

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Departamento de Agroindustria Alimentaria
Ingeniería en Agroindustria Alimentaria



Proyecto Especial de Graduación

**Impresión 3D de análogos de carne a partir de proteínas
vegetales utilizando alginato de sodio y transglutaminasa
como agentes reticulantes**

Estudiantes

Juan José Juárez García

Misael Abisaí López Camposeco

Asesores

Adela M. Acosta, D.Sc.

Jorge A. Cardona, Ph.D.

Honduras, noviembre 2023

Autoridades

SERGIO ANDRÉS RODRÍGUEZ ROYO

Rector

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

ADELA M. ACOSTA MARCHETTI

Directora Departamento de Agroindustria Alimentaria

HUGO ZAVALA MEMBREÑO

Secretario General

Contenido

Índice de Cuadros.....	5
Índice de Figuras	6
Índice de Anexos.....	7
Resumen	8
Abstract.....	9
Introducción.....	10
Materiales y Métodos.....	13
Localización del Estudio	13
Materiales y Equipo	13
Materias Primas	13
Equipos.....	13
Software.....	14
Modelado 3D	14
Análisis Preliminar y Acondicionamiento de Materias Primas	15
Capacidad de Impresión	15
Ventana de Impresión.....	15
Fidelidad de Forma X, Y, Z.....	16
Fidelidad de Forma por Correlación Digital de Imágenes.....	17
Parámetros Críticos.....	17
Análisis de Transglutaminasa.....	17
Curvas de Flujo.....	18
Estimación de Parámetros Críticos	18
Análisis de Textura	19
Diseño Experimental para Textura	19

Análisis Estadístico Para Textura.....	20
Resultados y Discusión.....	21
Modelo 3D	21
Análisis Preliminar y Acondicionamiento de Materias Primas	22
Capacidad de Impresión	23
Capacidad de Extrusión.....	23
Formación de Filamento	25
Ventana de Impresión.....	27
Fidelidad de Forma	29
Parámetros Críticos.....	33
Análisis de Reticulantes	33
Curvas de Flujo.....	34
Estimación de Parámetros Críticos	39
Análisis de Textura	41
Conclusiones	45
Recomendaciones.....	46
Referencias.....	47
Anexos.....	51

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Esquema de evaluación para filamentos producidos por las tintas alimentarias.....	15
Cuadro 2 Tratamientos evaluados para análisis de fidelidad de forma	17
Cuadro 3 Tratamientos para evaluación textural de análogos de carne impresos en 3D.....	19
Cuadro 4 Análisis de dimensiones iniciales para tipo de proteína y alginato.....	29
Cuadro 5 Análisis de deformación para tipo de proteína y alginato.	31
Cuadro 6 Estadígrafos del modelo de regresión lineal para el caudal producido por el tratamiento Arveja con 1% de alginato.....	35
Cuadro 7 Estadígrafos del modelo de regresión lineal para el caudal producido por el tratamiento Arveja con 0.5% de alginato.....	36
Cuadro 8 Estadígrafos del modelo de regresión lineal para el caudal producido por el tratamiento Soya con 1% de alginato.....	37
Cuadro 9 Estadígrafos del modelo de regresión lineal para el caudal producido por el tratamiento Soya con 0.5% de alginato.....	38
Cuadro 10 Parámetros críticos estimados para tratamientos evaluados.....	40
Cuadro 11 Atributos de textura por fuente de proteína	42
Cuadro 12 Atributos de textura para concentración de transglutaminasa	42
Cuadro 13 Atributos de textura para concentración de alginato	43
Cuadro 14 Atributo de dureza para todos los tratamientos.....	44

Índice de Figuras

Figura 1 Modelo 3D del corte de carne	21
Figura 2 Análisis granulométrico de proteína de arveja.	22
Figura 3 Análisis granulométrico de proteína de soya.....	23
Figura 4 Capacidad de extrusión de formulaciones a base de arveja.....	24
Figura 5 Capacidad de extrusión de formulaciones a base de soya	24
Figura 6 Caracterización de filamentos para formulaciones a base de proteína de arveja.....	26
Figura 7 Caracterización de filamentos para formulaciones a base de proteína de soya.	27
Figura 8 Ventana de impresión para formulaciones a base de proteína de arveja.	28
Figura 9 Ventana de impresión para formulaciones a base de proteína de soya.....	28
Figura 10 Análisis de deformación por correlación digital de imágenes para arveja con 1% de alginato	32
Figura 11 Análisis de deformación por correlación digital de imágenes para soya con 1% de alginato	33
Figura 12 Variación de caudal de formulaciones a través del tiempo con 1% de transglutaminasa..	34
Figura 13 Curva de flujo para el tratamiento Arveja con 1% de alginato	36
Figura 14 Curva de flujo para el tratamiento Arveja con 0.5% de alginato	37
Figura 15. Curva de flujo para el tratamiento Soya con 1% de alginato	38
Figura 16 Curva de flujo para el tratamiento Soya con 0.5% de alginato.....	39

Índice de Anexos

Anexo A Diámetros de boquillas para bioimpresión.	51
Anexo B Pieza de carne comercial utilizada para construcción del modelo tridimensional	52
Anexo C Corte de carne Binarizado por el método de Otsu	53
Anexo D Imagen vectorizada del corte de carne.	54

Resumen

A pesar de que la dinámica mundial del consumo de carne demuestra un evidente crecimiento, en países con economías más desarrolladas se observa un comportamiento diferente. El consumo de productos análogos de carne formulados a base de proteínas vegetales al tomar auge provoca un estancamiento o decrecimiento en el consumo per cápita de productos cárnicos tradicionales. Esto, aunado a la susceptibilidad que presentan las explotaciones pecuarias ante el cambio climático, supone un reto en el mejoramiento de las características de productos alternativos, lo que incentiva la inclusión de métodos tecnológicos de producción como la fabricación aditiva o impresión 3D que permite generar arreglos fibrilares muy parecidos a los del músculo. En este estudio se evaluaron por métodos prácticos distintas formulaciones a base de proteína de soya (*Glicine max (L.) Merrill*) y arveja (*Pisum sativum L.*) en combinación con diferentes porcentajes de alginato y transglutaminasa como tintas alimentarias en la impresión 3D de análogos de carne. La velocidad de impresión y altura de capa se vieron influenciados por las características reológicas que resultan de la combinación de las proteínas con alginato. La ventana de impresión fue mayor en las formulaciones a base de arveja al mismo tiempo que presentaba mayor fidelidad de forma, las formulaciones a base de soya, por su parte fueron las que menor deformación sufrieron a través del tiempo. La adición de alginato y transglutaminasa en diferentes porcentajes como reticulantes, influyó en los atributos texturales como la dureza, la cohesividad, la elasticidad y la masticabilidad de las probetas de prueba de forma independiente entre factores.

Palabras clave: Capacidad de impresión, deformación, reticulación, textura.

Abstract

While the world dynamics of meat consumption shows an evident growth, a different behavior is observed in countries with more developed economies. The consumption of meat analogues formulated with vegetable proteins is booming, causing a stagnation or decrease in the per capita consumption of traditional meat products. This, together with the susceptibility of livestock farms to climate change, represents a challenge in the improvement of the characteristics of alternative products, which encourages the inclusion of technological production methods such as additive manufacturing or 3D printing that allows the generation of fibrillar arrangements very similar to those of muscle. In this study, different formulations based on soy protein (*Glycine max* (L.) Merrill) and pea (*Pisum sativum* L.) in combination with different percentages of alginate and transglutaminase as food inks were evaluated by practical methods in the 3D printing of meat analogues. The printing speed and layer height were influenced by the rheological characteristics resulting from the combination of the proteins with alginate. The printing window was greater in the pea-based formulations while presenting greater shape fidelity; soy-based formulations, on the other hand, suffered the least deformation over time. The combination of alginate and transglutaminase in different percentages as crosslinkers influenced the textural attributes such as hardness, cohesiveness, elasticity, and chewiness of the test specimens.

Key words: cross-linking, deformation, printability, texture.

Introducción

El consumo de carne ha sido una parte fundamental en la dieta humana, desde los inicios de la civilización y hasta el presente, tiene un lugar privilegiado en la mayoría de las economías, desde las más pujantes hasta aquellas más modestas. Actualmente, el tamaño del mercado mundial de carne para el primer semestre del año 2023 se estimó en 363.9 millones de toneladas con 0.4 por ciento de crecimiento con respecto al año 2022 (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2023).

El incremento en el consumo de carne a nivel mundial, generalmente se asocia a dos eventos sociodemográficos mundiales, siendo el primero a mencionar, el aumento poblacional, con un crecimiento estimado de 2000 millones de personas en las próximas tres décadas, llegando hasta los 9.700 millones finalizando la mitad de este siglo (Bassarsky, 2019) en donde se espera que el aumento en la población mundial genere un aumento de similar magnitud en el consumo total de carne (Boari et al., 2014). El segundo evento que propicia la tendencia de consumir carne, es el aumento de las personas con ingresos medios en las principales economías emergentes, dicho crecimiento se acelera de forma notable y presenta tendencias alcistas con pocos indicios de ralentizarse (Domínguez, 2014).

El panorama de incremento general en el consumo de carne a nivel mundial pueden reflejar solo parcialmente las tendencias alimentarias con respecto a este rubro, dado, que, si bien el consumo de carne en países en vías de desarrollo y emergentes incrementa por el alza de sus ingresos, se puede concluir que existen una tendencia contraria en algunos países con economías desarrolladas como Estados Unidos y del continente europeo, en donde los mercados tienen a saturarse (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias [ODEPA], 2007), indicando estancamientos o decrecimientos en el consumo per cápita de carne. Además, el cambio climático empieza a ser un factor limitante en la producción de ganado, principalmente en el caso de la ganadería intensiva, que es más vulnerable a los cambios ambientales, siendo afectada directamente por las modificaciones ambientales, que se generen por efecto de la crisis climática (Saiz, 2010).

La dinámica de los mercados mundiales de carne y los cambios recientes en la mente de los

consumidores, impulsan la exploración de soluciones para las problemáticas actuales, próximas y futuras que pueda tener el consumo de carne, centrándose en la búsqueda de sustitutos que puedan complementar la ingesta de carne o remplazarlas en el caso de las visiones más ambiciosas. Este comportamiento de mercado se exhibe en las predicciones generadas para mercados relacionados, como las alternativas a base de plantas, en donde se plantean tasas anuales de crecimiento cercanas al 10% para el año 2029 (Marthen, 2021). Esto propicia las investigaciones sobre análogos de carne, cuyo fin es el generar productos sostenibles que imiten las características de la carne en todo el espectro sensorial, como la apariencia, textura, sabor y olor (Kyriakopoulou et al., 2019), este objetivo conlleva una variedad de problemas por franquear antes de ser soluciones generalizadas, siendo uno de los desafíos en el desarrollo de análogos de carne, generar texturas aceptables para el consumidor, este problema es abordado utilizando tecnologías emergentes, como la impresión 3D de alimentos.

La impresión 3D es una forma relativamente reciente de fabricación, aunque, existe aproximadamente desde hace 25 años. En sus inicios fue empleada para el prototipado rápido en industrias muy especializadas (Berchon, 2016). Posteriormente su uso se expandió a campos como la farmacéutica, la industria automotriz o la alimentaria, iniciando la última con estudios realizados sobre la creación de figuras de chocolate en las universidades de Exeter y Brunel y análisis enfocados en pasta alimentarias en la universidad de Cornell (Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación Productiva [MINCyT], 2015). Actualmente, la impresión 3D de alimentos es un nuevo panorama de investigación en diversas universidades alrededor del mundo, debido a la gran cantidad de potenciales aplicaciones que ofrece, entre ellas la generación de estructuras complejas en los alimentos, que son difíciles de replicar por métodos habituales de fabricación. Un claro ejemplo es la creación de estructuras alimenticias que imiten los arreglos fibrilares del músculo animal (Zhu, 2022), siendo conveniente en el desarrollo de análogos de carne.

