



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102024004798-2 A2

(22) Data do Depósito: 11/03/2024

(43) Data da Publicação Nacional:
16/09/2025

(54) **Título:** MÉTODO DE BIOIMPRESSÃO POR MANUFATURA ADITIVA, COMPOSIÇÃO E MATERIAL BIOCOMPATÍVEL PARA USO EM MANUFATURA ADITIVA

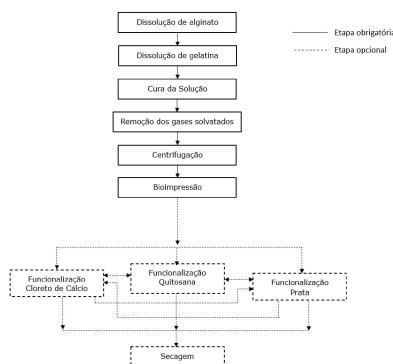
(51) **Int. Cl.:** B29C 64/171; G06T 19/20; G02B 30/52; G02B 30/50; H04N 13/275; (...).

(52) **CPC:** B29C 64/171; G06T 19/20; G02B 30/52; G02B 30/50; H04N 13/275; (...).

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP.

(72) **Inventor(es):** JARBAS CAIADO DE CASTRO NETO; BRUNO PEREIRA DE OLIVEIRA; FÁTIMA MARIA MITSUE YASUOKA; ANA JULIA GONZALEZ TENDULINI.

(57) **Resumo:** MÉTODO DE BIOIMPRESSÃO POR MANUFATURA ADITIVA, COMPOSIÇÃO E MATERIAL BIOCOMPATÍVEL PARA USO EM MANUFATURA ADITIVA. A presente invenção se insere na área química e no campo de engenharia de tecidos, mais especificamente no que se refere aos métodos de impressão de materiais biocompatíveis pela técnica de manufatura aditiva. Ainda, propõe um método de bioimpressão, em que o referido método envolve a obtenção de uma composição biocompatível para manufatura aditiva; a impressão de um material biocompatível; e, opcionalmente, a funcionalização desse material, de modo a customizar suas características físico-químicas. A composição biocompatível da presente invenção compreende gelatina e alginato e as etapas opcionais de funcionalização do material biocompatível compreendem a utilização de soluções de quitosana, cloreto de cálcio, e nanopartículas de prata, ou qualquer combinação dos mesmos. A composição é utilizada em processos de manufatura aditiva (impressão 3D), de modo que o método de bioimpressão da presente invenção representa uma alternativa mais simples para os processos comumente utilizados na técnica de manufatura aditiva.



**"MÉTODO DE BIOIMPRESSÃO POR MANUFATURA ADITIVA,
COMPOSIÇÃO E MATERIAL BIOCOMPATÍVEL PARA USO EM MANUFATURA
ADITIVA"**

CAMPO DA INVENÇÃO:

[001] A presente invenção se insere na área química e no campo de engenharia de tecidos, mais especificamente no que se refere aos métodos de impressão de materiais biocompatíveis pela técnica de manufatura aditiva. Assim, a presente invenção propõe um método de bioimpressão compreendendo a obtenção de uma composição de gelatina-alginato para manufatura aditiva de materiais biocompatíveis e descreve a referida composição biocompatível.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO E ESTADO DA TÉCNICA:

[002] A técnica de manufatura aditiva, ou impressão 3D, como é popularmente conhecida, é uma técnica que permite a criação de objetos tridimensionais através da deposição de camadas sobre camadas, de modo a criar objetos a partir de um modelo tridimensional computadorizado, possibilitando a criação de peças personalizadas.

[003] A técnica de manufatura aditiva vem sendo utilizada na impressão de materiais biologicamente compatíveis (bioimpressão), pois permite que as peças desenvolvidas sejam customizadas e suas propriedades físico-químicas alteradas em função das características desejadas.

[004] Desse modo, a bioimpressão se apresenta como uma das vertentes da impressão 3D convencional, sendo adotada

uma abordagem que une deposições computacionalmente orientadas de macromoléculas e unidades celulares.

[005] Assim, a partir da bioimpressão é possível criar objetos com geometria e tamanhos personalizados para se adequar a cada aplicação, por exemplo, para tratamento de uma lesão na pele, no qual é vantajoso ter o controle de aspectos mecânicos e químicos de interesse, que podem melhorar significativamente a eficácia e a eficiência do tratamento.

[006] O uso da tecnologia de manufatura aditiva para a criação de estruturas biocompatíveis é conhecido no estado da técnica, no entanto, as composições utilizadas para impressão podem apresentar restrições quanto às suas propriedades mecânicas e químicas, o que limita sua aplicação.

[007] Desse modo, para que a bioimpressão cumpra seu propósito, um dos pontos-chaves é o conhecimento e entendimento das propriedades reológicas da solução que será utilizada para a fabricação de peças biocompatíveis.

[008] Dentre as composições que são utilizadas para atuar como "biotintas", ou seja, as composições biocompatíveis para a bioimpressão, tem-se as composições compreendendo hidrogéis. As composições compreendendo hidrogéis são boas candidatas para biotintas, uma vez que os hidrogéis são materiais porosos e altamente absorventes, capazes de fornecer um ambiente úmido favorável à sua utilização na engenharia de tecidos, por exemplo, promovendo

a cicatrização da pele danificada sem prejudicar características de permeabilidade e boa difusão de gases.

[009] Além disso, através da técnica de manufatura aditiva, é possível a incorporação de ingredientes ativos nos hidrogéis, como, por exemplo, antibióticos, anti-inflamatórios, analgésicos, entre outros fármacos, de modo a possibilitar que o material biocompatível tenha características desejadas, como, por exemplo, atividade analgésica, anti-inflamatória ou antibiótica, o que permite melhorar ainda mais sua capacidade terapêutica.

[0010] Por essas razões, o processo de impressão 3D de hidrogéis tem o potencial de revolucionar a forma como lesões em tecidos são tratadas, oferecendo aos pacientes opções terapêuticas aprimoradas e promovendo melhores resultados de tratamento.

[0011] Entretanto, para a criação de biotintas é necessária a utilização de materiais biocompatíveis. Um dos materiais convencionalmente utilizado é a gelatina, um polímero proteico derivado da hidrólise parcial do colágeno, cuja formação base é uma proteína de função estrutural encontrada em tecidos animais, como pele, ossos e cartilagem.

[0012] A gelatina é amplamente utilizada na indústria alimentícia para produzir sobremesas e doces, mas também pode ter aplicações medicinais decorrentes de sua composição de aminoácidos base, alto potencial de retenção hídrica, biocompatibilidade e biodegradabilidade.

[0013] Além dos benefícios de cunho biológico e toxicológico da gelatina, a gelatina também é utilizada no desenvolvimento de tintas com aplicação na impressão 3D devido a sua alta capacidade formação de gel e ao seu alto desempenho estrutural, quando exposto a ambientes mais frios. Desse modo, a gelatina apresenta uma vantagem referente à estabilização do material impresso após o filamento ser depositado.

[0014] Além da gelatina, o alginato também é outro material utilizado no preparo de biotintas. O alginato é um polímero natural composto de cadeias de ácido algínico derivado de algas marinhas marrons, como o *kelp* e outras espécies de algas Phaeophyta. A estrutura química do alginato é composta por unidades de ácido D-manurônico e L-gulurônico que se unem por ligações 1-4 glicosídicas, o que o torna altamente flexível. Além disso, sua configuração pode ser facilmente modificada pela adição de cátions, como cátions de cálcio e sódio e/ou cloreto de cálcio. Os monômeros bases de polianiónicos (monômeros L-gulurônico) são constituídos por um grupo carboxila terminal e um grupo hidroxila terminal, o que faz com que estes grupos funcionais permitam a formação de ligações iônicas intermoleculares com os cátions multivalentes.

[0015] Assim, a formação dessas ligações ocorre pela atração eletrostática entre os íons positivos dos cátions e os íons negativos dos grupos carboxila e hidroxila destes

monômeros, logo, a estrutura formada tem uma característica tridimensional, devido as ligações intercruzadas.

[0016]Tais ligações são importantes para a estabilidade e as propriedades desses blocos, pois contribuem para a resistência mecânica, para a solubilidade e para a capacidade de adsorção desses. Assim, as ligações entres os monômeros L-gulorônico e os cátions multivalentes são importantes para o desenvolvimento de materiais com propriedades específicas.

[0017]Quando o alginato é exposto a íons cálcio, forma-se um gel tridimensional, e esta composição é altamente absorvente, podendo ser moldada em várias formas. Portanto, essa composição possui aplicação, por exemplo, na fabricação de membranas, filmes, hidrogéis e micropartículas.

[0018]Por conta disso, devido às suas propriedades únicas, o alginato tem uma ampla gama de aplicações em vários setores, incluindo a indústria alimentícia, farmacêutica, biomédica e cosmética.

