

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Escola de Engenharia de São Carlos

**Ceramização, reforçamento e manufatura aditiva
de hidroxiapatita de origem bovina.**

Rogério Erbereli

Doutorado (Tese) - Programa de Pós-graduação em Engenharia
Mecânica

Área de concentração: Projeto, Materiais e Manufatura

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

ROGÉRIO ERBERELI

**Ceramização, reforçamento e manufatura aditiva de hidroxiapatita de
origem bovina.**

*Ceramization, reinforcement and additive manufacturing of hydroxyapatite
from bovine origin.*

São Carlos

2023

ROGÉRIO ERBERELI

Ceramização, reforçamento e manufatura aditiva de hidroxiapatita de origem bovina.

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como requisito para a obtenção do Título de Doutor em Engenharia Mecânica.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Fortulan

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2023

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

E65c ERBERELI, ROGERIO
Cerâmica, reforço e fabricação aditiva
de hidroxiapatita de origem bovina. / ROGERIO ERBERELI;
orientador CARLOS ALBERTO FORTULAN. São Carlos, 2023.

1. Hidroxiapatita bovina. 2. Manufatura aditiva. 3.
Impressão 3D. 4. Scaffolds. 5. Fotopolimerização. 6.
Biomateriais. I. Título.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Engenheiro **ROGÉRIO ERBERELI**.

Título da tese: "Ceramização, reforçamento e manufatura aditiva de hidroxiapatita de origem bovina."

Data da defesa: 24/11/2023.

Comissão Julgadora

Resultado

**Prof. Associado Carlos Alberto Fortulan
(Orientador)**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC-USP)

Aprovado

Profa. Dra. Renata Neves Granito
(Universidade Federal de São Paulo/UNIFESP)

Aprovado

Profa. Dra. Eliana Cristina da Silva Rigo
(Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/FZEA-USP)

Aprovado

Prof. Dr. Cesar Renato Foschini
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP - Bauru)

APROVADO

Prof. Associado Alessandro Roger Rodrigues
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC-USP)

Aprovado

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica:
Prof. Associado **Adriano Almeida Gonçalves Siqueira**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Titular **Carlos De Marqui Junior**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me abençoar, guiar meus passos e pela sabedoria necessária para superar as adversidades.

Aos meus pais (Antonio e Iolanda), à minha irmã Tamara e aos demais familiares pelo apoio em todos os momentos de minha vida.

À minha namorada, parceira e companheira Cintia, pela compreensão nos dias difíceis e toda ajuda durante esses anos juntos, além das sempre deliciosas conversas sobre ciência.

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlos Alberto Fortulan pelo apoio durante a orientação e pela oportunidade de trabalhar ao seu lado.

Ao Prof. Dr. João M. D. de A. Rollo por ter apoiado, acreditado e incentivado meus estudos no início dessa pesquisa no mestrado.

Aos técnicos dos laboratórios da Escola de Engenharia de São Carlos EESC-USP, em especial ao Sr. Luiz Adalberto Penazzi por toda assistência no decorrer da pesquisa.

Aos colegas do Laboratório de Tribologia e Compósitos (LTC) da Escola de Engenharia de São Carlos, em especial ao Italo Leite de Camargo pela parceria na realização dos estudos e ensaios ao longo de todo doutorado e ao Mateus Mota Morais pela ajuda com os testes de elementos finitos.

Aos colegas do laboratório de biomateriais e engenharia de tecidos (LaBETec) da Universidade Federal do Estado de São Paulo (UNIFESP) campus baixada santista pelo apoio nos testes in vitro.

Às professoras Ana Cláudia Muniz Renno e Eliana Cristina da Silva Rigo pelos valiosos comentários apresentados no exame de qualificação.

À Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária – Embrapa Pecuária Sudeste – São Carlos pelo fornecimento do material (ossos bovinos) para realização de todos os meus estudos e pesquisa.

E, por fim, agradeço ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)- Código de financiamento 001, pela bolsa concedida.

EPÍGRAFE

“Combati o bom combate, terminei a corrida, guardei a fé. Agora me está reservada a coroa da justiça, que o Senhor, justo Juiz, me dará naquele dia; e não somente a mim, mas também a todos que amam a sua vinda.”

São Paulo Apóstolo em 2 Timóteo 4:7-8

RESUMO

ERBERELI, R. **Ceramização, reforçamento e manufatura aditiva de hidroxiapatita de origem bovina**. 2023. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2023.

Esse trabalho objetiva atender a demanda crescente por produtos provenientes de biomateriais que consigam minimizar os problemas de falta de tecidos ósseos decorrentes de doenças, acidentes de trânsito e/ou de trabalho e das práticas esportivas, estéticas e odontológicas tanto de jovens quanto de idosos. Nesse cenário, a hidroxiapatita de origem bovina proveniente de animais com rastreabilidade, desde o nascimento até o abate, possui grande importância dentre os biomateriais por apresentar biocompatibilidade e grande similaridade com a estrutura óssea humana. O avanço das práticas médicas no campo da imagem computacional tem direcionado o planejamento personalizado dos reparos ósseos o que exige, no mesmo compasso, a capacidade de manufaturar corpos tão complexos externa e internamente como requerido. Nesse trabalho, para contribuir no atendimento desta demanda, é objetivado o desenvolvimento de implantes ósseos miméticos e personalizados; para isso foi desenvolvido um processo de obtenção de hidroxiapatita de origem bovina, que é transformada em matéria prima cerâmica reativa através de calcinação e moagem, rota que elimina qualquer risco biológico, no conjunto é desenvolvida e direcionada a manufatura aditiva com este material para obtenção de corpo com características externa (formato, superfície, dimensão) e interna (porosidade comunicante para vascularização intraóssea). Para atender essa perspectiva, o osso bovino precursor foi classificado, processado e reforçado para se tornar uma hidroxiapatita biocerâmica com propriedades adequadas, a muito baixo custo, renovável e acessível a todos os países. Uma máquina de impressão 3D foi desenvolvida no próprio laboratório, do tipo *top down* com projeção de imagem e fotopolimerização em cuba de pasta cerâmica, onde os corpos de prova foram impressos e validados pela impressão de pastas cerâmicas desenvolvidas desde baixo carregamento sólido (15% em volume), até altos carregamentos sólidos da ordem de 40% em volume. É possível concluir que a produção de *scaffolds*, assim como ossos miméticos de hidroxiapatita de origem bovina rastreada, apresenta uma combinação promissora que pode atender as características mecânicas e biológicas de implantes aplicados à engenharia de tecidos e que associada a processos tecnológicos de manufatura aditiva pode suprir a necessidade médica com o compromisso de alto desempenho, complexidade de forma, sendo biologicamente seguro.

Palavras-chave: Hidroxiapatita bovina. Manufatura aditiva. Impressão 3D. *Scaffolds*. Fotopolimerização. Biomateriais.

ABSTRACT

ERBRELI, R. **Ceramization, reinforcement and additive manufacturing of hydroxyapatite of bovine origin**. 2023. Tese (Doutorado) – São Carlos School of Engineering, University of São Paulo, 2023.

This work aims to meet the growing demand for products made from biomaterials that can minimize the problems of lack of bone tissue resulting from diseases, traffic and/or work accidents and sports, aesthetic and dental practices of both young and old people. In this scenario, hydroxyapatite of bovine origin from animals with traceability from birth to slaughter is of great importance among biomaterials as it presents biocompatibility and great similarity with the human bone structure. The advancement of medical practices in the field of computational imaging has driven personalized planning of bone repairs, which requires, at the same time, the ability to manufacture bodies as complex externally and internally as required. In this work, to contribute to meeting this demand, the aim is to develop mimetic and personalized bone implants. For this purpose, a process was developed to obtain hydroxyapatite of bovine origin, which is transformed into reactive ceramic raw material through calcination and grinding, route which eliminates any biological risk, as a whole additive manufacturing is developed and directed with this material to obtain a body with external (shape, surface, dimension) and internal (communicating porosity for intra-osseous vascularization) characteristics. To meet this perspective, the precursor bovine bone was classified, processed and reinforced to become a bioceramic hydroxyapatite with adequate properties, at a very low cost, renewable and accessible to all countries. A 3D printing machine was developed in the laboratory itself, a top-down type with image projection and photopolymerization in a ceramic paste vat, where the test specimens were printed and validated by printing ceramic pastes developed from low solid loading (15% in volume), up to high solid loadings of the order of 40% by volume. It is possible to conclude that the production of scaffolds, as well as hydroxyapatite mimetic bones of traced bovine origin, presents a promising combination that can meet the mechanical and biological characteristics of implants applied to tissue engineering and that associated with additive manufacturing technological processes can meet the medical need with a commitment to high performance, complexity of form, while being medically safe.

Keywords: Bovine hydroxyapatite. Additive manufacturing. 3D printing. Scaffolds. Photopolymerization. Biomaterials.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Evolução do rebanho bovino mundial.	32
Figura 2 - Classificação dos biomateriais com relação à interação com o meio fisiológico.	38
Figura 3 - Fluxograma das classes de biocerâmicas limitado à três subclasses.	41
Figura 4 - Célula hexagonal da unidade HA no grupo espacial P63/m. Azul: Ca(1), verde: Ca(2), lilás: P, vermelho: O1, laranja: O2, amarelo: O3, preto e branco: (OH) ⁻	47
Figura 5 - Esquema ilustrativo da estrutura do tecido ósseo.	51
Figura 6 - Esquema ilustrativo do remodelamento ósseo.	53
Figura 7 – Fluxograma para impressão em AM.	60
Figura 8 - Primeira patente relacionada com manufatura aditiva.	61
Figura 9 - Sistema para fabricar peças 3D de baixo para cima e de cima para baixo respectivamente.	62
Figura 10 – Processo de criação de peças 3D desenvolvido por Pomerantz.	63
Figura 11 – Imagem ilustrativa do processo de fotopolimerização em cuba de cerâmicas.	67
Figura 12 – Esquema ilustrativo do processo <i>top-down</i>	71
Figura 13 – Esquema ilustrativo da uniformidade na formação das camadas associadas ao processo <i>top-down</i>	72
Figura 14 – Esquema ilustrativo do processo <i>bottom-up</i>	72
Figura 15 - Representação esquemática de partículas menores livres nos interstícios de partículas maiores - proporção 40:1.	79
Figura 16 - Fluxograma representativo da metodologia aplicada nesse trabalho.	85
Figura 17 – Fluxo de processamento da amostra, a) secção da perna traseira esquerda; b) identificação da origem e limpeza com desossa mecânica (excessos de carne e gordura) do osso metatarso; c) amostras coletadas em formato de anel; d) amostras obtidas por corte; e) processo de extração da parte orgânica; f) secagem dos ossos.	87
Figura 18 - Amostras calcinadas.	88
Figura 19 - Representação das amostras em processo de moagem. (a) – quebra inicial do material; (b-c-d-e) – processo de moagem das amostras.	89
Figura 20 – Imagem da amostra utilizada para obtenção da μ -ct.	91
Figura 21 - Imagem 3D de osso bovino e visualização de uma das fatias.	92
Figura 22 – Imagem 3D da parte trabecular utilizada no padrão de impressão.	93
Figura 23 – Impressora utilizada no projeto.	94

Figura 24 – Sistema de espalhamento e nivelamento.	94
Figura 25 - Curva <i>debinding</i> e sinterização.	96
Figura 26 - Curva <i>debinding</i> e sinterização - <i>two steps</i>	97
Figura 27 - Fluxograma de obtenção dos <i>whiskers</i>	98
Figura 28 – Malha FEM do modelo ósseo com uma representação esquemática das condições de contorno e cargas.	99
Figura 29 - Curvas de moagem.	103
Figura 30 - Difrátogramas comparativos da hidroxiapatita.	104
Figura 31 – Figura ilustrativa de alguns dos corpos de prova impressos para teste de impressão.	105
Figura 32 - Testes com resinas comerciais – esquerda – primeiro teste de impressão com resina comercial Anycubic. Direita – testes com resinas comerciais de ossos mimetizados.	106
Figura 33 – Imagem dos corpos de prova relativos à primeira impressão com HA comercial.	107
Figura 34 - Testes de viscosidade aplicados em pastas com diferentes carregamentos de HA.	108
Figura 35 – Ensaios de estabilidade das pastas cerâmicas com diferentes concentrações de cargas de HA.	110
Figura 36 – Taxa de segregação para ensaios de 30 dias para diferentes carregamentos de HA.	110
Figura 37 – Imagens das camadas de impressão. (a) – impressão de corpos de prova; (b) – ossos mimetizados.	112
Figura 38 – Detalhes das camadas de impressão através de MEV.	113
Figura 39 – Imagem dos <i>scaffolds</i> impressos com pasta cerâmica com carregamento de 40%wt de HA bovina e tempo de fotopolimerização das camadas de 10 segundos.	114
Figura 40 - Imagem dos ossos miméticos, corpos de prova e <i>scaffolds</i> impressos com pasta cerâmica com carregamento de 40%wt HA bovina e tempo de fotopolimerização das camadas de 15 segundos.	115
Figura 41 – Imagens demonstrando a delaminação das camadas nos corpos de prova com tempos de exposição à luz para formação da camada de 15 segundos.	116
Figura 42 - Imagem dos ossos miméticos, corpos de prova e <i>scaffolds</i> impressos com pasta cerâmica com carregamento de 40%wt HA bovina e tempo de fotopolimerização das camadas de 20 segundos.	117
Figura 43 – Destaque de impressão de osso trabecular.	118

Figura 44 – Imagens das peças sinterizadas pelos processos one step (lado esquerdo) e two steps (lado direito).	119
Figura 45 - Imagens do pó α -TCP.	120
Figura 46 – Imagens do processo de hidrólise e produto final após secagem durante 24 horas em estufa.....	121
Figura 47 - Imagens do pó β -TCP.	122
Figura 48 – Imagens de pré e pós teste de compressão dos corpos cilíndricos, respectivamente.	123
Figura 49 – Imagens do teste de compressão dos ossos miméticos - em sentido horário: pré teste, durante teste, e pós teste (2x).	124
Figura 50 – Simulação FEM com carregamento equivalente a 90N, correspondente à primeira ruptura do material impresso.	125
Figura 51 – Imagens ilustrativas do teste de flexão das barras com adição de whiskers.	126
Figura 52 – Whiskers dispersos na peça impressa e detalhes dos whiskers nos interstícios granulares.....	126
Figura 53 – Imagens ilustrativas dos grupos amostrais durante o ensaio de degradação acomodadas em estufa e mantidas em temperatura de 37°C.	127
Figura 54 - Representação de perda/ganhos de massas nos grupos de amostras ao longo do tempo.	129
Figura 55 – Resultados dos testes de citotoxicidade.	131

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Aplicações de biomateriais cerâmicos.	39
Tabela 2 – Classificação das biocerâmicas.....	40
Tabela 3 - Diferentes propriedades de materiais biocerâmicos com vantagens e desvantagens.	42
Tabela 4 - Biomateriais para produção de <i>scaffolds</i> 3D juntamente com seus métodos de aplicação e fabricação comuns.	56
Tabela 5 - Vantagens e desvantagens dos diferentes <i>scaffolds</i> usados na engenharia de tecidos.	57
Tabela 6 - Tabela com as principais informações a respeito das impressoras comerciais para impressão de cerâmicas.	74
Tabela 7 – Principais patentes utilizadas no processo de impressão 3D.....	75
Tabela 8 – Lista de materiais associada à função e teste que foi empregado.....	90
Tabela 9 - Teste de impressão de camadas - tempo de exposição (s) x espessura (mm).	95
Tabela 10 – Formulação de resina para impressão com HA comercial.	107
Tabela 11 - Avaliação da degradação das amostras impressas em diferentes períodos.....	128
Tabela 12 - Valores de pH do PBS ao longo do ensaio de degradação com relativas médias e desvios padrões.....	130

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3D	-	Três dimensões
Al	-	Alumínio
Al ₂ O ₃	-	Alumina
AM	-	Additive manufacturing
ASTM	-	American Society for Testing and Materials
Ca	-	Cálcio
CaCO ₃	-	Carbonato de cálcio
CG	-	Grupo controle
CaHPO ₄	-	Monetita
CaP	-	Fosfato de cálcio
CAPES	-	Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal nível superior
CO ₂	-	Dióxido de carbono
(CO ₃) ²⁻	-	Carbonato
Cr	-	Cromo
CT	-	Tomografia computadorizada
(C ₆ H ₅ O ₇) ³⁻	-	Citrato
DED	-	Direct Energy Deposition
DLP	-	Digital light processing (processamento digital de luz)
EESC	-	Escola de Engenharia de São Carlos
EMBRAPA	-	Empresa brasileira de pesquisa agropecuária
FEM	-	Elementos finitos
H	-	Hidrogênio
HA	-	Hidroxiapatita
(HCO ₃) ⁻	-	Bicarbonato
(HPO ₄) ⁻²	-	Hidrogenofosfato
IFSC	-	Instituto de física de São Carlos
ISO	-	International Organization for Standardization
LaBtec	-	Laboratório de biomateriais e engenharia de tecidos
LCD	-	Monitor de cristal líquido
LTC	-	Laboratório de tribologia e compósitos

MA	-	Manufatura aditiva
Mg	-	Magnésio
MPa	-	Mega Pascal
MTT	-	brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il] -2,5-difeniltetrazólio
n	-	número de amostras
N	-	Newton
Na	-	Sódio
NH ₄ OH	-	Hidróxido de amônio
NMP	-	n-methyl-2-pyrrolidone
PABA	-	Ácido para-aminobenzóico
PBS	-	Tampão fosfato salino
PEGDA	-	Poli etileno glicol diacrilato
PLA	-	Poliácido láctico
PR	-	Prototipagem Rápida
PVB	-	Polivinil butiral
P	-	Fósforo
O	-	Oxigênio
OH	-	Grupo hidroxila
RM	-	Ressonância magnética
SEM	-	Microscopia eletrônica de varredura
SLA	-	Estereolitografia
SLS	-	Selective Laser Sintering
TC	-	Tomografia computadorizada
TCP	-	Trifostato de cálcio
TEM	-	Microscopia eletrônica de transmissão
Ti	-	Titânio
UNIFESP	-	Universidade Federal de São Paulo
USP	-	Universidade de São Paulo
UV	-	Ultra violeta
V	-	Vanádio
VAT	-	Fotopolimerização em cuba
vol	-	Volume
VP	-	Fotopolimerização em cuba
XRD	-	Difratometria de raios-X

Z	-	Número atômico
ZrO ₂	-	Zircônia
μSL	-	microestereolitografia

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	-	Graus Celsius
Å	-	Angstrom
m ² /g	-	metro quadrado por grama
s ⁻¹	-	1/segundo
nm	-	manômetros
mm	-	milímetros
cm ³	-	centímetro cúbico
g	-	Gramas
λ	-	comprimento de onda
kV	-	kilowatt
mA	-	mili Ampere
°	-	graus
s	-	Segundos
ml	-	mililitros
mm/s	-	milímetros por segundo
mg	-	miligrama
°C/min	-	graus Célsius por minuto
kN	-	kilo Newton
mm/min	-	milímetros por minuto
mm ²	-	milímetros quadrados
kg/m ³	-	kilograma por metro cúbico
GPa	-	giga Pascal
μl	-	micro litros
μm	-	micrômetro
%	-	percentagem
%wt	-	percentagem mássica
mPa.s	-	mili Pascal x segundo
Pa.s	-	Pascal x segundo
g/cm ³	-	Gramas por centímetro cúbico
h	-	Horas

SUMÁRIO

ABSTRACT	13
LISTA DE FIGURAS	15
LISTA DE TABELAS	19
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	21
LISTA DE SÍMBOLOS	25
1 INTRODUÇÃO.....	31
1.1 Objetivos.....	34
1.2 Justificativa.....	35
2 REVISÃO DE LITERATURA	37
2.1 Biomateriais.....	37
2.2 Biocerâmicas	39
2.3 Biocerâmicas de fosfato de cálcio	42
2.3.1 Classificação e estrutura cristalina dos fosfatos de cálcio.....	43
2.3.2 Fosfato tricálcico	44
2.4 Hidroxiapatita	45
2.5 Estrutura cristalina da hidroxiapatita.....	45
2.6 Difractometria de Raios-X	47
2.7 Aplicações da hidroxiapatita	48
2.8 Tecido ósseo	49
2.9 Remodelamento ósseo	52
2.10 Engenharia de tecidos ósseos	53
2.11 <i>Scaffolds</i> e métodos de obtenção	54
2.12 Tomografia computadorizada e micro tomografia computadorizada.....	58
2.13 Manufatura aditiva.....	59
2.13.1 História da manufatura aditiva	61

2.13.2 Bioimpressão associada a biocerâmicas	64
2.14 Cerâmicas por manufatura aditiva	65
2.15 Fotopolimerização em cuba	67
2.15.1 Materiais para fotopolimerização em cuba	68
2.15.2 Fotopolimerização em cuba de materiais cerâmicos.....	69
2.16 Fotopolimerização por escaneamento vetorial e por projeção.....	70
2.17 <i>Bottom up</i> e <i>top down</i>	71
2.18 Equipamentos.....	73
2.19 Sistemas de recobrimento e patentes associadas.....	74
2.20 Suspensões fotossensíveis.....	75
2.20.1 Estabilidade.....	77
2.20.2 Fração sólida volumétrica, tamanho e forma das partículas	78
2.20.3 Monômeros, diluentes e dispersantes.....	79
2.21 Processamento.....	81
2.22 Pós-processamento.....	81
2.23 Testes <i>in vitro</i>	82
2.23.1 Citotoxicidade	82
2.23.2 Testes de degradação	82
3 MATERIAIS E MÉTODOS	85
3.1 Aspectos éticos.....	86
3.2 Condições de manejo	86
3.3 Preparação e obtenção do material de origem bovina.....	87
3.4 Materiais de processamento	90
3.5 Parâmetros e materiais utilizados no DRX	90
3.6 Parâmetros utilizados na microtomografia	91
3.7 Parâmetros utilizados na viscosidade e estabilidade.....	92
3.8 Parâmetros de impressão.....	92

3.9	Processos de <i>debinding</i> e sinterização e obtenção de densidade.....	96
3.10	Obtenção dos <i>whiskers</i>	97
3.11	Testes de compressão/flexão e elementos finitos	98
3.12	Degradação <i>in vitro</i> e variação de pH	100
3.13	Citotoxicidade.....	100
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	103
4.1	Evolução da moagem do pó.....	103
4.2	Difratogramas comparativos da hidroxiapatita.....	103
4.3	Estudos de impressão	104
4.3.1	Ensaio com resinas comerciais	105
4.3.2	Ensaio com hidroxiapatita comercial.....	106
4.4	Ensaio de viscosidade e estabilidade de resinas.....	108
4.5	Impressões com hidroxiapatita de origem bovina	111
4.6	Processos de <i>debinding</i> e sinterização.....	118
4.7	Obtenção de <i>whiskers</i>	119
4.7	Testes de compressão/flexão e elementos finitos	122
4.7	Citotoxicidade.....	130
5	CONCLUSÕES	133
6	PUBLICAÇÕES E TRABALHOS PUBLICADOS NO PERÍODO	137
6.1	Artigos completos publicados em periódicos.....	137
6.2	Trabalhos completos publicados em anais de congressos	139
6.3	Resumos e resumos expandidos publicados em anais de congressos	139
6.4	Capítulos de livros publicados.....	140
6.5	Patentes.....	141
7	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	143
	REFERÊNCIAS	145
	ANEXO	169

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas a expectativa de vida aumentou significativamente em todo mundo, muito em função das melhorias e avanços da medicina, contudo o processo de envelhecimento eventualmente pode proporcionar algumas consequências à estrutura óssea dos seres humanos, como por exemplo: tumores ósseos, perda de massa óssea, osteoporose e perdas de dentes que por sua vez causam uma redução da qualidade de vida. Os problemas relacionados à reposição de tecidos ósseos não estão restritos aos idosos; jovens também estão sujeitos a problemas ósseos decorrentes de doenças, acidentes de trânsito e/ou trabalho e práticas esportivas. Também há uma crescente demanda estética que é uma tendência da sociedade moderna e está se tornando mais acessível a toda população.

Tais problemas normalmente trazem a necessidade de reparos ou até mesmo a substituição dos tecidos ósseos; e nesse contexto é que pesquisas tem aumentado grandemente nas últimas décadas visando o aumento do conhecimento sobre os tecidos ósseos, seja das suas propriedades e assim do material empregado em sua substituição. Nessa perspectiva tem aumentado as pesquisas em biomateriais com busca por melhores propriedades e também pela similaridade com o tecido ósseo; um destaque especial deve ser dado a biocerâmicas que compreendem classes que apresentarem propriedades bioativas, ou bioinertes e e/ou reabsorvíveis biologicamente e assim podem ser destinadas à reparação, manutenção, restauração ou mesmo para melhorar a função de órgãos e tecidos no organismo.

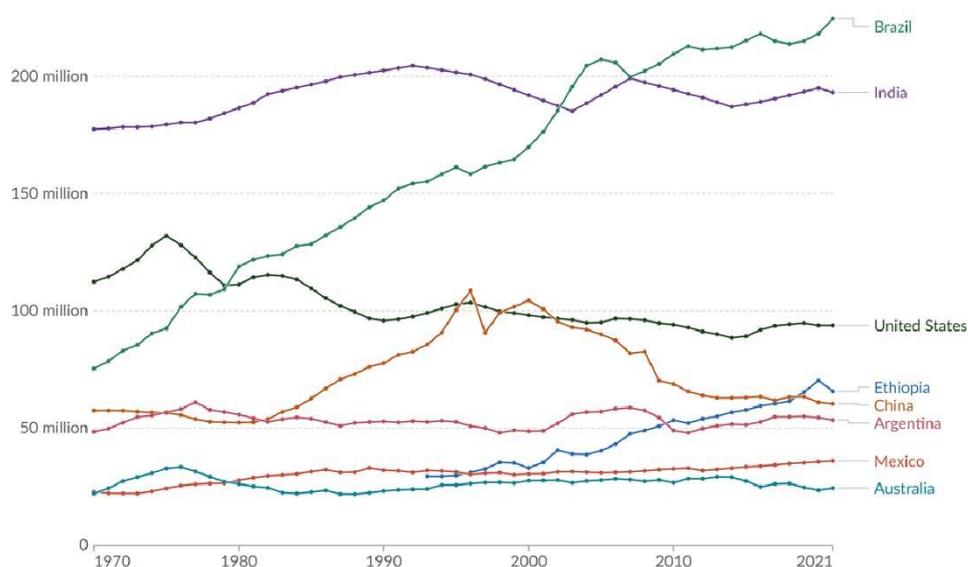
A definição de osso está associada à parte rígida do tecido conjuntivo que possui uma matriz extra celular calcificada (considerada a estrutura mais rígida do corpo); mesmo com essa característica de rigidez o osso apresenta características dinâmicas com alteração constante de formato, sendo essas alterações relacionadas aos esforços a ele submetido ao longo da vida. Por outro lado, a rigidez e resistência dos ossos estão relacionadas diretamente à presença dos cristais de hidroxiapatita e de colágeno.

A hidroxiapatita (HA) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_3(\text{OH})_2$ é um dos materiais mais populares na literatura dedicada à produção e investigação para a reprodução de tecido ósseo (Parkhomey et al., 2016). Geralmente este biomaterial, quando aplicado como substituto ou reparo se trata de particulados para preenchimento ou suporte (*scaffold*) que exige materiais e tecnologias de fabricação promotora volume com porosidade para formação e vascularização intraóssea e resistência mecânica necessária durante as fases iniciais de recuperação óssea (MICULESCU et al., 2018), características contraditórias a serem resolvidas pelo projeto, manufatura e material.

A utilização da hidroxiapatita de origem bovina tem grande destaque nas pesquisas por ser estruturalmente e morfológicamente semelhante ao osso humano, além de possuir as mesmas características de biocompatibilidade e osteocondutibilidade e isso colabora para a ocorrência das substituições ósseas.

De acordo com dados da FAO (*Food and Agriculture Organization*), obtidos junto ao site *Our world data (Our World in Data, 2021)*, desde 2007 o Brasil possui o maior rebanho bovino do mundo (Figura 1), e conseqüentemente possui grande disponibilidade de matéria-prima para a produção da HA. Atualmente a maior aplicação dos ossos bovinos no Brasil é a transformação em farinha para auxiliar na adubação da terra. A HA de origem bovina é um produto de baixo valor agregado quando comparado aos produtos já existentes de HA aplicados aos mercados odontológico e medicinal, sendo então bastante promissora a aplicabilidade desse produto de origem bovina.

Figura 1 - Evolução do rebanho bovino mundial.



Fonte: Adaptado de *Our World Data, (2021)*

As aplicações mais comuns de produtos provenientes de HA são nos formatos de grânulos, esferas, blocos e cilindros, contudo, a utilização de *scaffolds* se mostra mais eficiente para o uso, pois através da manufatura aditiva (*additive manufacturing - AM*) ele pode ter o formato e dimensões exatas do defeito ósseo e isso só é possível em função do tipo de

construção desses *scaffolds*, que nesse trabalho é feita por camadas a partir de desenhos computacionais sobre imagens provenientes de microtomografias computadorizadas.

A metodologia de fabricação dos *scaffolds* é chave para os procedimentos de engenharia de tecido, sendo considerados alguns fatores como: morfologia, tamanho, distribuição e interconectividade de poros, tratados juntamente com propriedades mecânicas. O fato de as biocerâmicas apresentarem alta porosidade é fator primordial para sua utilização nos implantes visto a necessidade dos *scaffolds* favorecerem o suprimento sanguíneo ao tecido conectivo em crescimento e neste sentido, os poros intercomunicantes têm também a importância na osteocondutividade do *scaffold*.

Dentre as possibilidades de processo para a fabricação dos *scaffolds*, a manufatura aditiva tem se mostrado bastante atraente pela possibilidade de produzir modelos e protótipos de alta complexibilidade; esse trabalho aplica o processo de fabricação através da fotopolimerização em cuba que é uma das categorias de MA com relativo baixo custo de ferramental. Nesse processo, um fotopolímero líquido em uma cuba é curado através da polimerização por luz; na sequência o corpo produzido (com teor de ligantes orgânicos e inorgânicos), durante a queima oxidante os orgânicos são eliminados e os inorgânicos são sinterizados (Balla et al., 2008; do Amaral et al., 2020; ISO/ASTM 512900:2015, 2015).

No entanto, nesta recente onda tecnológica, poucos são os equipamentos comercialmente disponíveis e economicamente acessíveis para trabalharem com suspensões de alta viscosidade, que é uma característica marcante das suspensões cerâmicas pelo fato de apresentarem alto carregamento sólido.

Esse trabalho tem o desafio de obter peças biocerâmicas de baixo custo com alto desempenho em tempo viável por manufatura aditiva através da fotopolimerização em cuba. A deposição das camadas impressas deve ser homogêneas e com deposição de material de forma mais precisa possível, perfazendo assim camadas de espessura micrométrica com uma suspensão de viscosidade relativamente baixa, alta concentração de pó em mistura de resinas com adição de orgânicos que proporcionam a funcionalização entre óxidos e resinas; seguida de sinterização com menor retração/deformação possível, ainda associadas à alta densificação e porosidade do produto final.

É nesse contexto de desenvolvimento mundial dessa tecnologia e técnica que esse trabalho está inserido, ocasionando uma impactante apresentação e participação de projetos que podem ser desenvolvidos no Brasil e no mundo. A multidisciplinaridade desse trabalho é destacada pelo fato de ocorrer o domínio de diversas áreas de pesquisa, tais como: desenvolvimento de projeto e construção de máquinas (associado ao desenvolvimento da

impressora 3D); ótica (associada à qualidade de imagens e comprimentos de ondas); materiais avançados (associado ao desenvolvimento de biocerâmicas); funcionalização de materiais (associado ao desenvolvimento de barbotinas compatíveis com fotopolimerização); processamento de alto desempenho (associado à manufatura aditiva de peças 3D com características dimensionais precisas); além de conhecimentos secundários de química; biologia, odontologia e medicina.

Desta forma, este trabalho tem como hipótese que a hidroxiapatita de origem bovina quando selecionada, classificada, processada e reforçada pode se tornar uma biocerâmica de excelentes propriedades a muito baixo custo, acessível a todos os países e que quando associada a processos tecnológicos de manufatura direta, pode resolver um caso clínico com o atendimento do compromisso de alto desempenho, complexidade de forma, sendo medicamente seguro e flexível e personalizado.

Este trabalho traz como originalidade o processamento de ceramização da hidroxiapatita bovina para uso em MA de *scaffolds*, e até mesmo estruturas muito mais complexas, como por exemplo ossos miméticos com também a possibilidade proporcionar algum reforço das propriedades desses impressos, com a inserção de *whiskers* produzidos no laboratório; além de inovar com o desenvolvimento de uma técnica de manufatura baseada na fotopolimerização em cuba da fase líquida de uma barbotina pela incidência da luz visível, ativada pela banda ultravioleta presente na faixa deste espectro de luz

1.1 Objetivos

O objetivo principal desse trabalho é a obtenção de corpos biomiméticos em estrutura trabecular com material de hidroxiapatita e com resistência à compressão conhecida. Para este conteúdo, foi desenvolvido um protocolo de ceramização de pós de hidroxiapatita de origem bovina reativos e reforçados com *whiskers* ou não, e impressão através do processo de fotopolimerização em cuba de peças (*scaffolds*) densas e porosas, miméticas ao osso trabecular metatarso bovino com imagem tridimensional advinda da microtomografia computadorizada.

Ainda como objetivos específicos ou secundários são propostos:

- Processamento da hidroxiapatita de origem bovina controlada para obtenção de pós submicrométricos utilizados para a impressão 3D;
- Controle das alterações microestruturais da hidroxiapatita no processo de ceramização;

- Desenvolvimento da manufatura aditiva por fotopolimerização em cuba de corpos de prova densos e porosos em hidroxiapatita de origem bovina com rastreabilidade, além de caracterização mecânica.

1.2 Justificativa

A realização desse trabalho se justifica pela crescente necessidade de novas tecnologias e técnicas de processamento não só de *scaffolds* (reforçados ou não), como também de reparos ósseos que podem ser aplicados diretamente em casos clínicos na engenharia de tecidos; uma característica bastante especial desse trabalho está na manufatura aditiva através da técnica de fotopolimerização em cuba associada a hidroxiapatita de origem bovina controlada.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Este capítulo aborda informações disponíveis na literatura sobre temas relevantes para esse trabalho, tais como: biomateriais, biocerâmicas, hidroxiapatita, aplicações da hidroxiapatita, manufatura aditiva em especial de processos envolvendo cerâmica e fotopolimerização (tipos, história, materiais, equipamentos, processos etc).

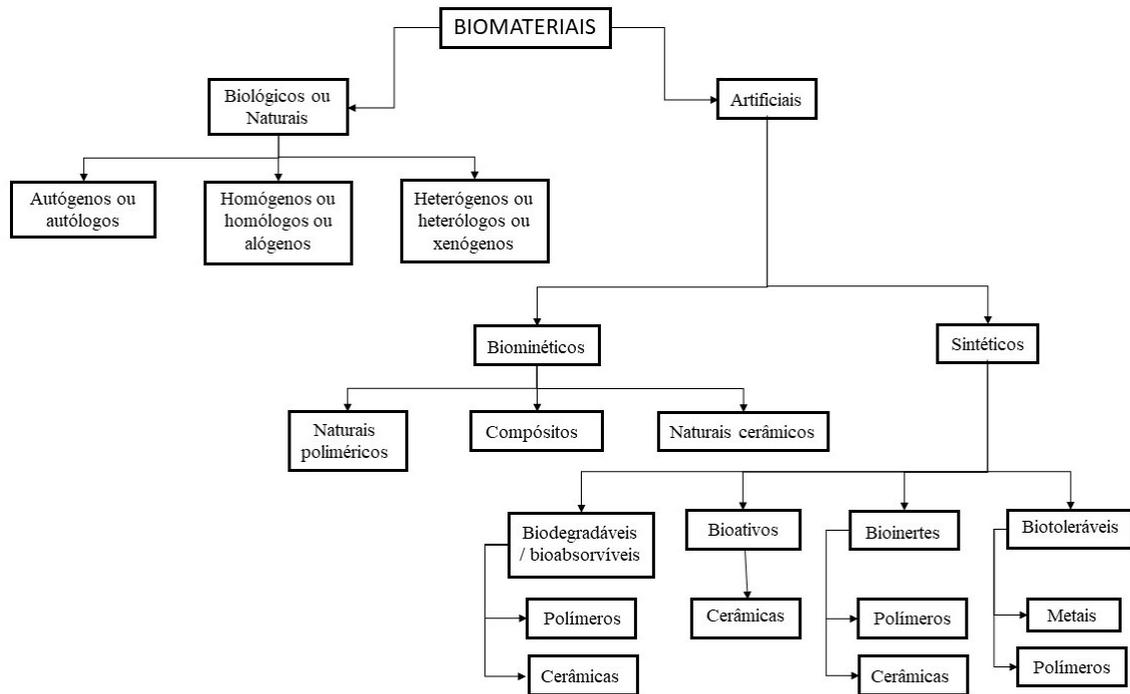
2.1 Biomateriais

A primeira definição do termo Biomaterial foi de Willians em 1986 como um material inviável utilizado em um dispositivo médico, destinado a interagir com sistemas biológicos; essa definição acontece pelo fato de que naquela época esse tipo de material ser amplamente utilizado em dispositivos médicos utilizados para tratar, aumentar ou substituir quaisquer tecidos, órgãos ou funcionalidades do corpo sem causar reações adversas aos tecidos vivos (WILLIAMS, 1987). Essa primeira definição teve logo que passar por uma redefinição muito pelo fato do uso da palavra “inviável” e também porque os biomateriais estavam sendo utilizados amplamente na medicina de forma geral (GHASEMI-MOBARAKEH et al., 2019).

Somente na 29ª Conferência da Sociedade Europeia de Biomateriais é que a definição de biomaterial chegou à um consenso entre os pesquisadores, sendo então a nova definição: um material projetado para assumir uma forma que pode direcionar, por meio de interações com sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou diagnóstico, sendo este termo sinônimo de material biomédico (GHASEMI-MOBARAKEH et al., 2019).

Os biomateriais são classificados usualmente de acordo com sua origem, quanto ao seu mecanismo de ação e de acordo com seu comportamento fisiológico (DALAPICULA et al., 2006). Quanto à origem, os biomateriais podem ser classificados em naturais (ou biológicos) e artificiais, e por sua vez esses grandes grupos são subdivididos como mostrado na figura 2.

Figura 2 - Classificação dos biomateriais com relação à interação com o meio fisiológico.



Fonte: Adaptado de Camilo (2006).

Nesse trabalho, um destaque especial é dado aos materiais cerâmicos empregados em implantes ósseos; dentre as cerâmicas pode-se citar: alumina, zircônia, biovidros, vitrocerâmicas e os compostos de fosfatos de cálcio; dentre eles a hidroxiapatita que é matéria-prima desse trabalho. Os materiais cerâmicos são de grande aplicabilidade nos implantes pelo fato de poderem oferecer características, tais como: biocompatibilidade, dureza, resistência mecânica, além de inércia química em meio fisiológico. A aplicação dos biomateriais cerâmicos está resumida na tabela 1.

Tabela 1 - Aplicações de biomateriais cerâmicos.

