

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 008 512**

51 Int. Cl.:

A23J 3/26	(2006.01)
A23J 3/22	(2006.01)
A23P 30/20	(2006.01)
A23P 20/20	(2006.01)
B33Y 10/00	(2015.01)
B33Y 80/00	(2015.01)
A23J 3/14	(2006.01)
A23J 3/20	(2006.01)
A23J 3/04	(2006.01)
A23P 20/25	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.08.2019 PCT/EP2019/071093**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **13.02.2020 WO20030628**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.08.2019 E 19746506 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.10.2024 EP 3833194**

54 Título: **Proceso para la preparación de un producto microextruido comestible que comprende proteínas, composición obtenida por el mismo y el uso de los mismos**

30 Prioridad:

07.08.2018 EP 18382598

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

24.03.2025

73 Titular/es:

**NOVAMEAT TECH S.L. (100.00%)
C. Alaba 140, 4-2B
08018 Barcelona, ES**

72 Inventor/es:

SCIONTI, GIUSEPPE

74 Agente/Representante:

CONTRERAS PÉREZ, Yahel

ES 3 008 512 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Proceso para la preparación de un producto microextruido comestible que comprende proteínas, composición obtenida por el mismo y el uso de los mismos

5

Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud de patente europea 18382598.3, presentada el 7 de agosto de 2018.

Campo técnico

La presente invención se refiere al campo de la industria alimentaria. En particular, al campo de los productos basados en proteínas como sustitutos de carne y alimentos personalizables.

10 Técnica anterior

Las proteínas son componentes básicos en todos los organismos vivos, y se pueden obtener nutrientes de proteína para una dieta sana por alimentos de tanto origen animal como vegetal. Según el informe "Health Promotion and Disease Prevention Knowledge Gateway" del Servicio de Ciencia y Conocimiento de la Comisión Europea (2017), una dieta mixta que comprende diferentes nutrientes de proteína es fundamental para el correcto funcionamiento del cuerpo humano, proporcionando las condiciones para la actividad enzimática del cuerpo, inmunidad, señalización celular y trabajo muscular. Entre los aminoácidos, que son los elementos estructurales de las proteínas, un grupo de ellos se denominan los aminoácidos indispensables (AAIs) o aminoácidos esenciales (AAEs): el cuerpo humano no es capaz de sintetizarlos por sí mismo, por lo que se deben proporcionar en la dieta para que el cuerpo cumpla sus funciones fisiológicas. La baja variedad de alimentos, que es común de las dietas basadas en plantas de algunas regiones rurales del mundo, puede provocar una insuficiencia de proteínas dietéticas. Por otra parte, la mayoría de las dietas occidentales (incluyendo las europeas) son de alta calidad en términos de consumo de proteínas, debido a que estas dietas se basan en una combinación de una variedad de proteínas de origen vegetal, y en alimentos basados en animales, ambos de los cuales son capaces de proporcionar un buen consumo de AAIs. Las consecuencias de la deficiencia de proteínas incluyen capacidades mentales reducidas y enfermedades tales como kwashiorkor, especialmente en países afectados por desnutrición o hambruna. El consumo diario recomendado de proteína dietética para hombres y mujeres adultas con niveles normales de actividad física es aproximadamente 0,80-0,83 g por kilogramo de peso corporal, mientras que la cantidad recomendada para niños y mujeres embarazadas es más alta, para soportar el crecimiento del cuerpo y la producción de leche, respectivamente. En el caso especial de adultos mayores, se recomienda que su dieta diaria sea igual o superior en términos de consumo de proteínas que en el caso de adultos más jóvenes, pero eso depende de su tendencia a las deficiencias de proteínas.

Se deben tener en cuenta el crecimiento de la población mundial (se espera que sea 9,6 billones para el 2050 según la FAO) y el consecuente aumento en la demanda de proteína de tanto origen vegetal como animal en relación con sus efectos sobre el cambio climático, debido a que la estrategia actual de obtener la mayoría de las proteínas de origen animal de ganado está desempeñando una función importante en el cambio climático. La ganadería contribuye al calentamiento global incluso más que el transporte (un 40 % más que todos los medios de transporte combinados, que incluyen coches, camiones, aviones, trenes y barcos). Más recientemente, se ha estimado que la industria ganadera es responsable del 14,5 % de todas las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) inducidas por el hombre del planeta tierra. Estas incluyen 37 % de metano antropogénico y 65 % de óxido nitroso, que multiplican 23 veces y 296 veces el PCG (potencial de calentamiento global) del CO₂, respectivamente. Las actividades ganaderas relacionadas con la carne de res, producción de leche de ganado vacuno, carne de cerdo y aves de corral contribuyen a 41, 20, 9 y 8 por ciento de las emisiones totales de GEI derivadas del sector, respectivamente, mientras que la contribución restante se representa por el almacenamiento de estiércol, procesamiento y transporte de productos derivados del ganado. Además, el ganado está teniendo un efecto considerable sobre la contaminación y disponibilidad de agua dulce, biodiversidad, degradación del terreno, desertificación y deforestación, siendo esta última la actividad de cambio relacionada con la tierra la que genera más emisiones de GEI. Se ha estudiado el impacto medioambiental de diferentes patrones dietéticos y se encontró que la dieta vegana tenía el efecto más bajo. Además, se conoce que una agricultura basada en plantas tienen un impacto medioambiental mucho menor con respecto al uso de agua dulce, la cantidad de tierra requerida y los productos residuales generados que la agricultura para la producción de carne.

Dados los argumentos previamente descritos sobre la contribución de una dieta que comprende una variedad de nutrientes de proteína a la mejora de la salud pública global, y sobre la importancia de un movimiento hacia un sistema agrícola y ganadero más sostenible, parece fundamental y urgente la necesidad de encontrar estrategias alternativas saludables a la carne producida a partir de animales.

Recientemente, han surgido algunas alternativas a la carne de ganado: algunas de ellas se basan en el uso de ingredientes basados en plantas tales como soja para imitar la carne, mientras que otros se basan en la tecnología de la ingeniería de tejidos, donde se combinan células con un armazón y factores de crecimiento para generar los denominados productos limpios de carne.

En la patente de EE.UU. 9808029-B2 (2017), Fraser et al. desvelaron un producto alimenticio basado en planta que comprende una proteína que contiene hemo que produjo un compuesto con un aroma asociado a la carne de res cuando se cocinó, que se parecía al sabor de la carne. Sin embargo, las actuales tecnologías basadas en el uso de proteínas basadas en plantas para imitar el sabor de la carne no son capaces de imitar la consistencia, textura fibrosa y elasticidad de la carne fibrosa de origen animal. En realidad, uno de los principales motivos de las propiedades mecánicas y la textura de la carne es debido a su naturaleza anisotrópica típica.

Las técnicas tradicionales, tales como el moldeo de los alimentos basados en planta, no pueden imitar los tejidos nativos del animal, debido a que no pueden imitar la distribución y orientación anisotrópica de fibras típicas de la carne de animales vivos. Cuando se moldea un material basado en planta, la microestructura de la red del molde obtenido se diferenciará mucho de la microestructura anisotrópica típica de la carne.

En un intento por parecerse más a la textura tradicional de la carne animal, un patrón estructural fibroso con una mezcla granulada de proteínas de planta (aislado de proteína de la soja y gluten) se desarrolló y desveló por Krintiras et al. "On the use of Couette Cell technology for large scale production of textured soy-based meat replacers", *Journal of Food Engineering*-2016, vol. no. 169, pp.: 205-213. Krintiras et al. demostraron que, aplicando un flujo de cizallamiento simple y calor en un dispositivo que comprende cilindros coaxiales, se podrían obtener estructuras fibrosas con fibras anisotrópicas y que se parecen a la carne. Las fibras se alinean a lo largo de la dirección de flujo del material a lo largo de los dos cilindros. Este material se considera como un buen sustituto de carne, pero todavía fracasa en parecerse a la carne altamente texturizada y fibrosa. Además, se necesita un dispositivo especial.

En la patente de EE.UU. US8703216-B2 (2014), Forgacs et al. desvelaron un método de formación de productos cárnicos comestibles manipulados en el tejido formados como una pluralidad de cuerpos multicelulares que comprenden células no humanas (específicamente miocitos) adheridas entre sí en forma de capas, que incluye una estrategia basada en la bioimpresión, que es el proceso de impresión 3D con células vivas incorporadas en tintas biocompatibles, denominadas biotintas. Sin embargo, en las tecnologías basadas en la ingeniería de tejidos es necesario cultivar las células de animales en laboratorios, para hacer que produzcan una estructura celular similar a la de la carne de animales vivos. Además, las actuales tecnologías de ingeniería de tejidos solo son capaces de producir tejidos artificiales simplificados en comparación con los tejidos de animales nativos. Aunque las tecnologías de ingeniería de tejidos intentan dirigir las células a imitar la estructura de los tejidos nativos a un nivel celular, estas estrategias requieren mantener un cultivo celular a gran escala en el laboratorio, que es muy caro y complicado, y comúnmente requiere proporcionar las células cultivadas con una gran cantidad de proteínas de origen animal, en forma del denominado suero bovino fetal (FBS), para permitir su crecimiento.

En la solicitud de patente de EE.UU. US2016135493-A1 (2016), Kuo et al. desvelaron un sistema de impresión de fabricación de aditivos, que comprende una pluralidad de portacápsulas, capaces de fabricar productos alimenticios por impresión 3D a través de un aparato de extrusión telescópico.

US2017035076 está dirigida a una composición viscoelástica que comprende proteínas, polímero pseudoplástico y también es extruible. Este documento no contempla microextrusión o el apilamiento de capas microextruibles.

Otros autores también evaluaron la capacidad de impresión de materiales de proteína y de alimento fibroso. Un ejemplo son los snacks fabricados y desvelados en Lille et al., "Applicability of protein and fibre-rich food materials in extrusion-based 3D printing", *Journal of Food Engineering*-2017, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.201704.034>. Lille et al. evaluaron la capacidad de impresión de diferentes composiciones comestibles que comprenden diferentes concentraciones de proteínas y/o azúcares, tales como almidón, leche desnatada, leche semidesnatada, combinaciones de estas composiciones comestibles, salvado de centeno, avena y haba. Para muchas de estas composiciones, se midieron las propiedades viscoelásticas, que incluyen el módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G'') y los valores del ángulo de fase, llegando finalmente a la conclusión de que las composiciones utilizables para imprimir y además ser autoportantes una vez impresas deben tener un G' inferior a 1900 Pa. En cualquier otro caso, tuvo lugar la obstrucción de las prensas extrusoras con composiciones altamente viscosas o la separación de fases de los componentes. Las estructuras impresas se hicieron con un entorno dispensador a escala de micrómetros de VTT basado en la tecnología nScrypt (nScrypt, Inc, Orlando, Florida) y un sistema de control del movimiento xyz controlado por CAD que guía las boquillas para depositar estructuras 3D en una estrategia de capa por capa. Lille et al. también evaluaron la capacidad del material impreso en términos de las capacidades autoportantes, así como los efectos de liofilización y de calentamiento en horno después de la impresión.

Se han hecho muchos esfuerzos para obtener materiales fibrosos comestibles que además pueden ser fácilmente fabricados y procesados. Sin embargo, los parámetros reológicos de composiciones de materiales altamente fibrosos requieren dispositivos particulares, tales como una célula de Couette, para obtener una textura que se parece parcialmente al alimento anisotrópico fibroso (carne). Estas propiedades reológicas implican además la obstrucción de prensas extrusoras en caso de que se usen dispositivos de impresión 3D, siendo así altamente difícil imprimir un alimento altamente fibroso y limitando las estrategias de impresión 3D a composiciones comestibles con texturas blandas (snacks, patrones de chocolate, bases para pizza, etc.). Las tecnologías existentes que producen productos basados en plantas no son capaces de imitar simultáneamente el sabor, la apariencia, la consistencia, textura fibrosa y elasticidad de la carne de animales vivos. Las tecnologías de carne limpia basadas en ingeniería de tejidos tienen

una serie de inconvenientes, que incluyen el coste, complejidad y características que exigen mucho tiempo de sus procesos

Así, existe una necesidad de procesos y materiales adicionales que puedan proporcionar todos los nutrientes esenciales, mientras que reduzcan, en particular, la producción de carne animal, evitando dichos materiales los 5 inconvenientes anteriormente mencionados.

Sumario de la invención

Se ha encontrado sorprendentemente que la combinación de un material o composición viscoelástica particular, que podría ser microextruida mientras que tenga propiedades autoportantes una vez microextruida, y la disposición particular de capas que comprenden elementos microextruidos hechos de dicha composición viscoelástica, dieron 10 como resultado un producto comestible con una textura final y propiedades mecánicas que se parecían a la carne tradicional o un tipo de alimento con alta consistencia fibrosa. Por tanto, se obtuvo un producto con propiedades nutritivas deseadas (debido a la composición del material viscoelástico), forma tridimensional (3D), morfología macroscópica y microscópica, consistencia, elasticidad bajo tanto esfuerzo de tracción como de compresión y textura para imitar propiedades mecánicas y nutritivas específicas de diferentes tejidos nativos animales y vegetales.

15 Así, como se representará e ilustrará en los ejemplos más adelante, muchas de las propiedades mecánicas del producto microextruido comestible hacen que sea un sustituto de carne útil, análogo de carne o carne con tejido manipulado que puede incluir la composición deseada de nutrientes proporcionados por dicha composición viscoelástica.

Así, un primer aspecto de la invención se refiere a un proceso para la fabricación de un producto microextruido 20 comestible que comprende dos o más capas de elementos microextruidos viscoelásticos, en donde cada elemento extruido comprende proteína, un polímero pseudoplástico comestible y un disolvente comestible apropiado, que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una composición viscoelástica que comprende en un disolvente comestible apropiado, proteína y un polímero pseudoplástico comestible, comprendiendo dicha composición viscoelástica un porcentaje en peso de 25 proteína desde 19 % hasta 49 % en relación con el peso total de la composición viscoelástica, y la composición viscoelástica comprende al menos 45 % de disolvente comestible, dicho disolvente comestible equilibrando hasta el 100% en peso de la composición viscoelástica;

(ii) microextruir la composición viscoelástica a través de un orificio con una anchura o diámetro de desde 10 µm hasta 1000 µm para obtener uno o más elementos microextruidos; y

30 (iii) apilar las dos o más capas que comprenden elementos microextruidos de tal forma que una sección vertical del producto microextruido comestible muestre elementos microextruidos cruzados dentro de una capa, o elementos microextruidos superpuestos y diferencialmente orientados entre las diferentes capas; o alternativamente las dos o más capas se apilan de tal forma que los elementos microextruidos entre las capas se orienten en paralelo.

Modos particulares de llevar a acbo este proceso se detallan en las siguientes secciones.

35 La invención se refiere a y proporciona un producto microextruido comestible que comprende dos o más capas de elementos microextruidos viscoelásticos, en donde cada elemento extruido comprende proteína, un polímero pseudoplástico comestible y un disolvente comestible apropiado, en donde:

- el porcentaje en peso de proteína en relación con el peso total del elemento microextruido es desde 19 % hasta 49 %, y el porcentaje en peso de disolvente comestible en relación con el peso total del elemento microextruido es al 40 menos 45 %;

- los elementos microextruidos tienen una anchura en sección transversal desde 10 µm hasta 1000 µm;

- el módulo elástico de compresión del producto microextruido comestible es desde $1,0 \times 10^3$ Pa hasta $5,0 \times 10^6$ Pa y el módulo de Young a la tracción del producto microextruido comestible es desde $5,0 \times 10^3$ Pa hasta $11,0 \times 10^6$ Pa, dichos 45 módulos elásticos de compresión y de Young a la tracción medidos en un sistema de ensayo servo-hidráulico con una tasa de desplazamiento de las pinzas igual a 1 mm/min, a 23 °C y con una cantidad de disolvente en el producto microextruido comestible desde 45 % hasta 90 % p/p; y

- las dos o más capas de elementos microextruidos se apilan de tal forma que una sección vertical del producto microextruido comestible muestre elementos microextruidos cruzados dentro de una capa, o elementos microextruidos superpuestos y diferencialmente orientados entre las diferentes capas; o alternativamente las dos o más capas se 50 apilan de tal forma que los elementos microextruidos entre las capas se orienten en paralelo.

Así, un segundo aspecto de la invención es un producto microextruido comestible obtenible por un método según se ha definido arriba, este producto comprendiendo dos o más capas de elementos microextruidos viscoelásticos, según se ha definido previamente, y donde el módulo elástico de compresión del producto microextruido comestible es desde $1,0 \times 10^3$ Pa hasta $5,0 \times 10^6$ Pa y el módulo de Young a la tracción del producto microextruido comestible es desde

5,0x10³ Pa hasta 11,0x10⁶ Pa, dichos módulos elásticos de compresión y de Young a la tracción medidos en un sistema de ensayo servo-hidráulico con una tasa de desplazamiento de las pinzas igual a 1 mm/min, a 23 °C y con una cantidad de disolvente en el producto microextruido comestible desde 45 % hasta 90 % p/p.

Estos módulos elástico de compresión y módulo de Young a la tracción resulta de las características cualitativas y cuantitativas de la composición viscoelástica a partir de la cual se hacen los elementos microextruidos, en combinación con las otras características del producto microextruido comestible, en concreto la sección transversal de los elementos y el apilado de las capas de elementos microextruidos. Este producto microextruido comestible se obtiene mediante diferentes etapas mecánicas y opcionalmente químicas que no afectan su comestibilidad y propiedades nutritivas. Además, la microextrusión se puede llevar a cabo por impresión 3D, usando una composición viscoelástica como tinta inyectable durante la impresión 3D de la que se hacen los elementos microextruidos. Esto es debido a las propiedades reológicas de comprendiendo dicha composición viscoelástica proteínas y polímeros pseudoplásticos en disolvente apropiado, en particular en agua.

Otro aspecto más de la invención es el uso de un producto microextruido comestible como se ha definido anteriormente, como un sustituto de carne. Este aspecto también se puede formular como un sustituto de carne que comprende o que consiste en el producto microextruido comestible del primer aspecto de la invención. Un "sustituto de carne" de acuerdo con esta invención en un producto utilizado para reducir o "sustituir" carne real procedente de animales para obtener una mezcla de ambos carne de animales (bistec, salsitxas, etc.) y el sustituto de carne.

Además, otro aspecto de la invención es el uso de un producto microextruido comestible, según se define arriba como análogo de carne. Este aspecto también se puede formular como un análogo de carne que comprende o que consiste en el producto microextruido comestible del primer aspecto de la invención. "Análogos de carne" se emplean comúnmente como alternativas a la carne, sustitutos de carne, simulacros de carne, imitación de carne, imitación de carne, carne vegetariana, carne de origen vegetal o carne vegana, que se aproxima a ciertas cualidades estéticas (como textura, sabor, apariencia) o características químicas de tipos específicos de carne. A veces también se denominan "sustitutos de la carne" (ver Krintiras et al. Supra).

Un éxito de la invención es, como se ha expuesto anteriormente, la eficaz combinación de una composición viscoelástica cualitativa particular que se puede microextruir para obtener elementos microextruidos autoportantes, y la disposición de dichos elementos microextruidos dentro de las dos o más capas. Esta composición viscoelástica tiene parámetros viscoelásticos adecuados que hacen capaz la microextrusión debido a la presencia del polímero pseudoplástico. Un polímero pseudoplástico es un compuesto polimérico con fluidización por cizallamiento, o que es el mismo con una viscosidad que disminuye bajo esfuerzo de cizallamiento.

Se ha encontrado sorprendentemente que las nuevas mezclas de proteínas y polímeros pseudoplásticos en un disolvente (es decir, en agua) que tienen parámetros viscoelásticos particulares son en particular buenas para ser usadas en la preparación del producto microextruido comestible del primer aspecto. Así, también se han desarrollado nuevas composiciones viscoelásticas particulares, con alto contenido de proteínas (desde 19 % hasta 49 % en la composición) y que comprenden también un polímero pseudoplástico comestible en un disolvente comestible. Paraméricamente definidas, estas nuevas composiciones viscoelásticas tienen un módulo de almacenamiento G' superior al módulo de pérdida G'', dichos G' y G'' medidos a una frecuencia de 0,16 Hz y a una temperatura de 23 °C en un par de placas serradas paralelas y con una cantidad de disolvente en la composición desde 45 % hasta 90 % p/p, siendo el módulo de almacenamiento G' superior a 1700 Pa y el módulo de pérdida G'' superior a 350 Pa, y siendo la relación G'/G'' en la composición viscoelástica desde 0,24 hasta 0,88. Esta relación también se conoce como la tangente de pérdida (tan(δ)).

Así, otro aspecto de la invención es una composición microextruible viscoelástica comestible que comprende, en un disolvente comestible apropiado, proteína en un porcentaje en peso en relación con el peso total de la composición viscoelástica desde 19 % hasta 49 %, dicha proteína seleccionada de proteína de origen vegetal, proteína de insecto, proteína de origen de alga, proteína de origen bacteriano, y sus combinaciones; y un polisacárido pseudoplástico comestible seleccionado de alginato, goma xantana, glucosaminoglicanos, agarosa, goma gellan, pectina, carragenina y sus combinaciones, en un porcentaje en peso en relación con la composición viscoelástica total desde 0,2 % hasta 40 %; y en donde la composición viscoelástica comprende al menos 45 % en peso de disolvente comestible, en relación con el peso total de la composición. El resto del peso es el disolvente hasta 100 % de la composición viscoelástica.

Esta composición viscoelástica es microextruible, por tanto con una distribución homogénea de tamaños de partícula de la mezcla de ingredientes (i.e. proteína, disolvente comestible y polímero pseudoplástico) más bajo que el 60% de la anchura o diámetro del orificio a través del cual debe ser microextruida. Distribución homogénea significa que más del 90% en peso de las partículas tiene un tamaño de partícula por debajo de 60% de la anchura o el diámetro del orificio a través del cual debe ser microextruida.

Por lo tanto, si la composición viscoelástica se microextruye a través de un orificio con una anchura o diámetro particular desde 10 µm hasta 1000 µm, la composición viscoelástica tiene una distribución homogénea de tamaño de partículas desde por debajo de 6 µm hasta por debajo de 600 µm. Así, más del 90% en peso de las partículas tiene un tamaño de partícula por debajo de 6 µm si la anchura o el diámetro del orificio a través del cual debe ser

microextruída es de 10 μm ; o más del 90% en peso de las partículas tiene un tamaño de partícula por debajo de 600 μm si la anchura o el diámetro del orificio a través del cual debe ser microextruída es de 1000 μm .

Con este 60% de la anchura o diámetro del orificio, se evita la obturación de los extrusores empleados en la etapa (ii) del proceso según la invención.

- 5 La obtención de composiciones viscoelásticas con contenidos de proteína elevados (19%-49%) y polímeros pseudoplásticos con una distribución homogénea de tamaños de partícula no es trivial, porque la mezcla de proteínas en un porcentaje elevado y pseudoplástico tiende a crear separación de fases, por tanto, se hace imposible la microextrusión debido a la obstrucción de los extrusores y/o la descomposición del material a ser microextruído. Por otro lado, la mezcla debe preservar la estructura de la proteína para garantizar una vez microextruída la palatabilidad (sensación en la boca) y la textura de material fibrosos de base animal (tipo carne).