[0019]No que tange à área biomédica, o alginato é comumente utilizado na fabricação de curativos para feridas devido às suas propriedades de absorção de líquidos e formação de gel. Quando em contato com fluidos corporais, como o exsudato da ferida, o alginato tem uma característica hidrofílica, o que ajuda a manter a umidade da área lesionada e promove a cicatrização e o desbridamento auto lítico.

[0020]Além disso, o alginato possui propriedades antibacterianas naturais que ajudam a prevenir e tratar infecções. Assim, o gel contendo alginato também ajuda a

proteger a ferida de contaminação externa e a reduzir a dor associada à troca de curativos. Por essa razão, o alginato é um composto interessante para a fabricação de peças biocompatíveis por manufatura aditiva.

[0021] Também, é de conhecimento que composições de alginato e gelatina podem ser funcionalizadas, em que o processo de funcionalização compreende a adição de grupos funcionais, de modo a conferir novas propriedades às moléculas presentes na solução, como por exemplo alterar a solubilidade, reatividade ou afinidade por outras moléculas. Por exemplo, em composições de biotintas, a funcionalização permite aumentar sua estabilidade e aumentar a adesão da tinta por grupos hidrofílicos.

[0022] Ainda, também é possível que as composições de biotintas sejam modificadas pelo processo de crosslink, isto é, o processo de conexão de duas ou mais moléculas por meio de ligações químicas covalentes ou não covalentes. Por exemplo, o processo de crosslink pode ser utilizado para o incremento da resistência e da durabilidade da biotinta. Esse processo é possível devido a criação de uma rede tridimensional que é mais resistente à quebra.

[0023] Desse modo, é visto que as composições de biotintas podem ter suas características alteradas por meio de processos como funcionalização e crosslink, em que a principal diferença consiste no fato de que a funcionalização adiciona grupos funcionais a molécula, enquanto o crosslink os conecta as moléculas já presentes na estrutura polimérica.

[0024] Sendo assim, composições de biotintas compreendendo alginato e gelatina se mostram promissoras para o desenvolvimento de peças biocompatíveis por manufatura aditiva.

[0025] A literatura apresenta composições de biotintas a partir de diversos compostos, entre eles colágeno, gelatina e alginato. Além disso, a reticulação (crosslink) dos géis de alginato também é investigada na literatura, com a intenção de se obter composições que sejam biocompatíveis e que possam ser aplicadas durante o processo de fabricação de peças por manufatura aditiva.

[0026] O documento US2023301789 descreve um método de fabricação de *scaffold* por manufatura aditiva, a partir de uma composição compreendendo gelatina, alginato de sódio e biovidro 58S. Tal documento tem como objetivo a impressão de material ósseo de maneira estruturada e em multicamadas, ou seja, para permitir a regeneração de ossos. Além disso, é revelada a utilização de biovidro 58S, um bioativo utilizado para o tratamento de hipersensibilidade dentária ou para devolver um volume de tecido perdido, de modo que o pedido de patente US2023301789 possui aplicação na regeneração de tecidos ósseos, mas que não se aplica à criação de peles artificiais ou materiais biocompatíveis como descritos na presente invenção.

[0027] Tanto os estudos de Niu et al. (2022), intitulado "*Fabrication of AS/GEL/C Scaffold with 3D bioprinting to generate micro-nano porosity structure for skin wound*

healing: A detailed animal in vivo study", publicado em Cell Regeneration, quanto os estudos de Mirek et al. (2022), intitulado "Development of a new 3D bioprinted antibiotic delivery system based on a cross-linked gelatina-alginate hydrogel", publicado em Journal of Materials Chemistry B, investigam o desenvolvimento de formulação de uma biotinta de hidrogel envolvendo combinações de alginato e gelatina. Esses artigos mencionam a ocorrência da formação de bolhas durante a preparação do hidrogel e remoção delas por centrifugação. Esses documentos descrevem no item materiais e métodos que foi realizado o aquecimento da solução à temperatura de 37°C, e inserção em uma centrífuga, entretanto, não há descrição dos parâmetros de tempo e frequência (rpm).

[0028] Além disso, esses documentos não evidenciam nenhum detalhamento referente à etapa de retirada das bolhas presentes na formulação, inclusive, é descrito nos artigos supracitados que a impressão foi realizada, e que as bolhas presentes na formulação não atrapalharam a impressão e a confecção das estruturas.

[0029] Já a patente CN104722279B, propõe um método de retirada de metais pesados de efluentes a partir da utilização de uma composição compreendendo alginato de sódio e gelatina. A patente chinesa também menciona a formação de bolhas durante o preparo da solução de alginato e gelatina, e ensina a remoção das mesmas por ultrassom. Entretanto, esse documento não se direciona a obtenção de uma composição

para bioimpressão de materiais que serão utilizados como membranas artificiais para o tratamento de lesões na pele.

[0030]Sendo assim, apesar da literatura investigar composições compreendendo alginato e gelatina, nenhum documento do estado da técnica revela uma composição para impressão com quantidades significativas de alginato e gelatina, em que a razão de alginato-gelatina é crucial para influenciar a estrutura final, e que possibilita a impressão em temperatura ambiente, como na presente invenção.

[0031]Ainda, considerando que os documentos de referência trabalham uma composição de biotinta com valores mais baixos de gelatina e alginato, a viscosidade das soluções será mais baixa, se comparada com a viscosidade de uma solução com quantidades significativas de alginato e gelatina, o que pode influenciar a maneira que as peças biocompatíveis são impressas. De fato, na formação das soluções da presente invenção, é observado um comportamento não linear, isto é, um comportamento que não é dedutível por quaisquer equacionamentos matemáticos. Considerando que a linearidade é empregada como base comum de equacionamento, por exemplo, regra de três simples e compostos, extrapolação, mínimos quadrados, os modelos revelados no estado da técnica, ao considerar em primeira instância a capacidade de linearização, se distanciam dos ensinamentos da presente invenção, uma vez que o fluido da presente invenção tem um comportamento viscoelástico, em que a tensão de deformação não é proporcional ao escoamento.

[0032] Além disso, os métodos de bioimpressão geralmente utilizados na técnica requerem que a impressora seja do tipo pneumática e com controle rígido de temperatura, de modo que a impressão tem um certo nível de complexidade maior que a impressão utilizando impressora por extrusão à temperatura ambiente, como ora proposto.

[0033] Portanto, é incontestável a necessidade do desenvolvimento de tecnologias capazes de promover a bioimpressão de modo mais simples, mas que resultem em materiais biocompatíveis customizáveis de acordo com a necessidade e aplicação vislumbrada.

BREVE DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO:

[0034] Inicialmente, cabe ressaltar que a descrição a seguir parte das concretizações preferenciais da invenção, sem com isso estar por elas limitada.

[0035] Assim, a presente invenção propõe um método de bioimpressão compreendendo a obtenção de uma composição de gelatina-alginato para manufatura aditiva de materiais biocompatíveis e descreve a referida composição biocompatível.

[0036] Assim, em uma modalidade da presente invenção é proposto um método de bioimpressão por manufatura aditiva compreendendo as etapas de (i) obtenção de uma composição base biocompatível; (ii) impressão de um material biocompatível; e, opcionalmente, (iii) funcionalização do material biocompatível,

em que a etapa (i) de obtenção de uma composição

biocompatível compreende:

- a) preparar uma solução base não funcionalizada de alginato e gelatina, em que o alginato está presente em concentrações de 60% a 90% (v/v) e a gelatina está presente em concentrações de 10% a 40% (v/v), com base no volume total da solução;
- b) curar a solução base não funcionalizada em um recipiente fechado;
- c) remover o gás solvatado na solução base utilizando banho ultrassônico;
- d) centrifugar a solução base livre de gases solvatados em temperatura ambiente de modo a obter uma composição base biocompatível;

em que a etapa (ii) de impressão de material biocompatível pela técnica de manufatura aditiva faz uso da composição base biocompatível obtida na etapa (i), compreende as seguintes etapas:

- A) Desenvolvimento do desenho estrutural requerido em um software de desenho mecânico;
- B) Geração do código passível de leitura no tipo de impressora 3D utilizada em questão;
- C) Inserção da formulação no tubo de armazenamento da impressora;
- D) iniciar a impressão da geometria requerida, em que a impressão ocorre em temperatura ambiente.

[0037] Assim, em uma modalidade da invenção, a impressão de um material biocompatível ocorre em temperatura ambiente.

[0038] Além disso, em uma modalidade adicional da invenção, a etapa opcional de (iii) funcionalização do material biocompatível compreende a funcionalização do material biocompatível pela imersão do material impresso em uma solução compreendendo 200-500mmol de cloreto de cálcio, seguida de lavagem em água corrente.

