

Treball Final de Grau

Estudi: Grau en Innovació i Seguretat Alimentària

Títol: Elaboració d'anàlegs carnis de proteïna de fava mitjançant extrusió humida i efectes de les condicions del procés.

Document: Memòria treball experimental de recerca

Alumne: Clàudia Sànchez Martínez

Tutor: Clara Barnés Calle / Elena Fulladosa Tomàs / Mònica Toldrà Alegret

Departament: Enginyeria Química, Agrària i Tecnologia Agroalimentària (EQATA)

Àrea: Tecnologia dels Aliments

Convocatòria (mes/any): Juny 2023

AGRAÏMENTS

M'agradaria agrair sincerament a totes aquelles persones que han estat essencials en la realització d'aquest treball.

En primer lloc m'agradaria donar les gràcies de tot cor a la Clara Barnés, tutora de l'IRTA per la seva dedicació, suport, paciència i confiança constant, i per donar-me l'oportunitat de formar part d'aquest projecte. Sobre tot vull donar-li les gràcies per orientar-me, ensenyar-me, recolzar-me i creure en mi en tot moment, sense ella aquest treball no hagués estat possible.

Agrair al centre d'investigació IRTA Monells per brindar-me l'oportunitat de dur a terme aquest treball en les seues centre d'investigació. Estic sincerament agraïda a tot el personal que m'ha ajudat en algun moment al llarg d'aquest treball. Agraïxo l'amabilitat amb què m'han rebut i integrat dins del centre, la seva paciència i tot el que m'han ensenyat. També vull agrair a l'Elena Fulladosa, per l'ajuda, paciència i temps dedicat en aquest treball.

A la Mònica Toldrà, per acceptar ser la meua tutora de la UdG i per la seva orientació, dedicació, suport i confiança durant tot el treball.

A més, vull reconèixer l'ajuda i el suport dels companys de classe i amics. La seva motivació constant i els seus consells han estat fonamentals per superar els entrebancs i continuar endavant.

Per acabar, m'agradaria agrair a la meua família per confiar en mi i fer-me creure que soc capaç d'aconseguir tot allò que em proposi.

ÍNDEX

AGRAÏMENTS.....	1
ÍNDEX.....	3
ÍNDEX DE TAULES	5
ÍNDEX DE FIGURES.....	7
RESUM.....	9
1. PARAULES CLAU	13
2. INTRODUCCIÓ.....	15
2.1. Antecedents	15
2.1.1. Contextualització.....	15
2.2. Tecnologies d'extrusió per l'elaboració d'anàlegs carnis.....	17
a) Extrusió de baixa humitat.....	18
b) Extrusió d'alta humitat	19
2.3. Formulació d'anàlegs carnis	21
2.3.1. Font proteica	21
2.3.2. Greix	25
2.3.3. Altres ingredients	25
2.4. Avaluació de la textura d'anàlegs carnis	25
3. OBJECTIUS	27
4. MATERIALS I MÈTODES	28
4.1. Materials.....	28
4.2. Definició de la metodologia per l'addició de l'oli en emulsió amb aigua.....	28
4.3. Disseny experimental i elaboració de les mostres extrusionades	29
4.4. Determinació del perfil aminoacídic	30
4.5. Anàlisis fisicoquímiques	33
4.5.1. Preparació de les mostres per les anàlisis.....	33
4.5.2. Determinació de la humitat	33
4.5.3. Anàlisis de textura	34
4.6. Anàlisi estadística	35
5. RESULTATS I DISCUSSIÓ.....	36
5.1. Avaluació qualitativa dels efectes de les condicions de procés d'extrusió humida mitjançant un anàlisi de components principals	36

5.2.	Efecte de l'addició d'oli d'oliva i les condicions d'extrusió en les característiques de l'extrudit	37
5.2.1.	Selecció de la proteïna amb millor capacitat emulsionant per a l'addició de l'oli.....	37
5.2.2.	Efecte de l'addició d'oli d'oliva, la temperatura i la concentració de sòlid en l'HME ...	38
5.3.	Efecte de l'addició d'aïllat de pèsol, la temperatura d'extrusió i la concentració de sòlid en les característiques de l'extrudit	42
5.4.	Efecte de l'addició de gluten, la temperatura d'extrusió i la concentració de sòlid en les característiques de l'extrudit	45
5.5.	Determinació del perfil aminoacídic de les formulacions	48
5.6.	Comparació de les característiques dels HME amb la carn de pollastre	48
6.	APLICABILITAT	52
7.	CONCLUSIONS	53
8.	BIBLIOGRAFIA	54

