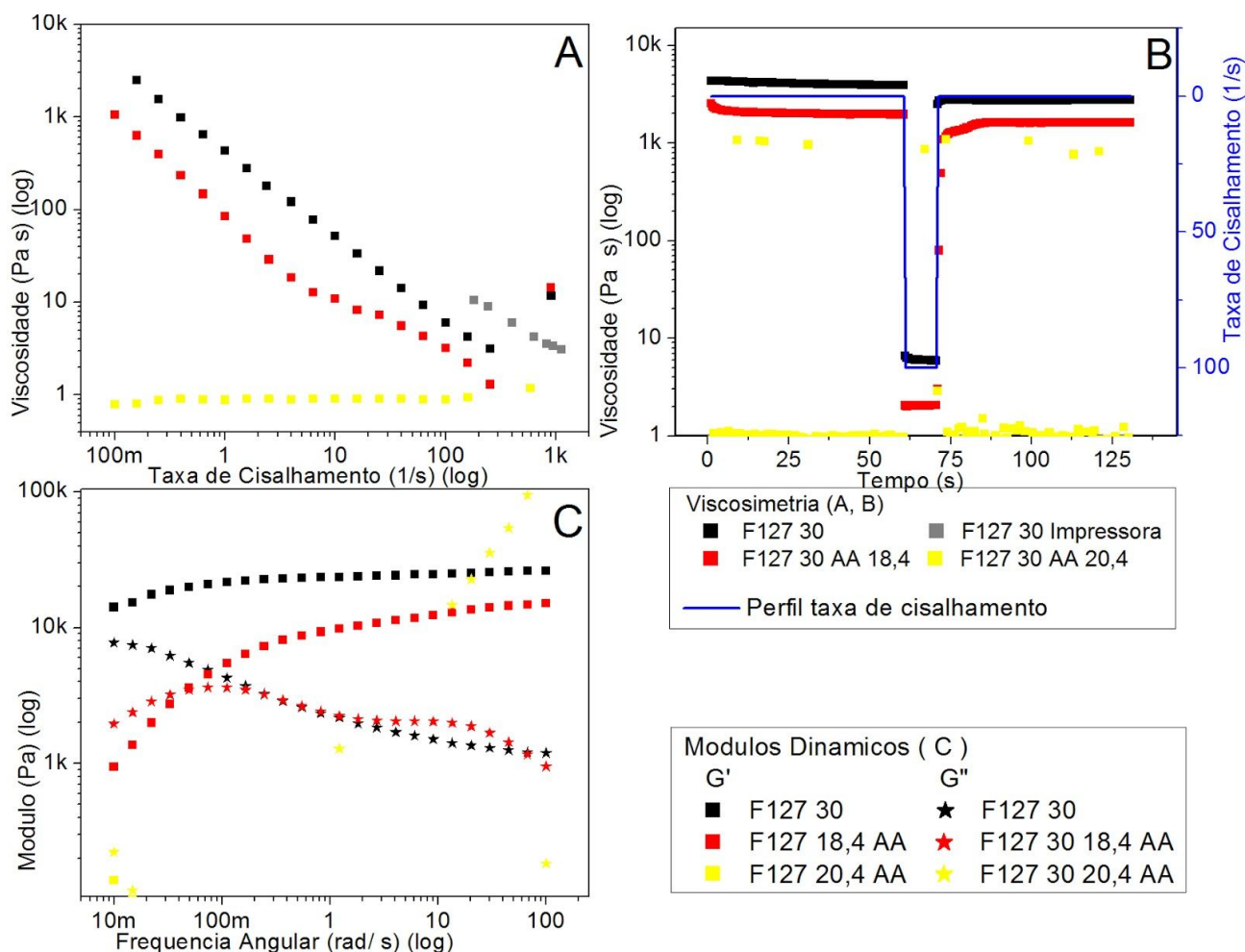


Figura 2. Ensaio de viscosidade; (B) Ensaio de recuperação; (C) Módulos de armazenamento (G') e perda (G'').

Assim, se mantida a concentração de pluronic F127 em 30 % m/v, a concentração máxima de ácido acrílico que permite manter a temperatura de gelificação abaixo de 20 °C é ligeiramente inferior a 18,4 % m/v. Assim fica imposto o limite de 18,4 % m/v de ácido acrílico para que se tenha gel dentro da seringa, a temperatura ambiente.