[0039] Em uma modalidade adicional da invenção, a etapa opcional de (iii) funcionalização do material biocompatível compreende a funcionalização do material biocompatível pela imersão do material impresso em uma solução de quitosana, em uma concentração de 2-3% (v/v), seguida de lavagem em água corrente.

[0040] Em uma modalidade adicional da invenção, a etapa opcional de (iii) funcionalização do material biocompatível compreende a funcionalização do material biocompatível pela imersão do material impresso em uma solução de nanopartícula de prata, em uma concentração de 2-5%, seguida de lavagem em água corrente.

[0041] Em uma modalidade adicional da invenção, a etapa opcional de (iii) funcionalização do material biocompatível compreende a funcionalização do material através da secagem do material biocompatível.

[0042] Ainda, em uma modalidade opcional da invenção, as etapas de funcionalização podem ocorrer de maneira sequencial. Em uma modalidade opcional da invenção, as etapas de funcionalização podem ocorrer de forma independente.

[0043] Assim, em uma modalidade da presente invenção é revelada a composição biocompatível compreendendo gelatina e alginato.

[0044] Em uma modalidade adicional da invenção, a composição biocompatível é livre de gases solvatados.

[0045] Ainda, em uma modalidade adicional da invenção, a composição biocompatível possui comportamento pseudoplástico.

[0046] Ainda, em uma modalidade adicional da invenção, a composição biocompatível é para utilização em manufatura aditiva.

[0047] Além disso, em uma modalidade da presente invenção é revelado um material biocompatível produzido por manufatura aditiva compreendendo gelatina e alginato.

[0048] Em uma modalidade da presente invenção, é revelado um material biocompatível produzido por manufatura aditiva compreendendo gelatina e alginato, em que o material foi funcionalizado com solução de cloreto de cálcio e/ou foi funcionalizado com solução de quitosana e/ou foi funcionalizado com solução de nanopartículas de prata e/ou foi funcionalizado através de secagem.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS:

[0049] Para um maior entendimento da natureza e objetivos da presente invenção, de modo a auxiliar na identificação das principais características da composição da presente invenção e seus resultados e efeitos técnicos,

são apresentadas as figuras às quais se faz referências, conforme se segue:

[0050] A Figura 1 representa esquematicamente o fluxograma com as etapas do método de bioimpressão, na qual as etapas obrigatórias são apresentadas em linhas contínuas e as etapas opcionais são apresentadas em linhas tracejadas.

[0051] A Figura 2 apresenta os resultados para os testes de cisalhamento em diferentes proporções de formulações de gelatina e alginato.

[0052] A Figura 3 apresenta os resultados do ensaio de remoção de gases solvatados, em que (A) apresenta a composição após centrifugação e (B) apresenta a composição após ultrassonificação e centrifugação.

[0053] A Figura 4 apresenta o comportamento da impressão em queda livre dos filamentos (A5,5G4) a uma velocidade de 20 cm/s.

[0054] A Figura 5 apresenta os corpos de prova, em triplicata, para a formulação de gelatina e alginato na proporção 4 p/v% gelatina (400 mg) + 5 p/v% alginato (500 mg) impressos na velocidade 5 mm/s.

[0055] A Figura 6 apresenta os corpos de prova, em triplicata, para a formulação de gelatina e alginato na proporção 4 p/v% gelatina + 5 p/v% alginato, impressos na velocidade de 20 mm/s.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[0056] A presente invenção se insere no campo de desenvolvimento de produtos biocompatíveis pela técnica de

manufatura aditiva. Assim, a presente invenção propõe um método de bioimpressão compreendendo a obtenção de uma composição de gelatina-alginato para manufatura aditiva de materiais biocompatíveis. Adicionalmente, a presente invenção propõe a composição biocompatível para uso em manufatura aditiva.

[0057]A presente invenção revela um método de bioimpressão que compreende etapas de obtenção de uma composição base biocompatível e impressão de um material biocompatível. A fim de aprimorar as características físico-químicas do material impresso, a presente invenção revela também etapas opcionais de funcionalização da composição base de gelatina e alginato.

[0058]Assim, a presente invenção propõe um método de bioimpressão por manufatura aditiva compreendendo as etapas de (i) obtenção de uma composição base biocompatível; (ii) impressão de um material biocompatível; e, opcionalmente, (iii) funcionalização do material biocompatível,

em que a etapa (i) de obtenção de uma composição biocompatível compreende:

- a) preparar uma solução base não funcionalizada de alginato e gelatina, em que o alginato está presente em concentrações de 60% a 90% (v/v) e a gelatina está presente em concentrações de 10% a 40% (v/v), com base no volume total da solução;
- b) curar a solução base não funcionalizada em um recipiente fechado;

c) remover o gás solvatado na solução base utilizando banho ultrassônico;

d) centrifugar a solução base livre de gases solvatados em temperatura ambiente de modo a obter uma composição base biocompatível;

em que a etapa (ii) de impressão de material biocompatível pela técnica de manufatura aditiva faz uso da composição base biocompatível obtida na etapa (i) compreende as seguintes etapas:

A) Desenvolvimento do desenho estrutural requerido em um software de desenho mecânico.

B) Geração do código passível de leitura no tipo de impressora 3D utilizada em questão.

C) Inserção da formulação no tubo de armazenamento da impressora;

D) iniciar a impressão da geometria requerida, em que a impressão ocorre em temperatura ambiente.

[0059] Desse modo, a presente invenção tem como objetivo o desenvolvimento de um método que descreve o processo de manufatura da biotinta de impressão e os parâmetros de bioimpressão que sejam mais simples que os processos de bioimpressão convencionais.

[0060] O fluxograma das etapas do método de obtenção da composição biocompatível e da bioimpressão se encontra esquematizado na Figura 1, em que as etapas com linhas contínuas correspondem às etapas obrigatórias, e as etapas com linhas tracejadas correspondem às etapas opcionais.

Assim, o método da presente invenção compreende as seguintes etapas obrigatórias:

- Diluição do alginato em água destilada;
- Diluição da gelatina na solução de alginato;
- Cura da solução de alginato-gelatina;
- Remoção dos gases solvatados;
- Centrifugação da solução desaerada;
- Bioimpressão.

[0061] Sendo assim, para a obtenção da composição biocompatível da etapa (i) da presente invenção é necessária a dissolução de alginato e gelatina em água, em que a solução base apresenta esses compostos nas seguintes proporções: alginato está presente entre 40 e 90% (v/v), preferencialmente 80% (v/v), com base no volume total da solução; e a gelatina está presente entre 10 e 60% (v/v), preferencialmente 20% (v/v), com base no volume total da solução. Como um exemplo explicativo não limitativo, para a produção de 100mL da solução para impressão, 80mL da solução corresponde ao alginato, logo 20mL da solução corresponde à gelatina, formando a formulação base.

[0062] Assim, para a preparação da solução base de alginato-gelatina (100g/L), tem-se que a massa de alginato a ser adicionada é cerca de 40 a 90 gramas para cada 1 L de solução a ser preparada. Considerando a proporção prevista, para cada 1 L de solução a ser preparada, é adicionado cerca de 10 a 60 gramas de gelatina. Salienta-se que a variação da quantidade dos componentes terá impacto na solução a ser

preparada, e para quaisquer formulações previstas no presente documento, são consideradas as regras de estequiometria base.

[0063]Assim, para a obtenção da solução base para bioimpressão é necessário primeiro realizar a diluição de cerca de 40 a 90 gramas alginato em 1 litro de água destilada, sob agitação constante e temperatura estável entre cerca de 35°C e cerca de 45°C, durante cerca de 20 minutos a cerca de 40 minutos. É observado que a coloração da solução se altera de uma solução totalmente translúcida para uma opacidade característica, além de uma leve mudança visual do seu comportamento reológico. Quando ocorre o incremento da viscosidade e se atinge a aparência opaca do fluido, ocorre a etapa de dissolução de gelatina.

[0064]A diluição de gelatina é realizada na mesma solução que já está diluído o alginato, em que se dilui a porção de gelatina que completará os 100% da solução. Sendo assim, são diluídos cerca de 10 a 60 g de gelatina em 1 L da solução já contendo alginato, de modo que para cada 1000 mL (1 litro) de solução, é adicionada uma massa total de 100 g de componentes. A diluição da gelatina ocorre de maneira contínua, sequencial e lenta, sob as mesmas condições de agitação e temperatura da dissolução do alginato, durante cerca de 20 a 40 min, preferencialmente, ocorrendo em 30 minutos.

[0065]Em seguida, ocorre a cura da solução, em que o recipiente contendo a solução é fechado, por exemplo, com um

plástico insulfilm, e a solução é mantida em repouso por um período de aproximadamente 24 horas. Essa etapa é importante para a solução base da presente invenção, para que se permita a cura da solução, isto é a formação de *crosslink* entre as moléculas presentes na solução. A cura da solução base é importante para que as reações químicas entre o alginato e a gelatina ocorram, e que sejam formadas as ligações entre esses componentes, de maneira que, após essa cura, se obtém uma solução coesa e com característica homogênea.

