

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**DESENVOLVIMENTO DE BIOCMPÓSITOS PLA/PBS/BIOCARGAS PARA
IMPRESSÃO 3D DE SCAFFOLDS PARA ENGENHARIA DE TECIDOS
ÓSSEOS**

Luana Caroline Góis Lima

São Carlos-SP
2025

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**DESENVOLVIMENTO DE BIOCAMPÓSITOS PLA/PBS/BIOCARGAS PARA
IMPRESSÃO 3D DE SCAFFOLDS PARA ENGENHARIA DE TECIDOS
ÓSSEOS**

Luana Caroline Góis Lima

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Engenharia de Materiais como requisito
parcial à obtenção do título de MESTRA EM
CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS

Orientador: Dr. Eduardo Henrique Backes

Coorientador: Dr. Luiz Antonio Pessan

Agência Financiadora: (CNPq - Processo: 131018/2022-1)

São Carlos-SP
2025

DEDICATÓRIA

À Amanda Ferreira, que partiu cedo demais, mas permanece viva em cada lembrança, em cada descoberta e em cada conquista que carrega um pouco do brilho do seu olhar.

Você foi uma presença constante e um apoio em muitos momentos; mesmo não estando aqui, sinto o seu carinho.

Esta conquista também é sua — por tudo o que compartilhamos e pela amizade que permanece, eterna e silenciosa.

VITAE

Bacharel em Engenharia de Materiais pela Universidade Federal do Piauí
(2022).

Licenciatura Plena em Química pela Universidade Estadual do Piauí (2016)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Luana Caroline Góis Lima, realizada em 08/12/2025.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Eduardo Henrique Backes (UFSCar)

Prof. Dr. Juliano Marini (UFSCar)

Prof. Dr. Hernane da Silva Barud (UNIARA)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus, por sempre iluminar o meu caminho, concedendo-me força nos momentos de desespero e descrença, por me mostrar que nada é insuperável quando Nele depositamos nossa fé e por me abençoar com o dom da vida.

Aos professores Eduardo Henrique Backes e Luiz Antonio Pessan, pela orientação, pelo apoio, pela paciência e pelos valiosos conhecimentos transmitidos, que contribuíram de forma significativa para minha formação acadêmica, científica e profissional.

Ao meu pai, familiares e amigos, pelo amor incondicional, pelo apoio constante e pela compreensão diante da minha ausência, bem como pelos conselhos, incentivos e cuidados que sempre me ofereceram.

Aos colegas de mestrado e doutorado, em especial Leonardo Alves, Daniel Cunha, Ewerton, Marco Vinícius Nicolino, André Carvalho e Wallyson Ramos, pela colaboração durante o desenvolvimento desta pesquisa e pelos momentos de convivência e amizade compartilhados ao longo dessa jornada. Aos amigos da UFSCar, em especial Bruno, Natália, Amanda (in memoriam), Laura, Iago, Marcos, Tainara, Jéssica e Bárbara, pela amizade, pelo apoio, pelo carinho, pelas risadas e por todos os momentos de descontração que tornaram este percurso mais leve e significativo. Levarei cada um de vocês sempre em minha memória e em meu coração.

A todos os professores do PPGCEM, pela dedicação, pelos ensinamentos e pelas contribuições essenciais à minha formação acadêmica e pessoal, registro aqui a minha mais sincera gratidão.

À Universidade Federal de São Carlos e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - Processo: 131018/2022-1) pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

O aumento da demanda por implantes ósseos destinados ao tratamento de doenças ou lesões tem impulsionado a busca por novas abordagens capazes de oferecer substitutos funcionais. Essas soluções, *scaffolds*, visam suprir a escassez de tecidos e adaptar-se de forma personalizada às necessidades individuais de cada paciente. Para que sejam eficazes, esses *scaffolds* devem apresentar biocompatibilidade, biorreabsorbilidade controlada, estabilidade mecânica e capacidade de promover adesão, proliferação e diferenciação celular. Assim, este estudo teve como objetivo desenvolver *scaffolds* biocompósitos formados por uma blenda de pol(ácido láctico) (PLA) e poli(butileno succinato) (PBS) na proporção 75/25 (%m/m), incorporada com duas biocargas β -fosfato tricálcico (TCP) ou pó ósseo (BP). Os biocompósitos foram produzidos por meio de mistura no estado fundido em um misturador interno, submetidos a caracterizações reológicas e térmicas e, a seguir, utilizados na fabricação de *scaffolds* impressos 3D. A incorporação das biocargas resultou em uma pequena redução da viscosidade e da estabilidade térmica da blenda, indicando possível degradação polimérica induzida pela adição dessas biocargas. Apesar disso, o processo de impressão 3D demonstrou excelente reprodutibilidade, resultando em *scaffolds* com integridade estrutural adequada para aplicações no reparo ósseo. Os ensaios mecânicos mostraram que a adição de biocargas (10 e 20 % m/m) não melhorou significativamente o desempenho mecânico e garantiu propriedades suficientes para compatibilidade com o tecido ósseo natural. Ensaio de citotoxicidade *in vitro*, realizados com células pré-osteoblásticas de camundongo (MC3T3-E1), confirmaram a biocompatibilidade dos *scaffolds*, evidenciada pela boa adesão celular e pela ausência de efeitos tóxicos. Os resultados indicam que os *scaffolds* de PLA/PBS (75/25) com TCP e BP apresentam grande potencial para aplicações na engenharia de tecidos ósseos, unindo processabilidade, estabilidade mecânica e bioatividade.

Palavras-chave: Poli (ácido láctico), Poli (butileno succinato), engenharia de tecidos ósseos, manufatura aditiva, biocompósitos.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF PLA/PBS/BIOFILLERS BIOCOMPOSITES FOR 3D PRINTING OF SCAFFOLDING FOR BONE TISSUE ENGINEERING

The increasing demand for bone implants to treat diseases or injuries has driven the search for new approaches capable of providing functional substitutes. These solutions, known as *scaffolds*, aim to address tissue scarcity and adapt in a personalized manner to the individual needs of each patient. To be effective, these scaffolds must exhibit biocompatibility, controlled bioresorbability, mechanical stability, and the ability to promote cell adhesion, proliferation, and differentiation. Therefore, this study aimed to develop biocomposite scaffolds composed of a blend of poly(lactic acid) (PLA) and poly(butylene succinate) (PBS) in a 75:25 (% w/w) ratio, incorporating two biofillers: β -tricalcium phosphate (TCP) or bone powder (BP). The biocomposites were produced by melt mixing in an internal mixer and subsequently subjected to rheological and thermal characterizations before being used to manufacture 3D-printed *scaffolds*. The incorporation of biofillers resulted in a small reduction in the viscosity and thermal stability of the blend, indicating possible polymer degradation induced by the addition of these biofillers. Despite this, the 3D printing process demonstrated excellent morphological reproducibility, resulting in *scaffolds* with adequate structural integrity for bone repair applications. Mechanical tests revealed that the addition of biofillers (10% and 20% w/w) did not significantly enhance mechanical performance and ensured compatibility with natural bone tissue. In vitro cytotoxicity tests, performed with mouse pre-osteoblastic cells (MC3T3-E1), confirmed the biocompatibility of the *scaffolds*, evidenced by good cell adhesion and the absence of toxic effects. The results indicate that PLA/PBS (75/25) scaffolds with TCP and BP have great potential for applications in bone tissue engineering, as they combine processability, mechanical stability, and bioactivity.

KEYWORDS: Poly (lactic acid), Poly (butylene succinate), bone tissue engineering, additive manufacturing, biocomposite.

ÍNDICE DE ASSUNTOS

	Pág.
FOLHA DE APROVAÇÃO	i
AGRADECIMENTOS	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
ÍNDICE DE ASSUNTOS	v
SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	vi
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1 ENGENHARIA DE TECIDOS E REGENERAÇÃO ÓSSEA	5
2.2 Manufatura Aditiva/Impressão 3D	8
2.3 Poli (ácido láctico) - PLA	12
2.4 Polibutileno Succinato - PBS	15
2.5 BLENDS E COMPÓSITOS DE PLA/PBS	16
3.MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1 Materiais	18
3.2 Métodos	18
3.2.1 Desenvolvimento e Caracterização das Cargas e das Matérias-Primas	18
3.2.2 Desenvolvimento e Caracterização dos Materiais Produzidos Via Misturador Interno	21
3.2.3 Processamento e Caracterização dos Scaffolds	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 Caracterização das Biocargas	27
4.2 Caracterização dos Materiais Produzidos Via Misturador Interno	29
4.3 Caracterização dos scaffolds impressos 3D	34
5 CONCLUSÕES	40
6 SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS	42
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
8 APÊNDICE	52

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

- ASTM:** American Society for Testing and Materials
- BMPs:** Proteínas morfogênicas ósseas
- CAD:** Modelagem Assistida por Computador
- DBM:** Matriz óssea desmineralizada
- DRX:** Difração de Raios X
- DSC:** Calorimetria Exploratória Diferencial
- ETO:** Engenharia de Tecido Ósseo
- HA:** Hidroxiapatita
- ICP-OES:** Espectrometria de emissão ótica por plasma acoplado indutivamente
- IOF:** International Osteoporosis Foundation
- MEV:** Microscopia Eletrônica de Varredura
- OMS:** Organização Mundial da Saúde
- PBS:** Poli (butileno succinato)
- PBSA:** Poli(succinato-co-adipato de butileno)
- PDLA:** Ácido poli-D-láctico
- PDLLA:** Ácido poli-D,L-láctico
- PGA:** Poli (ácido glicólico)
- PLA:** Poli (ácido láctico)
- PLGA:** Poli (ácido láctico-co-ácido glicólico)
- PLLA:** Ácido poli-L-láctico
- BP:** Pó de osso desmineralizado
- STL:** Language Standard Tessellation
- T_c:** Temperatura de cristalização
- TCP:** β -Fosfato tricálcico
- T_g:** Temperatura de transição vítrea
- TGF- β 1:** Fator transformador de crescimento β 1
- T_m:** Temperatura de fusão
- VEGF:** Fator de crescimento endotelial vascular
- X_c:** Grau de Cristalinidade

1 INTRODUÇÃO

Segundo artigo publicado no periódico científico *Journal of Bone and Mineral Research*, o número de pacientes que sofrerão fratura no quadril até 2050 deve dobrar em todo o mundo [1]. Somente no Brasil, estima-se que o número de casos anuais de fratura de quadril passe de 50 mil para 199 mil. Esse aumento está diretamente ligado ao envelhecimento da população e ao aumento dos casos de osteoporose, doença que fragiliza os ossos e leva a fraturas sob baixos níveis de tensão [1].

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), há cerca de 9 milhões de fraturas ósseas por ano decorrentes da osteoporose; ainda segundo dados da IOF (*International Osteoporosis Foundation*), cerca de 10 milhões de brasileiros apresentam esse quadro clínico e apenas 20% estão cientes disso [2].

Atualmente, as ocorrências hospitalares mais comuns têm como causa algum trauma que resulta em fratura óssea, seja devido a acidentes automobilísticos ou a doenças como a osteoporose que fragilizam os ossos. Esse tipo de evento, por muitas vezes, necessita de intervenções cirúrgicas com implantes para fixar e auxiliar na recuperação da região fraturada, o que pode levar a complicações decorrentes tanto do implante quanto dos longos períodos de recuperação [3,4].

Nesse contexto, a Engenharia de Tecido Ósseo (ETO) desempenha um papel crucial como subárea da medicina regenerativa. A ETO tem como objetivo desenvolver materiais biocompatíveis, biorreabsorvíveis e atóxicos, bem como técnicas, para o tratamento de fraturas ósseas. Essa abordagem busca ser menos invasiva do que outros procedimentos, além de garantir uma adesão, proliferação e diferenciação celulares superiores em comparação com as técnicas de enxertia óssea tradicionais, como autoenxertos e aloenxertos, devido a limitações, como o tamanho do defeito a ser enxertado, escassez de tecido circundante, morbidade do local doador e possibilidade de contaminação [5,6].

De forma geral, a ETO consiste na regeneração e substituição de tecidos danificados, destacando-se o uso de *scaffolds* tridimensionais. *Scaffolds* são geralmente materiais porosos tridimensionais e biodegradáveis, produzidos pela

ETO, capazes de auxiliar na formação da matriz extracelular, permitindo o suporte, a proliferação, a diferenciação e a adesão celular. Portanto, a ETO visa fabricar e desenvolver *scaffolds* com propriedades químicas, biológicas e mecânicas capazes de mimetizar as características naturais do tecido e interagir com os tecidos circundantes. Esses materiais podem ser desenvolvidos a partir de materiais biodegradáveis e biocompatíveis, provenientes de fontes naturais ou sintéticas, tais como polímeros, biovidros, cerâmicas e materiais compósitos. No decorrer da recuperação e da formação de tecidos, o *scaffold* proporciona, provisoriamente, suporte mecânico e vascular à regeneração tecidual. Além disso, os *scaffolds* devem apresentar características semelhantes ao tecido a ser substituído, como tamanho de poro, morfologia e composição, o que favorece o processo de regeneração tecidual [7,8,9].

O osso natural é composto de materiais orgânicos (compostos de colágeno) e inorgânicos, majoritariamente hidroxiapatita, por isso compósitos desenvolvidos a partir da mistura entre polímeros e cerâmicas tem sido amplamente utilizado na fabricação de *scaffolds*. Visto que os polímeros, por serem, em sua maioria, dúcteis, simulam a parte orgânica da matriz extracelular, enquanto as cerâmicas simulam a parte inorgânica, aumentando a resistência à compressão e a bioatividade do compósito. Além disso, as cerâmicas bioativas podem proteger o ambiente ácido gerado pelos produtos de degradação durante o processo de biodegradação desses polímeros [10].

Dentre os diversos polímeros disponíveis para a fabricação de *scaffolds*, o poli(ácido láctico) (PLA), o poli(ϵ -caprolactona) (PCL) e o poli(butileno succinato) (PBS) destacam-se por suas propriedades desejáveis e adaptáveis a aplicações biomédicas [11]. O PLA, derivado do ácido láctico, é um polímero biocompatível e bioabsorvível, apresentando também elevadas propriedades mecânicas, como elevada resistência mecânica, porém, tem como deficiência um longo tempo de biodegradação e não apresenta comportamento bioativo, reduzindo seu potencial de osteointegração quando implantado [12, 13].

Por sua vez, o PBS é outro polímero que vem se destacando na área da biomedicina por ser biocompatível, bioabsorvível e apresentar maior ductilidade, apesar do alto grau de cristalinidade. Além disso, o PBS apresenta taxa de

biodegradação maior do que o PLA, de modo que, quando desenvolvidas blendas PLA/PBS, o PBS as torna mais flexíveis e reduz o tempo de biodegradação [11,14].

No entanto, tanto os polímeros puros quanto as suas blendas não apresentam características bioativas, de modo que esse comportamento pode ser otimizado por meio da adição de materiais cerâmicos bioativos como a hidroxiapatita (HA) ou o β -fosfato tricálcico (TCP). Ambas têm elevado potencial bioativo e, por apresentarem composição química semelhante à do osso, são capazes de promover uma interface de ligação entre o material e o tecido [15]. No entanto, o TCP apresenta menor razão de Ca/P (1,5) em comparação com HA natural (1,67) e por isso é mais facilmente biodegradado em condições naturais [12]. Outro tipo de biocerâmica que vem sendo utilizada em aplicações biomédicas e pesquisas é a matriz óssea desmineralizada, geralmente na forma de pó de osso desmineralizado (BP). O BP é um derivado de aloenxerto altamente processado, com boa biocompatibilidade, bioatividade e facilidade de incorporação ao osso durante a regeneração [16].

Apesar dessas vantagens, a fabricação de *scaffolds* com arquitetura e porosidade controladas permanece um desafio que incluem biodegradação, resistência mecânica, compatibilidade e escalabilidade [17]. A impressão 3D ou manufatura aditiva é uma tecnologia de fabricação avançada que pode criar estruturas ordenadas e avançadas a partir de modelos personalizados definidos pelo usuário, e que por esse motivo tem encontrado aplicação na área de tratamento médico, principalmente em aplicações de estruturas para reparo ósseo onde já encontra implementações bem-sucedidas de estruturas impressas 3D de compósitos de PLA e PBS com cargas cerâmicas. A Figura 1 apresenta, de forma resumida, o desenvolvimento e a aplicação de um *scaffold* composto por PLLA/nHA, utilizado para a reparação óssea e testado *in vivo* [18, 19, 20].

