**LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO SOBRE PRODUÇÃO DE *SCAFFOLDS* POR BIOIMPRESSÃO 3D PARA PRODUÇÃO DE CARNE CULTIVADA.**

**Victor Moura Santos Pondé1**; Jaqueline Leite Vieira2,3; Ana Paula Bispo Gonçalves2,3; Willams Teles Barbosa2, Josiane Dantas Viana Barbosa2; Milena Botelho Pereira Soares2,3

1 Graduando em Engenharia Química; Iniciação Tecnológica – CNPq; vmourasantosponde@gmail.com

2 Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; milena.soares@fieb.org.br

3 Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Salvador-BA

**RESUMO**

Atualmente, a população mundial vem aumentando e isso reflete no consumo de carne bovina. Devido ao aumento no consumo, o mercado tecnológico vem buscando novos métodos de substituir a carne de origem animal por carne produzida em laboratório, a chamada “carne cultivada”. Dessa forma, investimentos destinados as pesquisas voltadas para o cultivo de células em laboratório e produções de alguns *scaffolds*, por meio das bioimpressoras 3D vem crescendo exponencialmente. Sendo assim, o processo de produção de carne cultivada e a busca por proteínas de origem não-animal que sirvam para produção de alguns hidrogéis são de suma importância, como por exemplo o alginato e a proteína de soja. Diante disso, este estudo tem como objetivo realizar um levantamento bibliográfico, e assim definir os melhores biomateriais e parâmetros de bioimpressão para a produção de *scaffolds* aplicados em carne cultivada.

**PALAVRAS-CHAVE:** Proteínas alternativas; *scaffolds*; hidrogel; bioimpressão 3D.

**1. INTRODUÇÃO**

 S*caffolds* são estruturas porosas tridimensionais que servem de suporte para o crescimento celular, ou seja, para a formação de um novo tecido semelhante a um tecido vivo. Dessa maneira, a fim de que eles possam fornecer um suporte, os mesmos devem possuir um arranjo que mimetize os meios físicos e químicos de um tecido saudável, para guiar a migração, diferenciação e proliferação tecidual. 1 Essas características só se fazem presente pois os *scaffolds* são produzidos por biomateriais, esses dispõem de propriedades mecânicas e químicas propícias, a exemplo da biocompatibilidade e biodegradabilidade, a uma taxa compatível com a de um tecido vivo. 1 Sendo assim tendem a fornecer sustentação e auxiliar no transporte de nutrientes e no metabolismo da reprodução das células cultivadas. 2 Os *scaffolds* podem ser produzidos a partir de hidrogéis baseados em biopolímeros. Hidrogeis são polímeros hidrofílicos reticulados tridimensionalmente, que absorvem elevada quantidade de água em sua estrutura sem se dissolver. 2 Diante desses fatos, é notório que esses hidrogéis vem recebendo cada vez mais atenção no meio acadêmico e científico, devido a suas grandes vantagens, como a biocompatibilidade, hidrofilicidade e capacidade de promover funções que se assemelham a de um tecido vivo, como o a suplementação de sais minerais e o fornecimento de alguns aminoácidos. 2 Nesse contexto, os hidrogéis de alginato, que é obtido de fonte natural a partir de algas marinhas tem se destacado. 3 O alginato pode ser associado com a proteína isolada de soja. 4 Estes dois compostos estão ganhando cada vez mais visibilidade, principalmente na produção de *scaffolds* para carne cultivada, visto que apresentam baixo custo, fonte abrangente, biocompatibilidade e baixa citotoxicidade, além de potencializar a adesão celular.5 O processo de obtenção da carne cultivada, inicia-se através do cultivo das células troncos *“in vitro*” que são coletadas através de uma biópsia e cultivada dentro de um biorreator, que posteriormente são sobrepostas em *scaffolds*, podendo ser por meio da bioimpressão 3D para a produção de proteínas alternativas. 5 Portanto, esse estudo tem como objetivo realizar um levantamento bibliográfico, e assim definir os melhores biomateriais e parâmetros de bioimpressão para a produção de *scaffolds* aplicados na produção de carne cultivada. Os *scaffolds* impressos serão caracterizados para avaliar sua textura, morfologia e propriedades mecânicas, a fim de posteriormente serem utilizados na aplicação em proteínas alternativas.

**2. METODOLOGIA**

 O presente trabalho aborda a produção de *scaffolds* por bioimpressão 3D para futura aplicação na produção de carne cultivada. Atualmente, o projeto encontra-se na fase de revisão bibliográfica por meio da base de dados *Web of Science,* utilizando as palavras-chave: *3D bioprinting*, *scaffolds*, *hydrogel* e *cultured meat*. Esta revisão bibliográfica tem como objetivo definir os biomateriais e procedimentos a serem utilizados na fase inicial de produção dos hidrogéis e bioimpressão de *scaffolds* para a produção de carne cultivada. De acordo com os estudos recuperados na *Web of Science,* observou-se que a textura e o sabor são um dos principais desafios a serem superados na produção de carne cultivada. A textura do produto está relacionada com as técnicas de produção dos *scaffolds*, como também com os biomateriais utilizados.

Com base nos estudos publicados na literatura, o principal biomaterial utilizado na produção de scaffolds para produção de carne cultivada é o alginato, que pode ser combinado com a proteína de soja, potencializado a adesão e proliferação celular durante a etapa de maturação. E uma das tecnologias emergentes na produção destes scaffolds é a bioimpressão 3D. Portanto, como prova de conceito, inicialmente serão produzidos hidrogéis com diferentes concentrações de alginato associado com a proteína de soja. Esses dois biopolímeros foram considerados nesse estudo por serem de origem natural, de baixo custo e sustentável.