[0066]Em seguida, ocorre a etapa de remoção dos gases solvatados na solução. Durante a diluição e solubilização dos constituintes da solução base, o oxigênio contido na atmosfera se difunde na solução, fazendo com que a mesma fique aerada. Tal característica representa uma desvantagem, pois uma solução aerada acarretará a alteração no perfil de tensionamento da massa, quando este é submetido a pressão de impressão, de modo que as peças produzidas não sejam uniformes. Entretanto considerando que a adição de gelatina torna a solução de alginato mais rígida, a remoção dos gases presentes na solução é dificultada. Assim, é necessária uma etapa de remoção dos gases solvatados.

[0067]Nessa etapa, o recipiente contendo a solução curada é inserido em um banho ultrassônico em pressão ambiente, em temperatura controlada em torno de 35°C e durante cerca de 1 a cerca de 2 horas.

[0068]Após a etapa de remoção dos gases solvatados, ocorre a centrifugação da solução desaerada a cerca de 3500

rpm durante de 5 a 15 minutos, preferencialmente cerca de 5 minutos. Após a etapa de centrifugação, a solução centrifugada pode ser utilizada na confecção de peças biocompatíveis a partir da bioimpressão 3D.

[0069] Assim, é dado início à bioimpressão do material biocompatível. A bioimpressão é realizada através de uma impressora 3D, sem que seja necessária a utilização de impressoras pneumáticas. Por exemplo, a composição biocompatível da presente invenção possui aplicação em impressão utilizando impressoras 3D que imprimem por extrusão. Desse modo, a composição biocompatível da presente invenção representa uma simplificação dos métodos convencionais.

[0070] A etapa (ii) de impressão de material biocompatível pela técnica de manufatura aditiva compreende as seguintes etapas:

- A) Desenvolvimento do desenho estrutural requerido em um software de desenho mecânico;
- B) Geração do código passível de leitura no tipo de impressora 3D utilizada em questão;
- C) Inserção da formulação no tubo de armazenamento da impressora;
- D) iniciar a impressão da geometria requerida.

[0071] Assim, em uma modalidade da presente invenção, a impressora é configurada para imprimir as peças a uma velocidade de cerca de 5 a 25 mm/s; diâmetro médio da

abertura de cerca de 0,5 a 0,6 mm e a normalização (ponteira 0,24 mm) é ajustada para 2, 2,1 ou 2,2.

[0072]O material biocompatível produzido através do método de bioimpressão proposto é impresso em temperatura ambiente (cerca de 25 °C) e é resfriado em câmara fria, a uma temperatura de cerca de 0 a 5 °C.

[0073]Assim, em uma modalidade da presente invenção, a composição para bioimpressão é para impressão em impressoras por extrusão. Ainda, a composição da presente invenção também é adaptável para impressão em impressoras pneumáticas.

[0074]O material impresso pelo método de bioimpressão da presente invenção possui compatibilidade para aplicação no tratamento de peles lesionadas.

[0075]Adicionalmente, uma vez que o método de bioimpressão da presente invenção possui a vantagem de permitir a customização do material impresso, a presente invenção também revela etapas opcionais de funcionalização, de modo a conferir características adicionais ao material base bioimpresso.

[0076]Desse modo, o fluxograma da Figura 1 também prevê as etapas opcionais abaixo:

- Funcionalização através da imersão em uma solução de cloreto de cálcio;
- Funcionalização através da imersão em uma solução de quitosana;
- Funcionalização através da imersão em uma solução de nanopartículas de prata;

- Secagem do material em ambiente estéril.

[0077]Desse modo, em modalidades adicionais da presente invenção, o material impresso é funcionalizado através de etapas de crosslink, ou seja, um link cruzado entre as cadeias bases estruturais presentes na formulação com alginato e gelatina, que permitem a modificação de características físico-químicas básicas.

[0078]Assim, as etapas de funcionalização são etapas opcionais, que podem ocorrer de modo sequencial ou não, e também podem ocorrer de forma independente. A ocorrência das etapas irá depender da aplicação desejada para o material bio-impressão. Por exemplo, caso a aplicação de interesse tenha como objetivo a descontaminação microbiológica em um determinado local, a funcionalização de interesse será a imersão do material de bio-impressão em solução com íons de prata.

[0079]Desse modo, em uma modalidade adicional da presente invenção, o material biocompatível é funcionalizado através da imersão do material impresso em uma solução de cloreto de cálcio, presente em uma concentração de 200-500 mmol em água destilada. O material permanece imerso por um período entre 10 e 30 minutos. Em seguida, o material é lavado em água corrente, durante cerca de 1 minuto, em que a lavagem é repetida 3 vezes.

[0080]Ainda, em uma modalidade adicional da presente invenção, o material biocompatível é funcionalizado através da imersão do material impresso em uma solução de quitosana,

presente em uma concentração de 2 a 3% (v/v) em água destilada, durante um período de cerca de 5 a cerca de 15 minutos. Em seguida, o material é lavado em água corrente, durante cerca de 1 minuto, em que a lavagem é repetida 3 vezes.

[0081] Ainda, em uma modalidade adicional da presente invenção, o material biocompatível é funcionalizado através da imersão do material impresso em uma solução de nanopartículas de prata, presente em uma concentração de 2% a 5%, durante cerca de 5 a cerca 15 minutos. Em seguida, o material é lavado em água corrente, durante cerca de 1 minuto, em que a lavagem é repetida 3 vezes.

[0082] Em uma modalidade adicional da invenção, é realizada a secagem do material impresso em um ambiente estéril, opcionalmente, em que o ambiente estéril é uma estufa. A secagem do material possui como objetivo a diminuição da atividade de água do material impresso. Em outras palavras, a etapa opcional de secagem visa a eliminação da água livre, através da sua evaporação pela aplicação de calor, de modo a obter um efeito de cura do gel, de modo a tornar do material impresso pronto para a aplicação.

EXEMPLOS DE CONCRETIZAÇÃO

[0083] De modo a concretizar a presente invenção, foram preparadas composições variando as concentrações de alginato e gelatina. Assim, considerando 10 mL de água destilada,

foram adicionados de 500-700 mg de alginato, e de 0-400 mg de gelatina, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Composição das biotintas

Código associado	Composição	Massa (mg) de alginato	Massa (mg) de gelatina
A5,5	5,5 p/v% alginato	550	-
A7	7 p/v% alginato	700	-
A5G3	3 p/v% gelatina + 5 p/v% alginato	500	300
A5G4	4 p/v% gelatina + 5 p/v% alginato	500	400
AG5,5G4	4 p/v% gelatina + 5,5 p/v% alginato	550	400
A6G3	3 p/v% gelatina + 6 p/v% alginato	600	300
A7G3	3 p/v% gelatina + 7 p/v% alginato	700	300
A6G3	4 p/v% gelatina + 7 p/v% alginato	600	400

[0084] As composições foram preparadas de acordo com o método da presente invenção a título de exemplos, entretanto, sem limitar seu escopo.

Ensaio de caracterização

[0085] De modo a avaliar o comportamento reológico da composição para bioimpressão, foram realizados os seguintes ensaios:

[0086] **Ensaaios de reologia:** Análises feitas com um reômetro tipo placa-placa com lacuna de 5 mm em temperatura ambiente, de forma a explicitar e fundamentar a presente invenção.

[0087] As análises foram feitas utilizando um reômetro de modelo AR1500 EX (marca TA instruments), tipo placa-placa (diâmetro = 40 mm) com uma lacuna de 5,5 mm, em temperatura ambiente (cerca de 25 °C). As medições requeridas foram divididas em 5 passos.

[0088] Inicialmente foi realizado um teste de varredura de amplitude para determinar o intervalo da região de viscoelasticidade linear (LVE) com $\gamma = 0,25\%$ (parâmetro do equipamento). Em seguida, a frequência para os hidrogéis foi varrida, e posteriormente foi feita uma simulação do processo de impressão, e após, a classificação pseudoplástica do material e varreduras na faixa 0,628 rad/s, medindo assim os parâmetros.

[0089] Finalmente, foram extraídos os valores dos módulos elástico (G') e viscoso (G''), sendo correlacionados com a frequência de 1 Hz para associação dos valores (Figura 2).

[0090] Assim, o gráfico da Figura 2 descreve características dos materiais viscoelásticos, pois, existe uma complexa relação com o módulo de cisalhamento (Figura 2). O módulo G' é conhecido como módulo de armazenamento, que é uma propriedade mecânica que descreve a rigidez de um material quando o mesmo está sendo submetido a uma carga de cisalhamento.