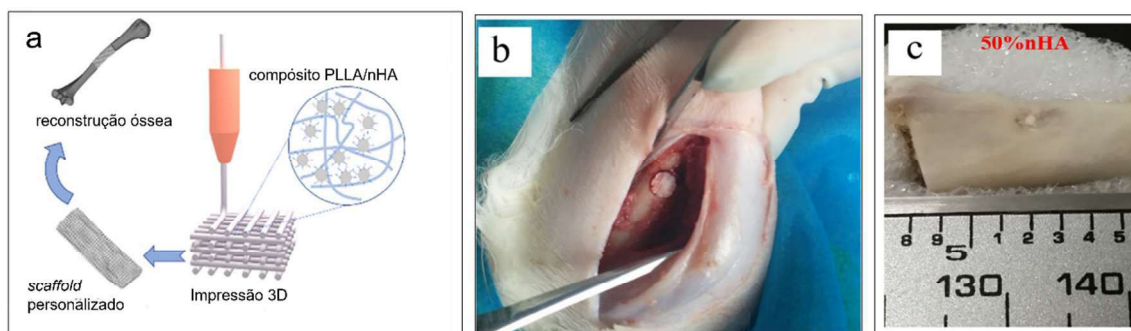


Figura 1.1 - a) Desenvolvimento de *scaffold* personalizado PLLA/nHA por impressão 3D; b) Implantação do *scaffold* em defeito ósseo; c) Retirada do local onde o *scaffold* foi implantado após 30 dias para análise dos resultados de osteointegração e regeneração óssea. Adaptado de [18].

Portanto, o desenvolvimento de novos materiais e estratégias para o tratamento de lesões ósseas é importante principalmente considerando contextos atuais e futuros. O desenvolvimento de modelos biomiméticos com propriedades semelhantes às dos ossos reais permite que materiais biocompatíveis e menos invasivos ao organismo aumentem as chances de sucesso da intervenção e a recuperação mais rápida. Neste contexto esta dissertação buscou desenvolver e avaliar *scaffolds* inéditos por impressão 3D de seringa aquecida a partir da matriz de blendas de PLA/PBS com a incorporação de biocargas como o TCP e BP, a fim de estudar as propriedades térmicas, mecânicas, reológicas, microestruturais e biológicas e comparar os resultados obtidos com a literatura de *scaffolds* impressos utilizados na engenharia de tecidos ósseos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ENGENHARIA DE TECIDOS E REGENERAÇÃO ÓSSEA

A engenharia de tecidos é uma área científica em constante expansão e envolve conhecimentos de medicina, biologia e engenharia. Ela concentra-se no desenvolvimento de substitutos biológicos para reparar, reconstruir e regenerar órgãos e tecidos vivos que tenham sofrido perda de integridade tecidual devido a traumas ou deformidades. Este processo pode utilizar tecidos do próprio paciente, que são dissociados em células e cultivados em suportes biológicos ou sintéticos, chamados de *scaffolds* [21,22]. O papel dos *scaffolds* (materiais temporários, estruturados para guiar o crescimento de células *in vitro* ou *in vivo*) na engenharia de tecidos é apresentado na Figura 2.1.

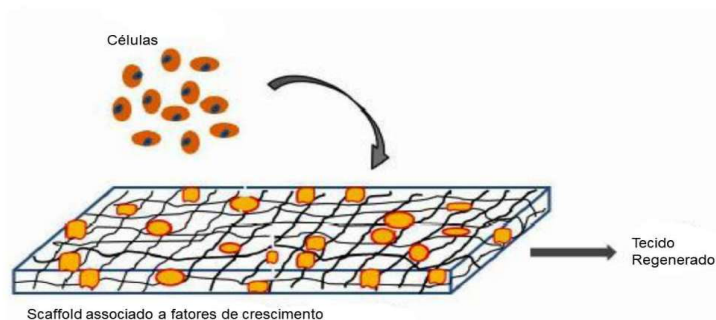


Figura 2.1: Representação esquemática do papel dos scaffolds na engenharia de tecidos. Adaptado de [23].

A ETO tem como objetivo desenvolver substitutos ósseos capazes de substituir e restaurar a função dos tecidos ósseos. O osso é um material biológico que naturalmente apresenta alta resistência e tenacidade à fratura. Nos tecidos naturais, as moléculas secretadas através das células da matriz extracelular (MEC) fornecem pistas espaciais, bioquímica e mecânicas para as células e suportes físico para os tecidos, além disso, o osso é um material vivo e tem um papel dinâmico e flexível na definição do comportamento celular e da função do tecido, portanto, é necessário preparar um enxerto que simule a MEC do tecido ou órgão danificado e o repare sequencialmente [24].

A ASTM F2312-11 define *scaffolds* como suportes, veículos de liberação, ou matriz que possuem a finalidade de facilitar a migração, adesão ou transporte celular ou de moléculas bioativas utilizadas para substituir, reparar ou regenerar tecidos [25]. A principal função de um *scaffold* é atuar temporariamente como auxiliar no suporte ao crescimento celular até que haja a regeneração tecidual completa. Além disso, para tal função, é necessário que ele apresente morfologia e propriedades mecânicas adequadas durante o processo regenerativo, até que ocorra a recuperação total da região lesada [26].

O êxito da regeneração do tecido está intrinsecamente ligado às propriedades do biomaterial que compõem o suporte (*scaffold*), tanto na macroestrutura quanto na microestrutura. Este material deve ser capaz de replicar o ambiente *in vivo* e facilitar as interações entre as células e o suporte [27]. Nesse cenário, os polímeros biodegradáveis surgem como uma escolha iminente na engenharia de tecidos, devido às suas propriedades, como a biocompatibilidade e a capacidade de bioabsorção em sistemas biológicos. A biodegradação de polímeros em ambientes biológicos é uma forma de degradação química que origina espécies que, para serem reabsorvidas, devem ser primeiramente clivadas por reações químicas em subprodutos de baixa massa molar, fora das células, que são então armazenados ou transportados para dentro das células, metabolizados e excretados (removidos) pelo sistema fisiológico (Figura 2.2).

Os produtos da clivagem da cadeia polimérica determinam diretamente a biocompatibilidade de um implante polimérico. Alguns exemplos de polímeros biodegradáveis são o poli (ácido glicólico) (PGA), poli (ácido láctico) (PLA), polietilenoglicol (PEG), poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), poli(ϵ -caprolactona) (PCL), polidioxanona (PDS) e mais recentemente o poli (butileno succinato), tanto o PLA e PBS serão discutidos em detalhes posteriormente [28].

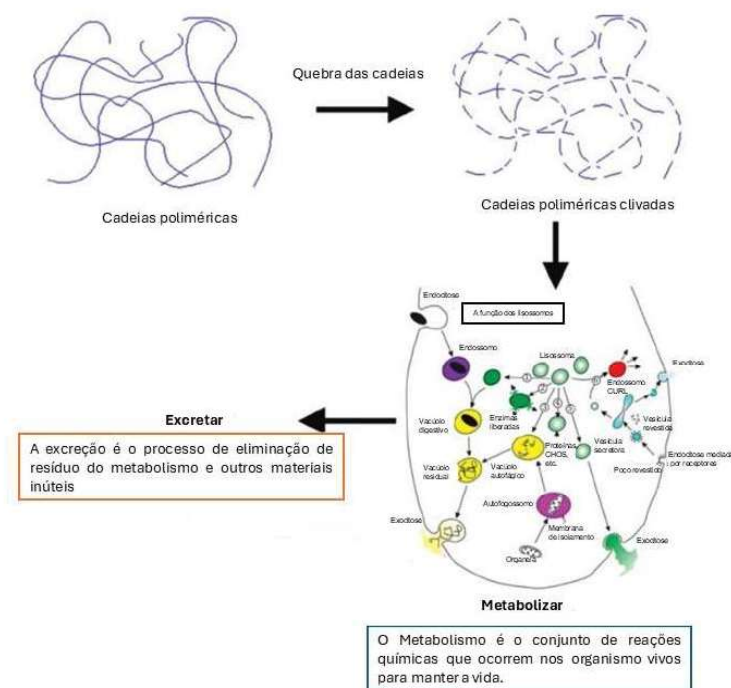


Figura 2.2: Visão geral do processo de biodegradação de um polímero no corpo. Adaptado de [28].

PLA e PBS são poliésteres e suscetíveis à degradação por hidrólise ou por ações enzimáticas que ocorrem no corpo. Esses materiais provocam uma mudança tênue nos tecidos circundantes, o que facilita a integração e o desenvolvimento dos novos tecidos, essenciais para a restauração da função e da estrutura adequadas. Os produtos degradados desses biomateriais poliméricos são atóxicos, não provocam reações inflamatórias no organismo e são facilmente metabolizados e excretados [29, 30].

Os materiais cerâmicos são outra classe de materiais comumente utilizados como fase dispersa em matrizes poliméricas, contribuindo para as propriedades bioativas e mecânicas do material para aplicações no tecido ósseo. Entre as cargas cerâmicas mais utilizadas e indicadas para aplicação óssea estão a HA, TCP, e os biovidros [31].

2.2 Manufatura Aditiva/Impressão 3D

Na engenharia de tecidos, comumente utilizam-se estruturas tridimensionais (3D) – scaffolds – que fornecem um microambiente adequado para a incorporação de células ou fatores de crescimento capazes de regenerar tecidos ou órgãos danificados [32]. Entre as várias técnicas utilizadas para produção de *scaffolds* pode se citar: evaporação com adição e lixiviação de sal, eletrofiação, separação/inversão de fase induzida termicamente, moldagem por injeção micro celular, tecnologia de impressão 3D entre outras [33]. Para este trabalho, a técnica utilizada foi a impressão 3D baseada em extrusão; um breve resumo sobre suas vantagens, funcionamento e tipos será descrito a seguir.

A manufatura aditiva, ou impressão 3D, tem ganhado destaque nas últimas décadas em comparação com as técnicas convencionais para a fabricação de scaffolds, uma vez que esta não utiliza solventes tóxicos, permite alto controle da geometria e do tamanho dos poros e oferece maior liberdade geométrica [34]. Além disso, a impressão 3D baseada em extrusão apresenta baixo custo, vasta disponibilidade e flexibilidade no design e no tipo de polímeros que podem ser utilizados no processo de impressão [33]. A matéria prima utilizada pode ser na forma de pó, *pellets* ou granulada e um sistema de aquecimento e deposição do tipo seringa (Figura 2.3). O material no estado sólido é adicionado no cilindro da seringa, então fundido a uma temperatura adequada ao tipo de material e pressionado a sair por meio de um bico extrusor, por meio da compressão do êmbolo, sendo depositado de maneira controlada sobre a mesa (base de impressão), camada a camada [35].

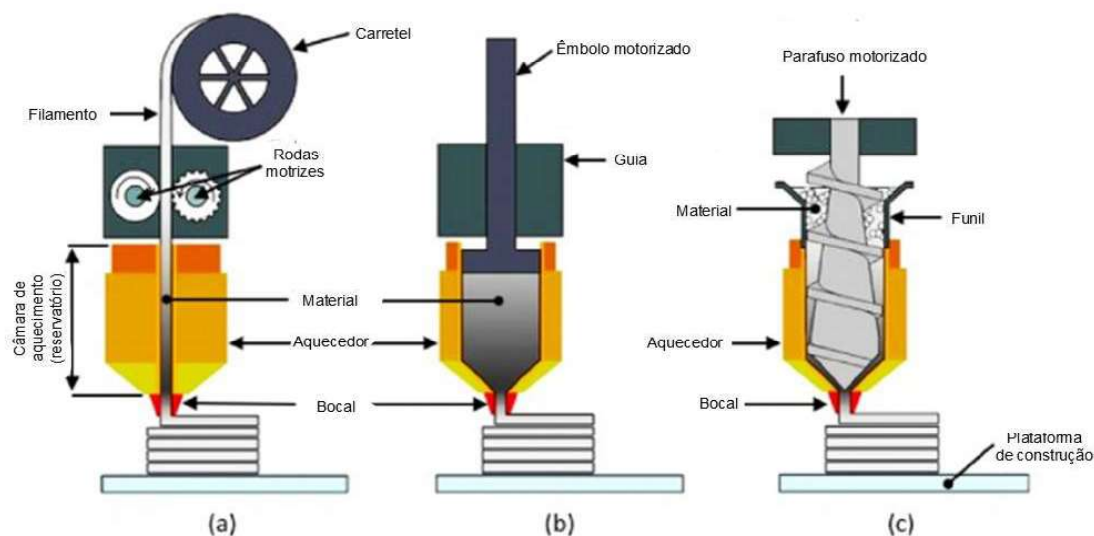


Figura 2.3: Representação esquemática dos diferentes tipos de impressão de polímeros. Adaptado de [34].

Durante o processo de impressão para a construção do modelo a ser impresso, o modelo 3D da peça é, inicialmente, “fatiado” eletronicamente, obtendo-se “curvas de nível” 2D que definirão, em cada camada, onde o material deverá ser adicionado. A peça física é então formada por meio do empilhamento e da adesão das camadas, em sequência, a partir da base até atingir o topo (Figura 2.4) [36]. De forma geral, as etapas do processo de impressão 3D são as seguintes:

- 1) Modelagem tridimensional, modelo geométrico 3D da peça gerado por um sistema CAD (*Computer Aided Design* – Desenho assistido por computador);
- 2) Obtenção do modelo geométrico 3D em um formato específico para impressão 3D, geralmente representado por uma malha de triângulos, em um padrão adequado, por exemplo, STL (*Standard Tessellation Language*);
- 3) Fatiamento e definição de estruturas de suporte e estratégias de deposição de material;
- 4) A fabricação da peça na impressora 3D.

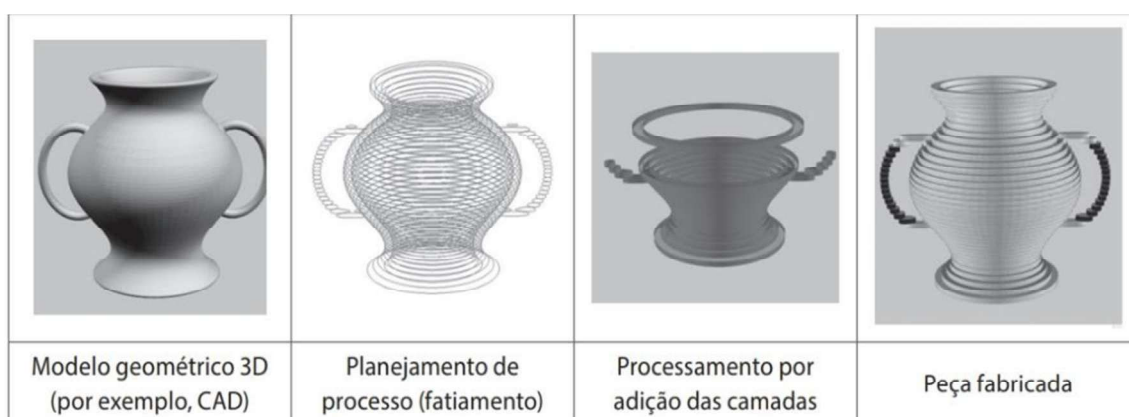


Figura 2.4: Representação das principais etapas do processo de impressão 3D. Adaptado de [37].

Na área da medicina, a fabricação aditiva está revolucionando a forma como os dispositivos médicos são projetados [38]. A manufatura aditiva tem sido aplicada de diversas formas em várias áreas médicas, por exemplo, na engenharia de tecidos, são desenvolvidos projetos personalizados de suportes ou estruturas para tecidos e órgãos artificiais utilizados em transplantes [39]. Além disso, essa tecnologia é utilizada para criar sistemas de liberação de fármacos [40], sondas [41], ferramentas assistivas como talheres personalizados para auxiliar pessoas com doenças crônicas em suas atividades diárias [42], implantes e modelos usados para planejamento cirúrgico e treinamento de procedimentos [43,44]. A Figura 2.5 apresenta um resumo das diversas áreas em que a MA pode ser utilizada na medicina.

