



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Curso de Graduação Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia

LUIZA MAÍRA RIBEIRO DA SILVA

**Proteínas alternativas: o papel da biotecnologia e dos bioprocessos na
produção de novos alimentos**

Araraquara, SP

2024

LUIZA MAÍRA RIBEIRO DA SILVA

**Proteínas alternativas: o papel da biotecnologia e dos bioprocessos na
produção de novos alimentos**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau de Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Valéria de Carvalho Santos Ebinuma

Coorientador: Prof. Dr. Heitor Buzetti Simões Bento

Araraquara, SP

2024

S586p

Silva, Luiza Máira Ribeiro da.

Proteínas alternativas : o papel da biotecnologia e dos bioprocessos na produção de novos alimentos / Luiza Máira Ribeiro da Silva. – Araraquara, 2024.

54 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação – Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Valéria de Carvalho Santos Ebinuma.

Coorientador: Bento.

1. Fermentação. 2. Fermentação de precisão. 3. Cultivo celular. 4. Carne cultivada. I. Ebinuma, Valéria de Carvalho Santos, orient. II. Bento, Heitor Buzetti Simões. III. Título.

Luiza Maíra Ribeiro da Silva

Proteínas alternativas:

O papel da biotecnologia e dos bioprocessos na produção de novos alimentos

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, para obtenção do título de Bacharela em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia.

Área de Concentração: Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia

Data da defesa: 27/05/2024

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Valéria de Carvalho Santos Ebinuma
UNESP – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

Prof. Dr. Heitor Buzetti Simões Bento
UNESP – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

Prof. Dr. Leonardo Miziara Barboza Ferreira
UNESP – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

Prof. Júlio Gabriel Oliveira de Lima
UNESP – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

RESUMO

Devido as estimativas de crescimento populacional nas próximas décadas, cresce a preocupação em torno de assegurar uma alimentação nutritiva e segura para todos, tendo em vista que hoje uma grande parte da população mundial já sofre com desnutrição e doenças transmitidas por alimentos. Urge a necessidade de se encontrar “novos alimentos” que contenham proteínas alternativas para suprir a futura demanda alimentar e o aumento no incentivo de uma dieta sustentável, pois a dependência de carnes e produtos de origem animal demandará mais terras para suprir a agropecuária e água para o seu processamento. Os Estados Unidos e a União Europeia já começaram os seus processos regulatórios destes “novos alimentos” e, constantemente, debatem suas vantagens, desvantagens e regulamentações. O Brasil como um país líder na agropecuária mundial está a par de todas essas discussões e no final do ano de 2023 divulgou a RDC 839/2023 com duas diretrizes de regulamentação de novos alimentos e ingredientes. Sendo assim, o presente trabalho se ocupou em revisar os conceitos acerca de proteínas alternativas e o papel que a biotecnologia possui nas soluções dos seus desafios. Tendo em vista a revisão realizada em torno dos trabalhos encontrados na literatura, as proteínas alternativas obtidas de plantas, de cultivo celular e pela fermentação de precisão surgiram como soluções para este problema e a biotecnologia, bem como os bioprocessos, estão tendo papel fundamental em suprir esta nova indústria. As novas técnicas de produção conseguiram sanar alguns dos problemas mais relevantes, como mimetizar o sabor e a textura dos produtos de origem animal, não há o uso de terras, o impacto ambiental é reduzido e não há sofrimento animal no processo.

Palavras-chave: fermentação; fermentação de precisão; cultivo celular; carne cultivada.

ABSTRACT

Due to population growth estimates in the coming decades, there is growing concern about ensuring nutritious and safe food for everyone, considering that a large part of the world's population already suffers from malnutrition and foodborne illnesses. There is an urgent need to find "new foods" containing alternative proteins to meet future food demand and promote sustainable diets, as the reliance on meat and animal products will require more land for agriculture and water for processing. The United States and the European Union have already begun their regulatory processes for these "new foods" and regularly discuss their advantages, disadvantages, and regulations. Brazil, as a leading country in global agriculture, is aware of all these discussions and by the end of 2023 released RDC 839/2023 with two guidelines for regulating new foods and ingredients. Thus, this study aimed to review the concepts of alternative proteins and the role that biotechnology plays in addressing their challenges. Based on the literature review conducted, alternative proteins obtained from plants, cell cultivation, and precision fermentation emerged as solutions to this problem, and biotechnology, as well as bioprocesses, are playing a fundamental role in supplying this new industry. The new production techniques have managed to address some of the most relevant issues, such as mimicking the flavor and texture of animal-derived products, avoiding land use, reducing environmental impact, and eliminating animal suffering in the process.

Keywords: fermentation; precision fermentation; cellular cultivation; cultivated meat.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Comparação do impacto ambiental entre carne de origem animal e produtos análogos de carne	11
Figura 2 – O aumento da demanda global na produção de alimentos prevista para 2050 e o impacto na cadeia de produção de proteína animal, por espécie.....	15
Figura 3 – ODS 2 e ODS 13.....	16
Figura 4 – Tipos de fermentação.....	22
Figura 5 – Processo de fermentação de biomassa	24
Figura 6 – Esquema do processo de fermentação por biorreator do tipo airlift na produção da micoproteína Quorn™.	25
Figura 7 – Esquema de um processo de fermentação geral	27
Figura 8 – Processo de fermentação de precisão	29
Figura 9 – Visão geral das etapas de recuperação da proteína após a fermentação.....	31
Figura 10 – O segredo do Impossible Burger.	32
Figura 11 – Receita in vitro.....	34
Figura 12 – Comportamento do consumidor brasileiro e sua intenção de redução do consumo de carne animal	42
Figura 13 – Motivos do consumidor brasileiro para a redução do consumo de carne animal.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Uso da fermentação de precisão na indústria alimentícia	32
Tabela 2 – Cenário do mercado global de alimentos à base de plantas	44
Tabela 3 – Tipos de fermentação na indústria de proteínas alternativas	45
Tabela 4 – Startups brasileiras que utilizam fermentação de precisão e cultivo celular na produção de seus produtos	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BRF	Brasil Foods
CRISPR	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
DIAAS	Digestible Indispensable Amino Acid Score
DNA	Deoxyribonucleic Acid
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
FEE	Food Fermentation Europe
GFI	Good Food Institute
IARC	International Agency for Research on Cancer
JBS	José Batista Sobrinho
iPSC	Induced pluripotent stem cell
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
PFA	Precision Fermentation Alliance
pl	ponto isoelétrico
ppb	partes por bilhão
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RNA	Ribonucleic Acid
SCP	Single Cell Protein
SFB	Soro Fetal Bovino
WCRF	World Cancer Research Fund

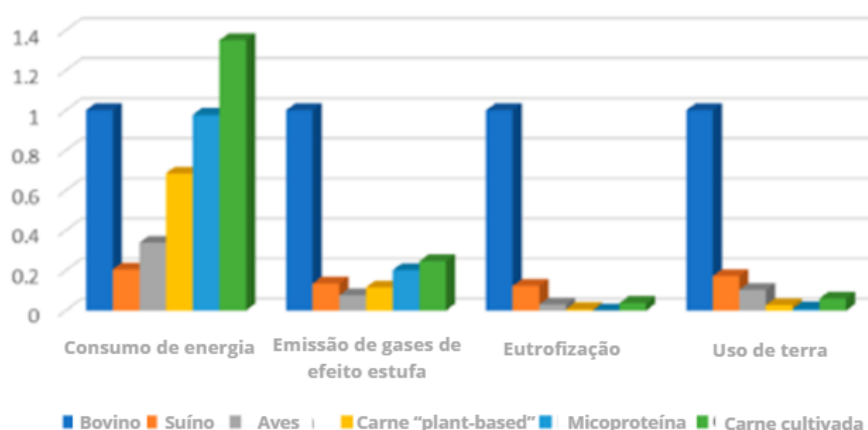
SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 DESENVOLVIMENTO	13
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
3.1 Compreensão das proteínas e sua importância na alimentação	14
3.2 Proteínas e sustentabilidade	16
3.3 Proteínas Alternativas	17
3.3.1 Definição	17
3.3.2 Proteínas à base de plantas e seus desafios	18
3.4 Biotecnologia e bioprocessos na produção de proteínas alternativas	20
3.4.1 Fermentação	20
3.4.1.1 Formas de condução do processo fermentativo	21
3.4.1.2 Fermentação tradicional	23
3.4.1.3 Fermentação para obtenção de biomassa	23
3.4.1.4 Fermentação de precisão	26
3.4.2 Agricultura celular	33
3.4.2.1 Visão geral do processo de produção de carne cultivada	34
3.4.2.2 Coleta e cultivo celular	34
3.4.2.3 Biorreatores	36
3.4.2.4 Suportes	37
3.4.2.5 Meio de cultivo	39
3.4.2.6 Etapas finais do processo e aspectos nutricionais	41
3.5 O mercado de proteínas alternativas	42
3.5.1 O mercado da fermentação	43
3.5.2 O mercado da carne cultivada	46
4 CONCLUSÃO	47

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que até 2050, a população mundial será de 10 bilhões de pessoas, conforme previsto no relatório da *Food and Drug Administration* (FDA) (The White House Office of Science and technology Policy, 2023), o que representa um grande desafio para a produção convencional de alimentos a qual é associada a uma série de problemas ambientais (Figura 1), incluindo a emissão de gases de efeito estufa, uso excessivo de recursos naturais e degradação do solo. Sendo assim, será grande a dificuldade em abastecer toda esta população com alimentos de qualidade, nutritivos e em quantidade suficiente, o que gera preocupações com relação à segurança dos alimentos (WOOD; TAVAN, 2022).

Figura 1 – Comparação do impacto ambiental entre carne de origem animal e produtos análogos de carne



Fonte: Adaptado de ARORA *et al.* (2023).

Segundo a Organização das Nações Unidas (ONU), será necessária uma produção 70% maior do que a atual para suprir a demanda de alimentos de origem animal. Caso o alto consumo de proteína animal e seus derivados seja mantido, serão necessárias maiores extensões de terra e um maior consumo de água, gerando mais impactos ambientais (WORLD RESOURCES INSTITUTE, 2019). Paralelamente, há uma crescente conscientização sobre o bem-estar animal e uma demanda por práticas de produção mais éticas, como: pastoreio rotativo, transparência no processo de regulação e certificação de produtos, redução do uso de antibióticos, melhoria nas

condições de abate, entre outros (MCCLEMENTS, 2023). Esses desafios têm impulsionado a busca por alternativas sustentáveis na produção de alimentos, com um foco particular em novas fontes de proteína.

As proteínas alternativas não derivam de origem animal e seus produtos se encontram dentro do segmento chamado “novos alimentos” possuindo um mercado que é estimado a atingir 290 bilhões de dólares até 2035 (WOOD; TAVAN, 2022). Essas proteínas podem ser obtidas por três formas diferentes: diretamente de plantas, legumes e sementes; por meio da fermentação e pela chamada agricultura celular, isto é, as carnes cultivadas em laboratório. Além dessas, também são consideradas proteínas alternativas as que são obtidas de insetos e microalgas (ASCHEMANN-WITZEL *et al.*, 2020; WOOD; TAVAN, 2022). A crescente popularidade desses alimentos à base de proteínas alternativas, indica uma mudança significativa no paradigma alimentar. No entanto, essas alternativas não estão isentas de críticas, enfrentando desafios como a presença de antinutrientes e a necessidade de melhorar o sabor e a textura para atrair consumidores (WILLIAMS, 2021).

Para enfrentar esses desafios de forma eficaz, a biotecnologia e os bioprocessos emergem como ferramentas inovadoras. O desenvolvimento de técnicas de cultivo de células para produção de carne sem abate e a aplicação de bioprocessos junto a manipulação genética para melhorar a qualidade sensorial de alimentos à base de plantas e reduzir antinutrientes representam apenas as principais possibilidades oferecidas por essas tecnologias (DAHABIEH; BRÖRING; MAINE, 2018).

Em março de 2023, os Estados Unidos publicaram um documento delineando metas acerca de sua bioeconomia e, dentre os segmentos citados, está a necessidade de desenvolver novos alimentos e ingredientes com altos valores nutritivos, fontes proteicas alternativas e diminuição de transmissão de doenças por alimentos de forma sustentável (The White House Office of Science and technology Policy, 2023). Já a União Europeia discute os mesmos assuntos e os regula em dois documentos principais: *Novel Food Regulation* e *Genetically Modified Food Regulation*, onde trata também de assuntos como proteção do consumidor e diretrizes de rotulagem (LÄHTEENMÄKI-UUTELA, A. *et al.*, 2021).

No Brasil, uma diretriz para a segurança alimentar e a agricultura sustentável foi estabelecida em 2015 com a adesão aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU. O segundo ODS, especificamente, visa 'Erradicar a fome,

alcançar a segurança alimentar, melhorar a nutrição e promover a agricultura sustentável' (ONU, 2023). No entanto, somente em julho de 2020, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) deu um passo crucial ao publicar o documento "Novos alimentos e ingredientes: Documento de base para discussão regulatória", iniciando o processo de regulamentação desses produtos no Brasil (GFI Brasil, 2022a). Mais recentemente, ao final de 2023, a ANVISA atualizou o documento com a criação da RDC nº 839/2023, demonstrando um progresso significativo no país.

Tendo em vista todo o cenário previamente descrito, o presente trabalho é proposto a fim de produzir uma revisão na literatura de forma a abordar e analisar os avanços dos processos de produção de proteínas alternativas que utilizam bioprocessos e técnicas de biotecnologia, bem como avaliar o mercado nacional e internacional: investimentos, faturamento, tipos de produtos já comercializados e projeções futuras.