[0091]Por sua vez, o módulo de energia G'' relaciona-se com a propriedade mecânica que descreve a capacidade de um material em armazenar energia, quando o mesmo está sob uma carga de cisalhamento. Assim, é possível construir uma curva de tensão *versus* deformação.

[0092]Estes módulos expressam o comportamento reológico do material sob as cargas em questão.

[0093]Esta é uma medida da rigidez do material, isto é, a capacidade deste em suportar a tensão. O módulo medido é expresso em unidades de forças (para o módulo de armazenamento). Já o módulo de energia é expresso em unidade de energia por unidade de volume. Diante disso, algumas formas de interpretação dos resultados são possíveis.

[0094]Dentre elas, uma forma de interpretação é comparar os módulos de armazenamento *versus* o módulo de energia para os diferentes tipos de materiais. Ou seja, comparar as diferentes formulações e/ou a viscosidade da matéria frente à taxa de cisalhamento, que é o método aplicado na presente invenção.

[0095]Com isso, os materiais que tendem a se comportar com o coeficiente angular tendendo a zero representam uma maior capacidade em suportar as cargas cisalhantes.

[0096]Assim, baseado nos experimentos realizados, a formulação A5.5G4 foi utilizada como base de análise, uma vez que foi a formulação que obteve bons resultados de printabilidade.

[0097]É visto na Figura 2 que há um comportamento inicial de resistência, pois há uma alteração inicial com um aumento da viscosidade até o ponto 0.1 (eixo X), e tem-se uma variação linear de decréscimo na alteração da viscosidade até o ponto 1000 (característica do perfil de escoamento do material).

[0098]Este comportamento descreve um perfil reológico de grande interesse, em que, quando a carga não está sendo aplicada à formulação, não há uma variação de viscosidade (princípio de escoamento).

[0099]Ou seja, a formulação é um sólido, e para se perfazer a impressão em 3D, se faz necessário o escoamento em conjunto com os movimentos XYZ, em que o carrinho base de uma impressora funciona.

[00100] Com isso, quando se tem a aplicação da força, a formulação passa do seu estado de sólido para se comportar como um líquido, em que o seu perfil é não linear, isso é não-newtoniano.

[00101] **Remoção dos gases solvatados:** considerando que a presença de gases solvatados na composição de biotinta interfere nos resultados de impressão, foram realizados testes para verificar a etapa de remoção dos gases solvatados. Assim, foi inserida uma solução base compreendendo alginato e gelatina em tubo Falcon e realizada a etapa de ultrassonificação utilizando o equipamento de modelo Soni Tech durante uma hora. Em seguida, o tubo foi centrifugado no equipamento 5702-Eppendorf a uma rotação de

3500 rpm por um tempo de 15 min. A avaliação da remoção das bolhas foi feita de forma qualitativa. Um outro tubo contendo a solução base de alginato e gelatina também foi preparado, mas apenas a etapa de centrifugação foi realizada, também a uma rotação de 3500 rpm por um tempo de 15 min.

[00102] Os resultados dos ensaios de remoção dos gases solvatados se encontram apresentados na Figura 3, em que (A) apresenta a composição após centrifugação e (B) apresenta a composição após ultrassonificação e centrifugação. Como pode ser visto, quando se utiliza somente centrifugação para a remoção das bolhas, a impressão resultante apresenta irregularidades (Figura 3 (A)). Por outro lado, quando é realizado ultrassonificação seguido de centrifugação, a impressão apresenta resultado mais uniforme (Figura 3 (B)). Ainda, como pode ser visto comparando os tubos (A) e (B), a composição que passa pelo processo de ultrassonificação seguido de centrifugação é mais homogênea que a composição que passa pelo processo de centrifugação somente. Portanto, de acordo com os ensaios de remoção dos gases solvatados, é visto que o processo envolvendo ultrassom seguido de centrifugação promove resultado da impressão mais uniforme.

[00103] **Simulação da impressão:** A presente tecnologia foi desenvolvida considerando impressão 3D baseada em extrusão movida por pistão, com impressão em baixas temperaturas. Assim, testes para a simulação da impressão foram realizados para verificar o comportamento da impressão

em 3D, considerando o modelo de impressora BioEnder-BioEdTech, adicionada a um sistema de controle de temperatura (Peltier) na cama base de impressão, considerando temperatura entre 8 e 11 °C.

[00104] A simulação de pistão foi realizada utilizando uma seringa fixada no eixo z do braço robótico do sistema de plotagem tridimensional e uma agulha simulando a espessura de impressão, elevada a 4 mm da cama base.

[00105] O desenvolvimento dos corpos de prova, foi realizado através de software de desenhos mecânicos e o fatiamento para impressão foi utilizado o software de código aberto Cura (para impressoras 3D do tipo FDM, modelagem por fusão e deposição de material, empresa Ultimaker), que tem como objetivo transformar o desenho mecânico direções nos eixos x, y e z da impressora.

[00106] **Ensaio de extrusão:** Foram realizados testes de extrusão do filamento em queda livre, através de orifícios contidos no bico injetor, para avaliar qualitativamente a capacidade de formação de filamento, e se os filamentos produzidos são contínuos e uniformes.

[00107] O bico injetor foi distanciado 10 cm da cama base e a espessura do bico foi variada considerando uma faixa de 0,225 mm e 0,600 mm, e, em seguida, deu prosseguimento a extrusão considerando impressão em velocidade linear de 20 cm/s. A Figura 4 apresenta o comportamento da impressão dos filamentos.

[00108] Depois de alguns testes envolvendo inicialmente somente a aplicação da centrifugação em diferentes valores de rpm (2000 - 4000) e em variados tempos de exposição (1 - 10 min), não foi possível alcançar as combinações do binômio *rotação x tempo* que fosse necessário para a separação de bolhas menores.

[00109] Como pode ser visto, nas figuras em que as composições que contêm o bico laranja tem-se um exemplo de impressão das fórmulas e um tamanho de diâmetro de aproximadamente 0,225 mm. Com base na física mecânica, um escoamento em tubos de menores diâmetros aumenta a velocidade de escoamento, assim aumentando a pressão de escoamento. Entretanto, mesmo o diâmetro menor (bico laranja), não afetou em nada a capacidade de retirada de bolhas do sistema durante os testes de extrusão do bico.

[00110] Logo, de maneira inversa ao aumento da pressão durante o processo de escoamento, foram utilizados os bicos azulados nos quais se têm a espessura 0,600 mm, ou seja, um aumento do diâmetro do bico em aproximadamente 3 vezes em relação aos primeiros testes, e foi visualizada a formação de bolhas no filamento de impressão. Estas bolhas são filamentos que interferem veemente na capacidade de estruturação e estabilização das estruturas impressas em 3D. Baseando-se nos princípios de interação da onda com a matéria, se conjecturou que as bolhas estavam solvatadas e não ligadas à constituição da fórmula em questão.

[00111] Devido a presença de bolhas que interferem nas composições, foram realizados testes com ultrassonificação, como explicado acima, que mostraram resultados satisfatórios. Foi encontrado que as composições que passaram pela etapa de ultrassonificação geraram uma mistura muito mais homogênea em relação ao padrão inicial (sem ultrassom).

[00112] **Análise dos materiais impressos:** A análise dos materiais impressos representou uma abordagem semi-quantitativa, na qual foi determinado o índice de printabilidade (Pr), que indica a performance do material em imprimir com fidelidade à geometria após otimização e as condições de impressões (Equação 1) Na Equação 1, Pr = índice de printabilidade, L = Largura e A = área;

$$Pr = \frac{L^2}{16 A}$$

Equação 1: Equação para a determinação da printabilidade.

[00113] A fórmula é independente do valor da largura e da área, em que a printabilidade é um fator entre a razão da largura ao quadrado com a área, e o valor inverso de 16 é um fator para construção da igualdade entre os dois lados. Assim, para a melhor compreensão, quando se tem o $Pr < 1$, significa pouco gelificada, $Pr = 1$ ponto ideal de geleificação, e $Pr > 1$ apresenta excesso de gel.

[00114] Assim, a printabilidade das formulações com diferentes composições foi avaliada e os resultados estão representados na Tabela 2.

[00115] Para concretização das impressões seguintes, foram variados os parâmetros velocidade de movimentação da impressora e fluxo no injetor durante a extrusão, a fim de avaliar o resultado final e a variação do fluxo da formulação na seringa, baseado em uma análise qualitativa do aferimento e entendimento do comportamento das fórmulas.

Tabela 2: Resultados em triplicata do processamento de dados para as peças A5G4, A6G3, A6G4 e A7G3 com fluxo e velocidades angulares variáveis.