Materiais utilizados	Aplicação
	Cargas ortopédicas – partes girantes de implantes
Alumina (Al_2O_3)	Revestimentos para crescimento de tecido (próteses cardiovasculares, ortopédicas, dentais e maxilofaciais)
HA, vidros bioativos e vitrocerâmicas	Revestimentos para adesão química (próteses ortopédicas, dentárias e maxilares)
Al_2O_3 , HA, vidros bioativos	Implantes dentários
Al_2O_3 , HA, composto ósseo de HA autógeno, compósito HA-PLA, vidros bioativos	Aumentos da crista alveolar
Al_2O_3 , HA, vidros bioativos e vitrocerâmicas	Aplicações otorrinolaringológicas
PLA - compósitos de fibra de carbono	Ligamentos e tendões artificiais
Fosfato trissódico, sais de cálcio e fosfato HA, compósitos HA-PLA,	Preenchimentos temporários de espaço ósseo
fosfato trissódico, sais de cálcio e fosfato, cerâmica de vidros bioativos	Dispositivos de acesso percutâneo
Al_2O_3 , HA, compósitos HA-poliácido láctico (PLA), cerâmica de vidros bioativos	Reconstrução maxilofacial
Cerâmica de vidros bioativos	Dispositivos de acesso percutâneo
PLA – Fibras de carbono	Dispositivos de fixação ortopédica
PLA- Fibras vítreas de base Cálcio/Fósforo	
Zircônia (ZrO_2)	Cabeças femurais

Fonte: elaborada pelo autor

2.2 Biocerâmicas

A tentativa do homem em recuperar o corpo humano com o uso de materiais de implantes remonta desde os primeiros escritos médicos nas civilizações hindu, egípcia e grega, contudo a primeira citação da utilização de biomaterial ocorre no final do século 19 na aplicação de enxertos heterogêneos (HULBERT et al., 1982); por outro lado a utilização das biocerâmicas como um substituto para a engenharia de tecidos duros ocorre desde 1960, com uma maior intensidade a partir da década de 70 como substituinte de alguns biomateriais como aços, ligas de cobalto e polimetilmetacrilato, que apresentavam problemas de encapsulamento junto ao

tecido granulomatoso, além de as biocerâmicas apresentarem uma elevada estabilidade química, maior biocompatibilidade (KOKUBO et al., 2004; KUMAR; DEHIYA; SINDHU, 2018).

A evolução cronológica na pesquisa de cerâmicas como substitutos ósseos e atualmente as biocerâmicas são utilizadas em diferentes aplicações por todo o corpo, além das aplicações na área da medicina, as biocerâmicas são também utilizadas em eletrônica, óptica e energia (KUMAR et al., 2019; VALLET-REGÍ; HERNÁNDEZ, 2011). As biocerâmicas foram classificadas com base na origem, resposta do tecido, composição e cristalinidade. O resumo desta classificação está na tabela 2.

Tabela 2 – Classificação das biocerâmicas.

Origem	Natural	Sílica biogênica Conchas de moluscos Pérolas naturais Dentes Ossos
	Sintético	Materiais a base de fosfato de cálcio HA Biovidro
Tipo de resposta do tecido	Bioativo	Materiais a base de fosfato de cálcio HA Biovidro
	Bioinerte	Al_2O_3 Carbono vítreo
Composição	À base de alumínio	Al_2O_3 Aluminossilicatos
	À base de zircônio	ZrO_2 ZrO_2 cúbica ZrO_2 tetragonal
	À base de carbono	Grafite Grafite vítreo
	À base de fosfato de cálcio	Fosfato de cálcio amorfo Fosfato β -tricálcico Fosfato de cálcio bifásico HA Fluorapatita
	À base de sílica	Silicato tricálcico
Cristalinidade	Cristalino	Aluminossilicatos HA

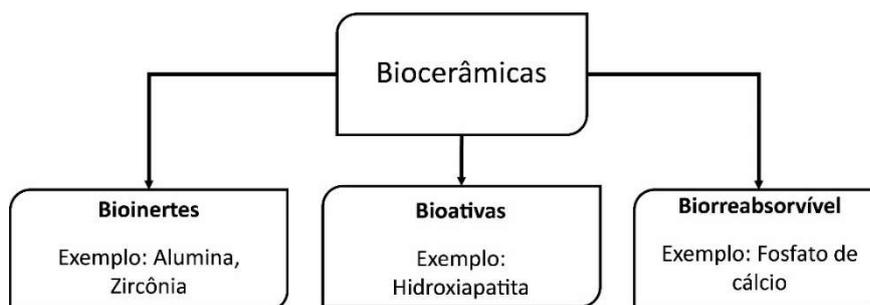
	Flourapatita ZrO ₂
Amorfos	Fosfato de cálcio amorfo Biovidro

Fonte: Adaptado de Gul et al. (2020).

No século XVIII a porcelana foi o primeiro material biocerâmico que teve sua aplicação em tratamentos de coroas dentárias, já no século XIX, o gesso passou a ser consumido para o tratamento de distúrbios dentais. No século XX ocorreu um considerável aumento da aplicação de biocerâmicas na área médica em função da biocompatibilidade, degradação moderada, alta resistência mecânica, baixa condutância de calor, altas temperaturas de fusão e difícil cisalhamento plástico (CHEVALIER; GREMILLARD, 2009).

O sucesso dos materiais biocerâmicos depende grandemente de sua biofuncionalidade e também biocompatibilidade; sendo a biocompatibilidade a capacidade do material em interagir de maneira adequada com o sistema biológico em que é inserido, não provocando danos ou rejeição de tal forma à atingir a resposta particular ao longo do implante, por exemplo; e o sucesso de qualquer implante está associado a dois fatores que são a resposta do tecido ao implante e ao comportamento dos materiais após a realização da implantação. Após implantado, a formação de apatita na superfície da biocerâmica realiza a união das massas entre o tecido corporal e os implantes. Uma outra classificação das biocerâmicas limita em apenas três subclasses (mostradas na figura 3): cerâmicas praticamente bioinertes, bioativas e bioabsorvíveis com diferentes vantagens e desvantagens, conforme mostrado na tabela 3 (Pawan Kumar; Brijnandan S Dehiya; Anil Sindhu, 2018).

Figura 3 - Fluxograma das classes de biocerâmicas limitado à três subclasses.



Fonte: Adaptado de Kumar; Dehiya; Sindhu (2018).

Tabela 3 - Diferentes propriedades de materiais biocerâmicos com vantagens e desvantagens.

Biocerâmicas	Implantes artificiais	Aplicação	Vantagens	Desvantagens
Alumina	Joelho, quadril, ombro, cotovelo, pulso	Reconstrução da parte fraturada	Alta dureza e baixo atrito	Baixa resistência em tensão
Zircônia	Quadril, dentes	Reconstrução da parte fraturada	Resistente à corrosão, duro, menos atrito	Problemas de atrito, alto custo
Biovidros	Fusão espinhal	Proteção da medula espinhal		Frágil
Hidroxiapatita	Dentes, ossos	Substituição de dentes e ossos danificados		Às vezes frágil

Fonte: Adaptado de Davis (2003); Kumar; Dehiya; Sindhu (2018); Thamaraiselvi; Rajeswari (2004).

2.3 Biocerâmicas de fosfato de cálcio

A utilização dos fosfatos de cálcio às aplicações de implantes dá-se ao fato desse material apresentar grande similaridade à parte mineral dos ossos e dentes, com isso esse material participa ativamente do equilíbrio iônico entre o fluido biológico e a cerâmica, não apresentando toxicidade local ou sistêmica, nem reação inflamatória ao implante (KAWACHI et al., 2000; LEGEROS; LEGEROS, 2008; VALLET-REGÍ; HERNÁNDEZ, 2011).

Os fosfatos de cálcio fornecem integridade estrutural ao implante mantendo-o no local de forma intacta até que um novo osso possa crescer na região, mas além disso os fosfatos de cálcio estimulam o crescimento ósseo e em alguns casos são solúveis permitindo a reabsorção pelo organismo e com isso permitindo que o novo osso substitua o implante (LEGEROS; LEGEROS, 2008). As primeiras citações do uso dos fosfatos de cálcio com a finalidade de implante datam de 1920 (ALBEE, 1920) com aplicações em coelhos, depois de cerca de 50 anos esse material passou a ser utilizado na odontologia para os defeitos periodontais e substituição de raízes dentárias (DENISSEN; GROOT, 1979; BERRY, 1967).

Contudo, a utilização dos fosfatos de cálcio é limitada em função de apresentarem normalmente baixa resistência mecânica, que pode ser causada em função das variações dos fosfatos de cálcio, por exemplo em função de micro porosidades, impurezas, temperatura de

sinterização, metodologia de compactação, e tamanhos de partículas podem influenciar diretamente na diminuição da resistência mecânica (DOROZHKIN, 2010), mas não somente isso, a relação Ca/P também tem influência na resistência mecânica, na qual o valor máximo é alcançado para a hidroxiapatita estequiométrica (Ca/P = 1,67) (SUCHANEK et al., 1997).

Apesar das limitações das propriedades mecânicas, as aplicações clínicas dos fosfatos de cálcio apresentam diversas vantagens, como por exemplo a bioatividade, a osteointegração, a osteocondução, e ainda por serem reabsorvíveis (ELTOM et al., 2019; LEVENTOURI, 2006; MICULESCU et al., 2018; MONDAL et al., 2016; SZCZES et al., 2017; VIJAYAVENKATARAMAN et al., 2018). Nenhum implante é totalmente inerte (apresentam e/ou induzem a alguma resposta fisiológica), seja pela formação de uma capa fibrosa envoltória ou participando ativamente nos processos fisiológicos (GINEBRA et al., 2006), e as respostas dos organismos ao implantes de fosfato de cálcio dependem da composição e estrutura; por exemplo, um implante de HA densa é considerado inerte, pois permanece intacto por, aproximadamente, um período de cinco a sete anos, dependendo do local e solicitações sofridas pelo implante; por outro lado um implante poroso de mesma composição seria absorvido pelo organismo em um período de, no máximo, um ano (CARDOSO, 2010).

2.3.1 Classificação e estrutura cristalina dos fosfatos de cálcio

Os fosfatos de cálcio podem ser classificados em três grandes grupos como apresentado a seguir:

- Apatitas ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{X}_2$) – que incluem derivados da HA ($\text{X}=\text{OH}^-$), da flourapatita ($\text{X}=\text{F}^-$), os relacionados como fosfato octacálcio ($\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e o fosfato tetracálcio ($\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$);
- Glaseritas – todos os polimorfos dos fosfatos tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$);
- Ca- PO_4 – brushita ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), monetita (CaHPO_4) e o fosfato monocálcico ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (Mathew, 2001).

Estruturas cristalinas das apatitas apresentam uma maior estabilidade térmica, com fórmula geral do tipo $\text{M}_{10}(\text{XO}_4)_6\text{Y}_2$, que permite uma infinidade de combinações, alterações e

substituições em seu reticulado e será objeto de estudo nesse trabalho, apresentando como destaque as estruturas cristalinas das apatitas em especial a HA, mais bem na seção 2.4.

Outro destaque é dado às glaseritas ou fosfato de tricálcio que apresentam quatro formas estáveis associadas a intervalos de temperatura, sendo: α -TCP estável entre 1120°C e 1470°C; α' -TCP estável apenas acima de 1470°C; β -TCP estável abaixo de 1120°C e β' -TCP estável apenas em elevadas pressões (NURSE; WELCH; GUTT, 1956; WELCH, 1959).

Objeto de interesse nesse estudo, o α -TCP tem estrutura cristalina na forma monoclinica (P21/a, com $a=12,887(2)\text{\AA}$, $b=27,280(4)\text{\AA}$ e $c=15,219(2)\text{\AA}$, $\beta=126,20^\circ$ e $Z=34$), o arranjo dessa estrutura é também denominado pseudo hexagonal, por possuir colunas distorcidas de cátions e ânions em sua linearidade (MATHEW et al., 1977); enquanto o β -TCP tem estrutura romboédrica (R3c com $a=10,439(1)\text{\AA}$, $c=37,37\text{\AA}$ e $Z=21$) (DICKENS et al., 1974). A principal diferença estrutural entre o α -TCP e o β -TCP está no fato desse último não apresentar colunas do tipo cátion-cátion (DICKENS et al., 1974; MATHEW, 2001).

2.3.2 Fosfato tricálcico

O fosfato tricálcico mais conhecido e de fácil obtenção é o β -TCP, que possui propriedades semelhantes às calcificações encontradas em cálculos patológicos (LEGEROS; LEGEROS, 2008); destaca-se que o β -TCP comumente apresenta substituição de cátions de Ca por Mg. A presença do elemento Mg proporciona melhorias nas propriedades mecânicas do β -TCP, além de um aumento na transformação da fase $\beta \rightarrow \alpha$ nos fosfatos tricálcicos (temperaturas acima de 1400°C); por outro lado, quando se deseja a formação do α -TCP, a presença do Mg dificulta a síntese desse elemento formando quase sempre uma mistura das fases $\beta+\alpha$ (DILWORTH et al., 2008; RAMOS et al., 2009).

Dentre as muitas formas de obtenção dos fosfatos tricálcicos, o método mais simples e econômico é a reação por estado sólido partindo da utilização do carbonato de cálcio (CaCO_3) e monetita (CaHPO_4), que em função de diferentes processos e temperaturas formam as fases β e α . A utilização do β -TCP como substituto ósseo na forma de pó ou de blocos porosos remonta desde o início dos anos 2000 (JINLONG et al., 2001).

2.4 Hidroxiapatita

A hidroxiapatita e materiais derivados dela têm sido utilizados há séculos em diversos campos como por exemplo: biologia, química, geologia e medicina. O primeiro estudo para a determinação da composição do fosfato de cálcio (CaP) (tipo de HA) por análise química foi realizado por Berzelius na primeira metade do século XVIII; na sequência, Hausen sugeriu que existem diferentes fases do cristal CaP chamadas coletivamente de apatita (RAHMAN, 2020).

A hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) é considerada o modelo estrutural para a fase mineral do osso e mostra imperfeições, diferenciando-se da HA (que não apresenta o grupo hidroxila) encontrada nos minerais das rochas. Os íons da superfície do cristal são hidratados, o que gera uma camada de água e íons denominada capa de hidratação, facilitando a troca de íons entre o cristal e o líquido intersticial.

O grupo hidroxila (OH) pode ser substituído por fluoreto, cloreto ou carbonato para formar HA substituído por cloroapatita, fluoroapatita e carbonato. Além disso, a HA é o sal CaP mais estável ao efeito do pH na faixa de 4,0 a 12 à temperatura ambiente (RAHMAN, 2020). É também o mineral mais abundante do corpo, formando os tecidos ósseos, onde a HA representa cerca de 70% e os 30% restantes de colágeno, em peso 50% (GHASSEMI et al., 2018). É a HA que confere rigidez aos dentes e ossos. A HA tem sido amplamente estudada na engenharia de tecidos ósseos, cartilagens e tecidos dentários, devido às suas propriedades biomiméticas. É um composto de enorme consideração em produtos farmacêuticos, catálise e materiais biocompatíveis. Além da sua biocompatibilidade, a HA tem excelentes desempenhos biológico, além de propriedades mecânicas como características vantajosas para utilização na ortopedia e odontologia (WANG et al., 2019).

2.5 Estrutura cristalina da hidroxiapatita

Entende-se por estrutura cristalina o arranjo de um conjunto de átomos periodicamente distribuídos no espaço formando assim uma rede. Uma célula unitária pode ser descrita através de um total de três vetores não coplanares, uma vez que a célula unitária é o paralelogramo gerado pela propagação (translação) em uma, duas ou três dimensões independentemente. Sendo assim, tais vetores denominados **a**, **b** e **c** coincidem com as arestas da célula unitária, as

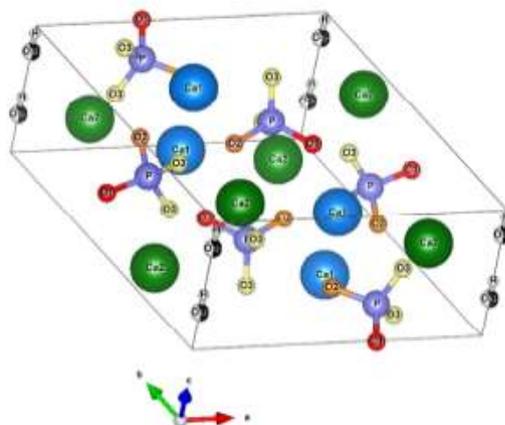
quais, além dessas distâncias, são definidas por mais três parâmetros, que são os ângulos contidos entre esses vetores, denominados: α , β e γ (PECHARSKY, 2008).

A descrição completa da estrutura cristalina não é determinada somente pela geometria da célula unitária, mas também pela distribuição dos átomos na estrutura. O conteúdo da célula unitária pode ser estabelecido pela sua unidade assimétrica, utilizando uma combinação de diversos operadores de simetria que estão presentes na célula unitária, tais como: rotação, inversão, reflexão, deslizamento, eixo de inversão, eixo helicoidal e eixo giróide (PECHARSKY, 2008).

A estrutura da hidroxiapatita foi publicada quase simultaneamente por Naray-Szabo, (1930) e Mehmel, (1930) em 1930. Possui uma estrutura hexagonal com um grupo espacial P63/m e dimensões celulares $a = b = 9,42\text{Å}$, $c = 6,88\text{Å}$, onde P63/m se refere a um grupo espacial com um eixo de simetria seis vezes maior com uma hélice tríplice e um plano espelhado, possui uma relação Ca/P estequiométrica exata de 1,67 (El YACOUBI et al., 2017); sendo essa uma das biocerâmicas mais importantes utilizadas em aplicações odontológicas e cirurgias ortopédicas.

A composição química da HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, é como o componente mineral do tecido ósseo, embora existam diferenças cristalino-químicas e microestruturais importantes, dependendo do método de síntese. Os íons OH e quatro íons Ca^{2+} nos sítios Ca(1) estão ao longo de colunas paralelas ao eixo c. O OH está localizado ao longo do eixo c e a direção da ligação O-H é paralela a ele, sem ultrapassar os planos do espelho em $z = 1/4$ e $3/4$. Os seis íons Ca^{2+} restantes, posicionados nos locais Ca(2), estão associados aos dois grupos OH⁻ na célula unitária, onde formam triângulos perpendiculares ao OH⁻. Os tetraedros de fosfato formam a unidade estrutural básica restante da HA, como pode ser verificado na figura 4. O comportamento bioativo da HA estequiométrica pode ser melhorado com a introdução de substituições nos sublátidos catiônicos e aniônicos. Os cátions podem exibir o mesmo estado de oxidação que Ca^{2+} , como estrôncio (Sr^{2+}), Pb^{2+} , magnésio (Mg^{2+}) etc, e ânions com o mesmo estado de oxidação que o grupo hidroxila (OH⁻), como fluoreto (F⁻) ou cloreto (Cl⁻). As substituições iônicas com diferentes estados de oxidação também são muito comuns e desempenham um papel importante nas propriedades químicas, estruturais e microestruturais. No caso da HA carbonatada do tipo B, cátions de valência única (Na^+ ou K^+) são frequentemente incorporados nas posições Ca^{2+} para manter o equilíbrio elétrico (ARCOS; VALLET-REGÍ, 2020).

Figura 4 - Célula hexagonal da unidade HA no grupo espacial P63/m. Azul: Ca(1), verde: Ca(2), lilás: P, vermelho: O1, laranja: O2, amarelo: O3, preto e branco: (OH).



Fonte: CAMARGO et al. (2018).

2.6 Difractometria de Raios-X

O principal método usado no estudo dos sólidos de Bravais é a difratometria de raios X (XRD), uma técnica não destrutiva para analisar estruturas que exibem algum grau de regularidade ou cristalinidade. Estruturas cristalinas, como a hexagonal da HA, são formadas de diversas células unitárias. Devido à periodicidade das células unitárias, há repetidos planos compostos de átomos com diferentes espaços interplanares, cuja densidade eletrônica causa o espalhamento dos raios X (KOHLI et al., 2002; ZHENG et al., 2004; ZHENG et al., 2003).

Os picos de Bragg vistos na difração de raios X contêm informações sobre estruturas de cristal em escala atômica, incluindo a orientação da estrutura cristalina. A XRD permite reunir informações sobre a presença e concentração de diferentes materiais, bem como sua morfologia nas micro e nanoescalas. Esses fatos tornaram a XRD a técnica incontestável para resolver estruturas cristalinas e determinar como os materiais respondem a vários estímulos externos em condições *in situ*. A XRD não é destrutiva, diferente de outras técnicas relevantes, como a microscopia eletrônica de transmissão (TEM) ou a microscopia eletrônica de varredura (SEM), que exigem o corte destrutivo da amostra. Amostras fósseis foram previamente estudadas com XRD, porém limitadas à difração de pó, o que não permite obter informações espacialmente resolvidas sobre a concentração mineral nem a orientação dos cristalitos (MÜRER et al., 2018).

A reconstrução tomográfica por difração ou raios-X espalhados tem sido cada vez mais utilizada para estudar e materiais inorgânicos. O contraste na maioria dos conjuntos de dados de tomografia computadorizada (TC) depende de diferenças na absorção de raios-X (MARIE; WITHERS, 2014). Além de serem absorvidos, os raios X também são refratados nas amostras, e as diferenças no índice de refração de raios X podem ser a entrada para a TC (PFEIFFER et al., 2013). Essas reconstruções de contraste de fase são úteis para diferenciar tipos de tecidos moles ou materiais com características de absorção muito semelhantes. No caso de difração, o uso da intensidade de diferentes picos de *hkl* permite que a distribuição espacial das fases cristalográficas seja determinada de forma não invasiva no interior de uma amostra (FRØLICH et al., 2016).

As mais diversas aplicações da HA de fontes biológicas (humana, bovina e suína), em especial à engenharia de tecidos, associadas ao crescente interesse por nanomateriais tem despertado grande desenvolvimento de estudos. A estrutura desses materiais biogênicos foi estudada por difração de raios X, contudo ainda existe um problema na interpretação de seus padrões em relação à forma e largura da hidroxiapatita biogênica bruta e incinerada que é comumente usada em aplicações clínicas. Essa má interpretação pode limitar seus usos potenciais. Está bem estabelecido que as fontes biogênicas acima mencionadas são formadas por nanocristais de HA que contêm elementos menores como Mg, Na, S e K. Mesmo com a presença desses íons, os padrões de XRD da fase mineral óssea bruta quase exibem as mesmas posições que as da hidroxiapatita sintética. Porém, os picos das hidroxiapatitas biogênicas são menos nítidos e amplos, o que é atribuído ao pequeno tamanho dos cristais (LONDOÑO-RESTREPO et al., 2019).

2.7 Aplicações da hidroxiapatita

Durante décadas, a pesquisa em biomateriais se concentrou na síntese das biocerâmicas para aplicação em ortopedia e odontologia. Os resultados indicam que elas possuem afinidade biológica e atividade relacionada aos tecidos hospedeiros circundantes quando implantados. (ESLAMI et al., 2018).

A aplicação da HA abrange todas as áreas do esqueleto, incluindo fusão espinhal, reconstrução craniomaxilofacial, tratamento de defeito ósseo, tratamento de fraturas, substituição total da articulação (aumento ósseo) e cirurgias de revisão (BEST et al., 2008);

devido a sua propriedade bioativa, a HA é aplicada para recobrimento de implantes metálicos permitindo uma ligação direta do osso com o implante. Além da área médica, a HA é muito utilizada na área odontológica como enxerto ósseo em casos de perda óssea, já que possibilita o crescimento de um novo tecido ósseo, e também para correções e ganho de volume com finalidade estética.

O desenvolvimento das várias áreas de utilização da HA em um período relativamente curto proporcionou o surgimento de diversas técnicas de deposição em implantes, como *ion sputtering*, plasma spray, sol-gel, eletrolítico, biomimético, entre outras. Investigações recentes dos métodos de preparação de HA para várias aplicações biomédicas, ou seja, como preenchimentos ósseos e *scaffolds* de engenharia de tecidos, reparação de revestimento de implantes e sistemas de administração de medicamentos (SZCZES et al., 2017). Essa vasta aplicação da HA proporcionou a comercialização na forma de grânulos, blocos porosos e cilindros porosos.

A HA de alta pureza tem sido amplamente investigada por cirurgiões e engenheiros para uso no reparo de tecidos duros. A HA não é apenas altamente biocompatível, mas também não-tóxico e osteocondutor. Estudando os processos de ligação da HA e do osso, JARCHO et al. (1976) descobriram que, por crescimento epitaxial, a HA formou uma forte ligação química com o tecido ósseo, conhecida como osseointegração. Em aplicações clínicas, o objetivo principal é que a HA implantada se funda gradualmente com o osso natural, para isso é necessária integração e reticulação na interface entre o implante e o osso natural e os *scaffolds* de HA têm a boa porosidade necessária para isso. Recentemente, muita atenção tem sido dada à pesquisa e desenvolvimento de cerâmicas porosas de HA, que são determinadas fundamentalmente pelas características do tecido ósseo (WEN et al., 2017).

2.8 Tecido ósseo

O tecido ósseo é uma estrutura rígida que tem por função: promover a estabilidade estrutural ao corpo; proteger órgãos vitais; proporcionar apoio aos músculos esqueléticos; regular o armazenamento de minerais e o pH do sangue. O tecido ósseo participa de forma ativa na geração de células sanguíneas e mantém a homeostase (FAROKHI et al., 2016).

O tecido ósseo é composto por duas fases: inorgânica (mineral) e orgânica. A fase orgânica é composta majoritariamente por uma proteína denominada colágeno (90 a 95%) e o

restante por proteínas não colagênicas (osteocalcina, osteonectina, osteopontina, hialuronano, sialoproteína óssea e proteoglicanos) (BHATTACHARJEE et al., 2017).

A fase inorgânica é composta por íons de Ca^{2+} e $(\text{PO}_4)^{3-}$ formando então os cristais de HA ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), os quais têm a capacidade de fazer substituições dos íons na estrutura cristalina, armazenando ou liberando-os de maneira controlada de forma a manter a concentração desses importantes íons nos líquidos corporais (KAWACHI et al., 2000). Com essas possíveis substituições, podem fazer parte da composição da matriz óssea outros íons como: magnésio (Mg^{2+}), potássio (K^+), sódio (Na^+), estrôncio (Sr^{2+}), hidrogenofosfato ($(\text{HPO}_4)^{2-}$), bicarbonato ($(\text{HCO}_3)^-$), cloreto (Cl^-), fluoreto (F^-), carbonato (CO_3^{2-}) além do citrato ($(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)^{3-}$). As alterações nos ossos podem acontecer rapidamente (dias), devido à saída ou absorção de sais minerais, ou lentamente (meses ou anos), devido à ação dos osteoclastos. Na ocorrência de uma eventual descalcificação, o osso mantém sua forma original, contudo torna-se extremamente flexível, enquanto a retirada do colágeno o torna extremamente frágil. As nanopartículas de HA nas fibras de colágeno atuam como agentes de reforço ao regular positivamente a síntese de fosfatase alcalina nos ossos, conferindo ao osso sua notável força (SWETHA et al., 2010) e o tamanho nanométrico da HA é crítico para a proliferação favorável de células ósseas na matriz óssea (VENUGOPAL et al., 2010).

Os ossos também têm a função de ser reservatório de cálcio (Ca), fosfato e outros íons; a HA de origem biológica, a proporção de cálcio para fósforo (P) é de 1,67 (Du et al., 2009), relação esta que precisa ser transcrita na HA fabricada artificialmente para alcançar a resposta biológica adequada, solubilidade e mecanossensibilidade.

Os cristais de hidroxiapatita estão alocados ao longo do comprimento das fibras de colágeno, de modo que cerca de 2/3 da massa do osso ou 50% do volume são hidroxiapatita (VALLET-REGÍ; GONZÁLEZ-CALBET, 2004).

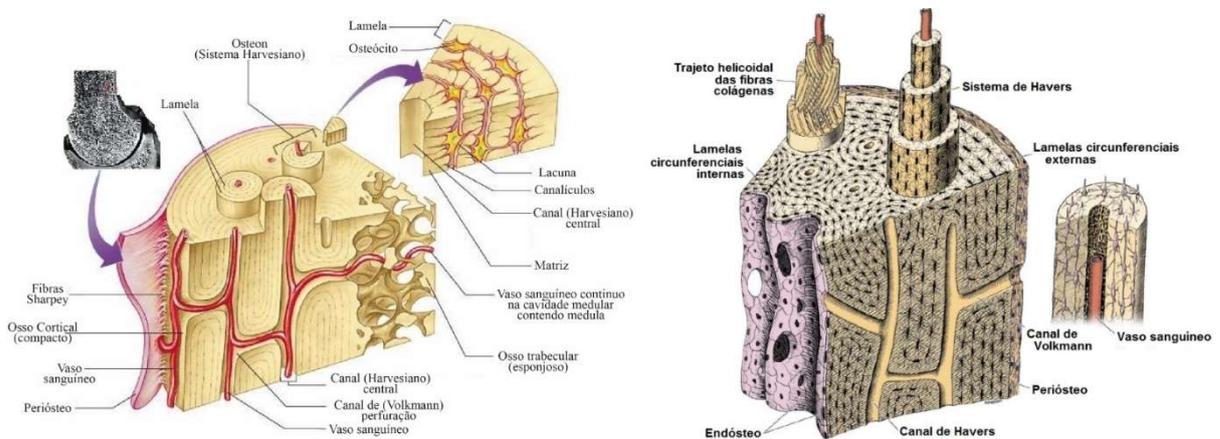
A estrutura óssea está dividida em duas categorias: cortical e trabecular. O osso cortical é um osso compacto com vasos sanguíneos e osteócitos; enquanto o osso trabecular contém poros de tamanhos variáveis preenchidos com medula óssea ou gordura.

Os osteócitos estão presentes nos espaços compactados dos sistemas haversianos (osteônios) do osso cortical, chamados lacunas. Enquanto o empacotamento apertado do sistema haversiano dá a impressão de uma massa sólida; os canais haversianos possuem vasos sanguíneos que correm paralelos ao longo eixo do osso.

Os vasos sanguíneos se interconectam através de canais perfurantes entre si na superfície óssea. No entanto, o osso trabecular é constituído por trabéculas e cavidades contendo medula óssea vermelha; não há sistema haversiano. Em vez de um canal haversiano

central, os canais interconectam as cavidades vizinhas para receber seu suprimento sanguíneo. O arranjo das trabéculas não é aleatório sendo que sua precisa organização fornece resistência máxima à esta estrutura “granulada” (BHATTACHARJEE et al., 2017). A estrutura do tecido ósseo completa e detalhes da estrutura óssea somente da parte cortical do osso estão apresentadas na figura 5.

Figura 5 - Esquema ilustrativo da estrutura do tecido ósseo.



Fonte: Adaptada de Liu et al. (2017) e Carneiro (1995).

A função normal do osso pode ser prejudicada por muitas lesões traumáticas e alguns distúrbios patológicos, como osteoartrite, osteoporose, osteogênese imperfeita e doença de Paget. Essas falhas de funcionamento causam fraturas ósseas, deformação óssea, dor intensa que geram perda de mobilidade. Embora o osso tenha capacidade de auto-reparo, o tratamento de grandes defeitos ósseos permanece desafiador e com sucesso limitado devido à estrutura complicada do osso sendo que a solução se dá através do enxerto.

Um enxerto ósseo é um material implantado, usado isoladamente ou em combinação com outros materiais, que promove a cicatrização óssea através da osteoindução, osteocondução e osteogênese. A viabilidade do tecido, tamanho do defeito, tamanho do enxerto, forma e volume, propriedades biomecânicas, manuseio do enxerto e custo são apenas alguns dos fatores que influenciam a seleção de um enxerto ósseo ideal. Isso pode estar na forma de um autoenxerto (colhido do paciente), um aloenxerto ou xenoenxerto (obtido de um doador ou animal) ou o uso de um substituto sintético ou biomaterial modificado. Mais de dois milhões de enxertos ósseos são realizados por ano (TANG et al., 2016).

O padrão ouro de reparo ósseo de grandes defeitos é através do autoenxerto, mas o uso desse método tem muitas restrições, incluindo regiões doadoras ósseas limitadas, morbidade do local doador, necessidade da segunda cirurgia e taxas de falha de até 50% para locais específicos. Muitas novas estratégias foram desenvolvidas para superar as limitações acima mencionadas (FAROKHI et al., 2016).

2.9 Remodelamento ósseo

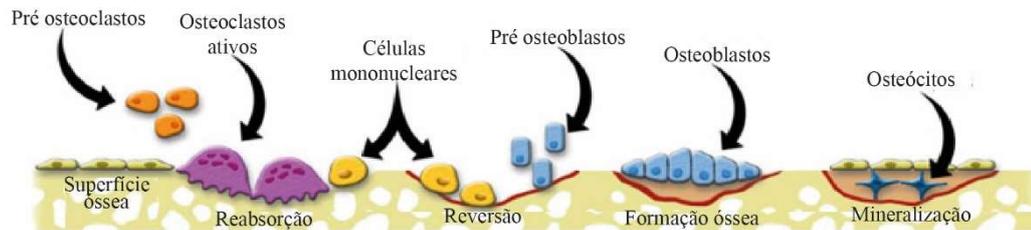
A remodelação óssea ocorre ao longo da vida e fornece a renovação óssea necessária para adaptar a estrutura e a arquitetura do tecido ósseo ao seu ambiente mecânico. Uma remodelação que seja harmoniosa é vital para manter as características biológicas e mecânicas do osso saudável (BALA et al., 2013).

Durante as atividades fisiológicas diárias, o osso é submetido constantemente a diferentes e repetitivas cargas de fadiga, que podem ser representadas por uma simples caminhada até esforços mais severos como a corrida de uma ultra maratona; quando eventualmente as cargas ultrapassam um certo nível de tensão ou estresse, danos são induzidos no tecido ósseo. A presença de tais danos causa uma redução nas propriedades mecânicas do material ósseo, como rigidez e resistência, devido à formação de microfissuras. A mesma situação de remodelamento ósseo contínuo em vários locais ao mesmo tempo se aplica aos processos de crescimento, reforço e reabsorção que ocorrem em situações diárias (GODA; GANGHOFFER, 2018).

O osso também é capaz de adaptar suas propriedades mecânicas aos diversos ambientes mecânicos e fisiológicos aos quais está sendo submetido; nesse sentido, a análise da remodelação óssea, considerando fadiga e dano ósseo é uma questão importante na biomecânica (GODA; GANGHOFFER, 2018).

No ciclo de remodelação óssea, os osteoclastos que são células de origem hematopoiética desempenham um papel crucial, esses tipos de células maduras reabsorvem os ossos e aderem firmemente à superfície óssea na zona de vedação, dissolvendo os componentes inorgânicos e orgânicos da matriz óssea e secretando prótons e enzimas. Essa fase de reabsorção inicializa a remodelação óssea e, portanto, determina as áreas ósseas que serão substituídas, como pode ser verificado na figura 6.

Figura 6 - Esquema ilustrativo do remodelamento ósseo.



Fonte: Adaptado de Kapinas; Delany (2011).

Outro aspecto importante associado ao remodelamento ósseo, e por conseguinte, à atividade osteoclástica está no fato de que uma ação prejudicada dessas células incorre em muitas doenças ósseas, como a osteoporose e a osteogênese imperfeita, sendo então, os osteoclastos alvos do desenvolvimento de novos tratamentos terapêuticos às doenças anteriormente citadas (DRAKE et al., 2015; LI et al., 2017; PIEMONTESE et al., 2017). Além da associação às doenças, a reabsorção é um parâmetro essencial na formulação de biomateriais com melhor desempenho, cuja bioabsorvibilidade deve ser controlada (DETSCH; BOCCACCINI, 2014).

O comportamento dos osteoclastos (adesão, atividade) varia de acordo com a natureza dos substratos que são classificados em sintéticos e naturais; no caso dos substratos sintéticos, a atividade osteoclástica varia de acordo com a composição, a rugosidade e o tamanho dos cristais de hidroxiapatita. Em relação aos substratos naturais, cada um tem sua própria composição e microestrutura; como por exemplo é o caso da dentina que possui uma estrutura tubular, enquanto o osso bovino é plexiforme (em forma de rede). Essas diferenças nas características e organização das microestruturas do material predis põem a serem mais ou menos reabsorvidas, sugerindo que a função intracelular dos osteoclastos é modulada pelo suporte (capacidade de adesão - eficiência enzimática) (PERNELLE et al., 2017).

2.10 Engenharia de tecidos ósseos

A engenharia de tecidos é uma combinação do uso de princípios químicos, biológicos e de engenharia com o propósito de recuperar tecidos vivos com a utilização de biomateriais, células e fatores de crescimento (KUMAR et al., 2016), de tal forma que a aplicação é

normalmente classificada em três grupos: distribuição de drogas baseada em *scaffolds* (estrutura de tecido 3D) e/ou moléculas sinalizadoras, implantação de *scaffolds* e injeção direta de células no tecido de interesse (KUMAR et al., 2017).

Dentre as oportunidades de utilização clínica da engenharia de tecidos ósseos estão: o tratamento de tecidos esqueléticos traumatizados ou doentes pelo uso deliberado de processos celulares ou biológicos; as fraturas ósseas e distúrbios causados por traumas ou doenças, como, por exemplo, tumores e osteoporose (ARCIOLA et al., 2012).

Para a garantia, sob carga, de que o implante ósseo possua estabilidade, é necessário que suas propriedades mecânicas sejam semelhantes à do osso; para as aplicações em humanos é importante que, por exemplo, a resistência à compressão desse implante seja da ordem de, aproximadamente, 170-193 MPa e 7-10 MPa para ossos corticais e esponjosos, respectivamente (CHEVALIER; GREMILLARD, 2009); além disso para que os implantes mais fracos possuam estabilidade, é comum que sejam utilizados dispositivos auxiliares metálicos como placas, parafusos, pregos ou fixadores externos de carga (KUMAR; DEHIYA; SINDHU, 2018).

2.11 *Scaffolds* e métodos de obtenção

Os *scaffolds* tem por principal objetivo mimetizar o tecido de tal forma que possa acontecer o crescimento tecidual nesse biomaterial e também tanto a adesão quanto a proliferação celular (DALAPICULA, et al., 2006; LANZA et al., 2020). Ainda para que o implante seja o mais próximo possível da realidade é necessário que o *scaffold* possua uma porosidade variável ao longo de sua extensão e, dessa forma, permitir uma variação de rigidez através da estrutura, contudo é importante ressaltar que as propriedades mecânicas associadas aos *scaffolds* dependem de outros parâmetros como, por exemplo, arquitetura dos poros, composição de fase e microestrutura (FAROOQ et al., 2012).

Portanto, um *scaffold* deve ter as seguintes características para ser aplicado na restauração de um osso danificado:

- Constituintes biocompatíveis e biorreabsorvíveis;
- Arquitetura que promova a formação da estrutura de tecido anisotrópico;
- Estrutura altamente porosa, que possibilite a fixação celular, migração, crescimento ósseo e vascularização;
- Rede de poros interconectados;
- Arquitetura porosa que pode absorver a energia de impacto;

- Implante com geometria e tamanho adequados para auxiliar na osseointegração (HENCH, 2006; KUMAR et al., 2017).

Thamaraiselvi e Rajeswari, (2004), inclusive, citam tamanhos de poros que devem ter em função da formação do tecido ósseo que é desejado, como, por exemplo, poros menores que 75 μm para tecidos fibrosos; poros na faixa de 75-100 μm para a formação de tecidos com osteóide não mineralizado e poros maiores que 200 μm facilitam o aumento do crescimento ósseo e vascularização.

Uma alternativa para o suprimento de implantes customizados e planejados é através da fabricação sintética de implantes ósseos, os denominados *scaffolds*, que podem ser: *scaffolds* porosos, *scaffolds* fibrosos, *scaffolds* de hidrogel, *scaffolds* de microesferas, *scaffolds* de compostos e *scaffolds* acelulares. Dada a importância do tipo de *scaffold* está atrelado ao fato de que desempenham um papel único no reparo e mais importante, a regeneração de tecidos, fornecendo uma plataforma adequada, permitindo o fornecimento essencial de vários fatores associados à sobrevivência, proliferação e diferenciação de células (CHAUDHARI et al., 2016). A tabela 5 demonstra as vantagens, desvantagens e perspectivas futuras relacionadas os diferentes tipos de *scaffolds*.

Tabela 4 - Biomateriais para produção de *scaffolds* 3D juntamente com seus métodos de aplicação e fabricação comuns.