2 METODOLOGIA

A metodologia para a elaboração deste trabalho consistiu na revisão de artigos científicos, relatórios e documentos oficiais nacionais e internacionais nos últimos 10 anos, abordando o mercado de produtos à base de plantas no Brasil e no mundo, o processo de produção de proteínas alternativas, bem como o papel da biotecnologia e dos bioprocessos neste setor alimentício emergente. As bases de dados utilizadas para a procura dos documentos foram: ScienceDirect, Scopus, SciELO e Google Acadêmico. Na pesquisa nessas bases de dados, foram utilizadas palavras-chave isoladas e combinadas, em inglês e em português, sendo elas: "sustentabilidade", "proteínas alternativas", "produtos à base de plantas", "proteína vegetal", "biotecnologia", "bioprocessos", "cultura de células", "fermentação" e "fermentação de precisão" foram empregados no período de maio de 2023 a abril de 2024.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

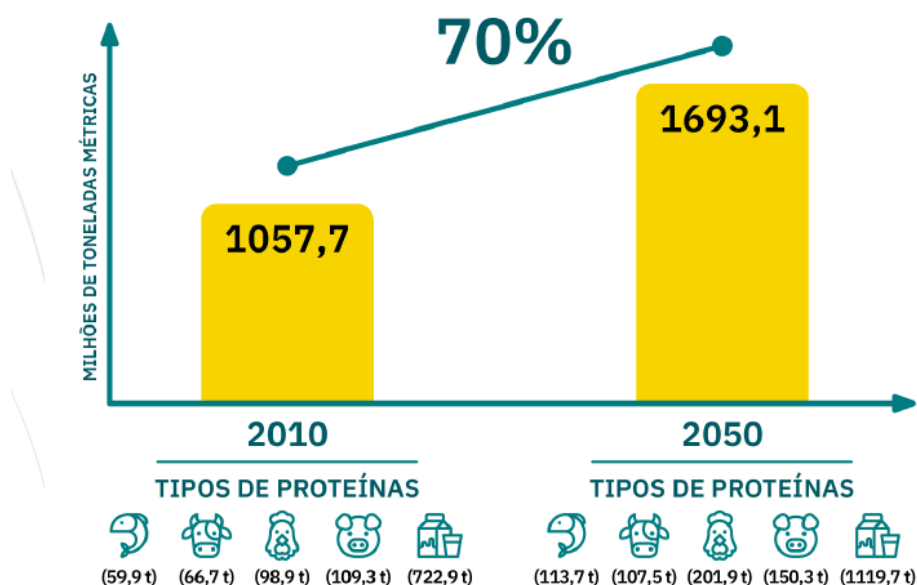
3.1 Compreensão das proteínas e sua importância na alimentação

As proteínas são essenciais para o funcionamento adequado do corpo e para manter o estado de saúde, pois são os blocos de construção para a formação de tecidos animais e vegetais e também possuem ação reguladora (hormônios, enzimas, anticorpos). As proteínas são formadas por duas categorias de aminoácidos: aminoácidos essenciais, aqueles que o corpo não pode produzir por si só e, portanto, devem ser obtidos dos alimentos; e aminoácidos não essenciais, que podem ser sintetizados pelo corpo humano (ALCORTA *et al.*, 2021).

As fontes de proteínas de origem animal são consideradas de alta qualidade, pois contêm aminoácidos essenciais e não-essenciais necessários para as várias funções metabólicas do corpo, como: regulação e coordenação de processos metabólicos, defesa e imunidade, catalização de reações bioquímicas, estrutura e suporte, entre outras. Embora as proteínas de origem animal sejam muito nutritivas, altamente digestíveis e biodisponíveis, o consumo frequente de carnes de origem animal e processadas tem sido associado a doenças como câncer, diabetes tipo 2 e obesidade (TACHIE; NWACHUKWU; ARYEE, 2023).

A demanda global por proteínas tem aumentado devido ao crescimento populacional, à urbanização e ao envelhecimento. A Figura 2 traz a perspectiva do aumento da demanda global de proteínas (categorizado por animal) entre os anos de 2010 e 2050. Além do crescimento populacional, as exigências alimentares estão em alta devido ao aumento da renda da população, principalmente entre os habitantes dos países em desenvolvimento (SARAVANA *et al.*, 2022). Um aumento na renda tem levado a um aumento no consumo de carne, o que exige níveis mais altos de uso de recursos e também aumenta os desafios da segurança dos alimentos e nutricional. Fontes alternativas de proteínas e métodos de produção padronizados são, portanto, necessários para atender à crescente demanda dos consumidores (FATIMA *et al.*, 2023).

Figura 2 – O aumento da demanda global na produção de alimentos prevista para 2050 e o impacto na cadeia de produção de proteína animal.



Fonte: PORTO; BERTI (2022).

A qualidade das proteínas vegetais, em comparação com as de fontes animais, tornou-se um tópico muito debatido devido ao aumento no consumo de produtos à base de plantas. Fatores importantes além da quantidade são a qualidade da ingestão de proteínas em termos de digestibilidade e composição de aminoácidos. Em 2013, a FAO propôs um novo índice, o Índice de Aminoácidos Essenciais Digestíveis (DIAAS), que reflete não apenas a composição de aminoácidos das proteínas, mas também sua biodisponibilidade (digestibilidade no intestino delgado) (ALCORTA *et al.*, 2021). Diante disso, há a necessidade de desenvolver produtos alimentícios à base de plantas que contenham todos os aminoácidos essenciais.

Além dos impactos ambientais, também existem os impactos à saúde humana. Associações entre o consumo de carne vermelha e a taxa de mortalidade ou incidência de doenças crônicas foram avaliadas em um grande número de estudos epidemiológicos observacionais desde 1970. O alto consumo de alimentos de origem animal ricos em proteínas apresenta um risco maior para doenças não transmissíveis, incluindo doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2 e alguns tipos de câncer, especialmente câncer colorretal (FATIMA *et al.*, 2023).

Com base nas evidências quanto ao câncer colorretal, a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) da Organização Mundial da Saúde (OMS)

classificou a carne vermelha não processada como provavelmente carcinogênica para humanos (Classe 2A), enquanto a carne processada como carcinogênica para humanos (Classe 1). Com base nas descobertas, o Fundo Mundial de Pesquisa sobre Câncer (WCRF) recomendou o consumo de carne vermelha no nível individual de menos de 500 g por semana e muito pouco ou nenhum de carne processada (FATIMA *et al.*, 2023).

3.2 Proteínas e sustentabilidade

Os sistemas agrícolas e alimentares atuais estão ameaçados por diversas questões: crescimento populacional, competição por recursos naturais, mudanças climáticas, conflitos, crises e perdas e desperdício de alimentos (ALCORTA *et al.*, 2021). Encontrar soluções para melhorar os sistemas alimentares ajudará a avançar em direção aos ODS, descritos pela Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável e adotados por todos os Estados Membros das Nações Unidas em 2015.

Dentre os 17 ODS adotados, destacam-se a segurança alimentar (ODS 2) e a ação climática (ODS 13) como de importância no presente trabalho (Figura 3). Em 2017, a população global atingiu 7,5 bilhões, mas mesmo no cenário de crescimento médio, a ONU projeta uma população mundial de 8,5 bilhões até 2030 e quase 10 bilhões até 2050. A FAO projeta um aumento de 60% na demanda por alimentos até 2050, enquanto muitos outros projetam um dobramento (AIKING; DE BOER, 2020).

Figura 3 – ODS 2 e ODS 13



Fonte: Adaptado de SUSTENTAREA (2020a; 2020b).

De acordo com a definição da FAO, sistemas alimentares sustentáveis são aqueles que garantem a segurança alimentar e nutricional para todos de forma que a sustentabilidade ambiental, econômica e social não seja comprometida para as gerações futuras (SARAVANA *et al.*, 2022). Transformar o atual sistema alimentar simultaneamente em direção aos objetivos de fornecer dietas saudáveis e sustentabilidade ambiental constitui um dos grandes desafios dos tempos atuais. Alcançar essas metas é um pré-requisito fundamental para cumprir os ODS da ONU.

Durante o último milênio, o aumento da produtividade das safras mais ou menos acompanhou a demanda, mas os aumentos de produtividade estão desacelerando. Ademais, esse acompanhamento só se deu em termos de calorias, ainda existe uma lacuna significativa na oferta de alimentos suficientes e, por outro lado, há problemas simultâneos com dietas de baixa qualidade causando deficiências de micronutrientes e obesidade relacionada à dieta (RISCHER; SZILVAY; OKSMAN-CALDENTEY, 2020).

Parece improvável que a agricultura convencional sozinha possa lidar com os enormes desafios futuros. Os métodos tradicionais de criação de gado causam poluição ambiental devido ao gás metano produzido pelo gado e provocam doenças como a febre aftosa; além disso, antibióticos são utilizados como medicamentos para animais para prevenir doenças, o que afeta os seres humanos que consomem resíduos de medicamentos (HEO *et al.*, 2023). Em conclusão, fica evidente que são urgentemente necessárias alternativas eficientes para a produção de alimentos.

3.3 Proteínas Alternativas

3.3.1 Definição

A fim de solucionar as problemáticas em relação à disponibilidade de proteínas *versus* sustentabilidade, uma categoria de novos produtos adentrou ao mercado com o nome de proteínas alternativas. Proteínas alternativas referem-se a fontes de proteínas que são utilizadas como substitutos ou complementos às proteínas tradicionalmente obtidas de alimentos à base de animais (AIKING; DE BOER, 2020).

Elas podem ser divididas em três grandes grupos de acordo com o seu processo de produção e fonte: (a) concentrados de proteínas vegetais que abrangem uma gama mais ampla de ingredientes e são produzidos por processos que

mimetizam as proteínas animais tradicionais; (b) proteínas produzidas por engenharia genética e fermentação de precisão para criar proteínas novas; ou (c) proteínas animais produzidas sem a necessidade de animais (WILLIAMS, 2021).

3.3.2 Proteínas à base de plantas e seus desafios

As proteínas à base de plantas têm sido destacadas como substitutos naturais potenciais para proteínas convencionais, como ovos e carne. Elas apresentam baixos custos de produção, juntamente com benefícios para a saúde e o meio ambiente. Além disso, os alimentos à base de plantas têm menores emissões de gases de efeito estufa e causam impactos reduzidos no meio ambiente em comparação com alimentos de origem animal (SARAVANA *et al.*, 2022).

As fontes de proteínas à base de plantas, como vegetais, nozes, sementes, frutas e leguminosas, são ricas em vitaminas, fibras, minerais e antioxidantes, essenciais para a saúde humana. Embora geralmente a quantidade e a qualidade dos aminoácidos sejam maiores em produtos de origem animal, a bioacessibilidade e digestibilidade devem ser consideradas ao avaliar o valor nutricional das proteínas. Recomenda-se combinar fontes de proteínas vegetais e animais em uma dieta equilibrada para garantir a ingestão adequada de aminoácidos essenciais (SARAVANA *et al.*, 2022).

Apesar de seus evidentes benefícios, as proteínas à base de plantas possuem desafios que são diversos e abrangem várias áreas, desde aspectos tecnológicos até questões nutricionais e de segurança alimentar (XIAO *et al.*, 2023). Um dos desafios tecnológicos é replicar a textura e o sabor dos alimentos de origem animal em alternativas à base de plantas. Isso requer desenvolvimento de técnicas avançadas para garantir que os produtos vegetais tenham características sensoriais semelhantes aos produtos de origem animal (WOOD; TAVAN, 2022; XIAO *et al.*, 2023).

Com relação às questões nutricionais, embora algumas alternativas de carne comercialmente disponíveis tenham um teor de proteína semelhante ao da carne bovina, a qualidade da proteína varia entre diferentes fontes de proteína. Fatores como digestibilidade ileal verdadeira e o conteúdo de aminoácidos essenciais afetam o DIAAS da fonte de proteína (TACHIE; NWACHUKWU; ARYEE, 2023).

Para melhorar a qualidade nutricional das proteínas vegetais, são necessários desenvolvimentos para garantir que elas contenham todos os aminoácidos essenciais ou a maioria deles, sem antinutrientes que reduzam sua biodisponibilidade. Alguns ingredientes à base de plantas, como leguminosas e cereais, contêm antinutrientes que podem limitar sua utilização na formulação devido à sua capacidade de formar complexos com proteínas e minerais, reduzindo a digestibilidade proteica e a qualidade nutricional geral (TACHIE; NWACHUKWU; ARYEE, 2023; ALCORTA *et al.*, 2021)

Outro desafio importante é o manejo de alergias alimentares. Diversos alimentos à base de plantas, como amendoim, nozes, trigo e soja, podem desencadear reações alérgicas. Para evitar reações adversas, os consumidores devem estar cientes dos potenciais alérgenos e devem ser incentivados a utilizar rótulos de precaução alérgica (TACHIE; NWACHUKWU; ARYEE, 2023)

Diante dos desafios encontrados na produção de proteínas à base de plantas, a biotecnologia e os bioprocessos emergem como recursos inovadores na busca por soluções eficazes. Além das técnicas tradicionais como a fermentação, a aplicação de métodos avançados de engenharia genética abre novas perspectivas para aprimorar as características nutricionais, funcionais e sensoriais dos produtos vegetais. Através da manipulação genética, é possível otimizar a composição de aminoácidos e a produção de proteínas específicas, atendendo às demandas nutricionais dos consumidores (CABRERA-BARJAS *et al.*, 2022; FATIMA *et al.*, 2023; RISCHER; SZILVAY; OKSMAN-CALDENTY, 2020).

Paralelamente, o cultivo celular, tanto animal quanto vegetal, surge como uma alternativa promissora para a produção de proteínas de alta qualidade em ambientes controlados. O cultivo de células vegetais oferece a possibilidade de obter proteínas diretamente das plantas, enquanto o cultivo de células animais permite a produção de proteínas sem a necessidade de criar animais. Além disso, o uso de microrganismos como fontes de proteínas apresenta-se como uma abordagem eficaz e escalável (EIBL *et al.*, 2021).

3.4 Biotecnologia e bioprocessos na produção de proteínas alternativas

A biotecnologia alimentar, que abrange tecnologias destinadas a melhorar plantas, animais e microrganismos, bem como seus processos de cultivo, processamento e uso nos alimentos, tem visto um crescimento significativo nos últimos anos. Essa área engloba diversas inovações que respondem às demandas do mercado, como a busca por produtos alimentícios mais saudáveis, sustentáveis, nutritivos e funcionais (DAHABIEH; BRÖRING; MAINE, 2018; RISCHER; SZILVAY; OKSMAN-CALDENTY, 2020).