Además, si se añade el enfoque de sostenibilidad buscado por el desarrollo de análogos de carne, proteínas vegetales o alternativas como la soya (*Glycine max*) o arveja (*Pisum sativum*) tienen un lugar relevante en la mayoría de los análogos debido al bajo costo de producción y las propiedades

alimentarias específicas (Kyriakopoulou et al., 2019). El hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*) también es usado como ingrediente alternativo dado que posee sabores similares a la carne de res y olores agradables, siendo factible su producción en diversos entornos (Vásquez, 2017), como desechos generados en actividades agrícolas o agroindustriales.

Para el desarrollo de análogos de carne y en general de cualquier otro alimento impreso en 3D se requiere el estudio de las tintas alimentarias y su respuesta al proceso de impresión, entre los aspectos fundamentales se encuentran los factores de procesamiento como la altura crítica de capa y la velocidad de la boquilla que define en gran medida la calidad de la impresión resultante (Hao et al., 2010). Otro aspecto de relevancia en la impresión de alimentos es la deformación posterior a la impresión que está condicionada por la naturaleza de las tintas alimentarias evaluadas, pudiendo estas provocar objetos de reducida precisión (Liu et al., 2017). El último de los aspectos es la respuesta textural de los alimentos en 3D, la cual, determina la aceptación del producto por el consumidor. La textura generada depende de los tipos de tintas alimentarias, reticulantes usados y el procesamiento por impresión 3D.

Con lo expuesto anteriormente, se establecieron como objetivos de la investigación:

Determinar la ventana y capacidad de impresión de tintas alimentarias a base de proteína concentrada de arveja y soya, utilizando alginato de sodio como reticulante primario

Determinar la altura de capa y velocidad de boquilla crítica para las tintas alimentarias seleccionadas en el proceso de capacidad de impresión.

Evaluar la textura de los análogos de carne a base de proteína concentrada de soya y arveja con alginato de sodio como reticulante primario y transglutaminasa como reticulante secundario

Materiales y Métodos

Localización del Estudio

El estudio se realizó en las instalaciones de la Escuela Agrícola Panamericana Ubicada en el km 30 de la carretera que conduce de Tegucigalpa a Danlí, Valle del Yeguaré, Municipio de San Antonio de Oriente, Departamento de Francisco Morazán, Honduras. Las pruebas para construcción del modelo 3D se realizaron en la planta de cárnicos, los ensayos experimentales de capacidad de impresión se desarrollaron en el Laboratorio de Ingeniería y las pruebas de textura se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano (LAAZ).

Materiales y Equipo

Materias Primas

Proteína concentrada de soya (80%)
Proteína concentrada de arveja (84%)
Harina de hongo ostra
Alginato de sodio
Cloruro de calcio (94%)
Transglutaminasa (100 u/g)
Mezcla de aceite vegetal de palma, soya y oliva

Equipos

Impresora 3D modelo Prusa i3 MK2 Reprap con firmware Marlin-1.1x
Extrusora de pasta para jeringas de 50 ml
Jeringas Luer-lock de 50 ml
Probeta 10 y 100 ml
Boquillas cónicas de bioimpresión calibres 14G, 16G, 18G, 20G, 22G, 25G, 27G Y 30G.
Cámara Nikon D 300
Calibrador Vernier
Texturómetro Brookfield CT3

Tamizador Tyler RX-812

Balanza analítica Sartorius

Caja de luz-foto estudio

Sierra eléctrica

Psicrómetro

Software

Autodesk® Fusion 360™

Laminador UltiMaker Cura

Consola Pronterface

Google Colaboratory

Librería μ DIC para correlación digital de imágenes

Librería scikit-image para procesamiento de imágenes

Modelado 3D

La creación del modelo digital en tres dimensiones se realizó utilizando el software de diseño asistido por computadora (CAD) Autodesk® Fusion 360™ a partir de un corte comercial de carne (Anexo A). Para facilitar su manipulación la pieza de carne se congeló para luego ser rebanada con una sierra de desposte, en láminas de 5 mm de espesor, esto evidenció la distribución del tejido muscular y el tejido graso en el perfil de la pieza. Posteriormente, las láminas obtenidas fueron fotografiadas en anverso y reverso con una cámara Nikon D300 con a una altura de 0.63 en el interior de una caja de luz-foto estudio con incidencia de luz blanca en ángulo de 90°, previo a la captura de imágenes se retiró la humedad superficial de la lámina para reducir defectos por heterogeneidad en el brillo de la imagen.

Las imágenes se binarizaron en el entorno Google Colaboratory con la librería scikit-image para procesamiento de imágenes por el método de Otsu. Las imágenes binarias resultantes fueron convertidas a formato .SVG para obtener diseños vectoriales posteriormente importados a (CAD) Autodesk® Fusion 360™ permitiendo la manipulación del boceto para la fracción grasa y muscular,

luego se agregó a los bocetos un espesor de 5 mm, finalmente las capas 3D fueron unidas por la función “solevación por perfiles múltiples” para reconstruir la pieza de carne como modelo tridimensional.

Análisis Preliminar y Acondicionamiento de Materias Primas

La granulometría para la proteína concentrada de soya y arveja se determinó tamizando una muestra de 50 gramos en un tamizador Tyler RX-812 durante 5 minutos por triplicado bajo el método de granulometría de Tyler (AOAC 965.22), posteriormente se estandarizó el tamaño de partícula para las otras materias primas en <150 micrómetros correspondiente a la fracción de menor tamaño de los concentrados de proteína.

Capacidad de Impresión

Se evaluó la fidelidad de forma y ventana de impresión por caracterización de filamento para definir la capacidad de impresión de las tintas alimentarias formuladas, este proceso se orientó para ser de tipo evaluación/selección con respecto a la boquilla y porcentaje de proteína en la ventana de impresión y reticulantes para el análisis de fidelidad de forma.

Ventana de Impresión

La ventana de impresión se determinó mediante la caracterización de filamentos formados sobre la variación porcentual de las proteínas evaluadas en el rango de 17-22% (Anexo B) y las boquillas de bioimpresión disponibles en el rango de 1630 y 140 µm de diámetro interno (Anexo A), el proceso consistió en la evaluación del cumplimiento de las características bajo el esquema de decisión mostrado en el Cuadro 1.

Cuadro 1

Esquema de evaluación para filamentos producidos por las tintas alimentarias.

Característica	Valor lógico posible	
Capacidad de extrusión	Sí	No
Formación de filamento	Sí	No
Continuidad de filamento	Sí	No
Separación de filamentos	Sí	No

Para la evaluación de los filamentos en el caso de la capacidad de extrusión se evaluó la capacidad de fluir de las tintas alimentarias, la formación consistió en la producción de gotas o filamentos definidos, la continuidad consistió en la evaluación de la capacidad de las tintas de generar una hebra sin interrupciones y la separación consistió en la revisión de la unión o separación de los filamentos durante los siguientes tres minutos posteriores a la extrusión.

Con los valores lógicos por cada característica evaluada se generó la ventana de cumplimiento que posteriormente se unificó en la ventana de impresión. Mediante esta ventana se seleccionó el porcentaje de proteína a utilizar y el diámetro de boquilla, esto se realizó tanto para la proteína de arveja como la de soya, esta evaluación de naturaleza cualitativa se adaptó de la metodología propuesta por Paxton et al. (2017) para la evaluación de biotintas.

Fidelidad de Forma X, Y, Z

La fidelidad de forma se evaluó para la formulación y diámetro de boquilla seleccionado en el análisis de ventana de impresión para cada proteína evaluada.

Para determinar la fidelidad de forma de los análogos de carne se diseñó un cubo en el software Autodesk® Fusion 360™ con 3 centímetros por arista, el cual, se imprimió considerando diferente tipo de proteína y porcentaje de alginato, Con los cubos impresos se midió con un calibrador Vernier las dimensiones de las aristas “X”, “Y” y “Z” con origen común, inmediatamente después de la impresión y posteriormente a los 90 minutos.

Diseño Experimental.

Se empleó un Diseño Completamente al Azar con arreglo bifactorial combinatorio para los factores tipo de proteína con dos niveles y porcentaje de alginato con tres niveles. Se realizaron tres repeticiones por tratamiento para un total de 18 unidades experimentales, los tratamientos se detallan en el Cuadro 2.

Cuadro 2

Tratamientos evaluados para análisis de fidelidad de forma.

Tratamiento	Tipo de proteína	Porcentaje de alginato
T1	Arveja	1
T2	Arveja	0.5
T3	Arveja	0
T4	Soya	1
T5	Soya	0.5
T6	Soya	0

Las variables de respuesta fueron las dimensiones X, Y y Z reales del cubo impreso, expresadas en centímetros y la deformación de X, Y y Z del cubo expresada en porcentaje de deformación.

Análisis Estadístico.

Los datos obtenidos se procesaron con el programa SAS (Statistical Analysis System, por sus siglas en inglés) OnDemand for Academics por medio de un análisis de varianza y una separación de medias ajustadas LSMEANS con un nivel de confianza del 95%.

Fidelidad de Forma por Correlación Digital de Imágenes

Para ampliar la información sobre la deformación generada en los análogos de carne impresos se midió la deformación por correlación digital de imágenes a los cubos cuyos tratamientos fueron estadísticamente significativos.

Se generó un patrón de moteo sobre la superficie de los cubos de interés mediante la pulverización de tinta china, posteriormente se tomaron fotos de las superficies laterales con una cámara Nikon D300 en intervalos de 10 minutos durante 70 minutos posteriores a la impresión, finalmente las imágenes se procesaron en el entorno Google Colaboratoy mediante la librería μ DIC para correlación de imágenes digitales.

Parámetros Críticos

Análisis de Transglutaminasa

Se midió el caudal extruido de tinta alimentaria base para arveja y soya con 1% de transglutaminasa con una probeta de 10 ml durante 126 minutos en intervalos de 14 minutos,

posteriormente se elaboró un gráfico caudal-tiempo en donde se determinó los cambios sufridos por el caudal a través del tiempo producto de la acción enzimática de la transglutaminasa.

Curvas de Flujo

Se midió como variable dependiente el caudal extruido de tintas alimentarias para los dos tipos de proteínas utilizando 0.5 y 1% de alginato en la formulación, como variable independiente se utilizó diferentes velocidades de compresión generadas por el extrusor, los datos obtenidos se procesaron con el programa SAS (Statistical Analysis System, por sus siglas en inglés) OnDemand for Academics mediante un análisis de correlación y un posterior análisis de regresión para determinar la curva característica de caudal-velocidad programada con un nivel de confianza del 95%.

Estimación de Parámetros Críticos

La estimación de parámetros críticos se realizó con los valores de caudal obtenidos mediante el modelo de regresión lineal generado con anterioridad para cada tinta alimentaria.

La estimación de velocidad crítica de boquilla se realizó con la Ecuación 1 propuesta por Khalil y Sun (2007):

$$v_n = \frac{4Q}{\pi D_n^2} \quad [1]$$

Donde:

V_n = velocidad crítica de boquilla expresada en mm/s

Q = Caudal expresado en mm³/s

D_n = Diámetro de boquilla expresado en mm

La altura de capa crítica se estimó mediante la Ecuación 2 propuesta por Wang y Shaw (2005):

$$h_c = \frac{v_d}{v_n D_n} \quad [2]$$

Donde:

h_c = Altura crítica de capa expresada en mm

Vd= Velocidad de extrusión (caudal) en mm³/s

Vn = Velocidad de boquilla expresada en mm/s

Dn= Diámetro de boquilla expresada en mm

En ambas ecuaciones se asumió que los filamentos formados tienen forma cilíndrica.