Os testes de viscosidade (Fig. 2A) mostraram que a adição de 18,4% AA reduz a viscosidade do hidrogel, enquanto a adição de 20,4% torna o material líquido. O teste feito na impressora faixa de operação inicialmente escolhida (combinação de pressão e diâmetro do capilar) resultou em taxa de cisalhamento no limite do que a imposta pelo reômetro (conforme série de dados em cinza - Fig. 2A). Uma vez que a impressora “mimetiza” um reômetro capilar, era esperada concordância/continuidade entre as curvas de reometria rotacional/reometria capilar. Mas há um ponto a ser esclarecido: o manômetro disponível na impressora é analógico, não sendo possível obter a curva de pressão vs velocidade como num reômetro capilar. Além disso, a velocidade do fluido dentro da seringa não está diretamente disponível, como é o caso num reômetro capilar. Verifica-se que para baixas pressões (estágios iniciais do ensaio, quando a velocidade do pistão é pequena) demora-se mais tempo para o fluxo de material alcançar o regime estacionário. Quando se tem altas pressões (correspondente a estágios onde a velocidade do pistão é alta) o fluxo rapidamente entra em estado estacionário. A massa de hidrogel contabilizada enquanto a extrusão não alcança o regime de fluxo laminar gera a discrepância de resultados.

Vê-se na Fig. 2B que as amostras tendem a perder um pouco de sua viscosidade inicial após a aplicação de alta taxa de cisalhamento e que a adição de AA tende a tornar o processo de recuperação da viscosidade inicial mais lento. Enquanto o tempo de recuperação do hidrogel F127 foi 2 s, para a amostra com 18,4% de AA este tempo foi de 14 s.

Na Fig 2(C), ensaio de varredura em frequência, nota-se que a frequências suficientemente baixas, todos os hidrogéis estudados se comportaram como líquidos. Porém a adição de AA tende a reduzir G' de forma mais acentuada, principalmente em baixas frequências angulares (menor que 50 mRad/s), onde observa-se o ponto de cruzamento entre as curvas de G'/G'' . Este ponto marca a transição do comportamento semi-sólido para o líquido.

4.CONCLUSÕES

A impressora implementada tem capacidade para atingir valores de taxa de cisalhamento superiores ao que pode ser aplicado nos testes reológicos. A adição de ácido acrílico pode suprimir a gelificação do F127, retardar o tempo para que ocorra a gelificação após um evento de alta taxa de cisalhamento e alterar significativamente a resposta em frequência do hidrogel.

5. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnológico - Brasil (CNPq) - Projeto 426118/2018-9.

6. REFERÊNCIAS

- Ahrens, C. H. et al. Prototipagem rápida: tecnologias e aplicações. de Neri Vo ed. São Paulo: Blucher, 2008.
- Armstrong, J. P. K. et al. 3D Bioprinting Using a Templated Porous Bioink. *Advanced Healthcare Materials*, v. 5, n. 14, p. 1724–1730, 2016.
- Gioffredi, E. et al. Pluronic F127 Hydrogel Characterization and Biofabrication in Cellularized Constructs for Tissue Engineering Applications. *The Second CIRP Conference on Biomanufacturing*, v. 49, p. 125-132, 2016.
- He Y. et al. Research on the printability of hydrogels in 3D bioprinting, *Nature Scientific Report*, v. 6, p. 29977, 2016.
- Katja, H. et al. Bioink properties before, during and after 3D bioprinting. *Biofabrication*, v. 8, n. 3, p. 32002, 2016.
- Leberfinger, A. N. Concise Review: Bioprinting of Stem Cells for Transplantable Tissue Fabrication. *Stem Cells Translational Medicine*. v. 6, n. 10, p.1940–1948, 2017.
- Li, H.; LIU, S.; LIN, L. Rheological study on 3D printability of alginate hydrogel and effect of graphene oxide. *International Journal of Bioprinting*, v. 2, n. 2, p. 10–12, 2016.
- Suk, H. S. et al. Theory and design of CNC systems. London: Springer-Verlag London Limited, 2008.
- Zhang, Y. S. et al. 3D Bioprinting for Tissue and Organ Fabrication. *Annals of Biomedical Engineering*, v. 45, n. 1, p. 148–163, 2017.

6. RESPONSABILIDADE PELAS INFORMAÇÕES

Os autores são os únicos responsáveis pelas informações incluídas neste trabalho.

DESIGNING 3D PRINTER AND BIOCOMPATIBLE HYDROGELS INKS: AN INTEGRATED APPROACH

Viana, T. N.

Heinze, D. A.

UFABC

thiago.nunes@aluno.ufabc.edu.br; daniel.heinze@aluno.ufabc.edu.br

Titotto, S.

UFABC

silvia.titotto@ufabc.edu.br

Champeau, M.

UFABC

mathilde.champeau@ufabc.edu.br

Abstract. *The objective of this work is to develop additive inks that are biocompatible based on pluronic f-127 and poly (acrylic acid). In addition, it is intended to implement a 3D printer that has useful functionalities for the development and processing of hydrogels. The gelation temperature was evaluated by the inverted tube method and the rotational rheometry used to obtain mechanical characteristics of the hydrogel. The addition of acrylic acid increases (until extinguishing) the gelling temperature, in addition to reducing the storage modulus and increasing the recovery time.*

Keywords: 3D printing. polymeric Hydrogel. Rheology. Biomaterial.

RESPONSIBILITY NOTICE

The authors are the only responsible for the printed material included in this paper.