Em 1994, o tomate transgênico *Flavr Savr* recebeu a primeira aprovação da FDA com aplicação de biotecnologia alimentar, caracterizada pelo seu amadurecimento retardado após a colheita. Desde então, a biotecnologia tem sido amplamente empregada no desenvolvimento de diversos produtos. Atualmente, mais de 80% do algodão e milho cultivados nos Estados Unidos são resultado de avanços do setor (CABRERA-BARJAS *et al.*, 2022).

A crescente importância econômica desse campo é evidente, especialmente em setores como alimentos fermentados, produção e aplicação de enzimas recombinantes, produção de probióticos, simbióticos, prebióticos e culturas alimentares microbianas, bem como na expansão dos mercados de alimentos funcionais e nutracêuticos. Por exemplo, o mercado de culturas iniciadoras foi avaliado em US\$ 814,4 milhões em 2015 e é projetado para atingir US\$ 1,4 bilhões até 2024 (CABRERA-BARJAS *et al.*, 2022). Além disso, desde 2014, mais de US\$ 10 bilhões foram investidos no setor de biotecnologia alimentar e agrícola, em comparação com apenas US\$ 2,3 bilhões investidos no total entre os anos 2010 e 2013 (DAHABIEH; BRÖRING; MAINE, 2018).

3.4.1 Fermentação

A fermentação é uma tecnologia historicamente utilizada para preservação de alimentos e prolongamento de vida útil, além de melhora na qualidade nutricional e, recentemente, tem sido utilizada para desenvolver novos produtos com propriedades organolépticas aprimoradas (TACHIE; NWACHUKWU; ARYEE, 2023). Sendo assim, o GFI Brasil (2022c) define fermentação, para produção de proteínas alternativas,

especificamente, da seguinte maneira: “O termo fermentação aplicado a indústria de proteínas alternativas refere-se ao cultivo de microrganismos com a finalidade de processar um alimento ou ingrediente, obter mais do próprio microrganismo como fonte primária de proteína (biomassa) ou obter ingredientes específicos, como aromatizantes, enzimas, proteínas e gorduras, para incorporação em produtos feitos de plantas ou carne cultivada”.

A fermentação é um processo bioquímico que, historicamente, era entendido como um fenômeno exclusivamente anaeróbico, ou seja, ocorrendo na ausência de oxigênio. No entanto, a compreensão moderna do termo expandiu-se para englobar todos os processos fermentativos, como por exemplo, a produção de enzimas microbianas. Hoje, o termo pode ser definido como qualquer processo metabólico em que organismos, como leveduras, bactérias e outros microrganismos, convertem substratos, como açúcares, em produtos como álcool, ácidos e gases, ou visando a obtenção de um bioproduto. (SOUSA *et al.*, 2017; DAMASO; COURI, 2021). Por este motivo, foi escolhido manter o termo no decorrer do trabalho, tendo em vista o uso mais amplo do termo, principalmente, na literatura de proteínas alternativas.

3.4.1.1 Formas de condução do processo fermentativo

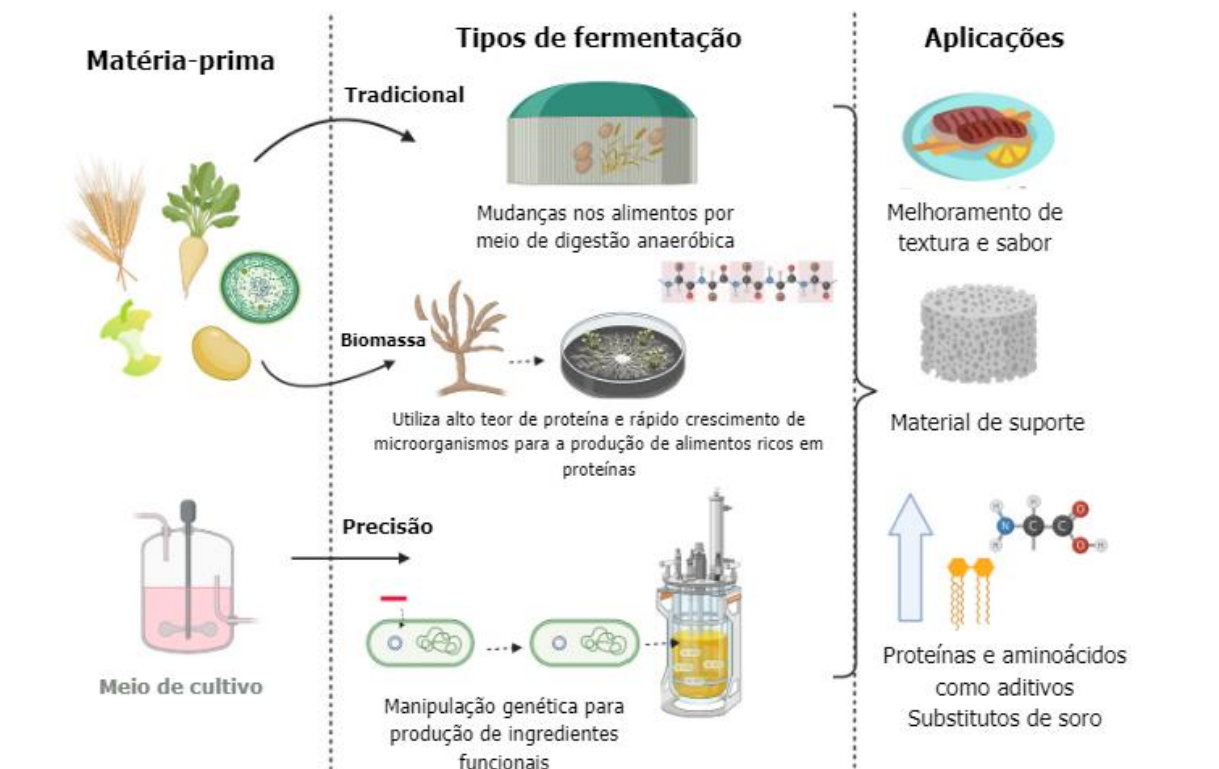
O processo fermentativo pode ser conduzido no estado sólido, em superfície de meio líquido ou em meio líquido submerso. A fermentação em estado sólido diz respeito ao processo tradicional de fermentação, no qual o substrato é fermentado pelos microrganismos em uma matriz sólida e umidificado por um filme líquido. Por exemplo, a adição de *Saccharomyces cerevisiae* em uma massa para a produção de pão. Este tipo também pode ocorrer em matrizes porosas e inertes como, por exemplo, espuma de poliuretano, que servirá apenas de arcabouço para o processo ocorrer (GFI, 2022c).

Já a fermentação em superfície de meio líquido foi criada e patenteada para o uso com fungos filamentosos em 2017, sem a presença de qualquer suporte sólido. Esta fermentação se utiliza das características desses fungos de crescerem apenas na superfície do líquido quando estático criando um biofilme. São utilizados biorreatores de bandeja, específicos para esse fim (GFI, 2022c).

Por fim, a fermentação submersa é a mais utilizada para obtenção de produtos biotecnológicos. Neste caso, o meio de cultura está líquido, contendo os nutrientes necessários para o crescimento ótimo do microrganismo selecionado, e ela ocorre em biorreatores fechados sob agitação, que pode ser mecânica ou por bolhas, para que ocorra uma eficiente transferência de oxigênio. Os parâmetros mais utilizados para o controle do processo são: pH, temperatura, transferência de oxigênio e formação de dióxido de carbono (GFI, 2022c).

Com relação às proteínas alternativas, a literatura divide a fermentação em 3 tipos principais, sendo os que serão discutidos a seguir: fermentação tradicional, fermentação para produção de biomassa e fermentação de precisão (Figura 4).

Figura 4 – Tipos de fermentação



Fonte: Adaptado de SINGH (2022).

3.4.1.2 Fermentação tradicional

A fermentação tradicional visa a produção de alimentos e bebidas tradicionais, sendo eles: pão, iogurte, queijo, chucrute, vinho, cerveja, saquê, entre outros. Os microrganismos podem estar naturalmente presentes no substrato, ser adicionados como cultura iniciadora ou estar presentes nos ingredientes. Eles se multiplicam e produzem os metabólitos que são os responsáveis por desenvolver características sensoriais mais atrativas, melhorar seu valor nutricional e a biodisponibilidade das proteínas. Estudos recentes têm ressaltado o potencial da fermentação para aprimorar estas qualidades em produtos fermentados à base de plantas, dependendo das características da matéria-prima, do microrganismo utilizado, das condições do processo e da composição do substrato. (BOUKID *et al.*, 2023).

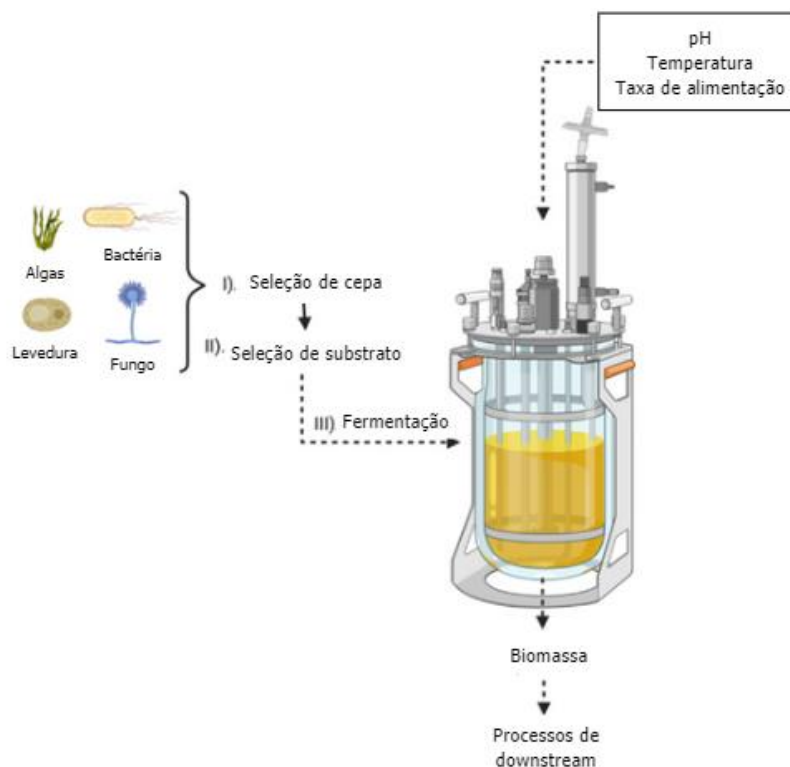
A empresa californiana Planetarians emprega a fermentação tradicional em subprodutos da agroindústria de baixo valor, como a torta de girassol proveniente da produção de óleo, com o objetivo de melhorar seu valor nutricional. Já a empresa MycoTechnology, sediada no Colorado, desenvolveu um concentrado proteico utilizando proteína de ervilha e arroz que foram fermentados por shitake. A biomassa do micélio do fungo, a qual é inativada pelo calor e as proteínas fermentadas são concentradas e desidratadas afim de criar o ingrediente chamado Pure Taste® que possui mais de 75% de proteína. A multinacional brasileira JBS possui uma linha de produtos *plant-based* chamada Planterra que utiliza o ingrediente Pure Taste® em suas formulações (GFI, 2022c).

3.4.1.3 Fermentação para obtenção de biomassa

A fermentação para produção de biomassa não difere em conceito da fermentação tradicional, porém o objetivo é que haja uma multiplicação massiva das células microbianas para que as mesmas sejam utilizadas como fonte de proteínas e outros constituintes de interesse alimentar, para consumo humano e animal. No âmbito das proteínas alternativas, as macromoléculas obtidas por esse processo são chamadas de *single cell protein* (SCP) (Figura 5). Esse termo se refere a proteína na sua forma bruta ou purificada originada da biomassa obtida por fermentação. Algumas vantagens deste tipo de fermentação são: curto tempo de produção, pouco espaço

requisitado, não é afetado por condições climáticas e os microrganismos podem utilizar diversos substratos diferentes como fonte de carbono (MA *et al.*, 2023).

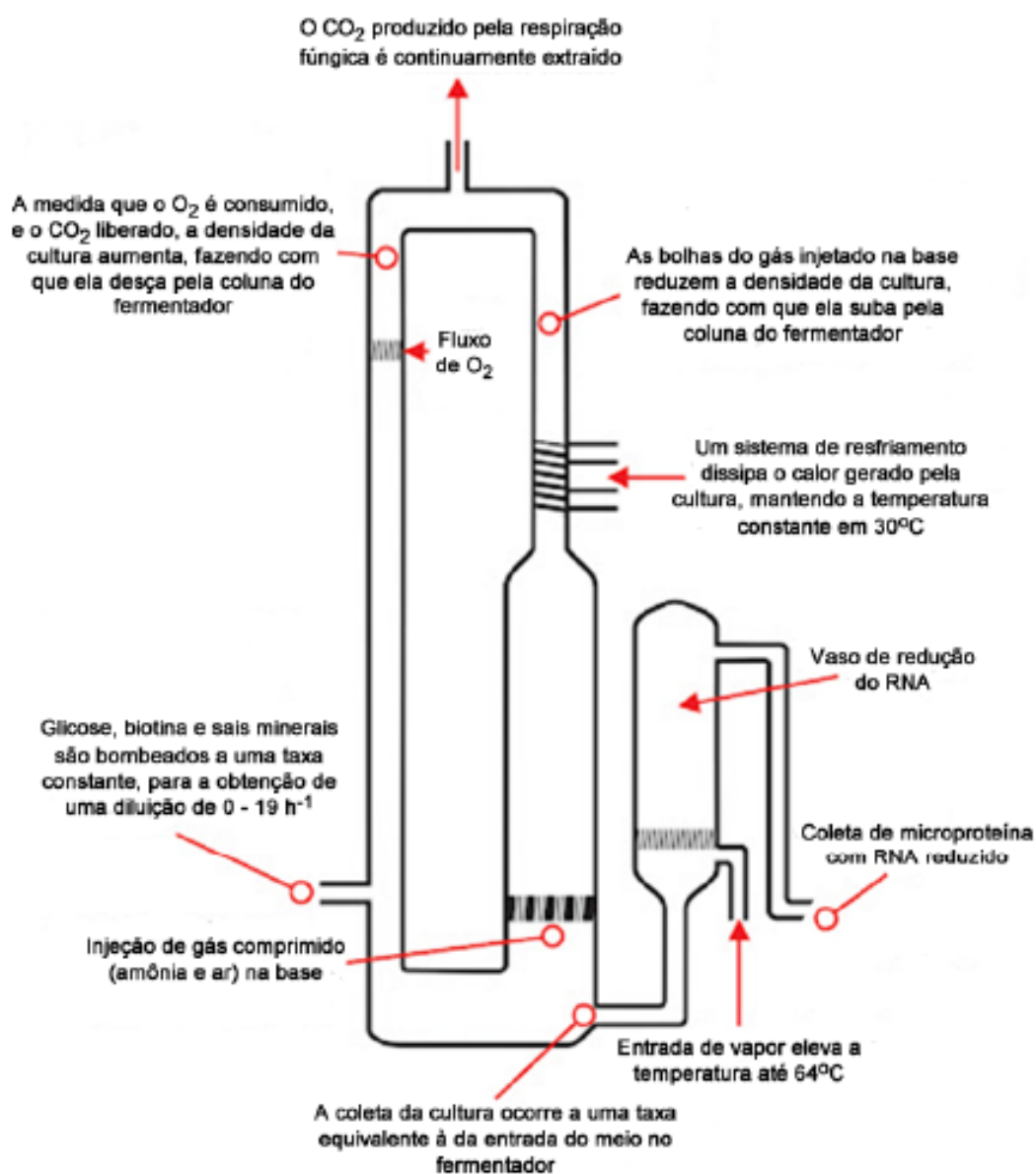
Figura 5 – Processo de fermentação para obtenção de biomassa



Fonte: Adaptado de DIAZ-BUSTAMANTE (2023).