- 10 El inventor encontró de manera sorprendente que, una mezcla de proteínas homogénea con un porcentaje elevado en la mezcla de 19% a 49%, un polímero pseudoplástico y al menos el 45% de un disolvente comestible equilibrando el 100% de la mezcla, era obtenible por: (a) mezclado de las proteínas, el polímero pseudoplástico y el disolvente comestible en un recipiente; y (b) aplicar agitación a fuerzas centrífugas elevadas mientras se eleva la temperatura desde la temperatura ambiente (i.e. 20°C) a por debajo de 95°C, manteniendo la agitación y la temperatura por un periodo de tiempo de 1 minuto (min) a 30 minutos (min).

A pesar de la alta agitación, la estructura de la proteína no se deterioró de tal forma que no se perdieron las propiedades estructurales y organolépticas, a la vez que la mezcla quedaba constituida por partículas con tamaños que eran adecuados para pasar a través del microextrusor sin obturar el mismo.

- 20 Estas fuerzas de gravedad elevadas se emplean usualmente en el campo de las cerámicas, para obtener mezclas de cementos o de materiales cerámicos. Sin embargo, su empleo en composiciones que comprenden proteínas como material fibroso está desaconsejado debido al efecto de desnaturalización en dichas proteínas.

- 25 Así, otro aspecto de la invención es una nueva composición microextruible viscoelástica comestible que comprende, un polímero pseudoplástico, un porcentaje en peso de proteína de 19% a 49% p/p, y al menos un 45% p/p de un disolvente comestible, dicho disolvente comestible equilibrando hasta el 100% en peso de la composición viscoelástica, ambos porcentajes en relación con el peso total de la composición viscoelástica, dicha composición viscoelástica con una distribución homogénea de tamaños de partículas de menos de 6 μm a menos de 600 μm , y obtenible por:

(a) mezclado de las proteínas, el polímero pseudoplástico y el disolvente comestible en un recipiente; y

- 30 (b) aplicación de uno o más ciclos de agitación a una fuerza centrífuga o fuerza centrífuga relativa (rcf) de 10g a 4000g, opcionalmente en más de una dirección, mientras se eleva la temperatura de 20°C a una temperatura menor que 95°C, y manteniendo la agitación y la temperatura por un periodo de tiempo de 1 minuto a 30 minutos.

- 35 Las fuerzas centrífugas relativas alrededor de 10 g corresponden a 300 revoluciones por minuto (rpm) en un rotor con un radio de 10 cm. 4000 g corresponden a aproximadamente 6000 rpm, es decir, 5976 rpm. Las fuerzas centrífugas relativas alrededor de 60 g corresponden a 730 revoluciones por minuto (rpm) en un rotor con un radio de 10 cm.

Breve descripción de los dibujos

- 40 La FIG. 1 en A representa una formulación microextruible (composición viscoelástica), compuesta por 25 % p/p de proteína de arroz, 5 % p/p de alginato de sodio y 70 % p/p de agua. La FIG. 1 en B representa una formulación no microextruible, compuesta por 55 % p/p de proteína de arroz y 45 % p/p de agua.

La FIG. 2 representa un ejemplo de una formulación que genera filamentos microextruidos autoportantes, compuesta por 25 % p/p de proteína de arroz, 5 % p/p de alginato de sodio y 70 % p/p de agua (FIG. 2 A). La FIG. 2 B representa una formulación que genera filamentos no microextruidos autoportantes, compuesta por 5 % p/p de alginato de sodio y 95 % p/p de agua.

- 45 La FIG. 3 A y FIG. 3 B representan el proceso de impresión 3D de microextrusión de dos productos microextruidos multicapa, con diferente composición y módulos viscoelásticos. Los productos representados en la FIG. 3 A y FIG. 3 B se generaron usando las composiciones con 25 % p/p de proteína de arroz, 5 % de alginato de sodio y 70 % p/p de agua (FIG. 3 A), y 20 % p/p de proteína de arroz, 5 % de alginato de sodio y 75 % p/p de agua (FIG. 3 B).

- 50 La FIG. 4 representa una distribución XY, donde los ejes X e Y representan las concentraciones de alginato de sodio y de proteína de arroz, respectivamente, y las formulaciones imprimibles 3D están contenidas en el área definida por las curvas 1, 2, 3 y 4.

La FIG. 5A representa una representación ilustrativa de la medición de las propiedades viscoelásticas de las formulaciones usadas para preparar un producto microextruido comestible según la invención. La FIG. 5 B representa una medición representativa de los módulos viscoelásticos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') (en Pa), medidos

en función de la amplitud del esfuerzo (σ) en Pa. El gráfico en la FIG. 5 B representa una medición representativa del ensayo de barrido de amplitud realizado en la composición con 20 % p/p de proteína de arroz, 5 % p/p de alginato de sodio y 75 % p/p de agua según la invención.

La FIG. 6 representa una distribución XY, donde los ejes X e Y representan las concentraciones de proteína de alginato de sodio y de proteína de arroz, respectivamente, y las formulaciones imprimibles 3D (A-H) están contenidas en el área definida por las curvas 1, 2, 3 y 4, como se describe previamente en la FIG. 4. Los valores asociados a cada una de las composiciones [G' , G'' , $|\eta^*|$, $\tan(\delta)$] resumen sus parámetros viscoelásticos.

La FIG. 7 A representa una representación ilustrativa de la medición de las propiedades mecánicas bajo esfuerzos de tracción de los productos microextruidos comestibles. La FIG. 7 B representa una medición representativa de la curva de esfuerzo-deformación nominal, cuando un producto se sometió a esfuerzos de tracción. La curva de esfuerzo-deformación nominal en la FIG. 7 B representa un ensayo de tracción representativo realizado en el producto generado usando la composición con 25 % p/p de proteína de arroz, 25 % p/p de alginato de sodio y 50 % p/p de agua. El esfuerzo se indica en MPa y la deformación en mm/mm.

La FIG. 8 A representa una representación ilustrativa de la medición de las propiedades mecánicas bajo esfuerzos de compresión de los productos microextruidos comestibles. La FIG. 8 B representa una medición representativa de la curva de esfuerzo-deformación nominal, cuando un producto se sometió a esfuerzos de compresión. La curva de esfuerzo-deformación nominal en la FIG. 8 B representa un ensayo de compresión representativo realizado en el producto generado usando la composición con 25 % p/p de proteína de arroz, 25 % p/p de alginato de sodio y 50 % p/p de agua. El esfuerzo se indica en MPa y la deformación en mm/mm.

La FIG. 9 representa un gráfico que representa los intervalos de módulo elástico de compresión y módulo de Young a la tracción de los productos microextruidos comestibles según la invención. Los rectángulos sombreados representan los intervalos cubiertos por los productos.

La FIG. 10 (A y B) representa imágenes de microscopía electrónica de barrido representativas de la microestructura de un producto seleccionado a 200X de aumento, desde ángulos en vista desde arriba y en vista transversal, respectivamente. El producto representado en estas imágenes estuvo compuesto por 25 % p/p de proteína de arroz, 25 % de alginato de sodio y 50 % p/p de agua.

La FIG. 11 (A y B) representa imágenes de microscopía electrónica de barrido representativas de la microestructura de un producto seleccionado, a 200X y 15000X de aumento, respectivamente. La FIG. 11 B representa un aumento de la misma imagen representada en la FIG. 11 A; a mayor aumento, fue posible observar un alineamiento en la dirección de las nanofibras, que están contenidas en el interior de un filamento microextruido individual.

La FIG. 12 representa una representación ilustrativa del proceso de impresión de microextrusión 3D de un producto análogo a la carne, que se generó usando dos composiciones diferentes, cada una en una prensa extrusora separada, y alternando las dos prensas extrusoras en cada capa: específicamente, una de las prensas extrusoras usada en este ejemplo generó capas con la composición de 25 % p/p de PA, 5 % p/p de AS y 70 % p/p de agua, mientras que la otra prensa extrusora generó capas con la composición de 25 % p/p de PA, 25 % p/p de AS y 50 % p/p de agua.

La FIG. 13 representa un ejemplo de un producto análogo a carne microextruido multicapa comestibles completado, que se generó usando una composición con 12,5 % p/p de proteína de arroz, 12,5 % p/p de proteína de guisante, 5 % p/p de AS y 70 % p/p de agua.

La FIG. 14, A y B representan imágenes representativas obtenidas durante el proceso de cocción en una sartén de los productos descritos en este ejemplo, en compasión con un trozo de carne de pechuga de pollo.

La FIG. 15 muestra un ejemplo de formulación viscoelástica microextruible compuesta de 75% p/p de agua, 20% p/p de proteína de guisante (PP) y 5% p/p de carragenina (CG), de la que se generan filamentos microextruidos autoportantes.

La FIG. 16 muestra el proceso de impresión 3D de microextrusión de un producto microextruido multicapa generado empleando una composición viscoelástica con 73% p/p de agua, 25% p/p de proteína de guisante (PP) y 2% p/p de goma gellan (GG).

Descripción detallada de la invención

Todos los términos que se usan en el presente documento en la presente solicitud, a menos que se establezca de otro modo, se deben entender en su significado habitual como se conoce en la técnica. Otras definiciones más específicas para ciertos términos que se usan en la presente solicitud son como se exponen más adelante y están previstas para ser aplicadas uniformemente en toda la memoria descriptiva y reivindicaciones, a menos que una definición expuesta explícitamente de otro modo proporcione una definición más amplia.

Según la descripción una "composición viscoelástica" o "material viscoelástico" (usados indistintamente como sinónimos) es una composición que tiene comportamiento viscoelástico. La viscoelasticidad es la propiedad de materiales que presentan tanto características viscosas como elásticas cuando se someten a deformación. Los

materiales viscosos, como el agua, resisten al flujo de cizallamiento y la deformación linealmente con el tiempo cuando se aplica un esfuerzo. Los materiales elásticos se deforman cuando se estiran y vuelven inmediatamente a su estado original una vez se retira el esfuerzo. Los materiales viscoelásticos tienen elementos de ambas de estas propiedades y, como tales, presentan deformación dependiente del tiempo. Aunque la elasticidad es normalmente el resultado de la tensión de enlace a lo largo de planos cristalográficos en un sólido ordenado, la viscosidad es el resultado de la difusión de átomos o moléculas dentro de un material amorfo. La viscoelasticidad se estudia usando reometría de cizallamiento, aplicando un pequeño esfuerzo oscilatorio y midiendo la deformación resultante. El módulo de almacenamiento y de pérdida en los materiales viscoelásticos miden la energía almacenada, que representa la porción elástica, y la energía disipada como calor, que representa la porción viscosa. Similarmente, también se define y se usa en la presente como sinónimo de módulos de "almacenamiento por cizallamiento (G')" y de "pérdida por cizallamiento (G'')". En la reología, la fluidización por cizallamiento es el comportamiento no newtoniano de fluidos cuya viscosidad disminuye bajo esfuerzo de cizallamiento o tiempo. Se considera algunas veces sinónimo de comportamiento pseudoplástico (como en la presente descripción), y normalmente se define como efectos dependientes del tiempo excluyentes, tales como tixotropía. El comportamiento de fluidización por cizallamiento no se observa generalmente en líquidos puros con baja masa molecular, o soluciones ideales de moléculas pequeñas como sacarosa o cloruro sódico, pero se observa frecuentemente en soluciones de polímero y polímeros fundidos, y fluidos complejos y suspensiones como ketchup, nata montada, sangre, pintura y laca de uñas.

Las propiedades viscoelásticas se determinan mediante mediciones reológicas bajo esfuerzo de cizallamiento. Este análisis puede servir para evaluar las propiedades viscoelásticas óptimas de las composiciones que pueden ser apropiadamente microextruidas en forma de productos multicapa. Un dispositivo particular usados para este objetivo es un reómetro, tal como el reómetro Haake Mars III (Thermo Fisher Scientific, EE.UU.), que funciona normalmente a 23 °C. El sistema de medición consiste en un par de placas serradas paralelas, para evitar el deslizamiento de la pared y proporcionar un agarre potenciado de las composiciones que se miden. Para la medición de las propiedades viscoelásticas de las composiciones desveladas en esta descripción que comprenden proteínas y polímeros pseudoplásticos se aplicó un esfuerzo de compresión con una fuerza normal de 5 N (véase más adelante en los ejemplos). Se realizaron pruebas oscilatorias para medir los módulos viscoelásticos (módulo de almacenamiento G' y módulo de pérdida G''), el módulo de la viscosidad compleja ($|\eta^*|$) y la tangente de pérdida ($\tan(\delta)$), medida como $\tan(\delta)=G''/G'$ (también denominada en la presente la relación G''/G'), que determina la relación entre los módulos viscoelásticos. Para este fin, se realizan dos tipos diferentes de ensayos oscilatorios: el ensayo de barrido de amplitud y de barrido de frecuencias. En los ensayos de barrido de amplitud, la frecuencia se fija a $f=1$ Hz, y se aumenta la amplitud del esfuerzo aplicado (σ) desde 0,005 Pa hasta 2 Pa, para delimitar la región lineal viscoelástica (RLV), que es la región para la que los módulos viscoelásticos son independientes de la amplitud del esfuerzo, y normalmente se observan valores constantes de los módulos. Entonces se realizan ensayos de barrido de frecuencias, en los que el esfuerzo aplicado se fija a un valor dentro de la RLV, y se varía la frecuencia. Los ensayos de barrido de frecuencias permiten la evaluación del comportamiento de los módulos viscoelásticos bajo frecuencias cambiantes. La tangente de pérdida $\tan(\delta)$ se mide a 0,15 Hz.

El módulo elástico de compresión de un material caracteriza la relación entre el esfuerzo de compresión aplicado a un material y la deformación por compresión correspondiente, que define esencialmente cómo de fácil es exprimir o comprimir el material entre dos pinzas. En el caso de materiales basados en poliméricos que contienen alta cantidad de líquidos dentro de sus redes, tales como hidrogeles, el análisis de su comportamiento mecánico viscoelástico bajo esfuerzos de compresión se analiza comúnmente sometiendo los materiales a ensayos de compresión no confinada. Cuando se realizan ensayos de compresión no confinada en tales materiales hinchados por líquido, normalmente se calcula el módulo elástico de compresión, comprimiendo los materiales a tasas de desplazamiento lentas fijadas, como la pendiente de las curvas de esfuerzo-deformación nominal correspondiente a un valor de deformación definido que es especificado en el estudio (por ejemplo, un 15 % de deformación).

El módulo de Young a la tracción (o simplemente módulo de Young) es un parámetro mecánico de materiales que mide la rigidez de un material sólido bajo tensión. Este parámetro da información sobre el comportamiento del producto comestible cuando se somete a esfuerzo de tracción uniaxial. Define la relación entre el esfuerzo (fuerza por unidad área) y la deformación (deformación proporcional) en un material en el régimen de elasticidad lineal de deformación uniaxial. El módulo de Young, E , se puede calcular dividiendo el esfuerzo de tracción nominal, σ , entre la deformación de extensión nominal, ϵ , en la porción elástica (inicial, lineal) de la curva de esfuerzo-deformación nominal.

La determinación de los parámetros mecánicos del producto microextruido comestible en esta descripción se realizó usando métodos convencionales conocidos. Para evaluar la resistencia mecánica de los productos microextruidos comestibles, se evaluó el comportamiento mecánico bajo esfuerzos de tracción y de compresión usando un sistema de ensayo servo-hidráulico con un sensor de carga de 500 N (MTS Bionix 358, EE.UU.) a 23 °C y con un contenido de disolvente (agua o calidad para hidratación) en el producto comestible que varía desde 45 % hasta 90 % p/p. Se calcularon los valores del módulo de Young a la tracción (E_Y), esfuerzo nominal en el punto de rotura (σ_B) y deformación nominal en el punto de rotura (ϵ_B) bajo esfuerzo de tracción uniaxial, y se calculó el valor del módulo elástico de compresión (E_C) bajo esfuerzo de compresión uniaxial no confinado. Se mantuvo constante la tasa de desplazamiento de las pinzas durante el experimento, siendo igual a 1 mm/min para tanto los ensayos de tensión como de compresión. Se calculó el módulo de Young como la pendiente de la porción lineal inicial de la curva de esfuerzo-deformación

nominal, mientras que el esfuerzo nominal en el punto de rotura (σ_B) y la deformación nominal en el punto de rotura (ϵ_B) se determinaron en el punto de fractura, que fue seguido por una rápida disminución del valor de esfuerzo. Para los ensayos de compresión, se determinó el módulo elástico de compresión a partir de la pendiente de la curva de esfuerzo-deformación a 15 % de deformación. Los modos equivalentes de medición incluyen la pendiente de una
5 curva de esfuerzo-deformación a deformación desde 10 % hasta 60 %.

La "anisotropía" es la propiedad de ser direccionalmente dependientes, que implica diferentes propiedades en diferentes direcciones, a diferencia de la "isotropía". Se puede definir como una diferencia, cuando se mide a lo largo de diferentes ejes, en las propiedades físicas o mecánicas de un material (absorbancia, índice de refracción, conductividad, resistencia a la tracción, etc.). Se observa un ejemplo de anisotropía en la madera o en la carne, que
10 es más fácil de romper a lo largo de su grano que a través de ellos. Con las varias disposiciones particulares de los elementos microextruidos que forman las capas del producto comestible, el producto tiene anisotropía en el sentido de que será más fácil de fraccionar a lo largo de una dirección que en otra, como también ocurre con la carne de producción animal tradicional. Esto es el caso cuando las dos o más capas de producto comestible se apilan de tal forma que los elementos microextruidos entre las capas se orienten en paralelo.

15 Las expresiones "comestible" y "sal comestible de los mismos" se refiere a materiales, composiciones o vehículos (disolventes) que pueden ser ingeridos (calidad alimenticia) y que son compatibles con otros ingredientes en el producto comestible. Deben ser para uso humano y animal sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad u otros problemas o complicaciones proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable.

20 Cuando en la presente descripción se dice que las "dos o más capas son de elementos microextruidos", se debe entender que dichas capas comprenden elementos microextruidos hechos de la composición viscoelástica. La expresión incluye que las capas están constituidas o conformadas solo de estos elementos microextruidos o que además de dichos elementos microextruidos también están incluidos en la capa otros materiales comestibles. De la misma forma, la expresión "elementos microextruidos hechos de composición viscoelástica" se refiere a elementos microextruidos hechos de dicha composición viscoelástica.

25 Por "sección vertical" se debe entender según esta descripción el plano de sección que corta perpendicularmente las capas de apilamiento, permitiendo la visualización de las diferentes capas apiladas.

Como se usa en este documento, el término "tamaño de partícula" relacionado con la composición viscoelástica, se refiere a una dimensión física característica. Por ejemplo, en el caso de una partícula que es sustancialmente esférica, el tamaño de la partícula corresponde al diámetro de la partícula. En el caso de no esféricamente perfecta, que es
30 comúnmente el caso cuando se usan proteínas fibrosas, el tamaño corresponde comúnmente al eje corto de un elipsoide, ya que durante la extrusión las partículas elipsoides orientan su eje largo paralelo a la dirección de extrusión. Cuando se hace referencia a un conjunto de partículas como de un tamaño particular, se contempla que el conjunto puede tener una distribución de tamaños alrededor del tamaño especificado. Por lo tanto, como se usa en el presente documento, un tamaño de partículas o tamaños de partículas puede referirse a un modo de distribución de tamaños,
35 tal como un tamaño máximo de la distribución de tamaños. Además, cuando no es perfectamente esférico, que suele ser el caso cuando se utilizan proteínas fibrosas, el diámetro es el diámetro equivalente del esférico o del cuerpo, incluido el objeto. Este diámetro generalmente se conoce como el "diámetro hidrodinámico", cuyas mediciones se pueden realizar utilizando un Wyatt Möbius acoplado con un sistema de presurización de células Atlas o Malvern u otros sistemas analizadores de tamaño de partículas por difracción láser. Las imágenes de Microscopía electrónica de transmisión (TEM) o Microscopía electrónica de barrido (SEM) también brindan información sobre los diámetros.
40 Como alternativa, el tamaño de partícula se puede medir utilizando un método de retención de tamiz, en el que el tamaño de partícula se mide mediante un método de tamizado. De acuerdo con este método de tamizado, el material, cuyo tamaño de partícula y / o distribución de tamaños de partícula se va a medir, se introduce en un tamiz que comprende unidades de tamizado circulares. Cada unidad de tamizado tiene un diámetro de poro particular y se
45 organizan de la más grande a la más pequeña, de tal manera que cada una de las unidades de tamizado esté herméticamente cerca de la otra para evitar la pérdida de material. Las unidades de tamizado se someten a vibración durante un tiempo predeterminado (es decir, 5 minutos) de tal manera que el material alcanza todas las unidades de tamizado, y el material está al final de la prueba distribuido en diferentes fracciones a lo largo de todas las unidades de tamizado. Las unidades de tamizado son finalmente peso para calcular el porcentaje en peso de cada una de las
50 fracciones.

La distribución homogénea de tamaños de partículas se refiere a un conjunto de diferentes tamaños de partículas, pero con un alto porcentaje (al menos 90%) de un tamaño particular o grupo de tamaños particulares (i.e. por debajo de un valor fijado).

55 Como se emplea aquí, el término "% p/p", "p%", o "porcentaje en peso" de un componente se refiere a la cantidad del componente relativa al peso total de la composición, o, si se indica de manera específica, de otro componente.

Como se ha indicado anteriormente, la invención engloba como un primer aspecto un proceso para la fabricación de un producto microextruido comestible que comprende dos o más capas de elementos microextruidos viscoelásticos, en donde cada elemento extruido comprende proteína, un polímero pseudoplástico comestible y un disolvente comestible apropiado, que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una composición viscoelástica que comprende en un disolvente comestible apropiado, proteína y un polímero pseudoplástico comestible, comprendiendo dicha composición viscoelástica un porcentaje en peso de proteína desde 19 % hasta 49 % en relación con el peso total de la composición viscoelástica, y la composición viscoelástica comprende al menos 45 % de disolvente comestible, dicho disolvente comestible equilibrando hasta el 5 100% en peso de la composición viscoelástica;

(ii) microextruir la composición viscoelástica a través de un orificio con una anchura o diámetro de desde 10 µm hasta 1000 µm para obtener uno o más elementos microextruidos; y

(iii) apilar las dos o más capas que comprenden elementos microextruidos de tal forma que una sección vertical del producto microextruido comestible muestre elementos microextruidos cruzados dentro de una capa, o elementos microextruidos superpuestos y diferencialmente orientados entre las diferentes capas; o alternativamente las dos o 10 más capas se apilan de tal forma que los elementos microextruidos entre las capas se orienten en paralelo.

Así, se proporciona un producto microextruido comestible que comprende dos o más capas de elementos microextruidos viscoelásticos, en donde cada elemento extruido comprende proteína, un polímero pseudoplástico comestible y un disolvente comestible apropiado, en donde:

15 - el porcentaje en peso de proteína en relación con el peso total del elemento microextruido es desde 19 % hasta 49 %, y el porcentaje en peso de disolvente comestible en relación con el peso total del elemento microextruido es al menos 45 %, dicho disolvente comestible equilibrando hasta el 100% en peso de la composición viscoelástica;

- los elementos microextruidos tienen una anchura en sección transversal desde 10 µm hasta 1000 µm;

- el módulo elástico de compresión del producto microextruido comestible es desde $1,0 \times 10^3$ Pa hasta $5,0 \times 10^6$ Pa y el 20 módulo de Young del producto microextruido comestible es desde $5,0 \times 10^3$ Pa hasta $11,0 \times 10^6$ Pa, dichos módulos elásticos de compresión y de Young medidos en un sistema de ensayo servo-hidráulico con una tasa de desplazamiento de las pinzas igual a 1 mm/min, a 23 °C y con una cantidad de disolvente en el producto microextruido comestible desde 45 % hasta 90 % p/p; y

- las dos o más capas de elementos microextruidos se apilan de tal forma que una sección vertical del producto 30 microextruido comestible muestre elementos microextruidos cruzados dentro de una capa, o elementos microextruidos superpuestos y diferencialmente orientados entre las diferentes capas; o alternativamente las dos o más capas se apilan de tal forma que los elementos microextruidos entre las capas se orienten en paralelo.