ÍNDIX DE TAULES

Taula 1.1. Valor DIAAS (Digestible Indispensable Amino Acid Score) dels aminoàcids essencials de diverses fonts proteiques segons els valors de referència de 0,5 a 3 anys expressades com a mitjana dels valors DIAA individuals \pm desviació estàndard i el valor DIAAS únic, de cada aminoàcid limitant. Font: Herreman et al., 2020	24
Taula 3.1 Disseny experimental per l'obtenció de les mostres extrusionades: formulacions i condicions d'extrusió per l'elaboració de les mostres HME.	32
Taula 4.1. Diferents fases (gruix en cm) i valors de pH de les emulsions obtingudes amb diferents ingredients proteics passades 24 hores de la seva elaboració.	38
Taula 4.2. Propietats fisicoquímiques de les mostres (expressades com a LS-means, n=3) pels tres efectes principals: addició d'oli, temperatura i rati VAFL/VAFS.	39
Taula 4.3. Propietats fisicoquímiques de les mostres (expressades com a LS-means, n=3) per l'efecte de les interaccions dobles entre el rati VAFL/VAFS i la temperatura	39
Taula 4.4. Propietats fisicoquímiques de les mostres (expressades com a LS-means, n=3) pels efectes de les interaccions dobles entre el rati VAFL/VAFS i l'oli	40
Taula 4.5. Propietats fisicoquímiques de les mostres (expressades com a LS-means, n=3) per les interaccions triples entre els tres efectes principals: addició d'oli, temperatura i rati VAFL/VAFS.....	41
Taula 4.6. Propietats fisicoquímiques de les mostres (expressades com a LS-means, n=3) pels tres efectes principals: contingut de pèsol, temperatura i rati VAFL/VAFS.	42
Taula 4.7. Propietats fisicoquímiques de les mostres (expressades com a LS-means, n=3) per les interaccions triples entre els tres efectes principals: addició d'aïllat de proteïna de pèsol, temperatura i rati VAFL/VAFS.....	44
Taula 4.8. Perfils aminoacídics de les proteïnes utilitzades i de les seves combinacions.....	48
Taula 4.9. Comparació de les propietats fisicoquímiques i paràmetres de textura dels HME (segons diferents formulacions en base a proteïna de fava i condicions d'extrusió) amb els de la carn de pit de pollastre (mitjanes LS-means, n=3).....	51

ÍNDIX DE FIGURES

Figura 1.1. Nombre d'anèlegs carnis llançats al mercat, per països, des de Gener de 2019 fins Desembre de 2021. (Andreani, et al. , 2023).....	16
Figura 1.2. Distribució per categories dels llançaments d'anèlegs carnis de proteïna vegetal durant els anys 2019-2021. (Andreani et al., 2023)	17
Figura 1.3. Comparació de la desnaturalització i la texturització de les proteïnes entre els processos de HMEC i LMEC. (Matas Ferrer & Gou Botó, 2022)	18
Figura 1.4. Esquema Extrusora d'alta humitat. Font: Clara Barnés	19
Figura 1.5. Visos sense fi i els seus components. Elements d'alimentació (a); Elements de transport (b) ; Elements de tall (c) Font: (Thermo Scientific Process 11 Extruder Operating Instructions, 2013)	20
Figura 1.6. Producte sortint de la matriu de refredament (cooling die) després de l'extrusió humida.	21
Figura 3.1. Foto extrusora Thermo Scientific Process utilitzada per obtenir les mostres extrusionades d'alta humitat(a) i pantalla de l'extrusora Thermo Scientific Process amb les temperatures fixes (b) 29	
Figura 3.2. Equacions per calcular els valors DIAAS resultants de la FS per cadascun dels aminoàcids essencials.....	31
Figura 3.3. Mostres abans (esquerra) i després de ser assecades (dreta).....	33
Figura 3.4. Mostres tallades a mida 2x2 cm per ser analitzades	34
Figura 3.5. Fulla de ganivet emprada per executar Shear Test	34
Figura 3.6. Esquema dels tallis longitudinals i transversals realitzats en l'anàlisi de textura de les mostres	34
Figura 4.1. PCA biplot del les interaccions entre els resultats de les mostres descrites en la Taula 3.1 (blau), "outputs" (verd) i les característiques fisicoquímiques (vermell) dels HME	37
Figura 4.2. Emulsions d'aïllat de soja, aïllat de fava, aïllat de pèsol, concentrat de cigró, concentrat de lletia i concentrat de soja amb oli (ordenades d'esquerra a dreta) després de 30 minuts de la seva preparació.	37
Figura 4.3. Mostra P25 (1,5 VAFL/VAFS 145 °C) amb augment (a) i estructura interior fragmentada en sentit longitudinal (b) i perpendicular o transversal (c) a la sortida de l'extrusor.....	45
Figura 4.4. Mostra P27 (1,2 VAFL/VAFS 145 °C) amb augment (a) i estructura interna (b) i (c).....	46
Figura 4.5. Mostra P28 (1,2 VAFL/VAFS 155 °C) amb augment (a) i estructura interna(b) i (c).....	46
Figura 4.6. Mostra P29 (1 VAFL/VAFS 145 °C) amb augment (a) i estructura interna (b) i (c).....	47
Figura 4.7. Mostra P30 (1 VAFL/VAFS 155 °C) amb augment (a) i estructura interna (b) i (c).....	47