Classe	Biomaterial	Aplicação	Fabricação
Cerâmicas	(HA, β -TCP, α -TCP, ZrO ₂ , TiO ₂ , biovidro poroso, silicato de cálcio, sulfato de cálcio, etc.)	Aplicação ortodôntica de substituição de tecido duro	- Binder jetting / impressão a jato de tinta - Extrusão - Estereolitografia - SLS e FDM - Gel com laser - Réplica de esponja de polímero - Lixiviação de sal - Lixiviação de fase dupla - Fundição de gel
Polímeros	Natural	Proteínas (seda, colágeno, gelatina, fibrinogênio, actina, queratina) Polissacarídeos (alginato, quitosana, celulose, dextrana, quitina, glicosaminoglicano, ácido hialurônico, agarose)	Aplicação de tecido conjuntivo e duro Tecidos/órgãos vivos descelularizados; entrega de drogas; tecido duro e mole em candidatos
		Polinucleotídeos (DNA, RNA)	Terapia de genes
	Sintético	Degradável (poliésteres, poliortoésteres, polilactonas, policarbonatos, polianidridos, polifosfazenos) Não degradável (PE, PTFE, PMMA, PAA, PU, poliéter, polissiloxanos)	Implantes de sistemas de entrega de drogas Implantes ortopédicos
Metais e ligas	(Co–Cr, Ti, Ti–6Al–4V, aço inoxidável)	Aplicação ortopédica e odontológica; audição artificial	- SLM; SLS e EBM - Metalurgia do pó - Espuma a vácuo - Solidificação direcional
Compósitos	Misturas de polímeros e cerâmicas / metais	Aplicação ortopédica e odontológica	- Fabricação de base têxtil - LOM; FDM e SLA - Método de liofilização

Fonte: Adaptado de Nikolova e Chavali (2019)

Tabela 5 - Vantagens e desvantagens dos diferentes *scaffolds* usados na engenharia de tecidos.

<i>Scaffold</i>	Vantagem	Desvantagem	Perspectivas futuras
Poroso	A alta porosidade fornece um ambiente adequado para a secreção da matriz extracelular e o fornecimento de nutrientes às células. Tamanhos de poros específicos para os tipos de células evitam o agrupamento das células, evitando assim a formação de centros necróticos.	A natureza porosa limita a distribuição homogênea das células. Diferentes tamanhos de poros são necessários para os tipos específicos de células e, portanto, consomem muito tempo	É necessária uma melhoria na conectividade dos poros e, portanto, na estrutura dos <i>scaffolds</i> .
Fibroso	A estrutura altamente microporosa é mais adequada para a adesão, proliferação e diferenciação celular. Resposta inflamatória baixa após a implantação.	A funcionalização da superfície é necessária para criar as nanofibras desses <i>scaffolds</i> .	Drogas e moléculas biológicas, como proteínas, podem ser incorporados em <i>scaffolds</i> fibrosos para aplicações de liberação.
Hidrogel	Altamente biocompatível e com taxa de biodegradação controlada.	Resistência mecânica limitada devido a estruturas moles.	O comportamento de degradação dos hidrogéis e a durabilidade devem ser bem definidos. Hidrogéis que incorporam fatores de crescimento para facilitar a diferenciação celular
Microesferas	Facilmente fabricado com características físicas controladas adequadas para administração lenta ou rápida de medicamentos. Fornece propriedades aprimoradas de migração e fixação de células.	Os métodos de sinterização de microesferas às vezes não são compatíveis com as células e reduzem a viabilidade celular.	Esses <i>scaffolds</i> podem ser usados como um veículo de entrega específico para os medicamentos, como antibióticos, anticâncer, etc.
Compostos	Altamente biodegradável e oferece resistência mecânica. Maior capacidade de absorção.	Subprodutos ácidos são gerados após a degradação. Má afinidade celular.	Compósitos nanocerâmicos e poliméricos com degradação mais rápida estão sendo desenvolvidos.
Acelulares	A secreção da matriz extracelular nativa é retida e, portanto, as características anatômicas normais são mantidas. Menor resposta inflamatória e imunológica com maior resistência mecânica.	A descelularização incompleta é necessária para evitar respostas imunológicas.	Esses <i>scaffolds</i> prometem desenvolver órgãos artificiais.

Fonte: Adaptado de Chaudhari et al., (2016).

A fabricação de *scaffolds* desenhados para situações específicas não é simples e dentre as alternativas a manufatura aditiva tem se apresentado como uma boa alternativa para processo de fabricação dos *scaffolds*, em função da possibilidade de produção de modelos e protótipos que conseguem atender às diversas características de um *scaffold*. Baseada na norma ASTM F2792-12a (ISO/ASTM 512900:2015, 2015), a MA está dividida em sete categorias que são elas: fotopolimerização em cuba, laminação de folha, jato aglutinante, jato de material, extrusão de material, deposição de energia direta e fusão em leito de pó. Dependendo das aplicações, várias tecnologias de manufatura aditiva estão disponíveis e cada técnica tem vantagens específicas; nesse trabalho o processo de fabricação através de fotopolimerização em cuba que será utilizado para a fabricação de protótipos e peças e será discutido mais adiante (DE AZA et al., 2007; HENCH, 1991; BLACK, 2000), em associação a fotopolimerização em cuba um dos parâmetros de fabricação dos *scaffolds* é a espessura de camada onde é possível a obtenção de camadas com 100 μm (KUMAR; DEHIYA; SINDHU, 2018).

A seleção da técnica de produção dos *scaffolds* depende dos requisitos específicos, material e da limitação da máquina; cada biomaterial possui diferentes propriedades químicas, físicas e mecânicas, além da capacidade de processamento e controle das formas geométricas, na tabela 4 é apresentado um resumo a partir das classes de biomateriais já explanadas anteriormente, em conjunto com os métodos de produção e aplicação dos *scaffolds* (NIKOLOVA; CHAVALI, 2019).

2.12 Tomografia computadorizada e micro tomografia computadorizada

Outro aspecto relevante na fabricação de *scaffolds* se refere à aquisição de imagem ou padrão estrutural e, neste sentido, a fonte natural para o mimetismo é sempre uma alternativa altamente elencável. As técnicas de ressonância magnética (RM) e também da tomografia computadorizada (TC) através do diagnóstico radiológico fornecem imagens médicas precisas e não invasiva, sendo que as informações contidas em uma imagem tridimensional de alta resolução pode ser obtida no momento de uma única pausa na respiração (RENGIER et al., 2010).

As técnicas de RM e TC têm auxiliado e permitido que ocorram planejamentos pré-operatórios mais precisos nas mais diversas modalidades clínicas, desde cirurgias plásticas até reconstrutivas e, conseqüentemente, reduzindo o comprimento operatório; por outro lado a

interpretação dos dados de varredura de uma TC exibidos na tela de um computador (2D) e correlaciona-los com situações operatórias causa relativa dificuldade; nesse sentido a introdução da MA associada à bioimpressão tem se mostrado de grande utilidade (CHAE et al., 2015; DAWOOD et al., 2015; RENGIER et al., 2010).

A primeira técnica de MA adaptada à aplicação médica foi a estereolitografia, sendo constatado que os biomodelos obtidos a partir de TC permitem um feedback excelente, por ser capaz de representar detalhes anatômicos com precisão, permitindo que forneçam informações espaciais superiores do que uma visualização 3D na tela do computador. O mapeamento oriundo de varreduras de TC mapeiam com precisão a anatomia óssea e vascular e são considerados um “padrão ouro” em MA aplicados à medicina (CHAE et al., 2015; RENGIER et al., 2010).

Embora os biomodelos impressos a partir de TC tenham sido utilizados para o planejamento cirúrgico, odontologia e até mesmo em educação anatômica, algumas limitações acabam ocorrendo em função da aquisição da imagem que, por sua vez, impossibilita uma ideal reprodução do modelo impresso. Para sanar esse problema, uma nova modalidade tem sido aplicada na obtenção de imagens, que é denominada micro-CT (μ -CT), que fornece a obtenção de dados de alta resolução (400–600 μ m), com espessuras de corte menores que 1 μ m. (RENGIER et al., 2010; SHELMERDINE et al., 2018). A melhora na obtenção de dados permite que sejam impressos de forma adequada trabeculações ósseas, canais vasculares e relações específicas do tipo de célula em estudo (SHELMERDINE et al., 2018; TESAŘOVÁ et al., 2016).

2.13 Manufatura aditiva

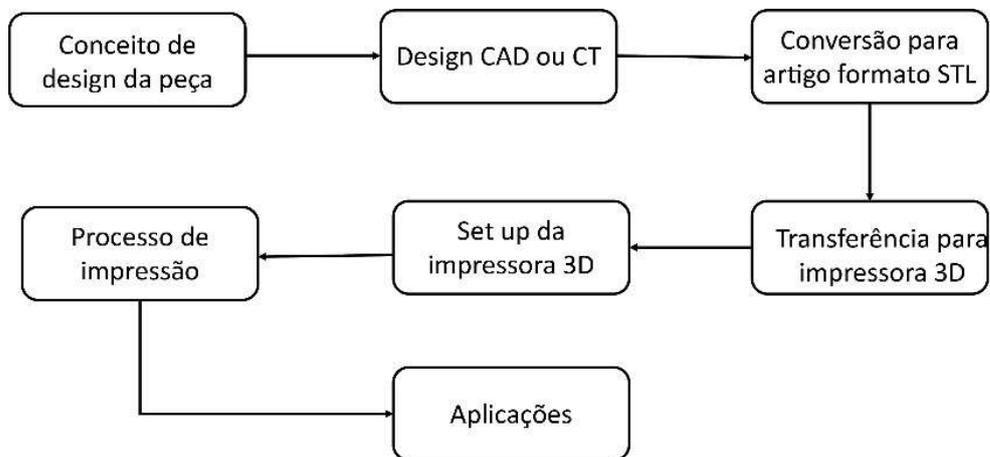
As primeiras menções à manufatura em camadas datam da década de 1860, principalmente na forma de patentes e nos desenvolvimentos tecnológicos relacionados a: fotoescultura, topografia e deposição de materiais. As tecnologias relativas à manufatura aditiva datadas até 1984 não tiveram forte comercialização muito em função da interface com computadores que exigiam o conhecimento de linguagens de programação ainda não tão disponíveis na época, como por exemplo, o caso dos computadores da *International Business Machines Corporation*, EUA (IBM); a partir da introdução dos computadores pessoais, como

por exemplo o *Apple Macintosh* (PC), que possuía uma interface gráfica simples e também intuitiva, a aplicação de manufatura aditiva teve um primeiro impulso. (TUFAIL et al., 2020).

Ao longo dos anos o termo prototipagem rápida (PR) foi diretamente associado à MA; sendo que a PR é aplicada a uma variedade de indústrias para descrever um processo para criar rapidamente uma representação de um sistema ou parte, antes da liberação ou comercialização final, ou seja, criação de algo rapidamente, cuja saída seja um protótipo ou modelo básico; entretanto, os usuários da tecnologia de PR verificaram que a aplicação desse termo é inadequado para os casos em que a produção está muito mais próxima do produto final, está também associado à utilização errada do termo PR o fato de ignorar o princípio básico da MA desenvolver peças a partir de uma abordagem aditiva do material (GIBSON et al., 2015).

Um Comitê Técnico formado por membros da *ASTM International* concordou que nova terminologia deveria ser adotada (GIBSON et al., 2015) e então, segundo a ISO/ASTM, MA é o processo de adição de material para fazer peças a partir de dados de um modelo 3D, usualmente camada após camada (ISO/ASTM 512900:2015, 2015). As etapas que envolvem o desenvolvimento de produtos fazendo uso da MA estão representadas na figura 7.

Figura 7 – Fluxograma para impressão em AM.



Fonte: Adaptado de Gu et al. (2016)

Dentre as principais vantagens da MA estão:

- Habilidade de fabricar peças complexas;
- Liberdade de projeto;
- Possibilidade de personalização em massa;

- Minimização de resíduos.

E os desafios para MA são:

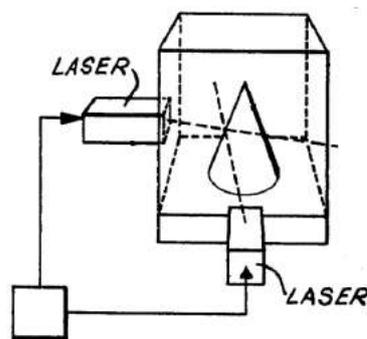
- Formação de vazios,
- Comportamento anisotrópico (relacionado à dependência da construção de camadas);
- Qualidade superficial;
- Aparência das camadas na peça final (KELLY et al., 2019; NGO et al., 2018).

Em 1993 a MA apresentou uma evolução notável ao ser apresentado o emprego da técnica nos biomateriais e na engenharia de tecidos, quando foram então exploradas as capacidades da MA como meio de reparar defeitos nos tecidos e órgãos danificados; essa técnica consistia em criar estruturas 3D reabsorvíveis conhecidas como *scaffolds* (MILAZZO et al., 2019).

2.13.1 História da manufatura aditiva

O primeiro registro de manufatura aditiva provém dos anos 1970, quando em 1971 Swainson registrou a primeira patente de um sistema no qual a intersecção de dois feixes de irradiação proporcionava a mudança de fase de um material para a construção de um objeto 3D, com a limitação da fotopolimerização também acontecer ao longo da região pela qual o feixe de laser atravessava (Figura 8); como consequência, não foram obtidos bons resultados (BÁRTOLO, 2011; SWAINSON, 1971).

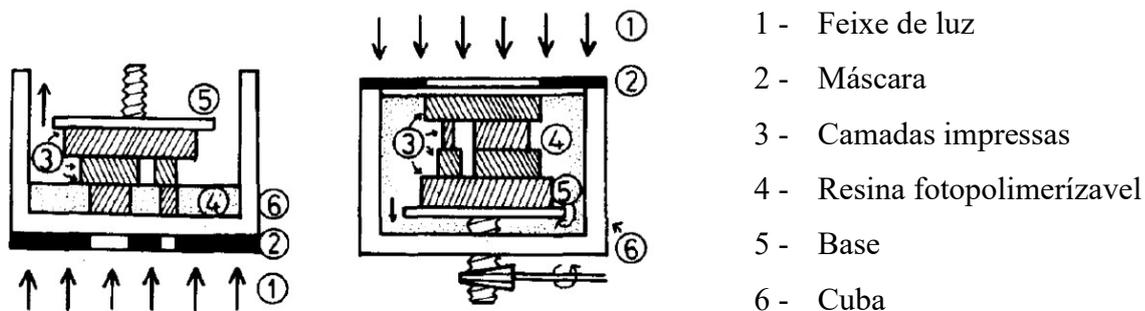
Figura 8 - Primeira patente relacionada com manufatura aditiva.



Fonte: Adaptado de Swainson (1971).

Já no início dos anos 1980 (1980-81), foi desenvolvido por Kodama o que muitos autores consideram o primeiro processo de manufatura aditiva: um sistema automatizado utilizando polímeros fotossensíveis para impressão de camadas proporcionando a fabricação de peças 3D; no sistema desenvolvido por Kodama era utilizada uma máscara pela qual a luz era projetada de forma direcionada e a peça poderia ser fabricada tanto de baixo para cima, quanto de cima para baixo, como ilustra a Figura 9, esquerda e direita respectivamente (KODAMA, 1981; BÁRTOLO, 2011; WOHLERS; GORNET, 2016).

Figura 9 - Sistema para fabricar peças 3D de baixo para cima e de cima para baixo respectivamente.



Fonte: Adaptado de Kodama (1981).

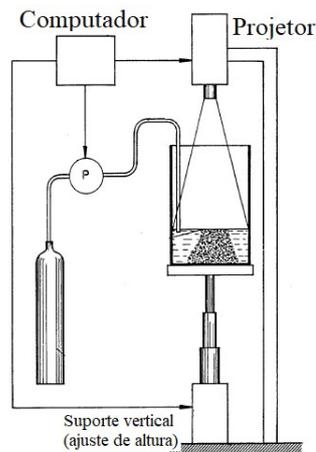
Na sequência, no ano de 1982, Alan Herbert criou pequenos componentes com formatos simples a partir de um feixe de luz passando por um conjunto de espelhos sendo direcionado à uma superfície (WOHLERS; GORNET, 2016). Dois anos depois, Yuri Maratumi realizou o depósito de patente descrevendo vários elementos relativos à fotopolimerização em cuba, patente essa que foi licenciada e gerou o sistema SOUP (*Solid Object Ultraviolet Laser Plotter*), que, por sua vez, veio a ser lançado somente em 1989 pela empresa CMET (Computer Modeling and Engineering Technology) (MARUTANI, 1984; WOHLERS; GORNET, 2016). Ainda em 1984, Jean Claude-Andre realizou o depósito da patente de fabricação de peças 3D com a utilização de somente um feixe de laser (ANDRE et al., 1984; WOHLERS; GORNET, 2016). No mesmo ano, Charles Hull realizou o depósito de patente a respeito de estereolitografia (essa patente foi concedida dois anos após em 1986). Hull foi co-fundador da empresa *3D System*, empresa essa que é considerada a pioneira na produção de sistemas de

manufatura aditiva no mundo (BERTSCH; RENAUD, 2015; HULL, 1984; WOHLERS; GORNET, 2016).

No final dos anos 1980 foi patenteado o sistema de espalhamento por lâmina, bastante utilizado nos materiais com alta viscosidade; ainda no final dos anos 1980 foram lançados dois sistemas para fotopolimerização em cuba: o *Solid Creation System* da empresa *Design-Model and Engineering Center* e o *SOMOS 100 Solid Imaging* da empresa *Dupont*[®]. No início dos anos 1990 foi patenteado um sistema de dispersão da resina que se move acima da superfície de impressão e também foi registrado o primeiro sistema *bottom-up* (esse tipo de processo será descrito posteriormente) denominado COLAMM da empresa *Mtsiu Engineering and Shipbuilding Company* (ABE, 1986b, 1986a; WOHLERS; GORNET, 2016).

Ainda em 1990 Pomerantz desenvolveu um sistema em que uma fina camada de polímero era depositada e recebia uma projeção através de uma máscara (por um projetor de slides); nesse sistema o material não fotopolimerizado era retirado e os espaços vazios eram preenchidos com material suporte, também solidificado; o procedimento era repetido até a obtenção do produto final (Figura 10) (BÁRTOLO, 2011; POMERANTZ et al., 1987, 1988, 1991). Em 1992 Fudim desenvolveu um sistema similar ao criado por Pomerantz, onde através da iluminação com radiação ultra violeta (UV) de uma camada fotossensível associada à uma máscara que era posicionada por um operador a cada camada realizada (FUDIM, 1988; BÁRTOLO, 2011).

Figura 10 – Processo de criação de peças 3D desenvolvido por Pomerantz.



Fonte: Adaptado de Pomerantz et al. (1987).

2.13.2 Bioimpressão associada a biocerâmicas

A bioimpressão é considerada uma combinação entre a mecânica da impressão 3D e as matérias-primas provenientes da biologia (principalmente sintética); assim como a biologia sintética a bioimpressão possui uma ampla gama de utilização, desde reparar e substituir partes do corpo até mesmo adicionar ao organismo tecidos recém projetados. Já existem impressoras comerciais dedicadas à bioimpressão, contudo, ainda não são comercialmente atrativas, muito pelo fato de a bioimpressão ainda estar em um estágio de desenvolvimento anterior ao do atual das impressões 3D, ou da biologia sintética (JASPER, 2015).

Para a realização das bioimpressões, são utilizadas técnicas de imagem como por exemplo tomografia computadorizada ou ressonância magnética para que ocorra a reprodução das características do tecido alvo, combinados ao uso de biomateriais e células apropriadas para a produção dos implantes 3D de reconstrução de tecidos ósseos por exemplo (ASHAMMAKHI et al., 2019).

A aplicação de biomateriais, em especial as biocerâmicas, nas bioimpressões deve-se muito à sua osteocondutividade, biocompatibilidade e resistência do material que, por exemplo, são semelhantes à fase mineral do osso natural; nesse sentido, umas das cerâmicas mais utilizadas em materiais para base de biotintas de cerâmica em engenharia de tecidos é a HA. A adição de nanopartículas de HA tem a funcionalidade de aumentar a viscosidade da biotinta e também alterar as propriedades do produto final de impressão, sendo possível até mesmo realizar uma modulação das propriedades mecânicas e capacidades de impressão (MOBARAKI et al., 2020).

Entretanto, apesar das benéficas propriedades das biocerâmicas, o uso das MA disponíveis ainda é limitado para a aplicação desse tipo de material. O alto ponto de fusão e a não reação pela luz dos materiais cerâmicos diminuem a possibilidade de fabricação direta; por outro lado, a associação de aditivos em um sistema composto torna ambos os processos de MA possíveis à impressão das biocerâmicas por sistemas indiretos que dizem respeito à conformação, remoção dos orgânicos e sinterização (DATTA et al., 2017; MOBARAKI et al., 2020).

A bioimpressão de *scaffolds* para a utilização em tecidos e órgãos geralmente requer alta porosidade permeável afim de possibilitar a fixação, além de permitir o transporte de

nutriente e oxigênio por toda a estrutura, de tal forma a facilitar a proliferação, migração e assim, o desenvolvimento celular. Os avanços introduzidos pela bioimpressão 3D aumentaram de maneira importante a capacidade de controlar a distribuição do tamanho dos poros, o volume dos poros e a interconectividade dos poros dos *scaffolds* (GU et al., 2016).

Outra importante vantagem da bioimpressão de cerâmicas está no fato de possuírem uma baixa taxa de degradação em comparação aos hidrogéis, conseqüentemente permitindo suporte estrutural ao longo de uma remodelação mais prolongada do tecido. Por outro lado, uma desvantagem está na fragilidade do material que inviabiliza a utilização em defeitos onde ocorra um suporte de carga. É possível então concluir que um *scaffold* ideal para a utilização em implantes ósseos deva apresentar uma combinação do alto teor de cálcio das cerâmicas (por exemplo a HA) com a excelente dureza do osso natural; essa possibilidade talvez só seja viável através da produção de *scaffolds* biomimeticamente mineralizados e hierarquicamente estruturados (GU et al., 2016; OBREGON et al., 2015).

Por fim, além das barreiras tecnológicas encontradas pelas biotintas (células + biomateriais) e também pelas bioimpressões para que sejam definidos parâmetros adequados de biocompatibilidade e resistência mecânica que se atinja uma perfeita função biológica, existem também os obstáculos regulatórios referentes à supervisão do produto final impresso especificado (LI et al., 2016).

2.14 Cerâmicas por manufatura aditiva

Os métodos tradicionais para a fabricação de peças cerâmicas avançadas envolvem muitos e diferentes processos que exigem etapas longas e caras, como fabricação de moldes, prensagem, extrusão, prensagem isostática a quente e/ou a frio, fundição e sinterização. (FERRAGE et al., 2017). De forma geral, é necessária a utilização de moldes para a fabricação e, conseqüentemente, o formato das peças de cerâmica é restrito a geometrias relativamente simples. A usinagem de formas complexas é ainda mais prejudicada pela alta dureza e fragilidade dos materiais cerâmicos (WANG et al., 2019).

Uma das vantagens da manufatura aditiva de componentes cerâmicos está na capacidade de obtenção de estruturas altamente complexas (WANG et al., 2019) de componentes altamente porosos, alto grau de interconectividade, sinuosidade de caminhos de fluxo, área de superfície

geométrica e específica, onde pode ser facilmente manipulada e controlada, proporcionando às peças um comportamento reprodutível em serviço (FERRAGE et al., 2017; SANTOLIVIDO et al., 2019).

Existem dois tipos de MA de cerâmica, os métodos diretos e indiretos. Os métodos diretos, em que cerâmicas puras são fundidas diretamente e então solidificadas para formar a peça, incluem principalmente: *Direct Energy Deposition (DED)* e *Selective Laser Sintering (SLS)*. Esse método, quando auxiliado por laser, é muito desafiador pela fragilidade intrínseca da cerâmica e as tensões internas (devido aos altos gradientes térmicos) durante o processo. Por outro lado, os métodos indiretos em que um corpo verde (com alto teor de ligantes orgânicos e inorgânicos) é formado e então sinterizado para eliminação de ligantes e densificado por outros métodos (rota análoga a processos convencionais) inclui diversas técnicas (*estereolitografia*, *slurry-based selective laser sintering*, *selective laser gelling*, e *freeze-form extrusion fabrication*) e geralmente requerem menor fonte de energia (BALLA et al., 2008; LI et al., 2017; NIU et al., 2014; SCHWENTENWEIN; HOMA, 2015).

Cerâmicas apresentam propriedades excepcionais, como alta resistência, estabilidade térmica e resistência química, sendo aplicadas em condições de alta temperatura e em ambientes corrosivos (WANG et al., 2019), assim tem forte potencial de aplicação na indústria biomédica, aeroespacial, automotiva e química; atualmente a MA é utilizada na fabricação de estruturas cerâmicas complexas com aplicabilidade avançada, principalmente para biomateriais e engenharia de tecidos, por exemplo, *scaffolds* para ossos e dentes. Os *scaffolds* de cerâmica utilizados na engenharia de tecidos tornaram-se mais convenientes e mais rápidos em comparação aos métodos tradicionais de fundição e sinterização (NGO et al., 2018; SANTOLIVIDO et al., 2019; SCHWENTENWEIN; HOMA, 2015).

Em contra partida aos benefícios da MA está a dificuldade na precisão dimensional da impressão, o mau acabamento superficial, associado à fabricação do tipo camada por camada, a diferença entre propriedades obtidas em relação aos métodos convencionais, a possível necessidade de pós-processamento e, finalmente, a pequena disponibilidade de matéria prima apropriada (principalmente para a fabricação de cerâmica densa). Para a fabricação de cerâmicas densas, são necessárias formulações com altas cargas sólidas, o que, conseqüentemente, restringe a adequação de pastas para a fabricação de estruturas finas devido à sua capacidade de fluxo reduzida, aumento da viscosidade e falta de homogeneidade (WANG et al., 2019).

2.15 Fotopolimerização em cuba

A fotopolimerização em cuba (“*vat photopolymerization*” ou VP) foi o primeiro tipo de manufatura aditiva desenvolvido e comercializado, e ainda é amplamente utilizado pela indústria (BERTSCH; RENAUD, 2015) para a fabricação de cerâmica com propriedades mecânicas adequadas, embora atualmente já existam outros processos que podem fabricar peças cerâmicas (WANG, 2013).

O processo de fabricação de peças cerâmicas via fotopolimerização em cuba foi desenvolvido nos anos 1980, contudo somente no final dos anos 1990 é que sua aplicação para fabricação de componentes cerâmicos iniciou a ser estudada (HINCZEWSKI et al., 1998; HULL, 1984). Apesar do desenvolvimento do processo ter ocorrido nos anos 1980, somente a partir de meados da década de 2010 é que trabalhos apontam a fabricação de componentes cerâmicos livres de defeitos e com alta densidade relativa (LIAN et al., 2017; SCHWENTENWEIN; HOMA, 2015; WANG et al., 2019; XING et al., 2018; ZHOU et al., 2016).

A manufatura aditiva por fotopolimerização em cuba é um processo em que um fotopolímero líquido contido em uma cuba é curado seletivamente por uma polimerização ativada por luz (ISO/ASTM 512900:2015, 2015); lasers UV, luz UV, *blue LEDs* e luz visível são as fontes de luz mais comuns utilizadas para a fotopolimerização, como pode ser representado na figura 11. Após a criação de uma camada, uma nova camada deve ser criada e esse passo pode ser feito aplicando-se um revestimento líquido no topo com uma lâmina ou então a partir do fundo com outras formas de aplicação do material (AMARAL et al., 2020; HALLORAN, 2016).

Figura 11 – Imagem ilustrativa do processo de fotopolimerização em cuba de cerâmicas.



Fonte: adaptado de Zhou et al. (2016).

Os métodos de polimerização são caracterizados por terem a melhor junção entre resolução e acabamento superficial, tal fato proporcionou a aplicação desse processo em MA baseada em fotopolimerização, incluindo o desenvolvimento de novos métodos, novos monômeros e fotoiniciadores, resultou em aplicações antigamente inatingíveis, como complexas estruturas cerâmicas, sensores embarcados e objetos 3D responsivos (LAYANI et al., 2018; SANTOLIVIDO et al., 2019).

2.15.1 Materiais para fotopolimerização em cuba

Os materiais para fotopolimerização em cuba estão restritos aos que são ativados pela ação da luz ultra violeta e isso proporciona uma limitação na quantidade de materiais, que são basicamente divididos em resinas acrílicas e epóxi. As resinas acrílicas tem aplicabilidade mais comum nas projeções, apresentando diversas propriedades como, por exemplo, alta flexibilidade e alta rigidez; por outro lado as resinas epóxi são mais utilizadas para as aplicações de escaneamento vetorial, apresentando uma menor influência do oxigênio na cura, associada a uma menor velocidade de impressão e menor retração (AHRENS, 2017; GIBSON et al., 2015).

Apesar das resinas acrílicas e epóxi apresentarem reações diferentes e independentes de cura, é possível combinar os dois tipos e criar um produto com as vantagens de ambas, como maior vantagem uma exposição mais curta à luz UV para a cura de qualquer um dos dois monômeros separados (GIBSON et al., 2015).

A fotopolimerização acontece com a combinação de fotoiniciadores com as resinas (ou fotopolímeros), mas com a combinação de fotoiniciadores, absorvedores de luz, diluentes e fotossensibilizadores. Os fotoiniciadores têm importante ação atuando como catalisadores na conversão da energia de luz incidente em energia química, proporcionando radicais livres nas resinas acrílicas ou cátions nas resinas epóxis; a atuação dos fotossensibilizadores está diretamente associada à faixa de absorção de luz enquanto os absorvedores de luz atuam na espessura das camadas e os diluentes na reação e controle de viscosidade (GIBSON et al., 2015).

De maneira geral, o processo de fotopolimerização é a união de monômeros produzindo longas cadeias poliméricas e, assim solidificando a resina; quando aplicados de maneira correta, os fotopolímeros criam fortes ligações covalentes (denominados *cross-links*), tendo como

consequência a impossibilidade de serem fundidos e solidificados novamente como acontece com outros polímeros (GIBSON et al., 2015; SCHWENTENWEIN; HOMA, 2015).

Para a execução de uma boa fotopolimerização, é necessário que exista um perfeito conhecimento do comprimento de onda e intensidade da fonte de luz UV, pois o pico de absorção da resina está associado diretamente ao comprimento de onda da irradiação; se a associação entre o pico de absorção da resina não corresponder ao comprimento de onda da irradiação, a luz não penetrará de forma adequada na resina resultando um mau resultado nas condições de manufatura. Sendo assim, as propriedades do fotoiniciador, associado aos parâmetros de impressão, devem ser adaptadas de acordo com a resina de tal forma a proporcionar uma polimerização com alta resolução. Em função do controle na emissão de luz ser um importante fator na polimerização, é bastante comum que as fontes originais dos projetores sejam trocadas por lâmpadas UV, que emitem um espectro mais estreito (BERTSCH; RENAUD, 2015; LAYANI et al., 2018; NOMOTO, 1997).

2.15.2 Fotopolimerização em cuba de materiais cerâmicos

A utilização de materiais poliméricos na fotopolimerização em cuba é o processo mais comum para criação de estruturas 3D com baixa resistência a temperaturas elevadas; contudo as necessidades mercadológicas de materiais que resistam às altas temperaturas e também em aplicações odontológicas, biomédicas, microfluídicas etc, associadas ao bom acabamento superficial e resolução, proporcionam um caminho para a impressão cerâmica por fotopolimerização (LAYANI et al., 2018). A fotopolimerização de cerâmicas é um processo de formação de cerâmica verde, sendo necessária uma posterior sinterização, um processo indireto.

O processo de fotopolimerização de cerâmicas propõe que seja utilizado um pó fino (cerâmica) misturado com uma solução que contenha monômeros e dispersante sendo a função do dispersante proporcionar estabilidade à suspensão (FERRAGE et al., 2017). É importante ressaltar que a utilização de pós finos tende a formar aglomerados e isso pode gerar a necessidade extensas misturas para a reutilização da mistura, além disso uma alta concentração de cerâmica exige um cuidadoso processamento para que a suspensão seja adequada ao processamento (LAYANI et al., 2018).

Entretanto não basta ter uma suspensão estável (em função da utilização de dispersantes), é necessário também homogeneidade e reologia adequada; entenda-se sem sedimentação para que sejam obtidas peças com alta densidade, qualidade superficial e boas

propriedades mecânicas (HALLORAN, 2016; VARGHESE et al., 2018; WANG; DOMMATI, 2018).

A garantia de suspensões adequadas pode ser obtida com pós cerâmicos cuja distribuição de tamanho de partícula possua tamanho médio menor que $0,5 \mu\text{m}$ para sua boa sinterização e uma superfície específica na vizinhança de $7 \text{ m}^2/\text{g}$, para uma baixa viscosidade (GONZALEZ et al., 2019).

Para a obtenção de corpos cerâmicos com alta densidade, existe a necessidade de uma alta quantidade de pó cerâmico; tal fato diminui a retração e surgimento de trincas durante os processos de pós impressão, entenda-se: secagem e sinterização; contudo uma alta quantidade de sólidos na faixa entre 40 e 50% vol facilita a dispersão da luz, que por sua vez dificulta o processo de reação de fotopolimerização (GONZALEZ et al., 2019; HALLORAN, 2016; LAYANI et al., 2018; WANG, 2013; XING et al., 2018).

2.16 Fotopolimerização por escaneamento vetorial e por projeção

Basicamente, os processos de fotopolimerização em cuba são divididos em duas categorias, sendo elas: fotopolimerização por escaneamento vetorial e projeção por máscaras/imagens ou processamento digital de luz (DLP) (AHRENS, 2017; GIBSON et al., 2015).

No primeiro a irradiação de energia é direcionada pontualmente o feixe de laser é movimentado sobre um plano horizontal através de um conjunto óptico para formar a camada. No DLP, um padrão de projeção de luz criado por um projetor digital de luz com alta resolução direciona a energia em toda a extensão da camada da peça a ser construída, ou seja, cada camada é gerada de uma só vez, sendo assim um processo mais rápido que o escaneamento a laser (LIAN et al., 2017); contudo o processo de DLP tem o desafio de superar a perda de resolução na fabricação de peças com grandes dimensões (EMANI et al., 2014; HE et al., 2018).

Alguns autores utilizam o termo estereolitografia (SLA) de forma ampla para fotopolimerização em cuba, conseqüentemente, enquadrando os processos de escaneamento vetorial e por projeção de imagens (EMANI et al., 2014; HA et al., 2010; HE et al., 2018; LIAN et al., 2017; PARK et al., 2009; SCHWENTENWEIN; HOMA, 2015); tal fato cria uma confusão visto que a maioria dos autores e livros de referência do assunto aplicam o termo SLA somente para o processo de fotopolimerização em cuba por escaneamento de laser (GIBSON et al., 2015).

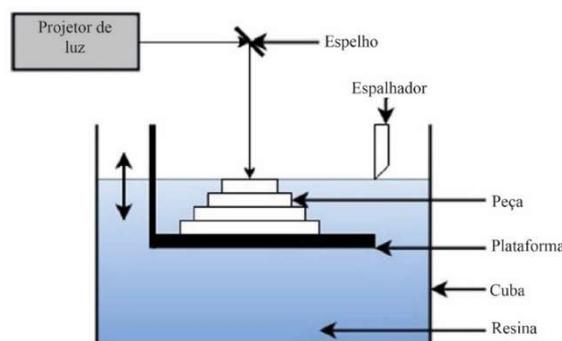
Outro termo utilizado nos processos de escaneamento vetorial e por projeção de imagens é microstereolitografia (μ SL), que nada mais é que uma derivação do processo de SLA. A diferença encontra-se na utilização do processo para a fabricação de microestruturas 3D complexas. O primeiro sistema μ SL de varredura foi relatado por Ikuta & Hirowatari, (1993) e é conhecido como estereolitografia de polímero Harden integrado. A partir de então, diversos pesquisadores melhoraram a resolução que pode ser fabricada e demonstraram uma variedade de microestruturas 3D usando processos similares de μ SL de varredura. Bertsch et al., (1997) desenvolveram um sistema μ SL de projeção usando um monitor de cristal líquido (LCD) como gerador de padrões. O processo de μ SL de projeção que usa LCDs foi aprimorado para fabricar várias microestruturas com uma resolução de vários micrômetros (HA et al., 2010).

2.17 *Bottom up e top down*

Outro aspecto importante que é analisado na impressão 3D é o sentido de criação das peças em função da sobreposição das camadas no eixo Z, sendo os processos divididos em duas categorias denominadas: *bottom-up* e *top-down*. A escolha entre esses dois processos tem efeito direto na qualidade do componente impresso, na quantidade de resina usada, no tempo de impressão etc.

O processo em que a construção acontece de cima para baixo, com a plataforma se deslocando para baixo conforme as camadas são formadas são denominados *top-down* (Figura 12). A luz incide por cima e sempre que uma camada é formada, a plataforma desce o equivalente à espessura da camada para dar início à formação de uma nova camada.

Figura 12 – Esquema ilustrativo do processo *top-down*.



Fonte: Adaptado de Khadilkar et al. (2019).

A figura 13 ilustra a maior dificuldade na execução do processo *top-down*, no qual a pasta de impressão, por ser viscosa, não molha uniformemente e revestir as camadas já impressas, portanto normalmente esse processo exige algum recurso para executar o recobrimento das camadas e também o espalhamento uniforme da resina (AHRENS, 2017; SANTOLÍQUIDO; COLOMBO; ORTONA, 2019).

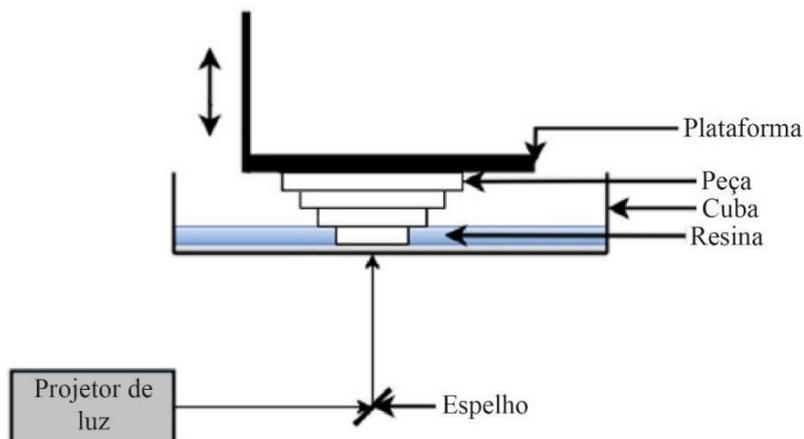
Figura 13 – Esquema ilustrativo da uniformidade na formação das camadas associadas ao processo *top-down*.



Fonte: Adaptado de Santoliquido et al. (2019).

Na aplicação do método *bottom-up* acontece a construção da peça de baixo para cima (Figura 14). A formação da camada é realizada através da incidência da luz por um fundo transparente, que proporciona a dispersão da luz. Ao ter uma camada pronta, a plataforma sobe o equivalente à espessura da camada, uma vantagem desse processo está em não ter a necessidade de recurso para recobrimento (AHRENS, 2017; Santoliquido et al., 2019).

Figura 14 – Esquema ilustrativo do processo *bottom-up*.



Fonte: Adaptado de Khadilkar et al. (2019).

Dentre as vantagens do processo *bottom-up*, citam-se a impressão rápida por não necessitar de um mecanismo de homogeneização das camadas, desnecessidade da cuba repleta de resina, conseqüentemente reduzindo os custos e desperdícios do processo (EMAMI et al., 2014; GIBSON et al., 2015; LIAN et al., 2017; VARGHESE et al., 2018), e a cura da camada ocorre no fundo do reservatório, ou seja, sem a presença de oxigênio que é um fator que dificulta a cura da última camada, assim evitando a adesão dela com a janela transparente (AHRENS, 2017; SANTOLIVUO et al., 2019).

Por outro lado, o processo *bottom-up* tem como complicação um periódico adesão/desprendimento do componente que está sendo produzido na parte inferior da cuba, gerando tensões e deformações no componente quando da criação de uma nova camada. As tensões, assim como as deformações, são agravadas para resinas com alta viscosidade, pela alta aderência das camadas formadas com a parte inferior da camada a ser formada (SANTOLIVUO et al., 2019).