Assim como visto para a fermentação tradicional, já existem produtos sendo desenvolvidos e outros no mercado provenientes de biomassa de fungos, principalmente. O produto deste segmento que mais se destaca e é comercializado desde os anos 80 é a micoproteína Quorn™ da empresa britânica Marlow Foods obtida pela fermentação do fungo filamentoso *Fusarium venenatum* em biorreatores do tipo *airlift* (AHMAD *et al.*, 2022). Estes biorreatores são bastante utilizados para fermentação de biomassa, sendo conduzida de forma submersa em que não são utilizados agitadores mecânicos para a aeração do meio. A Figura 6 resume o processo e foi descrito por Moore *et al.* (2000) nos anos 2000.

Figura 6 – Esquema do processo de fermentação por biorreator do tipo *airlift* na produção da micoproteína Quorn™.



Fonte: MOORE (2000).

O fermentador consiste em um loop alongado com duas seções. Em uma seção, o meio de cultura é bombeado continuamente, enquanto na outra seção uma mistura de gases comprimidos é injetada. A diferença na carga hidrostática entre as seções impulsiona a circulação do líquido, criando condições ideais para a transferência de oxigênio da fase gasosa para a fase líquida (MOORE, *et al.*, 2000).

À medida que o líquido sobe, o oxigênio é consumido e CO₂ (gás carbônico) é produzido pela cultura, sendo expelido pela redução da pressão no topo do *riser*. A

cultura, contendo filamentos de hifas em crescimento, circula continuamente a uma temperatura de 30 °C que é mantida por um trocador de calor localizado no tubo de descida. A taxa de suprimento de nitrogênio é regulada para manter o pH da cultura em 6,0, enquanto a taxa de suprimento de glicose é ajustada para garantir um excesso desse composto e maximizar a velocidade de crescimento (MOORE, *et al.*, 2000).

Tendo em vista que o fungo cresce na sua velocidade máxima e as toxinas são provenientes de seu metabolismo secundário, o qual é favorecido em crescimento lento, a síntese de micotoxinas é evitada. Mesmo assim, os autores pontuam que testes toxicológicos são realizados diariamente por meio de um método que possui sensibilidade de 2 ppb (partes por bilhão) (MOORE, *et al.*, 2000).

O processo de recuperação celular ocorre de forma contínua e a biomassa passa por um tratamento térmico para redução do teor de RNA em um tanque acoplado, no qual a temperatura se eleva a 68 °C dentre 20 a 30 minutos, o que ativa as RNases endógenas que quebram o RNA. Ao final deste processo, deve restar apenas 1% (m/m) de RNA, logo, ficando dentro dos parâmetros da OMS (limite superior de 2%) (MOORE, *et al.*, 2000).

Após o tratamento, a biomassa fúngica é colhida, apresentando alto teor de proteína, fibra dietética e baixa gordura. A massa é então texturizada para se assemelhar à carne, usando agentes gelificantes e firmadores como albumina de ovo, alginato, goma de alfarroba, entre outros. O gel atinge a textura desejada após congelamento oferecendo uma sensação durante a mastigação e suculência semelhante a carne (MOORE, *et al.*, 2000).

O processo fermentativo é encerrado a cada mil horas (cerca de seis semanas) devido a mutações naturais que afetam a textura da micoproteína tornando-a mais friável (fácil de desintegrar), sendo assim, ele é encerrado e um novo ciclo é iniciado (MOORE, *et al.*, 2000).

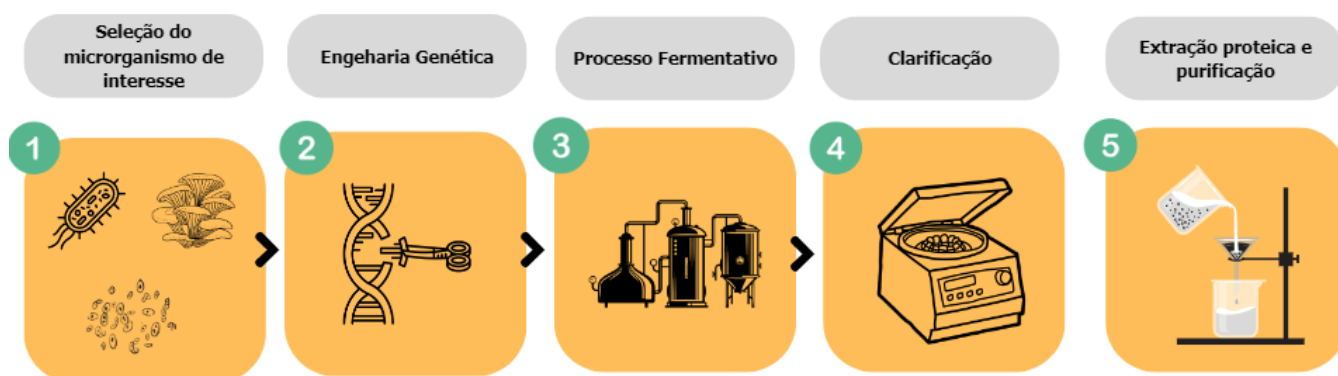
3.4.1.4 Fermentação de precisão

Em fevereiro do ano de 2024, a *Precision Fermentation Alliance* (PFA) e a *Food Fermentation Europe* (FEE) anunciaram uma definição para fermentação de precisão afim de padronizar para todos, sendo ela: “A fermentação de precisão combina o processo de fermentação tradicional com os mais recentes avanços em biotecnologia

para produzir de forma eficiente um composto de interesse, como uma proteína, molécula de sabor, vitamina, pigmento ou gordura”.

Augustin *et al.* (2023) complementa destacando o uso da biologia sintética e especificamente engenharia genética para inserir genes específicos na estrutura de DNA de organismos unicelulares e microrganismos, a fim de que possam produzir produtos e características desejadas em um processo de fermentação. A técnica é largamente utilizada para a produção de medicamentos, cosméticos, porém mais recentemente começou também a ser utilizada para a produção de ingredientes para a indústria alimentícia, principalmente para o setor *plant-based* como: aromas, gorduras, vitaminas, pigmentos, entre outros (BOUKID, 2023). Um esquema com as principais etapas do processo geral se encontra na Figura 7 e serão descritos a seguir.

Figura 7 – Esquema de um processo de fermentação geral



Fonte: Própria autora.

A primeira etapa do processo de fermentação de precisão consiste na seleção do microrganismo hospedeiro. Em um levantamento realizado por Deckers *et al.* (2020) é possível destacar que 50% das proteínas são produzidas em fungos, 35% em bactérias e 15% são provenientes de fontes animais e vegetais. As bactérias são hospedeiros mais econômicos, de fácil manipulação e com uma literatura científica bem estabelecida, o que facilita no momento da manipulação genética. Porém, algumas limitações como problemas no enovelamento, a não realização de modificações pós-traducionais e presença de endotoxinas fazem com que não sejam o hospedeiro ideal (DECKERS *et al.*, 2020).

Já os fungos filamentosos e leveduras são organismos eucarióticos, logo conseguem realizar modificações pós-traducionais e produzem proteínas com enovelamento correto. Além disso, os fungos filamentosos possuem uma alta capacidade de secreção de macromoléculas, o que facilita o processo de purificação; também possuem alta estabilidade de pH e calor. As *Saccharomyces cerevisiae* e *Pichia pastoris*, são exemplos de organismos muito estudado na literatura e que possuem outras características de interesse, como a capacidade de produzir proteínas maiores do que 50 kDa, com alto rendimento e possibilidade de glicosilação (CHAI *et al.*, 2022).

A segunda etapa do processo diz respeito engenharia genética. Nesta etapa, são projetadas e implementadas as modificações genéticas no organismo hospedeiro para alcançar as características desejadas de produção do produto. A ferramenta CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) possibilitou um grande avanço na área de engenharia metabólica possibilitando alterações como a inserção de genes específicos, a remoção ou silenciamento de genes indesejados e a otimização de vias metabólicas para aumentar a eficiência da produção. Augustin *et al.* (2023) categorizou os principais objetivos das alterações genéticas realizadas para produção de enzimas para a indústria alimentícia: aumento de expressão proteica por unidade de biomassa, melhora no tráfego proteico dentro da célula visando secreção, aprimorar atributos físico-químicos como termoestabilidade e remoção não catalítica de alérgenos.

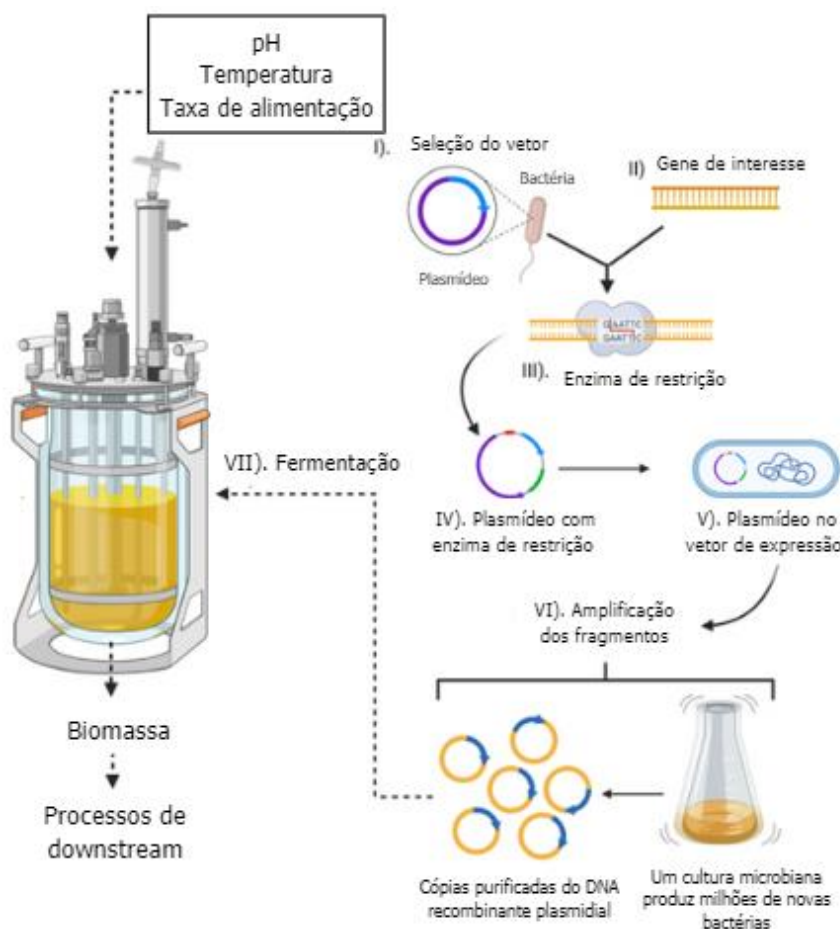
A terceira etapa diz respeito ao cultivo e a o processo fermentativo em biorreatores. Isso pode envolver a inserção de genes específicos, a remoção ou desativação de genes indesejados e a otimização de vias metabólicas para aumentar a eficiência da produção. O organismo hospedeiro geneticamente modificado é cultivado em condições controladas, como temperatura, pH e nutrientes, para permitir a fermentação. Durante este processo, os microrganismos transformam os substratos fornecidos em produtos desejados através de reações bioquímicas específicas (WILLIAMS, 2021).

O processo se inicia com a inoculação do microrganismo no meio de cultura pré-definido e estéril e seu crescimento por alguns dias. Após esse tempo, a cultura é transferida para um biorreator de pequena escala no qual ocorrerá a conversão das substâncias orgânicas nos produtos desejados por meio de reações bioquímicas. No

biorreator os parâmetros são controlados, sendo eles presença ou não de oxigênio, pH, temperatura, afim de que estejam nas condições ótimas para o crescimento do microrganismo e a produção das macromoléculas de interesse (GFI Brasil, 2022c).

O conjunto das etapas realizadas até a fermentação são chamados de *upstream* e podem ser resumidas no esquema da Figura 8. Em seguida, ocorrem os passos para a extração e purificação do produto de interesse, sendo chamado de *downstream*. A recuperação celular é a primeira ação a ser tomada após a fermentação, porém uma lise celular deve ser feita caso a molécula de interesse seja intracelular. As técnicas mais utilizadas são ultrassom, digestão enzimática ou com álcalis; já na indústria são a moagem em moinhos de bolas de vidro e a ruptura sob alta pressão. Caso a molécula seja secretada para o meio de cultura, o que geralmente acontece quando o processo ocorre por meio de fungos filamentosos, o processo segue para a etapa de clarificação (AUGUSTIN *et al.*, 2023).