RESUM

La població mundial està augmentant i es preveu que arribi als 10 mil milions de persones el 2050, la qual cosa generarà una major demanda d'aliments. A Europa, hi ha un canvi en les preferències de consum, amb una reducció en el consum de carn i un augment en el consum de productes vegetals, motivat pel seu menor impacte ambiental i beneficis a nivell nutricional. Com a resposta, s'està desenvolupant una nova categoria d'aliments, els anàlegs carnis, que imiten l'estructura i característiques de la carn amb ingredients d'origen vegetal. L'extrusió és un procés que està guanyant interès per produir aquests tipus de productes, on els ingredients proteics es combinen amb altres ingredients i són sotmesos a temperatura, força mecànica i pressió per crear una textura similar a la de la carn. Existeixen dos tipus d'extrusió: de baixa humitat, que produeix productes expandits i amb textura esponjosa, i d'alta humitat, que dona lloc a una textura que intenta imitar el teixit muscular de la carn. La selecció del tipus d'extrusió i els processos posteriors són importants per obtenir productes amb les característiques desitjades. El procés d'extrusió humida per a la producció d'anàlegs carnis comença amb la dosificació de la proteïna en pols. A mesura que els ingredients avancen a través del procés, s'afegeixen els líquids i es produeix el desplegament i posterior agregació de les proteïnes vegetals. Després de passar per l'orifici de sortida, el producte es refreda i adquireix una estructura fibrosa en una boca de sortida llarga (*cooling die*), formant l'extrudit d'alta humitat (HME).

A part de les condicions d'extrusió, les matèries primeres utilitzades en la formulació del producte també influeixen en les seves característiques. Normalment, la formulació bàsica inclou una font de proteïna i aigua, amb la possibilitat d'afegir altres ingredients. Les proteïnes són l'ingredient clau en productes *plant-based* per la seva funcionalitat i el seu valor nutricional.

La proteïna de soja és la més estudiada en la producció d'anàlegs carnis per extrusió, ja que té propietats tecno-funcionals i nutricionals molt favorables. No obstant això, la soja és un al·lergen, és majoritàriament transgènica i no és apta per ser cultivada a l'hemisferi nord, el que implica la seva importació i un impacte negatiu en el medi ambient. El gluten, també és molt utilitzat per la seva capacitat de formar masses viscoelàstiques, tot i que també és un al·lergen. Les lleguminoses com el pèsol i la fava són alternatives interessants, ja que tenen un alt contingut proteic, baix potencial al·lergènic i no són transgèniques. Cada font proteica té propietats nutricionals diferents, incloent el seu perfil aminoacídic, que sovint és menys òptim que el de la carn. Tot i això, la combinació de diferents fonts proteiques permet compensar la falta d'aminoàcids d'una amb l'altra i millorar-ne el valor nutricional, a banda de millorar la textura dels productes combinant també les seves propietats funcionals. Per aquest motiu, la selecció de la font proteica és molt important en la producció d'anàlegs carnis a base de productes vegetals.

Una de les limitacions dels HME és no tenir les mateixes propietats sensorials que la carn real, com la tendresa i la sucositat, relacionades amb el greix intramuscular de la carn. Sovint en productes *plant-based* substitueix amb olis vegetals. El mètode d'addició durant l'extrusió pot afectar la textura final del producte. Estudis recents han demostrat que l'addició d'oli en forma d'emulsió durant l'extrusió pot millorar la masticabilitat dels productes.

El present treball s'emmarca dins de dos projectes que s'estan duent a terme al Programa de Qualitat i Tecnologia Alimentàries de l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) de Monells (Girona), anomenats CROPDIVA (*Climate Resilient Orphan crops for increased DIVERSITY in Agriculture*)

i SENSANALOG (“Sensors i modelització per optimitzar la producció d’anàlegs carnis a partir de fonts de proteïna alternativa amb la tecnologia d’extrusió d’alta humitat”). L’objectiu principal d’aquest treball ha estat estudiar l’efecte de diferents formulacions a base de concentrat de proteïna de fava (addició d’oli d’oliva en forma d’emulsió, aïllat de proteïna de pèsol i gluten) així com l’efecte de les condicions del procés d’extrusió humida (modificant el rati de velocitat d’alimentació fase líquida i velocitat d’alimentació de la fase sòlida (VAFL/VAFS; entre 1.5 i 1) i la temperatura (145°C i 155°C)), en les característiques fisicoquímiques (contingut d’humitat, índex d’anisotropia, duresa, masticabilitat i elasticitat) de l’extrudit d’alta humitat (HME) obtingut.