Portanto, o processo *top-down* acaba sendo vantajoso para as impressões de cerâmicas, visto a maior carga de sólidos que proporcionam um aumento na densidade das resinas de impressão (DUMENE et al., 2018), além do fato da luz não passar por uma superfície transparente diminuindo consideravelmente a dispersão da luz para a impressão mais precisa da peça (VARGHESE et al., 2018).

2.18 Equipamentos

Uma pesquisa através das plataformas *on line* (período 2019-2021) foi realizada para constatar os equipamentos já existentes no mercado que sejam projetados para impressão 3D com alta viscosidade, como é o caso das pastas cerâmicas (SANTOLIVUO et al., 2019); além disso também foram pesquisadas as orientações e princípios de fabricação do produto impresso. Apesar de existir uma grande gama de impressoras 3D (cerca de 50 modelos), a aplicação desses equipamentos exclusivos para a impressão de cerâmicas é reduzido para uma faixa de 8-12%, ou seja, foi identificado no mercado cerca de quatro impressoras que são exclusivas de uso com cerâmicas, sendo algumas delas: Ceramaker; Promaker v6000; Admaflex e Cerafab.

Contudo, existem três modelos que são utilizados para a impressão de material polimérico (Ackuray; Diplo e Form3) que, eventualmente, apresentam a possibilidade de utilização de cerâmicas e, por fim, existem outros dois modelos que mesmo não sendo

dedicados à impressão 3D de cerâmicas, tiveram trabalhos publicados, sendo elas: Ember e Acculas (DUMENE et al., 2018; MIYAMOTO et al., 2007). Importante ressaltar que o modelo Ember teve sua produção interrompida em 2017 (3DPRINT.COM, 2017).

A tabela 6 apresenta as informações a respeito das impressoras 3D que podem ser utilizadas para impressão de material cerâmico, sendo o principal diferencial desses equipamentos os sistemas de recobrimento que será discutido no próximo capítulo.

Tabela 6 - Tabela com as principais informações a respeito das impressoras comerciais para impressão de cerâmicas.

Fabricante	Modelo	Princípio de fabricação	Orientação
3D Ceram	Ceramaker	Escaneamento vetorial	Top-down
Prodways	Promaker v6000	Escaneamento + Projeção	<i>Top-Down</i>
Admatec	Admaflex	Projeção em tape	<i>Bottom-up</i>
Lithoz	Cerafab	Projeção	<i>Bottom-up</i>
Ackuretta	Ackuray	Projeção	<i>Bottom-up</i>
Ackuretta	Diplo	Projeção	<i>Bottom-up</i>
Formlabs	Form 3	Escaneamento Vetorial	<i>Bottom-up</i>
Autodesk	Ember	Projeção	<i>Bottom-Up</i>
D-MEC	Acculas	Projeção	<i>Top-Down</i>

Fonte: (ACKURETTA, 2019b, 2019a; ADMATEC, 2019; CERAM, 2019; D-MEC, 2019; DUMENE et al., 2018; FORMLABS, 2019; LITHOZ., 2019; PRODWAYS TECH, 2019).

2.19 Sistemas de recobrimento e patentes associadas

A base de pesquisa das patentes de sistemas de recobrimento foi fundamentada na orientação de impressão (*top-down* ou *bottom-up*), em ambos os sentidos é necessário que a resina ocupe o lugar entre a fonte de luz e a última camada formada de tal forma que o processo seja contínuo; para o caso em que o processo é do tipo *bottom-up* não há uma necessidade de um sistema específico para o recobrimento visto que, com o movimento da plataforma para cima, a tendência é de que a resina espontaneamente ocupe o espaço (КОСТАБЕБЕР, 2012).

Entretanto, no processo *top-down* é efetivamente necessário um sistema de recobrimento; esse sistema é passível a utilização de lâminas, escovas/cerdas, sistemas de

drenagem com utilização de bomba de vácuo, lâminas com dispersor de ar ou até mesmo uma combinação desses mecanismos (DUDLEY, 2018). Na tabela 7 é possível verificar algumas patentes que foram depositadas desde o início do processo de fotopolimerização em cuba até máquinas utilizadas na atualidade.

Tabela 7 – Principais patentes utilizadas no processo de impressão 3D.

Ano do depósito	Patente	Sistema de recobrimento
1989	EP0361847B1	Lâmina simples (com US005651934A associada)
1991	EP0484182A1	Escovas (com cerdas)
1991	US5238497A	Espalhador com bombeamento
1994	US5447822A	Espalhador com filme fino
1994	WO1995015842A1	Lâmina simples – área de transição para o espalhador
1996	EP0807014B1	Aplicador com bomba de vácuo
1997	EP0928242B1	Cortina de recobrimento líquido
1997	US5922364	Aplicador com bombeamento
2000	US6764636B1	Rolos com grau de liberdade adicional para ajuste
2006	US20060219163A1	Aplicador com bomba de vácuo com rápido ajuste
2006	CN1974185B	Aplicador com bomba de vácuo com ajuste automático
2014	CN104457601B	Aplicador com bomba de vácuo com controle de nível da resina

Fonte: Elaborada pelo autor

2.20 Suspensões fotossensíveis

Para que as peças cerâmicas obtidas através do processo de fotopolimerização em cuba apresentem propriedades adequadas, é de extrema necessidade que as suspensões cerâmicas fotossensíveis vençam as limitações impostas primeiramente pela matéria-prima que seja adequada para a realização do processo (CAMARGO et al., 2022; LAKHDAR et al., 2021; PELZ et al., 2021). Normalmente, as suspensões cerâmicas são compostas por: monômeros,

fotoiniciadores e o pó cerâmico propriamente dito; através dos dois primeiros compósitos e da particularidade de possuírem radicais livres é que a fotopolimerização acontece (através dos radicais livres desses elementos são ativados por luz – ultravioleta (UV) ou visível).

Existem outros elementos como: absorvedores de luz (GONZALEZ et al., 2019; HALLORAN, 2016; HU et al., 2018; PFAFFINGER et al., 2017; SCHMIDT et al., 2019; SONG et al., 2019), antiespumantes (CHEN et al., 2019; ZENG et al., 2019), plastificantes (GONZALEZ et al., 2019; XING et al., 2018), diluentes (JOHANSSON et al., 2017; LEE et al., 2019; WANG et al., 2019; XING et al., 2018) e principalmente dispersantes (ADAKE et al., 2015; DING et al., 2020; LI; ZHAO, 2017; SUN et al., 2019; ZHANG et al., 2017), que podem ser constituintes das suspensões cerâmicas fotossensíveis; cada um desses componentes tem sua importância e diferente função na formulação das suspensões e devem ser cuidadosamente escolhidos para a utilização. Nesse trabalho, a intenção foi a de utilizar a menor quantidade possível desses elementos citados anteriormente; por outro lado a carga cerâmica sempre foi a maior possível com a intenção de que uma alta densidade, assim como propriedades mecânicas, fossem obtidas e, conseqüentemente, também defeitos gerados no pós-processamento como delaminação e trincas fossem reduzidos ou até mesmo eliminados (GRIFFITH; HALLORAN, 1996; JANG et al., 2019).

Contudo a busca da maior quantidade possível de carregamento sólido conduz à uma maior viscosidade da suspensão e, por outro lado, isso acaba se tornando um evento a ser superado, visto que, uma baixa viscosidade é essencial para que ocorra a VAT, onde normalmente uma lâmina é utilizada para realizar a formação das camadas (impresas e suspensão não curada). A formação de uma nova camada através do espalhamento e nivelamento proporcionado pelas lâminas devem apresentar uma taxa de cisalhamento variando entre 30 e 100 s⁻¹ (LI et al., 2020), e a viscosidade das suspensões deve ser inferior a 3 Pa.s para que a fluidez seja adequada (GRIFFITH; HALLORAN, 1996; SCHWENTENWEIN; HOMA, 2015; WU et al., 2018). Além da baixa viscosidade, é necessário que as distribuições das camadas sejam uniformes e homogêneas (características que são proporcionadas pelas lâminas), além disso as camadas tipicamente apresentam uma espessura micrométrica entre 25 e 100 µm (ZHANG et al., 2019).

2.20.1 Estabilidade

A instabilidade das suspensões pode promover gradientes de concentração nas peças impressas (até mesmo nas camadas), que proporcionam a delaminação durante o processo de sinterização (BAE; HALLORAN, 2019) e esse problema ocorre principalmente nas peças que demandam um tempo de impressão prolongado (DUFAUD et al., 2002; SCHWARZER et al., 2017; YAGHTIN et al., 2020), portanto é importante que as suspensões apresentem estabilidade; os dois principais problemas que proporcionam a instabilidade são: sedimentação devido a ação gravitacional e a floculação devido a atração interpartículas (GAO et al., 2011).

Por outro lado, fatores como redução do tamanho das partículas, redução na diferença de densidade, aumento da viscosidade e aumento na fração sólida podem reduzir a sedimentação da suspensão (BAE; HALLORAN, 2019); como normalmente as suspensões cerâmicas utilizadas na VAT apresentam alto carregamento sólido e tamanho de partículas reduzido, a sedimentação tende a ser baixa, entretanto a redução no tamanho de partícula conduz a uma insignificante flutuabilidade e gravidade, enquanto a atração interpartículas tem um aumento significativo (ABEL et al., 1994; WANG et al., 2020); portanto, no caso de tamanho de partículas muito pequeno, acaba ocorrendo a floculação que promove o aumento da sedimentação e, por sua vez, a desestabilização da suspensão.

Para a verificação da estabilidade das suspensões, um teste bastante simples pode ser realizado. As suspensões são vertidas em cilindros graduados e medidas da interface de sedimentação são realizadas em intervalos de tempo pré determinados, entretanto esse teste deixa a desejar na identificação de processos de desestabilização em escala microscópica (BURGOS-MONTES; MORENO, 2009; CHEN et al., 2019; DING et al., 2020; DUFAUD et al., 2002; GAO et al., 2011; LI; ZHAO, 2017; SONG et al., 2019; SUN et al., 2019; WANG et al., 2019; XING et al., 2018; ZHANG et al., 2020; ZHANG; HE et al., 2019; ZHANG; XIE et al., 2019; ZHANG et al., 2017), além desse, fato a literatura é carente de um padrão ou até mesmo um consenso com relação a duração do experimento.

2.20.2 Fração sólida volumétrica, tamanho e forma das partículas

A característica do carregamento sólido ser inversamente relacionada com a viscosidade da suspensão, como já citado anteriormente, torna essencial o equilíbrio carregamento/viscosidade para uma suspensão adequada ao emprego da VAT. Esse equilíbrio não é algo simples de se obter visto a complexidade associada ao comportamento reológico da suspensão que envolve fenômenos como: mecanismos de dispersão, fluotabilidade, interações de Van der Waals, movimento Browniano, e fluxo hidrodinâmico, assuntos que não serão abordados de forma detalhada nesse trabalho.

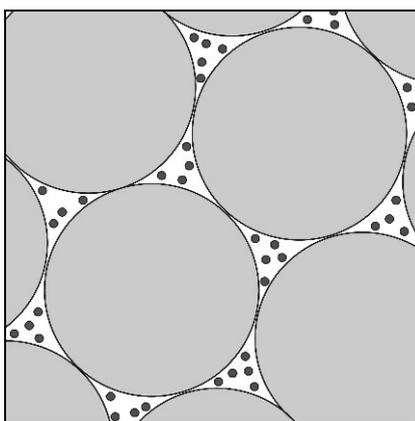
Contudo, muitos autores simplificam as análises aplicando modelos em que consideram todas as partículas como esferas rígidas de mesmo tamanho, suspensas em um meio newtoniano, sem interação ou efeitos gravitacionais (RAJIAH et al., 1994). O modelo de Krieger & Dougherty (1959) tem sido aplicado por vários autores (LI et al., 2020; WANG et al., 2019; ZHANG; HE et al., 2019; ZHANG; XIE, et al., 2019; ZHANG et al., 2017) e tem se mostrado de grande eficiência com dados experimentais.

Considerando-se então um modelo no qual as partículas são esferas rígidas, ao adicionar uma pequena quantidade em um meio líquido, a distância entre essas partículas é grande, o que resulta um pequeno aumento na viscosidade; contudo, na medida em que se aumenta a quantidade dessas partículas, a distância entre elas diminui, proporcionando a interação entre elas. Notavelmente, a dimensão das partículas é menor que $1\mu\text{m}$, nas quais tais forças coloidais dominam o comportamento da suspensão muito em função do movimento browniano e Van der Waals (GOSWAMI et al., 2014; LEWIS, 2011; MACOSKO, 1996).

Isso apresentado, é possível afirmar que pós finos possuem uma maior viscosidade e a consequência é também estar propenso a aglomerações em função de sua grande área específica (que proporciona maior reatividade entre as partículas); como consequência positiva tem-se peças mais densas e com melhores propriedades mecânicas após a sinterização (DIPTANSHU et al., 2019; SUN et al., 2019; WANG et al., 2019; ZHANG et al., 2021). Analisando vários autores um valor ótimo para a dimensão das partículas está entre 90 e 500 nm (ADAKE et al., 2015; BORLAF et al., 2020; CHEN et al., 2019; GOSWAMI et al., 2014; JOHANSSON et al., 2017; LI; ZHAO, 2017; LI et al., 2020; LI; ZHONG et al., 2020; LI et al., 2020; LIU et al., 2020; WU et al., 2017; WU et al., 2018; XING et al., 2020; XING et al., 2017; ZHANG et al., 2020; ZHANG et al., 2019; ZHANG et al., 2017).

Em função das dimensões das partículas apresentarem uma variação relativamente grande, é importante analisar também o comportamento da suspensão em função da distribuição do tamanho das partículas. Suspensões com maior proporção no tamanho das partículas permitem que as de menores dimensões fluem nos interstícios das maiores e, por consequência, a fração sólida torna-se maior nessas suspensões (WOZNIAK et al., 2011), conforme pode ser observado na figura 15. Melhores resultados para a otimização na distribuição do tamanho de partículas pode ser obtido pela teoria de Farris (FARRIS, 1968), proporcionando, assim, menor viscosidade e maior empacotamento.

Figura 15 - Representação esquemática de partículas menores livres nos interstícios de partículas maiores - proporção 40:1.



Fonte: Adaptado de Camargo et al. (2021)

2.20.3 Monômeros, diluentes e dispersantes

Diferentes tipos de monômeros são utilizados nas formulações sendo que os grupos funcionais reativos têm papel fundamental na polimerização. Os monômeros multifuncionais promovem uma maior reticulação durante a polimerização e, portanto, aumentam a resistência e dureza das peças impressas quando comparados aos monômeros monofuncionais (GRIFFITH; HALLORAN, 1996; SOKOLOV et al., 2018; TOMECKOVA; HALLORAN, 2011). De forma geral, quanto maior a quantidade de grupos funcionais, maior será a densidade do monômero.

Os diluentes inertes não contribuem para a resistência mecânica das peças impressas, porém, eles proporcionam uma melhoria em fatores como: redução da viscosidade (JOHANSSON et al., 2017; LEE et al., 2019; TOMECKOVA; HALLORAN, 2011), do encolhimento polimérico (JOHANSSONohansson et al., 2017; LEE et al., 2019; TOMECKOVA; HALLORAN, 2011), aumento da plasticidade (XING et al., 2018) e aumento na correspondência do índice de refração (GRIFFITH; HALLORAN, 1996); por outro lado, diluentes muito voláteis como, por exemplo, metanol e etanol tendem a gerar um maior empenamento das peças e trincas durante o processo de *debinding* (JOHANSSON et al., 2017; ZHANG et al., 2020).

Dentre os diluentes, aqueles que apresentam base aquosa, têm a vantagem de proporcionar uma boa redução na viscosidade da suspensão quando comparados aos diluentes com base de acrilatos, contudo as desvantagens dos dispersantes com base aquosa estão relacionadas à grande quantidade de água que deve ser removida durante o processo de sinterização, podendo atingir valores da ordem de 14%, proporcionando à peça uma menor resistência mecânica, além de causar empenamento e delaminação das camadas (WANG et al., 2019; ZHOU et al., 2016). Ademais, a água tem um índice de refração menor que a maioria das cerâmicas, proporcionando uma menor camada curada e printabilidade (GRIFFITH; HALLORAN, 1996; WOZNIAK et al., 2011).

Os dispersantes afetam diretamente o comportamento reológico e a estabilidade das suspensões cerâmicas que apresentam alto carregamento, sendo a sua eficácia avaliada através da viscosidade e estabilidade das suspensões (CHEN et al., 2019; SUN et al., 2019; ZHANG et al., 2019). A adição do dispersante deve ser avaliada com rigorosidade para que seja encontrado o ponto ótimo no qual a suspensão apresente a menor viscosidade com maior carregamento (WU et al., 2018).

O ponto ótimo na quantidade de dispersante não está relacionado à massa de pó da suspensão, mas sim à área superficial do pó, onde quantidades baixas de dispersante podem causar uma falta de cobertura na superfície da partícula, acarretando em floculação; por outro lado, excesso de dispersante aumenta a viscosidade da suspensão, visto que o mesmo acaba sendo diluído no meio (SCHOFIELD, 2002; SUN et al., 2019; TANURDJAJA et al., 2011).

2.21 Processamento

O fato de a homogeneização do material ter grande influência nas propriedades do objeto sintetizado, o processamento para obter uma suspensão adequada é discutido em diversos artigos; dentre os equipamentos utilizados na metodologia do processamento de homogeneização os artigos citam: moinhos de bolas (HE et al., 2018; VARGHESE et al., 2018; WANG, 2013; WANG; DOMMATI, 2018; ZHOU et al., 2016), moinhos planetários (GONZALEZ et al., 2019; LIAN et al., 2017; VARGHESE et al., 2018), bomba de vácuo (ZHOU et al., 2016) e agitação ultrassônica (HE et al., 2018).

2.22 Pós-processamento

Dentre as várias etapas do processo de fotopolimerização em cuba, uma atenção especial deve ser dada à etapa de pós processamento que acontece quando o corpo verde já impresso tem a eliminação dos orgânicos (*debinding*) e aumento da densidade (sinterização) (CAMARGO et al., 2020; GALANTE et al., 2019; PELZ et al., 2021).

Para que aconteça um pós processamento adequado, é essencial a obtenção de uma peça cerâmica com qualidade, entenda-se sem trincas, e para isso é necessário uma taxa de aquecimento para o *debinding* ajustada de acordo com os orgânicos presentes no corpo impresso (JOHANSSON et al., 2017; KOMISSARENKO et al., 2018), enquanto as temperaturas de sinterização devem ser cuidadosamente selecionadas para que não sejam alteradas as propriedades dos componentes cerâmicos (AZARMI; AMIRI, 2019; LIU et al., 2020; VARGHESE et al., 2018; WU et al., 2018; XING et al., 2020).

Em função do processo de fotopolimerização em cuba apresentar grande quantidade de material orgânico (ordem de 50% ou mais), ele não é indicado para a produção de peças de grandes dimensões e com alta densidade, uma vez que o processo de *debinding* conduz a uma maior possibilidade de trincas e desprendimento das seções; fornecedores desse tipo de material indicam que a espessura máxima de parede produzida na impressão seja de no máximo 10mm (CAMARGO et al., 2021; CAMARGO; ERBERELI; FORTULAN, 2021; LAKHDAR et al., 2021; TRUXOVA et al., 2020).

Para que o processo de pós processamento seja o melhor possível, é necessário que um protocolo seja bem estabelecido, ou seja, quais devem ser as taxas de aquecimento e tempos de patamar que devem ser utilizados durante o *debinding* e conseguinte sinterização; para isso normalmente é utilizada a análise termogravimétrica em que é verificada a decomposição térmica das peças verdes produzidas via fotopolimerização em cuba através das mudanças de massa com a temperatura utilizando uma termo balança (AMARAL et al., 2020; JOHANSSON et al., 2017; WEI et al., 2020; WU et al., 2019).

2.23 Testes *in vitro*

2.23.1 Citotoxicidade

Os testes de citotoxicidade ou de viabilidade celular são amplamente utilizados em estudos iniciais de materiais e dispositivos que se tem pretensão de aplicação clínica (TAMIŞ et al., 2018; FOTAKIS; TIMBRELL, 2006). Para o seu uso ser aplicado de forma geral em diversos tipos de materiais, foram determinadas diversas normas para padronizar ao máximo todos os estudos desse tipo e estão contidas dentro da ISO 10993-5 (ISO, 2009).

De forma geral, os testes de citotoxicidade devem ser feitos com linhagens celulares já determinadas, de forma direta ou indireta, e os resultados precisam estar com a viabilidade celular acima de 70% comparada com o controle, que é representado pelas células sem tratamento.

2.23.2 Testes de degradação

A taxa de degradação é um parâmetro vital para estruturas ósseas e pode refletir a capacidade de uma estrutura resistir à erosão por um líquido circundante (WEI et al., 2017). Ao selecionar biomateriais para impressão, deve-se considerar também a cinética de degradação e os produtos de decomposição do material. Idealmente, a velocidade da degradação deve corresponder à taxa de regeneração da matriz produzida por células encapsuladas e nativas (JIANG et al., 2008).

É muito difícil e complicado controlar as condições de teste e proporcionar uma melhor repetibilidade em pesquisas sobre a degradação *in vivo* de biomateriais. Porém, a investigação sobre o comportamento de degradação *in vitro* de biomateriais é benéfica para compreender o comportamento de degradação *in vivo* destes biomateriais e pode fornecer algumas informações úteis sobre a degradabilidade, sendo assim capaz de fornecer orientação para o design de biomateriais com bom desempenho (WANG et al., 2016).

As bioimpressões de cerâmicas apresentam baixa taxa de degradação quando comparadas com hidrogéis, o que permite o uso desse material para suportes estruturais de remodelações mais prolongadas do tecido (DEB et al., 2019; GUARINO et al., 2009; MARCACCI et al., 2007; VILLA et al., 2015). Contudo, a utilização de impressos de cerâmicas como a HA promove um *scaffold* com maior fragilidade, que dificulta sua aplicação em defeitos onde exista uma necessidade de suporte de carga (GU et al., 2016; OBREGON et al., 2015).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Na busca pela fabricação de *scaffolds* por MA, foi selecionada a cerâmica de hidroxiapatita de origem bovina, que foi classificada e processada com vistas à ceramização. Também na busca de reforçamento do material se propôs a produzir *whiskers* de HA e adicioná-los à matéria-prima base. Na sequência para a manufatura aditiva, foi escolhida uma região esponjosa de um corpo seccionado do metatarso bovino que foi escaneado tridimensionalmente via μ -ct e então impresso via VP, além de corpos de prova convencionais, e todos foram caracterizados por ensaios de flexão e compressão.

A figura 16 apresenta um fluxograma representativo de toda metodologia utilizada nesse trabalho.

Figura 16 - Fluxograma representativo da metodologia aplicada nesse trabalho.



Fonte: Elaborada pelo autor.

As numerações apresentadas no fluxograma trilham o caminho desenvolvido nesse trabalho, no qual a primeira etapa realizada foi desde a obtenção e preparação da matéria-prima até os testes viscosidade e estabilidade das suspensões cerâmicas, simultaneamente foi realizada

a rota de número dois desde o desenvolvimento da impressora modelo *top down*, até os testes com HA comercial, chegando assim ao ponto 4 que é confluência das rotas 1 e 2.

Em separada à essas duas primeiras rotas, foi desenvolvida a parte 3 do fluxograma que é a μ -CT para obtenção das imagens 3D que passariam a ser utilizadas a partir do ponto 4, citado anteriormente. A partir da consolidação do ponto 4, foram desenvolvidos os parâmetros de impressão, representado pelo ponto 5 do fluxograma, e então a rota seguiu para o ponto 7 e consequencialmente para os testes finais.

Em paralelo a rota a apresentada anteriormente, o ponto 6 foi desenvolvido, com a perspectiva de que os *whiskers* pudessem proporcionar melhoria dos valores das propriedades mecânicas das peças impressas. Os *whiskers* obtidos foram então inseridos na rota a partir do ponto 5.

3.1 Aspectos éticos

A coleta dos ossos bovinos utilizados nessa pesquisa seguiu procedimentos estabelecidos e aprovados pelo protocolo de pesquisa PRT 05/2015 da comissão de ética no uso de animais da EMBRAPA Pecuária Sudeste. O projeto foi classificado como um experimento que causa pouco ou nenhum desconforto ou estresse ao animal (Anexo A).

3.2 Condições de manejo

Os ossos utilizados nessa pesquisa são provenientes de animais do Centro de Pesquisa Pecuária Sudeste da EMBRAPA, localizado na cidade de São Carlos - SP, na Fazenda Canchim. Neste estudo, os animais permaneceram no pasto por, aproximadamente, 20 meses e depois foram confinados ao sistema GrowSafe[®] (sistema que mede, sem interrupção, durante as 24 horas do dia toda a comida consumida pelos bovinos), recebendo dieta balanceada para ganho de peso, contendo silagem de milho, milho em grãos, farelo de soja, farelo de trigo, calcário, núcleo mineral e ureia, com relação de Ca/P de 1,26 e 17% de proteína bruta.

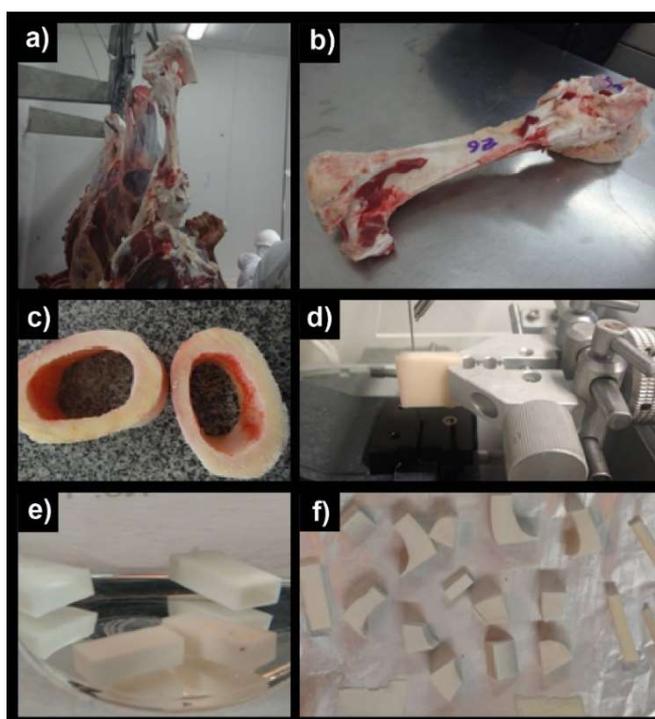
Os processos de criação, nutrição, manuseio, bem-estar animal e abate estão em acordo com: Instrução Normativa nº 46, de 6 de outubro de 2011, Instrução Normativa nº 3, de 17 de janeiro de 2000 e Instrução Normativa. nº56 de 6 de novembro de 2008. (Brasil, 2000, 2008, 2011).

3.3 Preparação e obtenção do material de origem bovina

Para a obtenção do material, foram selecionados vinte bovinos sendo dez da raça Canchim e outros dez da raça Nelore; ressaltando que ambas as raças resultam na produção de HA sem diferenças significativas (ERBERELI, 2017).

Os ossos metatarsais posteriores esquerdos dos animais foram escolhidos por serem os ossos que carregam maior carga mecânica e, portanto, representam forte atividade de remodelação óssea, além de manter a padronização das amostras. Na preparação e caracterização das amostras, foram seguidos os passos de acordo com a Figura 17.

Figura 17 – Fluxo de processamento da amostra, a) secção da perna traseira esquerda; b) identificação da origem e limpeza com desossa mecânica (excessos de carne e gordura) do osso metatarso; c) amostras coletadas em formato de anel; d) amostras obtidas por corte; e) processo de extração da parte orgânica; f) secagem dos ossos.



Fonte: Elaborada pelo autor

Em seguida, o material passou por processo de calcinação (Figura 18), indo a forno tipo mufla com rampa de aquecimento de 5°C/min até a temperatura de 900°C, permanecendo nesse patamar por um período de duas horas, sendo após o forno resfriado de forma natural até temperatura ambiente. Uma pequena parcela do material foi calcinada com mesma rampa de aquecimento até temperatura de 1300°C, com patamar de duas horas e resfriamento natural, essa parcela do material foi reservada para ensaio de difratometria de raios-X.

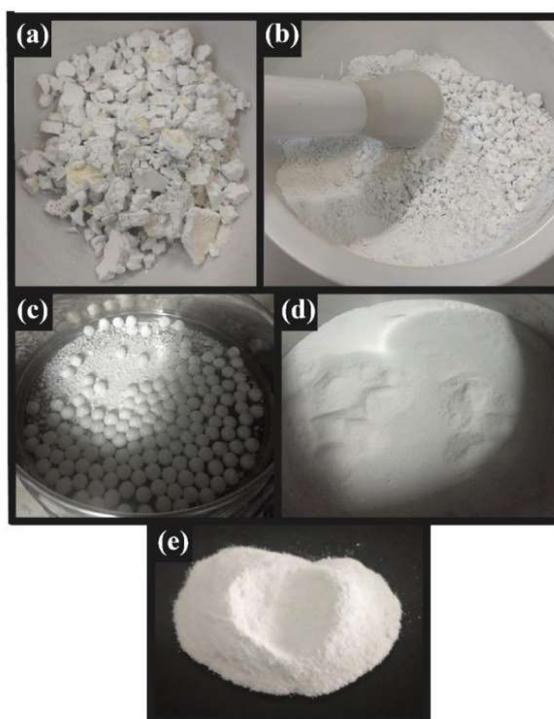
Figura 18 - Amostras calcinadas.



Fonte: Elaborada pelo autor

Na sequência as amostras foram processadas em prensa hidráulica de deslocamento linear para uma primeira “quebra” do material (Figura 19-a); na sequência, o material foi macerado em almofariz/pistilo até passar em malha #200 mesh (75 µm), representado nas figuras 19-b-c-d-e.

Figura 19 - Representação das amostras em processo de moagem. (a) – quebra inicial do material; (b-c-d-e) – processo de moagem das amostras.



Fonte: Elaborada pelo autor

Para moagem da hidroxiapatita bovina e obtenção de um pó nanométrico, foi utilizado um jarro de polietileno com volume de 300 cm^3 carregado com 45% vol (560 g) de elementos de moagem, no caso, esferas de zircônia 3Y diâmetro 10 mm. O jarro foi carregado com uma barbotina numa concentração de 25% vol de sólidos (hidroxiapatita bovina) e 75% de álcool isopropílico; a essa mistura foi adicionado 0,05% em massa de ácido para-aminobenzóico (PABA) como defloculante para garantir a viscosidade líquida da mistura.

O jarro foi então colocado em moinho de bolas por 24 horas e, na sequência imediata, permaneceu em moinho vibratório até completar 72 horas. Durante o processo de moagem no moinho vibratório foram retiradas amostras após 24, 48 e 72 horas; essas amostras foram caracterizadas quanto à granulometria por Sedigraph (Micrometrics) que é baseado na velocidade de sedimentação por gravidade, vista por raios X e segundo as leis de Stokes e de extinção de Beer.

3.4 Materiais de processamento

Para o desenvolvimento da pesquisa foram utilizados os seguintes materiais listados na tabela 8 a seguir:

Tabela 8 – Lista de materiais associada à função e teste que foi empregado.

Tipo de teste	Material	Função
Inicial (validação da impressão)	Resina comercial Anycubic (aqua blue)	
Inicial (formulação de suspensão cerâmica)	Poly (ethylene glycol) diacrylate – (PEGDA575) - (Sigma Aldrich Corp)	Monômero acrílico
	Ácido esteárico	Surfactante
	n-methyl-2-pyrrolidone (NMP), Xilol, Acetona e Álcool Isopropílico	Solventes
	Ácido para-aminobenzóico (PABA)	Defloculante do sistema alcóolico
	Polivinil Butiral (PVB)	Agente ligante
Final (formulação de suspensão cerâmica)	Hidroxiapatita comercial (Fluka - Lote 1231469)	Carga cerâmica
	Poly (ethylene glycol) diacrylate - (PEGDA250) - (Sigma Aldrich Corp)	Monômero acrílico
	Triton X100 (Sigma Aldrich, USA)	Dispersante
	Solsperse™ 41000 (Lubrizol)	Dispersante
	Phenylbis (2,4,6-trimethylbenzoyl) phosphine oxide (Sigma Aldrich Corp)	Fotoiniciador acrílico
	Hidroxiapatita de origem bovina	Carga cerâmica

Fonte: elaborada pelo autor

As suspensões para a impressão são baseadas na mistura de monômeros acrílicos, formando assim uma suspensão híbrida, apresentando como vantagens o controle de retração, melhores valores de resistência mecânica e remoção de orgânicos de forma estratificada (Gibson et al. 2015). A mistura passou por processo de homogeneização com uso de moinho de bolas.

3.5 Parâmetros e materiais utilizados no DRX

Para a realização dos ensaios de DRX foi utilizado o equipamento Shimadzu XDR-7000, cujo DRX de pós possui potência de 40 kV e 30 mA, radiação k- α e comprimento de

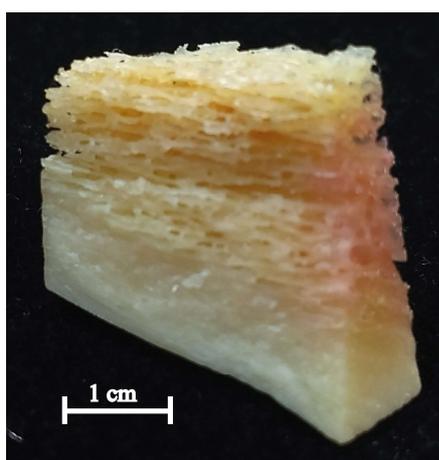
onda $\lambda = 1,54056\text{\AA}$, e as amostras foram analisadas em um ângulo $\theta = 2\theta$ de 5 a 90°, e passo de 0,02° a cada 0,6 segundos.

Nos testes de DRX foram utilizados os seguintes materiais: Pó de hidroxiapatita comercial (Fluka – lote: 1231469 – CAS N° 1306-06-5), material que atende à norma ASTM 1185-03 que é considerada composição padrão para HA para implantes cirúrgicos; hidroxiapatita de origem bovina em quatro situações: verde (somente com processos de moagem) e calcinada nas temperaturas de 900° C e 1300°C e sinterizada a 1300°C.

3.6 Parâmetros utilizados na microtomografia

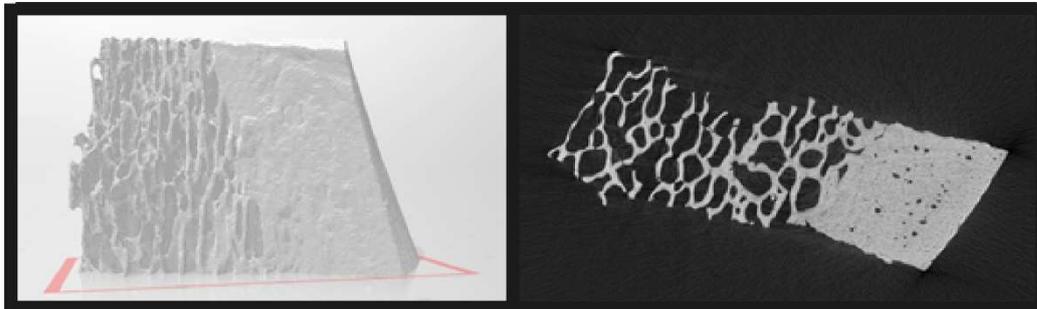
A partir de uma amostra óssea que continha parte trabecular e parte compacta (figura 20) foi realizada a captação de imagens dos ossos bovinos 3D em microtomógrafo modelo SkyScan 1272 (Bruker) do Instituto de Física de São Carlos – IFSC - Grupo de ressonância magnética, espectroscopia e magnetismo, com câmera XIMEA xiRAY16; obtenção de fatia 0,067742 s, perfazendo um total de 1240 fatias com largura e altura da imagem resultante de 1240 pixels e 2176 pixels, respectivamente. Em sequência, essas imagens em formato de fatias em tons de cinza foram binarizadas e convertidas em um arquivo no formato STL de superfície sólida como representado na figura 21.

Figura 20 – Imagem da amostra utilizada para obtenção da μ -ct.



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 21 - Imagem 3D de osso bovino e visualização de uma das fatias.



Fonte: Elaborada pelo autor

3.7 Parâmetros utilizados na viscosidade e estabilidade

As pastas cerâmicas foram caracterizadas por meio de um viscosímetro rotacional modelo DV2T extra (Brookfield, Canadá) em temperatura ambiente no Departamento de Engenharia de Materiais da EESC. A composição das pastas cerâmicas utilizadas nos ensaios foram as seguintes:

- 30 vol% HA + PEGDA250 + 3wt% Triton X100 (Sigma Aldrich, USA);
- 35 vol% HA + PEGDA250 + 3wt% Triton X100 (Sigma Aldrich, USA);
- 40 vol% HA + PEGDA250 + 3wt% Triton X100 (Sigma Aldrich, USA).

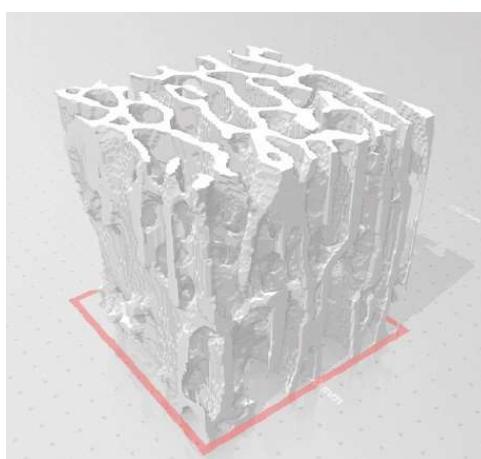
A estabilidade das pastas com 30%, 35% e 40% de carga cerâmica de HA foram investigadas por teste de sedimentação, onde 10 ml de cada suspensão foram vertidos em tubos graduados. Os tubos de medição foram mantidos sem perturbação por 30 dias e a fração do volume de sedimentação foi registrada em função do tempo.

3.8 Parâmetros de impressão

Para as impressões, diversos parâmetros devem ser considerados, entre eles a espessura de camada, velocidade de movimentação da plataforma de impressão, movimento de mergulho da plataforma de impressão, velocidade do sistema de espalhamento.

A primeira ação tomada para a impressão foi a extração de uma região cúbica da parte trabecular do osso a partir da imagem da μ -CT; essa região foi então tratada através de espelhamento, de forma a preservar a porosidade e a estrutura óssea. Esse tratamento através do espalhamento proporcionou uma imagem 3D com dimensões de um cubo com aresta de 10mm (Figura 22). De posse desse cubo, este foi inserido no programa *Creation Workshop*, versão não comercial 1.0.0.75 e foi utilizado como modelo padrão para impressões.

Figura 22 – Imagem 3D da parte trabecular utilizada no padrão de impressão.