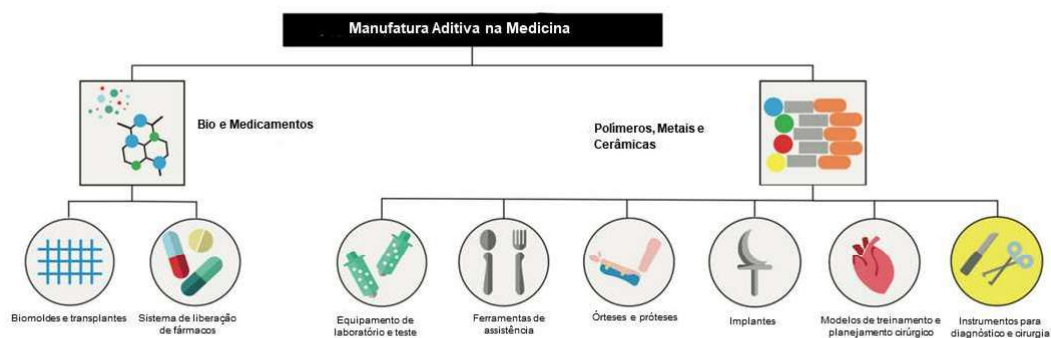


Figura 2.5: Classificação dos campos médicos relacionados à manufatura aditiva. O primeiro nível de classificação diz respeito ao material utilizado, e o segundo, ao campo médico de aplicação. Adaptado de [38].

Com a utilização da impressão 3D novas abordagens terapêuticas têm sido elaboradas, como também o estímulo de procedimento cirúrgicos que garantem um melhor prognóstico e um aumento na qualidade de vida dos pacientes, cirurgiões ortopédicos através da possibilidade de criar próteses e órteses customizadas respeitando as regiões de amputação, viram na impressão 3D uma forma de devolver a mobilidade restante e a autonomia àqueles que a tiveram abalada [45, 46].

O Dr. Joel Texeira neurocirurgião Brasileiro do Hospital das Clínicas e do Hospital Oswaldo Cruz, em São Paulo, tem utilizado a técnica de impressão 3D a partir de tomografias computadorizadas para criar protótipos de colunas para seus pacientes, o que proporciona um tratamento personalizado e viabiliza a qualidade de vida do paciente através da junção manufatura aditiva e medicina [36].

Portanto, a impressão 3D foi escolhida como técnica a ser utilizada nesse projeto por ser capaz de criar estruturas customizadas e específicas que podem atender às necessidades específicas da ETO, como a impressão de *scaffolds* capazes de promover a regeneração do tecido danificado utilizando matéria-prima como PLA, PBS e TCP. Esses materiais já são utilizados na engenharia de tecidos por apresentarem boa biocompatibilidade e por promoverem a regeneração celular [17, 47].

2.3 Poli (ácido láctico) - PLA

O PLA, ou poli(ácido láctico), é um poliéster termoplástico sintetizado por meio da polimerização por condensação do ácido láctico, derivado da fermentação do açúcar presente em fontes renováveis com cana-de-açúcar e milho, ou ainda, por polimerização de abertura de anel lactídeo na presença de um catalisador organometálico, como o octoato de estanho (Figura 2.6) [28].

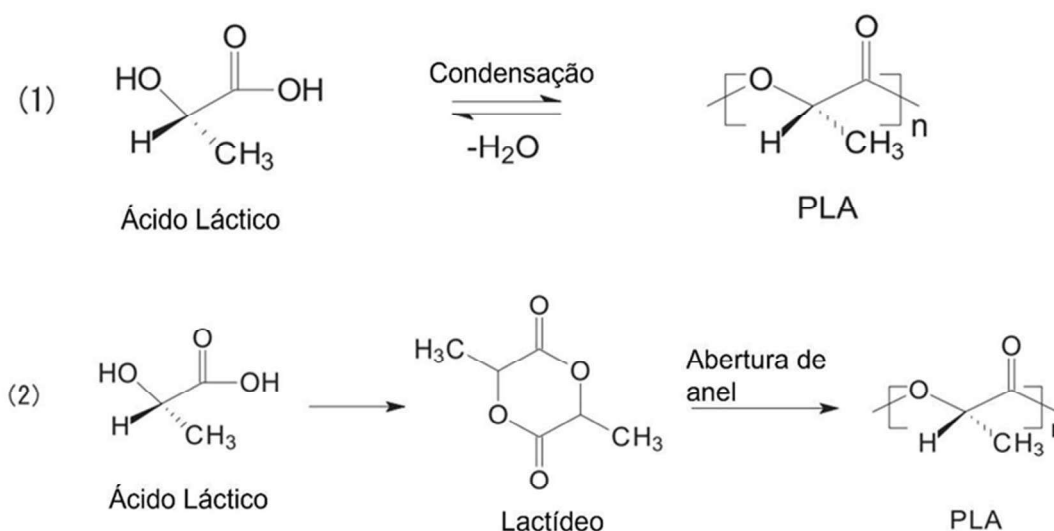


Figura 2.6: Processo de produção do PLA, (1) reação direta de policondensação e, (2) polimerização por abertura de anel do lactídeo. Adaptado de [44].

O ácido láctico é uma molécula quiral, existindo em isômeros L e D, e o termo "poli (ácido láctico)" refere-se a uma família de polímeros, incluindo o ácido poli-L-láctico (PLLA), ácido poli-D-láctico (PDLA) e ácido poli-D,L-láctico (PDLLA) (Figura 2.7). Os estereoisômeros L (+) e D (-) do ácido láctico são produzidos por meio da fermentação bacteriana de carboidratos, seja por homofermentação ou por heterofermentação. Atualmente, a indústria emprega principalmente o processo de fermentação devido às limitações das rotas sintéticas, como a incapacidade de produção seletiva do estereoisômero L-ácido láctico e os altos custos de fabricação [48].



Figura 2.7: Isômeros do ácido láctico.

O ácido láctico é reconhecido por sua biocompatibilidade e pode ser facilmente metabolizado e eliminado do corpo por processos bioquímicos naturais. Por esse motivo, o PLA e seus derivados são amplamente empregados em implantes biomédicos, como parafusos, âncoras, pinos, placas, hastes e malhas. O tempo médio de biodegradação do PLA varia de 6 meses a 2 anos, dependendo de sua estrutura e massa molecular, do local de implantação e da vascularização, e se é sólido ou poroso. Graças ao controle preciso da sua taxa de biodegradação, o PLA e seus derivados são amplamente utilizados na fabricação de sistemas de liberação de medicamentos [28]. Além disso, os materiais compósitos de PLA têm sido explorados em diversas aplicações biomédicas, como o compósito PLA combinado com HA e TCP, utilizado na engenharia óssea. Os derivados do PLA também desempenham um papel significativo na tecnologia de impressão 3D, permitindo a fabricação de estruturas biológicas artificiais com precisão e eficiência [28].

O poli(ácido láctico) (PLA) e suas blendas, copolímeros e compósitos, como poli(ácido láctico-co-ácido glicólico)/poli(ácido glicólico) (PLGA/PGA), PLA/quitosana e poli(ácido láctico)/hidroxiapatita (PLA/HA), são amplamente reconhecidos na área biomédica como materiais promissores para aplicações no corpo humano. Esses materiais destacam-se por apresentarem baixa toxicidade, biodegradabilidade e bioabsorvibilidade, características essenciais para o desenvolvimento de dispositivos médicos e aplicações terapêuticas [11,12]. A Tabela 2.1 apresenta algumas das principais aplicações do PLA e de seus derivados na área médica, evidenciando sua versatilidade e relevância em diferentes contextos clínicos.

Tabela 2.1 - Aplicações biomédicas do PLA e de seus derivados. Adaptado de [11, 53]

Material	Aplicações
PLGA/PGA	Substituição de válvula pulmonar bovina
PLA/Quitosana	Dispositivos para liberação controlada de fármacos
PLA/PLGA/Quitosana	Suturas biodegradáveis
PLGA e seus copolímeros	Sistemas para engenharia tecidual e liberação de fármacos
PLA/HA (compósitos)	Scaffolds porosos para aplicações celulares
PLA–CaP*	Dispositivos de fixação óssea, como placas, pinos, stents, parafusos e fios, além de aplicações ortopédicas
PLGA–CaP*	Recobrimento de implantes metálicos
PDLLA	Terapia genética baseada em células; tratamento de doenças vasculares; regeneração de tecidos musculares, ósseos e cartilagosos
PLA/PLGA	Aplicações biomédicas diversas, incluindo engenharia tecidual e sistemas de liberação de fármacos
PLLA	Cosmetologia: agente de volume e correção macular

*Fosfato de Cálcio.

O PLA apresenta algumas deficiências, tais como baixa resistência térmica e temperatura de deflexão térmica relativamente baixa. Para superar essas questões, frequentemente são adotadas abordagens como a confecção de blendas com outros polímeros, a funcionalização e a adição de nanocargas. Essas adições proporcionam reforço mecânico e aumento da resistência térmica [46].

Outras limitações do PLA que necessitam de mais estudos são a sua incapacidade de promover a osteoindução e a suscetibilidade à degradação durante o processamento com cargas cerâmicas. Para superar a falta de bioatividade do PLA ele tem sido combinado com materiais (cargas cerâmicas) que são capazes de promover a osteoindução, o compósito formado desses materiais possui uma melhor bioatividade e propriedade mecânica para serem utilizados em aplicações na ETO [12].

2.4 Polibutileno Succinato - PBS

O poli (butileno succinato) (PBS) é um polímero termoplástico biodegradável pertencente à família dos poliésteres. Ele foi inicialmente

produzido pela Showa Highpolymer e comercializado sob o nome "Bionolle", sendo empregado no processo de fabricação de filmes para fins agrícolas, sacolas, entre outros usos [49]. A Figura 2.8 apresenta a estrutura molecular do PBS.

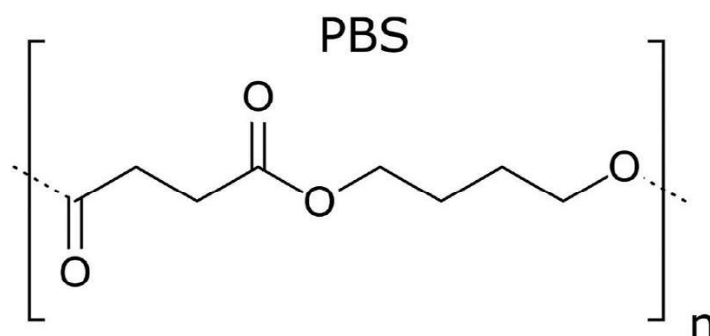


Figura 2.8: Estrutura molecular do PBS [74].

É um polímero completamente baseado em recursos naturais e é bioabsorvível, o que significa que pode ser metabolizado e eliminado pelo corpo de forma segura. O PBS pode ser sintetizado por meio de polimerização por condensação a partir de matérias-primas, como 1,4-butanodiol e ácido succínico, que podem ser obtidos a partir de fontes renováveis [50]. A Figura 2.9 apresenta a reação de síntese do PBS.

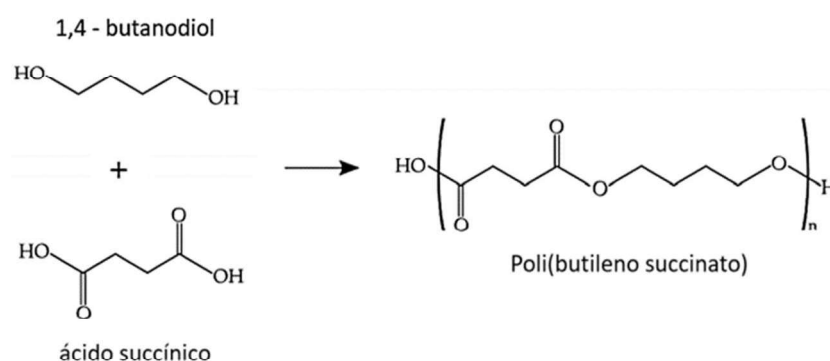


Figura 2.9: Reação de síntese do PBS. Adaptado de [50].

O poli(butileno succinato) (PBS) é um polímero semicristalino que apresenta temperatura de transição vítrea (T_g) em torno de $-34\text{ }^\circ\text{C}$ e temperatura de fusão (T_m) aproximadamente igual a $114\text{ }^\circ\text{C}$ [1]. Em comparação com outros poliésteres alifáticos biodegradáveis, como o poli(succinato de etileno) (PES) e

o poli(succinato de propileno) (PPS), o PBS apresenta a maior temperatura de fusão, além de uma taxa de cristalização mais elevada e uma taxa de biodegradação mais lenta. Essas características estão associadas à sua maior cristalinidade e ao seu caráter mais hidrofóbico [36].

2.5 BLENDA E COMPÓSITOS DE PLA/PBS

Blendas poliméricas são sistemas formados pela mistura física de dois ou mais polímeros e/ou copolímeros, sem que ocorram reações químicas significativas entre seus componentes. Para que um material seja caracterizado como blenda, a concentração do segundo componente deve ser superior a 2% em massa. A obtenção dessas blendas ocorre, predominantemente, por meio de mistura mecânica, processo que envolve aquecimento e aplicação de alto cisalhamento. Quanto ao comportamento de fase, as blendas podem ser classificadas como miscíveis, quando há mistura íntima entre os componentes sem segregação de fases, ou imiscíveis, caracterizadas pela presença de duas ou mais fases distintas. Adicionalmente, sob o ponto de vista tecnológico, uma blenda é considerada compatível quando apresenta propriedades finais satisfatórias para a aplicação desejada, independentemente da miscibilidade termodinâmica entre os polímeros, podendo essa compatibilidade ser observada inclusive em sistemas imiscíveis [51].

As blendas de PLA/PBS constituem uma linha de pesquisa de grande relevância, uma vez que ambos os polímeros são biodegradáveis e vêm sendo amplamente investigados devido às suas propriedades promissoras. O interesse nesses materiais está associado, sobretudo, ao desenvolvimento de soluções ambientalmente sustentáveis, bem como aos seus potenciais aplicações no campo biomédico, onde requisitos como biocompatibilidade, processabilidade e desempenho mecânico são fundamentais [52].

A ETO tem como objetivo a regeneração de defeitos ósseos por meio do uso de scaffolds biodegradáveis, capazes de fornecer suporte estrutural, integridade mecânica, ancoragem celular e sinais fisiológicos adequados ao processo de reparo. Entre os biomateriais poliméricos, o PLA e o PBS têm se

destacado em razão de sua origem renovável, biodegradabilidade e compatibilidade com técnicas de manufatura aditiva. O PLA apresenta elevada rigidez e boa biocompatibilidade, porém é limitado por sua fragilidade e baixa taxa de degradação. Em contrapartida, o PBS destaca-se pela maior flexibilidade, ductilidade e biorreabsorção mais rápida. Nesse contexto, a combinação desses dois polímeros surge como uma estratégia promissora para o desenvolvimento de scaffolds personalizáveis, capazes de mimetizar a biomecânica do tecido ósseo, mantendo adequada processabilidade, sustentabilidade ambiental e mecânica, além de possibilitar o controle da taxa de degradação do material [53–54].

Desde 2020, inovações em compatibilização, reforço com nanocargas e técnicas de impressão 3D impulsionaram um progresso significativo rumo a biomateriais funcionais baseados em PLA/PBS para aplicações osteogenerativas [54]. Trabalhos recentes de Olonisakin *et al.* [53] demonstraram que compatibilizantes como Joncryl, anidrido maleico e óleo de soja epoxidado aumentam significativamente a miscibilidade e a adesão interfásica de misturas de PLA/PBS por meio de extrusão reativa. No entanto, a carga excessiva de compatibilizante pode induzir reticulação excessiva, comprometendo a uniformidade e a printabilidade. A mistura reativa e a formação de redes interpenetrantes têm sido avançadas para mitigar essas fragilidades, produzindo compósitos com uniformidade morfológica superior, resiliência mecânica e comportamento de degradação gradual.[52]. Liu *et al.* [56] desenvolveram blendas de PLA/PBS com incorporação de 25–30% m de PBS e observaram um aumento de aproximadamente 40,1% na resistência ao impacto com a adição de PBS, o que se deveu às cadeias flexíveis de PBS, que promovem a absorção de energia e reduzem a propagação de trincas.

Entretanto, a literatura recente ainda é escassa no desenvolvimento e caracterização de blendas de PLA/PBS e de compósitos com biocargas, e, em especial, utilizando-se da manufatura aditiva para aplicações de tecidos ósseos. Deste modo, este estudo tem como objetivo fornecer um panorama geral do processo de fabricação das blendas, bem como dos *scaffolds* e avaliar seu comportamento, térmico, mecânico, morfológico e de biocompatibilidade.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

O BP utilizado neste trabalho foi sintetizado em nossos laboratórios e os detalhes serão apresentados a seguir.

O β -fosfato tricálcico (TCP) utilizado foi o com o nome comercial Nanoxim TCP200, com fórmula química $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, pureza superior a 90% e tamanho médio de partícula de 6,24 μm .

O poli (ácido láctico), PLA, foi fornecido pela NatureWorks, sob o nome comercial Ingeo™ Biopolymer 2003D, com massa específica de 1,24 g/cm^3 e índice de fluidez de 6,0 $\text{g}/10$ min (210 °C, 2,16 kg). O PLA 2003D possui teor de 4,3 % (m/m) do isômero D.