Figura 8 – Exemplo de processo de fermentação de precisão



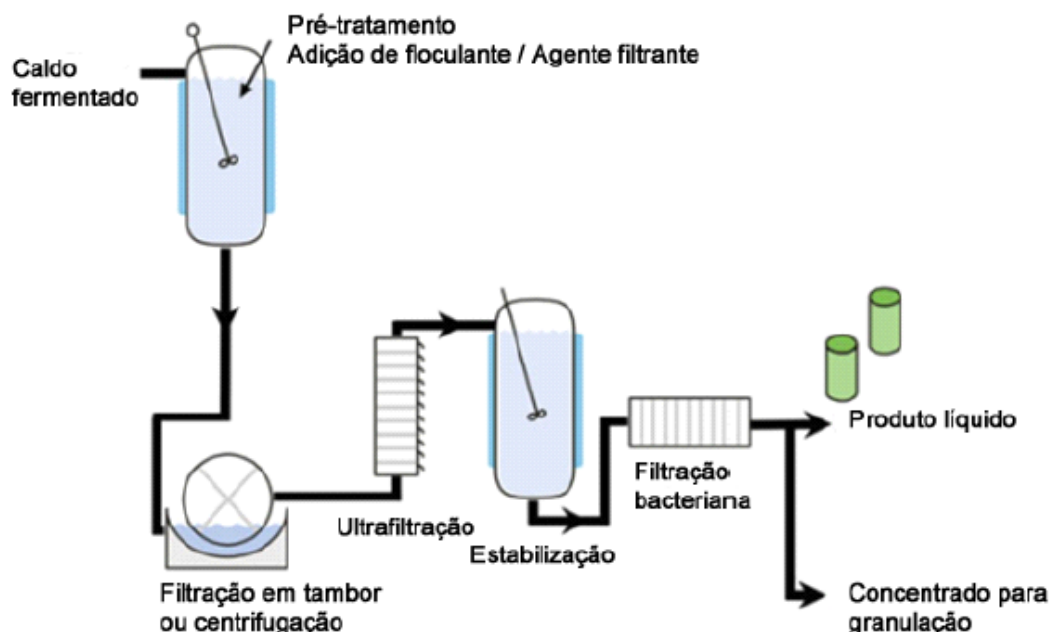
Fonte: Adaptado de DIAZ-BUSTAMANTE (2023).

A clarificação, quarta etapa, diz respeito à separação das células microbianas do caldo de cultivo e geralmente é feita por centrifugação ou filtração em fluxo. É nesta etapa que deverão ser verificados se há a necessidade de remoção de possíveis contaminantes ou moléculas indesejáveis, como por exemplo, remoção de RNA. Por fim, o sobrenadante passa por uma ultrafiltração afim de que o produto de interesse seja concentrado (AUGUSTIN *et al.*, 2023).

A quinta e última etapa é a purificação (Figura 8). Tendo em vista que o objetivo final é o uso das proteínas ou outros componentes para a alimentação, é importante garantir que os padrões de qualidade e segurança alimentar exigidos pela indústria e pelas autoridades regulatórias sejam atendidos. Ademais, a remoção de impurezas e contaminantes melhora as características organolépticas do produto, como sabor, aroma e cor, tornando-o mais atraente para os consumidores e também aumenta a estabilidade do produto final, prolongando sua vida útil e reduzindo a necessidade de conservantes ou aditivos adicionais (MUNIALO *et al.*, 2022).

As técnicas de purificação (Figura 9) se baseiam nas características bioquímicas diferenciadas do produto como ponto isoelétrico (pI), afinidade e hidrofobicidade. As principais técnicas utilizadas são *salting out*, precipitação isoelétrica ou por solventes, cromatografias de troca iônica, exclusão por tamanho e afinidade, eletroforese e diálise. O grau de pureza desejado e a forma de uso do produto (em pó, líquido, em formulações, consumo final) é o que vai determinar quais e quantos passos de purificação serão necessários (AUGUSTIN, 2023). Geralmente, o intuito é que o menor número de técnicas seja utilizado, pois os processos de *downstream* são os que mais encarecem o produto final devido suas complexidades e o valor dos equipamentos e materiais utilizados. Para muitos produtos alimentícios, Augustin *et al.* (2023) destaca que somente uma etapa de cromatografia se faz necessário.

Figura 9 – Visão geral das etapas de recuperação da proteína após a fermentação



Fonte: GFI Brasil (2022c).

Diversas proteínas e enzimas já foram produzidas através deste tipo de fermentação (Tabela 1) e se encontram no mercado em produtos *plant-based* ou não. Um dos casos mais antigos é da quimosina do coalho, uma enzima responsável pela coagulação do leite que antes era extraída a partir do estômago de bezerros. Hoje em dia, ela é produzida por fermentação de precisão pelo fungo filamentoso *Aspergillus niger*. Para produtos *plant-based*, já existem diversas aprovações do FDA. A empresa americana *Impossible Foods* produz uma proteína chamada leghemoglobina através da levedura *Pichia pastoris* para ser adicionada em um hambúrguer “vegetal” (Figura 10). Seu papel é mimetizar a hemoglobina nas carnes de origem animal conferindo a cor avermelhada ao hambúrguer e melhorando outros aspectos organolépticos como sabor, textura e suculência. Outra liberação ocorreu no ramo de laticínios, no qual a empresa *Perfect Day* sediada em Berkeley (Califórnia) produz a partir do fungo filamentoso *Trichoderma reesei* a beta-lactoglobulina do soro de leite. Por fim, é importante destacar que a fermentação de precisão também é fonte para produção de ingredientes a serem utilizados em cultura de células para produção de carne cultivada, sendo eles: mioglobina, fatores de crescimento, colágeno, fibronectina, entre outros.

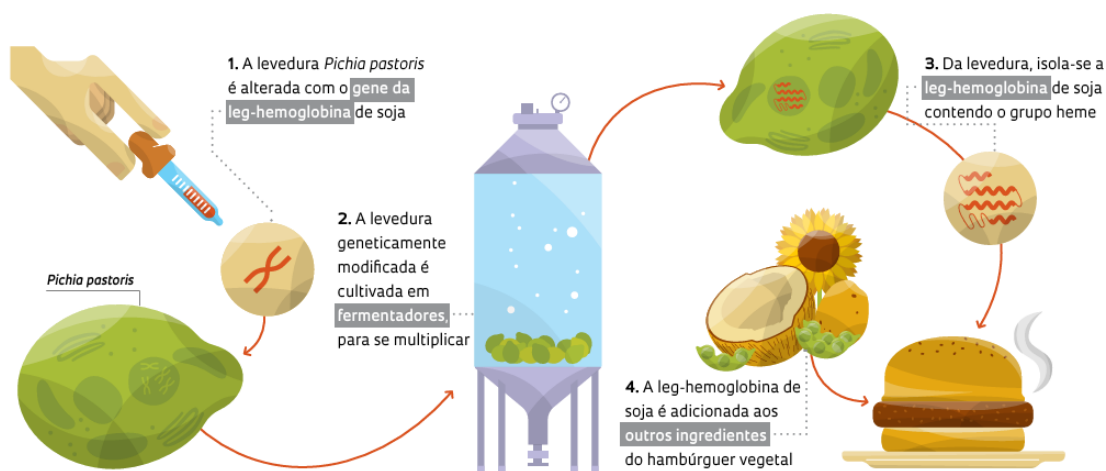
Tabela 1 – Uso da fermentação de precisão na indústria alimentícia

Proteína produzida	Sistema de expressão	Tipo de produto	Empresa envolvida
Quimosina (renina)	<i>Escherichia coli</i> e <i>Aspergillus niger</i>	Enzima para produção de queijo	Vários fabricantes
Hemoglobina de soja	<i>Pichia pastoris</i>	Ingrediente em hambúrguer a base de plantas	Impossible Foods
B-lactoglobulina	<i>Trichoderma reesei</i>	Sorvete	Perfect Day
Proteínas caseína	Levedura	Proteína em pó Iogurte Leite	Grupo Fooditive New Culture Remilk
Mioglobina	<i>Pichia pastoris</i>	Carne a base de planta	Motif FoodWorks
Proteínas da clara de ovo	<i>Komagataella phaffii</i>	Bebidas esportivas	Clara Foods (The Every Company)
Gordura animal	Levedura	Múltiplas	Nourish Ingredients Mission Bams

Fonte: Adaptado de WOOD, TAVAN (2022).

Figura 10 – Processo de produção do Impossible Burger®.

O hambúrguer vegetal da empresa californiana leva um ingrediente especial, a leg-hemoglobina de soja, que confere cor e aroma de carne vermelha



Fonte: AFFONSO (2019).

3.4.2 Agricultura celular

A produção convencional de carne enfrenta diversos desafios em termos de sustentabilidade, sendo eles: as emissões de CO₂ associadas à fermentação entérica durante a criação de animais, as atividades relacionadas à produção de ração – o uso de fertilizantes e pesticidas –, o consumo de terra e água pela agricultura e o uso de produtos veterinários para tratamento dos animais. A agricultura celular representa uma alternativa promissora a esses desafios (EIBL *et al.*, 2021).

O GFI Brasil (2022d) define agricultura celular da seguinte forma: “refere-se a uma área emergente na qual produtos agropecuários - como carne, leite, ovos, madeira, café, entre outros - são produzidos utilizando o cultivo celular como tecnologia fundamental. A agricultura celular usa uma combinação de biotecnologia, engenharia de tecidos, biologia molecular, biologia sintética, biomateriais, engenharia de bioprocessos e biorreatores para criar e projetar estes novos produtos”.

O método de produção de carne cultivada foi patenteado em 2004 por John Vein, e desde então, tem despertado interesse significativo. Em 2013, o primeiro protótipo de carne à base de células de músculo esquelético bovino, na forma de hambúrguer, foi desenvolvido por Mark Post (EIBL *et al.*, 2021).

Ao replicar o perfil sensorial e nutricional da carne convencional, a carne cultivada oferece uma solução sustentável para as preocupações ambientais e éticas associadas à produção de carne animal. Estima-se que o cultivo de carne possa ser mais eficiente em termos de consumo de água e emissões de gases de efeito estufa do que a produção convencional de carne (FATIMA *et al.*, 2023).

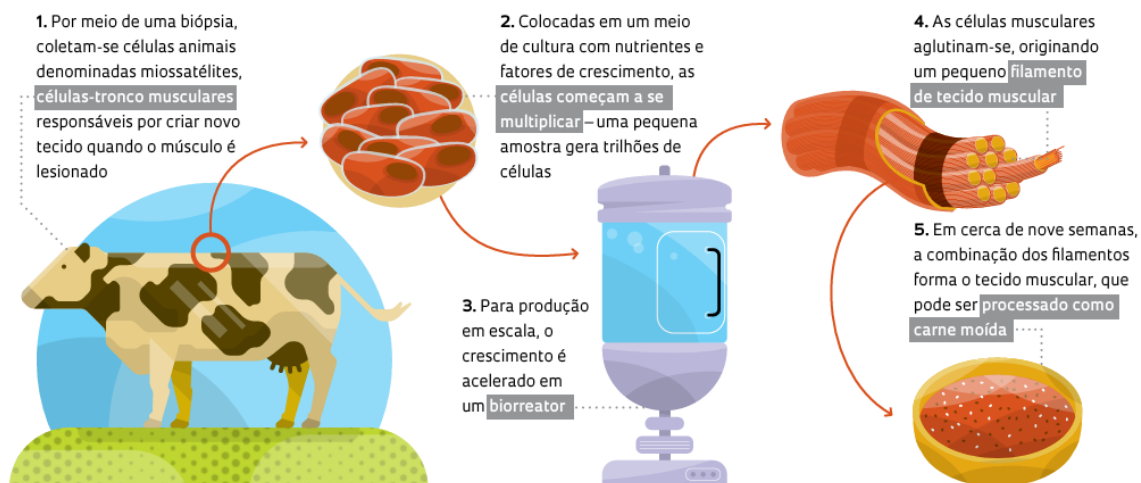
Além de seus benefícios ambientais, a carne cultivada também promete abordar questões éticas relacionadas ao uso de animais para alimentação humana. A indústria da carne tradicional frequentemente enfrenta críticas por suas condições de criação e práticas de abate. Com a carne cultivada, espera-se reduzir significativamente ou até mesmo eliminar a necessidade de abate animal, contribuindo para uma abordagem mais ética e sustentável à produção de carne (FATIMA *et al.*, 2023).

3.4.2.1 Visão geral do processo de produção de carne cultivada

A Figura 11 resume as etapas envolvidas no desenvolvimento dos produtos de carne cultivada.

Figura 11 – Receita *in vitro* de cultivo de proteína animal

Conheça as principais etapas da carne moída produzida em laboratório



Fonte: AFFONSO (2019).

Primeiramente, há a coleta das células, seguida pela sua proliferação em biorreatores. Posteriormente, ocorre a diferenciação celular, resultando em miofibras, adipócitos ou outras formas celulares específicas. Essas células são então estruturadas em suportes, também chamados *scaffolds*. Ao final do processo, a carne cultivada é colhida e submetida ao processamento para se transformar em produtos cárneos consumíveis (TACHIE; NWACHUKWU; ARYEE, 2023).

3.4.2.2 Coleta e cultivo celular

A tecnologia de cultura de células consiste na proliferação celular fora do corpo dos animais, oferecendo uma série de vantagens significativas, incluindo independência sazonal e geográfica, homogeneidade e controle preciso sobre o processo produtivo. Esse método, com enfoque na produção de carne cultivada, tem suas bases na biologia das células-tronco e na engenharia de tecidos, áreas de estudo que exploram tanto a capacidade de autorrenovação das células-tronco quanto a manipulação controlada do desenvolvimento tecidual (FATIMA *et al.*, 2023).

A obtenção das células-tronco constitui um passo crucial nesse processo. Geralmente, dois principais tipos de células são empregados: as células primárias, obtidas diretamente dos tecidos animais, e as linhagens celulares imortalizadas, que foram adaptadas para longos períodos de cultura. Entre as células-tronco derivadas do tecido primário, destacam-se as células-tronco embrionárias, pluripotentes, capazes de gerar qualquer tipo celular, e as células-tronco adultas, multipotentes, obtidas de tecidos adultos e com potencial de diferenciação mais restrito (LEE *et al.*, 2024).