Fonte: Elaborada pelo autor

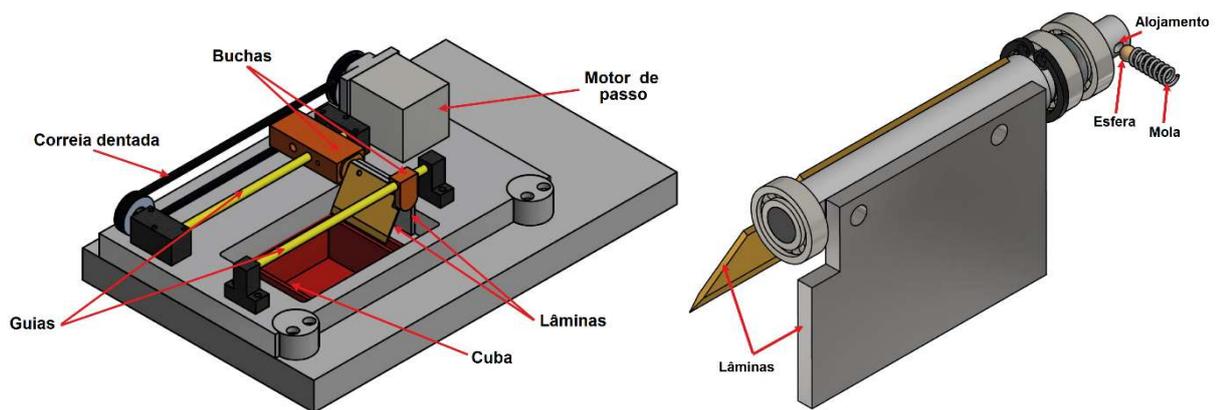
As impressões foram primeiramente realizadas em impressora desenvolvida no Laboratório de Tribologia e Compósitos da EESC, (Figura 23) com projeção de seções utilizando projetor de slides Infocus DLP com lâmpada de mercúrio (2200 lumens) e com o filtro de luz UV removido, em sistema de impressão do tipo *top-down*, e com sistema de espalhamento e nivelamento com solicitação de patente: Sistema de recobrimento com lâminas de ação sequencial para manufatura aditiva por fotopolimerização em cuba, junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial, (Nº de registro BR10202102154) (Figura 24). Para a projeção foi adicionada uma lente de projeção. A área de projeção desse equipamento é de 60 x 45mm, respeitando a razão de aspecto da projeção na impressão de 4:3 (CAMARGO et al., 2021).

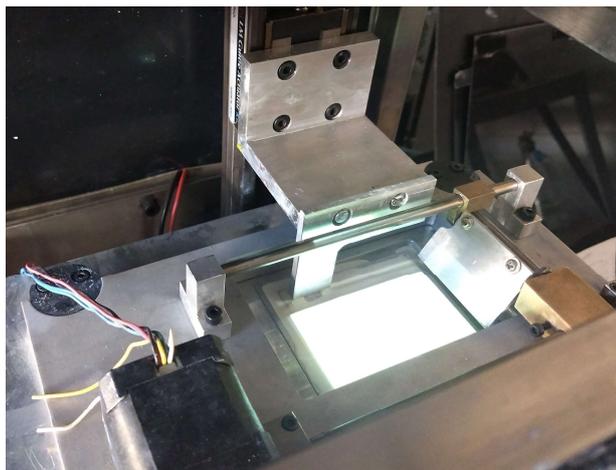
Figura 23 – Impressora utilizada no projeto.



Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 24 – Sistema de espalhamento e nivelamento.





Fonte: Adaptado de (CAMARGO et al., 2021) e elaborada pelo próprio autor

Após experimentos de ajuste de profundidade de cura, a condição que apresentou melhor padrão de impressão foi a seguinte: espessura de camada de 0,1 mm, tempo de exposição de 20 s, velocidade de mergulho de 0,5mm/s, velocidade de elevação de 0,67mm/s, sendo esses os parâmetros de impressão aplicado.

Posteriormente, foi também utilizada a impressora comercial Creality modelo LD-002H, equipamento empregado normalmente para materiais poliméricos com resinas comerciais, cuja projeção acontece no sistema *bottom-up*; para essas impressões foi realizado um teste de espessura de camada em função de diferentes tempos de exposição de luz, expresso na tabela 9. Para as impressões nesse equipamento as suspensões apresentaram uma formulação com menor concentração de carga sólida (35%).

Tabela 9 - Teste de impressão de camadas - tempo de exposição (s) x espessura (mm).

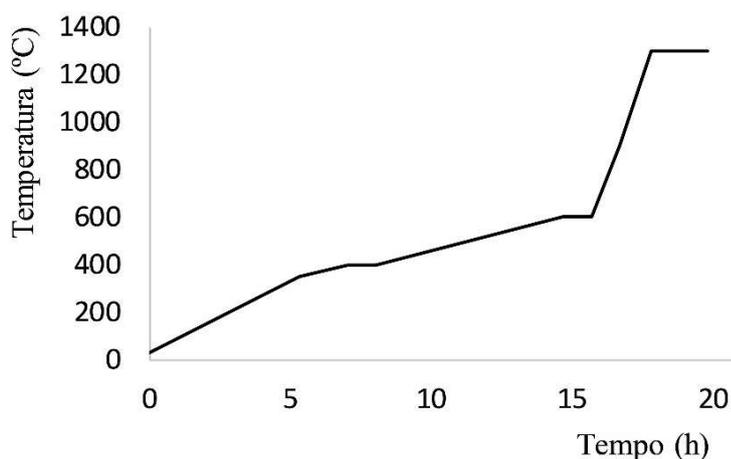
Tempo de exposição (s)	Espessura da camada (mm)
15	0,27
10	0,2
5	0,15
3	0,1
1	0,06

Fonte: Elaborada pelo autor

3.9 Processos de *debinding* e sinterização e obtenção de densidade

As peças impressas foram submetidas aos processos de *debinding* e sinterização a 1300°C por 2 horas em forno de caixa (Blue M, Lindberg) em ambiente de ar, conforme mostrado na Figura 25. A taxa de aquecimento foi reduzida na faixa de temperatura de degradação térmica do monômero usado (componente orgânico principal) (RONCA et al., 2018) para reduzir rachaduras (JOHANSSON et al., 2017; SOKOLOV et al., 2018). Na sequência, a densidade das peças sinterizadas foi medida com base no Princípio de Arquimedes usando uma balança analítica com resolução de 0,01 mg (AUW220D, Shimadzu).

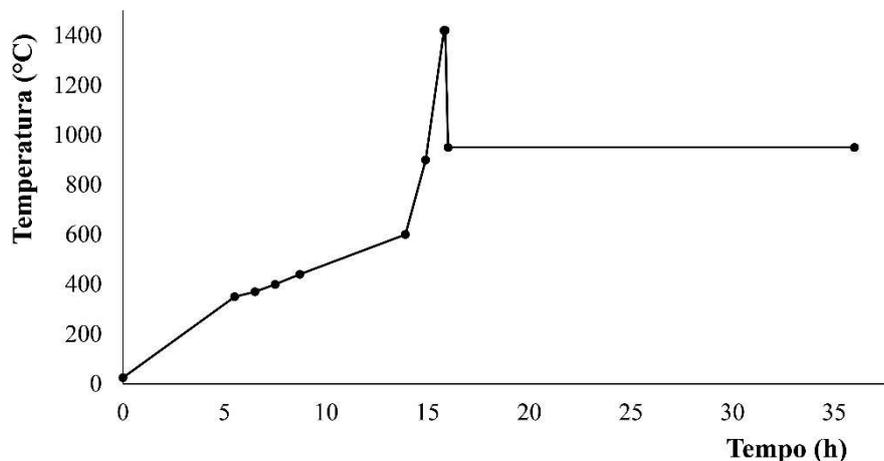
Figura 25 - Curva *debinding* e sinterização.



Fonte: Elaborada pelo autor

Foi realizada também uma segunda metodologia de *debinding* e sinterização denominada *two steps*; para esse processo, a curva está representada na figura 26. O processo de *two steps* pode ser aplicado com sucesso para todos os tipos de cerâmicas, inclusive as biocerâmicas, que é o caso da HA; na maioria das cerâmicas não há crescimento dos grãos ou então um crescimento controlado no tamanho do grão (SUTHARSINI et al., 2018).

Figura 26 - Curva *debinding* e sinterização - *two steps*.

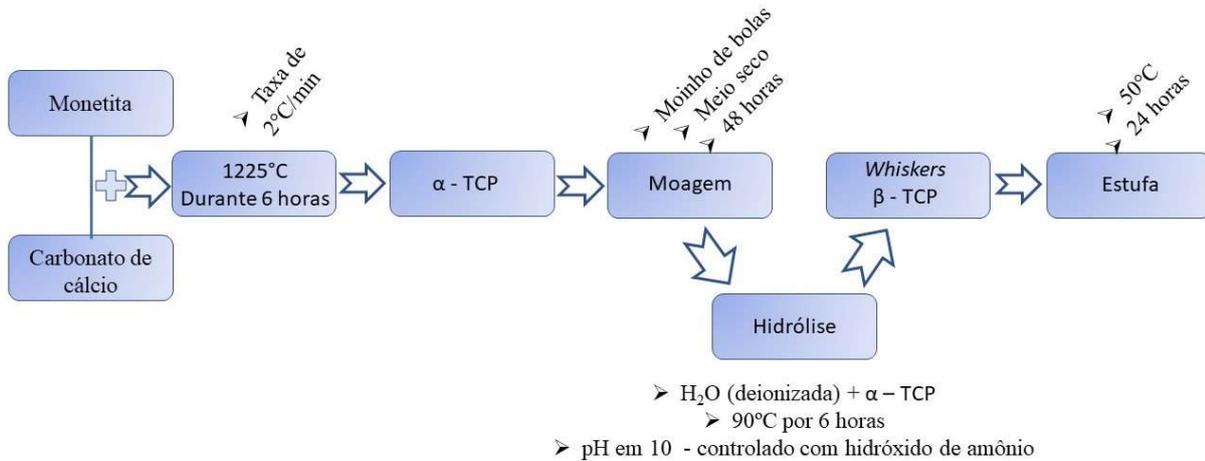


Fonte: Elaborada pelo autor

3.10 Obtenção dos *whiskers*

Para a obtenção dos *whiskers* (Figura 27) foi seguida a rota sugerida por Cardoso (2010), sendo realizada uma homogeneização dos reagentes primários monetita (CaHPO_4) e carbonato de cálcio (CaCO_3) em uma fração molar de 2:1 em almofariz de ágata. Essa mistura foi então aquecida até 1225°C com taxa de aquecimento de $2^\circ\text{C}/\text{min}$, patamar de 6 horas, sendo obtida a sinterização do elemento α -TCP; na sequência o material passou por um processo de moagem em moinho de bolas, em meio seco durante 48 horas.

Uma vez obtido o α -TCP moído, este passou por um processo de hidrólise no qual para cada 1,56g foram adicionadas 100ml de água deionizada; essa mistura foi então aquecida e mantida a 90°C durante um período de 6 horas, mantendo o controle de pH com menor variação possível através da adição de hidróxido de amônio (NH_4OH) – o pH foi mantido em torno de 10. Esse material foi filtrado em água destilada e o resultante permaneceu em estufa com temperatura de 50°C durante um período de 24 horas.

Figura 27 - Fluxograma de obtenção dos *whiskers*.

Fonte: elaborada pelo autor

3.11 Testes de compressão/flexão e elementos finitos

Os testes de compressão e de flexão foram realizados em máquina eletrônica de ensaios universal MTS® modelo 370.02 *Bionix Servohydraulic Load Frame*, com célula de carga de 15kN, sendo aplicada nos ensaios velocidade de 0,1mm/s.

Para os testes de compressão foram testados cinco corpos de prova referentes aos ossos miméticos impressos via VAT, além disso foram testados 10 cilindros obtidos através de compactação isostática somente de HA e outros 10 cilindros obtidos através de compactação isostática da mistura de HA + *Whiskers* (as dimensões médias dos cilindros após a sinterização foram 9,57x5,16 mm de altura e diâmetro, respectivamente), enquanto a área projetada para os *scaffolds* sinterizados foi de 72mm², e todos os testes foram baseados na norma ASTM C1424-15 (ASTMC1424–15, 2021).

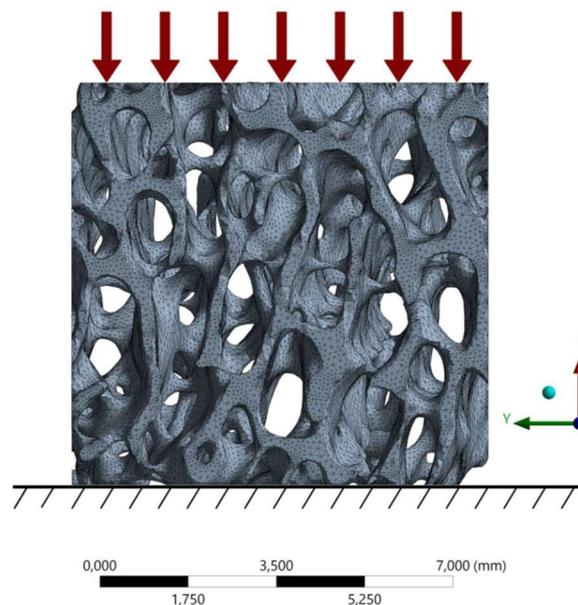
Os testes de compressão dos ossos miméticos foram reproduzidos utilizando o método dos elementos finitos (FEM) no *Ansys Mechanical*; contudo, antes de efetuar a simulação, o arquivo STL do osso trabecular foi editado utilizando o software livre *Autodesk MeshMixer*. Foram realizadas as seguintes ações no arquivo STL: dimensionamento do arquivo para corresponder às dimensões da peça sinterizada impressa 3D (7,07x8,25x8,55mm), removendo defeitos de malha (entende-se por defeitos de malha: regiões não conectadas, vértices não múltiplos, furos de malha); corte de uma fatia (<0,25mm) das faces para torna-las mais planas

para a aplicação das cargas; remoção de seções do material muito finas que seriam altamente difíceis de simular e não contribuiriam efetivamente de forma considerável para os valores de rigidez do material.

O arquivo STL editado foi então importado para o *Ansys Space Claim* como um corpo facetado conectado; o arquivo foi corrigido automaticamente em busca de eventuais erros e convertido em um sólido com faces mescladas antes de ser exportado para o *Ansys Mechanical*.

As propriedades da HA adotadas para a simulação foram obtidas em Ravaglioli, Krajewski, (1991), com densidade 3100kg/m^3 , módulo de Young (elasticidade) 100GPa e coeficiente de Poisson $0,28$, além disso o material foi considerado linear elástico e isotrópico. Após a exportação, a malha resultante apresentou 493.867 elementos e 836.718 nós (com comprimento médio dos elementos de $0,08\text{mm}$), com uma resolução automática gerada pelo *Ansys Mechanical* nos tetraedros de segunda ordem igual a 6. Para a simulação, a parte inferior do osso digital foi restrita de deslocamento com apoio sem atrito ($x=0$). A figura 28 representa o sólido em malha com uma representação esquemática da carga aplicada.

Figura 28 – Malha FEM do modelo ósseo com uma representação esquemática das condições de contorno e cargas.



Fonte: ERBERELI et al. (2022)

Os testes de flexão foram realizados com a finalidade de verificar a influência da presença dos *whiskers* em barras prensadas isostaticamente e sinterizadas (dimensão média = 4,01x4,31x30mm). A configuração das amostras foi realizada com a concentração de 40% de HA, que foi a maior concentração possível de impressão, sendo testadas duas diferentes situações; a primeira em que foi acrescida a quantidade de 1%wt de *whiskers* e a segunda com 2,8%wt *whiskers*.

3.12 Degradação *in vitro* e variação de pH

A degradação das peças impressas e já sinterizadas foi estudada avaliando a perda de massa e também a variação do pH, sendo as medidas realizadas após 3, 7, 14, 30, 60 e 120 dias de imersão em solução tampão fosfato-salino (PBS). Cinco amostras (n=5) tiveram suas massas medidas e na sequência foram imersas em 5 ml de PBS (10 mM e pH 7,4) e mantidas em estufa com temperatura controlada em 37°C. Após cada período mencionado acima as amostras foram retiradas e imediatamente tiveram suas massas medidas; as amostras foram novamente colocadas na estufa e após 24 horas tiveram suas massas medidas novamente, com isso foi possível analisar a perda de massa em função da comparação da massa inicial e final para cada amostra individual nos diferentes períodos. Todas as amostras possuíam inicialmente valores de massa próximos a 0,1g, e todas as medidas foram realizadas em balança analítica com resolução de 0,01 mg (AUW220D, Shimadzu).

Para o registro das medidas de pH da solução tampão de todos os períodos em que as amostras ficaram em estudo foi utilizado o medidor de bancada OHAUS, modelo ST2100-F com faixa de medição de pH = 0,00 – 14,00, exatidão $\pm 0,01$ e resolução de medida 0,01.

3.13 Citotoxicidade

O estudo de viabilidade celular para determinar a citotoxicidade foi realizado em parceria com a Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) – campus Baixada Santista no Laboratório de Biomateriais e Engenharia de Tecidos (LaBETec).

Para esse estudo foram utilizadas as células pré-osteoblásticas (MC3T3-E1) e fibroblastos murinos (L929). As células MC3T3-E1 foram cultivadas em garrafas com meio modificado alfa (α -MEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino. As células L929 foram cultivadas em garrafas com meio *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino. As duas linhagens celulares foram cultivadas à 37°C com CO₂ de 5%, sendo mantidas em subconfluência com troca de meio de 2-3 dias.

O ensaio colorimétrico de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il] -2,5-difeniltetrazólio) foi realizado de forma indireta utilizando os extratos dos materiais. Esses extratos foram preparados a partir de 1g do material para 50 mL de meio de cultura, sendo mantido em estufa à 37°C com CO₂ de 5% por um período de 24 horas. Após esse período, esse extrato foi filtrado com filtro de seringa (0,22 μ m – KASVI) sendo considerada a concentração de 100%, as concentrações de 50% e 25% foram feitas a partir de diluições desse extrato inicial com meio de cultura (1:2 e 1:3, respectivamente).

As células foram plaqueadas na concentração de 10³ em placas de 96 poços e foram definidos os grupos para teste: controle (CG), onde as células foram cultivadas com meio de cultura *standard*; 100%, 50% e 25%, que foram as concentrações dos extratos utilizados. As placas foram incubadas em estufa à 37°C com CO₂ de 5% por 1, 3 e 7 dias experimentais. Após esse período, a placa foi lavada com PBS (Tampão fosfato-salino – Vitrocell) e foram colocados nos poços 50 μ L de solução de MTT (0,5 mg/mL), sendo as placas mantidas em estufa à 37°C protegidas da luz por 3 horas. Depois, foi colocado em cada poço 100 μ L de isopropanol e as placas foram levadas para o leitor de placas (Epoch-Biotek) para leitura em 540 nm.

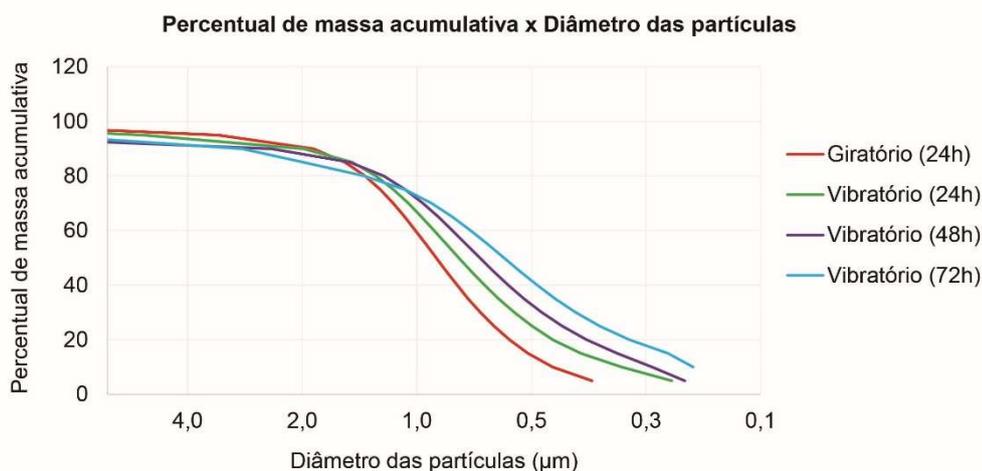
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Partes dessa seção foram publicadas em artigo de periódicos (ERBERELI et al., 2022)

4.1 Evolução da moagem do pó

A Figura 29 mostra a evolução da moagem na qual após o processo ocorrer durante 24 horas em moinho de bolas seguido de moagem vibratória por 72 horas foi obtido diâmetro médio equivalente de 0,141 μm com 14,2% de fração nanométrica (10 a 100 nm).

Figura 29 - Curvas de moagem.



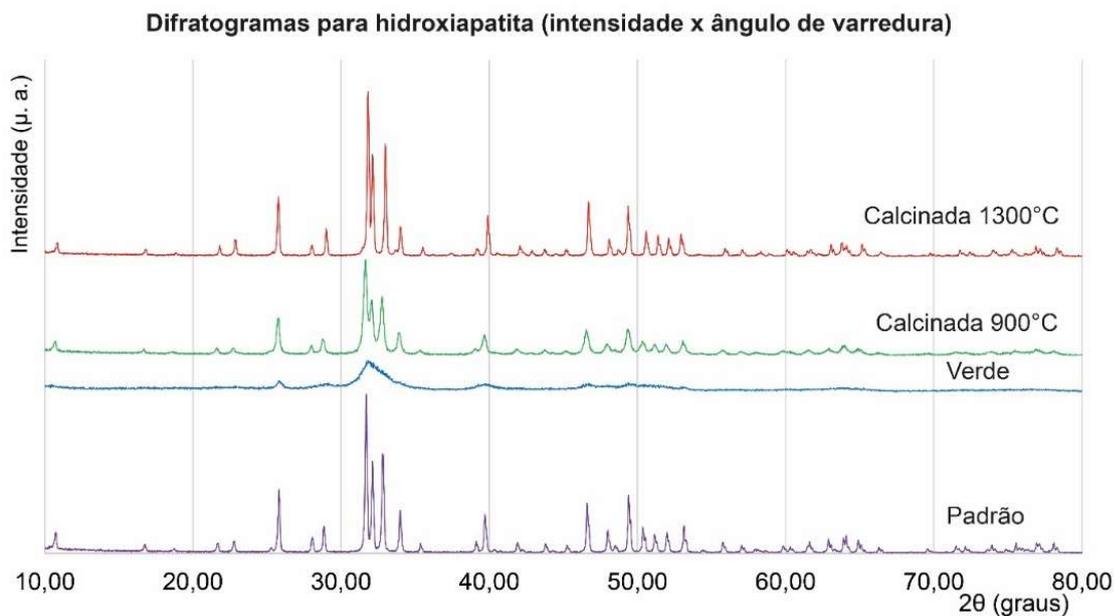
Fonte: Elaborada pelo autor

4.2 Difratogramas comparativos da hidroxiapatita

A figura 30 apresenta difratogramas da hidroxiapatita bovina comparativos em: padrão (Sigma Aldrich – 289396 – este material apresenta pureza que atende a norma ASTM 1185-03 (*Standard Specification for Composition of Hydroxyapatite for Surgical Implants*) e é comercializado para implantes), verde (não calcinada e sem nanomoagem), calcinada à temperatura de 900°C e calcinada à 1300°C (a duas últimas com a aplicação da nanomoagem).

É notória a semelhança entre os difratogramas e picos de intensidade de energia (cerca de 32° da varredura) constatando os valores padrão: 2578 μ .a., verde: 526 μ .a., calcinada à 900°C: 1560 μ .a. e calcinada à 1300°C: 2686 μ .a., verificando assim que os valores para a hidroxiapatita bovina calcinada à 1300°C apresentam, comparativamente, picos mais intensos que a padrão Sigma Aldrich.

Figura 30 - Difratogramas comparativos da hidroxiapatita.



Fonte: Elaborada pelo autor

O osso bovino, *in natura*, apresenta hidroxiapatita com baixa cristalinidade. A calcinação deste material além de completar o processo de remoção da parte orgânica, colágeno e proteínas é também essencial para a ceramização do material, ou seja, obtenção de pós para conformação e sinterização de implantes em condições de usabilidade. A moagem submicrométrica com considerável fração nanométrica do material calcinado favorece a sinterização de corpos em temperaturas relativamente mais baixas, que evita transformações de decomposição e/ou precipitação de fases secundárias de baixa bioatividade.

4.3 Estudos de impressão

4.3.1 Ensaio com resinas comerciais

Os primeiros ensaios de impressão foram realizados com a resina comercial Anycubic para validar o processo de impressão, foram impressos corpos de prova cúbicos e barras, com diferentes tempos de exposição e diferentes espessuras de camadas. A figura 31 ilustra alguns corpos de prova impressos.

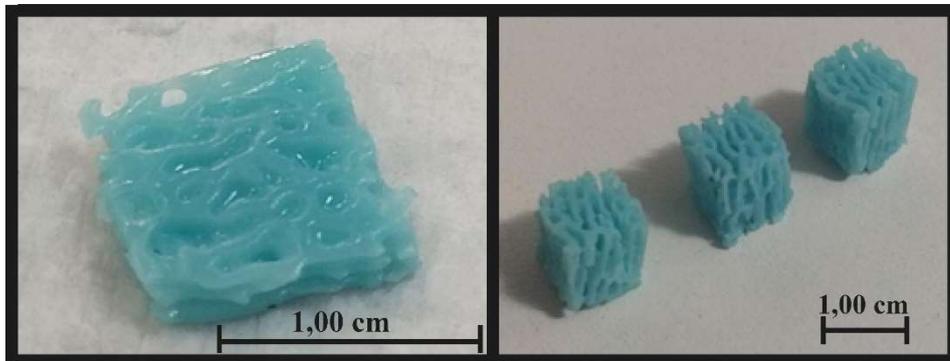
Figura 31 – Figura ilustrativa de alguns dos corpos de prova impressos para teste de impressão.



Fonte: Elaborada pelo autor

Uma vez verificada a possibilidade de impressão, os testes passaram a acontecer utilizando um corpo de prova proveniente da imagem obtida através de microtomografia. Para essa impressão foi necessário ajuste em relação ao tempo de exposição, visto que ocorreu o desprendimento dos corpos impressos da base (Figura 32 – lado esquerdo). Após os ajustes serem realizados, a impressão decorreu de forma satisfatória, obtendo os corpos de prova mimetizados com dimensões de 10mm x 10mm x 10mm. (Figura 32 - lado direito).

Figura 32 - Testes com resinas comerciais – esquerda – primeiro teste de impressão com resina comercial Anycubic. Direita – testes com resinas comerciais de ossos mimetizados.



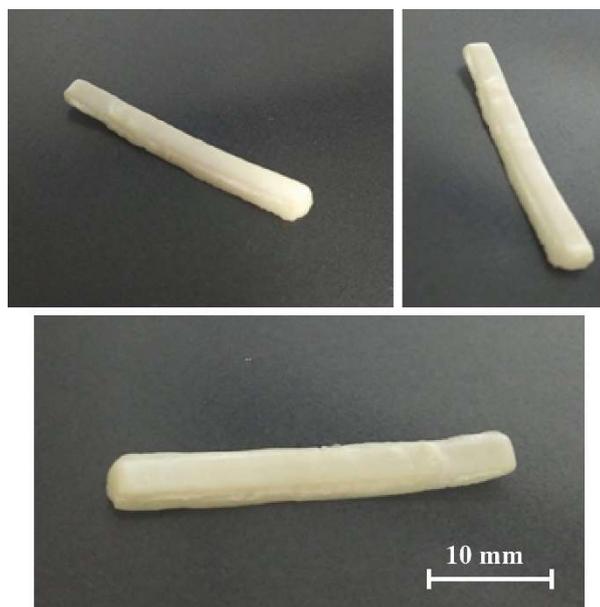
Fonte: Elaborada pelo autor

4.3.2 Ensaio com hidroxiapatita comercial

Nas primeiras formulações de pastas cerâmicas com uso de HA comercial foram testados tempos de exposição de 10 s até 180 s, para primeiramente, ter a comprovação da polimerização. Com exposição de 10 s, a polimerização dessas formulações não apresentou fotopolimerização, fato que ocorreu para tempos de exposição a partir de 20 s, sendo então esse o valor utilizado para os testes.

As formulações foram compostas com baixas cargas cerâmicas (cerca de 15%) e com utilização de diferentes combinações de: HA, resina, xilol, NMP, PABA, PVB, álcool isopropílico. A figura 33 representa as primeiras peças impressas com HA comercial; os constituintes, a quantidade em massa, densidade e porcentagem volumétrica de cada um desses elementos estão apresentadas na tabela 10.

Figura 33 – Imagem dos corpos de prova relativos à primeira impressão com HA comercial.



Fonte: Elaborada pelo autor

Tabela 10 – Formulação de resina para impressão com HA comercial.

Material	Quantidade (g)	Densidade (g/cm³)	Volume (%)
HA	50,5	3,16	16
PEGDA575	18,88	1,18	16
Xilol	12,96	0,864	15
NMP	26,78	1,03	26
Ácido Esteárico	1,27	0,941	1,35
PABA	0,07	1,37	0,05
PVB	0,65	1,08	0,6
Álcool Isopropílico	11,79	0,786	15
Etileno Glicol	11,1	1,11	10
TOTAIS	134	-	≈100

Fonte: Elaborada pelo autor

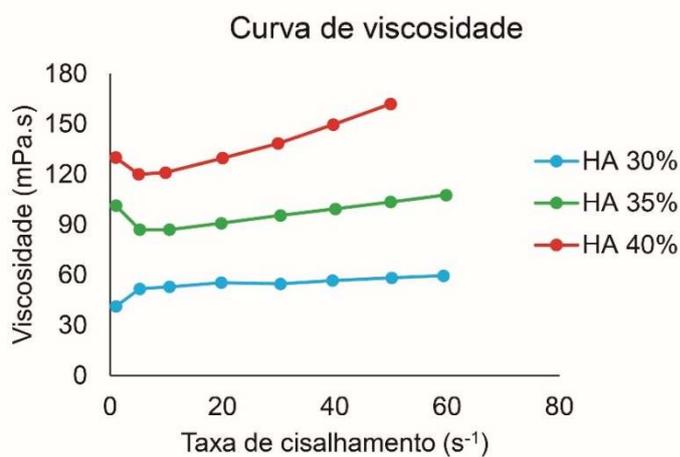
Essas primeiras impressões apresentaram aspecto elástico bastante realçado, muito provavelmente em função da alta quantidade de dispersantes e solventes, fato esse que colaborou para as formulações seguintes possuírem a menor quantidade possível desses elementos.

Após as primeiras tentativas de impressão com HA comercial, os testes foram paralisados para análise de novas formulações com menores cargas de elementos que não fossem resina, cerâmica, dispersante e fotoinicializador; foram também aplicados testes com diferentes cargas cerâmicas objetivando a otimização máxima da quantidade de pó cerâmico.

4.4 Ensaio de viscosidade e estabilidade de resinas

Os testes de viscosidade foram realizados com pastas cerâmicas com o monômero PEGDA 250 e 3%wt de Triton X100, onde ocorreu a variação do carregamento cerâmico para analisar os efeitos causados pelos sólidos na viscosidade da suspensão. Essa influência de carregamento sólido pode ser verificada na figura 34 onde está a relação de viscosidade com a taxa de cisalhamento de 30 s^{-1} .

Figura 34 - Testes de viscosidade aplicados em pastas com diferentes carregamentos de HA.



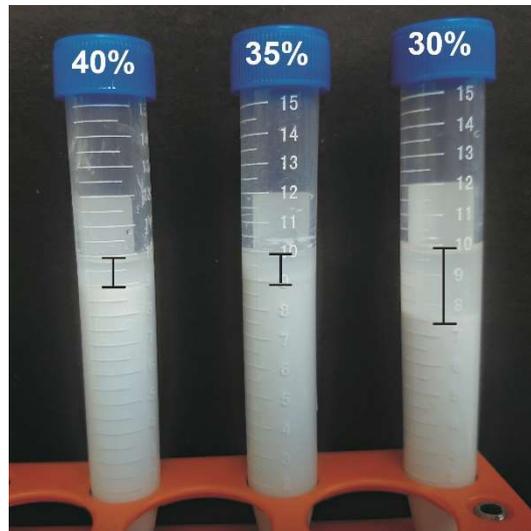
Fonte: Elaborada pelo autor

De acordo com Wang et al. (2019), a fim de atender às necessidades de autonivelamento para impressão, as suspensões cerâmicas devem apresentar viscosidade inferior a $3 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ a 30s^{-1} taxa de cisalhamento, portanto a partir da figura 34 pode-se notar valores inferiores ao especificado e, conseqüentemente, todas as pastas cerâmicas formuladas nesse trabalho atenderiam as necessidades de impressão.

A estabilidade das pastas com 30%; 35% e 40% de carga cerâmica de HA foram investigadas por teste de sedimentação, onde 10ml de cada suspensão foram vertidos em tubos graduados; esses tubos foram mantidos sem perturbação por 30 dias e a fração do volume de sedimentação foi registrada em função do tempo.

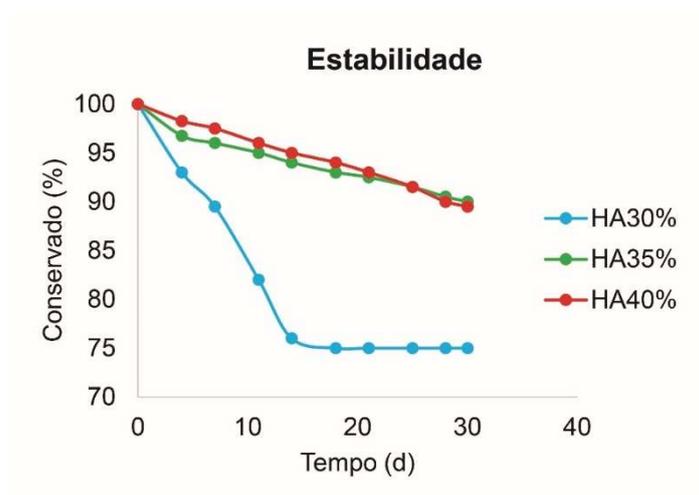
Na imagem 35 é possível verificar o teste de estabilidade realizado com as pastas cerâmicas e suas respectivas cargas de HA após um período de 30 dias de testes; enquanto na figura 36, é possível verificar graficamente o comportamento das amostras ao longo do período de ensaio. Nota-se que o carregamento de 30% de HA apresentou uma maior taxa de segregação atingindo um total de 25% durante o ensaio, enquanto as amostras com cargas de 35% e 40% de carregamento apresentaram taxa segregação de 10% após os mesmos 30 dias de ensaios, com um comportamento análogo de segregação ao longo do ensaio. De acordo com Wang et al. (2019) a fim de atender as necessidades de autonivelamento para impressão, as suspensões cerâmicas devem apresentar viscosidade inferior a $3 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ a 30s^{-1} de taxa de cisalhamento; portanto a partir da figura 34 pode-se notar valores inferiores ao especificado e, conseqüentemente, todas as pastas cerâmicas formuladas nesse trabalho atenderiam as necessidades de impressão.

Figura 35 – Ensaio de estabilidade das pastas cerâmicas com diferentes concentrações de cargas de HA.



Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 36 – Taxa de segregação para ensaios de 30 dias para diferentes carregamentos de HA.



Fonte: Elaborada pelo autor

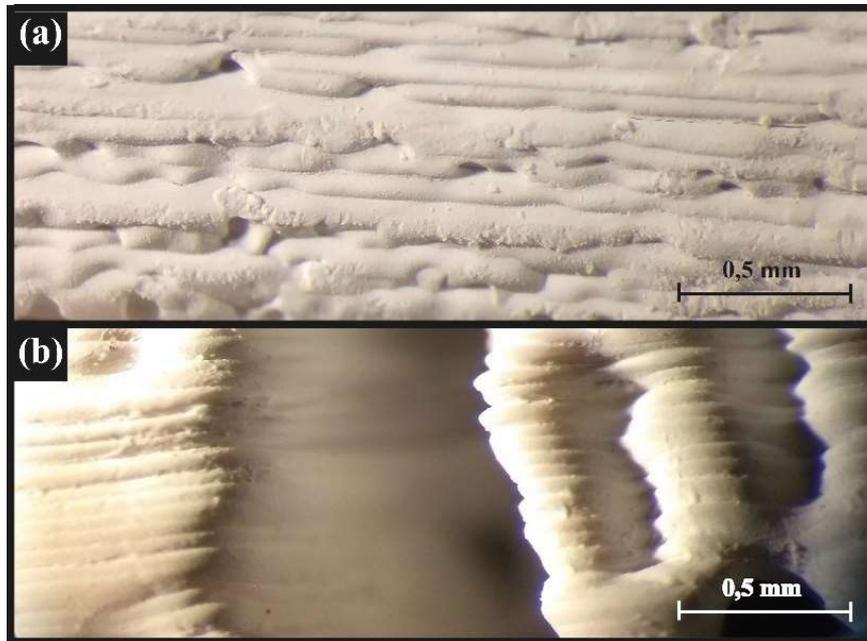
4.5 Impressões com hidroxiapatita de origem bovina

Após a realização dos testes de viscosidade e de estabilidade das diferentes pastas cerâmicas, a opção em prosseguir com os testes de impressão foi pela barbotina com 40% de carga cerâmica. Essa escolha foi realizada pelo fato de, mesmo com alta carga de pó cerâmico, a pasta apresentava estabilidade e também viscosidade suficientes para uma boa impressão; além disso, valores maiores de cargas cerâmicas também foram formulados, contudo não proporcionaram viabilidade de impressão em função de não apresentarem suficiente viscosidade para realização dos testes.

A pasta cerâmica utilizada para os testes de impressão apresentou a seguinte formulação: 40 vol% HA de origem bovina com controle de rastreabilidade; PEGDA250; 3wt% Triton X100; fotoinicializador Phenylbis na quantidade de 2wt%, e essa barbotina ficou durante 24 horas em moinho de bolas para uma perfeita homogeneização dos materiais.

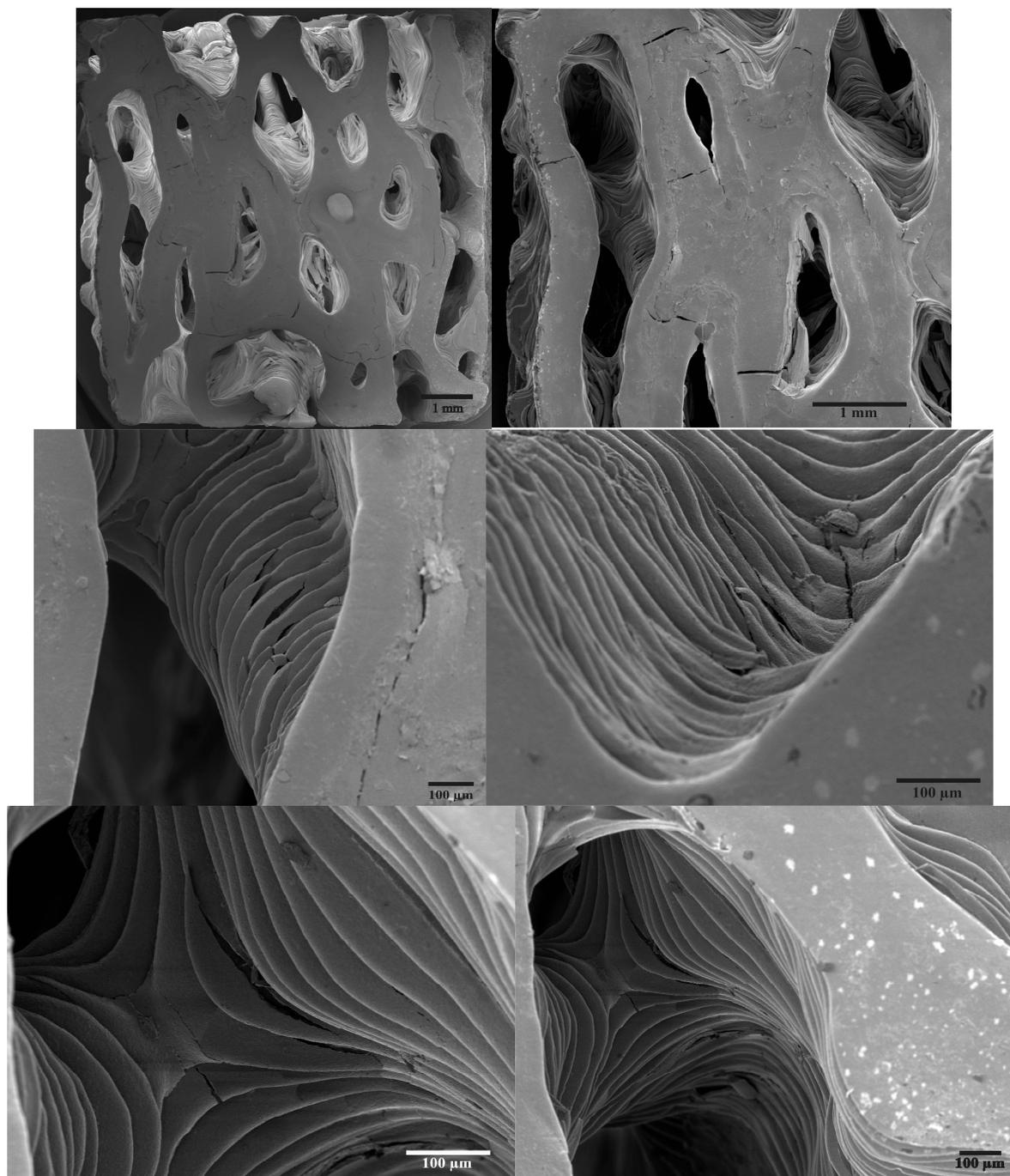
Definida a barbotina que seria utilizada nos testes de impressão, o próximo passo foi definir o tempo de exposição à luz que cada camada teria. Testes previamente realizados com pastas cerâmicas com HA comercial indicaram tempo de exposição de 20 segundos para formação de camadas, entretanto o fato de as barbotinas com HA de origem bovina com rastreabilidade apresentarem uma considerável redução na quantidade de componentes de sua formulação em comparação com as pastas testadas anteriormente, os testes com essa nova formulação tiveram tempo de exposição de 10; 15 e 20 segundos; na figura 37 é possível observar as camadas de impressão nos corpos de prova e também nos ossos mimetizados através de captura em microscópio ótico, na sequência a figura 38 apresenta as mesmas camadas de impressão de forma mais detalha com a visualização através de MEV.