O PBS utilizado neste trabalho foi fornecido pela TUNHE, sob o nome comercial TH803, e apresenta massa específica de 1,20-1,28 g/cm^3 e índice de fluidez menor que 25 $\text{g}/10$ min (210 °C, 2,16 kg).

3.2 Métodos

3.2.1 Desenvolvimento e Caracterização das Cargas e das Matérias-Primas

PREPARAÇÃO DE PÓ DE OSSO DESMINERALIZADO (BP)

O pó de osso desmineralizado (BP) foi produzido e desmineralizado de maneira semelhante ao descrito por Lee *et al.* [57]. Os ossos femorais foram obtidos em um açougue local e submetidos a 2 processos de descontaminação: no primeiro, o osso foi colocado em solução de água e sal; no segundo, em água desmineralizada, para remoção da gordura. Então, os resíduos orgânicos mais aparentes foram removidos manualmente com o auxílio de um bisturi. Após isso, o osso foi cortado com uma serra de fita para fragmentá-lo e facilitar a moagem. As frações foram então moídas em um moinho de facas para obter um pó do material. Por fim, o pó resultante foi moído criogenicamente em um moinho criogênico de alta velocidade, para que seu tamanho de partícula se reduzisse ainda mais.

Para a obtenção de um pó homogêneo, este foi peneirado em peneira analítica de 170 mesh, e os materiais retidos foram novamente moídos

criogenicamente. O processo de desmineralização foi realizado com uma solução de água/acetona 1:1 (v/v), sob agitação magnética, durante 2 horas. Após a conclusão da desmineralização, a solução foi filtrada em papel-filtro, e o pó coletado foi seco em uma estufa a vácuo a 100 °C, e então liofilizado e armazenado. A Figura 3.1 apresenta um esquema da metodologia de fabricação do BP.

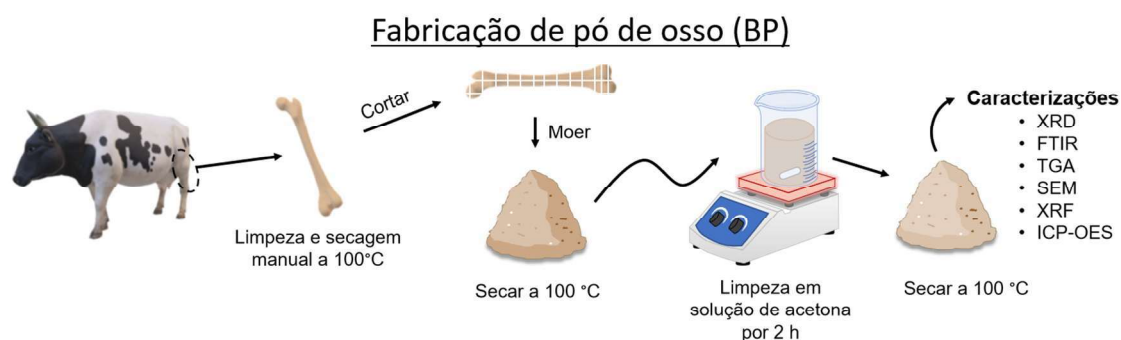


Figura 3.1: Metodologia de fabricação do Pó de osso desmineralizado (BP) e suas caracterizações.

CARACTERIZAÇÃO DAS BIOCARGAS

Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Para identificar os componentes orgânicos e inorgânicos presentes no BP e no TCP, realizou-se a Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier, no espectrômetro Nicolet, modelo 6700 da Thermo Scientific. Os espectros foram adquiridos na faixa de 500-4000 cm^{-1} , 32 *scans* e resolução de 2 cm^{-1} .

Fluorescência de Raios X (FRX)

A fluorescência de raios X foi realizada para verificar, de forma qualitativa e quantitativa, a presença dos elementos na composição do BP e do TCP. Utilizou-se o Espectrômetro de Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva da marca Shimadzu, modelo EDX-720, com ânodo de Rh, operando entre 5 e 50 kV e 1–1.000 μA . A análise foi realizada no Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) do Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa).

Difração de Raio X (DRX)

Para o estudo das propriedades cristalográficas das biocargas foi realizado o ensaio de difração de Raio-X por meio do equipamento Siemens D5005, com fonte de Cu K α ($\lambda = 1,541 \text{ \AA}$). A varredura foi realizada de 20 a 90°, com passo de 0,02° e tempo de contagem de 1 s. A análise foi realizada no Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) do Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa).

Espectrometria de emissão ótica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES)

A técnica de ICP-OES foi utilizada para determinar os teores de cálcio e fósforo no TCP e no BP. As amostras foram digeridas em HNO₃ (1 M por 10 min) e o ensaio foi realizado em um equipamento ICP-OES iCAP 6500 Duo da Thermo Scientific, com a quantificação determinada pelos comprimentos de onda do Ca (317,933 nm) e do P (177,495 nm).

Granulometria de Partículas via Difração a Laser

Para determinar a distribuição e o tamanho médio das partículas das biocargas, utilizou-se um analisador de tamanho de partículas por difração a laser (Cilas, modelo 1190L). As amostras foram preparadas na forma de suspensão (amostra + água + dispersante (Darvan)), com teor de sólidos de 10% em massa, e submetidas à agitação ultrassônica (Ultrassom de ponta, modelo VCX 500, Sonics) por 15 minutos para completa desaglomeração das partículas.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A caracterização estrutural das biocargas, bem como a qualidade da dispersão e da distribuição delas na blenda PLA/PBS, será investigada por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV). As análises foram realizadas com um microscópio eletrônico de varredura da marca MEV MIRA (FEG-EDS-EBSD), operando a 5 kV. Para a realização da análise, os pós (BP e TCP) são dispersos em álcool; em seguida, a solução é pipetada na fita de carbono já colada ao *stub*, para que haja a maior dispersão das partículas em pó.

3.2.2 Desenvolvimento e Caracterização dos Materiais Produzidos Via Misturador Interno

Processamento via misturador interno acoplado a um reômetro de torque

O processamento do PLA, do PBS, da blenda PLA/PBS e de seus compósitos com diferentes biocargas foi realizado em uma câmara de mistura acoplada a um reômetro de torque. Para isso, utilizou-se um reômetro de torque Haake, modelo Rheomix 600p, com rotores contrarrotacionais e semi-interpenetrantes do tipo roller, a 185 °C. O tempo de mistura foi de 5 minutos a uma rotação de 60 rpm. A Tabela 3.1 apresenta as formulações desenvolvidas utilizando-se de misturador interno, e a Figura 3.2 apresenta o esquema de desenvolvimento e caracterização dessas formulações, respectivamente. A concentração da blenda e compósitos foram escolhidas a partir da revisão bibliográfica [52,54,57] assim como de ensaios preliminares de “printabilidade”, em teores maiores de PBS e, devido à diferença na T_m com o PLA, o processo de impressão era dificultado devido à instabilidade na formação dos filamentos, sendo assim escolhido trabalhar nesse projeto com compósitos em teores maiores de PLA.

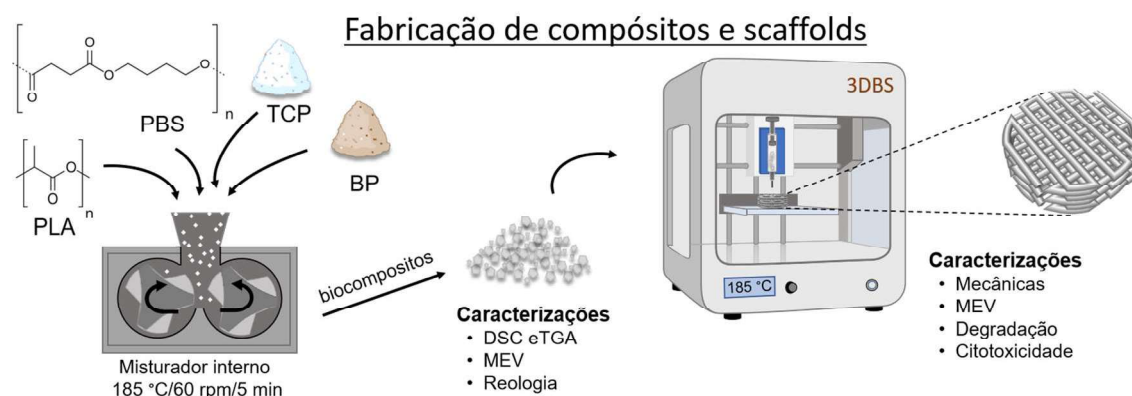


Figura 3.2: Etapas para o desenvolvimento das blendas e compósitos desenvolvidos.

Tabela 3.1 - Composições das blendas e dos biocompósitos desenvolvidos.

Nomenclatura	PLA (%m/m)	PBS (% m/m)	TCP (%m/m)	BP (% m/m)
PLA	100	0	0	0
PBS	0	100	0	0
BLD	75	25	0	0
BLD10T	75	25	10	0
BLD20T	75	25	20	0
BLD10P	75	25	0	10
BLD20P	75	25	0	20

Caracterização reológica

O comportamento reológico das formulações foi avaliado utilizando um reômetro compacto modular AR G2 (TA Instruments), com geometria de ensaio de placas paralelas de 25 mm, distância entre as placas de 1 mm e atmosfera inerte de nitrogênio. Os testes de viscosidade por taxa de cisalhamento foram conduzidos a uma taxa de 0,01 a 100 s⁻¹ e em temperatura de 185 °C para todas as formulações.

Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A técnica de DSC foi utilizada para avaliar a temperatura de transição vítrea (T_g), de fusão e o grau de cristalinidade (X_c) do PLA, PBS e blenda PLA/PBS e sua variação com a adição das biocargas. Para tanto, utilizou-se o equipamento TA Instruments, modelo QS100, com nitrogênio como gás de arraste, em fluxo contínuo de 50 mL/min. As medidas foram realizadas submetendo as amostras ao seguinte procedimento: (a) resfriamento à taxa de 10 °C/min até -60 °C; (b) aquecimento à taxa de 10 °C/min até 200 °C; (c) segundo resfriamento à taxa de 10 °C/min até -60 °C; (d) segundo aquecimento

à taxa de 10 °C/min de -60 °C até 200 °C. O X_c foi calculado com base na Equação 3.1, e todas as amostras foram realizadas em duplicata.

$$X_c = \frac{(\Delta H_m - \Delta H_{cc})}{\varphi \Delta H_m^0} * 100 \quad \text{Equação 3.1}$$

onde X_c é o grau de cristalinidade, ΔH_m é a entalpia de fusão cristalina dos homopolímeros (PLA e PBS), ΔH_{cc} é a entalpia de cristalização a frio, ΔH_m^0 é a entalpia de fusão teórica do polímero 100% cristalino (93 J/g para o PLA e 110 J/g para o PBS) e φ é a fração mássica do polímero (PLA ou PBS) no biocompósito.

Análise Termogravimétrica

A estabilidade térmica do PLA, do PBS, da blenda e dos biocompósitos foi avaliada por meio de ensaios de TGA. Para tanto, foi utilizado um equipamento da TA Instruments, modelo TGA Q50, a uma taxa de aquecimento de 20 °C/min, a partir da temperatura ambiente até 800 °C, sob atmosfera de N₂.

Caracterização microestrutural

A morfologia da fratura criogênica do PLA, PBS, da blenda e biocompósitos foi investigada utilizando a microscopia eletrônica de varredura utilizando um MEV MIRA (FEG-EDS-EBSD), operando a uma voltagem de 5 kV. Para tanto, as amostras, na forma de barra retangular, foram criofraturadas em nitrogênio líquido. Em seguida, as amostras foram fixadas em suportes de alumínio com fita condutiva de dupla face de carbono e recobertas com uma fina camada de ouro para viabilizar a análise.

3.2.3 Processamento e Caracterização dos Scaffolds

Impressão dos Scaffolds

A impressora 3D utilizada neste estudo foi do modelo Genesis II, da 3D *Biotechnology Solutions*, comumente conhecida em nosso laboratório como 3DBS. Este modelo é equipado com um sistema de duplo cabeçote e utiliza um

mecanismo de microextrusão mecânico, ou seja, por meio de extrusão de seringa. A impressora possui duas seringas, uma destinada ao uso de biotintas e outra para impressão a partir de pellets ou pó. A mesa de impressão é móvel e aquecida, o gabinete é semifechado, e o processo de nivelamento é realizado manualmente. A seringa metálica empregada na impressão de polímeros na forma de grânulos ou pó é fabricada em aço inoxidável e possui um volume de 5,7 cm³, sendo capaz de suportar temperaturas de até 240 °C. O controle da impressora 3DBS foi realizado pelo software Repetier-Host. Este software fornece uma interface simples que facilita a conexão USB com a impressora 3D, permitindo um controle eficiente do processo de impressão.

Os critérios de impressão dos scaffolds foram estabelecidos após uma série de testes, nos quais os melhores resultados foram obtidos com uma velocidade de impressão de 5 mm/s e uma temperatura de 180 °C para o PLA e os compósitos, e de 130 °C para o PBS puro. Mais detalhes sobre os parâmetros estão na Tabela 3.2. Os materiais empregados na impressão foram preparados após processamento em um misturador interno, sem prensagem adicional. Esses materiais foram triturados em pequenos grânulos (Figura 3.3), submetidos à secagem sob vácuo a 50 °C por 24 horas e, em seguida, alimentados diretamente na seringa metálica para o processo de impressão. Foram impressas amostras com tamanho de poro da ordem de 400 µm, altura de camada de 500 µm e largura de camada de 600 µm, conforme ilustrado na Figura 3.2.

Tabela 4.2 – Parâmetros utilizados na impressão 3D dos *scaffolds*.

Variáveis	Valores
Temperatura de impressão	180 °C (PLA e biocompósitos) 130°C (PBS)
Velocidade de impressão	5 mm/s
Padrão de preenchimento	Retilíneo
Ângulo de Preenchimento	0 à 90°



Figura 3.3: Aspecto visual do material utilizado para impressão 3D dos *scaffolds*.

Caracterização Mecânica

A caracterização mecânica dos *scaffolds* de PLA, PBS e BLD e dos biocompósitos BLD10T, BLD20T, BLD10P e BLD20P foi conduzida por meio de testes de compressão uniaxial, conforme a norma ASTM D 695-15. Os testes foram realizados em uma máquina universal de teste Instron, modelo 5569, equipada com uma célula de carga de 500 N. A velocidade de travessia utilizada foi de 1,3 mm/min. Para cada composição, foram ensaiados pelo menos 5 espécimes.

Ensaio de biodegradação

O ensaio de biodegradação dos *scaffolds* de PLA, PBS, BLD, e dos biocompósitos BLD10T, BLD20T, BLD10P e BLD20P foi estudada por meio da imersão das amostras em solução tampão fosfato a 37 °C, com monitoramento da variação de massa após 7, 21 e 35 dias.

Caracterização Microestrutural

A arquitetura dos *scaffolds* e a distribuição das cargas de BP e TCP no PLA, no PBS e nos biocompósitos foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) no microscópio eletrônico MIRA (FEG-EDS-EBSD). O MEV foi operado a uma tensão de aceleração de 5 kV. Posteriormente, foi realizada a análise de mapeamento de composição, com foco nos elementos cálcio (Ca) e fósforo (P), utilizando o acessório de espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS). As amostras analisadas foram a face superior e a face transversal dos *scaffolds*, previamente fraturadas. Antes da análise, essas amostras foram

fixadas em suportes de alumínio com fita dupla face de carbono e recobertas com uma fina camada de ouro para melhorar a condução elétrica e minimizar a carga estática.

Ensaio de biocompatibilidade celular

Os ensaios biológicos de proliferação osteoblástica foram realizados com células pré-osteoblásticas de camundongo MC3T3-E1. As células foram cultivadas em meio contendo 89 % v/v de α -MEM (Gibco), suplementado com 10 % de soro fetal bovino (FBS, Vitrocell) e 1 % de antibiótico-antimicótico (Vitrocell), em incubadora Thermo Fisher Series II 3110, a 37 °C e 5 % de CO₂.

Antes dos ensaios, os *scaffolds* foram esterilizados por imersão em álcool 70% e exposição à luz UV por 15 min de cada lado, seguidos de lavagem em PBS e de pré-incubação em 500 μ L de meio de cultura por 24 h a 37 °C. Em seguida, cada amostra foi transferida para uma placa de 48 poços contendo 500 μ L de suspensão celular (50 000 células por poço). O meio foi trocado a cada 2–3 dias.