Análisis de Textura

El análisis de textura se realizó con un texturómetro Brookfield CT3 equipado con una sonda cilíndrica de 38.1 mm (TA4/1000, Brookfield Laboratories Inc.). Se utilizaron probetas de prueba de 2 cm de largo y ancho con 1.5 cm de altura a las que se les realizó análisis de perfil de textura de doble ciclo de compresión a velocidad de 2mm/s, 50% de deformación, 67mN de carga de activación y 4500 gramos de carga.

Diseño Experimental para Textura

Se empleó un diseño completamente al azar con arreglo trifactorial combinatorio para los factores tipo de proteína con dos niveles, porcentaje de alginato con dos niveles y porcentaje de transglutaminasa con 3 niveles, se realizaron tres repeticiones por tratamiento para un total de 36 unidades experimentales, los tratamientos se detallan en el Cuadro 3.

Cuadro 3

Tratamientos para evaluación textural de análogos de carne impresos en 3D.

Tratamiento	Tipo de proteína	% Alginato	% Transglutaminasa
T1	Soya	0.5	1
T2	Soya	0.5	0.5
T3	Soya	0.5	0
T4	Soya	1	1
T5	Soya	1	0.5
T6	Soya	1	0
T7	Arveja	0.5	1
T8	Arveja	0.5	0.5
T9	Arveja	0.5	0
T10	Arveja	1	1
T11	Arveja	1	0.5
T12	Arveja	1	0

Las variables de respuesta fueron dureza expresada en N, índice de cohesividad de naturaleza adimensional, masticabilidad expresada en mJ (mili julios) y elasticidad expresada en milímetros.

Análisis Estadístico Para Textura

Los datos obtenidos se procesaron con el programa SAS (Statistical Analysis System, por sus siglas en inglés) OnDemand for Academics por medio de un análisis de varianza (ANDEVA) y una separación de medias LSMEANS Y DUNCAN con un nivel de confianza del 95%.

Resultados y Discusión

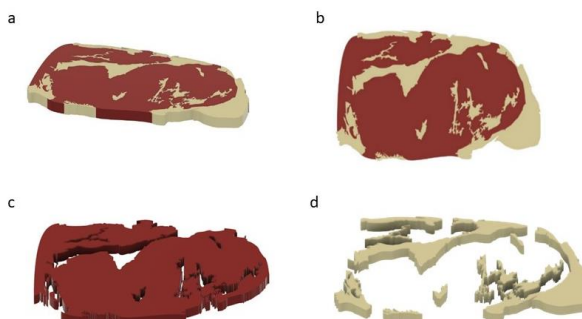
Modelo 3D

El modelo tridimensional obtenido representa una escala 1:1 del corte comercial (Anexo B), lo que es fácilmente modificable desde cualquier software de Diseño asistido por computadora (CAD).

La umbralización por OTSU generó contraste entre la fracción muscular y las vetas de grasa al generar imágenes binarias (Anexo C), las diferentes tonalidades en la superficie de las rebanadas influyeron directamente en la generación del contraste, algunas zonas más claras ampliaron el área de las zonas de la fracción grasa debido a que la generación de las imágenes binarias por el método Otsu segmenta los píxeles a partir de un umbral establecido y los clasifica por comparación en dos colores de píxeles establecidos (Jaramillo et al, 2016).

La vectorización de la imagen binaria por formato .SVG (Anexo D) permitió crear un boceto completo de las rebanadas, definiendo los bordes de las vetas de grasa con lo que se pudieron generar los cuerpos sólidos individuales para cada una de ellas (Figura 1). Una ventaja evidente de este formato es la manipulación de las dimensiones sin perjudicar la calidad de imagen (Franganillo, 2022). En algunas zonas, el color del fondo y la fracción muscular fueron indistintas por lo que se requirió realizar un trazo manual siguiendo los bordes de las rebanadas de la forma más precisa posible.

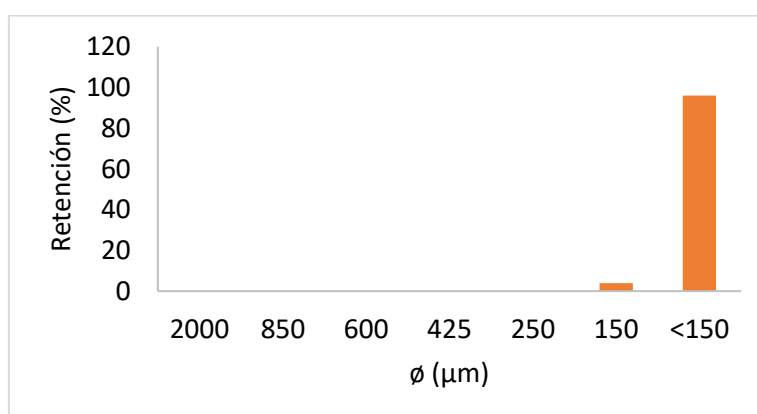
El diseño generado por este método permitió generar cuerpos sólidos diferenciados tanto de la fracción muscular como de la fracción grasa (Figura 1) ya que es posible manipular cada trazo desde la creación del boceto a diferencia de otros métodos como el modelado a partir de Detección y rango de luz (LiDAR) que realiza el diseño a partir de la emisión de impulsos y detección de retornos en la superficie de los objetos por sensor de barrido láser (Zamora, 2017). Una gran ventaja que representa el fraccionamiento de la grasa con respecto del tejido muscular es la posibilidad de distinguir cada fracción como objetos independientes, lo que es necesario al momento de realizar impresiones a partir de dos extrusores como en la actualidad se realizan impresiones de filamento de más de un color.

Figura 1*Modelo 3D del corte de carne*

Nota. a) Vista de perfil b) Vista de planta c) Fracción muscular d) Fracción grasa y conectiva

Análisis Preliminar y Acondicionamiento de Materias Primas

Las materias primas predominantes en las tintas alimentarias evaluadas fueron las harinas de proteínas, las cuales, presentaron en el caso de la proteína de arveja en el análisis granulométrico (Figura 2) que un 96% de las partículas se encuentran por debajo de 150 μm mientras el 4% estuvo arriba de ese valor.

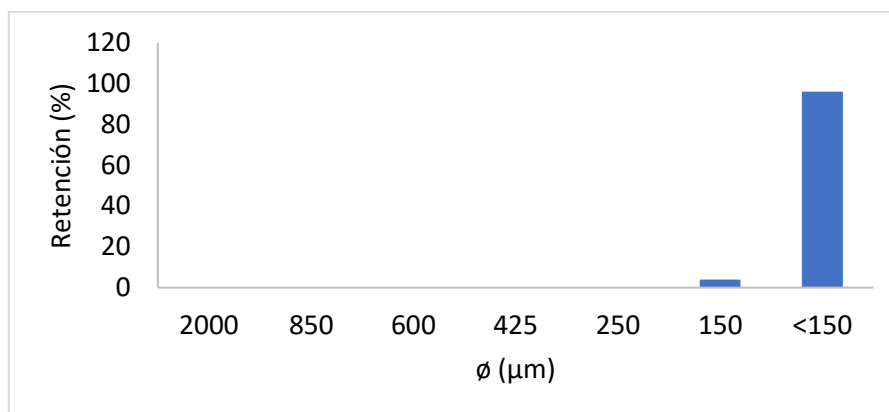
Figura 2*Análisis granulométrico de proteína de arveja.*

Para la proteína de soya el análisis granulométrico (Figura 3) determinó que el tamaño de partícula predominante en un 96% es <150 μm con una distribución similar a las proteínas de soya, con respecto a una reducida fracción que superó los 150 μm . Los resultados obtenidos para ambas

harinas de proteína tienen similitud con lo reportado por Peters (2016), en donde los aislados de proteína de arveja tienen tamaños de partícula mayoritariamente en los 100 μm .

Figura 3

Análisis granulométrico de proteína de soya.



El considerar que el tamaño de partícula es decisivo en el rendimiento de las impresiones realizadas con las tintas formuladas a partir de ellas (Lee et al., 2019) y los diámetros internos de las boquillas de bioimpresión disponibles se encontraron en el rango de 1630-140 μm , se estandarizó el tamaño de partículas de las materias primas tipo harina por debajo de los <150 μm para evitar obstrucciones al superar los tamaños de partícula el diámetro interno de boquilla. También en términos físicos los tamaños de partículas <100 μm mostraron características adecuadas para la impresión 3D (Lee et al., 2021).

Capacidad de Impresión

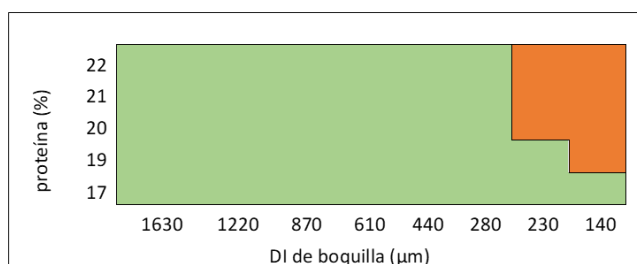
Capacidad de Extrusión

La impresión 3D Basada en extrusión se basa en la formación de filamentos por compresión de un alimento a través de una boquilla de un determinado diámetro, la composición específica de cada tinta alimentaria y las propiedades reológicas que generan hacen que la capacidad de extrusión no sea intrascendente. Además, esto limita la aplicación de la tecnología a formulaciones de alta consistencia (Ma et al., 2021), para las tinta alimentaria a base de arveja la capacidad de fluir se

extendió para todos los porcentajes hasta la boquilla de 280 micrómetros (Figura 4), Formulaciones con porcentaje de proteína mayor a 19% presentaron limitaciones de fluencia en los diámetros superiores, siendo la formulación con 17% de proteína la única capaz de fluir en todos los diámetros de boquillas disponibles.

Figura 4

Capacidad de extrusión de formulaciones a base de arveja.

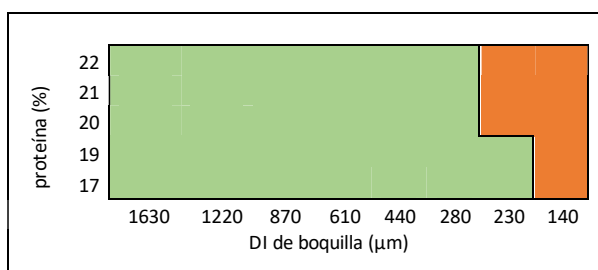


Nota. El color naranja representa la zona de no cumplimiento del atributo.

Para las formulaciones a base de proteína de soja la capacidad de fluir a través de los diferentes diámetros de boquilla fue menor (Figura 5), dado que el área de fluencia en el gráfico se limitó específicamente en la boquilla de 140 micrómetros, donde el flujo fue nulo. Para las otras formulaciones y boquillas el comportamiento se asemejó a aquellas producidas por la proteína de arveja.

Figura 5

Capacidad de extrusión de formulaciones a base de soja.



Nota. El color naranja representa la zona de no cumplimiento del atributo.

La diferencia existente en la capacidad de fluencia de las dos proteínas evaluadas se atribuye a diferencias entre el límite elástico y el comportamiento reológico que a su vez están íntimamente

relacionadas con las capacidad de extrusión que presentan las tintas alimentarias (Liu et al., 2019) siendo también importantes para todo el proceso de impresión en términos de precisión y fiabilidad de forma.