Entonces, otro aspecto tal como se ha indicado arriba es un producto microextruido comestible obtenible por un método según se ha definido arriba, este producto comprendiendo dos o más capas de elementos microextruidos viscoelásticos, según se ha definido previamente, y donde el módulo elástico de compresión del producto 35 microextruido comestible es desde $1,0 \times 10^3$ Pa hasta $5,0 \times 10^6$ Pa y el módulo de Young a la tracción del producto microextruido comestible es desde $5,0 \times 10^3$ Pa hasta $11,0 \times 10^6$ Pa, dichos módulos elásticos de compresión y de Young a la tracción medidos en un sistema de ensayo servo-hidráulico con una tasa de desplazamiento de las pinzas igual a 1 mm/min, a 23 °C y con una cantidad de disolvente en el producto microextruido comestible desde 45 % hasta 90 % p/p.

En otras palabras, forma también parte de la invención, un producto microextruido comestible obtenible por:

(i) proporcionar una composición viscoelástica que comprende en un disolvente comestible apropiado, proteína y un polímero pseudoplástico comestible, comprendiendo dicha composición viscoelástica un porcentaje en peso de proteína desde 19 % hasta 49 % en relación con el peso total de la composición viscoelástica, y la composición 40 viscoelástica comprende al menos 45 % de disolvente comestible, dicho disolvente comestible equilibrando hasta el 100% en peso de la composición viscoelástica;

(ii) microextruir la composición viscoelástica a través de un orificio con una anchura o diámetro de desde 10 µm hasta 1000 µm para obtener uno o más elementos microextruidos; y

(iii) apilar las dos o más capas que comprenden elementos microextruidos de tal forma que una sección vertical del 45 producto microextruido comestible muestre elementos microextruidos cruzados dentro de una capa, o elementos microextruidos superpuestos y diferencialmente orientados entre las diferentes capas; o alternativamente las dos o más capas se apilan de tal forma que los elementos microextruidos entre las capas se orienten en paralelo.

Este producto microextruido comestible tiene un módulo elástico de compresión y un módulo a la tracción de Young dentro de los valores indicados arriba.

50 Por "elementos microextruidos cruzados" se debe entender que al menos dos de los elementos se cruzan en el mismo plano. Por el contrario, "elementos microextruidos superpuestos y diferencialmente orientados" se refieren a elementos que están en contacto y se cruzan, pero en diferentes planos, con un elemento dispuestos sobre el otro.

Cuando se dice que el módulo elástico de compresión y el módulo de Young del producto microextruido comestible se miden con una cantidad de disolvente en el producto microextruido comestible desde 45 % hasta 90 % p/p, se indica

que la medición de estas dos propiedades mecánicas del producto comestible se realiza cuando el producto está en forma hidratada, en caso de que el disolvente consista en agua, disolvente que puede comprender componentes adicionales tales como sales minerales, vitaminas y otros aditivos comestibles. Por tanto, los valores de las dos propiedades mecánicas son aquellas antes de realizar cualquier otro proceso de secado, cocción, congelación o liofilización.

Las siguientes secciones se refieren a realizaciones particulares del primer y segundo aspectos.

En una realización particular, el producto microextruido comestible según el segundo aspecto está hecho de una composición viscoelástica que comprende la proteína, el polímero pseudoplástico comestible y el disolvente comestible apropiado, en donde el porcentaje en peso de proteína, polímero pseudoplástico comestible y del disolvente comestible con respecto a la composición viscoelástica es el mismo porcentaje que en el elemento microextruido.

En otra realización particular, el producto microextruido comestible del segundo aspecto comprende desde 2 hasta 500 capas, más en particular desde 2 hasta 100 capas de elementos microextruidos. En una realización más particular, comprende desde 10 hasta 50 capas de elementos microextruidos. Incluso más en particular, comprende desde 10 hasta 20 capas de elementos microextruidos.

Las capas del producto microextruido comestible, que comprenden los elementos microextruidos se configuran, de hecho, por la disposición particular de estos elementos microextruidos en un plano. Así, las capas se forman, en particular, de dichos elementos microextruidos, elementos que tienen una anchura en sección transversal desde 10 μm hasta 1000 μm . Como se indicará más adelante, dependiendo de la forma del orificio para la microextrusión, los elementos tendrán una sección transversal rectangular o cuadrada o una sección transversal circular. En este último caso, la anchura desde 10 μm hasta 1000 μm de las capas será aquella definida por el diámetro de los elementos con sección transversal circular. Alternativo a las secciones transversales, además de rectangulares, cuadradas o circulares, incluyen sección transversal elíptica, sección transversal en forma de estrella, sección transversal romboide y otras secciones transversales de forma poliédrica. De hecho, según esta descripción, la expresión "anchura en sección transversal", cuando es diferente de una sección transversal rectangular o cuadrada o una sección transversal circular, en la que la anchura es la altura del rectángulo/cuadrado o directamente el diámetro del círculo, dicha anchura se refiere al diámetro de la circunferencia en la que se circunscribe la sección transversal del elemento microextruido cuando la sección transversal tiene una forma poliédrica. Por ejemplo, cuando la sección transversal tiene forma de estrella, la anchura se definirá por el diámetro de la circunferencia que circunscribe dicha estrella. Por otra parte, en caso de una sección transversal elíptica del elemento microextruido, la anchura será cualquiera de las longitudes del eje secundario o principal dependiendo de cómo se dispongan los elementos microextruidos para configurar (o formar) la capa de elementos microextruidos.

En otra realización particular, la anchura de los elementos microextruidos es desde 100 μm hasta 900 μm , más en particular es desde 200 μm hasta 800 μm , e incluso más en particular desde 400 μm hasta 600 μm . En otra realización más particular, la anchura de los elementos microextruidos se selecciona de 400, 450, 500, 550 y 600 μm . Esta anchura corresponde al diámetro (o sección transversal) de un elemento microextruido siendo un filamento microextruido.

En una realización particular del producto microextruido comestible según la invención, los elementos microextruidos se seleccionan de hojas microextruidas, filamentos microextruidos, tanto las hojas como los filamentos dispuestos en paralelo y formando una capa, y sus combinaciones. Con esta combinación de los mismos se debe entender que dentro de una capa los elementos microextruidos que se forman pueden ser iguales o diferentes, incluyendo así la opción de una combinación de hojas microextruidas y filamentos microextruidos. Estas combinaciones tienen la finalidad de texturizar el producto microextruido comestible que se parece a una textura de carne fibrosa, así una distribución de fibra anisotrópica.

En otra realización particular, los elementos microextruidos se apilan de tal forma que los elementos microextruidos entre las capas se orienten en paralelo, pareciéndose a la orientación de muchas fibras musculares esqueléticas de animales. En realidad, las fibras musculares de los músculos esqueléticos (o también denominados estriados) de una variedad de animales son células que presentan una forma alargada, y haces de dichos elementos se disponen frecuentemente en una dirección preferida y paralela para formar una estructura denominada fascículo, que está rodeado por una estructura pasiva denominada perimisio. Dichos fascículos, que a su vez están dispuestos en un grupo para formar la fascia muscular, pueden estar preferentemente orientados en la misma dirección que el eje largo del músculo, formando los denominados músculos paralelos.

En otra realización particular, el producto microextruido comprende elementos en una capa que resultan de la extrusión a través de extrusoras o boquillas que están compuestas por múltiples microextrusoras o microboquillas, de tal manera que los elementos extruidos están compuestos por múltiples polígonos con un ancho de 10 μm a 1000 μm , que define una sección transversal del elemento extruido que muestra múltiples polígonos intersectados. En esta realización, el elemento extruido en una capa puede estar compuesto de múltiples microelementos con un ancho de 10 μm a 1000 μm .

En otras palabras, si la extrusora o la boquilla están compuestas por múltiples microextrusoras o microboquillas, los elementos microextruidos están dentro del tamaño indicado (ancho de 10 µm a 1000 µm). Por ejemplo, el elemento extruido se fabrica a partir de múltiples microextrusoras con forma rectangular, tales microextrusoras orientadas diferencialmente, y finalmente definiendo un área de sección transversal final de una hélice.

- 5 En otra realización particular del proceso o del producto microextruido comestible según el primer y segundo aspectos, respectivamente, el porcentaje en peso de proteína en relación con el peso total del elemento microextruido, o que es el mismo en la composición viscoelástica, es desde 25 % hasta 49 %, y el porcentaje en peso de disolvente comestible es al menos 45 %. En otra realización particular, el porcentaje en peso de proteína es desde 29 % al 49 %, y el porcentaje en peso de disolvente comestible es al menos 45 %. El porcentaje en peso de proteína y de disolvente comestible en la composición viscoelástica se define como la cantidad de proteína o de disolvente en la composición viscoelástica que se va a usar para la microextrusión.

- 15 En otra realización particular del proceso del primer aspecto o del producto microextruido comestible según el segundo aspecto de la invención, la proteína se selecciona de proteína de origen animal; proteína de origen vegetal; proteína de origen de alga; proteína de origen de levadura; proteína de origen bacteriano; y sus combinaciones. De hecho, cuando se dice que la composición viscoelástica comprende una proteína, se debe entender como que engloba uno o más tipos de proteína del mismo origen o de diferentes orígenes. Para la proteína de origen bacteriano y la proteína de origen de levadura, se deben englobar las proteínas que se pueden producir en estos organismos o células por procesos biotecnológicos, así como las proteínas inherentes de estos organismos o células.

- 20 En otra realización particular del proceso del primer aspecto o del producto microextruido comestible según el segundo aspecto de la invención, la proteína se selecciona de proteína de origen animal no humano; proteína de origen vegetal; proteína de origen de alga; proteína de origen de levadura; proteína de origen bacteriano; y sus combinaciones

- 25 La proteína de origen animal no humano particular se selecciona de mamífero no humano, tales como ganado vacuno, cerdo, oveja, cabra y caballo; aves de corral, tales como pollo y pavo; proteína de insecto; proteína de pescado; y sus combinaciones. La proteína de origen animal no humano se refiere no solo a proteínas directamente derivadas de tejido muscular, sino también de compuestos obtenibles de estos animales, tales como productos lácteos derivados de la leche. Son de particular interés las proteínas que contienen grupos hemo (o proteínas que contienen hemo), generalmente de origen de ganado vacuno. La proteína de origen vegetal particular se selecciona de proteína de frutas, proteína de cereales tales como maíz, arroz, trigo, soja, cebada, avena, sorgo, centeno, tritical, folio, y una combinación de los mismos. También son de interés particular las proteínas que contienen hemo de origen vegetal, de levadura, de algas o bacterias.

30 En otra realización particular del proceso del primer aspecto, o del producto microextruido comestible según el segundo aspecto de la invención, la proteína es proteína de origen animal no humano. En una realización aún más particular es proteína de insecto.

- 35 En otra realización particular del proceso del primer aspecto, o del producto microextruido comestible según el segundo aspecto de la invención, la proteína se selecciona de proteína de origen vegetal; proteína de origen de alga; proteína de origen de levadura; proteína de origen bacteriano; y sus combinaciones. Con esta realización particular, se obtienen productos veganos (i.e. que no contienen proteína animal).

- 40 En otra realización particular del proceso o del producto microextruido comestible según el primer y segundo aspectos, el porcentaje en peso de pseudoplástico comestible en relación con el peso total del elemento microextruido, o que es el mismo en la composición viscoelástica que conforma dicho elemento microextruido, es desde 0,2 % hasta 40 %, y el porcentaje en peso de disolvente comestible es al menos 45 %.

- 45 En una realización más particular, el polímero pseudoplástico comestible es un polisacárido, más en particular del grupo que consiste en almidón que incluye almidón de maíz, almidón de caupí, almidón de arroz, almidón de vid kudzu y otros almidones, goma de semilla de algarrobo, goma tara, goma guar, goma xantana, carragenina y sus derivados, tales como carragenina kappa, furcellarato y carragenina iota, goma karaya, goma gellan, goma gellan desacetilada, goma gellan de alto acrílico (elástica), goma gellan rígida (bajo acrílico), goma arábiga, ácido alginico o una sal de ácido alginico comestible tal como alginatos de sodio y derivados tales como di-aldehídos de alginato y alginatos oxidados, curdlano, konjac o glucomanano de konjac, goma de fenogreco, celulosa y sus derivados tales como hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, o metilcelulosa, celulosa nanofibrilada o nanofibras de celulosa, celulosa bacteriana, quitina, quitosano, pectina, pectina de alto metoxilo, pectina de bajo metoxilo, glucosaminoglicanos tales como hialuronano, agar, agarosa, dextrano, pululano, curdlano, y sus combinaciones.

- 55 En una realización más particular, el polímero pseudoplástico es un polisacárido seleccionado del grupo que consiste en almidón de maíz, almidón de vid kudzu, goma de semilla de algarrobo, ácido alginico o una sal de ácido alginico comestible tal como alginato de sodio, goma tara, carragenina kappa, furcellarato, carragenina iota, curdlano, konjac, celulosa y sus derivados tales como hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, o metilcelulosa, pectina, celulosa bacteriana, goma karaya, goma guar, goma gellan, goma gellan de alto acrílico (elástica), goma gellan rígida (bajo acrílico), goma arábiga, quitina, quitosano y goma xantana, agar, agarosa, y sus combinaciones.

De hecho, el polímero pseudoplástico podría ir acompañado de otros compuestos con comportamiento pseudoplástico. Estos compuestos con comportamiento pseudoplástico se pueden usar como el único compuesto pseudoplástico en el elemento microextruido (o composición viscoelástica proporcionada en el proceso). Los compuestos pseudoplásticos que no son compuestos pseudoplásticos poliméricos se seleccionan de lípidos pseudoplásticos, en particular lecitina, mantequilla, ácidos grasos omega-3, ésteres de sacarosa, aceites animales y aceites vegetales de calidad alimentaria que incluyen aceites de palma, coco, canola, jojoba, maíz y de girasol; fluidos pseudoplásticos, en particular líquido sinovial, suero bovino, suspensiones de partículas, micropartículas y nanopartículas, y sus combinaciones. Otros compuestos o composiciones pseudoplásticas se seleccionan de ésteres de sacarosa, queso, mermelada, ketchup, mayonesa, sopa, caramelo masticable y yogurt.

- 5
- 10 Aún en una realización más particular del primer y segundo aspectos, el polímero pseudoplástico es un polisacárido seleccionado de ácido algínico o una sal de ácido algínico comestible, goma xantana, glucosaminoglicanos, agarosa, goma gellan, pectina, carragenina y sus combinaciones. Todos los polisacáridos son de calidad comestible. Aún en una realización más particular del primer y segundo aspectos, el polímero pseudoplástico es un polisacárido seleccionado de ácido algínico o una sal de ácido algínico comestible, goma xantana, glucosaminoglicanos, agarosa,
- 15 goma gellan, pectina y sus combinaciones. Todos los polisacáridos son de calidad comestible.

Incluso en una realización más particular, el polímero pseudoplástico es ácido algínico o una sal de ácido algínico comestible y comprende cadenas de polisacárido algínico de diferente longitud. Así, el polímero pseudoplástico es una mezcla cadenas (o sales) de ácido algínico con diferente peso molecular.

- 20 Siendo este alginato de sodio particular una mezcla de cadenas de polisacárido de diferente longitud y así de peso molecular diferente, la viscosidad de cualquiera de la composición viscoelástica o del elemento microextruido es particularmente baja a altas velocidades de cizallamiento, mientras que dicha viscosidad aumenta a bajas velocidades de cizallamiento. Están presentes altas velocidades de cizallamiento durante el proceso de microextrusión. Están presentes bajas velocidades de cizallamiento o nulas una vez el elemento microextruido se deposita sobre un soporte, y debido a la composición de la composición viscoelástica es autoportante.

- 25 Por "autoportante" se debe entender que una vez microextruido en cualquier forma deseada (hoja o filamentos de sección transversal circular), el elemento microextruido no se extiende o pierde su forma. La capacidad autoportante es el resultado de la composición viscoelástica que se puede microextruir debido a su comportamiento como líquido, y que una vez se deposita sobre un soporte se comporta como un sólido.

- 30 En una realización más particular, el ácido algínico o la sal de ácido algínico comestible tiene una viscosidad desde 4 Pa.s hasta 5000 Pa.s. Más en particular, el ácido algínico o la sal de ácido algínico comestible tiene una viscosidad desde 100 Pa.s hasta 1200 Pa.s, incluso más en particular la viscosidad es desde 200 Pa.s hasta 800 Pa.s. En otra realización particular, el ácido algínico o la sal de ácido algínico comestible tiene una viscosidad seleccionada del grupo que consiste en 300 Pa.s, 350 Pa.s, 400 Pa.s, 450 Pa.s, 500 Pa.s, 550 Pa.s, 600 Pa.s, 650 Pa.s, 700 Pa.s, 750 Pa.s y 800 Pa.s. Esta viscosidad se define como la viscosidad dinámica medida en una composición a 1 % de
- 35 ácido algínico en agua a 25 °C en un viscosímetro dinámico.

Las sales de ácido algínico comestibles particulares incluyen una sal de ácido algínico alcalina o alcalinotérrica y sus combinaciones. Más en particular, la sal de sodio de ácido algínico (alginato de sodio)

- 40 En otra realización particular del primer y segundo aspectos de la invención, el disolvente comestible se selecciona de agua potable, zumos de frutas, jugos de carne, y sus combinaciones. De hecho, puede ser cualquier líquido comestible capaz de ser mezclado con las proteínas y el polímero pseudoplástico para obtener una pasta homogeneizada. Más en particular es agua potable, que opcionalmente comprende compuestos comestibles adicionales seleccionados de la lista que consiste en emolientes, compuestos de sabor, compuestos aromatizantes, lípidos, colorantes, quelantes metálicos, oligoelementos, vitaminas, sales minerales, y sus combinaciones.

- 45 En otra realización particular, opcionalmente en combinación con cualquier realización anterior o más adelante, dicha composición viscoelástica tiene un módulo de almacenamiento G' superior al módulo de pérdida G'' cuando se mide a 0,16 Hz y a una temperatura de 23 °C en un reómetro que consiste en un par de placas serradas paralelas y con una cantidad de disolvente en la composición desde 45 % hasta 90 % p/p, siendo el módulo de almacenamiento G' superior a 1700 Pa y el módulo de pérdida G'' superior a 350 Pa, y siendo la relación G''/G' en la composición viscoelástica desde 0,24 hasta 0,88. En una realización más particular, el módulo de almacenamiento G' es superior
- 50 a 2000 Pa y el módulo de pérdida G'' es superior a 1000 Pa.

En una realización más particular del producto microextruido comestible según el primer aspecto, el módulo de almacenamiento G' de la composición viscoelástica tiene valores desde 2000 Pa hasta 140000 Pa, y el módulo de pérdida G'' de la composición viscoelástica tiene valores desde 1000 Pa hasta 40000 Pa; y siendo la relación G''/G' en la composición viscoelástica desde 0,24 hasta 0,88.

- 55 Los productos microextruidos comestibles de la invención se conciben en particular como materiales comestibles personalizables que, además del contenido de proteínas y el polímero pseudoplástico, incluyen compuestos comestibles adicionales de interés. Así, en otra realización particular, el producto microextruido comestible está hecho

de una composición viscoelástica que conforma elementos microextruidos que comprende además aditivos comestibles seleccionados de la lista que consiste en emolientes, compuestos de sabor, compuestos aromatizantes, lípidos, colorantes, quelantes metálicos, oligoelementos, vitaminas, sales minerales, células y extractos de dichas células, y combinaciones de todos estos compuestos y/o células y/o extractos de células.

- 5 Por tanto, el proceso comprende proporcionar en la etapa (i) una composición viscoelástica que adicionalmente comprende aditivos comestibles seleccionados de la lista que consiste en emolientes, compuestos de sabor, compuestos aromatizantes, lípidos, colorantes, quelantes metálicos, oligoelementos, vitaminas, sales minerales, células y extractos de dichas células, y combinaciones de todos estos compuestos y/o células y/o extractos de células.

- En una realización más particular las células se seleccionan de células animales, células vegetales, células de algas,
10 células de levadura, células bacterianas, y extractos de estas células, y combinaciones de todas estas células y/o extractos de células. En otra realización particular, las células se seleccionan de células animales no humans, células vegetales, células de algas, células de levadura, células bacterianas, y extractos de estas células, y combinaciones de todas estas células y/o extractos de células. Todavía en otra realización particular, las células se seleccionan de células vegetales, células de algas, células de levadura, células bacterianas, y extractos de estas células, y
15 combinaciones de todas estas células y/o extractos de células.

- Los "extractos de células" son mezclas de compuestos celulares obtenidos al lisar células de interés y centrifugar las paredes celulares, el ADN genómico y otros desechos. Los restos son maquinaria celular necesaria, incluyendo ribosomas, sintetasas de aminoacil-ARNt, factores de iniciación y elongación de la traducción, nucleasas, etc. Los extractos celulares comunes que se usan actualmente están hechos de E. coli (ECE), reticulocitos de conejo (RRL),
20 germen de trigo (WGE) y células de insecto (ICE). Todos estos extractos están disponibles comercialmente. El extracto de levadura es el nombre común para los productos de levadura elaborados mediante la extracción del contenido celular (y la eliminación de las paredes celulares); se usan como aditivos alimentarios o saborizantes, o como nutrientes para medios de cultivo bacteriano. Alternativamente, ingredientes que llevan una forma concentrada y encapsulada de ácidos grasos omega-3 (como Cubiq Smart Omega-3), o ingredientes compuestos de proteínas o
25 proteínas bajas en grasa de células animales, células vegetales, células de algas, células de levadura, células bacterianas, extractos de dichas células y combinaciones de dichas células y / o extractos de dichas células, incluidos los sustitutos de carne y los componentes de reemplazo de carne a base de células (tales como Cubiq Smart Fat).

- La adición de células o extractos celulares a la composición viscoelástica a ser extruída con posterioridad permite mantener las propiedades de extrusión de la composición, para obtener después elementos microextruídos hechos
30 de esta composición.

- Cuando en esta descripción se describe proteína animal o células animales, ellas también incluyen células humanas aisladas o proteínas humanas aisladas. Fuentes de estas proteínas y/o células humanas son, en particular, de cultivos celulares establecidos y/o obtenidos de tecnología recombinante. El empleo de células y/o proteína humana permite, por ejemplo, utilizar hemoglobinas humanas recombinantes o eritropoietina, que se asimilan mejor por los humanos.
35 Realizaciones particulares del proceso o el producto microextruido comestible de la invención comprendiendo proteínas, están concebidos como productos comestibles personalizados que pueden contener células, extractos celulares y proteínas de interés incluso con un efecto terapéutico.