A proliferação celular foi quantificada por meio do ensaio resazurina (R7017, Millipore-Sigma), preparado em diluição 1:9 no meio de cultura. Após 1 e 7 dias, as amostras foram incubadas com a solução por 4 h, a 37 °C, no escuro. Posteriormente, 100 μ L da solução de cada amostra foram transferidos para uma placa de 96 poços, e a absorvância (560/590 nm) foi medida em um leitor de microplacas SpectraMax® M5. Controles negativos (solução sem células) e positivos (solução autoclavada) foram utilizados para estimar a viabilidade celular. Após 1 dia de cultura, a adesão e proliferação celular foram avaliadas por MEV. As amostras foram lavadas com PBS, fixadas em glutaraldeído 2,5% por 30 min, lavadas novamente e desidratadas em série crescente de etanol (50, 70, 90 e 100%). Após secagem e metalização com ouro, as amostras foram analisadas em MEV (TESCAN MIRA FEG) a 5 keV.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização das Biocargas

Os difratogramas de raios X (Figura 4.1a) revelam que o TCP apresenta três picos cristalinos proeminentes em aproximadamente $2\theta = 26,72^\circ$, $29,23^\circ$ e $30,62^\circ$, característicos da fase β -TCP. De forma análoga, o padrão de difração do BP apresentou múltiplos picos em $2\theta = 25,8^\circ$, $31,9^\circ$, $39,7^\circ$, $45,5^\circ$ e $47,7^\circ$, atribuídos à hidroxiapatita (HA), fase predominante em materiais ósseos naturais [56]. Esses resultados confirmam a preservação parcial da estrutura cristalina da HA após o processamento térmico e químico do BP, indicando que o protocolo empregado foi eficiente para a remoção de grande parte da matéria orgânica, sem descaracterizar a fração mineral.

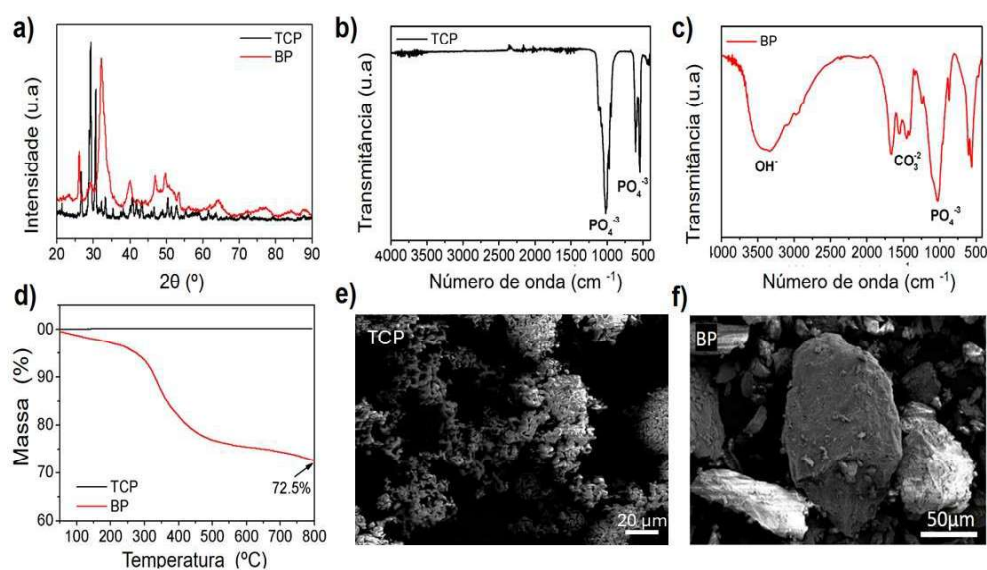


Figura 4.1: Resultados das caracterizações físico-químicas e morfológicas realizadas no TCP e no BP: a) DRX; b-c) FTIR-ATR; d) TGA; e; e-f) MEV das partículas de TCP e de BP, respectivamente.

As Figuras 4.1(b–c) apresentam os espectros de FTIR obtidos para o TCP e o BP. O espectro do TCP (Figura 4.1b) evidencia bandas intensas associadas ao grupo fosfato (PO_4^{3-}) em 1020 cm^{-1} , além de bandas em 588 e 554 cm^{-1} , referentes aos modos de flexão de $[\text{PO}]$, e de picos em 561 e 607 cm^{-1} ,

característicos do β -TCP [59,60]. O espectro do BP (Figura 4.1c), por sua vez, exibe bandas típicas de fosfato (PO_4^{3-}), hidroxila (OH^-) e carbonato (CO_3^{2-}). Uma banda larga e intensa em 1092 cm^{-1} está associada ao estiramento assimétrico do grupo fosfato. As bandas de baixa intensidade em 1460 e 1520 cm^{-1} correspondem ao estiramento assimétrico (ν_3) do grupo carbonato (CO_3^{2-}), cuja presença pode ser atribuída à substituição parcial de íons PO_4^{3-} por CO_3^{2-} — fenômeno comum em hidroxiapatitas biogênicas e responsável por aumentar a bioabsorvibilidade do material.

Por fim, a banda larga em torno de 3417 cm^{-1} indica a presença de água adsorvida, associada aos modos de vibração ν_3 e ν_1 das moléculas de H_2O , enquanto o pico em 3497 cm^{-1} está associado ao estiramento característico do grupo O-H da hidroxiapatita. Essas observações são consistentes com estudos prévios [51, 62], confirmando que o BP retém grupos funcionais relevantes para a bioatividade óssea, especialmente aqueles associados à presença de colágeno residual e à carbonatação superficial.

A análise termogravimétrica das biocargas é apresentada na Figura 4.1d. BP, nota-se que o TCP apresenta elevada estabilidade térmica ao longo de todo o processo, até $800\text{ }^\circ\text{C}$, sem perda de massa na faixa de temperatura de análise. Este comportamento é devido à alta estabilidade deste material, bem como à prévia sinterização para a obtenção do TCP. No entanto, o BP apresenta variação de massa na faixa de temperatura analisada, este resultado pode ser influência das impurezas presentes no material, como resíduos de elementos orgânicos restantes no pó que se decompõe à medida que o ensaio ocorre.

Por fim, as Figuras 4.1(e-f) apresentam micrografias do TCP e do BP, respectivamente. Observa-se que o TCP tem tamanho mais de partícula muito menor, e um tamanho médio de partícula de ordem de $6\text{ }\mu\text{m}$ (dados fornecidos pelo vendedor e validados em [12]), por sua vez o BP apresentou tamanho de partícula médio de $52\text{ }\mu\text{m}$ via granulometria de partículas via difração a laser (Apêndice A1).

Com relação à análise elementar das biocargas, a Tabela 4.1 apresenta os resultados obtidos por fluorescência de raios X (FRX) e por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES).

Tabela 4.1: Resultados da composição de TCP e BP obtidos por meio da caracterização por FRX e da razão Ca/P determinada por ICP-OES.

Biocarga	Concentração dos elementos (%m)									Razão Ca/P
	Ca	P	Si	K	S	Sr	Zn	Fe	Cl	
TCP	71,9	24,7	1,4	0,7	-	0,03	-	-	1,20	1,55
BP	76,2	21,6	1,2	0,4	0,17	0,16	0,05	0,03	-	1,34

A FRX revelou que o BP contém oligoelementos, como Zn, Fe e Si, que desempenham papéis fisiológicos importantes na mineralização e na diferenciação osteoblástica. Surpreendentemente, o TCP também apresentou traços de Sr, K e Si, possivelmente oriundos do processo de síntese e da sinterização. Entretanto, esses valores devem ser observados com bastante cuidado, visto que a FRX é uma técnica semiquantitativa; a determinação precisa da razão Ca/P foi obtida por ICP-OES. O BP apresentou razão Ca/P inferior à do osso humano (1,67), valor compatível com a natureza bovina da amostra, cuja composição mineral difere levemente da humana. As pequenas variações observadas em relação à literatura podem ser atribuídas à presença de impurezas e de frações orgânicas residuais. A manutenção de frações de CaP na matriz óssea bovina é desejável, pois pode aumentar o potencial osteogênico do material [62]. No entanto, TCP apresentou o valor esperado, na ordem de Ca/P de 1,5.

4.2 Caracterização dos Materiais Produzidos Via Misturador Interno

A Figura 4.2 apresenta as caracterizações de torque e de reologia das blendas de PLA/PBS (75/25 % m/m) e dos respectivos biocompósitos contendo 10 e 20 % m/m de TCP ou BP.

Essa proporção foi selecionada por oferecer bom equilíbrio entre processabilidade e propriedades mecânicas, evitando instabilidades durante a impressão 3D, já que maiores teores de PBS resultariam em diferenças de

viscosidade e de temperaturas de fusão incompatíveis entre os componentes [64]. O processamento foi realizado em um misturador interno acoplado a um reômetro de torque e observou-se, para todas as amostras, um pico inicial de torque, associado ao momento de alimentação dos polímeros à temperatura ambiente, seguido de sua fusão e homogeneização (Figura 4.2a).

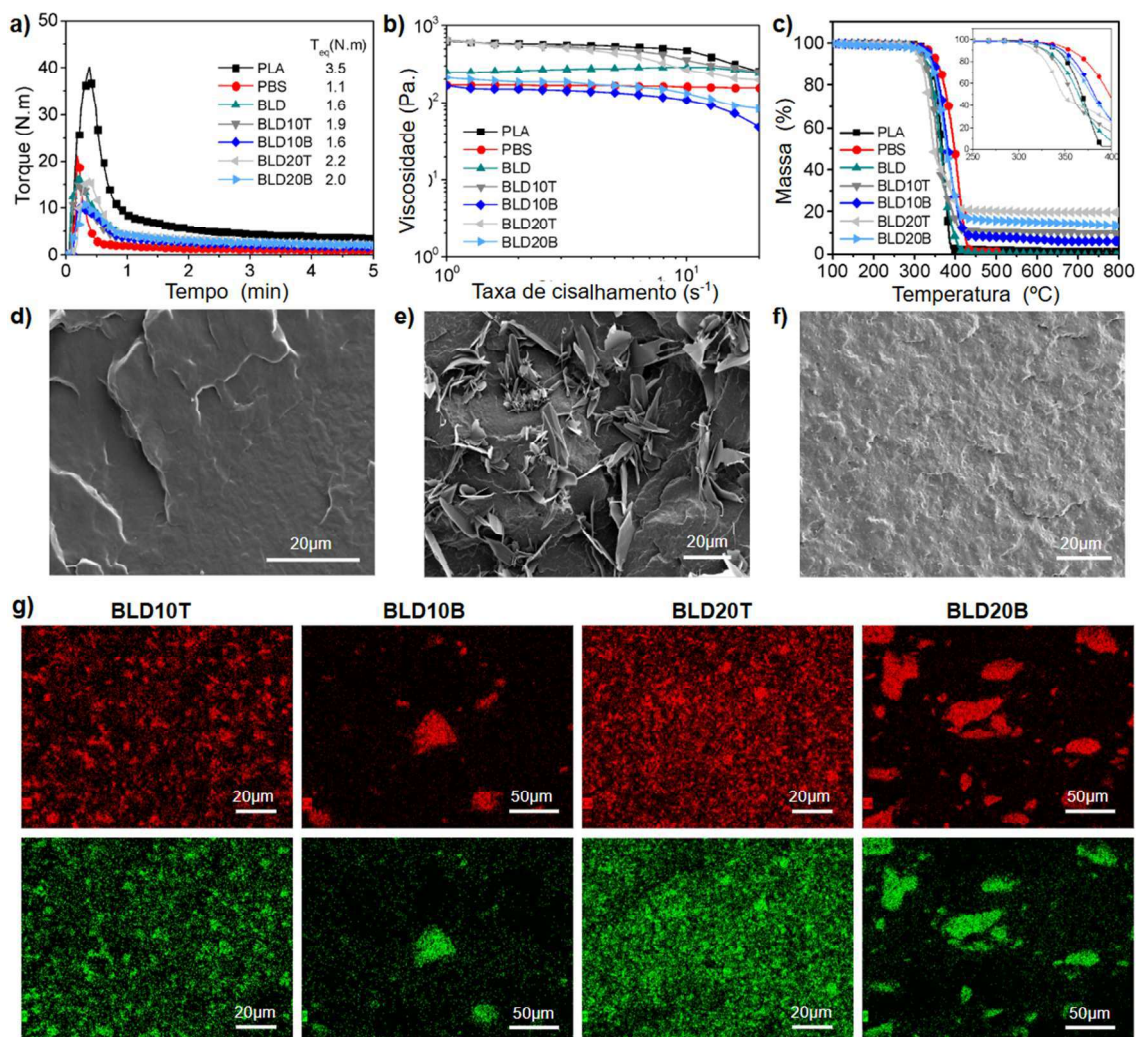


Figura 4.2 – Caracterização reológica, térmica e morfológica do PLA, PBS, BLD e dos compósitos: (a) torque em função do tempo; (b) viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento; (c) curvas de análise termogravimétrica (TGA). Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície da seção transversal: (d) PLA, (e) PBS e (f) BLD; (g) mapeamento por espectroscopia de

energia dispersiva (EDS) dos compósitos, evidenciando a distribuição de cálcio (Ca, em vermelho) e fósforo (P, em verde).

O PLA puro apresentou torque de equilíbrio de 3,5 N·m após 5 min de mistura, enquanto o PBS atingiu 1,1 N·m, devido à sua temperatura de fusão mais baixa e ao índice de fluidez (MFI) mais elevado. A blenda BLD apresentou torque intermediário (1,6 N·m) e fusão completa em cerca de 3 min, comportamento coerente com a proporção 75/25. A incorporação de TCP provocou um aumento do torque de equilíbrio, indicando uma elevação da viscosidade da mistura fundida (1,9 N·m para BLD10T e 2,2 N·m para BLD20T). Já a composição com BLD10B manteve valores próximos aos da blenda pura (1,6 N·m), mas, em 20 % m, com BLD20B, houve um leve aumento (2,0 N·m). Esse efeito pode ser explicado pela restrição à mobilidade das cadeias poliméricas, promovida pelas partículas inorgânicas, o que eleva a resistência ao cisalhamento durante o processamento.

As curvas de viscosidade em regime estacionário (Figura 4.2b) mostraram que o PLA apresentou as maiores viscosidades ao longo de toda a faixa de taxas de cisalhamento estudadas, enquanto o PBS apresentou os menores valores, coerentes com sua menor massa molecular e maior MFI. A BLD apresentou comportamento intermediário. A presença de PBS pode atuar como lubrificante, reduzindo o entrelaçamento entre as cadeias e a viscosidade global da mistura.

Os biocompósitos contendo TCP apresentaram viscosidade superior à das composições com BP, o que se alinha aos resultados de torque. Entretanto, em todas as amostras observou-se redução da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento, caracterizando um comportamento pseudoplástico típico de polímeros fundidos. A perda da região Newtoniana em baixas taxas ($4\text{--}5\text{ s}^{-1}$) sugere termodegradação, que reduz a massa molecular e aumenta a polidispersidade, tornando as cadeias mais suscetíveis à deformação em menores taxas de cisalhamento.

Nos compósitos com BP, a viscosidade ainda menor indica degradação acentuada, possivelmente catalisada pelos íons Ca^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} e Fe^{3+} presentes no pó ósseo. Esses íons podem participar de reações de substituição nucleofílica

(SN2) e de racemização do PLA, favorecendo a clivagem de cadeias e acelerando a degradação térmica [64,65]. O mecanismo de clivagem mediada por metais de transição, descrito por Oh e Stache [66], também pode estar envolvido, especialmente no BP, que não passou por desmineralização.

Com relação à caracterização térmica dos biomateriais desenvolvidos, a Figura 4.1c e a Tabela 4.2 apresentam os resultados da análise termogravimétrica. Esta revelou que o PBS apresenta a maior estabilidade térmica, com início de decomposição a $359,5 \pm 2,1$ °C, seguido pelo PLA ($343,3 \pm 1,2$ °C).

Tabela 4.2: Resultados de TGA.