Velocidade impressora linear (mm/s)	A6G3	A6G4	A5G4	A7G3
05-20	1,03 ± 0,03	1,2 ± 0,3	0,86 ± 0,06	1,19 ± 0,04
10-20	1,11 ± 0,08	1,19 ± 0,04	0,89 ± 0,01	1,17 ± 0,09
20	1,13 ± 0,04	1,3 ± 0,2	1,0 ± 0,1	Inviável de coleta
05-30	1,07 ± 0,06	1,17 ± 0,03	1,00 ± 0,05	1,03 ± 0,02
10-30	1,2 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,3 ± 0,2	1,44 ± 0,1
20-30	1,3 ± 0,1	1,15 ± 0,06	1,6±0,3	1,27 ±0,03

[00116] A partir dos resultados acima, tem-se que as composições A5G4 e A5.5G4, em que se apresentou na velocidade se iniciando em 5 mm/s (velocidade linear de extrusão) sinais do excesso de deposição de material, o que tornou os poros demasiadamente arredondados e filamento não retilíneo.

[00117] Isso acontece devido a ocorrência de um descompasso entre o deslocamento do pistão que gera a taxa de cisalhamento na formulação, em outras palavras, a taxa de alimentação é maior que a capacidade do material em se deformar, com o aumento da velocidade inicial de impressão

foi visualizado uma melhora na deposição de material de impressão.

[00118] Os dados apresentados e organizados têm a capacidade de fornecer informações acerca do desempenho das formulações durante a impressão e com os parâmetros de escoamento e velocidade de impressão envolvidos.

[00119] A mistura A5G4 (aproximadamente 44% de gelatina), se mostrou muito adequada a impressão, mesmo em condições que apontaram um excesso de material nos diversos testes qualitativos realizados.

Testes de cisalhamento

[00120] Assim, de modo a investigar a resistência, rigidez e capacidade de deformação das composições formuladas na presente invenção, foram realizados testes de cisalhamento.

[00121] As composições apresentadas na Tabela 1 foram analisadas, e os resultados dos ensaios de cisalhamento se encontram na Figura 2.

[00122] Assim, como pode ser visto na Figura 2, as análises demonstram a relação do módulo de cisalhamento e o comportamento dos materiais viscoelásticos, em que são conhecidos como módulo de armazenamento (G') e o módulo de perda (G''). Isto é relacionado ao comportamento elástico do material e a sua capacidade de armazenamento de energia, enquanto o módulo de perda está relacionado ao comportamento viscoso, isto é, a capacidade de dissipar energia. Além disso, a tixotropia, ou seja, a propriedade de um fluido

não-newtoniano ou pseudoplástico que apresenta uma alteração dependente do tempo em sua viscosidade, é crucial para a determinação de uma característica de impressão, pois descreve a capacidade de recuperação da viscosidade, ou seja, espalhamento das fibras do material após a disposição.

[00123] Uma composição com comportamento pseudoplástico possui comportamento não linear quando aplicada a tensão de extrusão, o que facilita a deposição e formação e/ou construção de estruturas tridimensionais.

[00124] Assim, o fluido com comportamento não-newtoniano (não linear) apresenta uma relação de viscosidade dependente do tempo, e essa alteração consiste em uma diminuição da viscosidade quando o fluido é tensionado, aplicado a força linear de impressão, seguido do aumento da viscosidade quando este permanece em estado de repouso.

[00125] As variações das formulações utilizadas e testadas durante estes desenvolvimentos, isto é, a variação da composição de alginato e gelatina, são descritas na Tabela 3, em que todas as impressoras foram aplicadas velocidade linear de 5 mm/s de impressão.

Tabela 3: Resultados em triplicata do processamento de dados para as biomalhas A5G4 (que mostra o melhor resultado obtido)

A5G4
0,86 ± 0,06
0,89 ± 0,01
1,0 ± 0,1
1,00 ± 0,05
1,3 ± 0,2
1,6 ± 0,3

[00126] Os resultados A5.5G4 e da maioria de A6G4 e A6G4 mostraram valores de printabilidade (Pr), insatisfatórios, criando assim a impossibilidade de impressão em diversas situações e condições, durante a realização experimental.

[00127] Já para a composição A5G4 foram obtidos bons resultados, inicialmente em velocidade de 5 mm/s. No entanto, estes apresentaram sinais de excesso de deposição de materiais. Porém, um aumento para 10 mm/s contribuiu significativamente na melhora da impressão.

Variação dos parâmetros da impressora

[00128] Em um exemplo de concretização adicional da presente invenção, foram avaliados os parâmetros de velocidade da impressão (mm/s), diâmetro médio do filamento (mm) e normalização (ponteira 0,24mm) do setup da impressora. Para isso, a composição A5,5G4 foi impressa por manufatura aditiva conforme os dados apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Teste de deposição de filamento formulação A5,5G4.

Velocidade de impressão (mm/s)	Diâmetro médio (mm)	Normalização (ponteira 0,24 mm)
5	0,5	2,1
10	0,54	2
20	0,53	2,2
25	0,5	2,1
30	0,46	1,9

[00129] A partir desse teste, conclui-se que a composição da presente invenção pode ser impressa variando a velocidade de 5 a 30 mm/s.

[00130] A capacidade de extrusão de filamentos se torna o fator crucial para o desenvolvimento da técnica e uma efetiva capacidade de impressão acurada.

[00131] As propriedades reológicas não podem interferir no movimento contínuo e uniforme de geração do filamento, tais como efeitos curvilíneos ou gotas, pois seria um indicativo de que a formulação está passando por um processo de reticulação (processo de geração de interligações entre as redes moleculares presentes na formulação) excessivo e uma natureza muito líquida excessiva.

[00132] Como é visto na tabela acima, os diâmetros retratados não apresentaram uma forte contribuição para a geração de tal efeito, isto em função de velocidade que foi analisada durante todo o desenvolvimento da presente invenção.

[00133] Diante disso, e de todos os resultados apresentados, foi visto que A5.5G4, e a maioria das formulações tais como A4G6 e A6G4 diferem e mostraram valores insatisfatórios mostrando uma impossibilidade insatisfatória de impressão.

[00134] Ao se testar se percebeu que o comportamento reológico coletado não está adequado para a aplicação, no entanto, a formulação A6G4 se torna muito restrita para uso.

[00135] No entanto a formulação A5G4 com diâmetro de 0,600 mm e velocidade de 5 mm/s, está mais apropriada para a impressão do presente objeto.

[00136] Os versados na arte valorizarão os conhecimentos aqui apresentados e poderão reproduzir a invenção nas modalidades apresentadas e em outras variantes, abrangidas no escopo das reivindicações anexas.

REIVINDICAÇÕES

1. Método de bioimpressão por manufatura aditiva **caracterizado** por compreender as etapas de (i) obtenção de uma composição base biocompatível; (ii) impressão de um material biocompatível; e, opcionalmente, (iii) funcionalização do material biocompatível,

em que a etapa (i) de obtenção de uma composição biocompatível compreende:

- a) preparar uma solução base não funcionalizada de alginato e gelatina, em que o alginato está presente em concentrações de 60% a 90% (v/v) e a gelatina está presente em concentrações de 10% a 40% (v/v), com base no volume total da solução;
- b) curar a solução base não funcionalizada um recipiente fechado;
- c) remover o gás solvatado na solução base utilizando banho ultrassônico, de modo a obter uma solução base livre de gases solvatados;
- d) centrifugar a solução base livre de gases solvatados em temperatura ambiente de modo a obter uma composição base biocompatível;

em que a composição base biocompatível obtida da etapa (i) é utilizada na etapa (ii) de impressão de materiais biocompatíveis pela técnica de manufatura aditiva através do (A) desenvolvimento do desenho estrutural requerido em um software de desenho mecânico; B) geração do código passível de leitura no tipo de impressora 3D utilizada; C) inserção da formulação no tubo de armazenamento da impressora; e D) início da impressão da geometria requerida.

2. Método de bioimpressão, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o alginato está presente, preferencialmente, a uma concentração de 80% (v/v); e a gelatina está presente, preferencialmente, a uma concentração de 20% (v/v), com base no volume total da solução.

3. Método de bioimpressão, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o banho ocorre a uma temperatura de 35 °C, durante de 1 a 2 horas.

4. Método de bioimpressão, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a centrifugação ocorre durante de 5 a 15 min, preferencialmente 5 minutos; a uma rotação de 3500 rpm.

5. Método de bioimpressão, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a etapa (ii) impressão de um material biocompatível ocorre em temperatura ambiente e as peças bioimpressas são resfriadas em câmara fria.

6. Método de bioimpressão, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a etapa opcional de (iii) funcionalização do material biocompatível compreende:

- a) funcionalização do material biocompatível pela imersão do material impresso em uma solução compreendendo 200-500 mmol de cloreto de cálcio; em que após a imersão, o material é lavado em água corrente e/ou
- b) funcionalização do material biocompatível pela imersão do material impresso em uma solução de quitosana, em uma concentração de 2-3% (v/v); em que após a imersão, o material é lavado em água corrente e/ou

c) funcionalização do material biocompatível pela imersão do material impresso em uma solução nanopartículas de prata, em uma concentração de 2-5%; em que após a imersão, o material é lavado em água corrente; ou combinações das mesmas.