- Entre los compuestos aromatizantes, se prefieren los aromas asociados a la carne, tales como aroma asociado a carne de res, pollo u otros análogos de carne, o aromas comerciales. Muchos de estos aromas son compuestos volátiles que, en particular, aparecen cuando se cocina el producto comestible. Los ejemplos de estos compuestos volátiles incluyen 2-metil-furano, bis(2-metil-3-furil)disulfuro, 2-pentil-furano, 3,3'-ditiobis-2-metil-furano, 2,5-dimetil-pirazina, 2-metil-3-furanotiol, dihidro-3-(2H)-tiofenona, 5-metil-2-tiofenocarboxaldehído, 3-metil-2-tiofenocarboxaldehído, 2-metil-tiazol, sulfuro de dimetilo, decanal, 5-etildihidro-2(3H)-furanona, dihidro-5-pentil-2(3H)-furanona, 2-octanona, 3,5-octadien-2-ona, p-cresol, ácido hexanoico, diacetato de hidrógeno y sodio, ácido
45 succínico, ácido 2-hidroxi-propanoico (ácido láctico), hidroxil-2,5-dimetil-3(2H)-furanona (furonol), ácido tartárico, 4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona, 3-fenil-propenal (aldehído cianímico), o combinaciones de los mismos

- En particular, otros aditivos comestibles entre las categorías anteriormente mencionadas incluyen azúcares adicionales seleccionados de glucosa, ribosa, fructosa, lactosa, xilosa, arabinosa, glucosa-6-fosfato, maltosa y galactosa, y mezclas de dos o más de los mismos, así como aminoácidos aislados adicionales seleccionados de
50 cisteína, cistina, tiamina, metionina, y mezclas de dos o más de los mismos. Otros aditivos se seleccionan de uno o más de ácido acético, ácido láctico, ácido glicólico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido alfa-linolénico, ácido gamma-linolénico, ácido araquídico, ácido araquidónico, ácido behénico y ácido erúxico.

- Todos estos aditivos están, en una realización particular, formando parte de o comprendidos en la composición viscoelástica de la que se forman los elementos microextruidos. En otra realización particular, los aditivos se añaden una vez se ha microextruido la composición viscoelástica.
55

Por tanto, en una realización particular del proceso según el primer aspecto, además comprende después de uno cualquiera de los pasos (ii) e (iii), un paso (iv) de adición de uno o más aditivos seleccionados de la lista que consiste

en emolientes, compuestos de sabor, compuestos aromatizantes, lípidos, colorantes, quelantes metálicos, oligoelementos, vitaminas, sales minerales, células y extractos de dichas células, y combinaciones de todos estos compuestos y/o células y/o extractos de células, las células y extractos celulares más en particular mediante un proceso de sembrado celular.

- 5 Estos uno o más aditivos se añaden mediante vertido, impresión por inyección, goteo, expulsión asistida por láser o pulverización sobre de los elementos microextruidos o mediante la microextrusión de una composición que comprende dichos aditivos sobre de los elementos ya microextruidos.

En otra realización particular más, el producto microextruido comestible comprende un compuesto terapéutico (fármaco) en una cantidad terapéuticamente eficaz, que significa que está en una cantidad que, cuando se administra, es suficiente para prevenir el desarrollo de, o aliviar de algún modo, uno o más de los síntomas de la enfermedad que se trata. La dosis particular de compuesto administrada según la presente invención se determinará, por supuesto, por las circunstancias particulares que rodean el caso, que incluyen el compuesto administrado, la vía de administración, la condición particular que está tratándose, y las consideraciones similares. Los ejemplos de compuestos terapéuticos incluyen, en particular, compuestos antibióticos.

10 En una realización particular del producto microextruido comestible que comprende aditivos que se añaden una vez la composición viscoelástica ha sido microextruida, estos aditivos son, en particular, células seleccionadas de células animales, células vegetales, células de algas, células de levadura, células bacterianas, y extractos de estas células, y combinaciones de todas estas células y/o extractos de células. En otra realización particular, las células se seleccionan de células animales no humanas, células vegetales, células de algas, células de levadura, células bacterianas, y extractos de estas células, y combinaciones de todas estas células y/o extractos de células.

20 En otra realización particular más, el producto microextruido comestible comprende células eucariotas o procariotas, siendo las células eucariotas seleccionadas de células de levadura, células de algas, células de insecto, células de mamífero (incluyendo humano y no humano), células de aves de corral o sus combinaciones; y siendo las bacterias comestibles procariotas de uso probiótico. Entre las células de mamífero, el producto microextruido comestible comprende, en particular, células seleccionadas de ganado vacuno, células de conejo, células de cerdo, células de oveja, células de cabra y células de caballo. Otras células animales no humanas se seleccionan de células de aves de corral, tales como pollo y pavo; células de insecto; y células de pescado y sus combinaciones.

25 En otra realización particular del primer y segundo aspectos, el elemento microextruido o composición viscoelástica que lo conforma comprende uno o más proteínas en un porcentaje en peso de 25 %, uno o más polímeros pseudoplásticos, en particular polisacáridos pseudoplásticos, en un porcentaje en peso de 5 %, y agua potable como disolvente comestible, incluyendo opcionalmente dicha agua compuestos comestibles adicionales seleccionados de la lista que consiste en emolientes, compuestos de sabor, compuestos aromatizantes, lípidos, colorantes, quelantes metálicos, oligoelementos, vitaminas, sales minerales, y sus combinaciones, siendo el porcentaje en peso de agua potable o del agua potable con aditivos de 70 % en relación con el peso total de la composición viscoelástica o de un elemento microextruido conformado a partir de dicha composición viscoelástica.

30 En otra realización particular del proceso y producto obtenido de acuerdo con la invención, el elemento microextruido o composición viscoelástica que lo conforma y proporcionado en la etapa (i) del proceso, comprende uno o más proteínas en un porcentaje en peso de 25 %, uno o más polímeros pseudoplásticos, en particular polisacáridos pseudoplásticos, en un porcentaje en peso de 25 %, y agua potable como disolvente comestible, incluyendo opcionalmente dicha agua compuestos comestibles adicionales seleccionados de la lista que consiste en emolientes, compuestos de sabor, compuestos aromatizantes, lípidos, colorantes, quelantes metálicos, oligoelementos, vitaminas, sales minerales, y sus combinaciones, siendo el porcentaje en peso de agua potable o del agua potable con aditivos de 50 % en relación con el peso total de la composición viscoelástica o de un elemento microextruido conformado a partir de dicha composición viscoelástica.

35 Aún en una realización más particular del producto comestible del primer aspecto, la composición viscoelástica o elemento microextruido comprende 25 % de proteína de arroz y 25 % de alginato de sodio y el resto de disolvente (en particular agua) para dar 100 % en peso de la composición viscoelástica, y en donde el producto tiene un módulo elástico de compresión y un módulo de Young de las capas apiladas desde $7,15 \times 10^3$ Pa hasta $4,5 \times 10^6$ Pa y Young $0,12 \times 10^6$ Pa hasta $9,5 \times 10^6$ Pa, dichos módulos elásticos de compresión y de Young medidos en un sistema de ensayo servo-hidráulico con una tasa de desplazamiento de las pinzas igual a 1 mm/min, a 23 °C y con una cantidad de disolvente final en el producto microextruido comestible desde 45 % hasta 90 % p/p. Es decir, los módulos elásticos de compresión y de Young se miden con el producto microextruido comestible en forma hidratada (o solvatada), con una cantidad de agua (o disolvente) desde 45 % hasta 90 %, formando dicha agua (o disolvente) en la composición viscoelástica los elementos microextruidos de las dos o más capas.

40 En otra realización particular más del producto microextruido comestible del segundo aspecto, opcionalmente en combinación con cualquiera de las realizaciones anteriormente o más adelante, los elementos microextruidos que forman las capas comprenden un compuesto reticulante seleccionado de reticulantes iónicos, en particular seleccionados de

- iones potasio, iones calcio, en particular de CaCl_2 , CaCO_3 , CaSO_4 y agentes de reticulación iónicos de cationes divalentes, tales como lactato-gluconato de calcio, glucono-delta-lactona, y sus combinaciones; y/o
 - compuestos de reticulación para la polimerización por radicales, en particular seleccionados de dimetacrilato de etilenglicol, ácido metacrílico o N-isopropilacrilamida, acrilato de glicidilo, y sus combinaciones; y/o
 - 5 - agentes reticulantes covalentes, en particular seleccionados de glicerol, transglutaminasa, tirosinasa, lacasa, peroxidasa, sulfhidroxidasas, genipina, polirotaxano hidrolizable, dihidrazida de ácido adípico, paraformaldehído, o ácidos carboxílicos reticulantes para aminas primarias con 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida/N-hidroxisuccinimida y sus combinaciones; y/o
 - reticulantes macromoleculares, en particular poli(etilenglicol)-propionaldehído; y/o
 - 10 - reticulantes por reacción de adición, en particular seleccionados de 1,6-hexametilendiisocianato, divinilsulfona, 1,6-hexanodibromuro y sus combinaciones; y/o
 - reticulantes para estrategias de fotorreticulación, en particular seleccionados de polímeros metacrilados reticulados mediante la adición de fotoiniciadores, más en particular de 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona, Irgacure D2959 y fenil-2,4,6-trimetilbenzoilfosfinato de litio, y sus combinaciones.
 - 15 Esta realización particular del segundo aspecto comprendiendo reticulantes en los elementos microextruidos es obtenible por una realización particular del proceso, en el cuál, después de las etapas (ii) o (iii), se añade una composición que comprende reticulante, en particular por goteado, a dichos elementos microextruidos.
- En el caso particular en el que el reticulante comprenda cationes divalentes tales como iones calcio, estos son capaces de reticular, en particular los polímeros de alginato (u otros polímeros que comprenden grupos aniónicos, tales como
- 20 grupos carboxílicos), debido a que pueden formar dos enlaces, a diferencia de iones monovalentes tales como sodio, que solo puede formar un enlace. Cuanto más tiempo esté en contacto el alginato con la solución de cloruro de calcio, más rígido será el gel, ya que se forman más reticulaciones. Por tanto, dependiendo de la concentración de iones calcio, los geles son o bien termorreversibles (bajas concentraciones) o no (altas concentraciones). En una realización particular, el reticulante es CaCl_2 , que se añade en gotas al producto microextruido usando una solución con una
 - 25 concentración de cloruro de calcio desde 50 hasta 300 mM, más en particular desde 100 mM hasta 150 mM.
- En una realización más particular del primer y segundo aspectos, algunas de las dos o más capas están hechas de filamentos microextruidos de la composición viscoelástica dispuesta en paralelo y adyacente con un porcentaje de filamentos microextruidos en la superficie de la capa (porcentaje de densidad de llenado) desde 25 % hasta 100 %.
- 30 En otra realización particular, el porcentaje de filamentos microextruidos en la superficie de la capa es desde 35 % hasta 100 %. Más en particular, es desde 40 % hasta 100 %. En una realización más particular es desde 60 % hasta 100 %. En esta realización particular, en la que las capas están hechas de o comprenden filamentos microextruidos de la composición viscoelástica, estos filamentos se pueden disponer a varias densidades de elementos microextruidos por unidad de superficie. Por tanto, cuando el porcentaje de filamentos microextruidos por unidad de superficie de capa es inferior a 100 %, significa que los filamentos se disponen en paralelo, pero no están en contacto,
 - 35 conduciendo así a espacios vacíos entre los filamentos. Por otro lado, si el parámetro de filamentos microextruidos por unidad de superficie de capa es igual a 100 %, esto significa que la capa está constituida por los filamentos dispuestos en paralelo y cada uno en contacto entre sí con el otro adyacente.
- En esta realización particular, en la que los elementos microextruidos son filamentos, que significa que están en forma de hebras con una capa en sección longitudinal superior a su sección transversal, tienen una sección transversal
- 40 circular con un diámetro desde 10 μm hasta 1000 μm , es más en particular desde 100 μm hasta 900 μm , e incluso más en particular desde 200 μm hasta 800 μm , o aún incluso más en particular desde 400 μm hasta 600 μm . En una realización más particular tienen una sección transversal circular con un diámetro seleccionado de 400, 450, 500, 550 y 600 μm .
- Durante los procesos de microextrusión, los compuestos poliméricos, como son en el presente caso las proteínas y
- 45 los polímeros pseudoplásticos, permanecen dispuestos en paralelo a lo largo de la dirección de extrusión. Esto da lugar a elementos microextruidos que comprenden nanoelementos orientados, todos los cuales proporcionan propiedades mecánicas con comportamiento anisotrópico y una textura y consistencia de carne. Así, en una realización más particular, el producto microextruido comestible comprende filamentos microextruidos que comprenden nanoelementos orientados, en particular en un modo que se parece a las nanofibras de carne.
- 50 En otra realización particular del primer y segundo aspecto, las dos o más capas comprenden filamentos microextruidos y las capas se apilan de tal forma que una sección vertical del material comestible con las múltiples capas fibrosas muestre los filamentos microextruidos de una capa diferencialmente orientada en relación con los filamentos microextruidos de otra(s) capa(s) apilada(s). En particular, los filamentos microextruidos que forman una capa parecen superpuestos y diferencialmente orientados entre las diferentes capas, o se cruzan dentro de una capa.
 - 55 En este último caso con filamentos microextruidos cruzados, se microextruyen y disponen en paralelo, y entonces los filamentos microextruidos transversales se disponen uniendo dos o más de los filamentos paralelos.

En una realización particular del proceso, previo a la etapa (i) existe una etapa de homogeneizar la composición viscoelástica, que significa que la composición viscoelástica se prepara mezclando en el disolvente comestible la proteína y dicho polímero pseudoplástico para obtener una composición homogénea que no se separa en fases.

Más en particular, esta composición homogénea se consigue mezclando las proteínas, el polímero pseudoplástico y el disolvente comestible en un recipiente; y aplicando uno o más ciclos de agitación a una fuerza centrífuga o fuerza centrífuga relativa de 10g a 4000g, opcionalmente en más de una dirección, mientras se eleva gradualmente la temperatura de 20°C a un atempertaura por debajo de 95 °C, y manteniendo la agitación y la temperatura por un periodo de tiempo de 1 minuto a 30 minutos.

Más en particular, la mezcla o agitación se lleva a cabo en un sistema de centrifugación asimétrico dual. Sorprendentemente, a pesar de la alta velocidad de agitación (o fuerza de gravedad aplicada), esta no daña la proteína, la cual proteína mantiene las propiedades como material fibroso una vez microextruido.

En otra realización particular del proceso del primer aspecto, la etapa (ii) se lleva a cabo a una temperatura desde 20 °C hasta 90 °C, más en particular desde 25 °C hasta 50 °C, incluso más en particular a temperatura ambiente, desde 25 °C hasta 30 °C. En otra realización particular, opcionalmente en combinación con cualquier realización de proceso anterior o de más adelante, la etapa (ii) se lleva a cabo por aplicación de presión a la composición viscoelástica por medio de un pistón. En otra realización particular, la etapa (ii) se realiza de tal forma que una vez microextruidos los elementos se enfrían a una temperatura desde 5 °C hasta 15 °C.

En una realización más particular del proceso, se lleva a cabo por impresión 3D y las capas se conforman como filamentos microextruidos obtenidos de una boquilla con un diámetro desde 10 µm hasta 1000 µm. Más en particular, el diámetro es desde 10 µm hasta 900 µm. Incluso más en particular es desde 200 µm hasta 800 µm, e incluso más en particular desde 400 µm hasta 600 µm, e incluso más en particular se selecciona de 400, 450, 500, 550 y 600 µm.

En otra realización particular del proceso, opcionalmente en combinación con cualquier realización más arriba o debajo, el mismo además comprende después de uno cualquiera de los pasos (ii) e (iii), una etapa (v) de adición entre los elementos microextruidos en una capa y/o sobre una capa de elementos microextruidos, una composición que comprende grasa seleccionada de uno o más triglicéridos, colesterol, uno o más fosfolípidos, uno o más ácidos grasos y combinaciones de los mismos; y/o una composición que comprende material cartilaginoso y/o material óseo.

El término "material cartilaginoso" se refiere a células particulares, condrocitos, y proteínas que componen los cartílagos. Entre las proteínas hay proteínas de colágeno, elastina y compuestos de matriz extracelular de cartílago, como proteoglicanos, glucoproteínas y glucosaminoglicanos de elastina.

El término "material óseo" se refiere a tejido óseo que incluye osteoclastos, osteocitos, osteoblastos, compuestos de matriz extracelular ósea tales como proteínas de colágeno y sustancias inorgánicas precipitadas y sales minerales, en particular hidroxilapatita

Esta realización particular del proceso da lugar a un producto microextruido comestible que comprende entre dos o más de los elementos microextruidos de cada capa y/o entre una o más de las capas de elementos microextruidos, una composición que comprende grasa seleccionada de uno o más triglicéridos, colesterol, uno o más fosfolípidos, uno o más ácidos grasos y combinaciones de los mismos; y/o una composición que comprende material cartilaginoso.

Este producto microextruido comestible mimetiza la grasa generalmente dispuesta entre las fibras de proteínas en la carne, y el tejido cartilaginoso que también acompaña estas fibras de proteína en la carne. Por tanto, se entiende como un producto que incluye el producto microextruido comestible del primer aspecto, con la particular composición y características paramétricas; y adicionalmente porciones de grasa y/o tejido cartilaginoso y/o material óseo.

La invención también se refiere a un producto microextruido comestible que comprende una porción del producto microextruido comestible de acuerdo con el segundo aspecto de la invención; y una porción de una composición solidificada que comprende una grasa seleccionada de uno o más triglicéridos, colesterol, uno o más fosfolípidos, uno o más ácidos grasos y combinaciones de los mismos; y/o una composición que comprende material cartilaginoso y/o material óseo.

Este producto comestible compuesto puede fabricarse mediante primero fabricar el producto microextruido comestible de acuerdo con el segundo aspecto y luego añadir una o más porciones de grasa, cartilaginosas u óseas, generalmente en forma líquida y que solidificarán una vez añadidas, que quedan adyacentes y adheridas a la porción de producto microextruido comestible, previamente definido, debido a la adherencia inherente de los materiales.

En otra realización, el producto comestible compuesto de acuerdo con la invención puede fabricarse usando el método de bioimpresión "fresh" (o método de extrusión "fresh"), en el que la extrusión de la composición viscoelástica se realiza en un medio líquido, hidrogeles o gel, tal como un hidrogel líquido o gel que comprende o consiste en grasa como se definió previamente y/o material cartilaginoso, dicho líquido o gel opcionalmente comprende sales comestibles. Con este método particular, los elementos microextruidos y las capas de elementos microextruidos y/o el producto comestible microextruido se incrustan en dicho líquido, hidrogel o gel, mejorando la propiedad autoportante del producto microextruido.

En otra realización particular del producto comestible compuesto comestible según la invención, comprende además una porción de una composición que comprende material óseo. Esta realización particular es adecuada como producto comestible para fines veterinarios. Un ejemplo es un producto comestible para animales domésticos (i.e. perros, gatos).

- 5 Los productos compuestos como se han definido, se asemejan a productos cárnicos reales de origen animal, incluidas grasas y/o material cartilaginoso entre fibras proteicas o áreas proteicas de la carne.

La presente invención también engloba nuevas composiciones viscoelásticas particulares que se microextruyen para obtener el producto comestible del primer aspecto. Estas nuevas composiciones microextruibles viscoelásticas comestibles comprenden, en un disolvente comestible apropiado, proteína en un porcentaje en peso en relación con el peso total de la composición viscoelástica desde 19 % hasta 49 %, dicha proteína seleccionada de proteína de origen vegetal, en particular de proteína de cereales, proteína de frutas, proteína de semillas y proteína de legumbres, proteína de insecto, proteína de origen de alga, proteína de origen bacteriano, y sus combinaciones; y un polisacárido pseudoplástico comestible seleccionado de ácido alginico o una sal comestible del mismo, goma xantana, glucosaminoglicanos, agarosa, goma gellan, pectina, carragenina y sus combinaciones, en un porcentaje en peso, en relación con la composición viscoelástica total, desde 0,2 % hasta 40 %; y en donde la composición viscoelástica comprende al menos 45 % en peso de disolvente comestible, en relación con el peso total de la composición. El resto del peso es el disolvente hasta 100 % de la composición viscoelástica.

En una realización particular de la composición viscoelástica microextruible, opcionalmente en combinación con alguna realización de arriba o debajo, la proteína está en un porcentaje en peso en relación con el peso total de la composición viscoelástica desde 20% hasta 40%. En una realización más particular, el porcentaje en peso de proteína es desde 20% hasta 30%. En una realización más particular es de 25%. En otra realización más particular, la proteína es de cereal, más en particular es proteína de arroz, y está en un porcentaje en peso del 25% en relación con el peso total de la composición viscoelástica.

En otra realización particular de la composición viscoelástica microextruible, opcionalmente en combinación con alguna realización de arriba o debajo, el polímero pseudoplástico comestible está en un porcentaje en peso desde 20% hasta 40%, más en particular desde 20% hasta 30%, en relación con el peso total de la composición viscoelástica. En una realización más particular, el porcentaje en peso de polímero pseudoplástico comestible es del 25%. En otra realización más particular, el polímero pseudoplástico comestible comprendido en la composición viscoelástica microextruible en todos los porcentajes antes listados es un alginato de sodio.

30 En otra realización particular, la composición viscoelástica microextruible comprende 25% de proteína de arroz; 25% de alginato de sodio; y un disolvente comestible con aditivos hasta equilibrar el 100% de la composición.

En una realización particular, opcionalmente en combinación con alguna realización de la composición viscoelástica de arriba o debajo, el disolvente es agua potable y en otra realización particular la composición viscoelástica comprende aditivos comestibles seleccionados de la lista que consiste en emolientes, compuestos de sabor, compuestos aromatizantes, lípidos, colorantes, quelantes metálicos, oligoelementos, vitaminas, sales minerales, células o un extracto de la misma; y combinaciones de estos compuestos y/o células y/o extractos celulares. En otra realización particular, la composición viscoelástica comprende aditivos comestibles seleccionados de la lista que consiste en emolientes, compuestos de sabor, compuestos aromatizantes, lípidos, colorantes, quelantes metálicos, oligoelementos, vitaminas, sales minerales, células animales o extractos de dichas células, células vegetales o un extracto de las mismas, células de levadura o un extracto de las mismas, células bacterianas o un extracto de las mismas, y combinaciones de todos ellos.

En una realización particular, el disolvente es agua potable y en otra realización particular la composición viscoelástica comprende aditivos comestibles seleccionados de la lista que consiste en emolientes, compuestos de sabor, compuestos aromatizantes, lípidos, colorantes, quelantes metálicos, oligoelementos, vitaminas, sales minerales y sus combinaciones.

Los aditivos comestibles particulares entre las categorías anteriormente mencionadas incluyen azúcares adicionales seleccionados de glucosa, ribosa, fructosa, lactosa, xilosa, arabinosa, glucosa-6-fosfato, maltosa, y galactosa, y mezclas de dos o más de los mismos, así como aminoácidos aislados adicionales seleccionados de cisteína, cistina, tiamina, metionina, y mezclas de dos o más de las mismas.

50 En una realización más particular de las composiciones viscoelásticas de la invención, tienen un módulo de almacenamiento G' superior al módulo de pérdida G'' cuando se mide a 0,16 Hz y a una temperatura de 23 °C en un reómetro que consiste en un par de placas serradas paralelas y con una cantidad de disolvente en la composición desde 45 % hasta 90 % p/p, siendo el módulo de almacenamiento G' superior a 1700 Pa y el módulo de pérdida G'' superior a 350 Pa, y siendo la relación G''/G' en la composición viscoelástica desde 0,24 hasta 0,88. En una realización más particular, el módulo de almacenamiento G' es superior a 2000 Pa y el módulo de pérdida G'' es superior a 1000 Pa. En una realización más particular, el módulo de almacenamiento G' de la composición viscoelástica tiene valores desde 2000 Pa hasta 140000 Pa, y el módulo de pérdida G'' de la composición viscoelástica tiene valores desde 1000 Pa hasta 40000 Pa; y siendo la relación G''/G' en la composición viscoelástica desde 0,24 hasta 0,88.