As células-tronco adultas são amplamente utilizadas na produção de carne cultivada, podendo ser coletadas de diversos órgãos por meio de procedimentos semelhantes a biópsias. Três tipos principais de células-tronco adultas são comumente empregados: células-satélite musculares, células-tronco mesenquimais e progenitores fibro/adipogênicos. Essas células possuem capacidade diferenciadora em miócitos, adipócitos, condrócitos e fibroblastos, sendo capazes de compor todos os principais tipos celulares presentes na carne convencional (GFI Brasil, 2022d).

A diferenciação celular em tecido específico é induzida por fatores bioquímicos, visando à expressão de genes relacionados à formação do tecido muscular. Entretanto, diversos desafios precisam ser superados para a produção em escala industrial, incluindo a otimização da capacidade de proliferação e diferenciação celular e a redução da dependência de biópsias recorrentes (LEE *et al.*, 2024).

A imortalização celular surge como uma alternativa viável para manter a proliferação celular em larga escala, possibilitando a continuidade do processo produtivo. Essa técnica, que envolve modificações epigenéticas e super expressão de enzimas telomerasas, está em constante aprimoramento, com diversos estudos sendo conduzidos para sua adaptação com células de animais de criação (PORTO; BERTI, 2022).

Após a coleta e o isolamento das células de interesse, estas são cultivadas em sistemas *in vitro*, onde são proporcionadas condições controladas de temperatura, umidade, nutrientes, pH e nível de dióxido de carbono. As células cultivadas podem crescer como células aderentes, formando uma camada, ou como células suspensas, agregando-se para formar uma massa de alta densidade celular (WIKANDARI *et al.*, 2021).

Os protótipos atuais de carne cultivada são baseados principalmente em células musculares, mas é importante ressaltar que o produto final deve considerar a presença de outros elementos, como sangue, nervos e tecido adiposo, para aprimorar sabor e textura. Diversas combinações estão sendo testadas, como o acréscimo de células de gordura ao tecido muscular, obtendo-se diferentes apresentações do produto final (WIKANDARI *et al.*, 2021).

Embora essa tecnologia apresente um grande potencial, ainda há desafios a serem superados, como a variabilidade na obtenção de tipos celulares e a necessidade de compreender melhor as especificidades nutricionais de cada tipo celular. Mais estudos são necessários para explorar todo o potencial dessa abordagem e suas aplicações futuras na produção de carne cultivada (WOOD *et al.*, 2023).

3.4.2.3 Biorreatores

Um dos maiores desafios enfrentados no sistema de cultura de células é a produção em larga escala, demandando um controle rigoroso, alta replicabilidade e densidade celular superior aos métodos bidimensionais comumente utilizados em bancada. Em contrapartida aos métodos manuais, que são dispendiosos, trabalhosos e propensos a contaminações, o cultivo em escala industrial requer a utilização de biorreatores. Esses equipamentos permitem a automação do processo, planejamento preciso e adaptação específica para cada tipo celular, reduzindo a intervenção humana e os riscos de contaminação (GFI Brasil, 2022d).

Na produção de carne cultivada, a engenharia de biorreatores é uma das tecnologias que demanda atenção e desenvolvimento contínuos. O desenho de um biorreator varia de acordo com o produto final desejado, seja carne moída ou em formato de bife, e nem todos serão projetados para acomodar suportes internos (*scaffolds*). O tamanho do biorreator pode variar dependendo do modelo do suporte utilizado, volume e superfície, bem como eficiência de semeadura, dinâmica de circulação do meio de cultivo, transferência de massa e custo (PORTO; BERTI, 2022).

É importante observar que deverão ser disponibilizados biorreatores para o processo de expansão de células-tronco. Nesses equipamentos, almeja-se a contínua

proliferação de células progenitoras, de forma a se obter populações adequadas para os bancos de células que formarão a base para a expansão celular necessária para a partida de reatores de maior escala (escalas piloto e comercial), os inóculos, dos quais se poderá realizar maior expansão e que, posteriormente, alimentarão os biorreatores onde haverá diferenciação celular (EIBL *et al.*, 2021; WIKANDARI *et al.*, 2021).

Exemplos desses biorreatores são os de movimento ondulatório, onde o meio de cultivo e as células são agitados de forma delicada, promovendo a troca de gases e nutrientes sem que se submeta a estresses mecânicos que poderiam afetar seu desejado fenótipo. Um outro caso é o dos biorreatores de parede rotativa, cujo objetivo é o de simular forças gravitacionais através do movimento do sistema. São também de particular interesse os biorreatores de perfusão, que também podem operar de forma contínua (PORTO; BERTI, 2022; WIKANDARI *et al.*, 2021).

Ao utilizar células satélites, que são um tipo de célula-tronco muscular, localizadas entre a membrana plasmática e a lâmina basal das fibras musculares esqueléticas, o tratamento de indução é realizado primeiro para induzir as células a crescer e proliferar até certo número e depois induzir as células a se fundirem em miotúbulos multinucleados e posteriormente diferenciarem em fibras musculares. Durante o período de indução e diferenciação, ambientes controlados, substrato ou estrutura de crescimento, nutrientes e fatores de crescimento são críticos (WIKANDARI *et al.*, 2021).

Finalmente, é importante observar que todos esses são tipos de biorreatores não foram desenvolvidos para produção de alimentos e sim para encontrar condições ideais de manutenção de certas propriedades celulares. Dessa forma, as oportunidades para inovação na área de engenharia de biorreatores para este fim são grande, o que auxiliará no avanço do segmento e na diversificação de produtos (FATIMA *et al.*, 2023; WOOD *et al.*, 2023).

3.4.2.4 Suportes para cultivo de células animais

Ao contrário dos procedimentos de cultura de células bidimensionais, o cultivo de células em estrutura tridimensional apresenta mais desafios. As células de mamíferos normalmente requerem fixação em alguma superfície para crescimento, por isso, diversos sistemas de ancoragem vêm sendo estudados para o cultivo de

células em biorreatores, como os suportes para estruturação (*scaffolds*) e os microcarreadores (GFI Brasil, 2022d).

Esses sistemas fornecem o suporte mecânico e a porosidade para troca de nutrientes, distribuição de oxigênio, nutrientes e moléculas sinalizadoras, eliminação de resíduos, bem como conferem estrutura e textura mais similares à carne convencional. Além de manter a disposição dessas unidades em crescimento alinhadas em forma de fibras, como ocorre naturalmente na carne convencional e na formação do tecido estruturado. (GFI Brasil, 2022d).

Os microcarreadores adotam a configuração de microesferas, proporcionando uma vasta superfície para que as células se fixem nos biorreatores durante o processo de crescimento, já que permanecem em suspensão na cultura. Sua constituição pode variar entre uma variedade de materiais, sejam eles sintéticos ou naturais. É desejável que, para a produção de carne cultivada, os materiais sejam comestíveis. Caso contrário, devem ser eliminados ao término do processo, o que pode resultar na perda de muitas células, afetando o rendimento final (GFI Brasil, 2022d).

Diversos biomateriais, tanto sintéticos quanto naturais e provenientes de fontes animais ou vegetais, têm sido empregados na engenharia de tecidos como suporte estrutural. Algumas alternativas naturais, derivadas da agricultura e compostas por celulose, como a folha de espinafre descelularizada, têm sido testadas como base de suporte para miócitos, demonstrando resultados promissores. Além disso, a soja texturizada pode ser considerada uma opção viável como sistema de fixação, dada sua natureza proteica e porosa, além de ser comestível. Outros compostos, como amilopectina, quitosana, dextrana, entre outros, também são sugeridos, mas sua aplicabilidade na indústria alimentícia precisa ser mais investigada (GFI Brasil, 2022d).

Uma outra abordagem tecnológica que está sendo adaptada para estruturar a carne cultivada é a bioimpressão 3D, que combina conceitos de engenharia para fabricar tecidos ou órgãos. Embora originalmente aplicada na medicina para produzir tecidos e órgãos com características anatômicas e funcionais semelhantes às humanas, essa tecnologia está sendo direcionada para o contexto da carne cultivada. Nesse processo, biotintas contendo células e outros componentes são depositadas para criar um produto final com espessura, textura e características sensoriais semelhantes às de cortes de carne tradicionais (PORTO; BERTI, 2022).

3.4.2.5 Meio de cultivo

A composição do meio de cultivo desempenha um papel fundamental no sucesso do crescimento celular e nas características finais do produto. Por exemplo, a falta de vitaminas pode levar à degeneração das células musculares, enquanto altas taxas de glicólise podem resultar em acidose e opacidade da carne. Historicamente, os meios de cultura foram desenvolvidos principalmente para aplicações na indústria farmacêutica, o que tornou os custos de produção atualmente elevados e inadequados para a indústria de alimentos (RISCHER; SZILVAY; OKSMAN-CALDENTY, 2020).

Os meios de cultura são considerados elementos críticos na produção industrial de carne cultivada. Um meio de cultura típico para células animais contém água, fontes de carbono, sais inorgânicos, vitaminas, aminoácidos essenciais e não essenciais, além de tampões que otimizam o crescimento celular. Além de moléculas de alta complexidade que são adicionais como suplementos. No entanto, a demanda por nutrientes varia conforme as diferentes fases de crescimento e diferenciação celular, bem como de acordo com a espécie e o tipo celular cultivado (SINGH *et al.*, 2022).

Um meio de cultivo padrão, geralmente, é suficiente para manutenção das células por um curto período, porém, para que elas proliferem por um longo período devem ser suplementadas, sendo o soro fetal bovino (SFB) a forma mais usada. A composição do soro é complexa, sendo uma mistura rica em proteínas e aminoácidos, ácidos graxos, hormônios e fatores de crescimento, além de centenas de outros componentes não conhecidos, o que o caracteriza como um produto quimicamente indefinido. Além disso, sua composição pode variar de acordo com a região geográfica por conta da dieta dos animais, sazonalidade da coleta, pela administração ou não de antibióticos à mãe e idade gestacional do feto. Ainda não se sabe muito bem quais são os componentes especificamente responsáveis por promover o crescimento celular *in vitro*, mas suas principais funções são estimular o crescimento, a adesão e diversas vias do metabolismo celular (STOUT, 2022).

Embora o soro seja frequentemente utilizado, sua origem animal, composição complexa e variação entre lotes levantam preocupações éticas, de bem estar animal e de segurança. Portanto, pesquisas estão em andamento para desenvolver meios de

cultura sintéticos, que eliminem a necessidade de uso animal, reduzam a variabilidade entre lotes e permitam a padronização necessária para a produção em larga escala (GFI Brasil, 2022d; PORTO; BERTI, 2022).

Algumas alternativas em estudo incluem o uso de subprodutos da agroindústria, produção de proteínas recombinantes por fermentação e utilização de extratos de plantas e biomassa de algas. Estudos de engenharia metabólica computacional são cruciais para prever o estado funcional das células e avaliar formulações ideais de nutrientes para o crescimento celular *in vitro* (MOLFETTA *et al.*, 2022).

STOUT (2022) *et al.* realizaram um estudo de otimização de um meio sem SFB chamado B8 que havia sido idealizado para ser de baixo custo e aplicável a iPSCs humanos. O meio B8 possui uma composição simples – glicose, aminoácidos, vitaminas, sais minerais, ácidos graxos e proteínas – e um custo de aproximadamente US\$ 16/L quando utilizando produção interna de fatores de crescimento. Para efeitos comparativos, os autores citam que meios de cultivo comerciais suplementados com 20% de SFB custam em torno de US\$ 200-500/L. Sendo assim, os autores produziram o intitulado *Beefy-9* com a adição de albumina recombinante, o que o tornou adequado para a expansão de longo prazo de células satélites sem sacrificar a miogenicidade. Eles conseguiram um bom resultado com o crescimento celular mantido por 7 passagens e com um tempo médio de duplicação de 39 horas. Por fim, eles ressaltam que o *Beefy-9* é apenas um ponto de partida no setor e que mais otimizações devem ser realizadas afim de que possa ser utilizado em escala industrial.

Outros componentes essenciais ao meio de cultura são os antibióticos e antifúngicos, que reduzem a possibilidade de contaminação no processo de cultivo. Espera-se o uso desses compostos em concentrações reduzidas e/ou apenas em estágios iniciais no processo de cultivo, que apresenta uma maior probabilidade de contaminação, por isso é pouco provável que resíduos de antibióticos e antifúngicos permaneçam no produto final. Apesar disso, é recomendado que a utilização desses compostos seja regulamentada, assim como ocorre na produção de carne convencional na agropecuária por meio da Instrução Normativa nº 26, de 9 de julho de 2009 estabelecida pelo MAPA (Ministério da Agricultura e Pecuária) (GFI Brasil, 2022d).

3.4.2.6 Etapas finais do processo e aspectos nutricionais

As etapas do processamento na elaboração de carne cultivada variam de acordo com o produto final desejado. Após as fases de proliferação e diferenciação, a carne cultivada é coletada para ser utilizada como carne fresca ou como matéria-prima na fabricação de diversos produtos cárneos. Dependendo da finalidade, podem ser adicionadas substâncias como aromatizantes, aglutinantes e aditivos. Assim como a carne convencional, a carne cultivada deve passar por processos adicionais, como esterilização, tratamento térmico, fermentação, entre outros (EIBL *et al.*, 2021).

O controle de qualidade dos produtos derivados de carne cultivada segue os mesmos padrões estabelecidos para os produtos convencionais, e o produto final pode ser oferecido ao consumidor em combinação com ingredientes à base de plantas. A composição nutricional da carne cultivada é crucial e deve ser informada no rótulo do produto, visando a transparência e a informação ao consumidor (WIKANDARI *et al.*, 2021).

É esperado que a carne cultivada tenha um perfil nutricional semelhante ao da carne convencional, podendo até ser enriquecida com vitaminas, antioxidantes e outros compostos benéficos à saúde. Esse perfil varia de acordo com fatores como o tipo de células utilizadas, os materiais de suporte e o meio de cultura (WIKANDARI *et al.*, 2021).