Amostras	T_{onset} (°C)	Resíduo (%)
PLA	$343,3 \pm 1,2$	$1,2 \pm 0,1$
PBS	$359,5 \pm 2,1$	$1,1 \pm 0,3$
BLD	$335,0 \pm 2,5$	$0,2 \pm 0,1$
BLD10T	$328,6 \pm 8,1$	$9,5 \pm 0,4$
BLD10B	$345,5 \pm 3,5$	$6,3 \pm 0,4$
BLD20T	$319,5 \pm 4,9$	$19,7 \pm 0,2$
BLD20B	$339,5 \pm 2,1$	$13,8 \pm 0,4$

A blenda BLD apresentou menor estabilidade térmica, evidenciada pelo valor de degradação de $331,0 \pm 1,0$ °C, comportamento associado à imiscibilidade entre o PLA e o PBS, conforme indicado pelas curvas de DSC apresentadas na Figura 2A (Apêndice A2). A presença do PBS no sistema tende a exercer um efeito plastificante, aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas e reduzindo as interações intermoleculares do PLA, o que resulta em diminuição da resistência térmica do material. Esse comportamento é consistente com resultados previamente reportados por Hassan *et al.* [68], que

relacionam a imiscibilidade em blendas de poliésteres à antecipação dos processos de degradação térmica.

A incorporação de BP promoveu um discreto aumento da estabilidade térmica do sistema, possivelmente associado ao efeito de barreira física proporcionado pelas partículas, que pode restringir a difusão de produtos voláteis durante a degradação. Em contrapartida, a adição de TCP resultou em redução mais acentuada da estabilidade térmica, especialmente nas formulações BLD10T e BLD20T. Esse efeito pode ser atribuído ao reduzido tamanho de partícula e à elevada área superficial específica do TCP, que favorecem a absorção de umidade e intensificam a degradação hidrolítica do PLA, acelerando os mecanismos de cisão das cadeias poliméricas, conforme descrito na literatura [69].

Os resíduos ao final da análise (800 °C) foram coerentes com o teor das biocargas utilizadas: $9,5 \pm 0,4$ % e $19,5 \pm 0,2$ % para as amostras contendo 10 % e 20 % de BLD10T e BLD20T, respectivamente.

Para os compósitos com BP, os resíduos foram menores ($6,3 \pm 0,4$ % e $13,8 \pm 0,4$ %, para BLD10B e BLD20B, respectivamente), o que corresponde a aproximadamente 30 % abaixo do valor teórico, em consonância com a perda parcial de fase orgânica. O TCP, previamente sinterizado a 1000 °C por 1 h, não apresentou variação de massa nessa faixa de temperatura.

Finalmente, as micrografias (Figuras 4.2 (d–f)) revelam que o PLA apresenta fratura típica frágil, com superfície de baixa deformação; o PBS, devido à sua transição vítrea em torno de -15 a -30 °C, exibe maior ductilidade. A BLD (Figura 4.2f) revela uma morfologia heterogênea, composta por uma matriz contínua de PLA (75 %) e por domínios esféricos de PBS (1–5 μm) dispersos na fase majoritária (Figura 4.3).

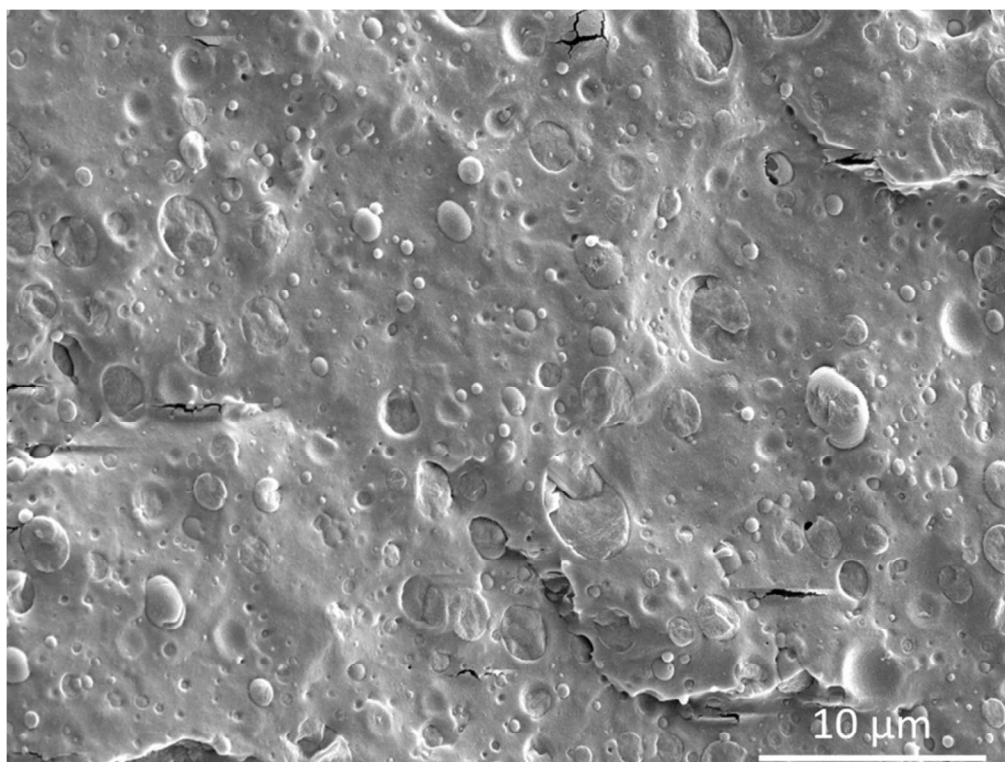


Figura 4.3 – Micrografia por microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície da seção transversal da composição BLD, evidenciando a morfologia heterogênea associada à imiscibilidade entre as fases poliméricas.

O mapeamento EDS (Figura 4.2g) demonstrou boa dispersão das partículas de TCP, com pontos isolados de Ca (vermelho) e de P (amarelo) bem distribuídos na matriz. Por outro lado, o BP, mesmo após criomoagem, apresentou aglomerados maiores e irregulares, com tamanho médio entre 50 e 55 μm , o que pode afetar a homogeneidade da dispersão e, conseqüentemente, as propriedades mecânicas e térmicas dos biocompósitos.

4.3 Caracterização dos *scaffolds* impressos 3D

Os *scaffolds* de PLA puro, PBS, BLD e compósitos à base de BLD foram fabricados com sucesso por impressão 3D via seringa aquecida a 185 °C, conforme mostrado na Figura 4.4a. Todos os *scaffolds* mantiveram a geometria projetada, apresentando poros bem definidos e dimensões uniformes, com tamanho de poro de 400 μm , altura de camada de 500 μm e largura de camada de 600 μm , conforme ilustrado nas Figuras 4.4b–h e resumido na Tabela 4.3, que apresenta os resultados de microscopia eletrônica de varredura (MEV) das

estruturas impressas. As micrografias confirmam que todos os materiais foram adequados para a impressão 3D, resultando em scaffolds com alta reprodutibilidade e controle dimensional. Os tamanhos médios de poro, altura e largura de camada variaram entre 430-522 μm , 464–544 μm e 523–577 μm , respectivamente.

A incorporação de pó de osso (BP) à matriz BLD resultou em filamentos com superfície visivelmente mais rugosa, especialmente nas amostras contendo 20% em massa de BP (Figuras 4.4g–h). Nesses scaffolds, observaram-se cavidades e vazios distribuídos tanto na superfície quanto no interior dos filamentos, os quais podem ser atribuídos a oscilações no fluxo do material durante o processamento. Esse comportamento é potencialmente intensificado pela natureza bifásica da blenda, associada à localização preferencial das biocargas na fase de menor viscosidade (PBS), o que pode gerar heterogeneidades reológicas e instabilidades no escoamento. Ressalta-se que a topografia superficial desempenha papel fundamental na resposta celular e na integração do implante: rugosidades em escala macroscópica favorecem a fixação mecânica em tecidos naturais, enquanto rugosidades em escala microscópica podem estimular a adesão e a diferenciação de osteoblastos, bem como aumentar a mineralização, quando comparadas a superfícies lisas [67,68].

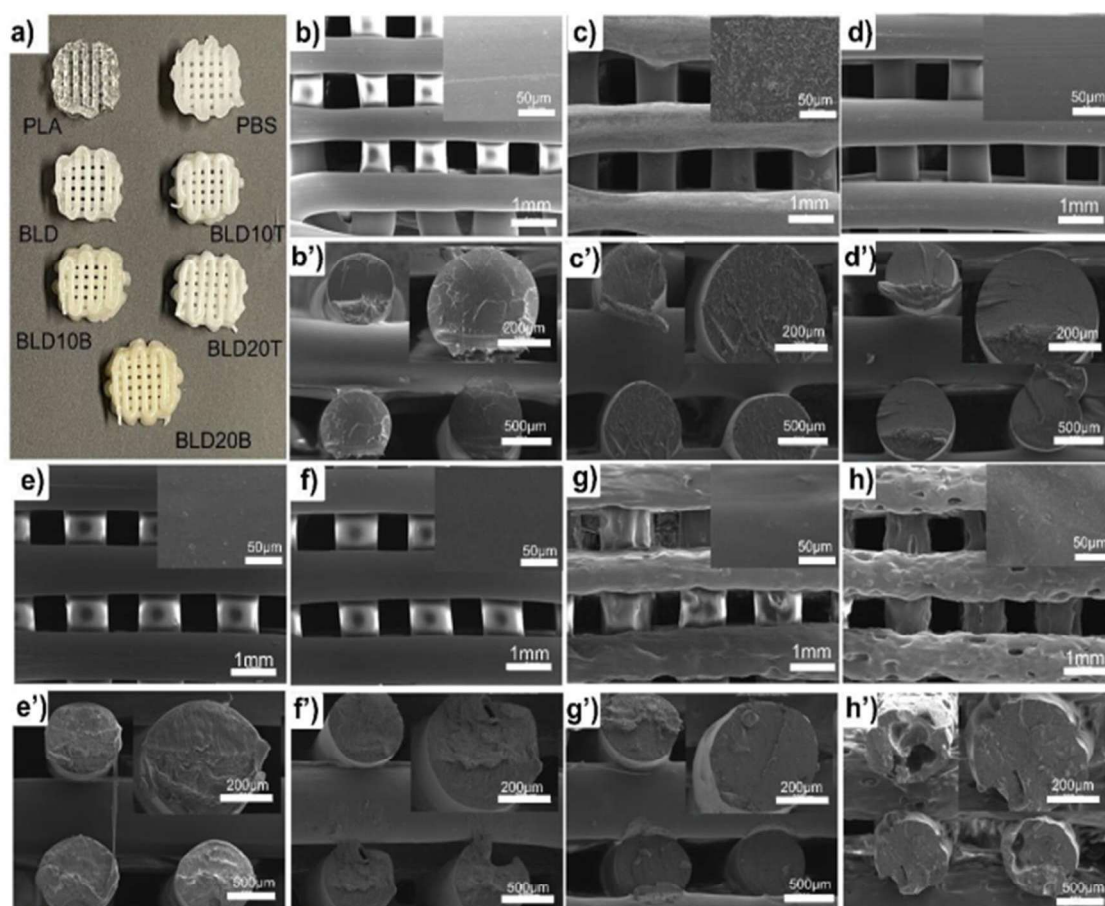


Figura 4.4: Imagens de *scaffolds* impressos (8mm) (a) e micrografias de MEV das vistas superior e transversal dos *scaffolds*, respectivamente b, b') PLA; c, c') PBS; d, d') BLD; e, e') BLD10T; f, f') BLD20T; g, g') BLD10B; e h, h') BLD20B.

As propriedades mecânicas dos *scaffolds* foram avaliadas por meio de ensaios de compressão, e os respectivos módulos elásticos estão apresentados na Tabela 4.3. Todos os *scaffolds* apresentaram valores semelhantes dentro do desvio padrão, variando entre 62 e 77 MPa. A estrutura do osso trabecular humano é altamente porosa e, por isso, apresenta valores de módulo aparente que variam de 10 a 3.000 MPa, e estes valores são altamente influenciados pela densidade aparente do osso (a massa de tecido ósseo dividida pelo volume total da amostra) [72]. Embora a incorporação de BP e TCP tenha induzido certa degradação polimérica, conforme sugerem as análises de TGA e reometria, e a formação de vazios nos filamentos (especialmente no BLD20B), esses efeitos não foram suficientes para reduzir significativamente o módulo elástico em relação ao PLA puro e a BLD.

Tabela 4.3: Características morfológicas dos *scaffolds* obtidas por MEV e módulo de elasticidade em média \pm DP.

Amostras	Altura de camada (μm)	Largura (μm)	Poros (μm)	Módulo elástico (MPa)
PLA	491 \pm 11	523 \pm 15	505 \pm 48	65 \pm 13
PBS	544 \pm 51	550 \pm 61	522 \pm 19	62 \pm 10
BLD	505 \pm 41	533 \pm 30	421 \pm 25	77 \pm 11
BLD10T	526 \pm 18	568 \pm 26	447 \pm 26	64 \pm 10
BLD10B	464 \pm 20	556 \pm 37	444 \pm 15	71 \pm 5
BLD20T	512 \pm 14	538 \pm 24	430 \pm 52	67 \pm 8
BLD20B	509 \pm 15	577 \pm 54	481 \pm 36	66 \pm 11

O comportamento de degradação dos *scaffolds* foi monitorado por meio da perda de massa após imersão em solução tampão fosfato ao longo do tempo (Figura 4.5a). Os *scaffolds* de PBS apresentaram perda de massa de aproximadamente 1,5% ao longo de 35 dias, resultado esperado devido à sua maior taxa de degradação, conforme relatado em estudos anteriores [73,74]. Em contrapartida, os *scaffolds* de PLA e da BLD, bem como os compósitos à base de BLD, apresentaram perda de massa desprezível no mesmo período. Resultados semelhantes foram reportados por Lyyra *et al.* [74] ao avaliar misturas de PLA/PBS contendo 25 e 50% em massa de PBS. Apesar da presença de PBS na composição, o comportamento global de degradação permaneceu próximo ao do PLA puro, possivelmente devido à baixa exposição das fases de PBS à superfície dos *scaffolds*. No entanto, conforme sugerido por Wang *et al.* [73], à medida que ocorre a degradação superficial e mais domínios de PBS são expostos, a penetração de água entre as fases de PBS e PLA aumenta, acelerando a degradação hidrolítica da matriz de PLA.

O efeito dos biocargas na resposta celular foi avaliado por meio de um ensaio de viabilidade celular com resazurina, após 1 e 7 dias de cultivo de células

pré-osteoblásticas de camundongo (MC3T3-E1), conforme a Figura 4.5b. Após 1 dia de cultivo, não foram observadas diferenças significativas na porcentagem de redução de resazurina entre os scaffolds. Após 7 dias, o mesmo comportamento foi mantido, exceto no *scaffold* de PBS, que apresentou o menor percentual de redução, indicando menor atividade metabólica celular.

A adesão celular e o aspecto das células foram analisados após 24 horas de cultivo com MEV (Figura 4.4(c-i)). As imagens revelam melhor adesão e espalhamento celular nos *scaffolds* contendo biocargas, especialmente no BLD20T, no qual as células apresentaram maior extensão de filopódios e morfologia mais espalhada em relação às demais amostras. De forma geral, os resultados demonstram que os scaffolds à base de BLD, contendo TCP e BP, são citocompatíveis, favorecem a adesão e a viabilidade celular e apresentam potencial promissor para aplicações em ETO. Além disso, a presença desses biofilers tem sido associada, conforme relatado em outros estudos [57], ao aumento da proliferação de células-tronco mesenquimais, maior deposição de cálcio e expressão de genes osteogênicos como RUNX2, OCN e OPN, indicando seu potencial para promover a regeneração óssea.