Formación de Filamento

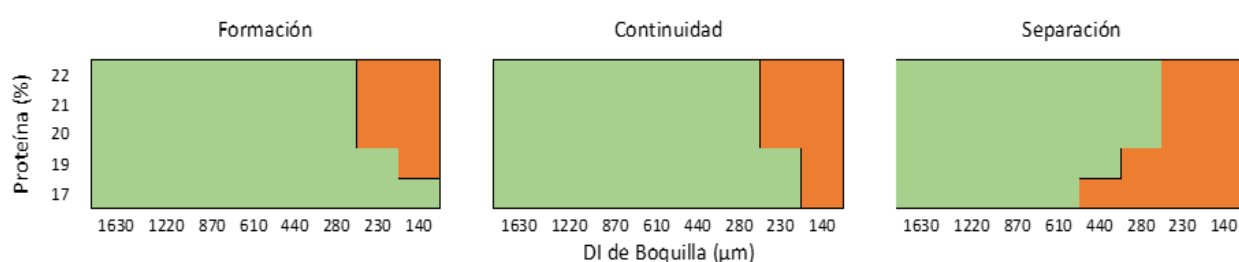
La formación de estructuras en 3D se basa en la deposición de filamentos producidos durante la extrusión, esto es especialmente relevante en los análogos de carne donde se necesitan fibras definidas que puedan emular la estructura fibrosa de la carne, por ello la formación de hilos es de relevancia. En la Figura 6 se puede observar que las formulaciones a base de arveja mostraron formación de filamentos en su totalidad a excepción de las zonas donde la capacidad de fluencia no lo permitió. La formación de filamentos en lugar de gotas es un criterio primario para la selección de materiales a utilizar en la impresión 3D (Paxton et al., 2017), generalmente la formación de gotas se genera en tintas alimentarias con viscosidad reducida o aquellas cuyo límite de fluencia es bajo o inexistente. Para el caso de las tintas alimentarias de alta consistencia como las formadas por las proteínas, no representa un problema significativo, esta propiedad es definitoria en términos de fidelidad, como explicaron Habib et al. (2018), en donde se evidenció que la formación de filamentos es vital en fidelidad de forma en la fabricación de andamios bio impresos.

La característica de interés posterior a la comprobación de filamento es la continuidad de las fibras. Para la proteína de arveja el rango en donde las fibras son continuas se extiende en el límite inferior hasta la boquilla de 280 micrómetros, cuando este diámetro es disminuido a 230 y 140 micrómetros la continuidad de los filamentos se encuentra comprometida, esto es producto de la acumulación de presión en la boquilla de impresión que genera cortes a lo largo de la extrusión del filamento. La última característica evaluada en los filamentos formados por las formulaciones propuestas es la separación de fibras a través del tiempo. La impresión 3D al construir modelos virtuales y representarlos en la realidad asume filamentos cilíndricos y que no se unen idealmente hasta la reacción de los reticulantes usados o bien hasta su solidificación en el caso de sustancias como el chocolate (Nijdam et al., 2022).

La separación exhibida por los filamentos producidos a partir de proteína de arveja se encontró adecuada en los niveles más altos de proteína especialmente para los rangos de 22 a 20% en donde la fusión de fibras fue nula para todas las boquillas, para las formulaciones con menores porcentajes de proteína se generó fusión de fibras por debajo de los 610 micrómetros para 17% de proteína.

Figura 6

Caracterización de filamentos para formulaciones a base de proteína de arveja.



Nota. El color naranja representa la zona de no cumplimiento del atributo.

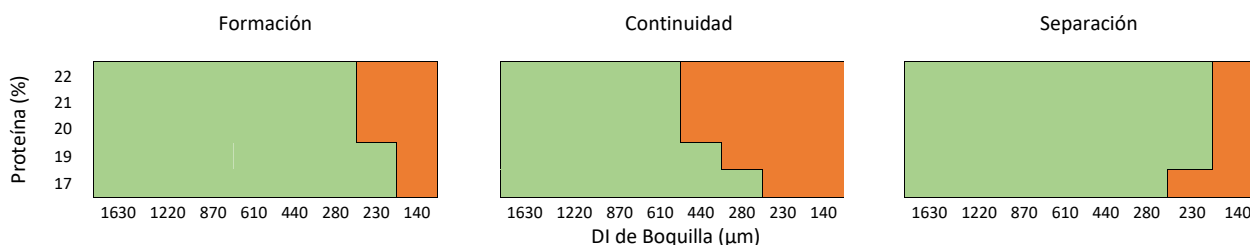
La proteína de soya presentó características distintas en los rangos evaluados de proteína y diámetros internos de boquillas (Figura 7). En el caso de la formación de filamentos esta fue equivalente a la capacidad de extrusión determinada para las tintas alimentarias a base de soya. Con respecto a la continuidad, se mostró una reducción significativa en las formulaciones que forman hilos continuos, comenzado los cortes en el filamento en diámetros menores a 610 micrómetros extendiéndose por los diferentes niveles de proteína.

La separación de fibras comenzó a los 230 micrómetros, diámetro, en el cual la mayoría de las fibras se unió en los diferentes porcentajes de proteína evaluados. La soya se diferenció a las formulaciones de arveja que comenzaron en un diámetro de 610 micrómetros. Las diferencias generadas en la caracterización de los filamentos se atribuye a las características reológicas distintas que presentan los geles producidos por las proteínas utilizadas, esto es congruente con lo reportado por Bildstein et al. (2008), que mencionaron una menor capacidad gelificante por parte de la proteína de arveja en comparación con la proteína de soya, los cuales, consecuentemente tiene mayor capacidad de extrusión, continuidad mayor en comparación a la soya y una separación menor de fibras

en la preparación de andamios impresos tridimensionalmente.

Figura 7

Caracterización de filamentos para formulaciones a base de proteína de soya.



Nota. El color naranja representa la zona de no cumplimiento del atributo.

Ventana de Impresión

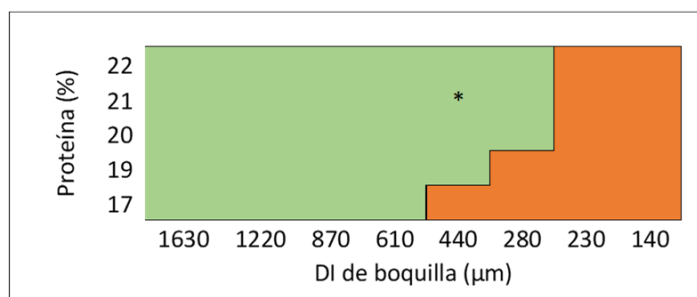
La venta de impresión se elaboró con los resultados obtenidos en la caracterización de filamento y la capacidad de extrusión para cada proteína, refleja la amplitud de las tintas alimentarias para ser impresas en 3D.

Al contraponer la ventana de impresión generada por las formulaciones basadas en arveja (Figura 8) y las basadas en soya (Figura 9) se encontró que muestran diferencias notorias en la amplitud de impresión, esto se atribuye a la correlación existente entre el tamaño de la ventana con el comportamiento reológico de cada tinta alimentaria. A su vez se reporta que en materiales con modelo reológicos de adelgazamiento por cizallamiento la amplitud generada está definida por la constantes n y K de las pastas (Derby, 2010), los cuales varían significativamente entre cada material.

La ventana para las formulaciones de arveja muestra que la capacidad de impresión se extiende en un rango mayor de boquillas en los porcentajes proteicos evaluados, teniendo como fronteras 400 μm con 17% de proteína, 280 μm con 19% de proteína y 230 μm para la totalidad de los rangos evaluados.

Figura 8

Ventana de impresión para formulaciones a base de proteína de arveja.

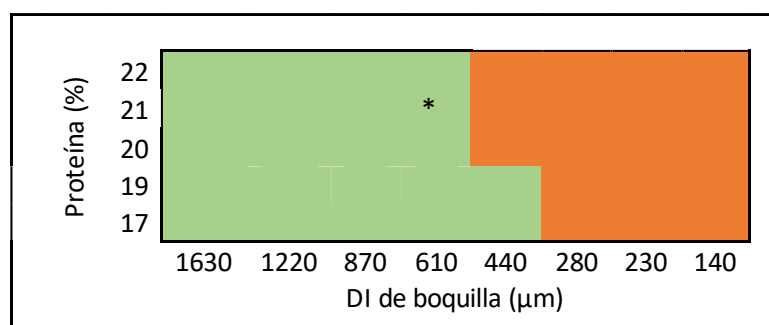


Nota. El color naranja representa la zona de no cumplimiento del atributo. * Diámetro y porcentaje de proteína seleccionados para pruebas posteriores.

En el caso de la proteína de soya las fronteras de impresión se reducen hasta los 440 μm siendo, estas formulaciones menos imprimibles que la proteína de arveja. En términos generales la ventana se reduce en arveja a porcentajes menores de proteína debido a la unión de las fibras por el menor poder gelificante en comparación con la ventana mayor de soya, además la ventana de impresión para soya se reduce en mayores porcentajes de proteína dada su discontinuidad de fibras.

Figura 9

Ventana de impresión para formulaciones a base de proteína de soya.



Nota. El color naranja representa la zona de no cumplimiento del atributo. * Diámetro y porcentaje de proteína seleccionados para pruebas posteriores.

Las ventanas de impresión son un método de reconocimiento rápido para las tintas alimentarias que permitió la selección de las formulaciones evaluadas, considerando que el propósito esencial de la aplicación de esta tecnología es la generación de fibras, se seleccionó la boquilla de

menor diámetro interno que aún cumple esta característica con el fin de asemejarse a la estructura fibrilar propia de la carne, en términos de porcentaje de proteína el valor elegido corresponde al 21% de proteína, el cual en términos de valor son semejantes a los proporcionados por un corte de carne, además se previó la inclusión de análogos de grasa que porcentualmente disminuirán el contenido de proteína total, para las formulaciones seleccionadas se profundizó en el comportamiento a la impresión mediante el análisis de fiabilidad de forma, dado que la metodología utilizada presenta limitaciones con respecto al uso de una monocapa para la evaluación de las características de filamento.

Fidelidad de Forma

Las limitaciones intrínsecas en el análisis por ventana de impresión exigen una evaluación de las formulaciones seleccionadas mediante la aplicación del análisis de la fidelidad de forma, que expresa el grado de desviación en las dimensiones de los análogos obtenidos en la realidad, los resultados obtenidos para las formulaciones evaluadas (Cuadro 4), muestran el grado de imprecisión generado durante el proceso de impresión, el análisis de varianza mostró significancia en la interacción entre el alginato de sodio utilizado como reticulante primario y el tipo de proteína ($P < 0.05$).

Cuadro 4

Análisis de dimensiones iniciales para tipo de proteína y alginato.

Proteína	Alginato	X ± D.E. (cm)	Y ± D.E. (cm)	Z ± D.E. (cm)
Soya	0	3.63± 0.06 ^a	3.53± 0.06 ^a	2.53± 0.06 ^c
Soya	0.5	3.27± 0.06 ^b	3.33± 0.06 ^b	2.80± 0.00 ^b
Soya	1	3.10± 0.10 ^c	3.13± 0.06 ^c	2.97± 0.12 ^a
Arveja	0	3.10± 0.10 ^c	3.07± 0.12 ^c	2.93± 0.06 ^a
Arveja	1	3.06± 0.06 ^c	3.07± 0.06 ^c	2.83± 0.06 ^{ab}
Arveja	0.5	3.03± 0.06 ^c	3.10± 0.00 ^c	2.97± 0.10 ^a
%Coeficiente de Variación (C.V.)		2.55	1.94	2.99

Nota. a-b-c Medias seguidas de letras diferentes en cada columna son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$). C.V.: Coeficiente de variación.

La separación de medias para las interacciones mostró que estadísticamente para la dimensión "X" la interacción soya-0% alginato tuvo la menor fidelidad de forma de los tratamientos

evaluados, seguido por la soya con 0.5% de alginato, mientras que las formulaciones de soya con 1% de alginato no mostró diferencia significativa con respecto a los tratamientos de arveja y las diferentes concentraciones de alginato.