7. Método de bioimpressão, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que as etapas de funcionalização podem ocorrer de maneira sequencial ou não, ou de maneira independente.

8. Composição biocompatível **caracterizada** por compreender gelatina e alginato, em que o alginato está presente em concentrações de 60% a 90% (v/v) e a gelatina está presente em concentrações de 10% a 40% (v/v), com base no volume total da composição.

9. Composição biocompatível, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizada** pelo fato de que a composição é livre de gases solvatados.

10. Composição biocompatível, de acordo com a reivindicação 8 ou 9, **caracterizada** pelo fato de possuir comportamento pseudoplástico.

11. Composição biocompatível, de acordo com qualquer uma das reivindicações 8 a 10, **caracterizada** pelo fato de que a composição é para utilização em manufatura aditiva.

12. Material biocompatível produzido por manufatura aditiva **caracterizado** pelo fato de compreender gelatina e alginato.

13. Material biocompatível produzido por manufatura aditiva, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizado** pelo fato de que o material biocompatível é opcionalmente funcionalizado com solução de cloreto de cálcio e/ou é

funcionalizado com solução de quitosana e/ou é
funcionalizado com solução de nanopartículas de prata e/ou
é funcionalizado através de secagem.

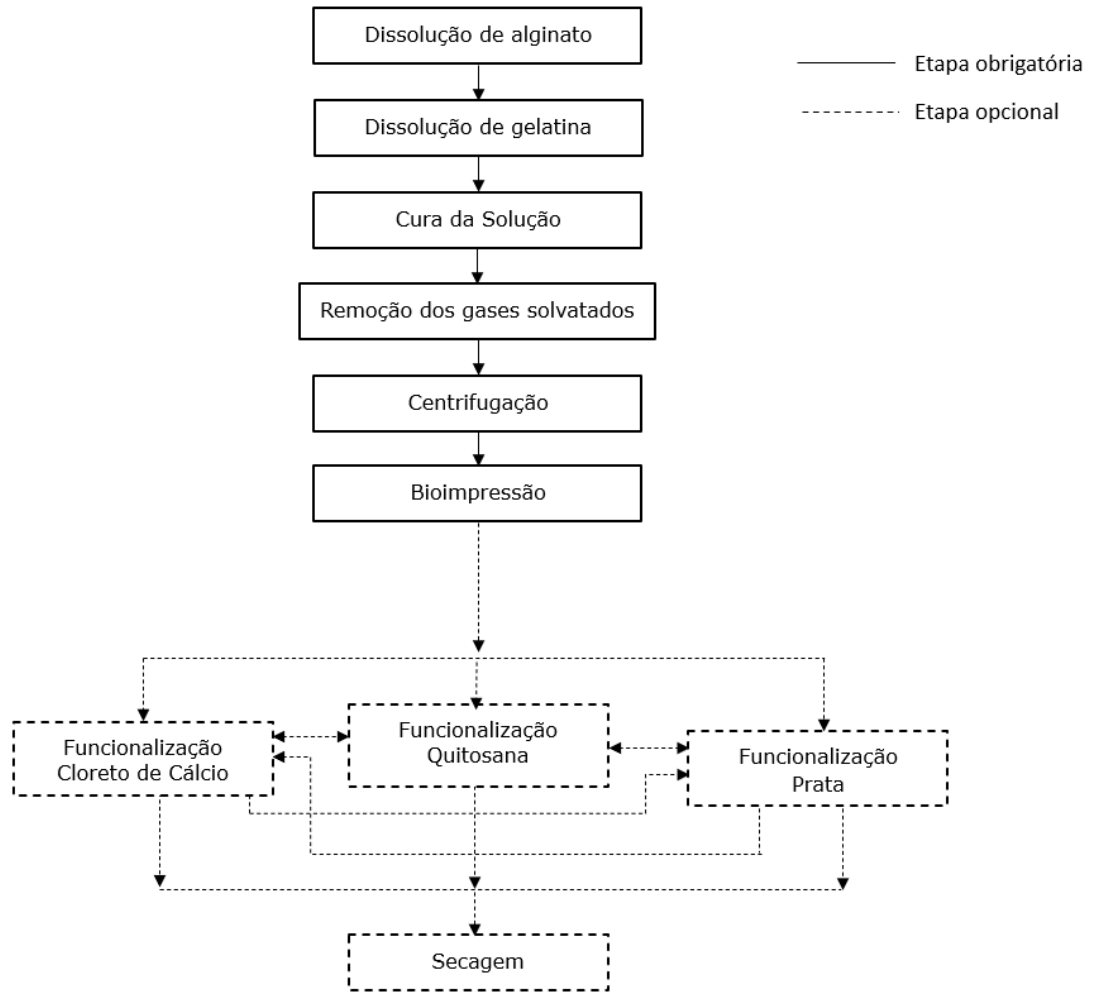