Figura 37 – Imagens das camadas de impressão. (a) – impressão de corpos de prova; (b) – ossos mimetizados.



Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 38 – Detalhes das camadas de impressão através de MEV.

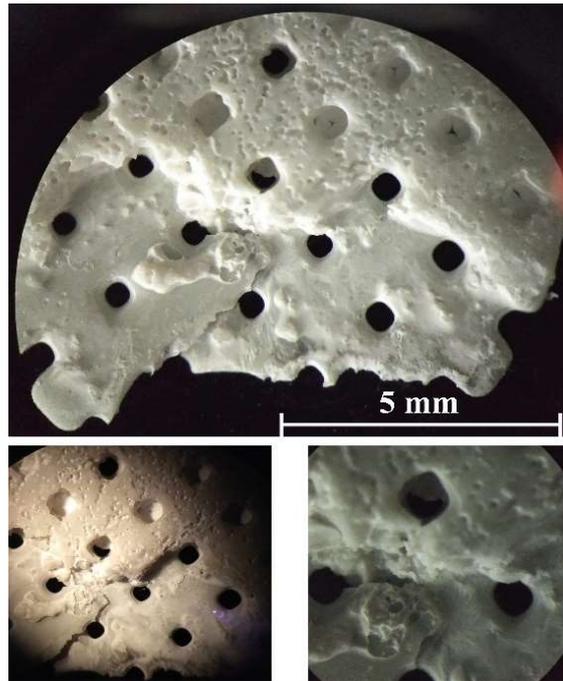


Fonte: Elaborada pelo autor

Os testes de impressão foram iniciados com tempo de exposição de camada de 10 segundos, sendo constatado a fotopolimerização das camadas, entretanto ocorreu desprendimento durante a impressão, não sendo possível a conclusão das impressões. Os testes de impressão de *scaffolds* com tempo de exposição de 10 segundos foram descartados em

função dos problemas de desprendimento das camadas, como pode ser verificado na imagem 39.

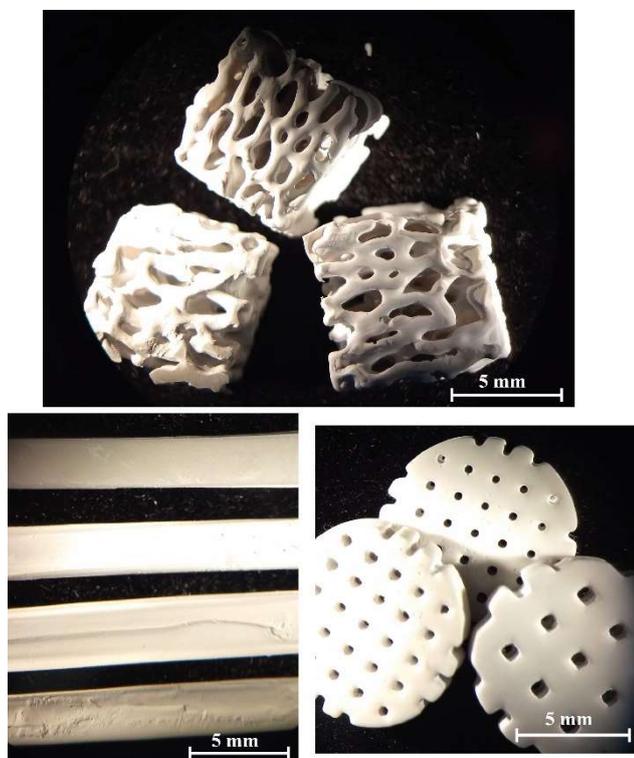
Figura 39 – Imagem dos *scaffolds* impressos com pasta cerâmica com carregamento de 40%wt de HA bovina e tempo de fotopolimerização das camadas de 10 segundos.



Fonte: Elaborada pelo autor

Na sequência os testes de impressão passaram a ter tempo de exposição de 15 segundos para formação das camadas; nesses testes foi possível realizar a impressão de corpos de prova no formato de barras, *scaffolds* com diferentes configurações e também de osso trabecular mimetizado. Na figura 40 é possível verificar os corpos de prova, os *scaffolds* e também os ossos mimetizados impressos nos testes.

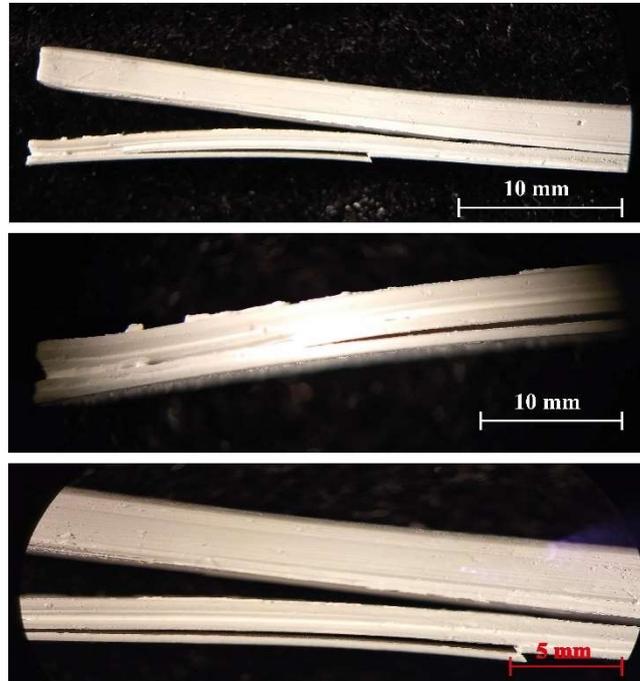
Figura 40 - Imagem dos ossos miméticos, corpos de prova e *scaffolds* impressos com pasta cerâmica com carregamento de 40%wt HA bovina e tempo de fotopolimerização das camadas de 15 segundos.



Fonte: Elaborada pelo autor

Nas impressões dos *scaffolds* e também dos modelos ósseos trabeculares miméticos não foram observados problemas nas impressões, contudo nos corpos de prova foi identificada delaminação das camadas, como pode ser verificada na figura 41.

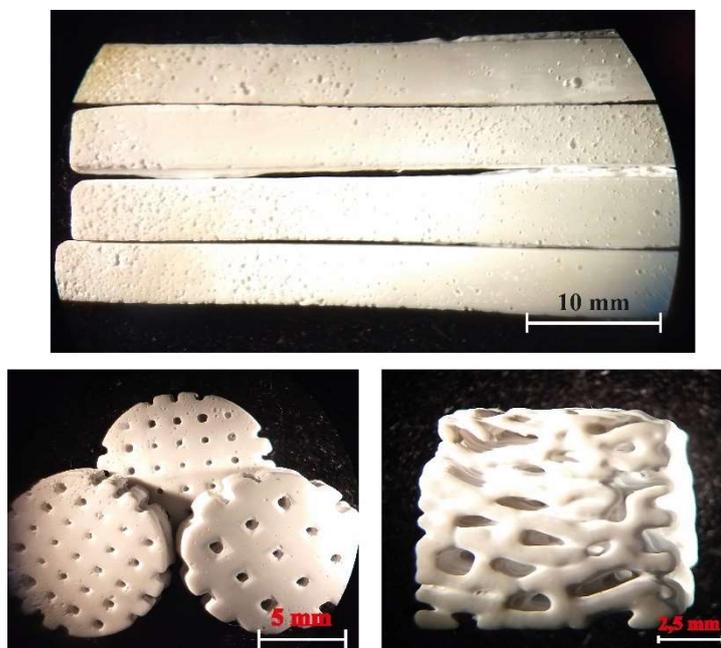
Figura 41 – Imagens demonstrando a delaminação das camadas nos corpos de prova com tempos de exposição à luz para formação da camada de 15 segundos.



Fonte: Elaborada pelo autor

Os testes seguintes foram realizados com tempo de exposição das camadas de 20 segundos e nesse caso não foram observados problemas nas impressões de corpos de prova, *scaffolds* e modelos ósseos miméticos como pode ser verificado na figura 42. Então, é possível afirmar que, como resultados de impressão, o tempo de exposição de 20 segundos como melhor opção.

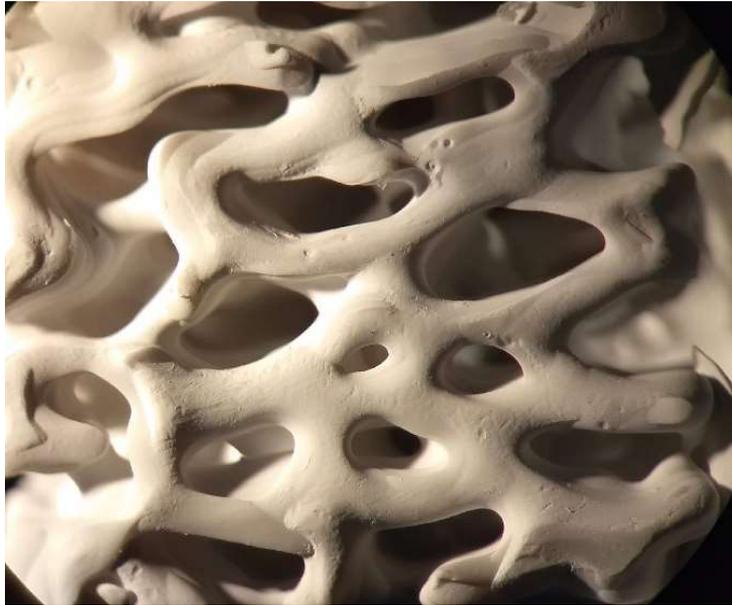
Figura 42 - Imagem dos ossos miméticos, corpos de prova e *scaffolds* impressos com pasta cerâmica com carregamento de 40%wt HA bovina e tempo de fotopolimerização das camadas de 20 segundos.



Fonte: Elaborada pelo autor

Na figura 43 tem-se em destaque a impressão de um osso trabecular mimético com a considerada melhor condição de impressão, na qual a pasta cerâmica apresenta carregamento de 40%wt de HA bovina com rastreabilidade, com tempo de exposição para a formação da camada de 20 segundos, espessura de 0,1mm; velocidade de mergulho: 0,5mm/s e velocidade de elevação: 0,67mm/s.

Figura 43 – Destaque de impressão de osso trabecular.



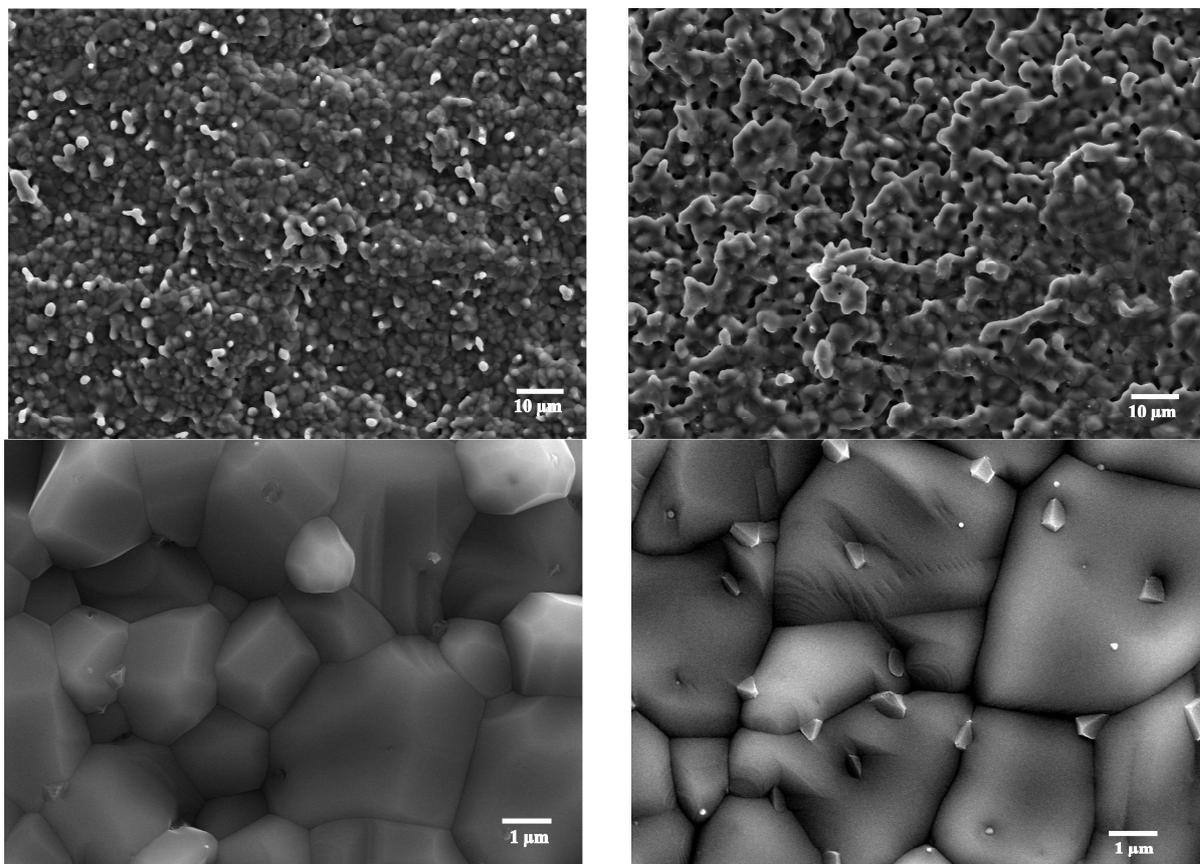
Fonte: Elaborada pelo autor

4.6 Processos de *debinding* e sinterização

O processo de *debinding* aconteceu de forma que todos os orgânicos presentes nas formulações das barbotinas fossem eliminados, além disso foram realizadas duas diferentes curvas de sinterização para que pudesse ser verificada a influência do processo denominado *two steps*, uma vez que, mediante a utilização desse processo pode ocorrer um crescimento controlado no tamanho do grão (SUTHARSINI et al., 2018), cuja vantagem poderia ser o aumento da densidade dos elementos impressos.

Através das imagens de MEV (figura 44), é possível verificar que o processo de *two steps* efetivamente proporcionou o esperado crescimento de grãos, visto que no processo *one step* as dimensões dos grãos apresentavam de maneira geral um diâmetro da ordem de $3,5\mu\text{m}$, enquanto no processo *two steps* o diâmetro médio apresentou valores da ordem de $5\mu\text{m}$.

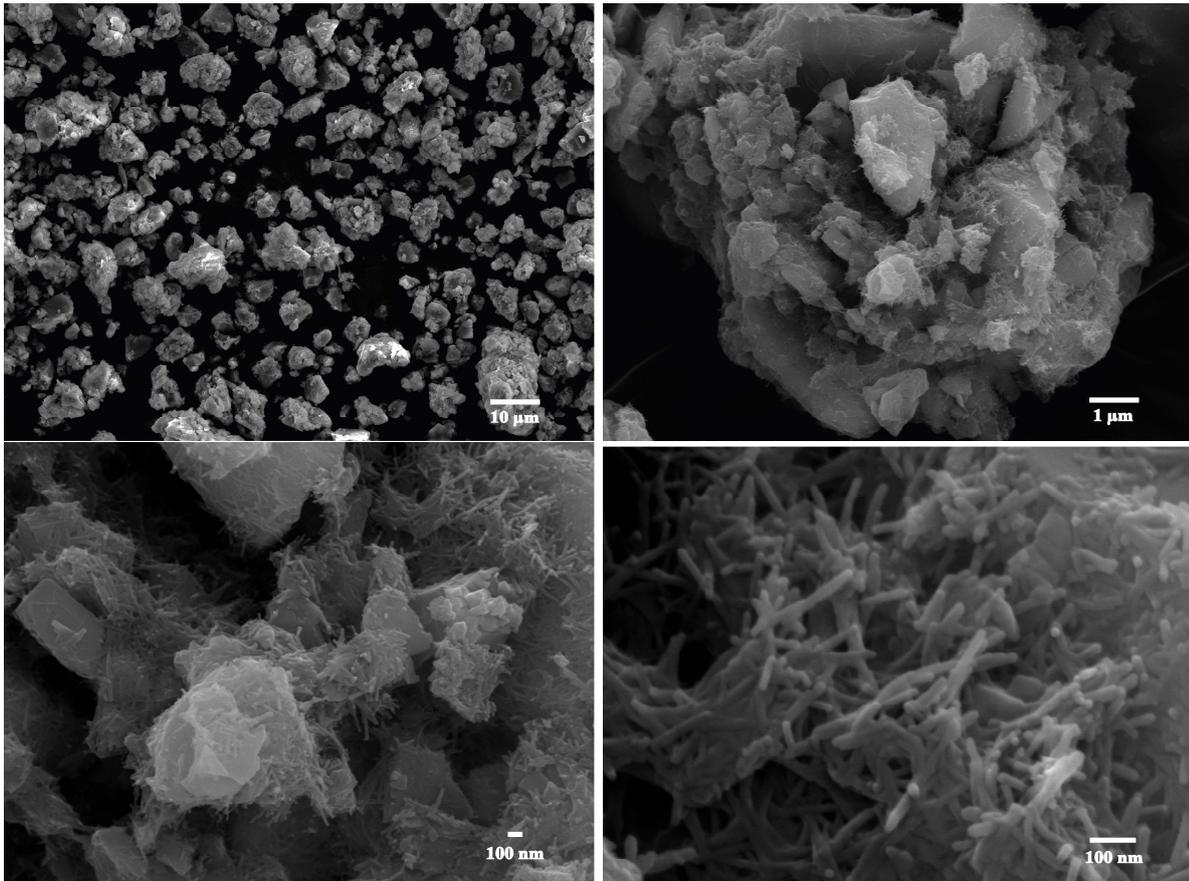
Figura 44 – Imagens das peças sinterizadas pelos processos *one step* (lado esquerdo) e *two steps* (lado direito).



Fonte: elaborada pelo autor

4.7 Obtenção de whiskers

A obtenção dos *whiskers* ocorreu basicamente em duas etapas, uma primeira, em que os elementos primários foram transformados em α -TCP; nessa etapa, a partir do processo de sinterização à temperatura de 1225°C com taxa de aquecimento de 2°C/min e um patamar de 6 horas, o resultado final já apresenta um formato de bastonetes ou agulhas (o comprimento é consideravelmente maior que o diâmetro); a seguir são apresentadas imagens do pó obtido nessa etapa; de forma geral regularmente as dimensões dos diâmetros são da ordem de 20nm, enquanto o comprimento da ordem de 200nm.

Figura 45 - Imagens do pó α -TCP.

Fonte: elaborada pelo autor

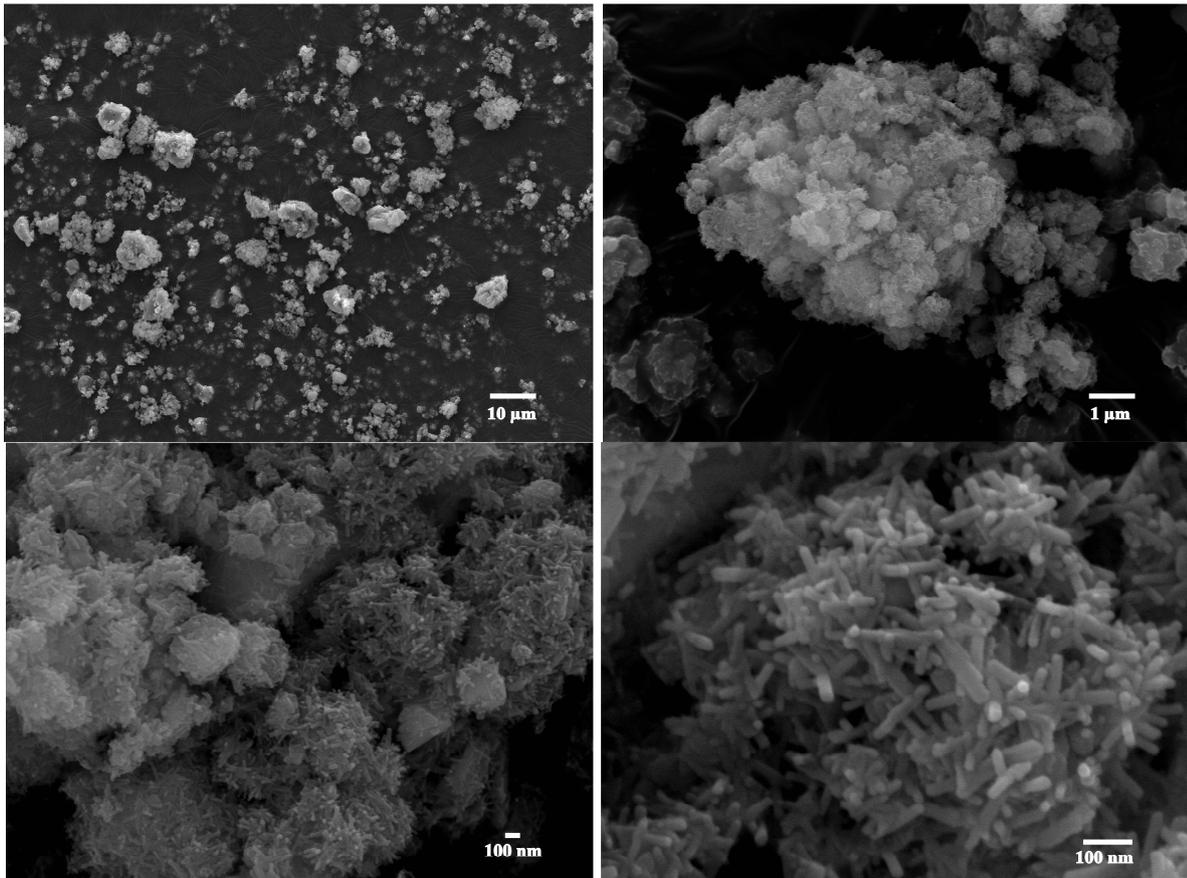
O material α -TCP foi então moído por um período de 48 horas em moinho de bolas e, na sequência, foi realizado um processo de hidrólise de 6 horas a 90°C com controle de pH em 10, feito através da adição de hidróxido de amônio (NH_4OH), foram realizadas duas filtrações do produto final, ilustrado na figura 46 a seguir.

Figura 46 – Imagens do processo de hidrólise e produto final após secagem durante 24 horas em estufa.



Fonte: elaborada pelo autor

A imagem 47 mostra o pó de β -TCP obtido no processo, ao qual as características de *whiskers* foram mantidas; entretanto para esse pó, as imagens de MEV não forneceram de precisão dimensional, porém aparentemente as dimensões são menores que o *whiskers* do pó α -TCP, uma aproximação indica que regularmente os diâmetros apresentaram valores menores que 10nm, e os comprimentos da ordem de 100nm.

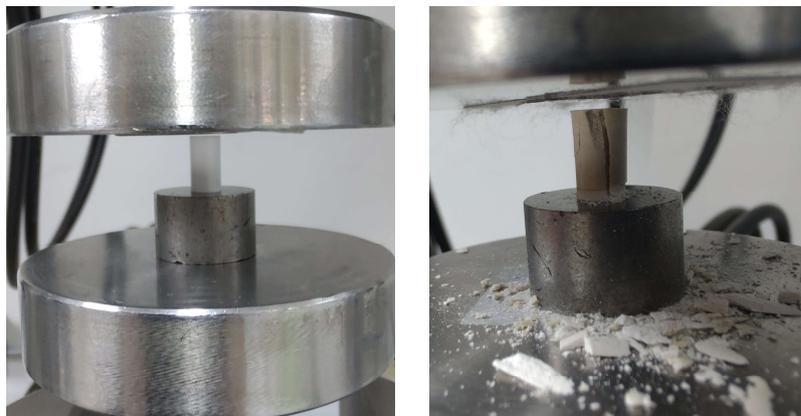
Figura 47 - Imagens do pó β -TCP.

Fonte: elaborada pelo autor

4.7 Testes de compressão/flexão e elementos finitos

Os ensaios de compressão dos corpos cilíndricos (figura 48) apresentaram tensão média de ruptura de 280 ± 60 MPa; esse valor está de acordo com dados da literatura para valores associados à HA (RAVAGLIOLI; KRAJEWSKI, 1991).

Figura 48 – Imagens de pré e pós teste de compressão dos corpos cilíndricos, respectivamente.



Fonte: Elaborada pelo autor

Os ossos miméticos que tinham dimensões 1cm de cada lado no estado verde (pós impressão), passaram a ter dimensões de: $7,07\pm 0,19 \times 8,25\pm 0,12 \times 8,55\pm 0,07$ mm após a sinterização simples (sem atmosfera controlada ou vácuo), com uma densidade relativa de 82%, valor ligeiramente inferior ao relatado por outros estudos (85-90%) (SUDAN et al., 2020; YAO et al., 2021); entretanto, existe a possibilidade de melhorar esse valor com ações do tipo: aumento da carga sólida, aumento na temperatura de sinterização (atentando-se ao fato de não alterar a estrutura da HA) ou ainda o tempo de permanência da sinterização.

Comparativamente aos cilindros, os ossos miméticos impressos apresentaram um comportamento mais complexo nos testes de compressão (figura 49), como as peças impressas possuem diversas pequenas conexões trabeculares, a distribuição da tensão não é uniforme e, portanto, pequenas rupturas vão ocorrendo ao longo do teste até a ruptura final do osso mimético. Durante os testes, a primeira ruptura ou ruptura parcial da estrutura acontece com valores da ordem de 90 ± 50 N, e a carga última de ruptura atingiu valores de 360 ± 104 N; isso apresentado e levando-se em consideração a área projetada do *scaffold*, é possível afirmar que os ossos miméticos apresentam uma tensão última de $5,00\pm 1,45$ MPa. Notavelmente, esse valor apresentado para os ossos miméticos impressos é semelhante ao osso natural (MISCH et al., 1999).

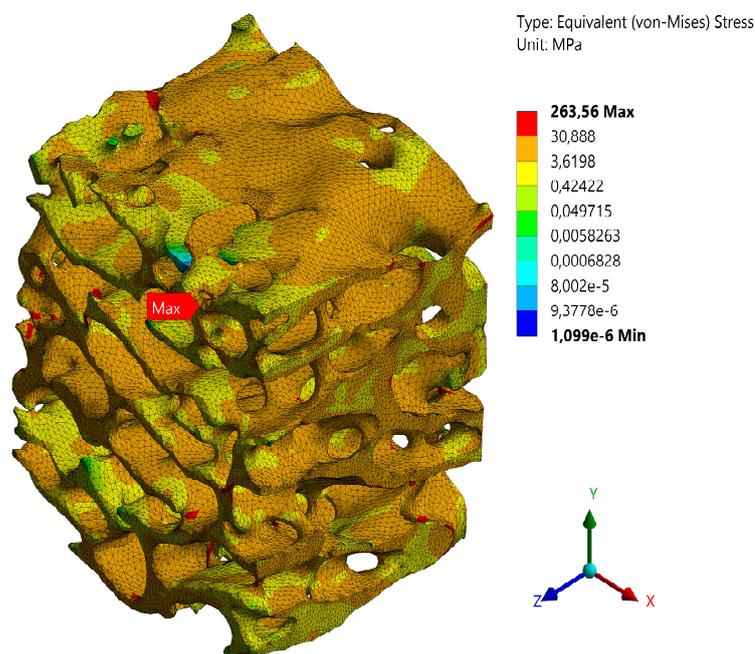
Figura 49 – Imagens do teste de compressão dos ossos miméticos - em sentido horário: pré teste, durante teste, e pós teste (2x).



Fonte: Elaborada pelo autor

Uma vez conhecidas as cargas suportadas pelos ossos miméticos impressos, foi possível realizar a simulação em elementos finitos (FEM), a figura 50 representa a condição de carregamento que corresponde à primeira ruptura parcial ocorrida no material durante o ensaio mecânico (90N). Como era esperado, as distribuições de tensões não ocorreram de forma uniforme, e embora a tensão média tenha apresentado um valor baixo 8,27MPa, algumas regiões altamente carregadas apresentaram valores de tensões bastante altos, atingindo 263,3MPa, que correspondem a apenas 5% inferiores à tensão ruptura dos cilindros compactados (280MPa).

Figura 50 – Simulação FEM com carregamento equivalente a 90N, correspondente à primeira ruptura do material impresso.

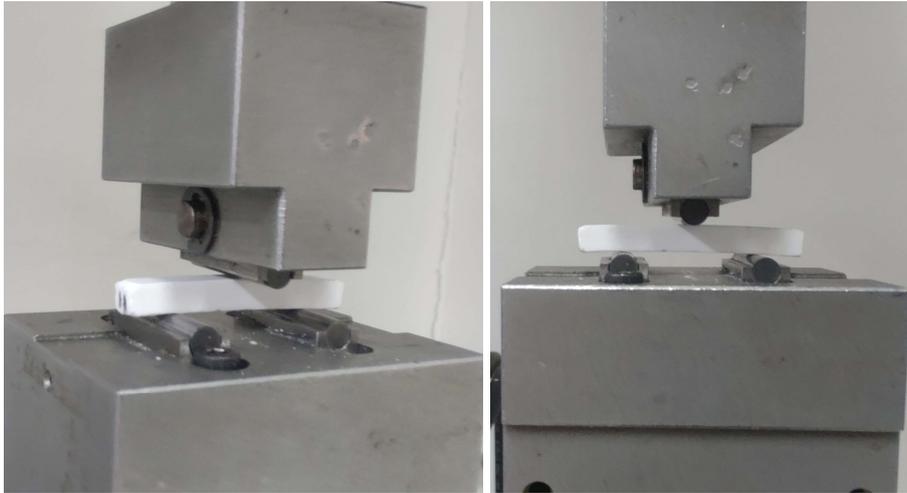


Fonte: ERBERELI et al. (2022)

A partir dos valores apresentados e apesar da morfologia em camadas criadas pelo processo de manufatura aditiva, é notório verificar que a resistência intrínseca do material foi mantida significativamente, evidenciando a qualidade do processo de fabricação dos ossos miméticos. Além disso, mesmo quando aplicada a carga última (360N), a tensão foi baixa, 33MPa, fato que evidencia que a ruptura do material foi causada por fratura localizada nas regiões concentradoras de tensão.

Os testes de flexão com as barras (figura 51), com as duas diferentes configurações de *whiskers* apresentadas nesse trabalho, geraram os seguintes valores para a tensão máxima: com 1% de adição de *whiskers* $56,55 \pm 15,37$ MPa, enquanto a tensão máxima para as barras com 2,8% de *whiskers* apresentou valor de $61,85 \pm 21,04$ MPa; já as deformações foram de $0,22 \pm 0,09\%$ e $0,18 \pm 0,05\%$, respectivamente, para 1 e 2,8% de adição de *whiskers*. Com esses primeiros valores apresentados, é possível identificar um aumento nos valores das tensões máximas e uma redução nas deformações de acordo com o aumento da quantidade de *whiskers* adicionadas; conseqüentemente é indicado também um acréscimo no valor para o módulo de elasticidade ou Young.

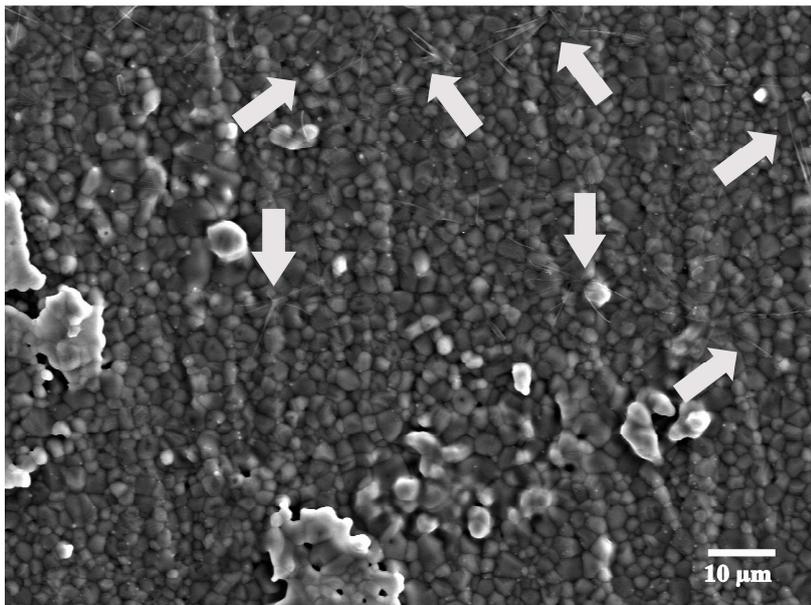
Figura 51 – Imagens ilustrativas do teste de flexão das barras com adição de *whiskers*.

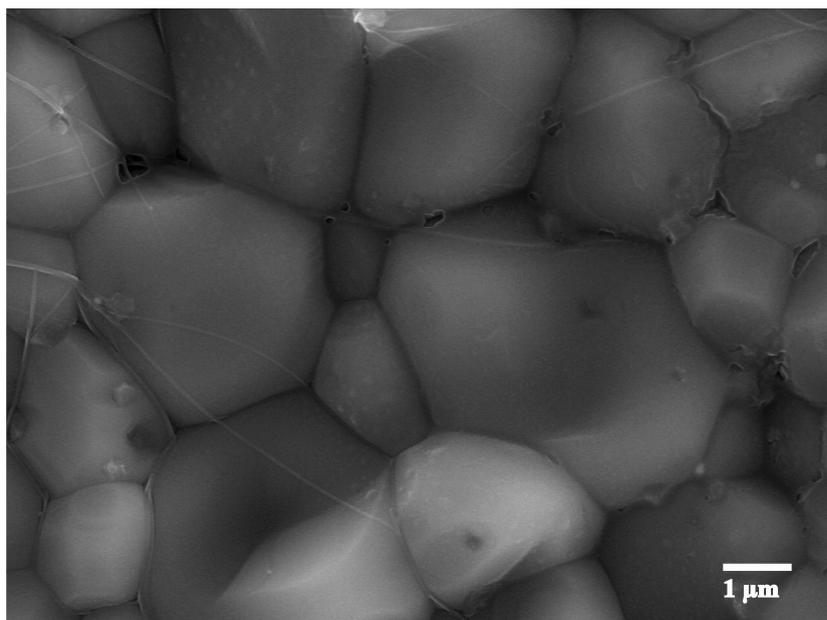


Fonte: Elaborada pelo autor

A figura 52 apresenta imagens de MEV em que é possível verificar que os *whiskers* estão dispersos por toda a peça impressa e, além disso, a forma como os *whiskers* se posicionam nos interstícios granulares propõem um entrelaçamento dos grãos que culminam em suportar uma maior tensão para a ruptura dos corpos de prova.

Figura 52 – *Whiskers* dispersos na peça impressa e detalhes dos *whiskers* nos interstícios granulares.



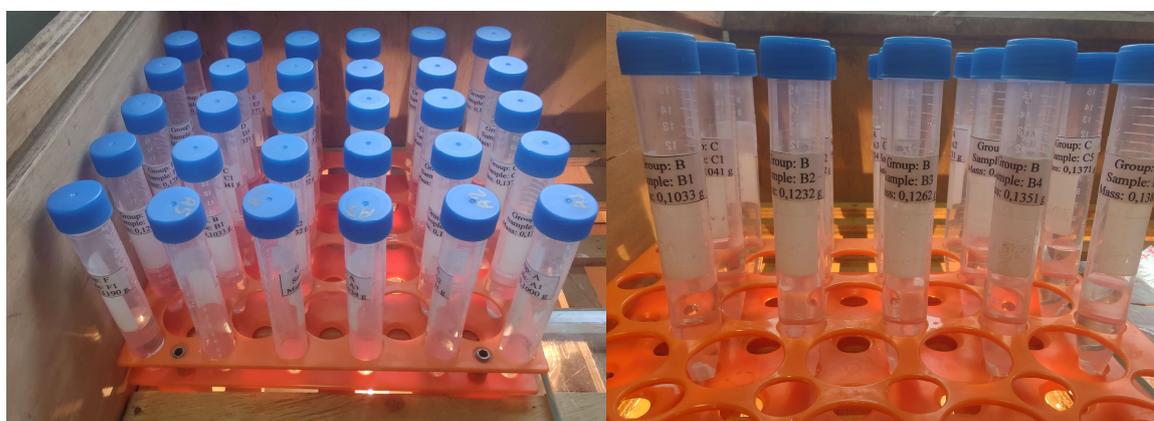


Fonte: elaborada pelo autor

4.8 Degradação *in vitro* e variação de pH

A seguir é apresentada a tabela 10 com as medições dos valores das massas iniciais e finais do grupo de cinco amostras para cada um dos diferentes períodos em que a degradação foi analisada (figura 53), assim como a variação da perda/ganho de massa das amostras ao longo dos períodos estudados.

Figura 53 – Imagens ilustrativas dos grupos amostrais durante o ensaio de degradação acomodadas em estufa e mantidas em temperatura de 37°C.



Fonte: Elaborada pelo autor

Tabela 11 - Avaliação da degradação das amostras impressas em diferentes períodos.