El comportamiento exhibido para la dimensión "Y" fue similar al anterior en donde los tratamientos de soya con 0 y 0.5 de alginato mostraron la mayores deformaciones durante el proceso de impresión siendo estadísticamente iguales los restantes tratamientos, este comportamiento en ambos ejes es similar a los reportados por Chen et al. (2021) que evidenció que el incluir hidrocoloides, como el alginato en las mezclas de proteína de soya se mejoró el adelgazamiento por cizallamiento lo que propició la fluidez eficaz a través de la boquilla, además determinó un incremento significativo en la tangente del ángulo de fase ($\tan \delta$) en las muestras sin hidrocoloides con valores entre 0.18 y 0.29 en comparación con el rango de 0.34 a 0.40 de las muestras con alginato y considerando que los valores altos de $\tan \delta$ se correlacionan con filamentos de mayor uniformidad y por ende con mayor fidelidad de forma (Schwab et al., 2020). En el caso de las tratamientos de proteína de arveja Leelapunnawut et al. (2022) reportó un efecto diferente en donde la tangente del ángulo de fase ($\tan \delta$), donde esta disminuyó pero con una magnitud menor de 30 sin hidrocoloides a 28 con la presencia de hidrocoloides, lo cual, explica la no significancia entre los tratamientos a base de arveja-alginato.

La separación de los tratamientos para la variable Z equivalente a la altura del objeto impreso mostró comportamientos similares a los anteriores siendo esto previsible dado que distorsiones en las capas inferiores provocaron una menor altura total al estar los filamentos con menor uniformidad y distribución en las capas de impresión.

El análisis de deformación (Cuadro 5) realizado para las dimensiones iniciales 90 minutos después de la impresión mostró también diferencias significativas ($P < 0.05$) en la interacción proteína alginato, en la separación de medias los se diferenciaron en tres grupos, el primero conformado por la formulación a base de arveja y soya con 1% de alginato que presentó los porcentajes de deformación más altos en los ejes "X" y "Y" evaluados, en el segundo grupo estadísticamente igual se

encuentra arveja con 0 y 0.5% de alginato además del tratamiento de soya con 0.5% de alginato, finalmente en el tercer grupo se encuentra la soya con 0% de alginato que presentó significativamente la menor deformación en el tiempo evaluado.

Para la variable altura (Z) el comportamiento fue similar a diferencia del tratamiento soya con 0.5% de alginato estadísticamente igual al tratamiento sin alginato, las reducciones en el eje Z se interpreta como la fusión de las fibras y por ende la pérdida de la estructura impresa.

Cuadro 5

Análisis de deformación para tipo de proteína y alginato.

Proteína	Alginato	X ± D.E. (%)	Y ± D.E. (%)	Z ± D.E. (%)
Arveja	1	6.52± 0.12 ^a	7.60± 1.80 ^a	10.59± 0.21 ^a
Soya	1	6.46± 0.21 ^a	7.46± 1.92 ^a	10.12± 0.38 ^a
Arveja	0	4.34± 2.02 ^b	5.42± 1.82 ^{ab}	7.97± 2.06 ^{ab}
Soya	0.5	4.07± 1.72 ^b	3.00± 0.05 ^b	3.57± 0.00 ^c
Arveja	0.5	3.30± 0.06 ^b	4.30± 1.86 ^b	6.75± 0.26 ^b
Soya	0	0.27± 0.47 ^c	0.00± 0.00 ^c	1.33± 2.31 ^c
%Coeficiente de Variación (C.V.)		22.59	30.86	19.78

Nota. a-b-c Medias seguidas de letras diferentes en cada columna son estadísticamente diferentes (P < 0.05). C.V.: Coeficiente de variación.

Para explicar este comportamiento se analiza nuevamente lo expuesto por Chen et al., (2021), el cual menciona que la introducción de alginato a los complejos proteicos promueve el comportamiento de adelgazamiento por cizallamiento y eleva el valor de la $\tan \delta$ de la tinta alimentaria, siendo este ultimo la relación entre la energía disipada y la energía almacenada ($\delta = G''/G'$) (Pau, 2013), al incrementar el valor las propiedades viscosas del alimento aumentan y por ende la facilidad de deformación irreversible, siendo esto evidente en los tratamientos con mayor cantidad de alginato.

Considerando la fidelidad de forma inicial los tratamientos estadísticamente superiores son soya con 1% de alginato y arveja con todos los niveles de alginato (Cuadro 4), mientras que los tratamientos con menor deformación son soya con 0% de alginato, pero dado su elevado porcentaje de variación inicial no es una formulación viable si se compara con los demás tratamientos. El análisis de deformación identificó la necesidad de realizar una reticulación por capas en las impresiones, para

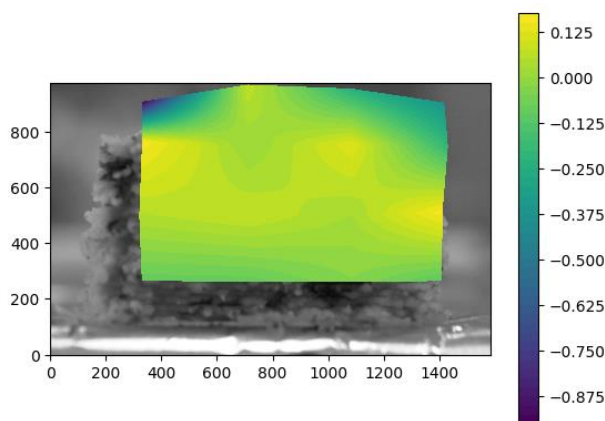
evitar las deformaciones generadas al minuto 90.

Dado que los tratamientos que mostraron la mayor diferencia significativa es el tratamiento de soya y arveja con 1% y al ser tintas viables en términos de impresión y de interés en las características en los análogos de carne, se profundizó el análisis de deformación por medio de correlación digital de imágenes que amplía la visión sobre las deformaciones sufrida en la impresión 3D.

El tratamiento arveja con 1% de alginato mostró que la deformación máxima generada en el análogo se encuentra en 0.125 (Figura 10) de valor similar a los determinados en el análisis de componentes, también se observa deformaciones generalizadas en la estructura del análogo siendo las regiones con mayor deformación aquellas localizadas en las partes externas del objeto impreso en 3D.

Figura 10

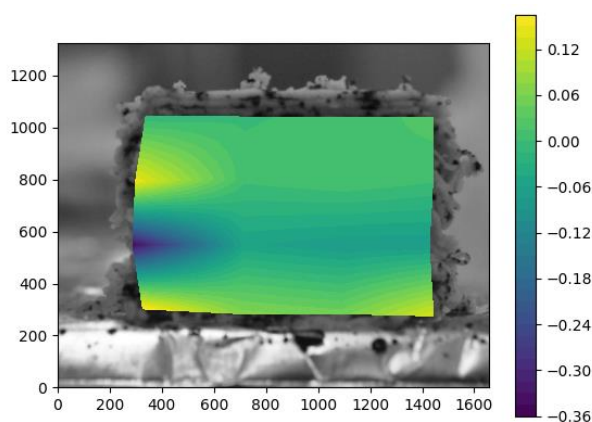
Análisis de deformación por correlación digital de imágenes para arveja con 1% de alginato.



En el caso de la formulación a base de soya con 1% de alginato se muestra que las regiones deformadas son menores (Figura 11) localizándose principalmente en la periferia del objeto con valores de deformación congruentes con los definidos en el análisis de dimensiones. Aunque al comparar las formulaciones de arveja y soya, la última presenta mayor fiabilidad de forma, al existir menor deformación generalizada en el alimento, siendo esto un aspecto no considerado en el análisis inicial, lo cual amplía la compresión del análogo a través del tiempo.

Figura 11

Análisis de deformación por correlación digital de imágenes para soya con 1% de alginato.



Los valores obtenidos en el análogo por medio de la correlación digital de imágenes complementan los análisis para definir la capacidad de impresión de las tintas alimentarias basadas en proteína concentrada de soya y arveja utilizadas.

Parámetros Críticos

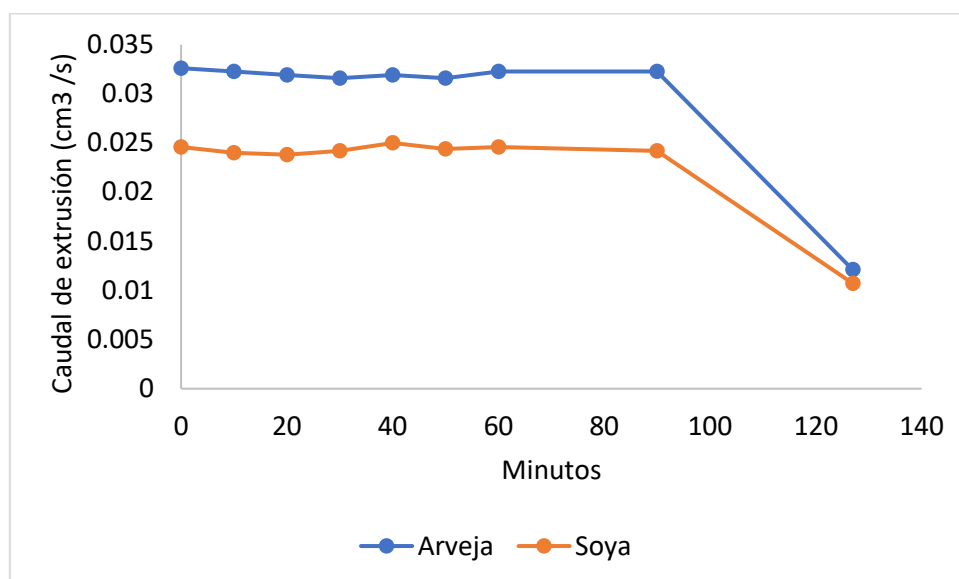
Se calculó la altura de capa y la velocidad de capa crítica para lo cual se consideraron los reticulantes como agentes modificadores del caudal de tinta alimentaria y consecuentemente definatorios de los parámetros críticos.

Análisis de Reticulantes

La transglutaminasa con 100 unidades enzimáticas por gramo (u/g), utilizada en el estudio mostró cambios en el flujo de la tintas a base proteínas vegetales (Figura 12) a través del tiempo, el flujo de ambas proteínas fue constante desde los 0 minutos hasta aproximadamente 80 minutos, posteriormente se observa una caída pronunciada en el caudal, esto indicó que los parámetros críticos que se encuentran en función del flujo generado por el extrusor son constantes por 80 minutos, luego el flujo cambia notoriamente a los 90 minutos, donde se encuentra el punto de cambio para la reacción de transglutaminasa, esto se atribuye a la formación de enlaces isopéptidos $\epsilon(\gamma\text{-glutamil})$ lisina, los cuales, inducen cambios en el comportamiento reológico de la pasta alimentaria (Larré et al., 2000).

Figura 12

Variación de caudal de formulaciones a través del tiempo con 1% de transglutaminasa.



Los cambios de flujo producidos en el proceso de extrusión tiene relación con lo señalado por DeJong y Koppelman (2002), que mostraron el comportamiento del módulo de almacenamiento (G') en soluciones de caseína, donde durante 200 minutos el efecto de la transglutaminasa fue nulo, para posteriormente incrementar exponencialmente el módulo de almacenamiento a través del tiempo. El aumento en el módulo de almacenamiento se entiende como el incremento de las propiedades elásticas del alimento y por ende reducción en las propiedades viscosas, afectando el flujo generado por el extrusor, los parámetros críticos calculados son estables hasta los 80 minutos posteriores a la adición del agente reticulante a las pastas alimentarias evaluadas.

Curvas de Flujo

La impresión 3D de análogos se basó en la tecnología de modelado por deposición basada en extrusión, la cual, se basa en la extrusión del material alimentario mediante un pistón accionado eléctricamente produciendo flujo a través de la boquilla (Guo et al., 2019).