Figura 1

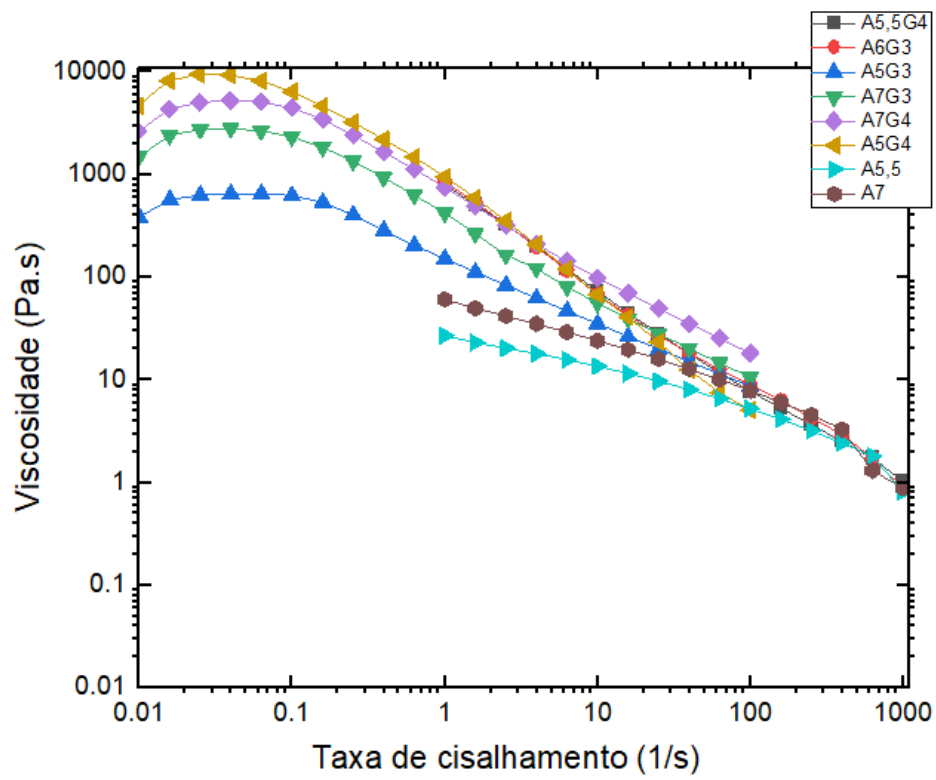


Figura 2

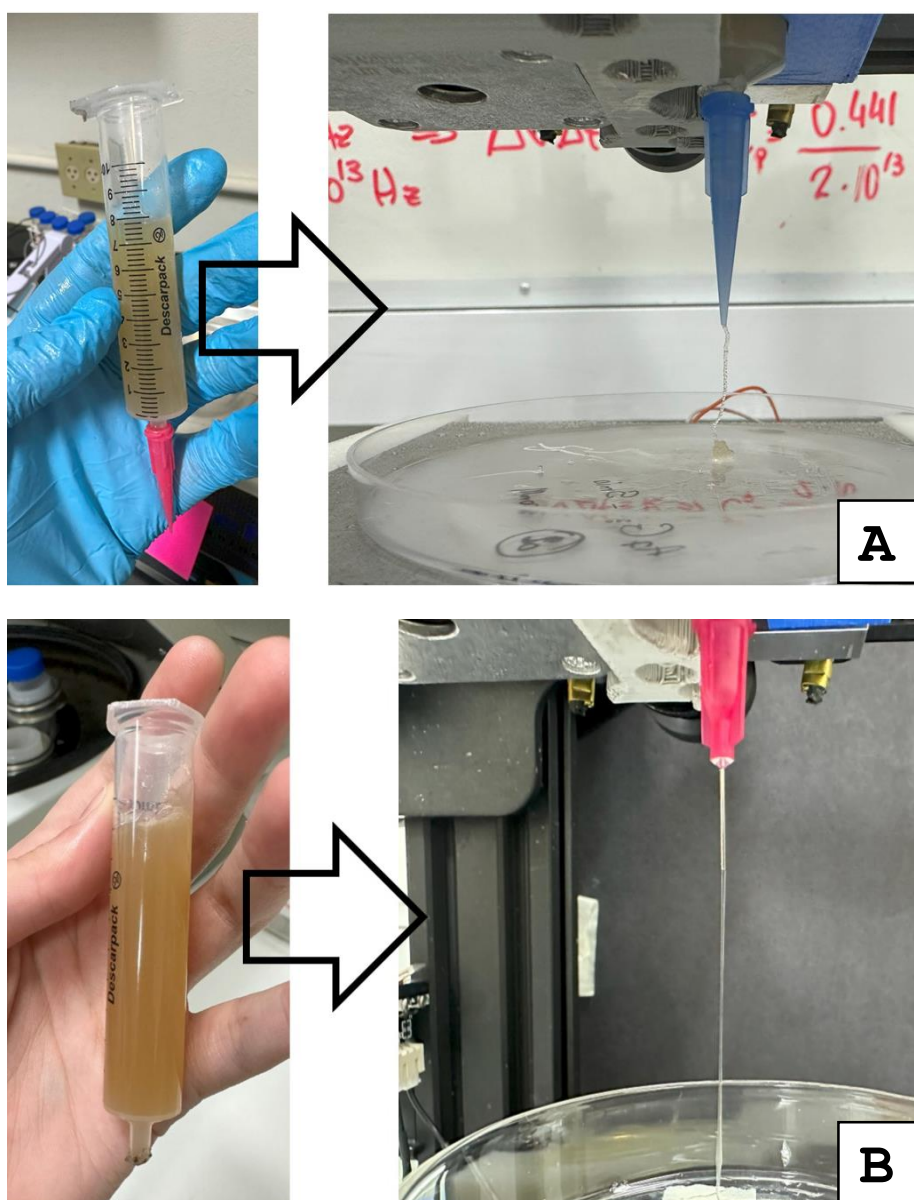


Figura 3

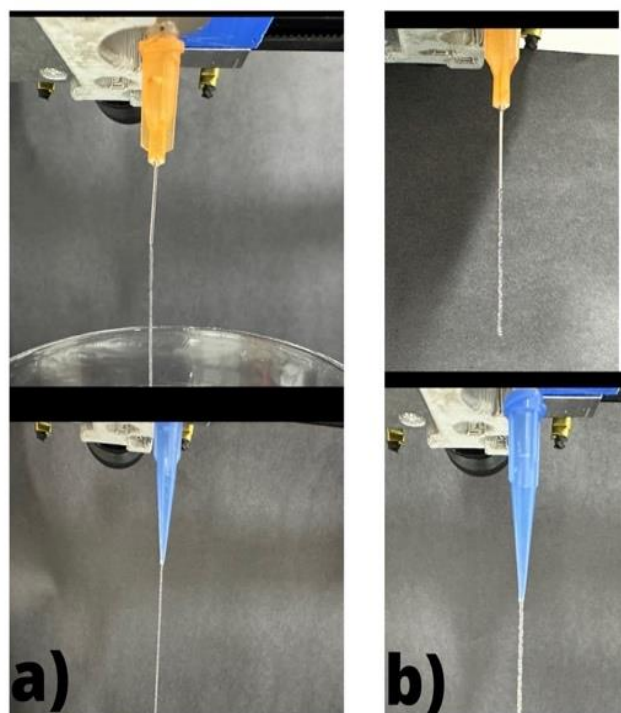


Figura 4

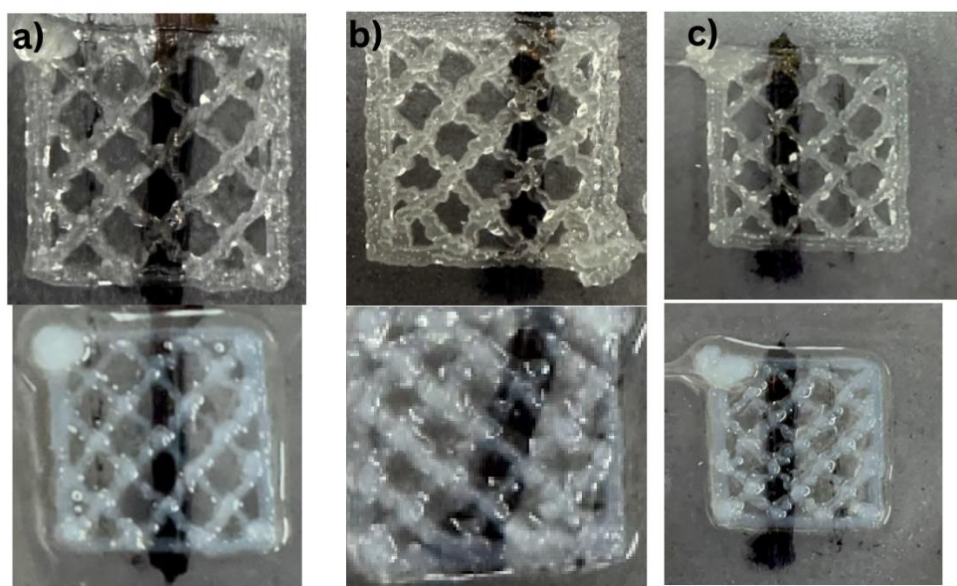


Figura 5

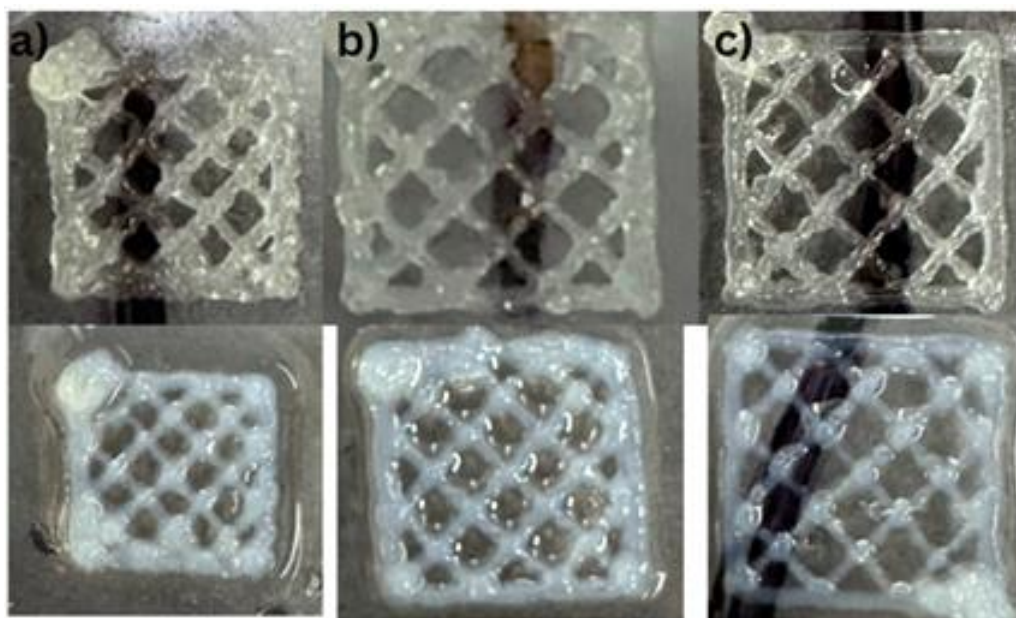


Figura 6

RESUMO

**"MÉTODO DE BIOIMPRESSÃO POR MANUFATURA ADITIVA,
COMPOSIÇÃO E MATERIAL BIOCOMPATÍVEL PARA USO EM MANUFATURA
ADITIVA"**

A presente invenção se insere na área química e no campo de engenharia de tecidos, mais especificamente no que se refere aos métodos de impressão de materiais biocompatíveis pela técnica de manufatura aditiva. Ainda, propõe um método de bioimpressão, em que o referido método envolve a obtenção de uma composição biocompatível para manufatura aditiva; a impressão de um material biocompatível; e, opcionalmente, a funcionalização desse material, de modo a customizar suas características físico-químicas. A composição biocompatível da presente invenção compreende gelatina e alginato e as etapas opcionais de funcionalização do material biocompatível compreendem a utilização de soluções de quitosana, cloreto de cálcio, e nanopartículas de prata, ou qualquer combinação dos mesmos. A composição é utilizada em processos de manufatura aditiva (impressão 3D), de modo que o método de bioimpressão da presente invenção representa uma alternativa mais simples para os processos comumente utilizados na técnica de manufatura aditiva.