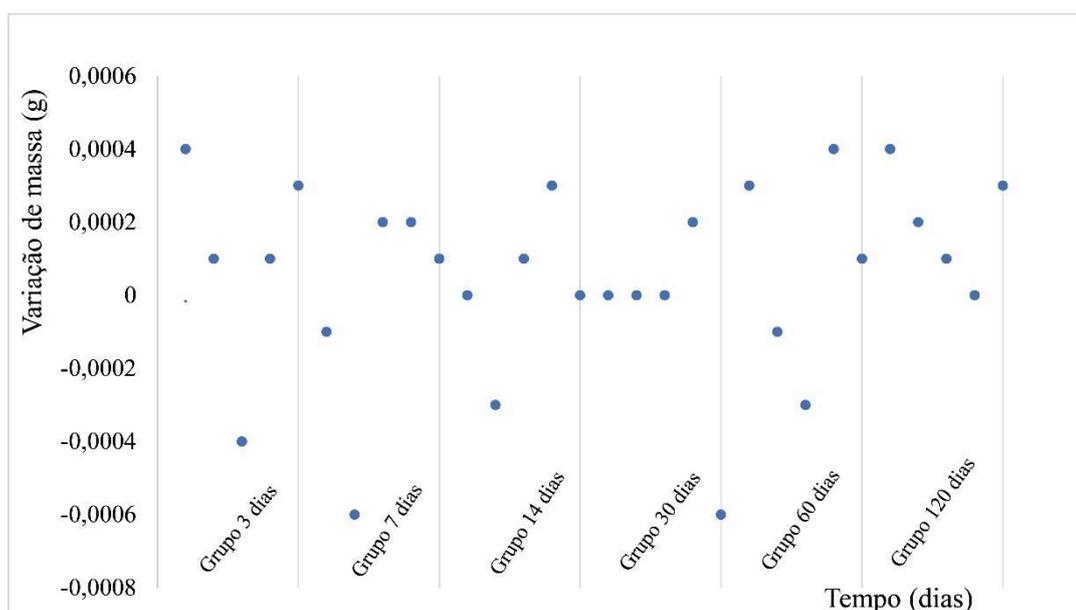
Período (dias)	Amostra	M _{Inicial} (g)	M _{final} (g)	Varição
3	1	0,1000	0,1004	+0,0004
	2	0,1231	0,1232	+0,0001
	3	0,1234	0,1220	-0,0014
	4	0,1350	0,1351	+0,0001
	5	0,1389	0,1392	+0,0003
7	1	0,1033	0,1232	-0,0001
	2	0,1232	0,1226	-0,0006
	3	0,1262	0,1264	+0,0002
	4	0,1351	0,1353	+0,0002
	5	0,1382	0,1383	+0,0001
14	1	0,1041	0,1041	0,0000
	2	0,1222	0,1219	-0,0003
	3	0,1265	0,1266	+0,0001
	4	0,1351	0,1348	+0,0003
	5	0,1371	0,1371	0,0000
30	1	0,1062	0,1062	0,0000
	2	0,1210	0,1210	0,0000
	3	0,1271	0,1271	0,0000
	4	0,1353	0,1355	+0,0002
	5	0,1371	0,1365	-0,0006
60	1	0,1135	0,1138	+0,0003
	2	0,1209	0,1208	-0,0001
	3	0,1273	0,1269	-0,0003
	4	0,1361	0,1365	+0,0004
	5	0,1371	0,1372	+0,0001
120	1	0,1190	0,1197	+0,0004
	2	0,1200	0,1202	+0,0002
	3	0,1287	0,1288	+0,0001
	4	0,1361	0,1361	0,0000
	5	0,1362	0,1365	+0,0003

Fonte elaborada pelo autor

A partir dos valores observados na tabela, foi possível constatar que algumas amostras apresentaram um pequeno ganho de massa, isso pode ter ocorrido pelo fato de o período de 24 horas ou até mesmo a temperatura da estufa de 37°C terem sido insuficientes para que o PBS

que estava impregnado nas amostras fosse totalmente eliminado, por outro lado, algumas amostras tiveram (ainda que valores pequenos) perda de massa, e ainda foi possível observar que algumas amostras não tiveram nenhuma perda ou ganho de massa, isso é melhor observado na figura 54.

Figura 54 - Representação de perda/ganhos de massas nos grupos de amostras ao longo do tempo.



Fonte: elaborada pelo autor

Portanto, é possível concluir que, de forma geral, não ocorreu degradação das amostras ao longo de todo o período analisado, evento que corrobora com o apresentado na literatura (MARCACCI et al., 2007; VILLA et al., 2015) que indica maior dificuldade na degradação de *scaffolds* produzidos somente com cerâmica, que é o caso apresentado nesse trabalho.

Em sequência, para cada período do ensaio de degradação, foram realizadas três medidas do valor do pH do PBS em que as peças ficaram imersas para constatar alguma possível variação em relação ao valor padrão (pH = 7,4) ao longo do teste, e os resultados estão apresentados na tabela 12.

Tabela 12 - Valores de pH do PBS ao longo do ensaio de degradação com relativas médias e desvios padrões.

Período (dias)	Medida 1	Medida 2	Medida 3	Média ± desvio padrão
7	7,47	7,51	7,51	7,50±0,02
14	7,56	7,58	7,59	7,58±0,02
30	7,61	7,62	7,62	7,62±0,01
60	7,59	7,62	7,60	7,60±0,02
120	7,44	7,45	7,45	7,45±0,01

Fonte: elaborada pelo autor

É possível verificar que todas as medidas apresentaram um valor ligeiramente superior ao padrão (7,4), contudo não é conclusivo afirmar que ocorreu um aumento do valor ao longo de todo o tempo do teste, visto que, mesmo apresentando um aumento no valor após os 30 primeiros dias, para períodos maiores de tempo o valor do pH apresentou uma redução, se aproximando mais do valor padrão.

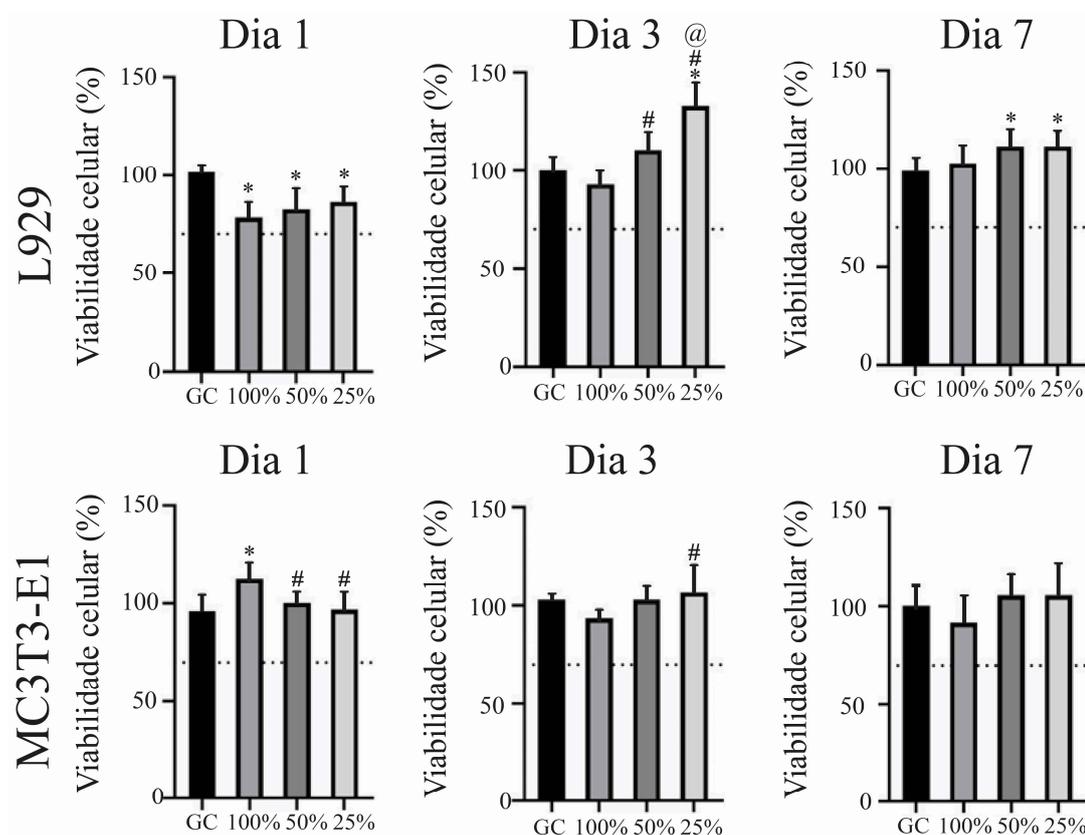
4.7 Citotoxicidade

Para a célula L929 no dia 1, o grupo controle (GC) apresentou valores maiores ($p < 0,05$) comparados com os grupos 100%, 50% e 25%. No dia 3, o GC apresentou valores menores que o grupo de 25% ($p < 0,05$), o grupo 100% apresentou valores menores que os grupos 50% e 25% ($p < 0,05$) e o grupo 50% apresentou valores menores que o grupo 25% ($p < 0,05$). No dia 7, o GC apresentou valores menores que os grupos 50% e 100% ($p < 0,05$). Não houve mais diferenças estatísticas e em todos os dias os grupos mantiveram uma porcentagem de viabilidade acima de 70%.

Para a célula MC3T3-E1 no dia 1, o GC apresentou valores menores ($p < 0,05$) comparado ao grupo 100% e o grupo 100% apresentou valores maiores ($p < 0,05$) comparado aos grupos 50% e 25%. No dia 3, o grupo 100% apresentou valores menores ($p < 0,05$) que o grupo 25%. Não houve mais diferenças estatísticas e em todos os dias os grupos mantiveram uma porcentagem de viabilidade acima de 70%.

A figura 55 apresenta os resultados referentes aos testes de citotoxicidade.

Figura 55 – Resultados dos testes de citotoxicidade.



* diferença com o controle, # diferença com o 100% e @ diferença com o 50%

Fonte: elaborada pelo autor

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que os objetivos do trabalho foram atingidos.

O protocolo de processamento da hidroxiapatita de origem bovina com rastreabilidade, através da calcinação e moagem por moinhos de bolas e vibratórios se mostraram eficientes na obtenção de pós submicrométricos, com considerável fração nanométrica (14,2% de fração nanométrica - 10 a 100 nm) e apresentaram resultados de diâmetro médio equivalente de 0,141 μm . A utilização do deflocurante ácido-aminobenzóico foi determinante para o sucesso da moagem, que nesse trabalho apresentou 90% das partículas com diâmetro menor que 3,375 μm .

Através dos difratogramas de raios-x, foi possível verificar e concluir que a hidroxiapatita de origem bovina, mesmo quando sinterizada a 1300°C com patamar nessa temperatura de 2 horas, não apresentou decomposição em outros fosfatos de cálcio, apresentando uma característica de cristalinidade semelhante aos produtos comercializados.

Imagem 3D a partir de tomografia de ossos trabeculares metatarsais bovinos foram impressas validando o processo de impressão por fotopolimerização em cuba com a utilização de pastas cerâmicas com um carregamento de 15%wt de HA comercial, que é um valor considerado baixo na literatura.

A partir dessa primeira formulação de pasta cerâmica, foram desenvolvidas outras, com valores de carregamento de HA variando de 25 a 45%wt, sendo que formulações com carregamentos maiores que 40%wt de HA apresentaram ausência de homogeneidade da pasta, com característica de elevada viscosidade, impossibilitando os testes. Essas formulações já apresentaram uma redução considerável de elementos, sendo restrita somente à resina comercial (PEGDA250) – monômero acrílico, triton X100 – dispersante, Phenylbis – fotoinicializador e HA de origem bovina com rastreabilidade controlada.

Os testes de viscosidade das pastas cerâmicas apresentaram valores menores que 170mPa.s com taxas de cisalhamento menores que 60s⁻¹; como esperado a pasta cerâmica com 40%wt de HA apresentou valores maiores de viscosidade, mas mesmo assim aceitáveis e com boa capacidade de impressão.

Foram realizados testes de estabilidade para as pastas cerâmicas durante 30 dias, nos quais a formulação com quantidade de 30%wt de HA apresentou estabilidade a partir do 12º

dia, enquanto as formulações com 35 e 40%wt de HA no 30º dia apresentava pouca instabilidade, sendo as taxas de conservação de 75%, 90% e 90%, respectivamente. Testes futuros relativos à estabilidade deverão ser realizados com as pastas cerâmicas com 35 e 40%wt de HA.

Em função da pasta cerâmica com carregamento de 40%wt de HA apresentar característica suficiente para impressão, ela foi utilizada para confecção de corpos de prova e ossos mimetizados; foram realizados testes com tempos de fotopolimerização da camada impressa variando de 10 a 30 segundos, sendo verificado que a fotopolimerização ocorre com o tempo 10 segundos de maneira adequada, contudo após algum tempo as camadas apresentaram delaminação. Os testes de impressão com 20 segundos de incidência de luz apresentaram resultados satisfatórios sem delaminação e com manutenção dimensional das peças, com isso os testes de 30 segundos foram descartados em função de uma perda no tempo de produção que ocorreria na fabricação de peças.

Os whiskers de β -TCP foram obtidos a partir de dois constituintes primários a monetita e o carbonato de cálcio, que primeiramente foram transformados em α -TCP e na sequência através do processo de hidrólise ocorreu a transformação α -TCP \rightarrow β -TCP. O elemento β -TCP é bastante aplicado na engenharia de tecidos por desempenhar a função de reforçamento junto às impressões realizadas com HA. A produção de *whiskers* foi possível, e a rota proposta é satisfatória, contudo, é importante destacar que existe a necessidade de um preciso controle do PH e temperatura durante o processo de obtenção dos *whiskers*.

Para os testes de degradação para diferentes períodos das peças impressas e sinterizadas pode-se concluir que não ocorreram degradações significativas, mesmo para um período de 120 dias, algo esperado de acordo com a literatura.

Os testes de citotoxicidade apresentaram resultados satisfatórios, visto que, em todos os casos estudados ocorreu uma boa taxa de viabilidade celular, sempre acima de 70%, que é o valor considerado aceitável para aplicação de materiais não tóxicos, além disso tanto as células da linhagem L929, quanto as células da linhagem MC3T3-E1 apresentaram uma tendência de crescimento celular com o passar dos dias de estudo.

Por fim, foi desenvolvida uma suspensão cerâmica homogênea de viscosidade satisfatória, com alto carregamento cerâmico de HA bovina capaz de produzir através da manufatura aditiva peças com alta complexibilidade, porosidade controlada, boas propriedades

mecânicas, atrelados a um baixo custo produtivo; além disso as peças produzidas não apresentam degradação e são atóxicas, viabilizando a aplicação em implantes ósseos personalizados e únicos. Por esse trabalho cria-se a perspectiva de que exista uma boa margem para o uso da HA de origem bovina aplicada ao processamento de implantes ósseos.

6 PUBLICAÇÕES E TRABALHOS PUBLICADOS NO PERÍODO

A seguir estão listados as diferentes publicações e trabalhos realizados durante o período de doutoramento.

6.1 Artigos completos publicados em periódicos

1 - dos Santos Jorge Sousa, Karolyne; Parisi, Júlia Rizzo; de Souza, Amanda; Cruz, Matheus de Almeida; **Erbereli, Rogério**; de Araújo Silva, Jonas; do Espírito Santo, Giovanna; do Amaral, Gustavo Oliva; Martignago, Cintia Cristina Santi; Fortulan, Carlos Alberto; Granito, Renata Neves; Renno, Ana Claudia Muniz. 2023 - 2023/03/09 - 3D Printed Scaffolds Manufactured with Biosilica from Marine Sponges for Bone Healing in a Cranial Defect in Rats - Marine Biotechnology - ISSN - 1436-2236 DOI - 10.1007/s10126-023-10202-x

2 - **ERBERELI, ROGÉRIO**; de Camargo, Italo Leite; MORAIS, MATEUS MOTA; FORTULAN, CARLOS ALBERTO. 3D printing of trabecular bone-mimetic structures by vat photopolymerization of bovine hydroxyapatite as a potential candidate for scaffolds. Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering, v. 44, p. 170, 2022.

3 - de Camargo, Italo Leite; **ERBERELI, ROGÉRIO**; LOVO, JOÃO FIORE PARREIRA; FORTULAN, RAPHAEL; FORTULAN, CARLOS ALBERTO. Digital light processing additive manufacturing of in situ mullite-zirconia composites. JOURNAL OF THE EUROPEAN CERAMIC SOCIETY, v. 42, p. 6025-6032, 2022.

4 - DA SILVA, IRIS BENTO; DE CAMARGO, ÍTALO LEITE; LOVO, JOÃO FIORE PARREIRA; **ERBERELI, ROGÉRIO**; BARBOSA, GUSTAVO FRANCO; SHIKI, SIDNEY BRUCE; FORTULAN, CARLOS ALBERTO. Hot-stamped B-pillar for automotive driven by Lean 4.0. PROCEEDINGS OF THE INSTITUTION OF MECHANICAL ENGINEERS PART B-JOURNAL OF ENGINEERING MANUFACTURE, v. 00(0), p. 095440542211193, 2022.

5 - AZEVEDO'SILVA, LUCAS JOSÉ; FERRAIRO, BRUNNA MOTA; PIRES, LUARA ALINE; PADOVINI, DAVID SANTOS SOUZA; DIAS, LEONARDO FRANCISCO GONÇALVES; **ERBERELI, ROGÉRIO**; FORTULAN, CARLOS ALBERTO; LISBOA'FILHO, PAULO NORONHA; RUBO, JOSÉ HENRIQUE; BORGES, ANA

FLÁVIA SANCHES. Novel 8%-TiO₂-nanoparticle-reinforced dense polycrystalline bovine hydroxyapatite bioceramic. *International Journal of Ceramic Engineering & Science*, v. 4, p. 1-12, 2022.

6 - CAMARGO, I. L.; **ERBERELI, R.**; TAYLOR, H.; FORTULAN, C. A.. 3Y-TZP DLP Additive Manufacturing: Solvent-free Slurry Development and Characterization. *MATERIALS RESEARCH*, v. 24, p. e20200457, 2021.

7 - de Camargo, Italo Leite; **ERBERELI, ROGÉRIO**; FORTULAN, CARLOS ALBERTO. Additive manufacturing of electrofused mullite slurry by digital light processing. *JOURNAL OF THE EUROPEAN CERAMIC SOCIETY*, v. 41, p. 7182-7188, 2021.

8 - L. A. Pires; Silva, L. J. de A; FERRAIRO, B. M.; **ERBERELI, R.**; LOVO, J. F. P.; O. P. Gomes; RUBO, J. H.; P. N. Lisboa Filho; GRIGGS, J. A.; FORTULAN, C. A.; A. F. S. Borges. Effects of ZnO/TiO₂ nanoparticle and TiO₂ nanotube additions to dense polycrystalline hydroxyapatite bioceramic from bovine bones. *DENTAL MATERIALS*, v. 36, p. e38-e46, 2020.

9 - CAMARGO, ITALO LEITE DE; LOVO, JOÃO FIORE PARREIRA; **ERBERELI, ROGÉRIO**; COELHO, REGINALDO TEIXEIRA; SILVA, IRIS BENTO DA; FORTULAN, CARLOS ALBERTO. An Overview of Laser Engineered Net Shaping of Ceramics. *Materia-Rio de Janeiro*, v. 25, p. e-12590, 2020.

10 - LOVO, J. F. P.; CAMARGO, I. L.; **ERBERELI, R.**; MORAIS, M. M.; FORTULAN, C. A.. Vat Photopolymerization Additive Manufacturing Resins: Analysis and Case Study. *MATERIALS RESEARCH*, v. 23, p. 4, 2020.

11 - CAMARGO, ITALO LEITE DE; **ERBERELI, ROGÉRIO**; LOVO, JOÃO FIORE PARREIRA; FORTULAN, CARLOS ALBERTO. Planetary Mill with Friction Wheels Transmission Aided by an Additional Degree of Freedom. *Machines*, v. 7, p. 33, 2019.

12 - CAMARGO, ITALO LEITE DE; LOVO, JOÃO FIORE PARREIRA; **ERBERELI, ROGÉRIO**; FORTULAN, CARLOS ALBERTO. Influence of Media Geometry on Wet Grinding of a Planetary Ball Mill. *MATERIALS RESEARCH*, v. 22, p. 20190432, 2019.

13 - LOVO, JOÃO FIORE PARREIRA; PEDROSO, MARCOS PAULO GONÇALVES; **ERBERELI, ROGÉRIO**; PURQUERIO, BENEDITO DE MORAES;

FORTULAN, CARLOS ALBERTO. Synthetic granite composite for precision equipment structures. *Materia-Rio de Janeiro*, v. 23, p. 12229, 2018.

6.2 Trabalhos completos publicados em anais de congressos

1 - LEITE DE CAMARGO, ITALO; **ERBERELI, ROGÉRIO**; LOVO, JOÃO; FORTULAN, CARLOS. DLP ADDITIVE MANUFACTURING OF CERAMICS: PHOTSENSITIVE PARAMETERS, THERMAL ANALYSIS, POST-PROCESSING, AND PARTS CHARACTERIZATION. In: 11th Brazilian Congress on Manufacturing Engineering, 2021, Curitiba. *Proceedings of the 11th Brazilian Congress on Manufacturing Engineering*, 2021.

2 - **ERBERELI, R.**; CAMARGO, I. L.; ROLLO, J. M. D. A.; FORTULAN, C. A.. Utilização do método de refinamento Rietveld para análise estrutural da hidroxiapatita. In: 4º Simpósio do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, 2019, São Carlos. *Anais Eletrônicos do 4º Simpósio do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica*, 2019. v. 1.

3 - CAMARGO, I. L.; **ERBERELI, R.**; FORTULAN, C. A.. Fluidez de matéria prima cerâmicas para o processo DED de manufatura aditiva. In: COBEF - Congresso Brasileiro de Engenharia de Fabricação, 2019, São Carlos. *Anais do 10º Congresso Brasileiro de Engenharia de Fabricação*, 2019. v. 1.

6.3 Resumos e resumos expandidos publicados em anais de congressos

1 - **ERBERELI, ROGÉRIO**; LEITE DE CAMARGO, ITALO; FORTULAN, CARLOS ALBERTO. Vat Photopolymerization 3D Printing of Scaffold Structures Mimetic to Bone using Prepared Bovine Hydroxyapatite. In: 15th International Ceramics Congress, 2022, Perugia. *15th International Ceramics Congress*, 2022.

2 - CAMARGO, I. L.; **ERBERELI, R.**; FORTULAN, C. A.. Photosensitive mullite suspension for vat photopolymerization. In: 45th International Conference on Advanced Ceramics and Composites (ICACC2021), 2021. *Proceedings of the 45th International Conference on Advanced Ceramics and Composites*, 2021.

3 - **ERBERELI, R.**; FORTULAN, C. A.; ROLLO, J. M. D. A.; TULLIO, R. R.; CAMARGO, I. L.. Nanomoagem de hidroxiapatita bovina com vistas a ceramização. In: 8º Congresso Nacional de Biomecânica, 2019, Covilhã - Portugal. Resumo dos artigos apresentados - 8º Congresso Nacional de Biomecânica, 2019. v. 1. p. 247-248.

4 - MOSQUIM, V.; L. A. Pires; P. N. Lisboa Filho; FORTULAN, C. A.; **ERBERELI, R.**; MAGALHAES, A. P. R.; A. F. S. Borges. RESISTÊNCIA, CONFIABILIDADE E CRISTALINIDADE DE CERÂMICA DE HIDROXIAPATITA REFORÇADA POR NANOTUBOS DE TIO₂ E NANOPARTÍCULAS DE TIO₂ E ZNO. In: 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, 2018, Campinas - SP - Brasil. Anais da 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, 2018. v. 1.

6.4 Capítulos de livros publicados

1 - de Camargo, Italo Leite; **ERBERELI, ROGÉRIO**; LOVO, JOÃO FIORE PARREIRA; FORTULAN, CARLOS ALBERTO. DLP 3D Printer with Innovative Recoating System. Smart Innovation, Systems and Technologies. 233ed.: Springer International Publishing, 2021, v. , p. 609-616.

2 - ROLLO, J. M. D. A.; BOFFA, R. S.; CESAR, R.; **ERBERELI, R.**; Schwab, D. C.; Leivas, T. P.. Bone Quality Assessment at the Atomic Scale. Lecture Notes in Computational Vision and Biomechanics. 1ed.: Springer International Publishing, 2020, v. , p. 45-68.

3 - **ERBERELI, ROGÉRIO**; CAMARGO, ITALO LEITE DE; LOVO, JOÃO FIORE PARREIRA; FORTULAN, CARLOS ALBERTO; Rollo, João Manuel Domingos de Almeida. POTENCIALIDADE BACTERICIDA DO AÇO INOXIDÁVEL MARTENSÍTICO 17-4 PH. Ciências Tecnológicas, Exatas e da Terra e seu Alto Grau de Aplicabilidade. 1ed.: Atena Editora, 2020, v. , p. 172-182.

4 - **ERBERELI, R.**; PAVANI, D. A. B.. Estudo sobre a evolução da produção científica Brasileira. educação no século XXI. 1ed.: Editora Poisson, 2019, v. 17, p. 35-41.

5 - PAVANI, D. A. B.; **ERBERELI, R.**. Importância da implantação de sistemas de gestão nas instituições de ensino superior. Educação no século XXI. 1ed. , 2019, v. 17, p. 15-22.

6.5 Patentes

CAMARGO, I. L.; LOVO, J. F. P.; **ERBERELI, R.**; FORTULAN, C. A.. 'SISTEMA DE RECOBRIMENTO COM LÂMINAS DE AÇÃO SEQUENCIAL PARA MANUFATURA ADITIVA POR FOTOPOLIMERIZAÇÃO EM CUBA'. 2021, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202102154, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 27/10/2021

7 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Melhoria na obtenção de pasta cerâmica com maior carregamento cerâmico (atingir 50%), estabilidade e menor viscosidade para impressão de corpos de prova e *scaffolds*;
- ✓ Investigação de outros possíveis agentes acrílicos e dispersantes
- ✓ Aperfeiçoamento do sistema de impressão e/ou então utilização de diferentes processos e impressoras;
- ✓ Melhoria no processo de obtenção dos *whiskers*, com melhor controle do pH que é determinante no produto final, ou ainda desenvolver rota de obtenção de *whiskers* com a própria hidroxiapatita bovina com rastreabilidade controlada;
- ✓ Estudo da utilização de outros elementos atuantes como reforços de impressos e também estudar a quantidade ótima desses reforços.

REFERÊNCIAS

- 3DPRINT.COM. (2017). *Autodesk Discontinues Manufacture of Open Source Ember 3D Printer*.
- ABE, F. M. (1986a). *JPS61114817A - Apparatus for forming solid configuration*.
- ABE, F. M. (1986b). *JPS61114818A - Apparatus for forming solid configuration*.
- Abel, J. S., Stangle, G. C., Schilling, C. H., & Aksay, I. A. (1994). Sedimentation in flocculating colloidal suspensions. *Journal of Materials Research*, 9(2), 451–461. <https://doi.org/10.1557/JMR.1994.0451>
- ACKURETTA. (2019a). *Ackuray*.
- ACKURETTA. (2019b). *Diplo*.
- Adake, C. V., Bhargava, P., & Gandhi, P. (2015). Effect of surfactant on dispersion of alumina in photopolymerizable monomers and their UV curing behavior for microstereolithography. *Ceramics International*, 41(4), 5301–5308. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2014.12.066>
- ADMATEC. (2019). *ADMAFLEX 130*.
- AHRENS, C. H. (2017). *Manufatura Aditiva Tecnologias e Aplicações da Impressão 3D*.
- Andre, J.-C., Le Mehaute, A., & De Witte, O. (1984). *Device for producing a model of an industrial part*. (p. 15).
- Arciola, C. R., Campoccia, D., Speziale, P., Montanaro, L., & Costerton, J. W. (2012). Biofilm formation in Staphylococcus implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials. *Biomaterials*, 33(26), 5967–5982. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.05.031>
- Arcos, D., & Vallet-Regí, M. (2020). Substituted hydroxyapatite coatings of bone implants. *Journal of Materials Chemistry B*, 8(9), 1781–1800. <https://doi.org/10.1039/c9tb02710f>
- Ashammakhi, N., Hasan, A., Kaarela, O., Byambaa, B., Sheikhi, A., Gaharwar, A. K., & Khademhosseini, A. (2019). Advancing Frontiers in Bone Bioprinting. *Advanced Healthcare Materials*, 8(7), 1–24. <https://doi.org/10.1002/adhm.201801048>

Azarmi, F., & Amiri, A. (2019). Microstructural evolution during fabrication of alumina via laser stereolithography technique. *Ceramics International*, 45(1), 271–278. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.09.163>

Bae, C. J., & Halloran, J. W. (2019). Concentrated suspension-based additive manufacturing – viscosity, packing density, and segregation. *Journal of the European Ceramic Society*, 39(14), 4299–4306. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2019.05.034>

Bala, Y., Farlay, D., & Boivin, G. (2013). Bone mineralization: From tissue to crystal in normal and pathological contexts. *Osteoporosis International*, 24(8), 2153–2166. <https://doi.org/10.1007/s00198-012-2228-y>

Balla, V. K., Bose, S., & Bandyopadhyay, A. (2008). Processing of bulk alumina ceramics using laser engineered net shaping. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 5(3), 234–242. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7402.2008.02202.x>

BERTSCH, Arnaud; RENAUD, P. (2015). *Three-Dimensional Microfabrication Using Two-Photon Polymerization* (T. Baldacchini (ed.); 1st ed.).

Bertsch, A., Zissi, S., Jézéquel, J. Y., Corbel, S., & André, J. C. (1997). Microstereophotolithography using a liquid crystal display as dynamic mask-generator. *Microsystem Technologies*, 3(2), 42–47. <https://doi.org/10.1007/s005420050053>

Best, S. M., Porter, A. E., Thian, E. S., & Huang, J. (2008). Bioceramics: Past, present and for the future. *Journal of the European Ceramic Society*, 28(7), 1319–1327. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2007.12.001>

Bhattacharjee, P., Kundu, B., Naskar, D., Kim, H. W., Maiti, T. K., Bhattacharya, D., & Kundu, S. C. (2017). Silk scaffolds in bone tissue engineering: An overview. *Acta Biomaterialia*, 63, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.09.027>

Borlaf, M., Szubra, N., Serra-Capdevila, A., Kubiak, W. W., & Graule, T. (2020). Fabrication of ZrO₂ and ATZ materials via UV-LCM-DLP additive manufacturing technology. *Journal of the European Ceramic Society*, 40(4), 1574–1581. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2019.11.037>

Brasil. (2000). *INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 3, DE 17 DE JANEIRO DE 2000 O SECRETARIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,*

PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 83, inciso IV, do Regimento Interno da Secretaria, aprovado pela Por. 3–10. <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/bem-estar-animal/arquivos/arquivos-legislacao/in-03-de-2000.pdf>

Brasil. (2008). Instrução normativa N°56 de 6 de Novembro de 2008. *Diário Oficial Da União, Brasília, DF, 6 Nov. 2008, 6–7.*

Brasil. (2011). Instrução Normativa n° 46, de 6 de outubro de 2011. Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal. *Diário Oficial Da União, Brasília, DF, 7 out. 2011, Seção 1, 4–12.*

Burgos-Montes, O., & Moreno, R. (2009). Stability of concentrated suspensions of Al₂O₃-SiO₂ measured by multiple light scattering. *Journal of the European Ceramic Society, 29*(4), 603–610. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2008.07.044>

Camargo, Italo Leite de; Erbereli, Rogério; Taylor, Hayden; Fortulan, C. A. (2021). 3Y-TZP DLP additive manufacturing. *Materials Research.*

Camargo, C. L. M., Resende, N. S., Perez, C. A. C., Abreu, C. R. A., Salim, V. M. M., & Tavares, F. W. (2018). Molecular dynamics simulation and experimental validation by X-ray data of hydroxyapatite crystalline structures. *Fluid Phase Equilibria, 470*, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2017.11.007>

Camargo, I. L. De, Lovo, J. F. P., Erbereli, R., Coelho, R. T., Silva, I. B. Da, & Fortulan, C. A. (2020). An overview of laser engineered net shaping of ceramics. *Revista Materia, 25*(1). <https://doi.org/10.1590/s1517-707620200001.0916>

Camargo, I. L. de C., Morais, M. M., Fortulan, C. A., & Branciforti, M. C. (2021). A review on the rheological behavior and formulations of ceramic suspensions for vat photopolymerization. *Ceramics International, December 2020*. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2021.01.031>

Camilo, C. C. (2006). *Escafoldes para implantes ósseos em alumina / hidroxiapatita / biovidro : análises mecânica e in vitro.* 145.

Cardoso, G. B. . (2010). *Matriz tridimensional polimérica com adição de cerâmicas para reconstruções ósseas.* 75.

CERAM, 3D. (2019). *Company Overview.*

Chae, M. P., Hunter-Smith, D. J., De-Silva, I., Tham, S., Spychal, R. T., & Rozen, W. M. (2015). Four-Dimensional (4D) Printing: A New Evolution in Computed Tomography-Guided Stereolithographic Modeling Principles and Application. *Journal of Reconstructive Microsurgery*, 31(6), 458–463. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1549006>

Chaudhari, A. A., Vig, K., Baganizi, D. R., Sahu, R., Dixit, S., Dennis, V., Singh, S. R., & Pillai, S. R. (2016). Future prospects for scaffolding methods and biomaterials in skin tissue engineering: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(12). <https://doi.org/10.3390/ijms17121974>

Chen, W., Wang, F., Yan, K., Zhang, Y., & Wu, D. (2019). Micro-stereolithography of KNN-based lead-free piezoceramics. *Ceramics International*, 45(4), 4880–4885. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.11.185>

Chen, Z., Li, J., Liu, C., Liu, Y., Zhu, J., & Lao, C. (2019). Preparation of high solid loading and low viscosity ceramic slurries for photopolymerization-based 3D printing. *Ceramics International*, 45(9), 11549–11557. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.03.024>

Chevalier, J., & Gremillard, L. (2009). Ceramics for medical applications: A picture for the next 20 years. *Journal of the European Ceramic Society*, 29(7), 1245–1255. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2008.08.025>

D-MEC. (2019). *Acculas*.

DALAPICULA, S. S.; VIDIGAL JUNIOR, G. M.; CONS, M. B.; CARDOSO, E. S. (2006). Base de dados: Pesquisa: Total de referências: 1/6. *ImplantNews*, 3(5), 396–413. <https://doi.org/10.1521/ijgp.2011.61.3.396>

Datta, P., Ozbolat, V., Ayan, B., Dhawan, A., & Ozbolat, I. T. (2017). Bone tissue bioprinting for craniofacial reconstruction. *Biotechnology and Bioengineering*, 114(11), 2424–2431. <https://doi.org/10.1002/bit.26349>

Davis, J. (2003). Handbook of Materials for Medical Devices. *ASM International*, 205–216. <https://doi.org/10.1361/hmmd2003p001>

Dawood, A., Marti, B. M., Sauret-Jackson, V., & Darwood, A. (2015). 3D printing in dentistry. *British Dental Journal*, 219(11), 521–529. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2015.914>

De Aza, P. N., De Aza, A. H., Pena, P., & De Aza, S. (2007). Bioactive glasses and glass-ceramics. *Boletín de La Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 46(2), 45–55. <https://doi.org/10.3989/cyv.2007.v46.i2.249>

de Camargo, I. L., Erbereli, R., & Fortulan, C. A. (2021). Additive manufacturing of electrofused mullite slurry by digital light processing. *Journal of the European Ceramic Society*, 41(14), 7182–7188. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2021.07.005>

de Camargo, I. L., Erbereli, R., Lovo, J. F. P., Fortulan, R., & Fortulan, C. A. (2022). Digital light processing additive manufacturing of in situ mullite-zirconia composites. *Journal of the European Ceramic Society*, 42(13), 6025–6032. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2022.06.042>

Ding, G., He, R., Zhang, K., Xia, M., Feng, C., & Fang, D. (2020). Dispersion and stability of SiC ceramic slurry for stereolithography. *Ceramics International*, 46(4), 4720–4729. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.10.203>

Diptanshu, Miao, G., & Ma, C. (2019). Vat photopolymerization 3D printing of ceramics: Effects of fine powder. *Manufacturing Letters*, 21, 20–23. <https://doi.org/10.1016/j.mfglet.2019.07.001>

do Amaral, L. B., Paschoa, J. L. F., Magalhães, D. V., Foschini, C. R., Suchicital, C. T. A., & Fortulan, C. A. (2020). Preliminary studies on additive manufacturing of over 95% dense 3Y zirconia parts via digital imaging projection. *Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering*, 42(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s40430-019-2157-1>

Drake, M. T., Clarke, B. L., & Lewiecki, E. M. (2015). The Pathophysiology and Treatment of Osteoporosis. *Clinical Therapeutics*, 37(8), 1837–1850. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2015.06.006>

Du, C., Jin, J., Li, Y., Kong, X., Wei, K., & Yao, J. (2009). Novel silk fibroin/hydroxyapatite composite films: Structure and properties. *Materials Science and Engineering C*, 29(1), 62–68. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2008.05.010>

Dufaud, O., Marchal, P., & Corbel, S. (2002). Rheological properties of PZT suspensions for stereolithography. *Journal of the European Ceramic Society*, 22(13), 2081–2092. [https://doi.org/10.1016/S0955-2219\(02\)00036-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2219(02)00036-5)

Dumene, R., Earle, G., & Williams, C. (2018). Characterization of additively manufactured cellular alumina dielectric structures. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, 25(6), 2236–2240. <https://doi.org/10.1109/TDEI.2018.007444>

El Yacoubi, A., Massit, A., El Moutaoikel, S., Rezzouk, A., & Chafik El Idrissi, B. (2017). Rietveld Refinement of the Crystal Structure of Hydroxyapatite Using X-ray Powder Diffraction. *American Journal of Materials Science and Engineering*, 5(1), 1–5. <https://doi.org/10.12691/ajmse-5-1-1>

Emami, M. M., Barazandeh, F., & Yaghmaie, F. (2014). Scanning-projection based stereolithography: Method and structure. *Sensors and Actuators, A: Physical*, 218, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2014.08.002>

Erbereli, R. (2107). *AVALIAÇÃO DA QUALIDADE ÓSSEA DE BOVINOS*. Universidade de São Paulo.

Eslami, H., Tahriri, M., Moztarzadeh, F., Bader, R., & Tayebi, L. (2018). Nanostructured hydroxyapatite for biomedical applications: From powder to bioceramic. *Journal of the Korean Ceramic Society*, 55(6), 597–607. <https://doi.org/10.4191/kcers.2018.55.6.10>

Farokhi, M., Mottaghitlab, F., Shokrgozar, M. A., Ou, K. L., Mao, C., & Hosseinkhani, H. (2016). Importance of dual delivery systems for bone tissue engineering. *Journal of Controlled Release*, 225, 152–169. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.01.033>

Farris, R. J. (1968). Prediction of the Viscosity of Multimodal Suspensions from Unimodal Viscosity Data. *Transactions of the Society of Rheology*, 12(2), 281–301. <https://doi.org/10.1122/1.549109>

Ferrage, L., Bertrand, G., Lenormand, P., Grossin, D., & Ben-Nissan, B. (2017). A review of the additive manufacturing (3DP) of bioceramics: Alumina, zirconia (PSZ) and hydroxyapatite. *Journal of the Australian Ceramic Society*, 53(1), 11–20. <https://doi.org/10.1007/s41779-016-0003-9>

FORMLABS. (2019). *Form3*.

Frølich, S., Leemreize, H., Jakus, A., Xiao, X., Shah, R., Birkedal, H., Almer, J. D., & Stock, S. R. (2016). Diffraction tomography and Rietveld refinement of a hydroxyapatite bone

phantom. *Journal of Applied Crystallography*, 49, 103–109.
<https://doi.org/10.1107/S1600576715022633>

Fudim, E. V. (1988). *Apparatus for producing of three-dimensional objects by photosolidification*. 19. [https://doi.org/10.1016/0375-6505\(85\)90011-2](https://doi.org/10.1016/0375-6505(85)90011-2)

Galante, R., Figueiredo-Pina, C. G., & Serro, A. P. (2019). Additive manufacturing of ceramics for dental applications: A review. *Dental Materials*, 35(6), 825–846.
<https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.02.026>

Gao, F., Yang, S., Hao, P., & Evans, J. R. G. (2011). Suspension stability and fractal patterns: A comparison using hydroxyapatite. *Journal of the American Ceramic Society*, 94(3), 704–712.
<https://doi.org/10.1111/j.1551-2916.2010.04149.x>

Ghasemi-Mobarakeh, L., Kolahreez, D., Ramakrishna, S., & Williams, D. (2019). Key terminology in biomaterials and biocompatibility. *Current Opinion in Biomedical Engineering*, 10, 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.cobme.2019.02.004>

Ghassemi, T., Shahroodi, A., Ebrahimzadeh, M. H., Mousavian, A., Movaffagh, J., & Moradi, A. (2018). Current concepts in scaffolding for bone tissue engineering. *Archives of Bone and Joint Surgery*, 6(2), 90–99. <https://doi.org/10.22038/abjs.2018.26340.1713>

Gibson, I., Rosen, D., & Stucker, B. (2015). Additive manufacturing technologies: 3D printing, rapid prototyping, and direct digital manufacturing, second edition. In *Additive Manufacturing Technologies: 3D Printing, Rapid Prototyping, and Direct Digital Manufacturing, Second Edition*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2113-3>

Goda, I., & Ganghoffer, J. F. (2018). Modeling of anisotropic remodeling of trabecular bone coupled to fracture. *Archive of Applied Mechanics*, 88(12), 2101–2121.
<https://doi.org/10.1007/s00419-018-1438-y>

Gonzalez, P., Schwarzer, E., Scheithauer, U., Kooijmans, N., & Moritz, T. (2019). Additive manufacturing of functionally graded ceramic materials by stereolithography. *Journal of Visualized Experiments*, 2019(143), 1–8. <https://doi.org/10.3791/57943>

Goswami, A., Ankit, K., Balashanmugam, N., Umarji, A. M., & Madras, G. (2014). Optimization of rheological properties of photopolymerizable alumina suspensions for ceramic

microstereolithography. *Ceramics International*, 40(2), 3655–3665.
<https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2013.09.059>

Griffith, Michelle L.; Halloran, F. W. (1996). Freeform Fabrication of ceramics via Stereolithography. *J. Am. Ceram. Soc.*, 79(10), 2601–2608.