Além disso, certos compostos essenciais presentes na carne convencional podem não estar presentes na carne cultivada, como a vitamina B12 e a vitamina D que não são sintetizadas pelas células musculares. A vitamina B12, por exemplo, é exclusivamente sintetizada pela microbiota bovina. Logo, devem ser suplementadas afim de que se obtenha um produto nutricionalmente completo (WIKANDARI *et al.*, 2021).

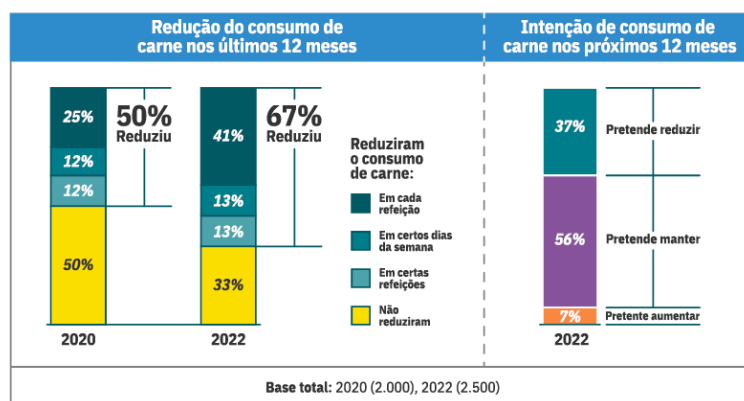
Em termos de segurança alimentar, a carne cultivada apresenta potencialmente menos riscos de contaminação por patógenos transmitidos por alimentos, como os dos gêneros *Salmonella* e *Listeria*, em comparação com a carne convencional. Outras vantagens incluem uma melhor proteção contra a exposição a substâncias nocivas encontradas em aves e gado, como antibióticos, hormônios ou metais pesados (WIKANDARI *et al.*, 2021).

As propriedades sensoriais da carne cultivada, como textura, sabor e aroma, são determinadas por uma série de fatores, como o tipo de células utilizadas, o perfil de ácidos graxos e a presença de compostos de sabor. Para substituir efetivamente a carne tradicional, espera-se que a carne cultivada tenha um sabor comparável ou até superior, embora existam diferenças nas propriedades sensoriais devido à ausência de processos bioquímicos pós-morte e à composição celular complexa, que inclui outros componentes como rede vascular, nervos e tecido conjuntivo (LEE *et al.*, 2024; WOOD *et al.*, 2023).

3.5 O mercado de proteínas alternativas

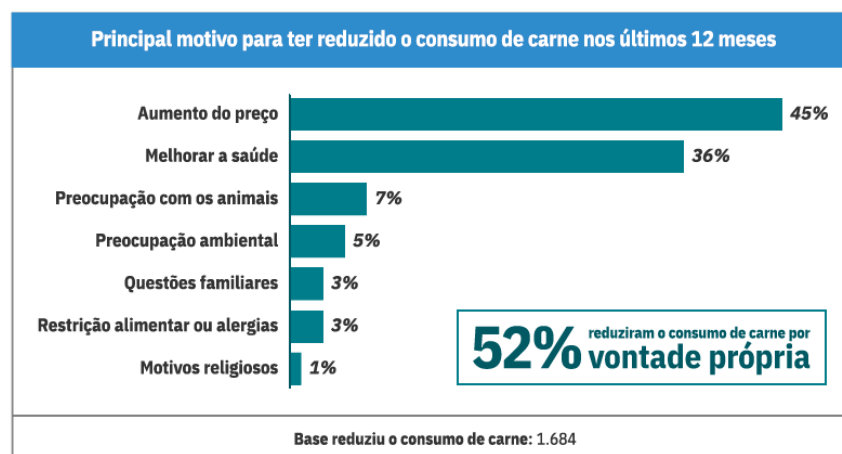
Segundo a plataforma *Passport* da *Euromonitor*, em 2022 o Brasil alcançou 821 milhões de reais em venda no varejo no que diz respeito a substitutos vegetais para carne e frutos do mar e 612 milhões de reais no comércio de leites vegetais, estimando um faturamento de 425,3 milhões de dólares até 2026 (GFI Brasil, 2024). Estes resultados podem ser explicados pela pesquisa realizada pelo GFI Brasil (2022b) que investigou os consumidores brasileiros e seus motivos de consumir esses produtos de origem não-animal. Eles identificaram que 67% (Figura 12) dos brasileiros já haviam diminuído consumo de carne devido ao aumento do preço e também por razões de saúde, como digestão, redução de peso e colesterol (Figura 13). Além disso, 56% indicam que pretendem manter a decisão, mostrando que o comportamento não é temporário.

Figura 12 – Comportamento do consumidor brasileiro e sua intenção de redução do consumo de carne animal



Fonte: GFI Brasil (2022b).

Figura 13 – Motivos do consumidor brasileiro para a redução do consumo de carne animal.



Fonte: GFI Brasil (2022b).

No que diz respeito à regulamentação destes produtos, houve um avanço em dezembro de 2023 com a divulgação pela ANVISA da RDC (Resolução da Diretoria Colegiada) nº 839/2023 (BRASIL, 2023), o novo marco regulatório de novos alimentos e novos ingredientes, que inclui os desenvolvidos por cultivo celular e fermentação. O documento regulamenta as etapas e os critérios que devem ser cumpridos afim de que comprovem a segurança do produto, sendo as etapas: seleção, preparação e manutenção das linhagens celulares, detalhes sobre o processo de fabricação e a composição do meio de cultura, bem como informações sobre o valor nutricional dos produtos resultantes.

O próximo passo está sob responsabilidade do MAPA que irá estabelecer regulamentos adicionais acerca de registro de produto, normas de rotulagem e regras com relação à inspeção das instalações produtivas. Com a publicação deste regulamento, o Brasil se junta a países como os Estados Unidos, Singapura, Israel e os membros da União Europeia, que foram pioneiros ao estabelecer suas diretrizes de regulamentação e segurança de novos alimentos se baseando em evidências científicas e que irão promover inovação e investimentos (BRASIL, 2024).

3.5.1 O mercado da fermentação

Boukid *et al.* (2023) indica que as perspectivas do mercado de ingredientes alimentícios alternativos que sejam mais sustentáveis e livres de origem animal estão impulsionando o interesse na fermentação de precisão. O mercado global dos

produtos provenientes da técnica foi avaliado em USD 329,29 milhões em 2021 e espera-se que alcance USD 422,26 milhões até 2026. A Tabela 2 mostra a representação por região de empresas do segmento e a Tabela 3 as empresas atuantes por tipo de fermentação.

Tabela 2 – Cenário do mercado global de alimentos fermentados à base de plantas

Região	Número (% do total) ¹	Top 10 Marcas
Europa	3128 (71%)	Fentimans; Alpro; Tesco Finest; M&S Food; M&S Bakery; Tesco; Asda Extra Especial; BFree; Marks&Spencer; Sojasun
Ásia-Pacífico	729 (17%)	Maggi; Pascual; East Bali Cashews; Javara; LO Bros; Prima Ham Try Veggie; Remedy Kombucha, Coles; Elle&Vire; Fentimans
América do Norte	299 (7%)	Genuine Health; Field Roast Chao; Nuts for Cheese; Naked&Saucy; BFree; Field Roast Chao Vegan Creamery; Health-Ade Pop; Booch; Brami; Hu
América Latina	154 (4%)	Nomoo; Ile de France; Milkaut; Liane; Mun; Augusta; Emporium Vida; Neptune; Nogurt; Soignon
Oriente Médio e África	69 (2%)	Woolworths Food; Soignon; Carrefour; Fry's Special Vegetarian; Kefir Life; Moya; Vigo Kombucha; Woolworths; Fynbos Fine Foods; Herman Brot

¹Total de produtos fermentados à base de plantas: 4379

Fonte: Adaptado de BOUKID (2023).

As alternativas lácteas à base de plantas produzidas por fermentação representam 26,30% do total de alimentos à base de plantas fermentadas vendidos no mercado. Levando em consideração “os queijos” fermentados, o mercado global foi avaliado em USD 2,70 milhões em 2019 e espera-se que alcance USD 4,58 bilhões até 2025. Os queijos fermentados à base de plantas estão disponíveis em uma variedade de tipos, como camembert, Roquefort e feta, além de diferentes formas, incluindo fios, blocos e fatias, e texturas, como duro, macio, cremoso e espalhável, adaptando-se a diversas aplicações. Esta indústria está cada vez mais recorrendo a tecnologias de fermentação para produzir produtos de alta qualidade, ao mesmo tempo em que reduz o uso de amidos e gorduras vegetais (BOUKID, 2023).

Tabela 3 – Tipos de fermentação na indústria de proteínas alternativas

Tipo de Fermentação	Descrição do produto	Empresa	País	Ano
Tradicional	Produtos alimentícios fermentados à base de plantas	Väcka	Espanha	2019
	Alternativas de carne e peixe em pedaços integrais minimamente processados, cultivadas naturalmente a partir de micélio fúngico	Bosque Foods	EUA	2020
	Dieta mediterrânea: grãos, legumes, nozes e sementes para impulsionar a fermentação	The Mediterranean Lab	Israel	2017
	logurte à base de plantas fermentadas otimizado para a saúde intestinal	Wellme	China	2021
	Proteínas de ervilha e arroz fermentadas pelo micélio de shiitake	Mycotechnology	EUA	2013
Biomassa	Substitutos de carne à base de micoproteínas.	Quorn	Reino Unido	1985
	Alimentos à base de microalgas que substituem ovos, frutos do mar, carne e laticínios.	Algama	França	2013
	Produção de análogo de carne bovina por meio de uma mistura de leveduras ricas em proteínas.	More Foods	Israel	2019
	Carnes de corte inteiro à base de micélio, incluindo bacon sob a marca "MyBacon".	MyForest Foods	Estados Unidos	2019
	Proteína à base de algas.	Sophie's BioNutrients	Singapura	2010
Precisão	Proteínas funcionais para a indústria alimentícia, à base de fermentação e sem OGM, começando com ovoalbumina vegana e proteínas relacionadas.	Eggmented Reality	Israel	2022
	Proteínas e gorduras lácteas livres de origem animal.	Maya Milk	Turquia	2021
	Produtos de carne à base de plantas, sob a marca "BUDS", e produtos lácteos, sob a marca "MilkCELL".	All G Foods	Austrália	2020
	Proteína do leite obtida por meio de fermentação microbiana.	Zero Cow Factory	Índia	2020
	Proteínas de carne e peixe produzidas através de fermentação de precisão	Paleo	Bélgica	2020

Fonte: Adaptado de BAJIC (2022).

Já com relação aos custos do processo, o escalonamento para a fermentação de precisão é identificado como um desafio significativo que requer atenção ao traduzir a tecnologia de fermentação para a escala comercial. Os equipamentos e materiais requeridos possuem um valor muito alto, porém têm diminuído exponencialmente desde que as primeiras moléculas foram produzidas. Os princípios utilizados para reduzir o custo de nutrientes para cultivo incluem o possível uso de recursos baratos como fontes alternativas de nutrientes, por exemplo, fluxos de resíduos ou subprodutos como fontes de carbono e nitrogênio baratas e renováveis (BOUKID, 2023).

O mercado brasileiro conta com 107 empresas no banco de dados do GFI (2024) atuantes no mercado *plant-based* com substitutos para carne, leite, derivados lácteos e ovos. As primeiras *startups* brasileiras a desenvolverem produtos por meio de cultivo celular ou fermentação se encontram na Tabela 4.

Tabela 4 – Startups brasileiras que utilizam fermentação de precisão e cultivo celular na produção de seus produtos

Empresa	Produto/Serviço
Cellva	Gordura de porco cultivada
Moondo	Tilápia e couro cultivados
Sustineri Piscis	Robalo cultivado
Updairy	Proteínas lácteas obtidas à partir de fermentação de precisão
Typcal	Produto alternativo ao frango obtido à partir de fermentação de biomassa – micélio
PAS Biotec	Realizam fermentação de precisão/cultivo celular
Tekobá Foods	Proteínas a partir de fermentação

Fonte: Adaptado de PORTO & BERTI (2022).

3.5.2 O mercado da carne cultivada

O mercado de carne cultivada tem despertado grande interesse e expectativa, com projeções indicando um crescimento significativo nos próximos anos. Segundo PORTO & BERTI (2022), a produção anual de carne cultivada poderá alcançar milhões de toneladas métricas e gerar bilhões de dólares em receita até 2030 e 2040, respectivamente. A evolução do mercado é evidente pelo aumento do interesse de grandes investidores como Cargill e Mitsubishi, com fluxos de capital significativos

direcionados para a indústria de carne cultivada. Desde os primeiros investimentos em 2020, o setor já atraiu mais de um bilhão de dólares em financiamento até setembro de 2021.

O desenvolvimento da carne cultivada teve marcos importantes ao longo da última década. O primeiro hambúrguer de carne cultivada foi produzido em laboratório em 2013, pelo professor Mark Post, na Universidade de Maastricht, na Holanda representando um avanço significativo na tecnologia. Desde então, as empresas têm trabalhado para otimizar os processos de produção e reduzir os custos, tornando a carne cultivada mais acessível ao consumidor. À época, o hambúrguer de Post custou 200 mil euros para ser produzido, em 2019, já custava 9 euros. Hoje a *startup* holandesa Mosa Meats toma conta da automação do processo afim de alcançar uma escala comercial de produção (PORTO; BERTI, 2022).

A Singapura foi o primeiro país a obter aprovação regulatória para comercialização de seu frango cultivado, da empresa GOOD Meat, subsidiária da Eat Just no ano de 2020. Mais recentemente, no ano de 2024, obteve sua segunda aprovação agora para uma codorna japonesa produzida pela *startup* australiana Vow. Em junho de 2023, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos aprovou os produtos da GOOD Meat e da UPSIDE Foods para comercialização, que, previamente, já haviam sido aprovados pelo FDA que o considerou seguro para consumo humano (PORTO; BERTI, 2022).