En otra realización particular, el tamaño de partícula de la composición viscoelástica es de 100 μm hasta 300 μm , más en particular es de 200 μm hasta 240 μm . En otra realización más particular, el tamaño de partícula es desde 200 μm hasta menos de 240 μm . Las composiciones viscoelásticas con una distribución homogénea de tamaños de partículas desde 200 μm hasta menos de 240 μm son adecuadas para ser microextruidas a través de un orificio con una anchura o diámetro de 400 μm .

Otras realizaciones particulares del primer y segundo aspectos de la invención referentes a las características de la composición viscoelástica también se aplican a este otro aspecto de la invención.

Otro aspecto de la invención es una composición microextruible viscoelástica comestible que comprende, un polímero pseudoplástico, un porcentaje en peso de proteína de 19% a 49% p/p, y al menos un 45% p/p de un disolvente comestible, dicho disolvente comestible equilibrando hasta el 100% en peso de la composición viscoelástica, ambos porcentajes en relación con el peso total de la composición viscoelástica, dicha composición viscoelástica con una distribución homogénea de tamaños de partículas de menos de 6 μm a menos de 600 μm , y obtenible por:

(a) mezclado de las proteínas, el polímero pseudoplástico y el disolvente comestible en un recipiente; y

(b) aplicación de uno o más ciclos de agitación a una fuerza centrífuga o fuerza centrífuga relativa (rcf) de 10g a 4000g, opcionalmente en más de una dirección, mientras se eleva la temperatura de 20°C a una temperatura menor que 95°C, y manteniendo la agitación y la temperatura por un periodo de tiempo de 1 minuto a 30 minutos.

Como se ha detallado previamente, esta composición viscoelástica microextruible con altos porcentajes en peso de proteína es una composición homogénea debido al proceso aplicado y no se separa en fases, lo que significa que la fracción de proteína y el polímero pseudoplástico se dispensan o disuelven de manera homogénea en el disolvente comestible.

En una realización particular de esta composición que se puede obtener con el proceso anterior que incluye los pasos (a) y (b), la fuerza centrífuga o la fuerza centrífuga relativa es de 300g a 4000g, más en particular de 400g (2500 rpm en un rotor de 10 cm de radio) a 4000g. Incluso en una realización más particular es de 400g a 1000g. Una fuerza centrífuga relativa particular utilizada es 900g, que corresponde a 3500 rpm en un rotor de 10 cm de radio. Otros valores particulares se seleccionan entre 60g, 100g, 150g, 200g, 250g, 300g, 350g, 400g, 450g, 500g, 550g, 600g, 650g, 700g, 750g, 800g, 850g, 900g, 950g, 1000g, 1500g, 2000g, 2500g, 3000g, 3500g y 4000g.

En otra realización particular, opcionalmente en combinación con cualquier realización por encima o por debajo de la composición viscoelástica obtenible como se describe previamente, la temperatura se eleva a un valor de 60°C a 90°C. Más en particular, la temperatura está en un valor seleccionado de 60°C, 65°C, 70°C, 72°C, 75°C, 80°C y 90°C.

Usando temperaturas particulares, se logra la preservación (no desnaturalización) de la proteína mientras tiene lugar la pasteurización de la composición. Estos rangos de temperatura aseguran también la no descomposición del polímero pseudoplástico.

En una realización particular de esta composición que se puede obtener con el proceso anterior que incluye las etapas (a) y (b), el porcentaje en peso de proteína es del 25% al 49%, y el porcentaje en peso de disolvente comestible es al menos 45%, equilibrando 100% de la composición. En una realización aún más particular, el porcentaje en peso de proteína es de 29% a 49%, y el porcentaje en peso de disolvente comestible es al menos 45%, equilibrando el 100% de la composición.

En otra realización particular, el tamaño de partícula de la composición viscoelástica obtenible por el método descrito anteriormente es de 100 μm a 300 μm , más en particular es de 200 μm a 240 μm . En otra realización más particular, el tamaño de partícula es de 200 μm a menos de 240 μm . Las composiciones viscoelásticas con una distribución homogénea de tamaños de partícula de 200 μm a menos de 240 μm son adecuadas para ser microextruidas a través de un orificio de un ancho o diámetro de 400 μm .

Otras realizaciones particulares de los aspectos primero y segundo de la invención relacionados con las características de la composición viscoelástica también se aplican a las composiciones viscoelásticas obtenibles como se ha descrito previamente.

Por lo tanto, en una realización particular, la proteína se selecciona de proteína de origen animal, proteína de origen vegetal, proteína de origen de algas, proteína de origen de levadura, proteína de origen bacteriano y combinaciones de las mismas. En una realización más particular, la proteína es proteína animal, más en particular proteína animal no humana. Incluso en una realización más particular es la proteína de insecto.

En otra realización particular de la composición microextruible viscoelástica, la proteína se selecciona de proteína de origen vegetal, proteína de origen de algas, proteína de origen de levadura, proteína de origen bacteriano y combinaciones de las mismas.

Aún en otra realización particular, la composición microextruible viscoelástica obtenible con el proceso descrito anteriormente, y que comprende agitación a fuerzas de gravedad particulares de 10g a 4000g, tiene un módulo de almacenamiento G' más alto que el módulo de pérdida G'' cuando se mide a 0,16 Hz y a una temperatura de 23 °C en

un par de placas dentadas paralelas, y con una cantidad de disolvente en la composición microextruible comestible del 45% al 90% p/p, siendo el módulo de almacenamiento G' mayor que 1700 Pa y el módulo de pérdida G'' superior a 350 Pa, y en donde la relación G''/G' en la composición viscoelástica es de 0.24 a 0.88.

Los aditivos particulares mencionados para las composiciones viscoelásticas en los aspectos primero y segundo también se aplican a esta nueva composición viscoelástica obtenible por el método descrito anteriormente e incluyendo agitación a fuerzas de gravedad particulares.

Las composiciones microextruibles viscoelásticas de los diversos aspectos de la invención se conciben como productos básicos o productos fungibles que se pueden aplicar como "tintas" a impresoras 3D y/o extrusoras industriales para la producción doméstica (en el hogar) o industrial de productos comestibles personalizables.

- 10 En toda la descripción y las reivindicaciones, la palabra "comprender" y variaciones de la palabra no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes, o etapas. Además, la palabra "comprender" engloba el caso de "que consiste en". Los objetos, ventajas y características adicionales de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica tras el examen de la descripción o pueden ser aprendidos por la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no pretenden ser limitantes de la presente invención.
- 15 Además, la presente invención cubre todas las posibles combinaciones de realizaciones particulares y preferidas descritas en el presente documento.

Ejemplos

A continuación se desvelan varios ejemplos de los productos microextruidos comestibles de la invención.

- 20 Ejemplo 1. Composiciones viscoelásticas que comprenden proteína de arroz y alginato de sodio. Producto microextruido comestible impreso con la composición viscoelástica.

MATERIALES

Para la producción de las composiciones comestibles descritas en estos ejemplos, los materiales usados fueron agua, proteína de arroz, proteína de guisante y alginato de sodio. Se compraron la proteína de arroz (PURYA GmbH, Alemania), proteína de guisante (Raab Vital Food GmbH, Alemania) y alginato de sodio (Special Ingredients Ltd, RU) en forma de polvos solubles, y los fabricantes respectivos certificaron que eran comestibles. El alginato de sodio es un polisacárido natural extraído de alga marina que se usa ampliamente en gastronomía, y se puede usar para formar hidrogeles con fuerte comportamiento pseudoplástico. Las especificaciones particulares de los ingredientes se enumeran a continuación:

- 30 Información nutricional por cada 100 g de polvo de proteína de arroz, según el fabricante:

Energía: (1.529,30 kJ / 361,30 kcal), grasas: (3,5 g de las que son grasas saturadas 1,9 g), hidratos de carbono (0,5 g de los que son azúcares 0,5 g), fibra (3,9 g), proteína (83 g), sal (0,5 g)

Información nutricional por cada 100 g de polvo de proteína de guisante, según el fabricante:

- 35 Energía: (1774 kJ / 420 kcal), grasas (8,0 g de las que son grasas saturadas 2,0 g), hidratos de carbono (4,9 g de los que son azúcares < 0,5 g), fibra (4,2 g), proteína (80 g), sal (1,1 g), fósforo (910 mg), hierro (27 mg).

El AS usado en este ejemplo poseyó una viscosidad de 200-600 cPs (viscosímetro) cuando se midió a 1 % de concentración p/v y temperatura de 20 °C, según el fabricante.

PREPARACIÓN DE COMPOSICIONES

En un ejemplo, se mezcló proteína de arroz (PA) con alginato de sodio (AS) y agua potable como disolvente comestible. Se podrían usar otros disolventes comestibles, tales como agua desionizada, agua destilada, aceites y/o zumos de frutas, incluyendo todos opcionalmente sales minerales y otros aditivos, si se requiere. Con estos ingredientes se generaron diferentes composiciones de hidrogel (PA-AS). Para este fin, se mezclaron con agua cantidades definidas de PA y AS y se dispusieron en recipientes de polipropileno separados. Las formulaciones probadas poseyeron varias combinaciones diferentes de cantidades de PA y AS, donde cada uno de los dos componentes varió en una concentración que variaba desde 0 % p/p hasta 60 % p/p. Se taparon los recipientes de polipropileno con Parafilm® (Sigma-Aldrich, Alemania) y se mezclaron mediante una mezcladora (SpeedMixer DAC 150.1 FVZ; FlackTek, Alemania) a 3500 RPM durante 10 minutos, hasta que se homogeneizó el hidrogel resultante.

EVALUACIÓN DE LA MICROEXTRUSIÓN

Se evaluó la capacidad de las composiciones para ser microextruidas a través de un área en sección transversal fina mediante un ensayo de microextrusión. En este ejemplo, esta capacidad se analizó usando un sistema compuesto por una jeringa de 3 cm³, un émbolo, una punta de precisión con un diámetro interno de boquilla de 0,41 mm (Nordson EFD Optimum; Nordson, RU) y un pistón hecho a medida (Fundació CIM, España), que se reforzó mecánicamente para extruir pastas altamente viscosas (composiciones). Se cargó la jeringa con las composiciones de PA-AS usando

una espátula, y estas se extruyeron manualmente en forma de filamentos sobre una placa, para evaluar que las composiciones podían ser apropiadamente microextruidas a través de una boquilla con un diámetro interno de 0,41 mm.

Usando la tecnología descrita en la presente invención, es posible generar pastas homogéneas microextruibles, de viscosidad variable, compuestas por una mezcla de proteína (o una mezcla de proteínas) y polímero pseudoplástico (o una mezcla de polímeros pseudoplásticos) y agua. La FIG. 1A representa un ejemplo de una composición viscoelástica (o formulación microextruible), compuesta por 25 % p/p de PA, 5 % p/p de AS y 70 % p/p de agua. La FIG. 1B representa un ejemplo de una formulación no microextruible, compuesta por 45 % p/p de PA y 55 % p/p de agua (ejemplo comparativo).

10 Para evaluar la posibilidad para generar una estructura multicapa por impresión 3D, es posible seleccionar las composiciones que pueden ser microextruidas en forma de elementos continuos autoportantes. En este ejemplo, se evaluó la capacidad de las composiciones de PA-AS para formar estructuras autoportantes multicapa usando el mismo sistema de extrusión detallado anteriormente. Las composiciones viscoelásticas de PA-AS microextruibles seleccionadas para este ensayo fueron las que pasaron el ensayo de microextrusión descrito en el párrafo previo, y los filamentos generados se depositaron manualmente sobre una placa para analizar su capacidad autoportante. La FIG. 2A representa un ejemplo de una composición o formulación viscoelástica que genera filamentos microextruidos autoportantes, compuesta por 25 % p/p de PA, 5 % p/p de AS y 70 % p/p de agua. La FIG. 2B representa una composición o formulación viscoelástica que genera filamentos microextruidos no autoportantes, compuesta por 5 % p/p de AS y 95 % p/p de agua (ejemplo comparativo).

20 FABRICACIÓN DE PRODUCTOS MICROEXTRUIDOS MULTICAPA

Se usaron las composiciones viscoelásticas comestibles microextruibles capaces de formar estructuras multicapa para fabricar construcciones microextruidas comestibles o productos de la invención mediante un proceso de producción automático. En este ejemplo, se seleccionaron las composiciones de PA-AS que demostraron que formaban estructuras autoportantes microextruidas para generar productos impresos 3D comestibles multicapa a través de una técnica de microextrusión directa con tinta. Se diseñaron modelos de CAD de las estructuras de forma cilíndrica, con 12 mm de diámetro y 10 mm de altura, usando el software SolidWorks (SolidWorks Corp., EE.UU.). Entonces, se empleó el software libre generador de código g Slic3r para definir los parámetros de impresión y generar el código g deseado, que es el lenguaje de programación soportado por la impresora 3D fabricada a medida usada en este trabajo (BCN3D+ Dual Paste Caster; Fundació CIM, España). El código g usado para la fabricación de los productos cilíndricos en este ejemplo se diseñó para proporcionar un patrón de relleno ortogonal, 40 % de densidad de relleno (que significa que los filamentos microextruidos se dispusieron definiendo espacios vacíos entre filamentos microextruidos impresos), 0,41 mm de altura de capas (que significa que los filamentos microextruidos tuvieron un diámetro o sección transversal de 410 μm) y una velocidad de impresión de 10 mm/s. Los otros parámetros de microextrusión (incluyendo jeringas de 3 cm^3 de capacidad, puntas de precisión, diámetro de boquilla de 0,41 mm, émbolo y pistón) fueron los mismos que se usaron para los ensayos de microextrusión descritos en la sección previa de este capítulo. La FIG. 3 (A y B) representa el proceso de impresión 3D de microextrusión de dos productos microextruidos comestibles multicapa, con diferente composición y módulos viscoelásticos. El producto representado en la FIG. 3 A y FIG. 3 B se generaron usando las composiciones viscoelásticas con 25 % p/p de PA, 5 % de AS y 70 % p/p de agua (FIG. 3 A), y 25 % p/p de PA, 25 % p/p de AS y 50 % p/p de agua (FIG. 3 B).

40 En este ejemplo, los ensayos descritos anteriormente permitieron evaluar la capacidad de las composiciones de PA-AS para generar productos comestibles microestructurados multicapa por impresión 3D. La FIG. 4 representa una distribución XY, donde los ejes X e Y representan las concentraciones de alginato de sodio (en el intervalo 0-40 %) y proteína de arroz (en el intervalo 0-49 %), respectivamente, y las formulaciones imprimibles 3D están contenidas en el área definida por las curvas 1, 2, 3 y 4, que se generaron ajustando los puntos de datos obtenidos en este ejemplo.

45 Estas son las ecuaciones de las curvas de este ejemplo, obtenidas usando la herramienta de ajuste a curva del software OriginPro 8 (OriginLab, EE.UU.):

· Curva 1 (cuadrado): $y = [38,01 * \exp(-x / 3,51) - 2,77]$

· Curva 2 (círculo): $y = [14x + 34,33]$

· Curva 3 (triángulo): $y = 0$

50 · Curva 4 (triángulo invertido): $y = [-28,47 * \exp(-x / -39,96) + 77,61]$

En este ejemplo, después del proceso de impresión, se sometió una selección de los productos impresos 3D a un proceso de reticulación a temperatura ambiente. En este ejemplo, los productos se cubrieron con gotas de una solución de CaCl_2 (150 mM en agua) a 23 °C, durante aproximadamente 1 minuto para iniciar la reticulación iónica de AS. Entonces, los productos se movieron a una placa de pocillos y se sumergieron en la solución 150 mM de CaCl_2 durante 4 minutos adicionales para completar el proceso de reticulación, y finalmente los productos se lavaron con agua. La reticulación por CaCl_2 es una técnica ampliamente usada en la gastronomía para la esferificación de AS, y es capaz

de proporcionar resistencia mecánica potenciada a varios hidrogeles, que incluyen estructuras de hidrogel que contienen AS. Las concentraciones adecuadas para la reticulación son desde 50 hasta 300 mM.

Los mismos resultados de arriba y los indicados debajo se obtuvieron cuando se usó proteína de guisante (PP) con AS como polímero pseudoplástico (los datos no se muestran).

5 EVALUACIÓN REOLÓGICA DE COMPOSICIONES VISCOELÁSTICAS SELECCIONADAS

Es posible analizar las propiedades viscoelásticas de las composiciones viscoelásticas microextruibles seleccionadas mediante mediciones reológicas bajo esfuerzo de cizallamiento. Este análisis puede servir para evaluar las propiedades viscoelásticas óptimas de las composiciones que pueden ser apropiadamente microextruidas en forma de productos multicapa. En este ejemplo, se evaluaron las propiedades viscoelásticas de las composiciones imprimibles 3D usando un reómetro Haake Mars III (Thermo Fisher Scientific, EE.UU.) a 23 °C. El sistema de medición consistió en un par de placas serradas paralelas, para evitar el deslizamiento de la pared y proporcionar un agarre potenciado de las composiciones de hidrogel (composiciones viscoelásticas que comprenden proteína (PA) y un polímero pseudoplástico (AS)). Antes de empezar la medición, se bajó la placa superior hasta que los hidrogeles respondieron al esfuerzo de compresión con una fuerza normal de 5 N: usando esta metodología, el hueco entre las placas fue aproximadamente 300 μm en todos los casos de este ejemplo. Se realizaron ensayos oscilatorios para medir los módulos viscoelásticos (módulo de almacenamiento G' y módulo de pérdida G''), el módulo de la viscosidad compleja ($|\eta^*|$) y la tangente de pérdida ($\tan(\delta)$), medida como $\tan(\delta)=G''/G'$, que determina la relación entre los módulos viscoelásticos. Para este fin, se realizaron dos tipos diferentes de ensayos oscilatorios: los ensayos de barrido de amplitud y de barrido de frecuencias. En los ensayos de barrido de amplitud, la frecuencia se fijó a $f=1$ Hz, y se aumentó la amplitud del esfuerzo aplicado (σ) desde 0,005 Pa hasta 2 Pa, para delimitar la región lineal viscoelástica (RLV), que es la región para la que los módulos viscoelásticos son independientes de la amplitud del esfuerzo, y normalmente se observan valores constantes de los módulos. Entonces se realizaron ensayos de barrido de frecuencias, en los que el esfuerzo aplicado se fijó a un valor dentro de la RLV, y se varió la frecuencia. Los ensayos de barrido de frecuencia permiten la evaluación del comportamiento de los módulos viscoelásticos bajo frecuencias cambiantes. Se midió la tangente de pérdida $\tan(\delta)$ a 0,16 Hz (1 rad/s). En todos los ensayos, se mantuvo el esfuerzo sinusoidal en cada etapa de la rampa de medición durante un tiempo equivalente a ocho periodos de oscilación, y se registraron los módulos viscoelásticos durante los últimos cinco periodos, para desechar valores transitorios. Se midieron las propiedades mecánicas de las composiciones con la composición en su forma hidratada (es decir, la composición no se midió después de los procesos de deshidratación, tales como secado al aire, secado en horno, secado en el punto crítico o liofilización), cuando el contenido de agua de la composición estaba variando desde 45 % hasta 90 % p/p, en todos los casos. La FIG. 5 A representa una representación ilustrativa de la medición de las propiedades viscoelásticas de las formulaciones. La FIG. 5 B representa una medición representativa de los módulos viscoelásticos de almacenamiento (G') y de pérdida (G''), medidos en función de la amplitud del esfuerzo (σ). El gráfico en la FIG. 5 B representa una medición representativa del ensayo de barrido de amplitud realizado en la composición con 20 % p/p de PA, 5 % p/p de AS y 75 % p/p de agua.

Además, en la FIG. 6 se representa una distribución XY, donde los ejes X e Y representan las concentraciones de proteína de alginato de sodio y de proteína de arroz, respectivamente, y las formulaciones imprimibles 3D ensayadas (A-H) están contenidas en el área definida por las curvas 1, 2, 3 y 4, como se describe previamente en la FIG. 4. Se calcularon los valores asociados a cada una de las composiciones, específicamente G' , G'' , $|\eta^*|$ y $\tan(\delta)$, para evaluar las propiedades reológicas de las composiciones, y se midieron como se detalló anteriormente.

CARACTERIZACIÓN MECÁNICA DE LOS PRODUCTOS MICROEXTRUIDOS

Para evaluar la resistencia mecánica de los productos microextruidos comestibles, es posible medir su comportamiento mecánico bajo esfuerzos de tracción y de compresión. En este ejemplo, se usó un sistema de ensayo servo-hidráulico con un sensor de carga de 500 N (MTS Bionix 358, EE.UU.) para evaluar las propiedades mecánicas de los productos bajo esfuerzos de tracción y de compresión, a 23 °C. Se midieron las propiedades mecánicas de los productos con el producto en su forma hidratada (es decir, el producto no se midió después de los procesos de deshidratación, tales como secado al aire, secado en horno, secado en el punto crítico o liofilización), cuando el contenido de agua del producto estaba variando desde 45 % hasta 90 % p/p en todos los casos. Se calcularon los valores del módulo de Young a la tracción (E_Y), esfuerzo nominal en el punto de rotura (σ_B) y deformación en el punto de rotura (ϵ_B) bajo carga de tracción uniaxial, y se calculó el valor del módulo elástico de compresión (E_C) bajo esfuerzo de compresión uniaxial no confinado. Se mantuvo constante la tasa de desplazamiento de las pinzas durante el experimento, siendo igual a 1 mm/min para tanto los ensayos de tensión como de compresión.

Para los ensayos de tracción, se diseñaron productos impresos 3D de forma cuboide con una anchura de 10 mm, una longitud de 80 mm y una altura igual a 1,2 mm. Los productos se pinzaron con su longitud a lo largo de la dirección del esfuerzo de tracción. La distancia entre las pinzas de la máquina de ensayo se estableció a 20 mm. Así, el volumen de las muestras que experimentaron esfuerzo de tracción tuvieron dimensiones de 10 mm (anchura) X 20 mm (longitud) X 1,2 mm (espesor). El resto de la pieza se agarró por las pinzas, y las muestras se sometieron a un esfuerzo de tracción, a una velocidad de cruceta constante de 1 mm/min, a 23 °C. Se calculó el módulo de Young como la pendiente de la porción lineal inicial de la curva de esfuerzo-deformación, mientras que se determinaron el esfuerzo

nominal en el punto de rotura (σ_B) y la deformación nominal en el punto de rotura (ε_B) en el punto de fractura, que fue seguido por una rápida disminución de los valores de esfuerzo. La FIG. 7 A representa una representación ilustrativa de la medición de las propiedades mecánicas bajo esfuerzos de tracción de los productos microextruidos comestibles de la invención. La FIG. 7 B representa una medición representativa de la curva de esfuerzo-deformación nominal, cuando un producto se sometió a esfuerzos de tracción. La curva de esfuerzo-deformación nominal en la FIG. 7 B representa un ensayo de tracción representativo realizado en el producto generado usando la composición con 25 % p/p de PA, 25 % p/p de AS y 50 % p/p de agua.

Para los ensayos de compresión, se diseñaron productos impresos 3D en forma de cilindro que poseían un diámetro de 12 mm y una altura igual a 15 mm. Las muestras se colocaron de manera que la base redonda del cilindro estuviera en contacto con las placas de compresión, que estaban sin lubricar y eran impermeables. Entonces se sometieron las muestras a un esfuerzo de compresión no confinado, a una velocidad de cruceta constante de 1 mm/min, a 23 °C. Se determinó el módulo elástico de compresión a partir de la pendiente de la curva de esfuerzo-deformación nominal a 15 % de deformación. Los modos equivalentes de medición incluyen la medición de la pendiente de una curva de esfuerzo-deformación nominal a deformación desde 10 % hasta 60 %. La FIG. 8 A representa una representación ilustrativa de la medición de las propiedades mecánicas bajo esfuerzos de compresión de los productos microextruidos comestibles. La FIG. 8 B representa una medición representativa de la curva de esfuerzo-deformación nominal, cuando un producto se sometió a esfuerzos de compresión. La curva de esfuerzo-deformación nominal en la FIG. 8 B representa un ensayo de compresión representativo realizado en el producto generado usando la composición con 25 % p/p de PA, 25 % p/p de AS y 50 % p/p de agua.