Inicialment es va definir la metodologia per l’addició de l’oli en emulsió amb aigua. Es van realitzar proves amb diferents fonts proteiques per determinar quin ingredient permetia obtenir l’emulsió més estable, avaluant de manera indicativa la seva estabilitat a partir de l’observació de separació de fases. Entre les fonts proteiques estudiades, l’aïllat de proteïna de soja i l’aïllat de proteïna de pèsol són les que van mostrar una millor capacitat emulsionant.

Es va utilitzar una extrusora de doble cargol per a la producció dels HME amb concentrat de proteïna de fava com a base. Es van elaborar 5 formulacions diferents: concentrat de proteïna de fava sol, concentrat de proteïna de fava amb oli d’oliva, 50% concentrat de proteïna de fava amb 50% aïllat de proteïna de pèsol, 80% concentrat de proteïna de fava amb 20% aïllat de proteïna de pèsol i 69% proteïna de fava amb 31% gluten. De cada formulació es van extreure mostres a dues temperatures d’extrusió i a tres ratios de velocitat d’alimentació de la fase líquida i velocitat d’alimentació de la fase sòlida (VAFL/VAFS) diferents. L’extrusora estava equipada amb un dosificador volumètric per introduir la fórmula proteica seca i una bomba peristàltica per afegir la fase líquida. Es va utilitzar un bany de refrigeració a una temperatura constant de 20 °C connectat al *cooling die*. Durant l’extrusió, també es va mantenir constant la velocitat de rotació dels visos a 650 rpm. Es va utilitzar un disseny experimental amb un total de 30 mostres diferents per provar diferents formulacions amb diferents concentracions de fórmula seca i temperatures d’extrusió. Es va controlar el flux d’entrada total (fórmula seca i fase líquida) i es va mantenir constant, a 12 g/min. Durant el procés es va monitoritzar la temperatura del producte, la pressió i el *torque*. Les mostres van ser recollides en diferents moments del procés i emmagatzemades a temperatura de congelació per a anàlisis posteriors.

Es va estudiar l’efecte de l’addició de cada un dels ingredients i de les condicions sobre el contingut d’humitat i la textura de l’HME. La textura de les mostres es va analitzar efectuant un assaig de tall (*shear test*) en sentit longitudinal i transversal al flux de sortida de l’extrusora. Es varen enregistrar la força, l’àrea i pendent transversals, relacionats amb la duresa, masticabilitat i elasticitat, respectivament. També es va calcular l’índex d’anisotropia (IA) a partir de la relació entre la força transversal (F_T) i longitudinal (F_L), que està relacionat amb el grau de texturització de l’HME

A partir dels resultats obtinguts, es va concloure que l’extrusió humida permet l’obtenció de productes amb caràcter anisotròpic utilitzant diferents formulacions en base a concentrat de proteïna de fava. Es va veure que l’addició d’oli d’oliva provocava la disminució del contingut d’humitat de l’HME i dificultava la formació d’una estructura amb caràcter anisotròpic. En el cas dels HME que contenien aïllat de proteïna de pèsol, l’increment del contingut d’aïllat, incrementava l’índex d’anisotropia, aportava major duresa i masticabilitat però provocava una disminució de l’elasticitat de l’HME. En el cas de l’addició de gluten a la formulació, no es va poder analitzar la textura de manera instrumental i

es va haver d'avaluar visualment. Tot i això, el gluten va permetre l'obtenció d'HME amb aspecte anisotròpic.

Pel que fa a les condicions d'extrusió, es va veure que l'increment de la temperatura del procés provocava una disminució del contingut d'humitat i que aquest efecte augmentava quan disminuïa el rati VAFS/VAFL i quan s'afegia oli. L'increment de la temperatura d'extrusió també provocava un increment sobre l'IA, la duresa, la masticabilitat i l'elasticitat de l'HME en totes les formulacions.

A nivell nutricional, la fava presenta un perfil aminoacídic amb menor valor DIAAS que el pèsol i el gluten. A partir del càlcul teòric del perfil aminoacídic resultant a les diferents formulacions, es va veure que la incorporació d'aïllat de proteïna de pèsol i de gluten milloren el perfil aminoacídic del concentrat de proteïna de fava, tot i que no s'arriba a imitar el perfil de la carn.