El flujo generado a través de la boquilla como es reportado por Perdana et al. (2011) depende de la fuerza aplicada y la resistencia a la fricción que está determinada por la viscosidad del alimento y las dimensiones de la boquilla, en el caso de las impresoras por deposición se puede controlar el

flujo generado para satisfacer determinados requerimientos (Amza et al., 2017), tales como la determinación de los parámetros críticos determinados por el caudal de extrusión, por ello se generaron modelos de regresión lineal para predicción de caudales a diferentes valores de velocidad programada con la variable caudal (mm^3/s) como variable dependiente de la velocidad programada (mm/s) en el software Pronterface diseñado para extrusión de plásticos por deposición fundida. El coeficiente de determinación aplicado a la tinta alimentaria a base de arveja con 1% de alginato obtenido fue de 0.8961 (Cuadro 6) indicando que el 89% de las observaciones producidas de caudal, se ajustan al modelo lineal con la variable velocidad programada como regresora, dicho valor de ajuste al ser mayor a 0.7 se considera como predictivo.

Cuadro 6

Estadísticos del modelo de regresión lineal para el caudal producido por el tratamiento Arveja con 1% de alginato.

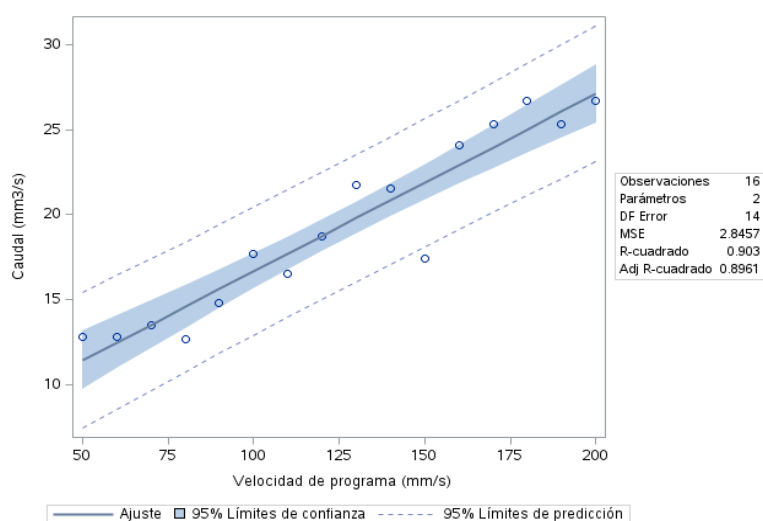
Variable	Coefficiente de Regresión	Valor P
Intercepto	6.21099	0.0002
Velocidad programada	0.10443	<.0001
R ²	0.8961	

La Ecuación 3 se determinó con los valores obtenidos a partir del análisis de regresión, el modelo lineal que explica el caudal en función de la velocidad programada se muestra en la Figura 13, siendo una curva característica de flujo de arveja con 1% de alginato.

$$\text{Caudal} \left(\frac{\text{mm}^3}{\text{s}} \right) = 0.10443X + 6.21099 \quad [3]$$

Figura 13

Curva de flujo para el tratamiento Arveja con 1% de alginato.



El Cuadro 7 muestra los estadígrafos asociados al análisis de regresión para la formulación de arveja con 0.5% de alginato, el coeficiente de determinación obtenido se determinó en 0.8811, significando que el 88% de las observaciones se ajustan al modelo lineal con la velocidad programada como variables regresora, siendo esto superior a 0.7 explicando adecuadamente la variabilidad del modelo.

Cuadro 7

Estadígrafos del modelo de regresión lineal para el caudal producido por el tratamiento Arveja con 0.5% de alginato.

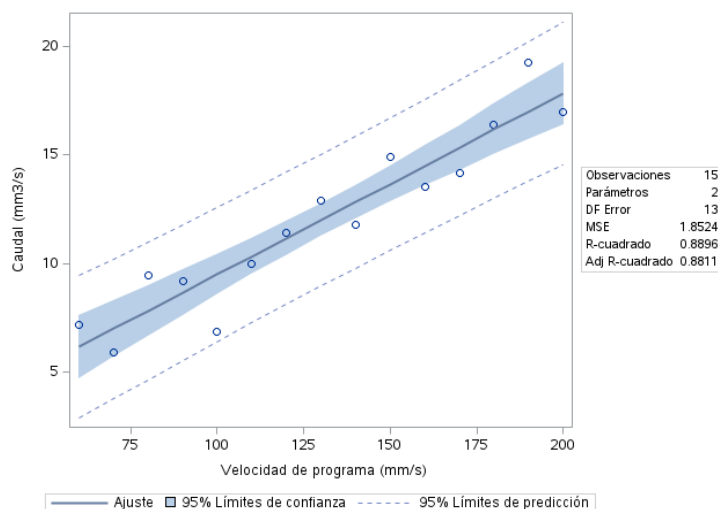
Variable	Coefficiente de Regresión	Valor P
Intercepto	1.17178	0.3121
Velocidad programada	0.08324	<.0001
R ²	0.8811	

A partir de los coeficientes de regresión se determinó la Ecuación 4 que explica los mm³/s de material extruido en función de los valores de velocidad programados en el Software de control Pronterface, el modelo lineal que explica la relación entre las variables mencionadas se graficó en la Figura 14.

$$\text{Caudal (mm}^3/\text{s)} = 0.08324X + 1.7178 \quad [4]$$

Figura 14

Curva de flujo para el tratamiento Arveja con 0.5% de alginato.



El tratamiento de soja con 1% de alginato generó los estadígrafos del Cuadro 8, en donde se observó que el coeficiente de determinación fue de 0.8794, explicando consecuentemente el 87% de la variabilidad generada por las variables incluidas en el modelo de regresión lineal.

Cuadro 8

Estadígrafos del modelo de regresión lineal para el caudal producido por el tratamiento Soya con 1% de alginato.

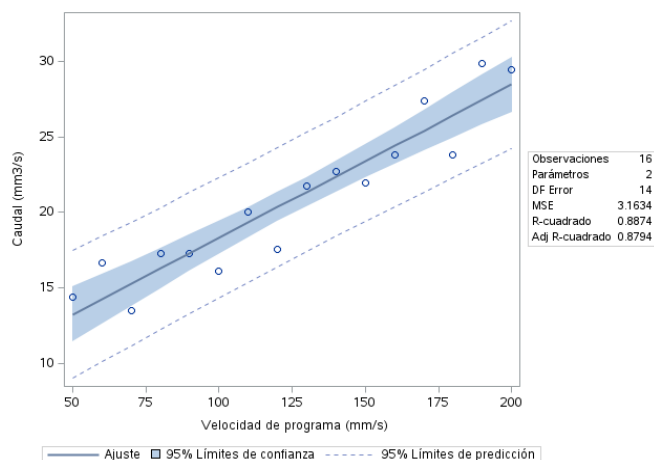
Variable	Coefficiente de Regresión	Valor P
Intercepto	8.17503	<.0001
Velocidad programada	0.10132	<.0001
R ²	0.8794	

Con los valores obtenidos del análisis de regresión lineal se elaboró la Ecuación 5 que explica el caudal extruido de soja con 1% de alginato en función de la velocidad programada y la Figura 15 muestra la curva característica de flujo para el tratamiento mencionado anteriormente.

$$\text{Caudal} \left(\frac{\text{mm}^3}{\text{s}} \right) = 0.10132X + 8.17503 \quad [5]$$

Figura 15

Curva de flujo para el tratamiento Soya con 1% de alginato.



Para el último tratamiento de soja con 0.5% de alginato el coeficiente de determinación resultante del análisis de regresión fue de 0.885 (Cuadro 9), significando que el 89% de la variabilidad producida en el caudal de extrusión se explica con la variable velocidad programada.

Cuadro 9

Estadígrafos del modelo de regresión lineal para el caudal producido por el tratamiento Soya con 0.5% de alginato.

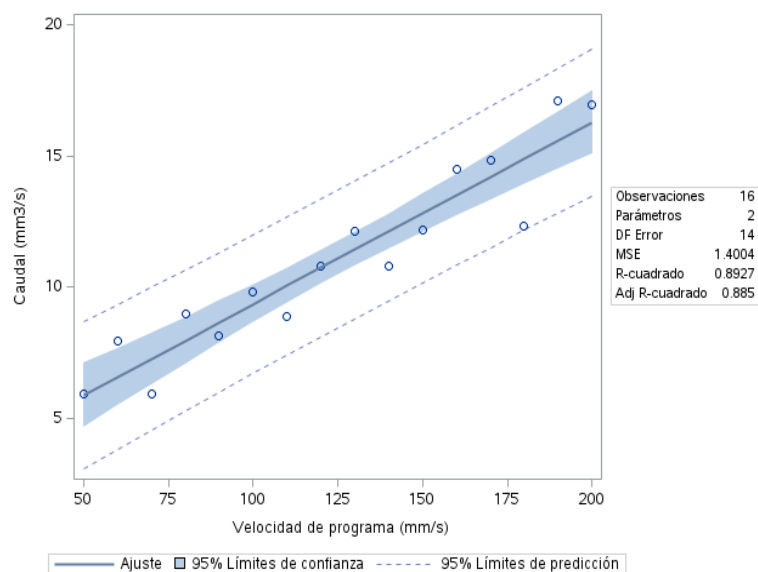
Variable	Coefficiente de Regresión	Valor P
Intercepto	2.41943	0.0134
Velocidad programada	0.06926	<.0001
R ²	0.885	

Con los valores obtenidos del análisis de regresión se elaboró la Ecuación 6 que modela el comportamiento entre las variables de interés expresado visualmente en la curva de flujo mostrada en la Figura 16.

$$Caudal (mm^3/s) = 0.06926X + 2.41943 \quad [6]$$

Figura 16

Curva de flujo para el tratamiento Soya con 0.5% de alginato



Las curvas de flujo determinadas para los tratamientos tienen ajustes de bondad adecuados, en la explicación del caudal mediante la velocidad programada, lo que permitió cuantificar el flujo producido a partir del programa de control Pronterface, siendo esto imprescindible para estimación de los parámetros críticos utilizados para la impresión 3D de los análogos de carne.

Estimación de Parámetros Críticos

Los parámetros críticos determinados para las formulaciones evaluadas se muestran en el Cuadro 10, debido a que la velocidad crítica depende del flujo producido, se estimó para todos los tratamientos a una velocidad programada de 80 mm/s mediante las curvas de flujo determinadas con anterioridad.

La velocidad crítica es una de las determinantes del tiempo total de impresión de un análogo de carne además de la geometría de relleno, porcentaje de relleno, velocidades de retracción y diámetro de boquilla, tal como muestra Wang et al. (2022) aumentos de velocidad de 10 a 25 mm/s reducen significativamente el tiempo de impresión.

Cuadro 10

Parámetros críticos estimados para tratamientos evaluados.

Proteína	% alginato	Velocidad de crítica (mm/s)	Altura crítica (mm)
Arveja	1	84	0.35
Arveja	0.5	62	0.35
Soya	1	58	0.48
Soya	0.5	30	0.48

Nota. Velocidad y altura críticas son estimaciones en base a regresiones lineales para cada tratamiento

Los tratamientos evaluados mostraron diferentes velocidades críticas a la misma velocidad programada, esto indica que cada formulación produce diferentes niveles de caudal, explicándose por la Ecuación 6 de Poiseuille modificada para fluidos de adelgazamiento propuesta por (Middleman, 1977) utilizada extensamente en la impresión 3D para la determinación de caudal.

$$Q = \frac{n\pi R^3}{1+3n} \left(\frac{R\Delta P}{2mL} \right)^{1/n} \quad [6]$$

Donde:

ΔP = diferencial de presión expresado en Pa

R= radio de boquilla expresado en metros

L= largo de boquilla expresado en metros

m= Coeficiente de consistencia

n= índice de flujo

Dicha ecuación muestra que manteniendo los demás parámetros constantes el flujo depende de los valores n y m, aunque durante el experimento no se controló la presión de extrusión sino solo la velocidad programada en Pronterface, la variación de parámetros críticos en función del caudal por cada formulación se puede atribuir a las propiedades reológicas, tal cual, mostró Schutyser et al. (2018) al evaluar diferentes concentraciones de caseinato de sodio obtuvo diferentes curvas de flujo a presiones constantes, por ello parcialmente se puede atribuir los diferentes parámetros críticos estimados a la naturaleza reológica de cada tinta alimentaria.