20 POSIBLES APLICACIONES DE LOS PRODUCTOS MICROEXTRUIDOS MULTICAPA PARA INGENIERÍA DE ALIMENTOS

La evaluación de la resistencia de los productos a esfuerzos de tracción y de compresión demuestra el potencial de los productos multicapa microextruidos generados en este ejemplo para aplicaciones en ingeniería de alimentos. Específicamente, los productos generados en este ejemplo mostraron módulos elásticos bajo esfuerzos de tracción y de compresión en el mismo intervalo de una variedad de materiales comestibles naturales, que incluyen varios tipos de carne. La FIG. 9 representa un gráfico que representa los intervalos de módulo elástico de compresión y módulo de Young de los productos comestibles de este ejemplo (productos de la invención con las composiciones viscoelásticas en el área definida por las curvas 1, 2, 3 y 4, en las FIGs. 4 y 6). Los rectángulos sombreados representan los intervalos cubiertos por los productos. Rectángulos transparentes pequeños representan los módulos de compresión y elásticos de tracción de algunos materiales comestibles específicos, según la bibliografía:

Módulo de Young a la tracción

- Atún – $E_y = 50$ kPa – de Ogawa et al., “Measurement of Young's Modulus and Poisson's Ratio of Tuna Fish”. Transactions of the Japan Society of Refrigerating and Air Conditioning Engineers, Volumen 9, Edición 3, pp. 283-290 (2011);

35 - Músculos de vaca adulta – E_y músculo longísimo (LM) = 15 kPa, E_y músculo semimembranoso (SM) = 10 kPa; músculos de toro joven – E_y músculo longísimo = 8 kPa, E_y músculo semimembranoso = 7,5 kPa de M-R. Lapin et al. “Substrate elasticity affects bovine satellite cell activation kinetics in vitro”, J Anim Sci.-2013, vol. no. 91(5), pp. 2083-2090, doi: 10.2527/jas.2012-5732.

40 - Hígado bovino – $E_y = 0,94$ kPa de Chen et al., “Young's modulus measurements of soft tissues with application to elasticity imaging”, IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, Volumen 43, Edición: 1 (1996). doi: 10.1109/58.484478.

- Músculos extensores largos de los dedos (ELD) de conejo blanco de Nueva Zelanda – E_y ensayo longitudinal = 447 kPa – E_y ensayo transversal = 22,4 kPa, de Morrow et al., “Transversely isotropic tensile material properties of skeletal muscle tissue” J Mech Behav Biomed Mater. 2010 Jan;3(1):124-9. doi: 10.1016/j.jmbbm.2009.03.004.

45 Módulo elástico de compresión

- Pechuga de pollo cocinada – 119 – 150 kPa, de U-Chupaj et al., “Differences in textural properties of cooked caponized and broiler chicken breast meat”, Science - 2017, vol. no. 1;96(7), pp.: 2491-2500. doi: 10.3382/ps/pex006.

50 - Migajas de nuggets de pollo – 3 MPa, de Jahanbakhshian N et al., “Measurement and prediction of the mechanical properties of a two-component food during freezing”, International Journal of Food Properties-2017, vol. no.20(3), pp.: S3088-S3095. doi: 10.1080/10942912.2016.1247856.

- Músculo dorsal largo (DL) de res – 3 kPa, de Chen E et al., “Ultrasound elasticity measurements of beef muscle” de IEEE Ultrasonics Symposium ULTSYM-94, Vol. 3, (1994), 1459-1462. doi: 10.1109/ULTSYM.1994.401867.

- Músculo de res, de Segars R et al., “Textural characteristics of beef muscles, Journal of Texture Studies 5 (1974) 283-297. doi: 10.1111/j.1745-4603.1974.tb01436.x

55 E_c bíceps femoral (BF): crudo= 6-34 kPa cocinado= 20-122 kPa

Ec glúteo medio (GM): crudo= 7-28 kPa	cocinado= 140-230 kPa
Ec dorsal largo (DL): crudo= 19-62 kPa	cocinado= 105-144 kPa
Ec psoas mayor (PM): crudo= 30-130 kPa	cocinado= 190-266 kPa
Ec recto femoral (RF): crudo= 12-27 kPa	cocinado= 156-215 kPa

5 Según los valores de los módulos de Young a la tracción y los módulos elásticos de compresión de los materiales comestibles, los productos generados en este ejemplo coinciden con las propiedades de varios tipos de carne, que incluyen carne de músculos de vaca y atún, soportando la posible utilidad de los productos multicapa microextruidos como análogos de carne. Como se puede deducir de esta FIG. 9, las propiedades mecánicas de los productos están en el mismo orden de magnitud de una variedad de tipos de carne (áreas transparentes del gráfico), que incluyen

10 carne de diferentes músculos de vaca e hígado, músculo de conejo, pechuga de pollo y nuggets de pollo, y atún. Esta propiedad de los productos microextruidos soporta la posible utilidad de los productos generados como análogos de carne o pescado. Los rectángulos coloreados representan los intervalos de los módulos elásticos cubiertos por los productos descritos en este ejemplo. Los rectángulos transparentes representan los valores de los módulos elásticos medidos en la bibliografía para una variedad de carne y pescado.

15 EVALUACIÓN MICROSCÓPICA DE LOS PRODUCTOS MICROEXTRUIDOS MULTICAPA

El análisis de los productos multicapa microextruidos comestibles puede servir para seleccionar las composiciones viscoelásticas óptimas y los parámetros de microextrusión para generar una estructura tridimensional que se parece más a las dimensiones iniciales de los modelos de CAD, al nivel macroestructural, y proporciona una alta calidad de los elementos microextruidos, al nivel microestructural. En este ejemplo, se caracterizó la estructura de los productos

20 impresos 3D desde un punto de vista microscópico por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM). Para este fin, se prepararon los productos para visualización por SEM por un proceso de congelación en nitrógeno líquido, liofilización (Cryodos; Telstar, España), seccionamiento en planos longitudinales y transversales, disposición sobre portamuestras de aluminio y recubrimiento por pulverización con carbono (recubridora por pulverización SCD005; BAL-TEC, Liechtenstein). Entonces, los productos se observaron en un microscopio electrónico de barrido (Neon 40;

25 Zeiss, Alemania). La FIG. 10 A y B representan imágenes de microscopía electrónica de barrido representativas de la microestructura de un producto seleccionado, tomadas a 10kV y con un aumento de 200X, desde ángulos en vista desde arriba y en vista transversal, respectivamente. El producto representado en estas imágenes se generó seleccionado una composición altamente viscosa, con 25 % p/p de PA, 25 % p/p de AS y 50 % p/p de agua. Las imágenes de SEM de los productos en estos ejemplos mostraron que, en comparación con cómo se diseñó la

30 microestructura en los archivos de código g, los microfilamentos dentro de los productos mantuvieron el patrón apropiado y la dirección ordenada que se diseñó, y las dimensiones adecuadas de los diámetros de filamento y de las porosidades dentro de los filamentos. Además, la evaluación geométrica macroscópica de los productos en forma de cilindro descritos en estos ejemplos, medida con un compás calibrador digital, mostró que los productos mantuvieron la misma macroestructura diseñada en los archivos de CAD, tanto en términos de altura como de diámetro de base,

35 sin que mostraran efectos significativos de encogimiento o expansión sobre la geometría de los productos.

Para observar la presencia de una distribución preferida y anisotrópica de las fibras nanométricas en el interior de cada uno de los filamentos microextruidos, se evaluó la orientación de las nanofibras en una selección de composiciones tomando imágenes de SEM a mayor aumento (15000X). La FIG. 11 A y B representan imágenes de microscopía electrónica de barrido representativas, tomadas a 5 kV, de la microestructura de un producto

40 seleccionado, a 200X y 15000X de aumento, respectivamente. La FIG. 11 B representa un aumento de la misma imagen representada en la FIG. 11 A; a mayor aumento, fue posible observar un alineamiento en la dirección de las nanofibras, que están contenidas en el interior de un filamento microextruido individual. La orientación de las nanofibras se dirigió en la misma dirección del microfilamento. El producto representado en estas imágenes estuvo compuesto por 25 % p/p de PA, 5 % p/p de AS y 70 % p/p de agua.

45 FABRICACIÓN DE PRODUCTOS ANÁLOGOS A CARNE MICROEXTRUIDOS MULTICAPA

Usando la tecnología descrita en la presente invención, es posible fabricar productos microextruidos multicapa de forma compleja, con una forma tridimensional que se parece a la de un bistec, y propiedades mecánicas que imitan a la carne en términos de consistencia, integridad, deformabilidad, elasticidad, y una textura fibrosa típica de la carne. En este ejemplo, se diseñaron modelos de CAD de estructuras en forma de bistec usando el software SolidWorks

50 (SolidWorks Corp., EE.UU.). Entonces, se empleó el software libre generador de código g Slic3r para definir los parámetros de impresión y generar los códigos g deseados, como se describe para los ejemplos previos en este documento. Se usó una impresora 3D hecha a medida (BCN3D+ Dual Paste Caster; Fundació CIM, España) para generar diferentes productos, con pesos variables en el intervalo de 10-100 gramos en este ejemplo. A este respecto, es posible usar esta tecnología para generar productos con un amplio intervalo de pesos y dimensiones. Los códigos

55 g usados para la fabricación de los productos cilíndricos se diseñaron para proporcionar 35 % de densidad de relleno (porcentaje de filamentos microextruidos en la superficie de la capa de 35 %) y 0,41 de altura de capas. La mayoría de los otros parámetros de impresión principales fueron similares a los detallados en los ejemplos de la sección previa en este capítulo. Sin embargo, fue posible diseñar algunos parámetros para ser diferentes de los ejemplos previos,

específicamente: diferentes patrones de relleno (rectilíneos con orientaciones angulares diferentes cuando se varían las capas, patrones de curvas de Hilbert, estructuras de panal de abeja, y otros), presencia o ausencia de un perímetro externo, mayor velocidad de impresión (5-60 mm/s), dos jeringas mayores de 5 cm³ o 10 cm³ de capacidad (Nordson EFD Optimum; Nordson, RU), y dos prensas microextrusoras coordinadas separadas que podrían ser alternativamente o posteriormente empleadas, ya fuera para generar diferentes capas con diferentes prensas extrusoras y composiciones, o para generar diferentes partes de las mismas capas con diferentes prensas extrusoras y composiciones. La FIG. 12 representa una representación ilustrativa del proceso de impresión de microextrusión 3D de un producto análogo a la carne, que se generó usando dos composiciones diferentes, cada una en una prensa extrusora separada, y alternando las dos prensas extrusoras en cada capa: específicamente, una de las prensas extrusoras usada en este ejemplo generó capas con la composición de 25 % p/p de PA, 5 % p/p de AS y 70 % p/p de agua, mientras que la otra prensa extrusora generó capas con la composición de 25 % p/p de PA, 25 % p/p de AS y 50 % p/p de agua.

FABRICACIÓN DE PRODUCTOS ANÁLOGOS A CARNE QUE CONTIENEN TODOS LOS AMINOÁCIDOS ESENCIALES

15 La tecnología descrita en la presente invención permitió lograr la generación de productos análogos a la carne que son similares a la carne de animales también en términos de propiedades nutritivas, es decir, la fabricación productos que pueden contener todas y una selección de vitaminas, minerales y lípidos dentro de sus valores nutritivos, entre otros nutrientes. En este ejemplo, la presente invención se puede usar para generar productos con todos los aminoácidos esenciales, pero usando solo proteínas de origen no animal. En este ejemplo, se empleó la tecnología descrita en la presente invención para generar productos análogos a la carne microextruidos multicapa que contenían todos los aminoácidos esenciales, solo de orígenes basados no en animal, usando una composición que contenía tanto proteína de arroz como proteína de guisante. La FIG. 13 representa un ejemplo de un producto análogo a la carne microextruido multicapa completado, que se generó usando una composición con 12,5 % p/p de proteína de arroz, 12,5 % p/p de proteína de guisante, 5 % p/p de AS y 70 % p/p de agua. En otro ejemplo, se fabricó un producto análogo a la carne que contenía todos los aminoácidos esenciales de origen basado en planta, y selección de hidratos de carbono, grasas, vitaminas, minerales, fibras dietéticas y un colorante rojo comestible, usando la metodología descrita en la presente invención.

Ejemplo 2. Pasteurización y cocción de los productos microextruidos comestibles de la invención

PASTEURIZACIÓN DE PRODUCTOS ANÁLOGOS A LA CARNE

30 Para demostrar la posibilidad de almacenar y envasar los productos obtenidos mediante las metodologías descritas en la presente invención, se sometió una selección de productos de estos ejemplos a una temperatura a 72 °C-80 °C durante 1 hora, o alternativamente a tres ciclos de submisión a 72 °C durante 30 minutos, por cada ciclo. Después de esto, los productos no mostraron cambio significativo en la morfología macroscópica. Este ensayo pretendió demostrar que es posible aplicar un proceso de pasteurización a productos obtenidos con la tecnología descrita en este documento, que hace que la tecnología descrita en la presente invención sea interesante para aplicaciones específicas donde es importante aumentar la estabilidad en almacén de los productos, para fines de almacenamiento, envasado y transporte.

EVALUACIÓN DE LA COCCIÓN DE PRODUCTOS ANÁLOGOS A LA CARNE

40 Para evaluar el comportamiento de los productos microextruidos multicapa generados en los ejemplos de la presente invención, se cocinaron productos análogos a la carne en una sartén, en un horno, en un horno microondas y por cocción a vapor. En un ejemplo, los productos microextruidos multicapa, generados usando una composición con 12,5 % p/p de proteína de arroz, 12,5 % p/p de proteína de guisante, 5 % p/p de AS y 70 % p/p de agua, se cocinaron en una sartén junto con trozos de pechuga de pollo usando el mismo proceso de cocción, para comparar el comportamiento de los dos alimentos cuando se cocinan. Se varió el tiempo de cocción desde 5 hasta 10 minutos, y la cocción se realizó tanto en presencia como en ausencia de una cucharita de aceite de oliva extra-virgen. Después de cocinar los productos microextruidos seleccionados y las pechugas de pollo, la manipulación y la ingestión de los dos alimentos mostró que poseyeron propiedades similares en términos de consistencia, integridad, deformabilidad, elasticidad y textura fibrosa, todas las propiedades típicas de una amplia variedad de alimentos cárnicos. La FIG. 14 A y FIG. 14 B representan imágenes representativas obtenidas durante el proceso de cocción en una sartén de los productos descritos en este ejemplo, en comparación con un trozo de carne de pechuga de pollo. En la FIG. 14 A, un producto, generado según la invención, se sitúa en la parte derecha de la imagen, mientras que la carne de pechuga de pollo se sitúa en la parte derecha de las imágenes. En la FIG. 14 B, otro producto, generado según la invención, se sitúa en la parte inferior de la imagen, mientras que la carne de pechuga de pollo se sitúa en la parte superior de las imágenes.

55 Todas las composiciones y productos comestibles preparados a partir de ellas mostraron capacidades autoportantes. Las composiciones viscoelásticas mostraron propiedades pseudoplásticas en ensayos reológicos rotacionales, que contribuyeron a la buena capacidad de impresión. Se varió la velocidad de los procesos de impresión entre 10 mm/s y 50 mm/s. Los productos comestibles impresos mantuvieron su forma 3D gracias a sus propiedades de fluidización por cizallamiento específicas.

Como se ilustra, la adición de un reticulante, tal como CaCl_2 , mejoró las propiedades mecánicas del producto microextruido comestible.

Así, se desarrolló un producto biomimético completamente novedoso por tecnología de impresión. El alimento impreso 3D que imita a la carne pareció y supo como la carne, pero usando solo ingredientes naturales no basados en animales.

Es posible seleccionar una amplia gama de ingredientes no basados en animales, que incluyen tanto materiales basados en plantas como en algas, dependiendo no solo de las modificaciones deseadas a la textura y el sabor del alimento impreso, sino también de sus especificaciones nutritivas. En realidad, es posible controlar los tipos y cantidades de las proteínas basadas no en animal, hidratos de carbono y grasas que están contenidos en la composición viscoelástica y/o en el producto microextruido comestible, añadiendo los ingredientes específicos a la mezcla imprimible, ya sea en forma líquida o sólida.

Con los métodos anteriormente definidos, además, es posible lograr una impresión rápida y reproducible (u otro tipo de microextrusión) del alimento en estructuras tridimensionales complejas, imposibles de lograr con otras técnicas, solo definiendo la macroforma deseada y enviando la información a la impresora 3D o los elementos del dispositivo microextrusor. Es incluso posible elegir imprimir una estructura muy compleja tal como la de un bistec.

Como una conclusión de los ejemplos, se ha demostrado que la presente invención permite producir productos alimenticios microextruidos multicapa con propiedades mecánicas en los mismos órdenes de magnitud de diferentes alimentos, en particular que incluyen diversos tipos de carne, mediante el uso de composiciones comestibles viscoelásticas definidas y procesos de microextrusión específicos. Además, la presente invención permite fabricar productos microextruidos comestibles multicapa (al menos dos capas) que presentan propiedades deseada y personalizadas en términos de macroformas tridimensionales, patrones definidos y distribución de los microelementos dentro del producto, y orientación anisotrópica de las nanofibras dentro de tanto los microelementos como el producto. Además, fue posible personalizar los valores nutritivos de las composiciones viscoelásticas y de los productos microextruidos multicapa, de manera que poseyeran un alto contenido y variable de proteínas, y cantidades definidas y ajustables de contenido de agua y otros nutrientes. En particular, es posible producir composiciones viscoelásticas y productos microextruidos multicapa que poseen propiedades nutritivas en el intervalo de los de una variedad de tipos de carne. En un ejemplo, se describe la producción de análogos de carne comestibles con valores nutritivos personalizados y todos los aminoácidos esenciales, con la posibilidad adicional de uso de composiciones que solo contienen materiales comestibles de ingredientes naturales de origen vegetal. La capacidad de generación de productos tridimensionales comestibles microextruidos que imitan la textura característica, consistencia y valores nutritivos de la carne, y la posibilidad de uso de solo ingredientes de origen no animal, hace que la presente invención sea interesante por tres motivos principales. Primero, contribuye a la mejora de la salud pública global, generando productos que son adecuados para una dieta que comprende una variedad de cantidades de proteínas y nutrientes específicos. Segundo, esta tecnología tiene como objetivo mejorar el contenido nutritivo de los alimentos consumidos en las regiones rurales del planeta, para luchar contra el problema común de la falta de ciertos nutrientes tales como aminoácidos esenciales, minerales y vitaminas que son necesarios para una dieta equilibrada. El alimento producido mediante esta tecnología puede ser pasteurizado y envasado, para ser almacenado y transportado a áreas inaccesibles, permitiendo una correcta conservación del alimento. Tercero, promueve un movimiento social y económico hacia un sistema agrícola y ganadero más sostenible, ya que parece fundamental y urgente encontrar estrategias alternativas saludables a la carne producida a partir de animales.

Ejemplo 3. Composiciones viscoelásticas que comprenden proteína de guisante y carragenina, o proteína de guisante y goma gellan. Producto microextruido comestible impreso con la composición viscoelástica.

45 MATERIALES

Para la producción de las composiciones comestibles descritas en estos ejemplos, los materiales utilizados fueron agua, proteína de guisante, carragenina y goma gellan. La proteína de guisante (Raab Vital Food GmbH, Alemania), la carragenina (Sigma-Aldrich) y la goma gellan (Sigma-Aldrich) se compraron en forma de polvos solubles y los fabricantes respectivos certificaron que eran comestibles. La carragenina es un polisacárido natural extraído de las algas que se usa ampliamente en la gastronomía, y puede usarse por sus propiedades gelificantes, espesantes y estabilizantes. La goma gellan es un polisacárido producido a partir de una fermentación bacteriana que tiene varios usos en la gastronomía como gelificante, texturizante y estabilizante para alimentos. Tanto la carragenina como la goma gellan pueden usarse para formar hidrogeles con un fuerte comportamiento pseudoplástico.

55

PREPARACIÓN DE COMPOSICIONES

Usando el proceso descrito en el ejemplo 1, la proteína de guisante (PP) se mezcló con carragenina (CG) o goma gellan (GG), o alginato de sodio (AS) y agua potable (o potable) como disolvente comestible. Se podrían usar otros solventes comestibles, tales como agua desionizada, agua destilada, aceites y/o jugos de frutas, opcionalmente
 5 incluyendo sales minerales y otros aditivos si fuera necesario. Con estos ingredientes se generaron diferentes composiciones de hidrogel (PP-CG y PP-GG). Para este objetivo, se mezclaron cantidades definidas de PP y CG (o GG) con agua y se colocaron en recipientes de polipropileno separados. Las formulaciones probadas estaban compuestas de:

- a) 73 p/p% de agua, 25 p/p% PP y 2 p/p% CG
 - 10 b) 75 p/p% de agua, 20 p/p% PP y 5 p/p% CG
 - c) 73 p/p% de agua, 25 p/p% PP y 2 p/p% GG
 - d) 75 p/p% de agua, 20 p/p% PP y 5 p/p% GG
 - e) 73 p/p % de agua, 25 p/p% PP y 2 p/p% AS
 - f) 75 p/p % de agua, 20 p/p% PP y 5 p/p% AS
- 15 Los recipientes de polipropileno se sellaron con Parafilm® (Sigma-Aldrich, Alemania) y se mezclaron a través de un mezclador (SpeedMixer DAC 150.1 FVZ; FlackTek, Alemania) a 3500 RPM durante 10 minutos, hasta que el hidrogel resultante se homogeneizó.

20 EVALUACIÓN DE MICROEXTRUSIÓN Y FABRICACIÓN DE PRODUCTOS MICROEXTRUIDOS DE MÚLTIPLES CAPAS

Utilizando el mismo proceso descrito en la sección "EVALUACIÓN DE MICROEXTRUSIÓN" del Ejemplo 1 de este documento, las composiciones se microextruyeron con éxito en forma de filamentos, lo que demuestra que las composiciones podían microextruirse adecuadamente a través de una boquilla, con un diámetro interno de 0,41 mm,
 25 o alternativamente 0,84 mm.

Usando la tecnología descrita en esta invención, es posible generar pastas homogéneas compuestas de una mezcla de proteínas, polímeros pseudoplásticos y agua, de viscosidad variable, y microextruir adecuadamente las composiciones. La FIG. 15 representa un ejemplo de una formulación viscoelástica microextruible compuesta de 75% p/p de agua, 20% p/p de PP y 5% p/p de CG.

30 Además, utilizando el mismo proceso descrito en las secciones de "FABRICACIÓN DE PRODUCTOS MICROEXTRUDADOS DE MÚLTIPLES CAPAS" del Ejemplo 1 de este documento, se mostró la posibilidad de que las composiciones PP-CG y PP-GG descritas anteriormente formen estructuras de capas múltiples autoportantes a través de un proceso de microextrusión, como un proceso de impresión de microextrusión 3D. Como ejemplo, el producto representado en la FIG. 16 se generó usando las composiciones viscoelásticas con 73% p/p de agua, 25%
 35 p/p de PP, 2% de GG. En este ejemplo, las pruebas descritas anteriormente permitieron evaluar la capacidad de las composiciones para generar productos comestibles microestructurados multicapa mediante un proceso automatizado de microextrusión.