Per últim, també es van comparar les característiques fisicoquímiques dels HME obtinguts amb carn de pollastre cuïta a 75 °C com a producte de referència. Els HME elaborats amb 50% d'aïllat de proteïna de pèsol i un amb un rati VAFL/VAFS d'1,5 tant a 145 °C a 155 °C, van presentar una textura similar a la del pollastre però amb contingut d'humitat i IA inferiors. Tot i això, és necessari investigar altres mètodes d'incorporació d'aigua al producte sense que la textura de l'HME es vegi modificada i investigar altres temperatures d'extrusió per aconseguir unes característiques de textura encara més similars a les del pollastre.

Pel que fa a l'aplicabilitat, un estudi de les característiques d'aquest treball, podria permetre la optimització de la formulació i del procés d'extrusió per a empreses del sector que vulguin treballar amb aquesta tecnologia.

1. PARAULES CLAU

Extrusió humida

Anàleg carni

Concentrat de proteïna de fava

Índex d'Anisotropia

Textura

Perfil aminoacídic

Aïllat de proteïna de pèsol

Plant-based

Gluten

Emulsió

2. INTRODUCCIÓ

2.1. Antecedents

El treball que es presenta s'emmarca dins de dos projectes que s'estan duent a terme al Programa de Qualitat i Tecnologia Alimentàries de l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) de Monells.

El primer, s'anomena CROPDIVA (*Climate Resilient Orphan croPs for increased DIVERsity in Agriculture*). CROPDIVA (H2020-SFS-2020-2-101000847) té com a objectiu promoure la recuperació de sis cultius infrutilitzats (civada, ordi, triticale, fajol, fava i tramús) amb sistemes de cultius sostenibles i l'elaboració d'anàlegs carnis a base de farines, concentrats i/o aïllats de proteïna provinents d'aquests sis cultius inclosos al projecte.

El treball també s'alinea amb el projecte SENSANALOG (PID2021-122285OR-I00), que té com a títol "Sensors i modelització per optimitzar la producció d'anàlegs carnis a partir de fonts de proteïna alternativa amb la tecnologia d'extrusió d'alta humitat". Aquest projecte té com a objectiu proporcionar eines basades en sensors no invasius i algoritmes predictius que permetin l'optimització del procés d'extrusió i la millora de la qualitat dels extrusionats d'alta humitat quan s'utilitzen noves fonts de proteïnes, alhora que es promou la digitalització i l'acceptació del mercat d'aquestes eines i productes.

2.1.1. Contextualització

La població mundial augmenta cada vegada més de pressa. S'estima que es superaran els 10 mil milions de persones al voltant del 2050 i, com a conseqüència, la demanda d'aliments també seguirà creixent (Matas Ferrer & Gou Botó, 2022). Com passarà amb la resta d'aliments, el consum de carn també es preveu que segueixi en augment, tot i que més lentament que en la dècada passada, essent-ne l'increment de la població clarament el motiu principal (*OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030*, n.d.) (OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2022-2031, 2022). Tot i això, les preferències de consum a Europa estan canviant. Més del 45% de consumidors europeus asseguren que al 2021 van menjar menys carn en comparació a l'any anterior i, el 25%, pretenen incrementar el consum de productes *plant-based* (d'origen vegetal) (Smart protein project, 2021).

Un dels motius pels quals s'està intentant encaminar la població cap el consum de proteïna d'origen vegetal és el gran impacte que genera la producció de proteïna d'origen animal. L'índex de conversió proteica és diferent per cada espècie animal, però s'estima que es necessiten una mitjana de 6 kg de proteïna vegetal per produir 1 kg de proteïna animal (Espinosa-Ramírez, 2022). El fet que tots aquests recursos vegetals vagin destinats a la producció de proteïna animal, quan es podrien utilitzar directament per generar aliments per l'alimentació humana, és un dels grans debats de l'actualitat. A més, s'ha demostrat que els productes *plant-based* tenen una menor petjada de carboni i hídrica, alhora que produeixen una major quantitat d'aliment per unitat d'àrea de cultiu que els productes d'origen animal (Bryant Taimie, 2022). En els països desenvolupats, una gran part de la població ja comença a buscar fonts proteiques alternatives que siguin saludables, nutritives i que tinguin un menor

impacte ambiental. Aquest nínxol de consumidors són el grup objectiu per el desenvolupament d'anàlegs carnis.