Para la impresión de alimentos las velocidades bajas para se encuentran de 2 a 21 mm/s (Lille

et al., 2018), los valores medio-altos se encuentran en 15 a 40 mm/s y a velocidades superiores de 60-70 mm/s se consideran de alta velocidad (Derossi et al., 2020). En el caso de los tratamientos evaluados los parámetros se encuentran en los niveles de mediana a alta velocidad, presentando las mayores velocidades las formulaciones a base de arveja con diferentes niveles de alginato, se debe considerar que los parámetros calculados se realizaron con una velocidad programada de 80 mm/s.

La altura de capa crítica determinada para los tratamientos evaluados (Cuadro 10), produce el diámetro final de las fibras obtenidas en el caso de arveja con las dos concentraciones de alginato fue de 0.35mm (350 μm) y de 0.48mm (480 μm) mm para las formulaciones a base de soya, estos valores al ser comparados con los logrados por Shi et al., (2023) de 97.36 μm en base a asilado de soya, goma xantana y almidón de arroz, si se considera que los músculos se constituyen de fibras grandes y pequeñas de 10 a 100 micrómetros de diámetro (Listrat et al., 2016), las fibras producidas con la altura crítica determinada son 3.5 y 4.8 veces más grandes que el diámetro máximo de 100 μm de una fibra natural, siendo mayor si se considera el porcentaje de expansión de los materiales y el diámetro de la boquilla utilizados para la impresión.

Análisis de Textura

La reticulación de los materiales desempeña un papel muy importante para las probetas en la estabilidad de forma a través del tiempo, lo cual resulta crucial al momento de mantener el producto en anaquel o al someterlo a algún tipo de manipulación que implique la aplicación de fuerzas sobre su superficie. Está también estrechamente relacionada con la mejora de los atributos sensoriales y de textura de productos análogos de carne formulados a base de proteínas vegetales (Lee y Hong, 2020). El análisis de varianza demostró que las diferentes concentraciones de los diferentes agentes reticulantes modifican los atributos texturales de las probetas de prueba, en el caso de la dureza y la elasticidad, cada uno lo hace de forma independiente ya que no se encontraron interacciones entre los factores para estos atributos. En el caso de la fuente proteica (Cuadro 11) la dureza es mayor en las formulaciones a base de soya por su alta capacidad elástica, tal como reportan Schreuders et al. (2019) quienes observaron que a temperaturas menores a 140°C, materiales a base de soya logran

soportar mayores fuerzas de tensión en el módulo de Young comparadas con materiales de arveja. La cohesividad en cambio, es mayor en las formulaciones a base de arveja ya que debido a sus características más viscosas, tiende a ser más resistente a desintegrarse ante la aplicación de fuerzas externas.

Cuadro 11

Atributos de textura por fuente de proteína.

Proteína	Dureza (N) \pm D.E.	Cohesividad
Soya	28.20 \pm 8.980 ^a	0.46 \pm 0.052 ^b
Arveja	23.97 \pm 2.531 ^b	0.53 \pm 0.041 ^a
% C.V.	14.04	10.12

Nota. a-b Medias seguidas de letras diferentes en cada columna son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$). C.V.: Coeficiente de variación.

La transglutaminasa confirió mayor dureza al 1% de concentración comparada con las formulaciones al 0.5% y 0% que fueron iguales estadísticamente (Cuadro 12), lo que demuestra su capacidad reticulante en formulaciones a base de proteínas vegetales. Este comportamiento se atribuye al perfil de aminoácidos de las proteínas y su contenido de lisina (Soya 89.95mg/g y arveja 73.2mg/g) (Pires et al., 2006; Schlangen et al., 2023) ya que el mecanismo de reticulación de la transglutaminasa está estrictamente relacionado a este atributo al formar enlaces entre grupos γ -carboxilamida de glutamina y grupos ϵ -amino de lisina (Dube et al., 2007).

Cuadro 12

Atributos de textura para concentración de transglutaminasa.

Concentración TGA (%)	Dureza (N) \pm D.E.	Cohesividad
1	31.23 \pm 5.84 ^a	0.39 \pm 0.045 ^b
0.5	24.23 \pm 2.61 ^b	0.53 \pm 0.039 ^a
0	22.64 \pm 2.82 ^b	0.56 \pm 0.055 ^a
% C.V.	13.89	9.85

Nota. a-b Medias seguidas de letras diferentes en cada columna son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$). C.V.: Coeficiente de variación.

La concentración de 0.5% de transglutaminasa en las formulaciones no supuso una diferencia significativa en los atributos comparado con la formulación de 0% a pesar de tener una evidente capacidad reticulante, sin embargo, es necesario considerar que la formulación incluye alginato de sodio que como mencionan Lee y Hong, (2020) su adición a formulaciones para análogos de carne

disminuye las características texturales (dureza) de los materiales resultantes. En las probetas evaluadas, la adición de 1% alginato de sodio a las formulaciones supuso un aumento en los atributos texturales (Cuadro 13) comparado con la formulación con 0.5%, contrario a lo mencionado anteriormente, esto es debido a la inducción de la reticulación en dos fases, que supuso una primera reticulación por aspersión de solución de cloruro de calcio (CaCl_2) al 1% y una posterior inmersión de las probetas en la misma solución durante 20 minutos, que como reporta Rhim (2004) la inmersión de películas de alginato en soluciones de cloruro de calcio aumenta significativamente su capacidad de soportar fuerzas tensión, sin embargo la permeabilidad de las películas va disminuyendo con el tiempo, creando una barrera para la migración de la solución y la consecuente reducción en la reticulación del alginato en las zonas centrales de las fibras donde puede desempeñar una acción antagónica a la actividad de la transglutaminasa. Esto resalta también la importancia de utilizar fibras de diámetros pequeños y controlar el porcentaje de relleno al momento de realizar impresiones de análogos de carne con alginato como agente reticulante.

Cuadro 13

Atributos de textura para concentración de alginato.

Concentración alginato (%)	Dureza (N) \pm D.E.	Cohesividad
1	32.22 \pm 2.53 ^a	0.60 \pm 0.048 ^a
0.5	19.85 \pm 4.98 ^b	0.38 \pm 0.046 ^b
% C.V.	13.82	10.79

Nota. a-b Medias seguidas de letras diferentes en cada columna son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$). C.V.: Coeficiente de variación.

A diferencia de la transglutaminasa y la fuente de proteína, la formulación con mayor contenido de alginato demostró un aumento en la cohesividad de las probetas impresas (Cuadro 13), esto significa que son menos propensas a perder su estructura o a desintegrarse ante la aplicación de fuerza en su superficie.

Los tratamientos con mayor dureza observada fueron generalmente a base de soya (Cuadro 14) con concentración de 0.5% de alginato, siendo los tratamientos T4, T5 y T1 los que se encuentran en el primer bloque de medias. La menor dureza observada fue en las formulaciones con 1% de alginato con una distribución aleatoria en el tipo de proteína y con concentración de transglutaminasa

de 0% y 0.5% que fueron estadísticamente iguales en la separación de medias por factores. Como es mencionado antes, se atribuye este comportamiento a las características elásticas de la soya y las actividades reticulantes del alginato y la transglutaminasa.

Cuadro 14

Atributo de dureza para todos los tratamientos.

Tratamiento	Proteína	Transglutaminasa	Alginato	Dureza
T4	SOYA	1	0.5	38.18± 13.12 ^a
T5	SOYA	0.5	0.5	35.45± 7.99 ^a
T1	SOYA	1	1	32.65± 3.23 ^a
T12	ARVEJA	1	0.5	31.00± 2.52 ^{ab}
T11	ARVEJA	0.5	0.5	30.09± 1.17 ^{ab}
T10	ARVEJA	0	0.5	30.03± 3.94 ^{ab}
T6	SOYA	0	0.5	28.25± 1.13 ^{abc}
T7	ARVEJA	1	1	22.20± 3.02 ^{bcd}
T3	SOYA	0	1	18.74± 4.10 ^{cd}
T8	ARVEJA	0.5	1	15.76± 0.94 ^d
T2	SOYA	0.5	1	15.34± 0.32 ^d
T9	ARVEJA	0	1	14.39± 3.55 ^d
%C.V.				19.70

Nota. a-b-c-d Medias seguidas de letras diferentes en cada columna son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$). C.V.: Coeficiente de variación.

Conclusiones

La ventana de capacidad de impresión para arveja se extiende por un rango más amplio de porcentaje de proteína y boquillas en comparación a las formulaciones a base de soya, la fidelidad es alta en formulaciones de arveja con 0, 0.5 y 1% de alginato de sodio, siendo soya con 0 y 0.5 de alginato los tratamientos con baja fiabilidad, la retención de forma mejoró con los niveles medios de alginato de sodio.

Las velocidades críticas determinadas fueron mayores en los tratamientos con 1% de alginato extendiéndose en el rango de velocidades de 30 a 84 mm/s, las alturas críticas determinadas fueron de 0.35 para arveja y 0.48 mm para soya, lo cual, equivale a tamaños de fibra 3.5 y 4.8 veces mayores que los reportados para el valor máximo de tamaño fibrilar de carne.

El aumento en la concentración de transglutaminasa y alginato de sodio incrementa los valores de dureza de los análogos de carne, la transglutaminasa disminuye el índice de cohesividad mientras el porcentaje de alginato lo aumenta lo que provoca un aumento de la cohesividad en combinaciones 0% y 0.5% de transglutaminasa con 1% de alginato.

Recomendaciones

Evaluar la respuesta sensorial de los consumidores a los tratamientos evaluados considerando diferentes patrones y porcentajes de relleno en la estructura tridimensional.

Evaluar la fidelidad de forma a velocidades superiores a los 100 mm/s las cuales son consideradas de alta velocidad para reducir los tiempos de impresión.

Evaluar el comportamiento de formulaciones con menor porcentaje de proteína para la obtención de fibras con menor diámetro.

Evaluar las características de los análogos de carne durante el almacenamiento y cocción.