Se obtuvieron resultados similares cuando PP fue sustituido por RP con las mismas formulaciones.

40 Ejemplo 4. Generación de productos comestibles microextruidos que comprenden células.

GENERACIÓN DE LAS COMPOSICIONES MICROEXTRUDABLES QUE COMPRENDEN CÉLULAS

Para la producción de las composiciones comestibles descritas en estos ejemplos, los materiales utilizados fueron agua, solución salina tamponada con fosfato, gelatina y alginato de sodio. La gelatina (Rousselot tipo B) y el alginato de sodio (Special Ingredients Ltd, o alternativamente BioChemica Panreac A3249) se compraron en forma de polvos
 45 solubles. El alginato de sodio es un polisacárido natural biocompatible extraído de algas marinas, la gelatina es un ingrediente natural biocompatible derivado de la desnaturalización de la proteína de colágeno. Estos son materiales comestibles ampliamente utilizados en gastronomía, y ambos pueden usarse para formar hidrogeles con un comportamiento pseudoplástico.

Se utilizaron alginato de sodio (AS), gelatina (GEL) y solución salina tamponada con fosfato (PBS, Sigma-Aldrich) para generar las composiciones microextruibles. Se usó un proceso de pasteurización para reducir los patógenos: por esta razón, los polvos de alginato y gelatina se pesaron por separado, se colocaron en dos recipientes de vidrio ligeramente
 50 abiertos y se sometieron a tres ciclos de 72 ° C durante 30 minutos. Alternativamente, el alginato y la gelatina se

sometieron a un proceso de exposición al plasma, con gas oxígeno a baja presión, para esterilizar los materiales. Para preparar las composiciones microextruibles (2 gramos cada muestra), las formulaciones se mezclaron a 3500 rpm durante 10 minutos, como se describe en la sección "PREPARACIÓN DE COMPOSICIONES" en el Ejemplo 1 de este documento. En un ejemplo, se usó una formulación compuesta de 78% p / p de PBS (Sigma-Aldrich), 20% p / p de gelatina y 2% p / p de alginato. En otro ejemplo, el PBS fue sustituido por agua.

Para generar formulaciones microextruibles que incorporan células (también definibles como bioenlaces), se añadieron 5×10^6 células de mamífero /ml a las composiciones, suspendidas en una pequeña cantidad de 250 μ L de medio de cultivo celular (DMEM alta glucosa, Thermo Fisher Scientific). Luego, las células fueron incrustadas en los bioenlaces manualmente, mezclando suavemente las suspensiones de las células y los bioenlaces con una espátula, o mediante un sistema de dos jeringas conectadas. Alternativamente, la composición previamente mezclada se puede mezclar con las células usando un sistema centrífugo automático a una velocidad de 10 g o 60 g (rcf) a 100 g para obtener composiciones homogéneas sin dañar las células.

En otro ejemplo, se generaron las mismas formulaciones microextruibles, pero sin incrustar las células en las composiciones (también definibles como tintas para la siembra de células).

15

PROCESO DE MICROEXTRUSIÓN Y FABRICACIÓN DE PRODUCTOS COMBINADOS DE CÉLULAS MICROEXTRUIDAS COMESTIBLES Y PRODUCTOS SEMBRADOS CON CÉLULAS

Las formulaciones de incrustación de células se usaron para producir sustitutos de carne comestibles a base de células microextruidas, usando un proceso de impresión por microextrusión 3D, como se describe en la sección "FABRICACIÓN DE PRODUCTOS DE ANÁLOGO DE CARNE MICROEXTRUIDOS DE MÚLTIPLES CAPAS", en el Ejemplo 1 de este documento.

En otro ejemplo, las composiciones microextruidas comestibles que no contienen las células (tintas para la siembra de células) se procesaron a través del mismo proceso de impresión de microextrusión 3D descrito para los bioenlaces. Luego, se suspendieron 5×10^6 células de mamífero / ml en una pequeña cantidad de 250 μ l de medio de cultivo celular (DMEM alta glucosa, Thermo Fisher Scientific) y se sembraron en los productos microextruidos.

Posteriormente, los productos microextruidos se reticularon con medio de cultivo de células con alto contenido de glucosa DMEM que contenía CaCl_2 100 mM a temperatura ambiente, durante 10 minutos. Luego, las muestras se lavaron 3 veces con medio de cultivo de células con alto contenido de glucosa DMEM no suplementado en la habitación T, para expulsar el exceso de CaCl_2 de las muestras, y los productos sustitutos de carne a base de células comestibles se almacenaron en una incubadora para cultivo celular, en 6 -placas de pozos, sumergidas en medio de cultivo de células con alto contenido de glucosa DMEM suplementado y cultivadas durante diferentes períodos de tiempo, cambiando el medio de cultivo celular cada 48 horas.

35 EVALUACIÓN MICROSCÓPICA DE PRODUCTOS MICROEXTRUIDOS BASADOS EN CÉLULAS DE MÚLTIPLES CAPAS

El análisis de los productos comestibles basados en células multicapa se realizó para evaluar la viabilidad celular de las células de mamífero incrustadas o sembradas dentro de las muestras microextruidas. En un ejemplo, se usó un método Live-Dead (kit de imágenes de células Live-Dead, Invitrogen) a las 48 horas del tiempo de incubación, para evaluar la presencia y viabilidad celular en los productos.

Para llevar a cabo el método de obtención de imágenes, las muestras se lavaron con una solución de medio de cultivo celular DMEM a temperatura ambiente. Para preparar muestras de control negativo, algunos productos se sumergieron con Tritón al 0,1% (10 ml de medio de cultivo celular + 10 μ l de Tritón) a 37 grados. Luego, las muestras se sumergieron en la solución Live-Dead (10 ml de PBS + 5 μ l de calceína-AM + 20 μ l de yoduro de propidio), y se incubaron durante 20 minutos a 37 grados. Después de lavarlos con PBS, se evaluaron utilizando un microscopio confocal (Leica). Las imágenes de microscopio (no mostradas) representaban que las muestras con células incrustadas en los bioenlaces y con células sembradas en los productos microextruidos contenían células viables. Fue posible observar una alta viabilidad celular dentro de las muestras en términos de porcentaje de células vivas (puntos verdes), en comparación con el porcentaje de células muertas (puntos rojos).

El análisis del porcentaje de células vivas en los productos microextruidos, tanto en el caso de las muestras sembradas de células como de las muestras de inclusión celular, demostró una alta viabilidad celular en ambos casos. Los resultados mostraron que un promedio del 79% de las células en las muestras sembradas de células estaban vivas, y un promedio del 75% de las células en las muestras de inclusión celular estaban vivas, como se muestra en la Tabla

55 1.

Tabla 1: Viabilidad celular

Muestra:	Porcentaje de células vivas sobre el número total:
Muestra microextruida con sembrado celular	79% de células vivas
Muestra microextruida con células embebidas o incrustadas.	75% de células vivas

Lista de referencias

5 Bibliografía de patente

- Patente de EE.UU. 9808029-B2 (2017)
- Patente de EE.UU. US8703216-B2 (2014)
- Solicitud de patente de EE.UU. US2016135493-A1 (2016)
- Solicitud de patente de EE.UU. US2017035076A1 (2017)

10 Bibliografía no de patente

- Krintiras et al. "On the use of Couette Cell technology for large scale production of textured soy-based meat replacers", Journal of Food Engineering-2016, vol. no. 169, pp.: 205-213.
- Lille et al., "Applicability of protein and fibre-rich food materials in extrusion-based 3D printing", Journal of Food Engineering-2017, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.201704.034>.
- 15 - Ogawa et al., "Measurement of Young's Modulus and Poisson's Ratio of Tuna Fish". Transactions of the Japan Society of Refrigerating and Air Conditioning Engineers, Volumen 9, Edición 3, pp. 283-290 (2011).
- M-R. Lapin et al. "Substrate elasticity affects bovine satellite cell activation kinetics in vitro", J Anim Sci.-2013, vol. no. 91(5), pp. 2083-2090, doi: 10.2527/jas.2012-5732.
- 20 - Chen et al., "Young's modulus measurements of soft tissues with application to elasticity imaging", IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, Volumen 43, Edición: 1 (1996). doi: 10.1109/58.484478.
- U-Chupaj et al., "Differences in textural properties of cooked caponized and broiler chicken breast meat", Science- 2017, vol. no. 1;96(7), pp.: 2491-2500. doi: 10.3382/ps/pex006.
- 25 - Jahanbakhshian N et al., "Measurement and prediction of the mechanical properties of a two-component food during freezing", International Journal of Food Properties-2017, vol. no. 20(3), pp.: S3088-S3095. doi: 10.1080/10942912.2016.1247856.
- Chen E et al., "Ultrasound elasticity measurements of beef muscle" of IEEE Ultrasonics Symposium ULTSYM-94, Vol. 3, (1994), 1459-1462. doi: 10.1109/ULTSYM.1994.401867.
- 30 - Segars R et al., "Textural characteristics of beef muscles", Journal of Texture Studies 5 (1974) 283-297. doi: 10.1111/j.1745-4603.1974.tb01436.x

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la preparación de un producto microextruido comestible que comprende dos o más capas de
5 elementos microextruidos viscoelásticos, en donde cada elemento extruido comprende proteína, un polímero pseudoplástico comestible y un disolvente comestible apropiado, que comprende las etapas de:
- (i) proporcionar una composición viscoelástica que comprende en un disolvente comestible apropiado, proteína y un polímero pseudoplástico comestible, comprendiendo dicha composición viscoelástica un porcentaje en peso de
10 proteína desde 19 % hasta 49 %, un porcentaje en peso de polímero pseudoplástico comestible desde 0,2 % hasta 40 %, y al menos 45 % de disolvente comestible, todos los porcentajes en relación con el peso total de la composición viscoelástica, dicho disolvente comestible equilibrando hasta el 100 % en peso de la composición viscoelástica;
- (ii) microextruir la composición viscoelástica a través de un orificio con una anchura o diámetro de desde 10 μm hasta 1000 μm para obtener uno o más elementos microextruidos; y
- 15 (iii) apilar dos o más capas que comprenden elementos microextruidos de tal forma que una sección vertical del producto microextruido comestible muestre elementos microextruidos cruzados dentro de una capa, o elementos microextruidos superpuestos y diferencialmente orientados entre las diferentes capas; o alternativamente las dos o más capas se apilan de tal forma que los elementos microextruidos entre las capas se orienten en paralelo.
- 20 2. El proceso según la reivindicación 1, que además comprende después de uno cualquiera de los pasos (ii) y (iii), un paso (iv) de adición de uno o más aditivos seleccionados de la lista que consiste en emolientes, compuestos de sabor, compuestos aromatizantes, lípidos, colorantes, quelantes metálicos, oligoelementos, vitaminas, sales minerales, células y extractos de dichas células, y combinaciones de todos estos compuestos y/o células y/o extractos de células.
- 25 3. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, que además comprende después de uno cualquiera de los pasos (ii) y (iii), una etapa (v) de adición entre los elementos microextruidos en una capa y/o sobre una capa de elementos microextruidos, una composición que comprende una grasa seleccionada de uno o más triglicéridos, colesterol, uno o más fosfolípidos, uno o más ácidos grasos y combinaciones de los mismos; y/o una composición que comprende material cartilaginoso; y/o una composición que comprende material óseo.
- 30 4. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde la composición viscoelástica comprende, un polímero pseudoplástico comestible, un porcentaje en peso de proteína desde 19% hasta 49% p/p, un porcentaje en peso de polímero pseudoplástico comestible desde 0,2 % hasta 40 % p/p, y al menos un 45% p/p de un disolvente comestible, ambos porcentajes en relación con el peso total de la composición viscoelástica y dicho disolvente comestible equilibrando hasta el 100% en peso de la composición viscoelástica, dicha composición viscoelástica teniendo una distribución homogénea de tamaños de partículas de desde menos de 6 μm hasta menos de 600 μm , y obtenible por:
- (a) mezclado de las proteínas, el polímero pseudoplástico y el disolvente comestible en un recipiente; y
- 40 (b) aplicación a la mezcla de (a) en el recipiente de uno o más ciclos de agitación a una fuerza centrífuga o fuerza centrífuga relativa (rcf) desde 10g hasta 4000g, opcionalmente en más de una dirección, mientras se eleva la temperatura desde 20°C hasta una temperatura menor de 95°C, y manteniendo agitación y temperatura por un periodo de tiempo desde 1 minuto hasta 30 minutos.
- 45 5. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el porcentaje en peso de proteína es desde 25% hasta 49%, y el porcentaje en peso de disolvente comestible es de al menos 45%.
6. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la proteína se selecciona de proteína de origen animal, proteína de origen vegetal, proteína de origen de algas, proteína de origen de levadura, proteína de origen
50 bacteriano y combinaciones de las mismas.
7. El proceso según la reivindicación 6, en donde la proteína es proteína animal.
8. El proceso según la reivindicación 6, en donde la proteína se selecciona de proteína de origen vegetal, proteína de origen de algas, proteína de origen de levadura, proteína de origen bacteriano y combinaciones de las mismas.
- 55 9. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el polímero pseudoplástico comestible es un polisacárido.
- 60 10. El proceso según la reivindicación 9, en donde el polímero pseudoplástico es un polisacárido seleccionado de ácido algínico, una sal comestible de ácido algínico, goma de xantano, glicosaminoglicanos, agarosa, goma gellan, pectina, carragenina y combinaciones de los mismos.

11. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde la composición viscoelástica comprende además células y/o extractos de dichas células.

12. Un producto microextruido comestible obtenible por un método como se define en cualquiera de las 5 reivindicaciones 1-11, el método comprendiendo:

- (i) proporcionar una composición viscoelástica que comprende en un disolvente comestible apropiado, proteína y un polímero pseudoplástico comestible, comprendiendo dicha composición viscoelástica un porcentaje en peso de proteína desde 19 % hasta 49 % en relación con el peso total de la composición viscoelástica, un porcentaje en peso de polímero pseudoplástico comestible desde 0,2 % hasta 40 %, y al menos 45 % de disolvente comestible, dicho 10 disolvente comestible equilibrando hasta el 100% en peso de la composición viscoelástica;
- (ii) microextraer la composición viscoelástica a través de un orificio con una anchura o diámetro de desde 10 µm hasta 1000 µm para obtener uno o más elementos microextruidos; y
- (iii) apilar dos o más capas que comprenden elementos microextruidos de tal forma que una sección vertical del producto microextruido comestible muestre elementos microextruidos cruzados dentro de una capa, o elementos 15 microextruidos superpuestos y diferencialmente orientados entre las diferentes capas; o alternativamente las dos o más capas se apilan de tal forma que los elementos microextruidos entre las capas se orienten en paralelo.

13. El producto microextruido comestible según la reivindicación 12, que comprende dos o más capas de elementos microextruidos viscoelásticos, y en donde el módulo elástico de compresión del producto microextruido comestible 20 es desde $1,0 \times 10^3$ Pa hasta $5,0 \times 10^6$ Pa y el módulo de Young a la tracción del producto microextruido comestible es desde $5,0 \times 10^3$ Pa hasta $11,0 \times 10^6$ Pa, dichos módulos elásticos de compresión y de Young a la tracción medidos en un sistema de ensayo servo-hidráulico con una tasa de desplazamiento de la pinza igual a 1 mm/min, a 23 °C y con una cantidad de disolvente en el producto microextruido comestible desde 45 % hasta una cantidad equilibrando hasta el 100% p/p de la composición viscoelástica.

25

14. El producto microextruido comestible según cualquiera de las reivindicaciones 12-13, en donde los elementos microextruidos se seleccionan de láminas microextruidas, filamentos microextruidos y combinaciones de los mismos.

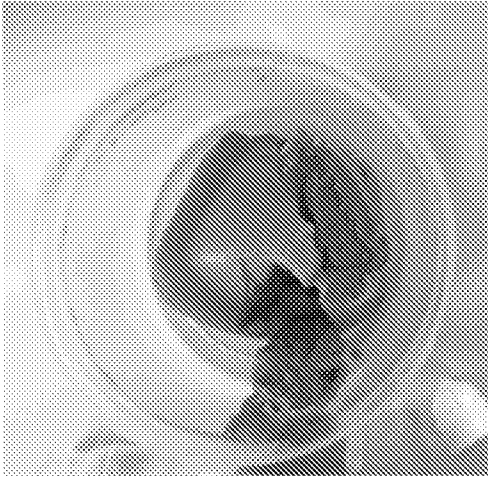
15. El producto microextruido comestible según cualquiera de las reivindicaciones 12-14, que comprende entre dos o 30 más de los elementos microextruidos de cada capa y/o entre una o más de las capas de elementos microextruidos, una composición que comprende una grasa seleccionada de uno o más triglicéridos, colesterol, uno o más fosfolípidos, uno o más ácidos grasos y combinaciones de los mismos; y/o una composición que comprende material cartilaginoso; y/o una composición que comprende material óseo.

35 16. Uso de un producto microextruido comestible como se define en cualquiera de las reivindicaciones 12-15, como un sustituto de carne o como un análogo de carne.

17. Un producto comestible compuesto que comprende una porción del producto microextruido comestible según cualquiera de las reivindicaciones 12-15, y una porción de una composición solidificada que comprende una grasa 40 seleccionada de uno o más triglicéridos, colesterol, uno o más fosfolípidos, uno o más ácidos grasos y combinaciones de los mismos; y/o una porción de una composición solidificada que comprende material cartilaginoso; y/o una porción que comprende material óseo, dicha porción de composición comprendiendo grasa y/o material cartilaginoso y/o material óseo, adyacentes y en contacto con la porción del producto microextruido comestible.

45

A



B

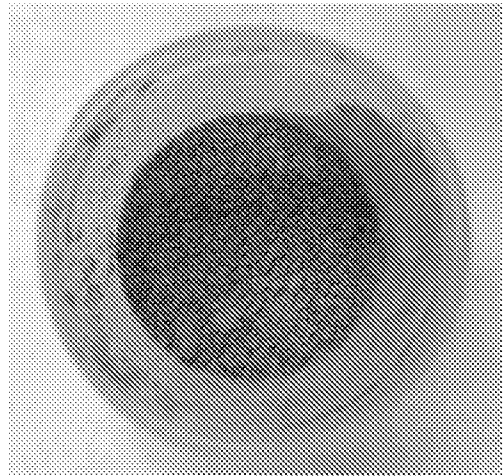
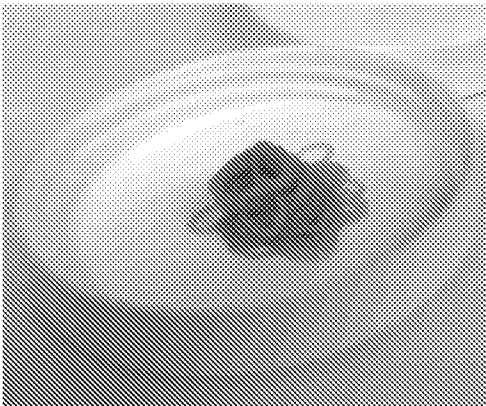


FIG. 1

A



B

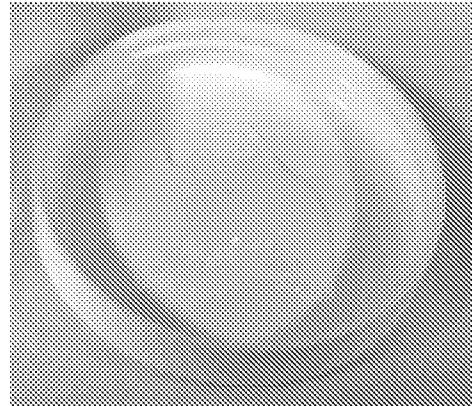


FIG. 2

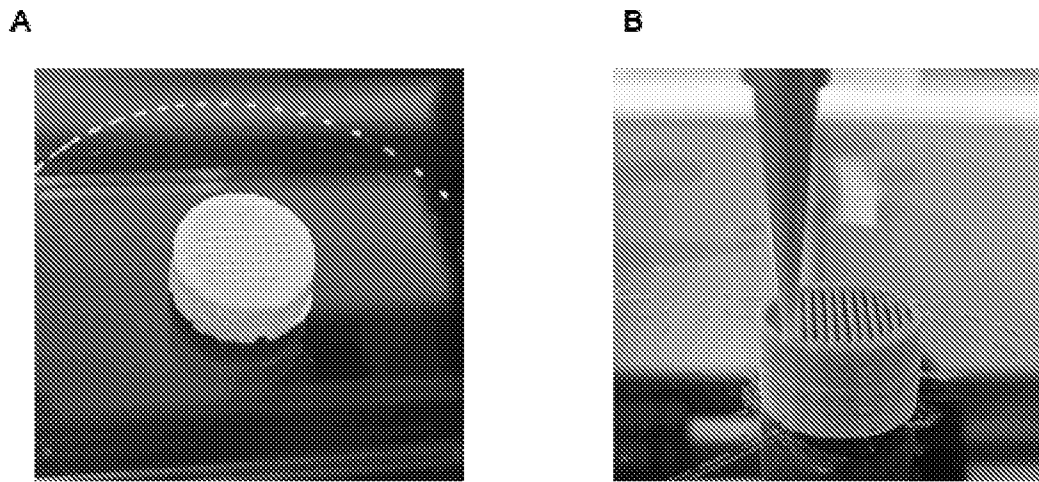


FIG. 3

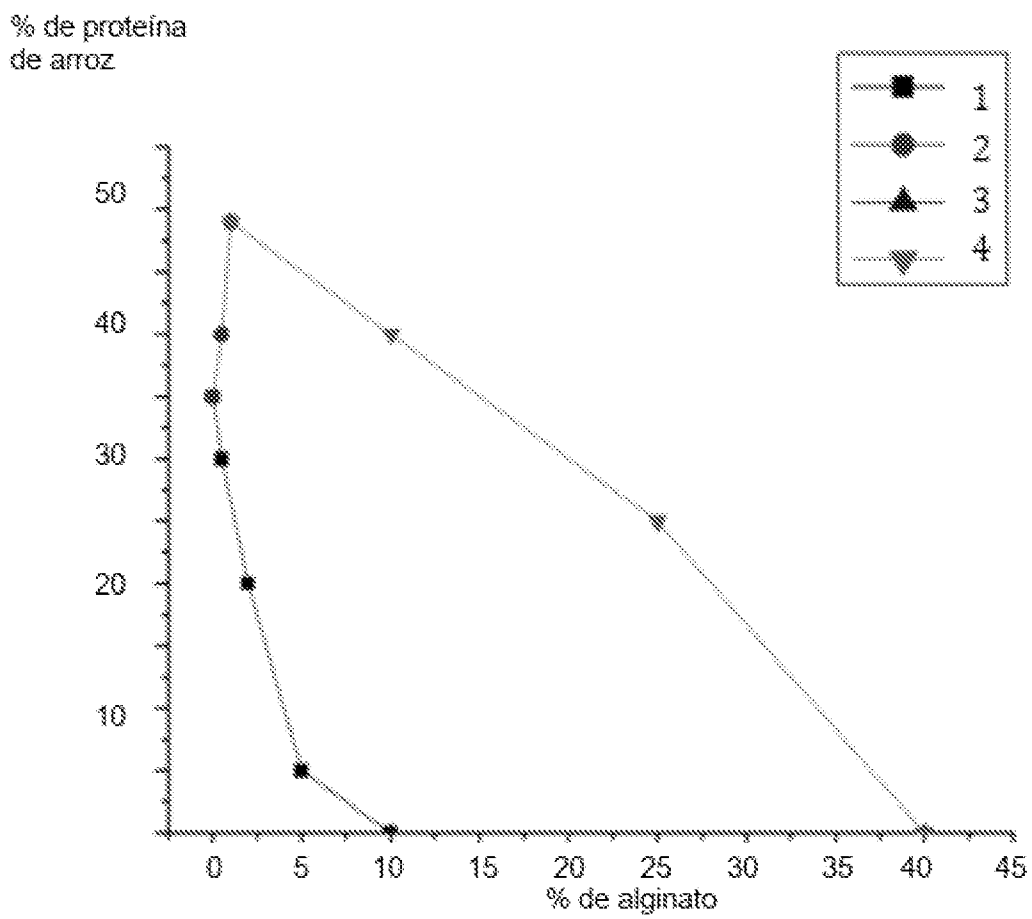
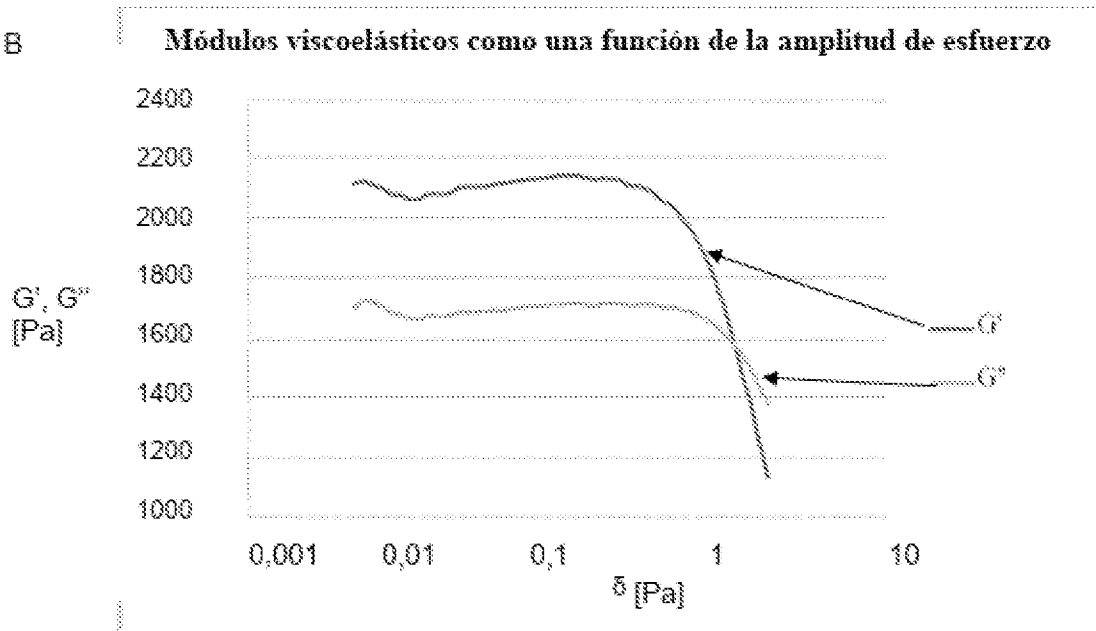