Un anàleg carni és un producte d'origen no carni que combina diferents ingredients i additius que són transformats amb l'objectiu d'imitar l'estructura fibrosa, el color i l'aroma de la carn com per exemple pit de pollastre i filet de vedella o bé d'un producte carni processat com per exemple hamburgueses i salsitxes entre d'altres (Matas Ferrer i Gou Botó, 2022). Aquests són una bona alternativa per la gent que no vol deixar de consumir carn, ja que pretenen que el consumidor tingui la sensació que està menjant un producte d'origen animal (Fiorentini et al., 2020).

Andreani et al (2023) varen fer un estudi de mercat dels països que més anàlegs carnis varen llençar al mercat des de gener del 2019 fins desembre de 2021. Tal i com s'observa a la **Figura 2.1.**, el país que més en va introduir va ser França amb 417 llançaments, seguit d'Anglaterra amb 393 i Alemanya amb 391. A banda d'altres països europeus, Estats Units, Canadà i Brasil també es troben entre els mercats més actius en aquest sector a nivell mundial.

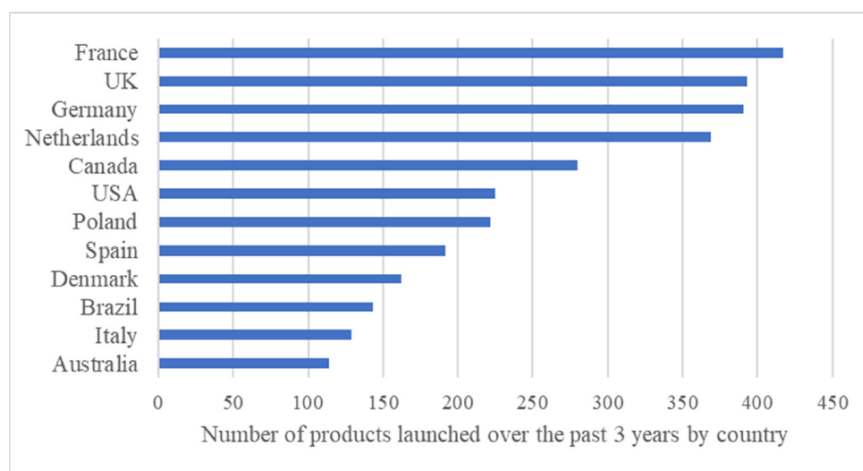


Figura 2.1. Nombre d'anàlegs carnis llançats al mercat, per països, des de Gener de 2019 fins Desembre de 2021. (Andreani, et al., 2023)

Els mateixos autors varen analitzar els productes incorporats al mercat global i els varen separar per diferents categories: proteïnes vegetals generals (no intenten imitar cap producte carni) i productes alternatius a hamburgueses, salsitxes, carn picada, pollastre, *nuggets*, mandonguilles i altres (**Figura 2.2**). La categoria majoritària ($n= 1469$; 29.6%) va ser la de *Proteïnes Plant-Based* generals que no intentaven imitar productes carnis, com per exemple el tofu o el seitan, però que són contemplades com a substituïts de la carn pel seu alt valor proteic. El segon grup amb més llançaments ($n = 1331$; 26.8%) van ser les hamburgueses alternatives. D'altra banda, els productes alternatius al pollastre tan sols representen el 4,4% de les noves incorporacions d'anàlegs al mercat i, productes que imiten la textura càrnica de múscul sencer o carn desfilada, es troben dins un grup minoritari que representa menys del 3%. Tot i això, aquest tipus de productes estan guanyant interès.

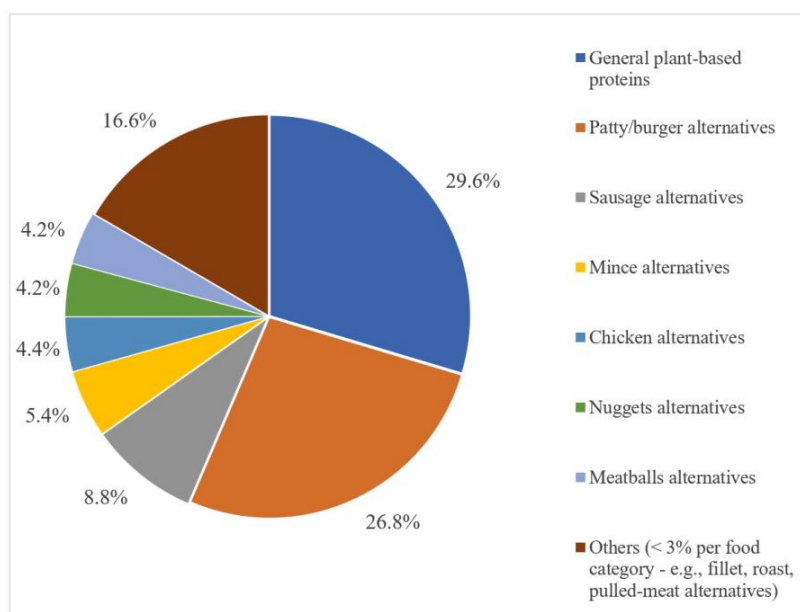


Figura 2.2. Distribució per categories dels llançaments d'anèlegs carnis de proteïna vegetal durant els anys 2019-2021. (Andreani et al., 2023)

Imitar l'estructura muscular de la carn suposa tot un repte a nivell de formulació i textura, però s'estan estudiant tecnologies com ara l'extrusió d'alta humitat (o *high-moisture extrusion cooking*, HMEC) per assolir aquest repte.