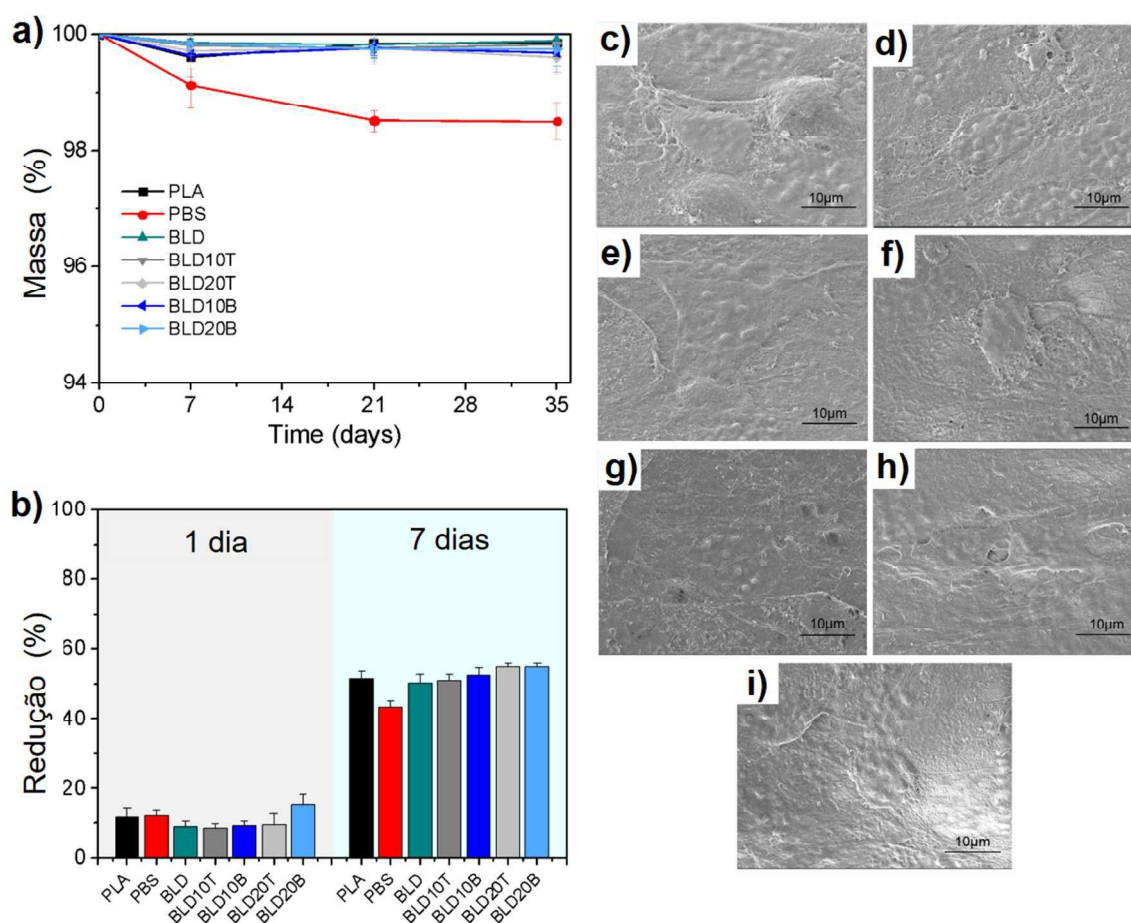


Figura 4.5 – (a) Variação de massa dos scaffolds ao longo do tempo, indicando o comportamento de degradação dos diferentes sistemas; (b) avaliação da citotoxicidade após 1 e 7 dias de cultivo celular, evidenciando a biocompatibilidade das formulações. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos osteoblastos aderidos à superfície dos scaffolds após 1 dia de cultura celular: (c) PLA; (d) PBS; (e) BLD; (f) BLD10T; (g) BLD10B; (h) BLD20T; e (i) BLD20B, destacando diferenças na morfologia celular, no grau de espalhamento e na interação célula–material em função da composição dos scaffolds.

5 CONCLUSÕES

A caracterização estrutural e química das biocargas revelou que o fosfato tricálcico (TCP) apresentou estrutura altamente cristalina, típica da fase β -TCP, enquanto o pó de osso (BP) manteve predominantemente a fase de hidroxiapatita (HA), preservando parcialmente a cristalinidade e grupos funcionais (PO_4^{3-} , OH^- e CO_3^{2-}) relevantes à bioatividade óssea. A termogravimetria mostrou que o TCP é termicamente estável até 800 °C, enquanto o BP apresenta perda de massa atribuída à decomposição de resíduos orgânicos, evidenciando a remoção incompleta de matéria orgânica. As micrografias revelaram morfologias distintas, com o TCP apresentando partículas finas ($\sim 6 \mu\text{m}$) e o BP partículas maiores ($\sim 52 \mu\text{m}$). A análise elementar indicou a presença de oligoelementos fisiologicamente relevantes (Zn, Fe, Si e Sr), que podem favorecer a osteogênese, mas, entretanto, podem impactar a termoestabilidade durante o processamento no estado fundido.

Em termos reológicos, o PLA apresentou maior viscosidade e torque de equilíbrio, enquanto o PBS apresentou comportamento mais fluido devido à menor massa molecular e ao maior MFI. A blenda PLA/PBS (BLD) apresentou comportamento intermediário, e a incorporação de biocargas alterou significativamente as propriedades de fluxo. O TCP aumentou a viscosidade e o torque de equilíbrio, devido à restrição de mobilidade das cadeias poliméricas, enquanto o BP promoveu uma leve redução de viscosidade em função das prováveis reações catalisadas por íons metálicos, que favoreceram a degradação térmica do PLA e PBS, entretanto, nas análises térmicas, observou-se que o PBS apresentou a maior estabilidade, seguido do PLA e da blenda. Todas as amostras exibiram comportamento pseudoplástico típico, com redução de viscosidade em altas taxas de cisalhamento.

Os *scaffolds* produzidos apresentaram módulos elásticos entre 62 e 77 MPa, compatíveis com o intervalo do osso trabecular humano, sem diferenças estatisticamente significativas entre as formulações. A degradação *in vitro* demonstrou a estabilidade das amostras à base de PLA e BLD, com perda mínima de massa ao longo de 35 dias, em contraste com o PBS puro. A avaliação biológica indicou boa citocompatibilidade e adesão celular,

especialmente nos *scaffolds* contendo TCP, nos quais foram observados maior extensão de filopódios e melhor espalhamento celular. Assim, os resultados comprovam que a incorporação de TCP e BP em matrizes de PLA/PBS confere estabilidade térmica e reológica adequada e melhora a bioatividade, tornando esses compósitos promissores para aplicações em engenharia tecidual óssea.

6 SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

A partir dos resultados obtidos, estudos futuros deverão focar em alguns pontos principais como:

- Otimização dos parâmetros de moagem para obtenção de BP com menor granulometria.
- Minimizar processo de degradação durante o processamento via estado fundido a partir da dispersão do BP e TCP na blenda via solvente e precipitação.
- Integrar nanopartículas bioativas com capacidade de liberação controlada (por exemplo, CaP, SiO₂ ou MgO).
- Explorar híbridos PLA/PBS adaptativos (4D) e piezoelétricos para estimular a osteogênese por meio do acoplamento mecânico-elétrico.
- Conduzir estudos de degradação por períodos mais longos.
- Realizar ensaios de cultura celular com outras linhagens, inclusive linhagens primárias, para explorar o potencial de diferenciação do BP.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 SING, C. W. et al. Global epidemiology of hip fractures: secular trends in incidence rate, post-fracture treatment, and all-cause mortality. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbmr.4821>.
- 2 ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE AVALIAÇÃO ÓSSEA E OSTEOMETABOLISMO (ABRASSO). Fraturas por osteoporose causam cerca de 200 mil mortes por ano no Brasil. 2023. Disponível em: <https://abrasso.org.br/campanha/fraturas-por-osteoporose-causam-cerca-de-200-mil-mortes-por-ano-no-brasil/>. Acesso em: 24 jul. 2023.
- 3 ESMAEILI, S.; AKBARI AGHDAM, H.; MOTIFIFARD, M. et al. A porous polymeric-hydroxyapatite scaffold used for femur fractures treatment: fabrication, analysis, and simulation. *European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology*, v. 30, n. 1, p. 123–131, 2020. DOI: 10.1007/s00590-019-02530-3.
- 4 KONDIAH, P. J.; KONDIAH, P. P. D.; CHOONARA, Y. E.; MARIMUTHU, T.; PILLAY, V. A 3D bioprinted pseudo-bone drug delivery scaffold for bone tissue engineering. *Pharmaceutics*, v. 12, n. 2, p. 166, 2020. DOI: 10.3390/pharmaceutics12020166.
- 5 ROCHA, A. A. Elaboração de arcabouços com arquitetura biomimética de PLA/hidroxiapatita dopada com Sr por modelagem computacional e impressão 3D para engenharia óssea. Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2023.
- 6 COLLINS, M. N. et al. Scaffold fabrication technologies and structure/function properties in bone tissue engineering. *Advanced Functional Materials*, v. 31, n. 2010609, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/adfm.202010609>.
- 7 ROLIM, A. E.; KAMALI, A.; MOSHIRI, A. H. et al. Chitosan scaffolds: physico-chemical and biological properties for bone repair. *Revista Virtual de Química*, v. 10, p. 211–228, 2018.
- 8 SHI, D. et al. Preparation and properties of dopamine-modified alginate/chitosan-hydroxyapatite scaffolds with gradient structure for bone tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research A*, v. 107, n. 8, p. 1615–1627, 2019. DOI: 10.1002/jbm.a.36678.

- 9 BABAEI, M.; GHAEI, A.; NOURMOHAMMADI, J. Poly (sodium 4-styrene sulfonate)-modified hydroxyapatite nanoparticles in zein-based scaffold as a drug carrier for vancomycin. *Materials Science and Engineering C*, v. 100, p. 874–888, 2019.
- 10 FERRO, J. S. Desenvolvimento e caracterização de scaffolds magnéticos à base de quitosana-hidroxiapatita com inclusão de manganita de lantânio dopada com estrôncio para uso na engenharia tecidual óssea. 2022. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Sergipe, 2022.
- 11 MEI, L. H. I. (Org.) et al. *Polímeros de fontes renováveis: síntese e aplicações na saúde e no meio ambiente*. Campinas, SP: BCCL/UNICAMP, 2020. Recurso digital; il. 252 p. ISBN 978-65-87175-01-0. DOI: <https://doi.org/10.20396/ISBN9786587175010>.
- 12 BACKES, E. H. Desenvolvimento de biocompósitos de poli(ácido láctico)/biocargas para impressão 3D de scaffolds para engenharia de tecidos ósseos. 2020. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2020.
- 13 CARDOSO, L. et al. Implante de membranas de PLLA/Trietil-citrato como alternativa no tratamento de feridas cutâneas. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 23, n. 6, p. 798–806, 2013.
- 14 BARLETTA, M. et al. Poly(butylene succinate) (PBS): materials, processing, and industrial applications. *Progress in Polymer Science*, v. 132, p. 101579, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2022.101579>.
- 15 BACKES, E. H. et al. Development and characterization of printable PLA/ β -TCP bioactive composites for bone tissue applications. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 49759, 2020. DOI: 10.1002/app.49759.
- 16 KIM, D. et al. Effect of different concentration of demineralized bone powder with gellan gum porous scaffold for the application of bone tissue regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 134, p. 749–758, 2019.
- 17 Farjaminejad S, Farjaminejad R, Hasani M, Garcia-Godoy F, Abdouss M, Marya A, Harsoputranto A, Jamilian A. Advances and Challenges in Polymer-

- Based Scaffolds for Bone Tissue Engineering: A Path Towards Personalized Regenerative Medicine. *Polymers (Basel)*. 2024 Nov 26;16(23):3303. doi: 10.3390/polym16233303. PMID: 39684048; PMCID: PMC11644794.
- 18 ZHANG, B. et al. 3D printed bone tissue regenerative PLA/HA scaffolds with comprehensive performance optimizations. *Materials & Design*, v. 201, p. 109490, 2021. DOI: 10.1016/j.matdes.2021.109490.
- 19 MILAZZO, M. et al. Additive manufacturing approaches for hydroxyapatite-reinforced composites. *Advanced Functional Materials*, v. 29, n. 1903055, 2019. DOI: 10.1002/adfm.201903055.
- 20 SHOR, L. et al. Fabrication of three-dimensional polycaprolactone/hydroxyapatite tissue scaffolds and osteoblast-scaffold interactions *in vitro*. *Biomaterials*, v. 28, n. 35, p. 5291–5297, 2007. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2007.08.018.
- 21 AL-HUMAIRI, A. N. S. et al. *Biomaterials: multidisciplinary approaches and their related applications*. White Falcon Publishing, 2020.
- 22 SOUZA, J. R. de. Estudo da desacetilação da quitosana e obtenção de suas nanopartículas para aplicação em engenharia de tecidos. 2017. Tese (Doutorado em Engenharia de Tecidos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.
- 23 MORENO, M. S. M. S. Engenharia de tecidos na substituição de tecido ósseo. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Fernando Pessoa, 2014.
- 24 LI, Y. et al. Collagen-based biomaterials for bone tissue engineering. *Materials & Design*, v. 210, p. 110049, 2021. DOI: 10.1016/j.matdes.2021.110049.
- 25 SOLANO, M. R. C. et al. Fabricação de dispositivos porosos de policaprolactona e ibuprofeno por sinterização seletiva a laser para aplicações em regeneração óssea. 2013.
- 26 CHEUNG, H. Y. et al. A critical review on polymer-based bio-engineered materials for scaffold development. *Composites Part B: Engineering*, v. 38, n. 3, p. 291–300, 2007.

- 27 MORENO MADRID, A. P. et al. Advances in additive manufacturing for bone tissue engineering scaffolds. *Materials Science and Engineering C*, v. 100, p. 631–644, 2019. DOI: 10.1016/j.msec.2019.03.036.
- 28 DOMB, A.; MIZRAHI, B.; FARAH, S. (Ed.). *Biomaterials and Biopolymers*. Springer Nature, 2023.
- 29 CHEN, Q.; THOUAS, G. (Ed.). *Biomaterials: a basic introduction*. Taylor & Francis Group, 2015.
- 30 PARK, J.; LAKES, R. S. *Biomaterials: an introduction*. 3. ed. New York: Springer-Verlag, 2007.
- 31 REZWAN, K. et al. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, v. 27, p. 3413–3431, 2006.
- 32 TRIYONO, J. et al. Fabrication and characterization of porous bone scaffold of bovine hydroxyapatite-glycerin by 3D printing technology. *Bioprinting*, v. 18, p. e00078, 2020. DOI: 10.1016/j.bprint.2020.e00078.
- 33 PINTO, L. A. Desenvolvimento e caracterização de biocompósitos de blendas TPU/PCL com hidroxiapatita para produção de scaffolds bioativos via impressão 3D. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2022.
- 34 MAREGA, F. M. Desenvolvimento de biocompósitos de poli(ácido láctico) e óxido de zinco modificado por plasma para aplicação em engenharia de tecidos. 2023. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2023.
- 35 TURNER, B. N.; GOLD, S. A. A review of melt extrusion additive manufacturing processes: II. Materials, dimensional accuracy, and surface roughness. *Rapid Prototyping Journal*, v. 21, n. 3, p. 250–261, 2015. DOI: 10.1108/RPJ-02-2013-0017.
- 36 BECA FIGUEIREDO, B.; IGNÁCIO GIOCONDO CESAR, F. Um estudo da utilização da impressora 3D na engenharia e na medicina. *RECISATEC – Revista Científica Saúde e Tecnologia*, v. 2, n. 1, p. e2170, 2022. DOI: 10.53612/recisatec.v2i1.70.