FIG. 4

A



B



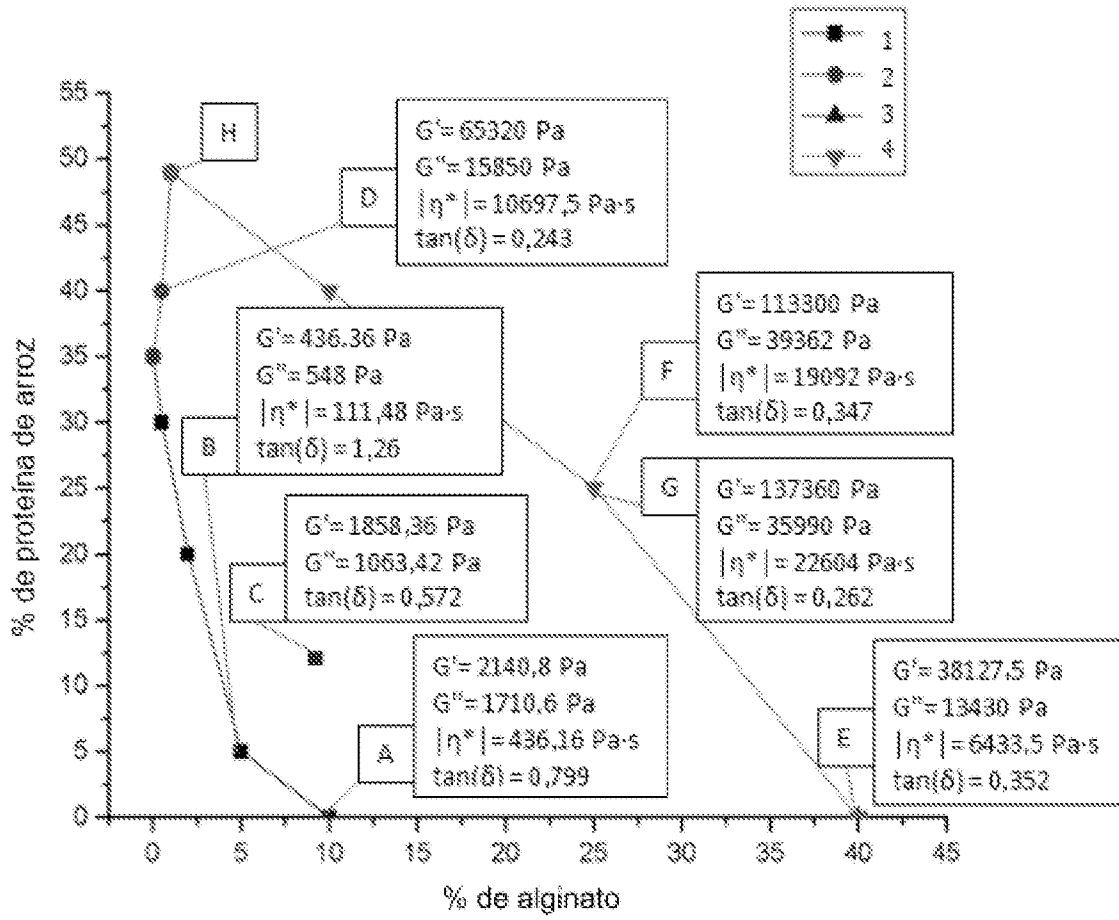
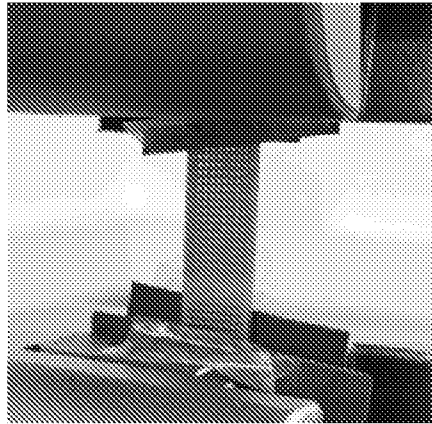


FIG. 6

A



B

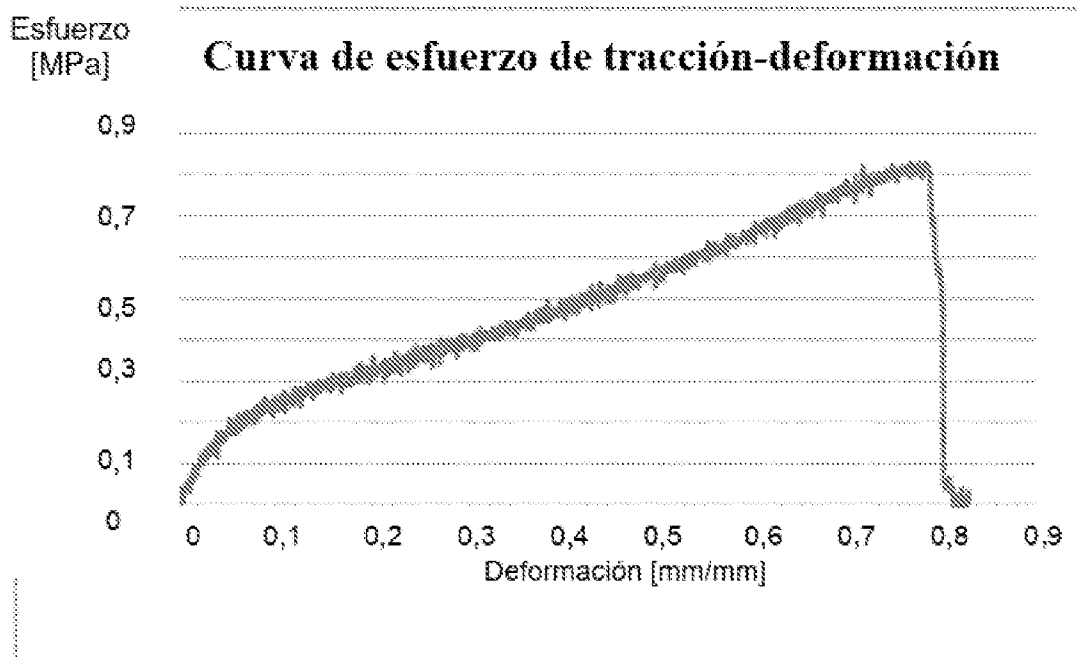
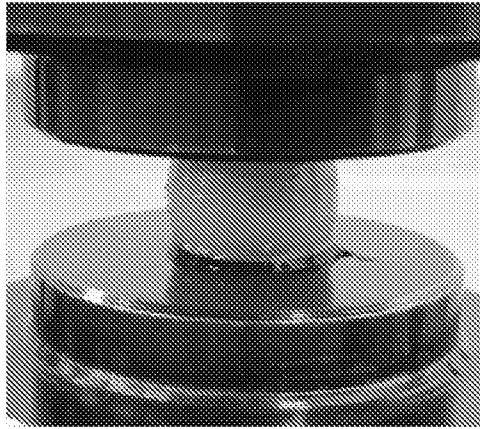


FIG. 7

A



B

Esfuerzo
[MPa]

Curva de esfuerzo de compresión-deformación

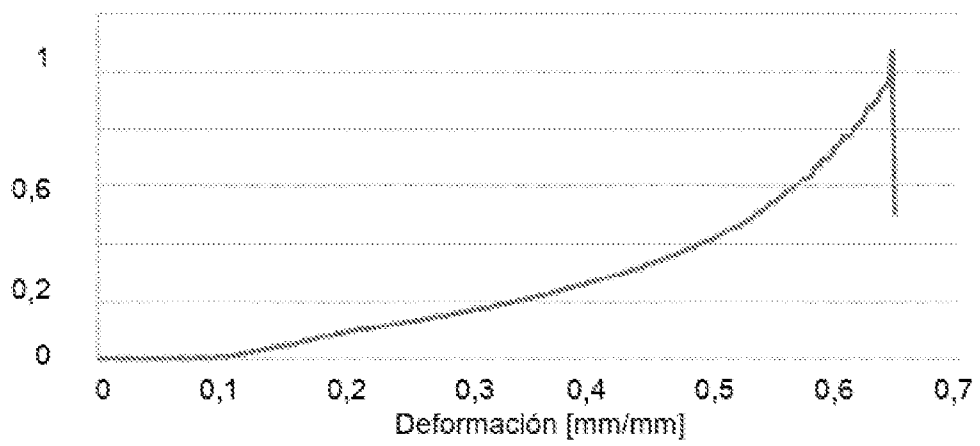


FIG. 8

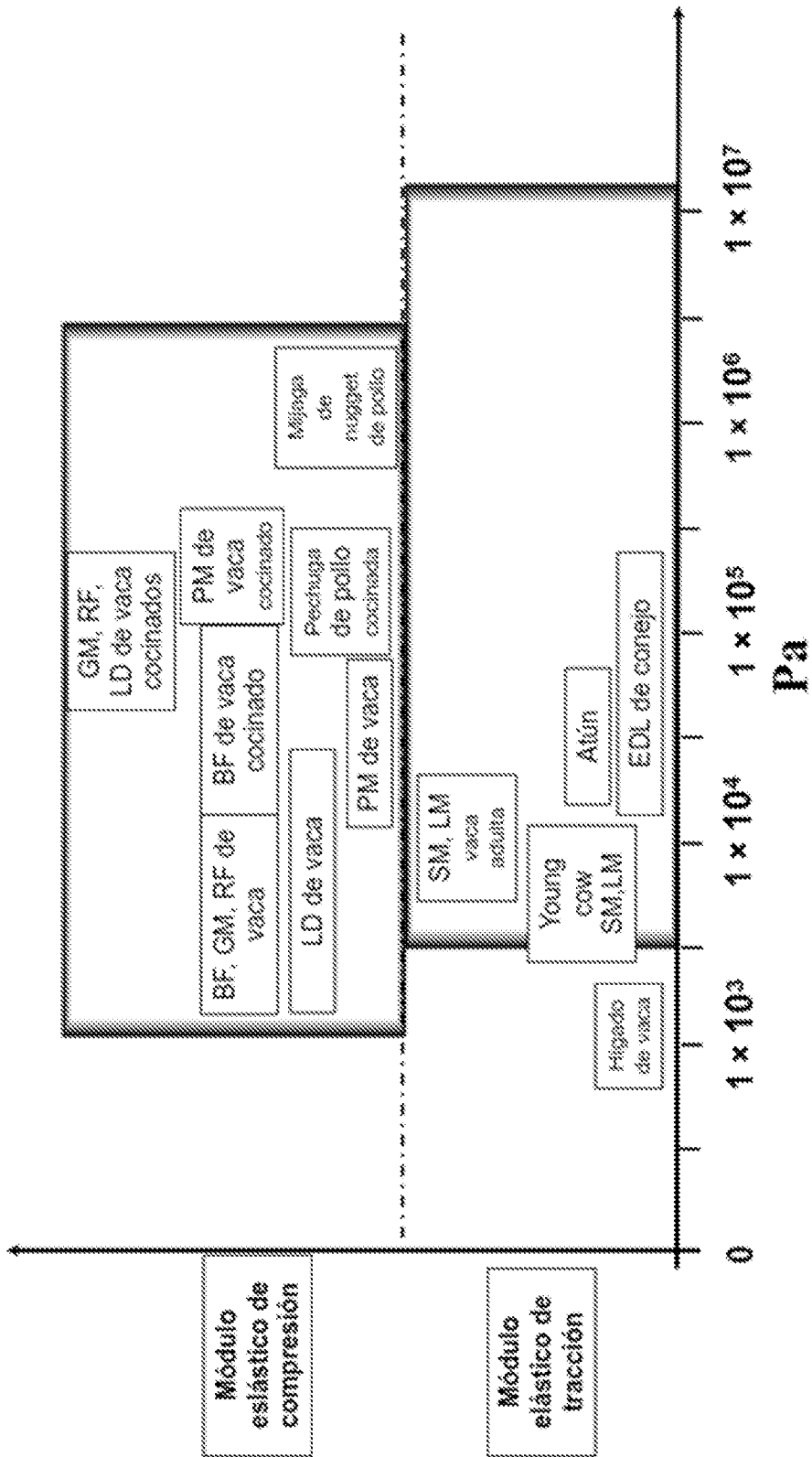


FIG. 9

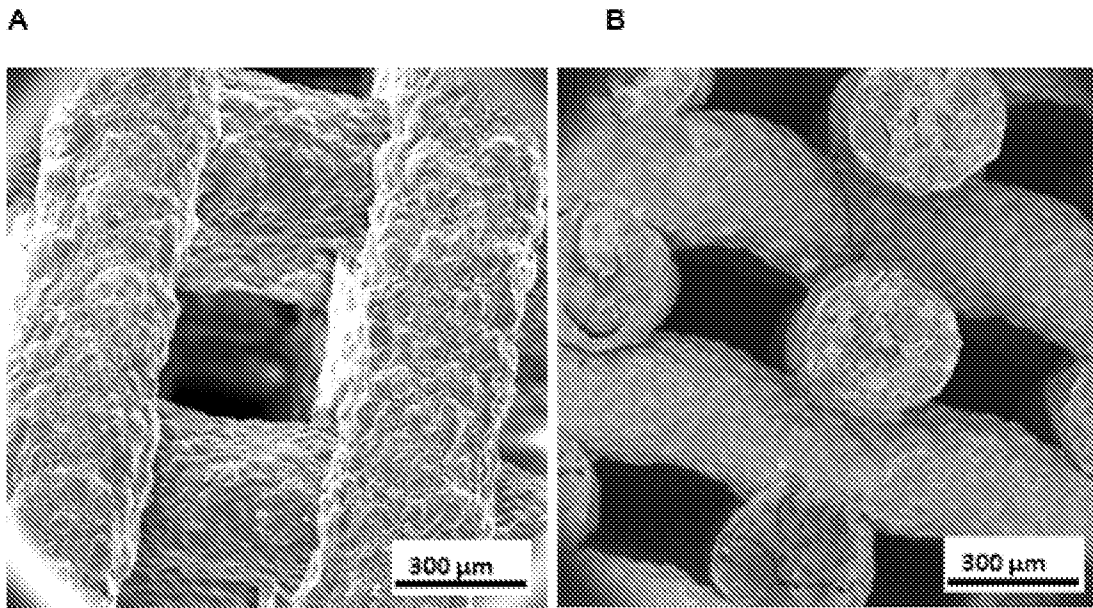


FIG. 10

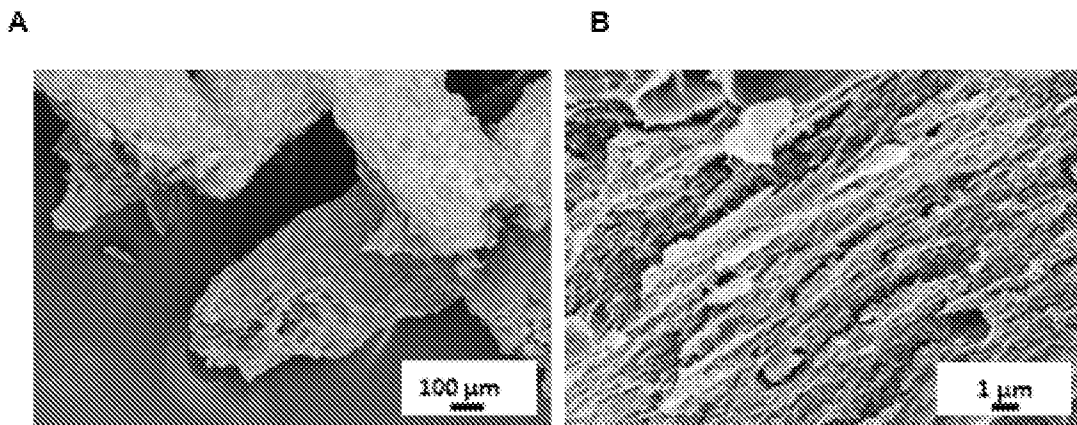


FIG. 11

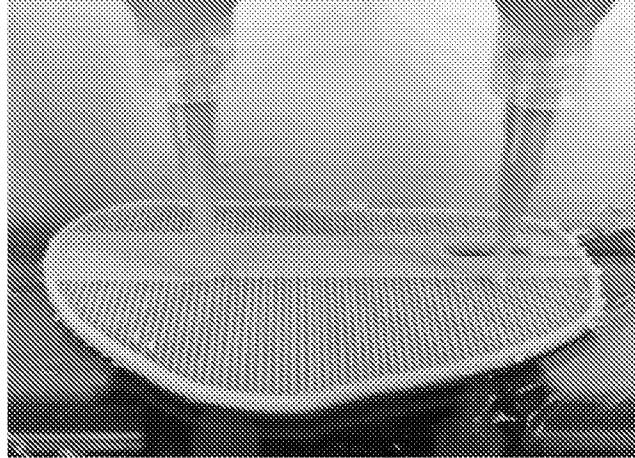


FIG. 12

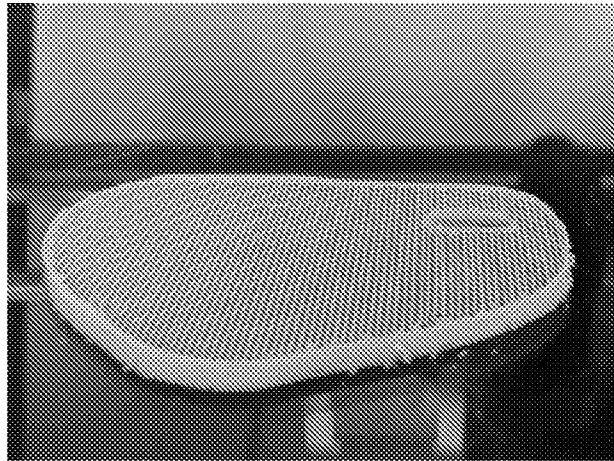


FIG. 13

A



B

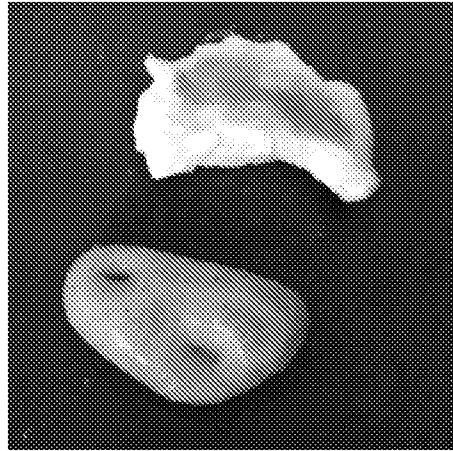


FIG. 14

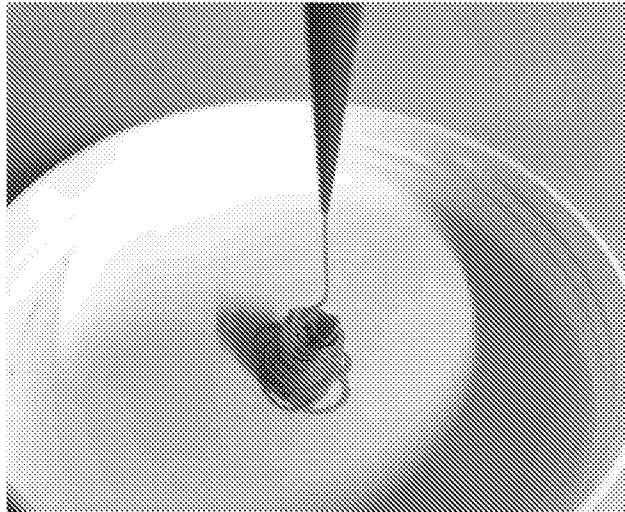


FIG. 15

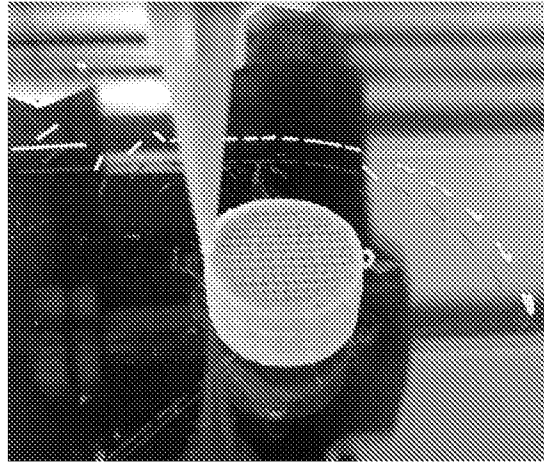


FIG. 16