Referencias

- Amza, C., Zapciu, A. y Popescu, D. (2017). Paste Extruder—Hardware Add-On for Desktop 3D Printers. *Technologies*, 5(3), 50. <https://doi.org/10.3390/technologies5030050>
- Departamento de información pública de las Naciones Unidas. (2019). *WPP2019_PressRelease_ES* [Comunicado de prensa]. https://population.un.org/wpp/publications/Files/WPP2019_PressRelease_ES.pdf
- Berchon, M. (2016). *La impresión 3D: Guía definitiva para makers, diseñadores, estudiantes, profesionales, artistas y manitas en general*. Elibro Catedra. Gustavo Gili.
- Bildstein, M., Lohmann, M., Hennigs, C., Krause, A. y Hilz, H. (2008). An enzyme-based extraction process for the purification and enrichment of vegetable proteins to be applied in bakery products. *European Food Research and Technology*, 228(2), 177–186. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0921-z>
- Boari, R. Lic., Chuard, N. Med. Vet., Fernández, V. Lic. y Poullier, P. (2014). *Mercado de ganados y carnes: Proyecciones 2023*. https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/bovinos/informacion_interes/informes_historicos/_archivos/000003=Mercado%20internacional%20de%20carnes/000001-Proyecci%C3%B3n%20OCDE%20FAO%20carnes%202014-2023.pdf
- Chen, Y., Zhang, M. y Bhandari, B. (2021). 3d Printing of Steak-like Foods Based on Textured Soybean Protein. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/foods10092011>
- DeJong, G.A.H. y Koppelman, S. J. (2002). Transglutaminase Catalyzed Reactions: Impact on Food Applications. *Journal of Food Science*, 67(8), 2798–2806. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08819.x>
- Derby, B. (2010). Inkjet Printing of Functional and Structural Materials: Fluid Property Requirements, Feature Stability, and Resolution. *Annual Review of Materials Research*, 40(1), 395–414. <https://doi.org/10.1146/annurev-matsci-070909-104502>
- Derossi, A., Paolillo, M., Caporizzi, R. y Severini, C. (2020). Extending the 3D food printing tests at high speed. Material deposition and effect of non-printing movements on the final quality of printed structures. *Journal of Food Engineering*, 275(2), 109865. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109865>
- Domínguez, J. M. (2014). *Desarrollo económico, países emergentes y globalización*. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5561995.pdf>
- Dube, M., Schäfer, C., Neidhart, S. y Carle, R. (2007). Texturisation and modification of vegetable proteins for food applications using microbial transglutaminase. *European Food Research and Technology*, 225(2), 8. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0401-2>
- Guo, C., Zhang, M. y Bhandari, B. (2019). Model Building and Slicing in Food 3D Printing Processes: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(4), 1052–1069. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12443>
- Habib, A., Sathish, V., Mallik, S. y Khoda, B. (2018). 3d Printability of Alginate-Carboxymethyl Cellulose Hydrogel. *Materials (Basel, Switzerland)*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/ma11030454>
- Hao, L., Mellor, S., Seaman, O., Henderson, J., Sewell, N. y Sloan, M. (2010). Material characterisation and process development for chocolate additive layer manufacturing. *Virtual and Physical*

Prototyping, 5(2), 57–64. <https://doi.org/10.1080/17452751003753212>

- Khalil, S. y Sun, W. (2007). Biopolymer deposition for freeform fabrication of hydrogel tissue constructs. *Materials Science and Engineering: C*, 27(3), 469–478. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2006.05.023>
- Kyriakopoulou, K., Dekkers, B. y van der Goot, A. J. (2019). Plant-Based Meat Analogues. En *Sustainable Meat Production and Processing* (Vol. 56, pp. 103–126). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814874-7.00006-7>
- Larré, C., Denery-Papini, S., Popineau, Y., Deshayes, G., Desserme, C. y Lefebvre, J. (2000). Biochemical Analysis and Rheological Properties of Gluten Modified by Transglutaminase. *Cereal Chemistry*, 77(2), 121–127. <https://doi.org/10.1094/CHEM.2000.77.2.121>
- Lee, C. P., Takahashi, M., Arai, S., Lee, C.-L. K. y Hashimoto, M. (2021). 3D Printing of Okara Ink: The Effect of Particle Size on the Printability. *ACS Food Science & Technology*, 1(11), 2053–2061. <https://doi.org/10.1021/acfoodscitech.1c00236>
- Lee, E.-J. y Hong, G.-P. (2020). Effects of microbial transglutaminase and alginate on the water-binding, textural and oil absorption properties of soy patties. *Food Science and Biotechnology*, 29(6), 777–782. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00713-6>
- Lee, J. H., Won, D. J., Kim, H. W. y Park, H. J. (2019). Effect of particle size on 3D printing performance of the food-ink system with cellular food materials. *Journal of Food Engineering*, 256(6), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.03.014>
- Leelapunyawut, S., Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S., Derossi, A., Caporizzi, R. y Chiewchan, N. (2022). Effects of Texture Modifiers on Physicochemical Properties of 3D-Printed Meat Mimics from Pea Protein Isolate-Alginate Gel Mixture. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(24). <https://doi.org/10.3390/foods11243947>
- Lille, M., Nurmela, A., Nordlund, E., Metsä-Kortelainen, S. y Sozer, N. (2018). Applicability of protein and fiber-rich food materials in extrusion-based 3D printing. *Journal of Food Engineering*, 220(7), 20–27. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.034>
- Listrat, A., Lebet, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., Picard, B. y Bugeon, J. (2016). How Muscle Structure and Composition Influence Meat and Flesh Quality. *TheScientificWorldJournal*, 2016, 3182746. <https://doi.org/10.1155/2016/3182746>
- Liu, Z., Bhandari, B., Prakash, S., Mantihal, S. y Zhang, M. (2019). Linking rheology and printability of a multicomponent gel system of carrageenan-xanthan-starch in extrusion based additive manufacturing. *Food Hydrocolloids*, 87(1), 413–424. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.08.026>
- Liu, Z., Zhang, M., Bhandari, B. y Wang, Y. (2017). 3D printing: Printing precision and application in food sector. *Trends in Food Science & Technology*, 69, 83–94. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.018>
- Ma, Y., Schutyser, M. A.I., Boom, R. M. y Zhang, L. (2021). Predicting the extrudability of complex food materials during 3D printing based on image analysis and gray-box data-driven modelling. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 73(3), 102764. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102764>
- Marthen, M. J. (2021). *Los alimentos sintéticos como fuente potencial para los agronegocios en el siglo XXI* [Tesis]. Universidad Veracruzana, México.

- <https://www.uv.mx/personal/avillagomez/files/2021/02/2021-Marthen-Monografia-LAI.pdf>
- Middleman, S. (1977). *Fundamentals of polymer processing*. McGraw-Hill.
- Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación Productiva. (2015). *Estudio de vigilancia tecnológica e inteligencia competitiva en tecnologías de impresión 3D para alimentos* (1ª ed.). Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/est_ind_vteic-impresion-3d-en-alimentos.pdf
- Nijdam, J. J., Agarwal, D. y Schon, B. S. (2022). An experimental assessment of filament-extrusion models used in slicer software for 3D food-printing applications. *Journal of Food Engineering*, 317(19), 110711. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110711>
- Oficina de Estudios y Políticas Agrarias. (2007). *Caracterización de la demanda de carne bovina y evaluación de bienes sustitutos*. Ministerio De Agricultura De Chile. https://www.odepa.gob.cl/odepaweb/publicaciones/Estudio_Demanda_Carne_Bovina.pdf
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2023). *Food Outlook: Biannual report on global food markets*. FOOD & AGRICULTURE ORG. <https://doi.org/10.4060/cc3020en>
- Pau, T. O. (2013). *Caracterización del comportamiento viscoelástico de un alimento mediante un ensayo oscilatorio*. Universitat Politècnica de València. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/103390/Talens%20-%20Caracterizaci%C3%B3n%20del%20comportamiento%20viscoel%C3%A1stico%20de%20un%20alimento%20mediante%20un%20ensayo%20oscil...pdf?sequence=1#:~:text=tan%20%C3%A9%20La%20tangente%20del,%3D%20G%E2%80%9D%20FG'>
- Paxton, N., Smolan, W., Böck, T., Melchels, F., Groll, J. y Jungst, T. (2017). Proposal to assess printability of bioinks for extrusion-based bioprinting and evaluation of rheological properties governing bioprintability. *Biofabrication*, 9(4), 44107. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/aa8dd8>
- Perdana, J., Fox, M. B., Schutyser, M. A. I. y Boom, R. M. (2011). Single-Droplet Experimentation on Spray Drying: Evaporation of a Sessile Droplet. *Chemical Engineering & Technology*, 34(7), 1151–1158. <https://doi.org/10.1002/ceat.201100040>
- Peters, J.P.C.M. (2016). *Water-binding of protein particles*. <https://doi.org/10.18174/385963>
- Pires, C. V., Oliveira, M. G. d. A., Rosa, J. C. y Costa, N. M. B. (2006). Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. *Ciência E Tecnologia De Alimentos*, 26(1), 179–187. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000100029>
- Rhim, J.-W. (2004). Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. *LWT - Food Science and Technology*, 37(3), 323–330. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2003.09.008>
- Saiz, A. L. (2010). *Cambio climático: una influencia recíproca* [Publicación universitaria]. Universidad de Alicante, España. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3419464.pdf>
- Schlangen, M., Ribberink, M. A., Taghian Dinani, S., Sagis, L. M.C. y van der Goot, A. J. (2023). Mechanical and rheological effects of transglutaminase treatment on dense plant protein blends. *Food Hydrocolloids*, 136(2), 108261. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108261>
- Schreuders, F. K.G., Dekkers, B. L., Bodnár, I., Erni, P., Boom, R. M. y van der Goot, A. J. (2019). Comparing structuring potential of pea and soy protein with gluten for meat analogue preparation. *Journal of Food Engineering*, 261(2), 32–39.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.04.022>

Schutysse, M.A.I., Houlder, S., Wit, M. de, Buijsse, C.A.P. y Alting, A. C. (2018). Fused deposition modelling of sodium caseinate dispersions. *Journal of Food Engineering*, 220(21), 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.02.004>

Schwab, A., Levato, R., D'Este, M., Piluso, S., Eglin, D. y Malda, J. (2020). Printability and Shape Fidelity of Bioinks in 3D Bioprinting. *Chemical Reviews*, 120(19), 11028–11055. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00084>

Shi, H., Li, J., Xu, E., Yang, H., Liu, D. y Yin, J. (2023). Microscale 3D printing of fish analogues using soy protein food ink. *Journal of Food Engineering*, 347(2), 111436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111436>

Vásquez, A. J. (2017). *Formulación de una torta tipo hamburguesa a base de hongo ostra (Pleurotus ostreatus) y harina de coqueta roja (Eisenia foetida) y comparación con las concentraciones de proteína y hierro con la carne de vacuno* [Tesis]. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. <http://www.repositorio.usac.edu.gt/8294/1/22Tg%28826%29Ali.pdf>

Wang, J. y Shaw, L. L. (2005). Rheological and extrusion behavior of dental porcelain slurries for rapid prototyping applications. *Materials Science and Engineering: A*, 397(1-2), 314–321. <https://doi.org/10.1016/j.msea.2005.02.045>

Wang, T., Kaur, L., Furuhashi, Y., Aoyama, H. y Singh, J. (2022). 3d Printing of Textured Soft Hybrid Meat Analogues. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/foods11030478>

Zhu, S. (2022). *3D food printing: from structure to perception*. <https://doi.org/10.18174/569427>

Anexos**Anexo A***Diámetros de boquillas para bioimpresión.*

Color	Calibre	DI (mm)	DI (μm)
Olivo	14G	1.63	1630
Gris	16G	1.22	1220
Verde	18G	0.87	870
Rosa	20G	0.61	610
Azul	22G	0.44	440
Rojo	25G	0.28	280
Translucido	27G	0.23	230
Rosa translucido	30G	0.14	140

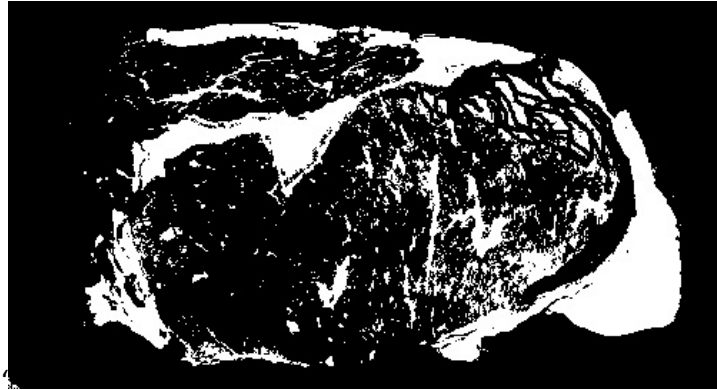
Anexo B

Pieza de carne comercial utilizada para construcción del modelo tridimensional.



Anexo C

Corte de carne Binarizado por el método de Otsu



Anexo D

Imagen vectorizada del corte de carne.