- 37 VOLPATO, N. *Prototipagem rápida: tecnologias e aplicações*. São Paulo: Blucher, 2007.
- 38 CULMONE, C.; SMIT, G.; BREEDVELD, P. Additive manufacturing of medical instruments: a state-of-the-art review. *Additive Manufacturing*, v. 27, p. 461–473, 2019. DOI: 10.1016/j.addma.2019.03.015.
- 39 YOUSSEF, A.; HOLLISTER, S. J.; DALTON, P. D. Additive manufacturing of polymer melts for implantable medical devices and scaffolds. *Biofabrication*, v. 9, n. 1, p. 012002, 2017. DOI: 10.1088/1758-5090/aa5766.
- 40 AKMAL, J. et al. Implementation of industrial additive manufacturing: intelligent implants and drug delivery systems. *Journal of Functional Biomaterials*, v. 9, n. 3, p. 41, 2018. DOI: 10.3390/jfb9030041.
- 41 LEE, W. et al. 3D-printed microfluidic device for the detection of pathogenic bacteria using size-based separation in helical channel with trapezoid cross-section. *Scientific Reports*, v. 5, n. 1, p. 7717, 2015. DOI: 10.1038/srep07717.
- 42 NOZAKI, T. et al. Development of meal assistance device for patients with spinal cord injury. In: *IEEE 14th International Workshop on Advanced Motion Control (AMC)*, 2016. DOI: 10.1109/AMC.2016.7496352.
- 43 XU, N. et al. Reconstruction of the upper cervical spine using a personalized 3D-printed vertebral body in an adolescent with Ewing sarcoma. *Spine*, v. 41, n. 1, p. E50–E54, 2016. DOI: 10.1097/brs.0000000000001179.
- 44 JONES, D. B. et al. Three-dimensional modeling may improve surgical education and clinical practice. *Surgical Innovation*, v. 23, n. 2, p. 189–195, 2015. DOI: 10.1177/1553350615607641.
- 45 BERNARDES, J. Pele impressa em 3D substitui animais em teste de cosméticos. *Jornal da USP*, São Paulo, p. 1, 15 jan. 2018. Disponível em: <https://jornal.usp.br/ciencias/pele-impressa-em-3d-substitui-animais-em-teste-de-cosmeticos/>. Acesso em: 25 out. 2025.
- 46 MALLMANN, T. da S. O uso de impressão 3D no auxílio às pessoas usuárias de órteses: um projeto de design focado em tecnologia assistiva. 2018. Monografia (Especialização em Design) – Univates, Lajeado, 2018.
- 47 Wang W, Liu P, Zhang B, Gui X, Pei X, Song P, Yu X, Zhang Z, Zhou C. Fused Deposition Modeling Printed PLA/Nano β -TCP Composite Bone Tissue

- Engineering Scaffolds for Promoting Osteogenic Induction Function. *Int J Nanomedicine*. 2023 Oct 17;18:5815-5830. doi: 10.2147/IJN.S416098. PMID: 37869064; PMCID: PMC10590137.
- 48 PEREIRA, Natháia Terra. Produção de ácido láctico com resíduos agroindustriais: uma revisão da literatura. 2019.
- 49 MARTÍN-CLOSAS, Lluís; PELACHO, Ana M. Agronomic potential of biopolymer films. *Biopolymers—New materials for sustainable films and coatings*, 2011, 277-299.
- 50 ALIOTTA, Laura, et al. A brief review of poly (butylene succinate)(PBS) and its main copolymers: synthesis, blends, composites, biodegradability, and applications. *Polymers*, 2022, 14.4: 844.
- 51 Cheng Lin, Liwu Liu, Yanju Liu, Jinsong Leng, 4D printing of shape memory polybutylene succinate/polylactic acid (PBS/PLA) and its potential applications, *Composite Structures*, Volume 279, 2022, 114729, ISSN 0263-8223, <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2021.114729>.
- 52 Rasheed, M.; Jawaid, M.; Parveez, B. Bamboo fiber based cellulose nanocrystals/poly(Lactic acid)/poly(butylene succinate) nanocomposites: Morphological, mechanical and thermal properties. *Polymers* 2021, 13, 1076.
- 53 Olonisakin, K., Mohanty, A. K., Thimmanagari, M., & Misra, M. (2025). Recent advances in biodegradable polymer blends and their biocomposites: a comprehensive review. *Green Chemistry*.
- 54 FARAZIN, Ashkan; DARGHIASI, Seyedeh Farnaz. Advanced polymeric scaffolds for bone tissue regeneration. *Exploration of BioMat-X*, 2025, 2: 101340.
- 55 OMIGBODUN, Francis T.; OLADAPO, Bankole I.; OSA-UWAGBOE, Norman. Exploring the frontier of Polylactic Acid/Hydroxyapatite composites in bone regeneration and their revolutionary biomedical applications—A review. *Journal of Reinforced Plastics and Composites*, 2024, 07316844241278045.
- 56 LIU Jie, ZHAO Xuesong, LI Qi, et al. Effect of polybutylene succinate on properties of polylactic acid-based wood-plastic composites[J]. *Acta Materialiae*

- Compositae Sinica, 2024, 41(5): 2445-2454. DOI: 10.13801/j.cnki.fhclxb.20230831.002
- 57 Lee, M. S.; Lee, D. H.; Jeon, J.; Tae, G.; Shin, Y. M.; Yang, H. S. Biofabrication and Application of Decellularized Bone Extracellular Matrix for Effective Bone Regeneration. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **2020**, *83*, 323–332.
- 58 SABALINA, Alisa, et al. Thermomechanical and mechanical analysis of polylactic acid/polyhydroxyalkanoate/poly (butylene succinate-co-adipate) binary and ternary blends. *RSC advances*, 2025, 15.1: 501-512.
- 59 Habelitz, S.; Pascual, L.; Durán, A. Transformation of Tricalcium Phosphate into Apatite by Ammonia Treatment. *J Mater Sci* **2001**, *36* (17), 4131–4135. <https://doi.org/10.1023/A:1017996217452>.
- 60 Al-Qahtani, A. S.; Tulbah, H. I.; Binhasan, M.; Shabib, S.; Al-Aali, K. A.; Alhamdan, M. M.; Abduljabbar, T. Influence of Concentration Levels of β -Tricalcium Phosphate on the Physical Properties of a Dental Adhesive. *Nanomaterials* **2022**, *12* (5), 853. <https://doi.org/10.3390/nano12050853>.
- 61 Paschalis, E. P.; Mendelsohn, R.; Boskey, A. L. Infrared Assessment of Bone Quality: A Review. *Clin Orthop Relat Res* **2011**, *469* (8), 2170–2178. <https://doi.org/10.1007/s11999-010-1751-4>.
- 62 Kontopoulos, I.; Presslee, S.; Penkman, K.; Collins, M. J. Preparation of Bone Powder for FTIR-ATR Analysis: The Particle Size Effect. *Vib Spectrosc* **2018**, *99*, 167–177. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2018.09.004>
- 63 Al Qabbani, A.; Rani, K. G. A.; AlKawas, S.; Sheikh Abdul Hamid, S.; Yap Abdullah, A.; Samsudin, A. R.; Azlina, A. Evaluation of the Osteogenic Potential of Demineralized and Decellularized Bovine Bone Granules Following Implantation in Rat Calvaria Critical-Size Defect Model. *PLoS One* **2023**, *18* (12), e0294291. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0294291>.
- 64 Ji, D.; Liu, Z.; Lan, X.; Wu, F.; Xie, B.; Yang, M. Morphology, Rheology, Crystallization Behavior, and Mechanical Properties of Poly(Lactic Acid)/Poly(Butylene Succinate)/Dicumyl Peroxide Reactive Blends. *J Appl Polym Sci* **2014**, *131* (3). <https://doi.org/10.1002/app.39580>.

- 65 Backes, E. H.; Pires, L. de N.; Costa, L. C.; Passador, F. R.; Pessan, L. A. Analysis of the Degradation During Melt Processing of PLA/Biosilicate® Composites. *Journal of Composites Science* **2019**, *3* (2), 52. <https://doi.org/10.3390/jcs3020052>.
- 66 Fan, Y.; Nishida, H.; Shirai, Y.; Endo, T. Racemization on Thermal Degradation of Poly(L-Lactide) with Calcium Salt End Structure. *Polym Degrad Stab* **2003**, *80* (3), 503–511. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(03\)00033-8](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(03)00033-8)
- 67 Oh, S.; Stache, E. E. Recent Advances in Oxidative Degradation of Plastics. *Chem Soc Rev* **2024**, *53* (14), 7309–7327. <https://doi.org/10.1039/D4CS00407H>.
- 68 Hassan, E.; Wei, Y.; Jiao, H.; Muhuo, Y. Dynamic Mechanical Properties and Thermal Stability of Poly(Lactic Acid) and Poly(Butylene Succinate) Blends Composites. *Journal of Fiber Bioengineering and Informatics* **2013**, *6* (1), 85–94. <https://doi.org/10.3993/jfbi03201308>.
- 69 Ferri, J.; Gisbert, I.; García-Sanoguera, D.; Reig, M.; Balart, R. The Effect of Beta-Tricalcium Phosphate on Mechanical and Thermal Performances of Poly(Lactic Acid). *J Compos Mater* **2016**, *50* (30), 4189–4198. <https://doi.org/10.1177/0021998316636205>
- 70 Lian, M.; Sun, B.; Han, Y.; Yu, B.; Xin, W.; Xu, R.; Ni, B.; Jiang, W.; Hao, Y.; Zhang, X.; Shen, Y.; Qiao, Z.; Dai, K. A Low-Temperature-Printed Hierarchical Porous Sponge-like Scaffold That Promotes Cell-Material Interaction and Modulates Paracrine Activity of MSCs for Vascularized Bone Regeneration. *Biomaterials* **2021**, *274* (April), 120841. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.120841>.
- 71 Dave, K.; Gomes, V. G. Interactions at Scaffold Interfaces: Effect of Surface Chemistry, Structural Attributes and Bioaffinity. *Materials Science and Engineering C* **2019**, *105* (January). <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110078>
- 72 MORGAN, Elise F.; KEAVENY, Tony M. Dependence of yield strain of human trabecular bone on anatomic site. *Journal of biomechanics*, 2001, *34.5*: 569-577.

- 73 Wang, Y.; Xiao, Y.; Duan, J.; Yang, J.; Wang, Y.; Zhang, C. Accelerated Hydrolytic Degradation of Poly(Lactic Acid) Achieved by Adding Poly(Butylene Succinate). *Polymer Bulletin* **2016**, *73* (4), 1067–1083. <https://doi.org/10.1007/s00289-015-1535-9>.
- 74 Lyyra, I.; Sandberg, N.; Parihar, V. S.; Hannula, M.; Huhtala, H.; Hyttinen, J.; Massera, J.; Kellomäki, M. Hydrolytic Degradation of Polylactide/Polybutylene Succinate Blends with Bioactive Glass. *Mater Today Commun* **2023**, *37*, 107242. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2023.107242>.
- 75 Fredi, Andrea Dorigato, Recycling of bioplastic waste: A review, *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, Volume 4, Issue 3, 2021, Pages 159-177, ISSN 2542-5048, <https://doi.org/10.1016/j.aiepr.2021.06.006>.

APÊNDICE A1

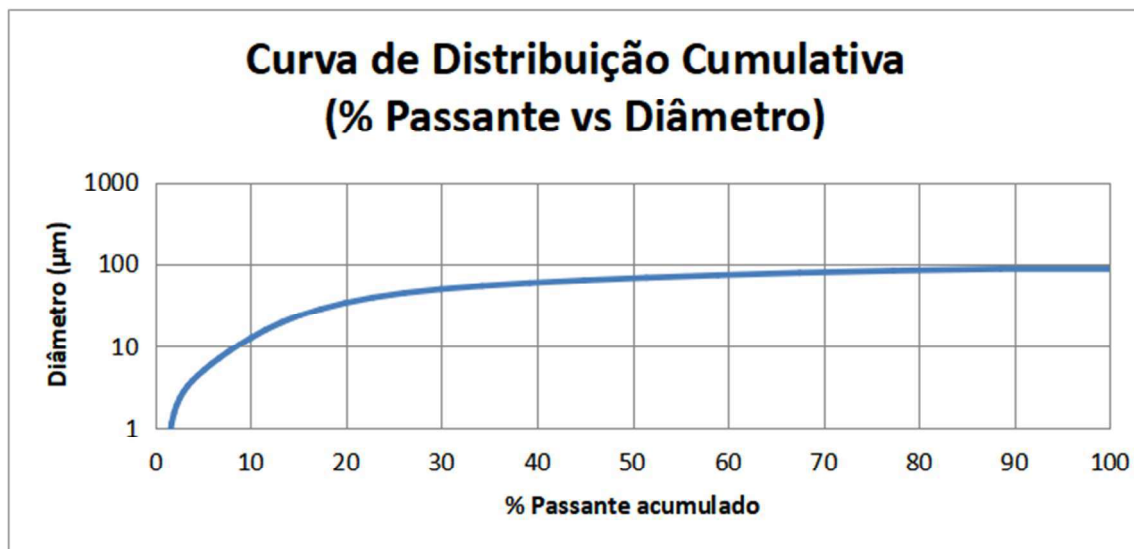


Figura 1A: Curva de diâmetro de partícula versus % de volume passante acumulado. Tamanho médio de partícula: 52 μm .

APÊNDICE A2

Com o propósito de verificar o comportamento térmico da blenda e a influência da adição das biocargas nas temperaturas características das matrizes de PLA e PBS realizou-se o ensaio de DSC, e a Figura 2A apresenta as curvas de segunda varredura de aquecimento do ensaio de DSC e a Tabela 1A os resultados das temperaturas obtidas para todas as formulações preparadas.

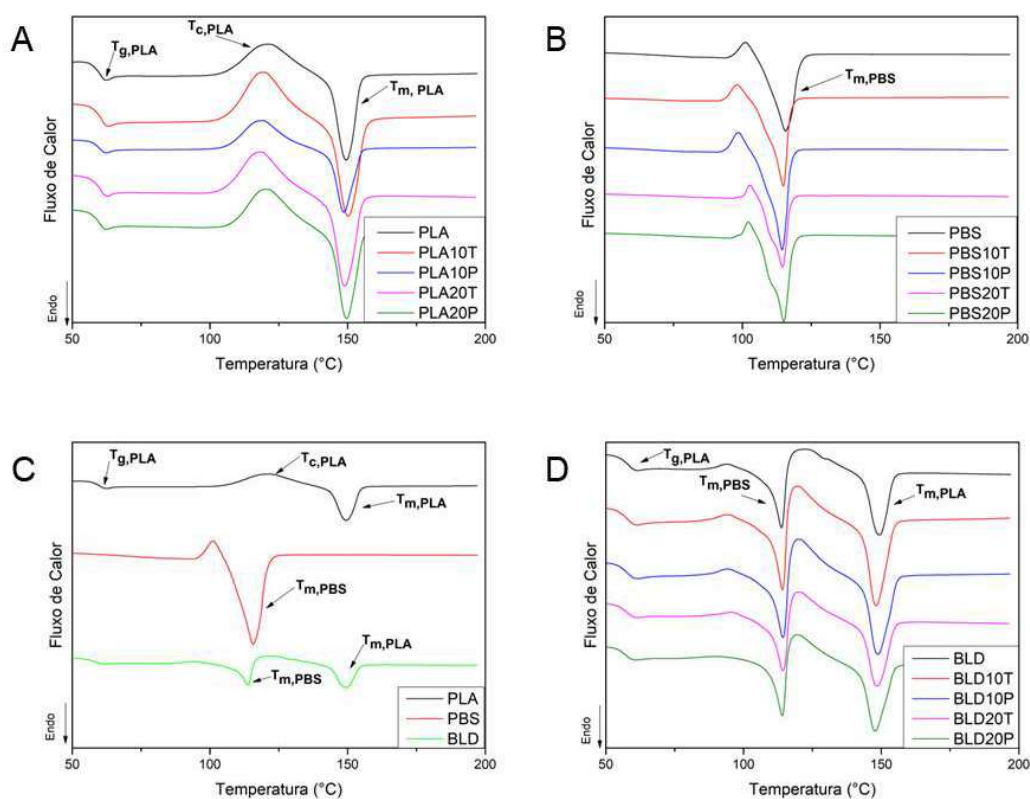


Figura 2A: Curvas da segunda varredura de aquecimento do ensaio de DSC das amostras estudadas, em A) PLA e compósitos com 10 e 20% m de TCP e BP; B) PBS e compósitos com 10 e 20% m de TCP e BP; C) PLA, PBS e BLD; e D) BLD e compósitos com 10 e 20% m de TCP e BP.

Tabela 1A: Resultados de DSC das formulações na segunda varredura de aquecimento.

Amostras	T_{g,PLA} (°C)	T_{c,PLA} (°C)	ΔH_{cc,PLA} (J/g)	T_{m,PLA} (°C)	ΔH_{m,PLA} (J/g)	T_{m,PBS} (°C)	ΔH_{m,PBS} (J/g)
PLA	61,96	121,10	16,65	149,47	19,11	-	-
PBS	-	-	-	-	-	115,67	69,91
BLD	60,51			149,17	16,75	114,03	21,08
BLD10T	60,72			148,20	15,84	114,21	19,05
BLD20T	60,79			148,27	13,82	114,38	15,36
BLD10P	60,41			148,70	16,68	114,31	19,54
BLD20P	60,10			147,90	15,90	114,11	15,36

O PLA puro apresenta temperatura de transição vítrea (T_g) de **61,96 °C**, temperatura de cristalização (T_c) de **121,10 °C** e temperatura de fusão (T_m) de **149,47 °C**. O PBS puro, por sua vez, apresenta temperatura de fusão de **115,67 °C**. A adição de biocargas de tricálcio fosfato (TCP) e pó de osso (BP), em proporções de até 20% em massa, à matriz de PBS não promoveu alterações significativas na temperatura de fusão, a qual permaneceu praticamente constante, variando entre **114 e 115 °C**.

Quando o PBS é incorporado à matriz do PLA, observa-se um pequeno deslocamento da T_g do PLA para valores aproximadamente **2 °C inferiores** aos do polímero puro. Essa redução na temperatura de transição vítrea pode ser associada à dispersão do PBS na matriz de PLA e ao efeito plastificante exercido por esse polímero, que aumenta a mobilidade das cadeias poliméricas. Para os biocompósitos, os valores das temperaturas térmicas analisadas apresentaram variações semelhantes entre si e, quando comparados ao PLA puro, mantiveram a tendência de leve diminuição da T_g, indicando comportamento térmico consistente entre as diferentes formulações.