Empresas líderes do setor alimentício, como JBS (José Batista Sobrinho) e BRF (Brasil Foods), também estão entrando no mercado de carne cultivada, estabelecendo parcerias e investindo em pesquisa e desenvolvimento. A BRF firmou uma parceria com a empresa Aleph Farms para comercialização no Brasil. E, em 2021, JBS se tornou acionista da empresa Biotech Foods afim de construir o primeiro centro de pesquisa e desenvolvimento brasileiro para o estudo das proteínas alternativas. Esses movimentos destacam o potencial disruptivo da carne cultivada e seu papel na transformação do setor de alimentos (PORTO; BERTI, 2022).

4 CONCLUSÃO

A demanda por alimentos sustentáveis e nutritivos está impulsionando a busca por alternativas às fontes convencionais de proteína animal, geralmente atreladas à impactos ambientais. Nesse contexto, a biotecnologia e os bioprocessos surgiram como ferramentas importantes para enfrentar os desafios da produção de novos alimentos.

A manipulação genética de microrganismos tem sido fundamental para aumentar a produção e melhorar a qualidade das proteínas alternativas. Técnicas como CRISPR-Cas9 permitem modificações precisas no genoma, levando ao desenvolvimento de culturas mais resistentes e características desejáveis para a produção de proteínas e outros ingredientes de interesse. Essas culturas são aplicadas a bioprocessos que oferecem uma abordagem sustentável e eficiente, resultando em produtos de alta qualidade e baixo impacto ambiental.

Outra técnica da área de biotecnologia e bioprocessos utilizada é a cultura de células, especialmente células de tecido animal, que está revolucionando a produção de proteínas de origem animal sem a necessidade de criação ou abate de animais. Essa técnica promissora permite a produção de carne cultivada em laboratório, oferecendo uma alternativa ética e sustentável à produção convencional de carne. Um de seus maiores desafios é o de encontrar um substituto à altura para o SFB, tendo em vista que ele é de origem animal.

Em síntese, a biotecnologia e os bioprocessos representam uma ferramenta poderosa na produção de proteínas alternativas, oferecendo soluções inovadoras para os desafios enfrentados pela indústria alimentícia contemporânea. Aspectos como segurança alimentar, sustentabilidade e bem-estar animal estão sendo solucionados pelas inovações da área, além de melhora na textura e sabor dos produtos, características tão valiosas ao consumidor. Além disso, os altos valores observados em investimentos e lucros nas áreas de fermentação e carne cultivada indicam que o mercado apoia o uso dessas ferramentas e validam seus resultados.

REFERÊNCIAS

AFFONSO, A. Bife de laboratório. **Revista FAPESP**, ed. 281, jul. 2019. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/bife-de-laboratorio-2/>. Acesso em: 5 abr. 2024

AIKING, H.; DE BOER, J. The next protein transition. **Trends in Food Science & Technology**, v. 105, p. 515–522, nov. 2020. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.07.008.

AHMAD, M. *et al.* A review on mycoprotein: History, nutritional composition, production methods, and health benefits. **Trends in Food Science & Technology**, v. 121, p. 14–29, mar. 2022. DOI: 10.1016/j.tifs.2022.01.27

ALCORTA, A. *et al.* Foods for plant-based diets: challenges and innovations. **Foods**, v. 10, n. 2, p. 293, 1 fev. 2021. DOI: 10.3390/foods10020293

ALLIANCE, P. F. **Precision Fermentation Alliance and Food Fermentation Europe finalize a refined definition of precision fermentation**. 2024. Disponível em: <https://www.prnewswire.com/news-releases/precision-fermentation-alliance-and-food-fermentation-europe-finalize-a-refined-definition-of-precision-fermentation-302070553.html>. Acesso em: 5 abr. 2024.

ARORA, S. *et al.* Comprehensive review on the role of plant protein as a possible meat analogue: framing the future of meat. **ACS Omega**, v. 8, n. 26, p. 23305 – 23319, 20 jun. 2023. DOI: 10.1021/acsomega.3c01373

ARSHAD, M. S. *et al.* Tissue engineering approaches to develop cultured meat from cells: A mini review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 3, n. 1, 20 maio 2017. DOI: 10.1080/23311932.2017.1320814

ASCHEMANN-WITZEL, J. *et al.* Plant-based food and protein trend from a business perspective: markets, consumers, and the challenges and opportunities in the future. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 61, n. 18, p. 3119-3128, jul. 2020. DOI: 10.1080/10408398.2020.1793730

AUGUSTIN, M. A. *et al.* Innovation in precision fermentation for food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1–21, 14 jan. 2023. DOI: 10.1080/10408398.2023.2166014

BAJIĆ, B *et al.* Biotechnological production of sustainable microbial proteins from agro-industrial residues and by-products. **Foods**, v. 12, n. 1, p. 107–107, 25 dez. 2022. DOI: 10.3390/foods12010107

BOUKID, F. *et al.* Fermentation for designing innovative plant-based meat and dairy alternatives. **Foods**, v. 12, n. 5, p. 1005, 27 fev. 2023. DOI: 10.3390/foods12051005

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diretoria Colegiada. Resolução RDC nº 839, de 14 de dezembro de 2023. Dispõe sobre a comprovação de segurança e autorização de uso de novos alimentos e novos ingredientes. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 239, p. 172, 18 dez. 2023.

CABRERA-BARJAS, G. Food biotechnology: Innovations and challenges. *In*: BAHT, R. (ed.). **Future foods**: global trends, opportunities, and sustainability challenges. London: Academic Press, 2022. p. 697–719.

CHAI, K. F. *et al.* Precision fermentation to advance fungal food fermentations. **Current Opinion in Food Science**, v. 47, p. 100881, out. 2022. DOI: 10.1016/j.cofs.2022.100881

DAHABIEH, M. S.; BRÖRING, S.; MAINE, E. Overcoming barriers to innovation in food and agricultural biotechnology. **Trends in Food Science & Technology**, v. 79, p. 204–213, set. 2018. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.07.004

DAMASO, M.; COURI, S. **Fermentação**. Portal Embrapa, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/tecnologia-de-alimentos/processos/tipos-de-processos/fermentacao>. 9 dez. 2021. Acesso em: 10 jun. 2024.

DECKERS, M. *et al.* Genetically modified micro-organisms for industrial food enzyme production: an overview. **Foods**, v. 9, n. 3, p. 326, 11 mar. 2020. DOI: 10.3390/foods9030326

DIAZ-BUSTAMANTE, M. L. *et al.* Trends and prospects in dairy protein replacement in yogurt and cheese. **Heliyon**, 9, p. e16974–e16974, 1 jun. 2023. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e16974

EIBL, R. *et al.* Cellular agriculture: opportunities and challenges. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 12, n. 1, p. 51–73, 25 mar. 2021. DOI: 10.1146/annurev-food-063020-123940

FAO. **The State of Food Security and Nutrition in the World (SOFI)**. Rome: FAO, 2017.

FATIMA, N. *et al.* Recent advances in microalgae, insects, and cultured meat as sustainable alternative protein sources. **Food and Humanity**, v. 1, p. 731–741, 1 dez. 2023. DOI: 10.1016/j.foohum.2023.07.009

GOOD FOOD INSTITUTE (GFI). **Alternative protein company database**. 2024c. Disponível em: <https://gfi.org/resource/alternative-protein-company-database>. Acesso em: 5 abr. 2024.

GOOD FOOD INSTITUTE (GFI) BRASIL. **Estudo regulatório sobre proteínas alternativas no brasil - fermentação**. 2022a. Disponível em: <https://gfi.org.br/recursos/>. Acesso em: 19 jun. 2023.

GOOD FOOD INSTITUTE (GFI) BRASIL. **Pesquisa 2022 – O consumidor brasileiro e o mercado plant-based**. 2022b. Disponível em: <https://gfi.org.br/recursos/#industria>. Acesso em 3 abr. 2024.

GOOD FOOD INSTITUTE (GFI) BRASIL. **Série Tecnológica das Proteínas Alternativas – Fermentação e processos fermentativos**. 2022c. Disponível em: <https://gfi.org.br/recursos/#industria>. Acesso em 3 abr. 2024.

GOOD FOOD INSTITUTE (GFI) BRASIL. **Série Tecnológica das Proteínas Alternativas – Carne cultivada**. 2022d. Disponível em: <https://gfi.org.br/recursos/#industria>. Acesso em 3 abr. 2024.

GOOD FOOD INSTITUTE (GFI) BRASIL. **Mercado brasileiro de carnes e leites vegetais cresceu 42% e 15%, respectivamente, em 2022**. c2022. Disponível em: <https://gfi.org.br/mercado-brasileiro-de-carnes-e-leites-vegetais-cresceu-42-e-15-respectivamente-em-2022/>. Acesso em: 5 abr. 2024.

HEO, S. *et al.* Current status of the novel food ingredient safety evaluation system. **Food Science and Biotechnology**, v. 33, n. 1, p. 1-11, 9 ago. 2023. DOI: 10.1007/s10068-023-01396-w

LÄHTEENMÄKI-UUTELA, A. *et al.* Alternative Proteins and EU food law. **Food Control**, v. 130, n. 108336, 2021. DOI: 10.1016/j.foodcont.2021.108336

LEE, M. *et al.* Cultured meat with enriched organoleptic properties by regulating cell differentiation. **Nature Communications**, v. 15, n. 1, 2 jan. 2024. DOI: 10.1038/s41467-023-44359-9

MA, J. *et al.* Yeast proteins: The novel and sustainable alternative protein in food applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 135, p. 190–201, 1 abr. 2023. DOI: 10.1016/j.tifs.2023.04.003

MCCLEMENTS, D. An ethical dilemma: to meat or not to meat?. *In*: **Meat less: the next food revolution..** Cham: Copernicus Books, p. 251. 2023.

MOORE, D.; ROBSON, G. D.; TRINCI, A.P.J. Whole organisms biotechnology. *In*: ROBSON, G.D. (Ed.). **21st Century Guidebook to Fungi**. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.

MOLFETTA, M. *et al.* Protein sources alternative to meat: state of the art and involvement of fermentation. **Foods**, v. 11, n. 14, p. 2065, 12 jul. 2022. DOI: 10.3390/foods11142065

MUNIALO, C. *et al.* Extraction, characterisation and functional applications of sustainable alternative protein sources for future foods: a review. **Future Foods**, v. 6, p. 100152, dez. 2022. DOI: 10.1016/j.fufo.2022.100152

ONU. **Objetivos de Desenvolvimento Sustentável**: as Nações Unidas no Brasil. c2024. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em: 19 jun. 2023.

PORTO, L; BERTI, F. **Carne cultivada: perspectivas e oportunidades para o Brasil**. 2022. Disponível em: <https://gfi.org.br/recursos/#industria>. Acesso em: 5 abr. 2024.

RISCHER, H.; SZILVAY, G. R.; OKSMAN-CALDENTY, K.-M. Cellular agriculture — industrial biotechnology for food and materials. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 61, p. 128–134, fev. 2020. DOI: 10.1016/j.copbio.2019.12.003

SARAVANA, P. *et al.* Strategies to mitigate protein deficit. *In*: JULIANO, P. (Ed.). **Food engineering innovations across the food supply chain**. San Diego: Elsevier Science & Technology, 2022, p. 107–130.

SINGH, S. *et al.* Cultured meat production fuelled by fermentation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 120, p. 48–58, fev. 2022. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.12.028

SOUSA, B. *et al.* Industrial fermentations: definition, importance, classification and microorganisms involved. **Journal of Medicine and Health Promotion**, v. 2, n. 3, p. 735–751, out/dez. 2017. ISSN: 2448-1394

STOUT, A. *et al.* Simple and effective serum-free medium for sustained expansion of bovine satellite cells for cell cultured meat. **Communications Biology**, v. 5, n. 1, p. 1–13, 2 jun. 2022. DOI: 10.1038/s42003-022-03423-8

SUSTENTAREA. **ODS 2 e as mudanças climáticas**. 2020a. Disponível em: <https://www.fsp.usp.br/sustentarea/2020/11/09/ods-2-e-as-mudancas-climaticas/>. Acesso em: 5 abr. 2024.

SUSTENTAREA. **ODS 13 e as mudanças climáticas**. 2020b. Disponível em: <https://www.fsp.usp.br/sustentarea/2020/11/09/ods-13-e-as-mudancas-climaticas/>. Acesso em: 5 abr. 2024.

TACHIE, C.; NWACHUKWU, I. D.; ARYEE, A. N. A. Trends and innovations in the formulation of plant-based foods. **Food Production, Processing and Nutrition**, v. 5, n. 1, 2 mar. 2023. DOI: 10.1186/s43014-023-00129-0

THE WHITE HOUSE OFFICE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY POLICY. **Bold goals for U.S. biotechnology and biomanufacturing: harnessing research and development to further societal goals**. Washington, DC: The White House, 2023.

WIKANDARI, R. *et al.* Application of cell culture technology and genetic engineering for production of future foods and crop improvement to strengthen food security. **Bioengineered**, v. 12, n. 2, p. 11305–11330, 2 dez. 2021. DOI: 10.1080/21655979.2021.2003665

WILLIAMS, R. A. Opportunities and challenges for the introduction of new food proteins. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 12, n. 1, 5 jan. 2021. DOI: 10.1146/annurev-food-061220-012838

WOOD, P. *et al.* “Cellular agriculture”: current gaps between facts and claims regarding “cell-based meat”. **Animal Frontiers**, v. 13, n. 2, p. 68–74, 1 abr. 2023. DOI: 10.1093/af/vfac092

WOOD, P.; TAVAN, M. A review of the alternative protein industry. **Current opinion in Food Science**, v. 47, p. 100869, out. 2022. DOI: 10.1016/j.cofs.2022.100869

WORLD RESOURCES INSTITUTE. **Creating a sustainable food future: a menu of solutions to feed nearly 10 billion people by 2050**. Final report, July 2019. Disponível em: <https://www.wri.org/research/creating-sustainable-food-future>. Acesso em: 22 jun. 2023.

XIAO, X. *et al.* Updates on plant-based protein products as an alternative to animal protein: technology, properties, and their health benefits. **Molecules**, v. 28, n. 10, p. 4016, 1 jan. 2023. DOI: 10.3390/molecules28104016