DISEÑO Y DESARROLLO DE MOLDES Y MATRICES CON SUPERFICIES MICROESTRUCTURADAS PARA SCAFFODS QUE PERMITAN LA DIFERENCIACIÓN DE CÉLULAS MUSCULARES

Diego Benavente | Profesores guías: Dr. Pablo Prieto y Dr. Cristian Acevedo

Resumen

El siguiente trabajo forma parte del proyecto FONDECYT N° 1160311, en el Centro de Biotecnología “Dr. Daniel Alkalay Lowitt”, este proyecto consiste en el desarrollo de micro y nano estructuras comestibles para fabricar carne in-vitro.

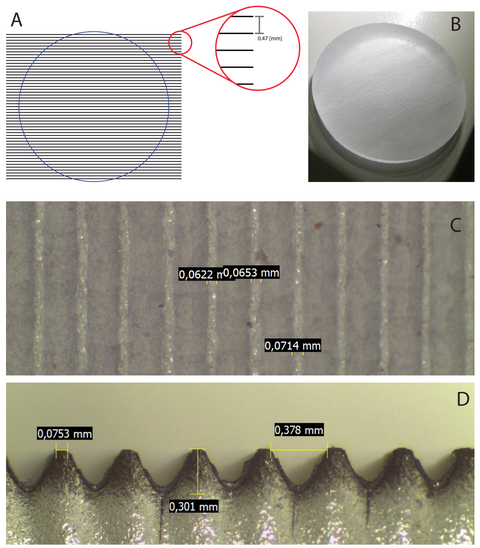
La carne in-vitro es un tejido muscular comestible producido en laboratorio, varios estudios informan del beneficio de producir este alimento, por ejemplo, el bienestar animal, la reducción de enfermedades transmitidas por animales y la disminución del impacto ambiental del sector ganadero.

Para producir este tipo de alimento, hay una serie de elementos que deben ser estudiados y optimizados, uno de ellos es la microestructura de la matriz donde se cultivarán las células, estas deben poseer forma de canal debido a que permiten la alineación de las células diferenciadas para la generación de fibras musculares que, unidas entre sí, forman la carne comestible.

Para la generación de estos moldes micro estructurados, se han utilizado dos tipos de tecnologías, una de ellas es la estereolitografía y la segunda el corte por láser.

Para ello fue necesario el uso de tecnologías CAD, para el diseño y modelación de las muestras.

Parámetros



Moldes hechos a partir del corte por láser. (A) Diagrama del molde, (B) Molde hecho a partir del corte por láser, (C) Vista frontal del molde y (D) Vista lateral del molde

Separación entre surcos en dibujo 2D: 0.47 [mm]

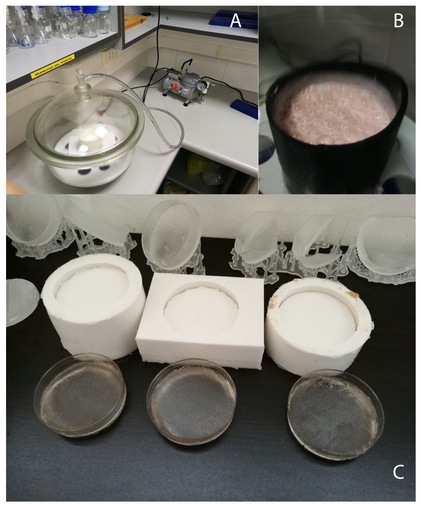
Para semi-corte (surcos):

- Laser power: 25
- Corner power: 22
- Speed: 300

Para corte (generar la placa):

- Laser power: 90
- Corner power: 90
- Speed: 20

Matrices replicadoras



Proceso de fabricación de matrices replicadoras, (A) Cámara de vacío, (B) Proceso de extracción de aire en cámara de vacío y (C) matrices finales con réplicas a partir de resina de poliester.

Luego de obtenidos los moldes apropiados, se generan matrices de caucho de silicona, esto para obtener futuras replicas de los moldes creados a partir del corte láser.

Ya obtenido el molde en caucho de silicona se realizan réplicas en resina poliester.

Con las réplicas hechas en resina, se vierte la mezcla del biopolímero el cual debe pasar por distintos cambios de temperatura para finalmente obtener los scaffolds.

Preparación de Scaffolds

- Disolver los componentes de forma separada a 50°C en un baño termorregulado.

- Mezclar estas en una botella nueva en un baño termorregulado a 50°C por 45 [min].

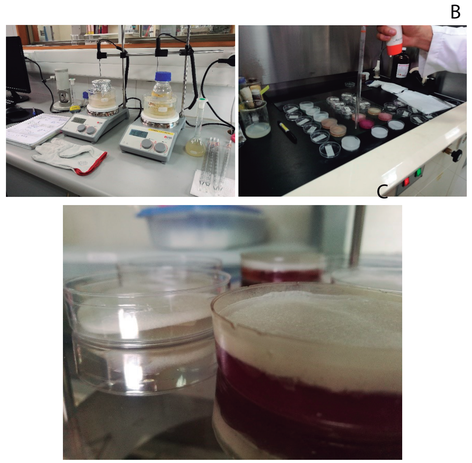
- Verter la mezcla en los moldes micro estructurados y reposar a temperatura ambiente durante 3 a 4 [hrs].

- Pasar las muestras a 4°C al por 12 [hrs].

- Colocar a -20°C por 8 [hrs].

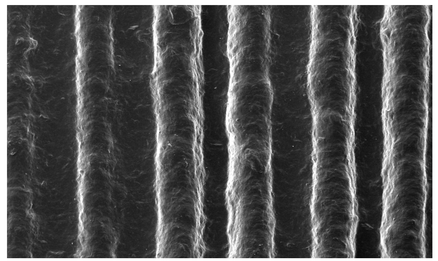
- Situar a -80°C por 15 [hrs].

- Liofilizar.

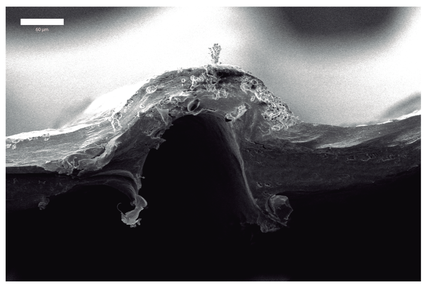


Proceso de fabricación de scaffolds, (A) mezcla de reactivos en baño termoregulado, (B) Utilización de pipeta regulada para verter los reactivos a los moldes microestructurados y (C) Resultado de scaffolds luego de liofilizar.

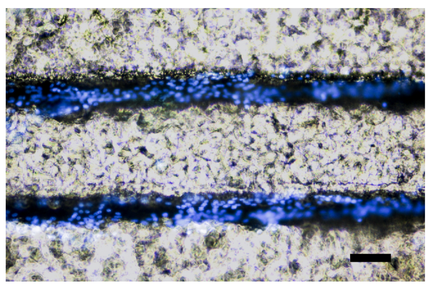
Resultados en scaffolds



Scaffodls a base de gelatina de pez (0.36%), alginato (0.6%), agarosa (0.04%) y glicerol (0.02%)



Scaffodls a base de gelatina de pez (0.36%), alginato (0.6%), agarosa (0.04%) y glicerol (0.02%)



Ensayo de scaffodls microestructurados con células