2.2. Tecnologies d'extrusió per l'elaboració d'anèlegs carnis

Existeixen diferents formats d'anèlegs carnis al mercat, des dels que imiten productes carnis fins als que imiten un múscul sencer o carn desfilada i/o trossejada. Una de les tecnologies que està guanyant interès per produir aquests productes és l'extrusió (Ferawati et al., 2021). L'extrusió és un procés continu de reestructuració en el qual diferents ingredients alimentaris són mesclats, amassats, conformats i emmotllats mitjançant l'aplicació d'energia tèrmica i mecànica (Matas Ferrer & Gou Botó, 2022). En l'elaboració d'anèlegs carnis per extrusió, es barregen una matèria primera proteica en forma de pols (ja sigui farina, un concentrat o aïllat proteic) i aigua, a més d'altres possibles ingredients com ara oli, aromes o colorants. Aquests ingredients es sotmeten a pressió, força mecànica i alta temperatura, en condicions que provoquen canvis en l'estructura de la proteïna i permeten l'obtenció d'un producte amb caràcter "fibrós". Durant aquest procés, es poden diferenciar diverses fases (**Figura 2.3**). En el procés d'extrusió es requereix un temperatura mínima de 130 °C, a aquesta temperatura i amb la força de rotació dels visos sense fi les proteïnes vegetals es desnaturalitzen. Les cadenes d'aminoàcids connectades per enllaços peptídics es despleguen, degut als efectes de la temperatura i la humitat, provocant la pèrdua de l'estructura terciària i/o secundària de les proteïnes. Posteriorment, al capçal de sortida es formen enllaços no covalents, enllaços covalents i interaccions entre ells, donant lloc a una nova estructura (Ryu, 2020a).

L'extrusió es pot classificar en dos tipus en funció del contingut d'humitat del producte obtingut: l'extrusió de baixa humitat i l'extrusió d'alta humitat. El que les diferencia principalment és la presència

o no d'una zona de refredament (*cooling die*), a la sortida de l'extrusor, que limita l'evaporació de l'aigua al final del procés i, per tant, condiciona el contingut d'humitat final i les característiques del producte obtingut.