Após a produção, os hidrogéis serão bioimpressos para a obtenção dos *scaffolds*. Nessa fase serão avaliados também os parâmetros de bioimpressão, como *design* do *scaffold*, porosidade e espessura de filamento. Os *scaffolds* produzidos serão caracterizados quanto a sua morfologia por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia ótica (MO), textura por um texturômetro, degradação térmica por termogravimetria (TGA) e propriedades mecânicas de compressão.

**3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

 O alginato é um polissacarídeo que pode ser extraído de algas e biossintetizado por bactérias do tipo *Azotobacter*. 6 A Figura 1 apresenta a estrutura química de alginato. O alginato de sódio é bastante utilizado na indústria alimentícia, devido a sua capacidade de formar gel por reticulação iônica, assim justificando a sua escolha para a produção dos hidrogéis. 7

Figura 1: Estrutura química do alginato.6



 Alginato é um dos biopolímeros naturais mais promissores e mais aplicados na engenharia de tecidos e consequentemente na biofabricação de carne cultivada. No entanto, o alginato puro carece de grupos funcionais que estimulam a adesão e proliferação celular. Estudos mostram que uma das alternativas para tornar o alginato mais bioativo é utilizando biomateriais de outras fontes, como plantas, um exemplo é a proteína de soja. 6

A proteína de soja é composta por um conjunto de macromoléculas complexas, sendo as proteínas globulares suas principais componentes. Estas são constituídas de cadeias de vários aminoácidos, tornando-se essencial para complementar o alginato de sódio, impulsionando o crescimento celular.4 Sendo assim, o alginato associado com a proteína de soja deve apresentar alta porosidade, altas capacidades de absorção de líquidos e uma alta taxa de adesão e proliferação celular na matriz de hidrogel.4

Dentre as várias técnicas de produção de *scaffolds* a base de hidrogéis, destaca-se a bioimpressão 3D que é uma das tecnologias mais promissoras para produzir *scaffolds* para o setor de alimentos, e que atualmente tem se destacado na produção de carne cultivada.8 As principais vantagens da bioimpressão 3D por extrusão, são: a escalabilidade, a capacidade de imprimir uma ampla gama de materiais de alta viscosidade e alta concentração de células. 9

 De acordo com Ianovici et at., (2022), *scaffolds* bioimpressos compostos de alginato enriquecidos com proteína de soja exibiram estabilidade e rigidez estrutural elevadas em comparação com os *scaffolds* de alginato puro.  Além de boa resolução de impressão, favorecendo a adesão e proliferação celular, atingindo aproximadamente 80-90% de viabilidade celular. Esses resultados mostram que scaffolds de alginato combinado com proteína de soja produzidos por bioimpressão 3D são promissores na produção de carne cultivada.5

**4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

 Portanto, espera-se a partir deste levantamento bibliográfico documentar os principais estudos relacionados a bioimpressão de *scaffolds* aplicados na produção proteínas alternativas. Como também iniciar pesquisas para a produção de *scaffolds* por meio da bioimpressão 3D, utilizando hidrogéis de alginato combinado com proteína isolada de soja. E por fim, avaliar as principais propriedades que impactam na textura dos *scaffolds* para futura aplicação em carnes cultivadas.

**Agradecimentos**

Os autores agradecem ao SENAI CIMATEC por disponibilizar a estrutura para desenvolver a pesquisa. Ao CNPq, CAPES e FIOCRUZ por financiarem o desenvolvimento da pesquisa.

**5. REFERÊNCIAS**

1 ARAÚJO, Luísa Carvalho Pereira; OLIVEIRA JÚNIOR, José Martins de; ARANHA, Norberto. Síntese e caracterização de scaffolds de fibroína. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 23, 2018.

 ‌2 LUZ, Andrea Rossetto da et al. **Desenvolvimento e validação de bioimpressora 3D e hidrogel de alginato/gelatina para produção de scaffolds 3D**. 2021. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

3 SILVÉRIO, Gabriela Barros et al. **Produção e caracterização de micropartículas de alginato obtidas por gelificação iônica associada à interação eletrostática com concentrado proteico de soja**. 2018. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

4 MARIANO, Marcos et al. **Estabilidade Térmica da Proteína Isolada de Soja**. 2010.

5 IANOVICI, Iris; ZAGURY, Yedidya; REDENSKI, Idan; LAVON, Neta; LEVENBERG, Shulamit. **3D-printable plant protein-enriched scaffolds for cultivated meat development**, Biomaterials, Volume 284, 2022

6 SILVA, Barbara Emanuelle Maria da. **Beads de hidrogel à base de alginato e líquidos iônicos sensíveis ao pH para carreamento de fármacos**. 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

7 ALBRECHT, Carolina Landau. **Avaliação in vitro do comportamento de células-tronco mesenquimais em scaffolds contendo diferentes concentrações de alginato e cloreto de cálcio como estratégia em medicina regenerativa**. 2017.

Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

8 SCHÄTZLEIN, Eva; BLAESER, Andreas. **Recent trends in bioartificial muscle engineering and their applications in cultured meat, biorobotic systems and biohybrid implants**. Communications Biology, v. 5, n. 1, p. 737, 2022.

9 VIJAYAVENKATARAMAN, Sanjairaj et al. **3D bioprinting of tissues and organs for regenerative medicine**. Advanced drug delivery reviews, v. 132, p. 296-332, 2018.