Gu, B. K., Choi, D. J., Park, S. J., Kim, M. S., Kang, C. M., & Kim, C. H. (2016). 3-Dimensional Bioprinting for Tissue Engineering Applications. *Biomaterials Research*, 20(1), 1–8.
<https://doi.org/10.1186/s40824-016-0058-2>

Gul, H., Khan, M., & Khan, A. S. (2020). 3 - Bioceramics: types and clinical applications. In *Woodhead Publishing Series in Biomaterials*. Elsevier Ltd.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102834-6.00003-3>

Ha, Y. M., Park, I. B., Kim, H. C., & Lee, S. H. (2010). Three-dimensional microstructure using partitioned cross-sections in projection microstereolithography. *International Journal of Precision Engineering and Manufacturing*, 11(2), 335–340. <https://doi.org/10.1007/s12541-010-0039-7>

Halloran, J. W. (2016). Ceramic Stereolithography: Additive Manufacturing for Ceramics by Photopolymerization. *Annual Review of Materials Research*, 46(March), 19–40.
<https://doi.org/10.1146/annurev-matsci-070115-031841>

He, R., Liu, W., Wu, Z., An, D., Huang, M., Wu, H., Jiang, Q., Ji, X., Wu, S., & Xie, Z. (2018). Fabrication of complex-shaped zirconia ceramic parts via a DLP- stereolithography-based 3D printing method. *Ceramics International*, 44(3), 3412–3416.
<https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.11.135>

Hench, L. L. (1991). Bioceramics: from concept to clinic. *J Am Ceram Soc*. 1993;72:93-98. *Journal of the American Ceramic Society*, 74, 1487–1510. <https://doi.org/10.1111/j.1151-2916.1991.tb07132.x>

Hench, L. L. (2006). The story of Bioglass®. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 17(11), 967–978. <https://doi.org/10.1007/s10856-006-0432-z>

Hinczewski, C., Corbel, S., & Chartier, T. (1998). Stereolithography for the fabrication of ceramic 3D parts. *Rapid Prototyping Journal*, 4(3), 104–111.

- Hu, K., Wei, Y., Lu, Z., Wan, L., & Li, P. (2018). Design of a Shaping System for Stereolithography with High Solid Loading Ceramic Suspensions. *3D Printing and Additive Manufacturing*, 5(4), 311–318. <https://doi.org/10.1089/3dp.2017.0065>
- Hulbert, S. F., Hench, L. L., Forbers, D., & Bowman, L. S. (1982). History of bioceramics. *Ceramics International*, 8(4), 131–140. [https://doi.org/10.1016/0272-8842\(82\)90003-7](https://doi.org/10.1016/0272-8842(82)90003-7)
- Hull, C. W. (1984). Apparatus for Production of Three-Dimensional Objects By Stereolithography. *Patent*, 19, 16.
- I Farooq, Z Imran, U Farooq, A Leghari, H. A. (2012). Bioactive glass: a material for the future. *World J Dent*.
- Ikuta, K., & Hirowatari, K. (1993). Real three dimensional micro fabrication using stereo lithography and metal molding. *IEEE Micro Electro Mechanical Systems*, 42–47. <https://doi.org/10.1109/memsys.1993.296949>
- ISO/ASTM 512900:2015, A. (2015). Standard Terminology for Additive Manufacturing – General Principles – Terminology. *ASTM International*, i, 1–9. <https://doi.org/10.1520/F2792-12A.2>
- Jang, K. J., Kang, J. H., Fisher, J. G., & Park, S. W. (2019). Effect of the volume fraction of zirconia suspensions on the microstructure and physical properties of products produced by additive manufacturing. *Dental Materials*, 35(5), e97–e106. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.02.001>
- Jasper L . Tran. (2015). Recent scholarship on regulating 3D printing implicitly presumes the same regulation should apply to printing from both non-biological materials and biological materials . However , this presumption is mistakenly grounded . Technically , bioprinting is a . *North Carolina Journal of Law & Technology*, 17(1), 123–178.
- Johansson, E., Lidström, O., Johansson, J., Lyckfeldt, O., & Adolfsson, E. (2017). Influence of resin composition on the defect formation in alumina manufactured by stereolithography. *Materials*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/ma10020138>
- Jonathan Black. (2000). Handbook of Biomaterial Properties. In *Journal of Controlled Release* (Vol. 65, Issue 3). [https://doi.org/10.1016/s0168-3659\(99\)00208-4](https://doi.org/10.1016/s0168-3659(99)00208-4)
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. (1995). *Histologia básica*. Guanabara Koogan.

- Kapinas, K., & Delany, A. M. (2011). MicroRNA biogenesis and regulation of bone remodeling. *Arthritis Research and Therapy*, *13*(3), 1–11. <https://doi.org/10.1186/ar3325>
- Kawachi, E. Y., Bertran, C. A., Dos Reis, R. R., & Alves, O. L. (2000). Biocerâmicas: Tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. *Quimica Nova*, *23*(4), 518–522. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000400015>
- Kelly, B. E., Bhattacharya, I., Heidari, H., Shusteff, M., Spadaccini, C. M., & Taylor, H. K. (2019). Volumetric additive manufacturing via tomographic reconstruction. *Science*, *363*(6431), 1075–1079. <https://doi.org/10.1126/science.aau7114>
- Khadilkar, A., Wang, J., & Rai, R. (2019). Deep learning-based stress prediction for bottom-up SLA 3D printing process. *International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, *102*(5–8), 2555–2569. <https://doi.org/10.1007/s00170-019-03363-4>
- Kodama, H. (1981). Automatic method for fabricating a three-dimensional plastic model with photo-hardening polymer. *Review of Scientific Instruments*, *52*(11), 1770–1773. <https://doi.org/10.1063/1.1136492>
- Kohli, S., Rithner, C. D., & Dorhout, P. K. (2002). X-ray characterization of annealed iridium films. *Journal of Applied Physics*, *91*(3), 1149–1154. <https://doi.org/10.1063/1.1429798>
- Kokubo, T., Kim, H. M., Kawashita, M., & Nakamura, T. (2004). Bioactive metals: Preparation and properties. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, *15*(2), 99–107. <https://doi.org/10.1023/B:JMSM.0000011809.36275.0c>
- Komissarenko, D. A., Sokolov, P. S., Evstigneeva, A. D., Shmeleva, I. A., & Dosovitsky, A. E. (2018). Rheological and curing behavior of acrylate-based suspensions for the DLP 3D printing of complex zirconia parts. *Materials*, *11*(12). <https://doi.org/10.3390/ma11122350>
- Krieger, I. M., & Dougherty, T. J. (1959). A Mechanism for Non-Newtonian Flow in Suspensions of Rigid Spheres. *Transactions of the Society of Rheology*, *3*(1), 137–152. <https://doi.org/10.1122/1.548848>
- Kumar, A., Akkineni, A. R., Basu, B., & Gelinsky, M. (2016). Three-dimensional plotted hydroxyapatite scaffolds with predefined architecture: Comparison of stabilization by alginate cross-linking versus sintering. *Journal of Biomaterials Applications*, *30*(8), 1168–1181. <https://doi.org/10.1177/0885328215617058>

- Kumar, A., Kargozar, S., Baino, F., & Han, S. S. (2019). Additive Manufacturing Methods for Producing Hydroxyapatite and Hydroxyapatite-Based Composite Scaffolds: A Review. *Frontiers in Materials*, 6(December). <https://doi.org/10.3389/fmats.2019.00313>
- Kumar, P., Dehiya, B. S., & Sindhu, A. (2017). Comparative study of chitosan and chitosan–gelatin scaffold for tissue engineering. *International Nano Letters*, 7(4), 285–290. <https://doi.org/10.1007/s40089-017-0222-2>
- Kurt Dudley. (2018). *3D PRINTING USING SPIRAL BUILDUP AND HIGH VISCOSITY BUILD MATERIALS (US010150247B2)*.
- Lakhdar, Y., Tuck, C., Binner, J., Terry, A., & Goodridge, R. (2021). Additive manufacturing of advanced ceramic materials. *Progress in Materials Science*, 116(September 2020), 100736. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2020.100736>
- Layani, M., Wang, X., & Magdassi, S. (2018). Novel Materials for 3D Printing by Photopolymerization. *Advanced Materials*, 30(41), 1–7. <https://doi.org/10.1002/adma.201706344>
- Lee, Y. H., Lee, J. Bin, Maeng, W. Y., Koh, Y. H., & Kim, H. E. (2019). Photocurable ceramic slurry using solid camphor as novel diluent for conventional digital light processing (DLP) process. *Journal of the European Ceramic Society*, 39(14), 4358–4365. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2019.05.069>
- Lewis, J. A. (2011). Colloidal Processing of Ceramic-Ceramic and Ceramic-Metal Composites. *Processing and Properties of Advanced Ceramics and Composites III*, 225, 147–159. <https://doi.org/10.1002/9781118144442.ch13>
- Li, J., Bao, Q., Chen, S., Liu, H., Feng, J., Qin, H., Li, A., Liu, D., Shen, Y., Zhao, Y., & Zong, Z. (2017). Different bone remodeling levels of trabecular and cortical bone in response to changes in Wnt/ β -catenin signaling in mice. *Journal of Orthopaedic Research*, 35(4), 812–819. <https://doi.org/10.1002/jor.23339>
- Li, J., Chen, M., Fan, X., & Zhou, H. (2016). Recent advances in bioprinting techniques: Approaches, applications and future prospects. *Journal of Translational Medicine*, 14(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12967-016-1028-0>

- Li, K., & Zhao, Z. (2017). The effect of the surfactants on the formulation of UV-curable SLA alumina suspension. *Ceramics International*, 43(6), 4761–4767. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.11.143>
- Li, W., Nie, J., Li, M., Liu, W., Chen, Y., & Xing, Z. (2020). Additive manufactured 3Y-TZP ceramics: Study of micromechanical behavior by nanoindentation and microscratch method. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 17(3), 854–863. <https://doi.org/10.1111/ijac.13459>
- Li, X. B., Zhong, H., Zhang, J. X., Duan, Y. Sen, & Jiang, D. L. (2020). Powder Characteristics on the Rheological Performance of Resin-based Zirconia Suspension for Stereolithography. *Wuji Cailiao Xuebao/Journal of Inorganic Materials*, 35(2), 231–235. <https://doi.org/10.15541/jim20190091>
- Li, X., Zhong, H., Zhang, J., Duan, Y., Bai, H., Li, J., & Jiang, D. (2020). Dispersion and properties of zirconia suspensions for stereolithography. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 17(1), 239–247. <https://doi.org/10.1111/ijac.13321>
- Li, X., Zhong, H., Zhang, J., Duan, Y., Li, J., & Jiang, D. (2020). Fabrication of zirconia all-ceramic crown via DLP-based stereolithography. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 17(3), 844–853. <https://doi.org/10.1111/ijac.13441>
- Li, Y., Hu, Y., Cong, W., Zhi, L., & Guo, Z. (2017). Additive manufacturing of alumina using laser engineered net shaping: Effects of deposition variables. *Ceramics International*, 43(10), 7768–7775. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.03.085>
- Lian, Q., Yang, F., Xin, H., & Li, D. (2017). Oxygen-controlled bottom-up mask-projection stereolithography for ceramic 3D printing. *Ceramics International*, 43(17), 14956–14961. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.08.014>
- LITHOZ. (2019). *CERAFAB 7500*.
- Liu, M., Zeng, X., Ma, C., Yi, H., Ali, Z., Mou, X., Li, S., Deng, Y., & He, N. (2017). Injectable hydrogels for cartilage and bone tissue engineering. *Bone Research*, 5(January). <https://doi.org/10.1038/boneres.2017.14>

- Liu, X., Zou, B., Xing, H., & Huang, C. (2020). The preparation of ZrO₂-Al₂O₃ composite ceramic by SLA-3D printing and sintering processing. *Ceramics International*, *46*(1), 937–944. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.09.054>
- Londoño-Restrepo, S. M., Jeronimo-Cruz, R., Millán-Malo, B. M., Rivera-Muñoz, E. M., & Rodríguez-García, M. E. (2019). Effect of the Nano Crystal Size on the X-ray Diffraction Patterns of Biogenic Hydroxyapatite from Human, Bovine, and Porcine Bones. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42269-9>
- Macosko, C. W. (1996). Rheology: Principles, Measurements and Applications. In *Powder Technology* (Vol. 86, Issue 3). [https://doi.org/10.1016/s0032-5910\(96\)90008-x](https://doi.org/10.1016/s0032-5910(96)90008-x)
- Maire, E., & Withers, P. J. (2014). Quantitative X-ray tomography. *International Materials Reviews*, *59*(1), 1–43. <https://doi.org/10.1179/1743280413Y.0000000023>
- Marcacci, M., Kon, E., Moukhachev, V., Lavroukov, A., Kutepov, S., Quarto, R., Mastrogiacomo, M., & Cancedda, R. (2007). Stem cells associated with macroporous bioceramics for long bone repair: 6- To 7-year outcome of a pilot clinical study. *Tissue Engineering*, *13*(5), 947–955. <https://doi.org/10.1089/ten.2006.0271>
- MARUTANI, Y. (1984). *JPS60247515 - Optical shaping method*.
- Mehmel, M. (1930). *Über die Struktur des Apatits*. L. 323–331.
- Miculescu, F., Maidaniuc, A., Miculescu, M., Dan Batalu, N., Catalin Ciocoiu, R., Voicu, Ș. I., Stan, G. E., & Thakur, V. K. (2018). Synthesis and Characterization of Jellified Composites from Bovine Bone-Derived Hydroxyapatite and Starch as Precursors for Robocasting. *ACS Omega*, *3*(1), 1338–1349. <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01855>
- Milazzo, M., Contessi Negrini, N., Scialla, S., Marelli, B., Farè, S., Danti, S., & Buehler, M. J. (2019). Additive Manufacturing Approaches for Hydroxyapatite-Reinforced Composites. *Advanced Functional Materials*, *29*(35), 1–26. <https://doi.org/10.1002/adfm.201903055>
- Miyamoto, Y., Chen, W., & Kirihara, S. (2007). Smart Processing of 3D Micro Ceramic Devices by CAD/CAM Micro-Stereolithography and Sintering. *Transactions of JWRI*, *36*(2), 57.

- Mobaraki, M., Ghaffari, M., Yazdanpanah, A., Luo, Y., & Mills, D. K. (2020). Bioprinting and bioprinting: A focused review. *Bioprinting*, 18(August 2019), e00080. <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2020.e00080>
- Mürer, F. K., Sanchez, S., Álvarez-Murga, M., Di Michiel, M., Pfeiffer, F., Bech, M., & Breiby, D. W. (2018). 3D Maps of Mineral Composition and Hydroxyapatite Orientation in Fossil Bone Samples Obtained by X-ray Diffraction Computed Tomography. *Scientific Reports*, 8(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28269-1>
- Naray-Szabo, S. (1930). The structure of apatite $(\text{CaF})\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_3$. *Zeitschrift Für Kristallographie - Crystalline Materials*, 387–398. <https://doi.org/10.1515/zkri-1930-0129>
- Ngo, T. D., Kashani, A., Imbalzano, G., Nguyen, K. T. Q., & Hui, D. (2018). Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges. *Composites Part B: Engineering*, 143(February), 172–196. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.02.012>
- Nikolova, M. P., & Chavali, M. S. (2019). Recent advances in biomaterials for 3D scaffolds: A review. *Bioactive Materials*, 4(October), 271–292. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2019.10.005>
- Niu, F., Wu, D., Zhou, S., & Ma, G. (2014). Power prediction for laser engineered net shaping of Al_2O_3 ceramic parts. *Journal of the European Ceramic Society*, 34(15), 3811–3817. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2014.06.023>
- Nomoto, R. (1997). Effect of Light Wavelength on Polymerization of Light-cured Resins. *Dental Materials Journal*, 16(1), 60–73. <https://doi.org/10.4012/dmj.16.60>
- Obregon, F., Vaquette, C., Ivanovski, S., Hutmacher, D. W., & Bertassoni, L. E. (2015). Three-Dimensional Bioprinting for Regenerative Dentistry and Craniofacial Tissue Engineering. *Journal of Dental Research*, 94(X), 143S-152S. <https://doi.org/10.1177/0022034515588885>
- Park, I. B., Choi, J. W., Ha, Y. M., & Lee, S. H. (2009). Multiple fabrications of sacrificial layers to enhance the dimensional accuracy of microstructures in maskless projection microstereolithography. *International Journal of Precision Engineering and Manufacturing*, 10(1), 91–98. <https://doi.org/10.1007/s12541-009-0014-3>

Parkhomey, O., Pinchuk, N., Sych, O., Tomila, T., Kuda, O., Tovstonoh, H., Gorban, V., Kolesnichenko, V., & Evyeh, Y. (2016). Effect of particle size of starting materials on the structure and properties of biogenic hydroxyapatite/glass composites. *Processing and Application of Ceramics*, 10(1), 1–8. <https://doi.org/10.2298/PAC1601001P>

Paulo Jorge Bártolo. (2011). *Stereolithography - Materials, Process and applications*.

Pawan Kumar; Brijnandan S Dehiya; Anil Sindhu. (2018). Bioceramics for Tissue Engineering Applications: A Review. *International Journal of Applied Engineering Research*, 13(5), 2744–2752. <https://doi.org/10.3844/ajbbbsp.2006.49.56>

Pelz, J. S., Ku, N., Meyers, M. A., & Vargas-Gonzalez, L. R. (2021). Additive manufacturing of structural ceramics: a historical perspective. *Journal of Materials Research and Technology*, 15, 670–695. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.07.155>

Pernelle, K., Imbert, L., Bossier, C., Auregan, J. C., Cruel, M., Ogier, A., Jurdic, P., & Hoc, T. (2017). Microscale mechanical and mineral heterogeneity of human cortical bone governs osteoclast activity. *Bone*, 94, 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2016.10.002>

Pfaffinger, M., Hartmann, M., Schwentenwein, M., & Stampfl, J. (2017). Stabilization of tricalcium phosphate slurries against sedimentation for stereolithographic additive manufacturing and influence on the final mechanical properties. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 14(4), 499–506. <https://doi.org/10.1111/ijac.12664>

Pfeiffer, F., Herzen, J., Willner, M., Chabior, M., Auweter, S., Reiser, M., & Bamberg, F. (2013). Grating-based X-ray phase contrast for biomedical imaging applications. *Zeitschrift Fur Medizinische Physik*, 23(3), 176–185. <https://doi.org/10.1016/j.zemedi.2013.02.002>

Piemontese, M., Almeida, M., Robling, A. G., Kim, H. N., Xiong, J., Thostenson, J. D., Weinstein, R. S., Manolagas, S. C., O'Brien, C. A., & Ilka, R. L. (2017). Old age causes de novo intracortical bone remodeling and porosity in mice. *JCI Insight*, 2(17), 1–18. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.93771>

Pomerantz, I., Cohem-Sabban, J., Bieber, A., Kamir, J., Katz, M., & Nagles, M. (1987). *Three Dimensional Modeling Apparatus (US4961154)*. 19. [https://doi.org/10.1016/0375-6505\(85\)90011-2](https://doi.org/10.1016/0375-6505(85)90011-2)

Pomerantz, I., Cohem-Sabban, J., Bieber, A., Kamir, J., Katz, M., & Nagles, M. (1988). EP0322257A2 - Three dimensional modeling apparatus and method.

Pomerantz, I., Cohem-Sabban, J., Bieber, A., Kamir, J., Katz, M., & Nagles, M. (1991). US5263130A - Three Dimensional Modeling Apparatus.

PRODWAYS TECH. (2019). *ProMaker V6000*.

Rahman, S. U. (2020). Hydroxyapatite and tissue engineering. *Handbook of Ionic Substituted Hydroxyapatites*, 383–400. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102834-6.00016-1>

Rainer Detsch; Aldo R. Boccaccini. (2014). The role of osteoclasts in bone tissue engineering. *JOURNAL OF TISSUE ENGINEERING AND REGENERATIVE MEDICINE*. <https://doi.org/10.1002/term>

Rajaiah, J., Ruckenstein, E., Andrews, G. F., Forster, E. O., & Gupta, R. K. (1994). Rheology of Sterically Stabilized Ceramic Suspensions. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 33(10), 2336–2340. <https://doi.org/10.1021/ie00034a012>

Rengier, F., Mehndiratta, A., Von Tengg-Kobligk, H., Zechmann, C. M., Unterhinninghofen, R., Kauczor, H. U., & Giesel, F. L. (2010). 3D printing based on imaging data: Review of medical applications. *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery*, 5(4), 335–341. <https://doi.org/10.1007/s11548-010-0476-x>

Ronca, A., D'Amora, U., Raucci, M. G., Lin, H., Fan, Y., Zhang, X., & Ambrosio, L. (2018). A combined approach of double network hydrogel and nanocomposites based on hyaluronic acid and poly(ethylene glycol) diacrylate blend. *Materials*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/ma11122454>

Santoliquido, O., Colombo, P., & Ortona, A. (2019). Additive Manufacturing of ceramic components by Digital Light Processing: A comparison between the “bottom-up” and the “top-down” approaches. *Journal of the European Ceramic Society*, 39(6), 2140–2148. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2019.01.044>

Schmidt, J., Altun, A. A., Schwentenwein, M., & Colombo, P. (2019). Complex mullite structures fabricated via digital light processing of a preceramic polysiloxane with active alumina fillers. *Journal of the European Ceramic Society*, 39(4), 1336–1343. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2018.11.038>

- Schofield, J. D. (2002). Extending the boundaries of dispersant technology. *Progress in Organic Coatings*, 45(2–3), 249–257. [https://doi.org/10.1016/S0300-9440\(02\)00041-3](https://doi.org/10.1016/S0300-9440(02)00041-3)
- Schwarzer, E., Götz, M., Markova, D., Stafford, D., Scheithauer, U., & Moritz, T. (2017). Lithography-based ceramic manufacturing (LCM) – Viscosity and cleaning as two quality influencing steps in the process chain of printing green parts. *Journal of the European Ceramic Society*, 37(16), 5329–5338. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2017.05.046>
- Schwentenwein, M., & Homa, J. (2015). Additive manufacturing of dense alumina ceramics. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 12(1), 1–7. <https://doi.org/10.1111/ijac.12319>
- Shelmerdine, S. C., Simcock, I. C., Hutchinson, J. C., Aughwane, R., Melbourne, A., Nikitichev, D. I., Ong, J. L., Borghi, A., Cole, G., Kingham, E., Calder, A. D., Capelli, C., Akhtar, A., Cook, A. C., Schievano, S., David, A., Ourselin, S., Sebire, N. J., & Arthurs, O. J. (2018). 3D printing from microfocus computed tomography (micro-CT) in human specimens: Education and future implications. *British Journal of Radiology*, 91(1088). <https://doi.org/10.1259/bjr.20180306>
- Sokolov, P. S., Komissarenko, D. A., Dosovitskii, G. A., Shmeleva, I. A., Slyusar', I. V., & Dosovitskii, A. E. (2018). Rheological Properties of Zirconium Oxide Suspensions in Acrylate Monomers For Use In 3D Printing. *Glass and Ceramics (English Translation of Steklo i Keramika)*, 75(1–2), 55–59. <https://doi.org/10.1007/s10717-018-0028-3>
- Song, S. Y., Park, M. S., Lee, D., Lee, J. W., & Yun, J. S. (2019). Optimization and characterization of high-viscosity ZrO₂ ceramic nanocomposite resins for supportless stereolithography. *Materials and Design*, 180, 107960. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2019.107960>
- Sun, J., Binner, J., & Bai, J. (2019). Effect of surface treatment on the dispersion of nano zirconia particles in non-aqueous suspensions for stereolithography. *Journal of the European Ceramic Society*, 39(4), 1660–1667. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2018.10.024>
- Swetha, M., Sahithi, K., Moorthi, A., Srinivasan, N., Ramasamy, K., & Selvamurugan, N. (2010). Biocomposites containing natural polymers and hydroxyapatite for bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 47(1), 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.03.015>

Szcześ, A., Hołysz, L., & Chibowski, E. (2017). Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 249(April), 321–330. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.04.007>

Tang, D., Tare, R. S., Yang, L. Y., Williams, D. F., Ou, K. L., & Oreffo, R. O. C. (2016). Biofabrication of bone tissue: Approaches, challenges and translation for bone regeneration. *Biomaterials*, 83, 363–382. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.01.024>

Tanurdjaja, S., Tallon, C., Scales, P. J., & Franks, G. V. (2011). Influence of dispersant size on rheology of non-aqueous ceramic particle suspensions. *Advanced Powder Technology*, 22(4), 476–481. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2011.04.011>

Tesařová, M., Zikmund, T., Kaucká, M., Adameyko, I., Jaroš, J., Paloušek, D., Škaroupka, D., & Kaiser, J. (2016). Use of micro computed-tomography and 3D printing for reverse engineering of mouse embryo nasal capsule. *Journal of Instrumentation*, 11(3). <https://doi.org/10.1088/1748-0221/11/03/C03006>

Thamaraiselvi, T., & Rajeswari, S. (2004). Biological evaluation of bioceramic materials-a review. *Carbon*, 24(31), 172.

Tomeckova, V., & Halloran, J. W. (2011). Flow behavior of polymerizable ceramic suspensions as function of ceramic volume fraction and temperature. *Journal of the European Ceramic Society*, 31(14), 2535–2542. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2011.01.019>

Truxova, V., Safka, J., Seidl, M., Kovalenko, I., Volesky, L., & Ackermann, M. (2020). Ceramic 3d printing: Comparison of SLA and DLP technologies. *MM Science Journal*, 2020(June), 3905–3911. https://doi.org/10.17973/MMSJ.2020_06_2020006

Tufail, A., Schmidt, F., & Maqbool, M. (2020). Three-dimensional printing of hydroxyapatite. In *Handbook of Ionic Substituted Hydroxyapatites* (Issue i). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102834-6.00015-x>

Vallet-Regí, M., & González-Calbet, J. M. (2004). Calcium phosphates as substitution of bone tissues. *Progress in Solid State Chemistry*, 32(1–2), 1–31. <https://doi.org/10.1016/j.progsolidstchem.2004.07.001>

- Vallet-Regí, M., & Ruiz-Hernández, E. (2011). Bioceramics: From bone regeneration to cancer nanomedicine. *Advanced Materials*, 23(44), 5177–5218. <https://doi.org/10.1002/adma.201101586>
- Varghese, G., Moral, M., Castro-García, M., López-López, J. J., Marín-Rueda, J. R., Yagüe-Alcaraz, V., Hernández-Afonso, L., Ruiz-Morales, J. C., & Canales-Vázquez, J. (2018). Fabricación y caracterización de cerámicas mediante impresión 3D DLP de bajo coste. *Boletín de La Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 57(1), 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.bsecv.2017.09.004>
- Venugopal, J., Prabhakaran, M. P., Zhang, Y., Low, S., Choon, A. T., & Ramakrishna, S. (2010). Biomimetic hydroxyapatite-containing composite nanofibrous substrates for bone tissue engineering. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 368(1917), 2065–2081. <https://doi.org/10.1098/rsta.2010.0012>
- Villa, M. M., Wang, L., Huang, J., Rowe, D. W., & Wei, M. (2015). Bone tissue engineering with a collagen-hydroxyapatite scaffold and culture expanded bone marrow stromal cells. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 103(2), 243–253. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33225>
- Vitalij K. Pecharsky. (2008). *Fundamentals of Powder Diffraction and Structural Characterization of*. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-09579-0>
- Wang, J. C. (2013). A novel fabrication method of high strength alumina ceramic parts based on solvent-based slurry stereolithography and sintering. *International Journal of Precision Engineering and Manufacturing*, 14(3), 485–491. <https://doi.org/10.1007/s12541-013-0065-3>
- Wang, J. C., & Dommati, H. (2018). Fabrication of zirconia ceramic parts by using solvent-based slurry stereolithography and sintering. *International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 98(5–8), 1537–1546. <https://doi.org/10.1007/s00170-018-2349-3>
- Wang, J. C., Dommati, H., & Hsieh, S. J. (2019). Review of additive manufacturing methods for high-performance ceramic materials. *International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 103(5–8), 2627–2647. <https://doi.org/10.1007/s00170-019-03669-3>
- Wang, L., Zheng, K., Ding, Z., Yan, X., Zhang, H., Cao, Y., & Guo, C. (2020). Drag coefficient and settling velocity of fine particles with varying surface wettability. *Powder Technology*, 372, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2020.05.102>

Wang, X., Schmidt, F., Hanaor, D., Kamm, P. H., Li, S., & Gurlo, A. (2019). Additive manufacturing of ceramics from preceramic polymers: A versatile stereolithographic approach assisted by thiol-ene click chemistry. *Additive Manufacturing*, 27(January), 80–90. <https://doi.org/10.1016/j.addma.2019.02.012>

Wang, Z., Huang, C., Wang, J., & Zou, B. (2019). Development of a novel aqueous hydroxyapatite suspension for stereolithography applied to bone tissue engineering. *Ceramics International*, 45(3), 3902–3909. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.11.063>

Wei, Y., Zhao, D., Cao, Q., Wang, J., Wu, Y., Yuan, B., Li, X., Chen, X., Zhou, Y., Yang, X., Zhu, X., Tu, C., & Zhang, X. (2020). Stereolithography-Based Additive Manufacturing of High-Performance Osteoinductive Calcium Phosphate Ceramics by a Digital Light-Processing System. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 6(3), 1787–1797. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.9b01663>

Wen, Y., Xun, S., Haoye, M., Baichuan, S., Peng, C., Xuejian, L., Kaihong, Z., Xuan, Y., Jiang, P., & Shibi, L. (2017). 3D printed porous ceramic scaffolds for bone tissue engineering: A review. *Biomaterials Science*, 5(9), 1690–1698. <https://doi.org/10.1039/c7bm00315c>

Williams, D. F. (1987). *Definitions in biomaterials : proceedings of a consensus conference of the European Society for Biomaterials*.

WOHLERS, Terry; GORNET, T. (2016). Wohlers Report 2016 - 3D printing and Additive Manufacturing of the Industry. *Wohlers Report 2016*.

Wozniak, M., de Hazan, Y., Graule, T., & Kata, D. (2011). Rheology of UV curable colloidal silica dispersions for rapid prototyping applications. *Journal of the European Ceramic Society*, 31(13), 2221–2229. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2011.05.004>

Wu, H., Liu, W., He, R., Wu, Z., Jiang, Q., Song, X., Chen, Y., Cheng, L., & Wu, S. (2017). Fabrication of dense zirconia-toughened alumina ceramics through a stereolithography-based additive manufacturing. *Ceramics International*, 43(1), 968–972. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.10.027>

Wu, X., Lian, Q., Li, D., He, X., Meng, J., Liu, X., & Jin, Z. (2019). Influence of boundary masks on dimensions and surface roughness using segmented exposure in ceramic 3D printing. *Ceramics International*, 45(3), 3687–3697. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.11.031>

Wu, Z., Liu, W., Wu, H., Huang, R., He, R., Jiang, Q., Chen, Y., Ji, X., Tian, Z., & Wu, S. (2018). Research into the mechanical properties, sintering mechanism and microstructure evolution of Al₂O₃-ZrO₂ composites fabricated by a stereolithography-based 3D printing method. *Materials Chemistry and Physics*, 207, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2017.12.021>

Wyn Kelly Swainson. (1971). *United States Patent (US4041476)*.

Xing, B., Cao, C., Zhao, W., Shen, M., Wang, C., & Zhao, Z. (2020). Dense 8 mol% yttria-stabilized zirconia electrolyte by DLP stereolithography. *Journal of the European Ceramic Society*, 40(4), 1418–1423. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2019.09.045>

Xing, H., Zou, B., Lai, Q., Huang, C., Chen, Q., Fu, X., & Shi, Z. (2018). Preparation and characterization of UV curable Al₂O₃ suspensions applying for stereolithography 3D printing ceramic microcomponent. *Powder Technology*, 338, 153–161. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.07.023>

Xing, H., Zou, B., Li, S., & Fu, X. (2017). Study on surface quality, precision and mechanical properties of 3D printed ZrO₂ ceramic components by laser scanning stereolithography. *Ceramics International*, 43(18), 16340–16347. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.09.007>

Xing, Z., Liu, W., Chen, Y., & Li, W. (2018). Effect of plasticizer on the fabrication and properties of alumina ceramic by stereolithography-based additive manufacturing. *Ceramics International*, 44(16), 19939–19944. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.07.259>

Yaghtin, M., Yaghtin, A., Tang, Z., & Troczynski, T. (2020). Improving the rheological and stability characteristics of highly concentrated aqueous yttria stabilized zirconia slurries. *Ceramics International*, 46(17), 26991–26999. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.07.176>

Zeng, Q., Yang, C., Tang, D., Li, J., Feng, Z., Liu, J., & Guan, K. (2019). Additive manufacturing alumina components with lattice structures by digital light processing technique. *Journal of Materials Science and Technology*, 35(12), 2751–2755. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2019.08.001>

Zhang, J., Wei, L., Meng, X., Yu, F., Yang, N., & Liu, S. (2020). Digital light processing-stereolithography three-dimensional printing of yttria-stabilized zirconia. *Ceramics International*, 46(7), 8745–8753. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.12.113>

Zhang, K., He, R., Ding, G., Bai, X., & Fang, D. (2021). Effects of fine grains and sintering additives on stereolithography additive manufactured Al₂O₃ ceramic. *Ceramics International*, 47(2), 2303–2310. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.09.071>

Zhang, K., He, R., Ding, G., Feng, C., Song, W., & Fang, D. (2020). Digital light processing of 3Y-TZP strengthened ZrO₂ ceramics. *Materials Science and Engineering A*, 774, 138768. <https://doi.org/10.1016/j.msea.2019.138768>

Zhang, K., He, R., Xie, C., Wang, G., Ding, G., Wang, M., Song, W., & Fang, D. (2019). Photosensitive ZrO₂ suspensions for stereolithography. *Ceramics International*, 45(9), 12189–12195. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.03.123>

Zhang, K., Xie, C., Wang, G., He, R., Ding, G., Wang, M., Dai, D., & Fang, D. (2019). High solid loading, low viscosity photosensitive Al₂O₃ slurry for stereolithography based additive manufacturing. *Ceramics International*, 45(1), 203–208. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.09.152>

Zhang, S., Sha, N., & Zhao, Z. (2017). Surface modification of α -Al₂O₃ with dicarboxylic acids for the preparation of UV-curable ceramic suspensions. *Journal of the European Ceramic Society*, 37(4), 1607–1616. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2016.12.013>

Zheng, X. J., Yang, Z. Y., & Zhou, Y. C. (2003). Residual stresses in Pb(Zr_{0.52}Ti_{0.48})O₃ thin films deposited by metal organic decomposition. *Scripta Materialia*, 49(1 SPEC.), 71–76. [https://doi.org/10.1016/S1359-6462\(03\)00181-7](https://doi.org/10.1016/S1359-6462(03)00181-7)

Zheng, X., Li, J., & Zhou, Y. (2004). X-ray diffraction measurement of residual stress in PZT thin films prepared by pulsed laser deposition. *Acta Materialia*, 52(11), 3313–3322. <https://doi.org/10.1016/j.actamat.2004.02.047>

Zhou, M., Liu, W., Wu, H., Song, X., Chen, Y., Cheng, L., He, F., Chen, S., & Wu, S. (2016). Preparation of a defect-free alumina cutting tool via additive manufacturing based on stereolithography – Optimization of the drying and debinding processes. *Ceramics International*, 42(10), 11598–11602. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.04.050>

КОСТАБЕБЕР, Э. М. (2012). *STEREOLITHOGRAPHIC MACHINE FOR MAKING OF 3D OBJECT AND METHOD OF STEREOLITHOGRAPHY IMPLEMENTED BY SAID MACHINE (RU2562494C2)*.

ANEXO



DECLARAÇÃO

PRT 05/2015

Declaramos que o projeto intitulado: "Estudo comparativo da qualidade óssea de bovinos das raças Canchim e Nelore, baseado na estrutura cristalina da hidroxiapatita", usando animais *Bos taurus indicus* e mestiços com *B. t. taurus*, sob responsabilidade da pesquisador científico Rymer Ramiz Tullio, está de acordo com os princípios éticos e de experimentação animal da Embrapa Pecuária Sudeste e foi aprovado pela referida instituição
(We hereby declare that the research: "Comparative study of bone quality of Canchim and Nelore beef cattle, based on the crystal structure of hydroxyapatite", utilizing *Bos taurus indicus* and crossbred with *B. t. taurus* species, under the responsibility of the scientific researcher Rymer Ramiz Tullio, is in agreement with ethical principles of animal experimentation of Embrapa Southeast Livestock and was approved to be carried out at that institution).

São Carlos, 10 de setembro de 2015.



Dra. Márcia Cristina de Sena Oliveira
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Embrapa Pecuária Sudeste

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Rod. Washington Luiz, km 234 Caixa Postal 339 13560-970 São Carlos, SP
Telefone (16) 3411-55100 - Fax (16) 3361-5754



CEUA -PRT 05/2015

Nome do projeto: "Estudo comparativo da qualidade óssea de bovinos das raças Canchim e Nelore, baseado na estrutura cristalina da hidroxiapatita".

PARECER DO RELATOR 1

APROVADO (X) APROVADO COM RESTRIÇÕES () REPROVADO ()

Justificativa: **No projeto descrito serão retiradas 20 amostras, 10 da raça Canchim e 10 da raça Nelore, do osso metatarso trabecular seco, de animais abatidos aos 24 meses de idade. Análises posteriores desse material serão realizadas em microscopia e demais técnicas descritas. As amostras serão coletadas de animais cujos abates já estavam previstos e autorizados em outros dois projetos 02.12.02.008.00.00 (projeto ADAPT+, para animais da raça Canchim) e projeto BASF.**

O projeto pode ser classificado como G11 = Experimentos que causam pouco ou nenhum desconforto ou estresse e ainda poderá proporcionar a produção em escala comercial de hidroxiapatita orgânica, contribuindo na área médica e odontológica.

Nome: Ana Carolina de Souza Chagas

Assinatura: Ana Carolina Chagas

Data: 21/08/2015

PARECER DO RELATOR 2

APROVADO (X) APROVADO COM RESTRIÇÕES () REPROVADO ()

Justificativa: **O projeto propõe o aproveitamento de mais um tecido (ossos) após o abate dos bovinos, além dos tecidos previamente previstos e aprovados em outros projetos pela CEUA, que também aprovou as condições de criação e abate dos animais.**

Nome: Simone Cristina Méo Niciura

Assinatura: Simone Cristina Méo Niciura

Data: 10/09/2015

PARECER DA CEUA da Embrapa Pecuária Sudeste

APROVADO (X) APROVADO COM RESTRIÇÕES () REPROVADO ()

Justificativa: Acato os pareceres apresentados pelos consultores.

Nome: Márcia Cristina de Sena Oliveira

Assinatura da Presidente da Comissão: Márcia Cristina de Sena Oliveira

Data: 10/09/2015



EESC • USP