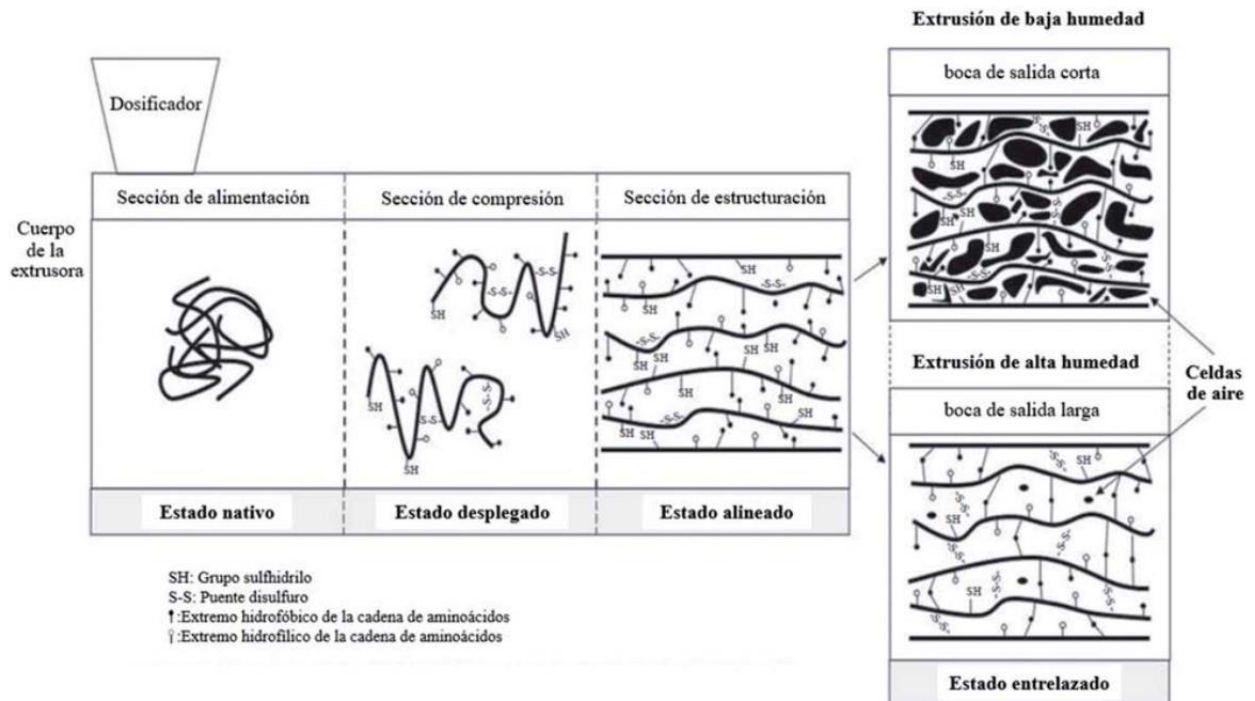


Figura 2.3. Comparació de la desnaturalització i la texturització de les proteïnes entre els processos de HMEC i LMEC. (Matas Ferrer & Gou Botó, 2022)

a) Extrusió de baixa humitat

L'**extrusió de baixa humitat (Low Moisture Extrusion Cooking, LMEC)** ens permet produir anèlegs carnis expandits, és a dir, amb una estructura esponjosa. El producte es fa sortir per una boca de sortida amb un orifici molt petit (*die*) que, per la diferència de pressió i temperatura que es troba a la sortida, provoca l'evaporació de l'aigua i l'expansió del producte, perquè el vapor que conté està sobreescalfat i quan surt per l'orifici pateix una caiguda de pressió molt forta (Matas Ferrer i Gou Botó, 2022). Això fa que la matriu retengui un gran nombre de cel·les d'aire a l'interior (tal i com es mostra a la **Figura 2.3** . El producte obtingut després del procés de LMEC (que té entre un 20 i un 40% d'humitat) posteriorment és assecat, fet que permet que sigui emmagatzemat a temperatura ambient i durant un llarg període de temps. Amb aquest procés s'obtenen texturitzats de proteïna vegetal (TVP), com per exemple la soja texturitzada, que en el cas que es vulgui utilitzar com a ingredient per elaborar un anèleg carni, s'haurà de rehidratar (Valverde, 2022).

b) Extrusió d'alta humitat

L'**extrusió d'alta humitat (High Moisture Extrusion Cooking, HMEC)** és un procés termo-mecànic que permet l'obtenció d'un extrusionat d'alta humitat (o *high-moisture extrudate*, HME) a partir de fonts proteiques introduïdes en forma de pols i aigua, entre d'altres ingredients. L'extrusionat pot ser utilitzat com a producte final o quasi-final amb estructura semblant al teixit muscular (com a múscul-sencer o carn desfilada) o bé com a producte intermedi per elaborar altres tipus d'anàlegs carnis (hamburgueses, per exemple). Tot i així, l'HMEC és un procés complex que cal estudiar detalladament per optimitzar-lo. Varis autors han demostrat que la pressió, la velocitat d'extrusió i la temperatura tenen un efecte significatiu sobre la textura final de l'extrusionat d'alta humitat (*High-moisture extrusionate*, HME) (Chen et al., 2010; Ferawati et al., 2021). Tanmateix, tot i els estudis que s'han realitzat fins al moment (Ranasinghesagara et al., 2009; Schreuders et al., 2021), la formació de l'estructura fibrosa durant el procés d'extrusió segueix essent un procés de "caixa negra", sobretot quan s'utilitzen noves fonts de proteïnes.

L'estructura fibrosa i estriada es pot aconseguir perquè s'utilitza una peça de refrigeració al final del procés anomenada *cooling die* (matriu de refredament). Aquesta permet refredar el producte abans que surti de l'extrusora i retenir un major contingut d'aigua al producte final, minimitzant la seva evaporació i evitant l'expansió del producte, a diferència de l'extrusió en sec. En aquest punt, és on té lloc l'alineació dels filaments del producte de manera que acaba adquirint una conformació semblant a la de les fibres de la carn. El contingut d'humitat d'aquest tipus de producte sol ser d'entre el 50 i 70% (Valverde, 2022). El producte obtingut mitjançant extrusió humida pot ser o no processat posteriorment, però requerirà una conservació en fred i tindrà una vida útil més curta que els TVP.

Procés d'extrusió humida

En la **Figura 2.4** es mostra l'esquema de la extrusora de laboratori de l'IRTA Monells que s'utilitza en el projecte SENSANALOG amb la configuració necessària per la HMEC.

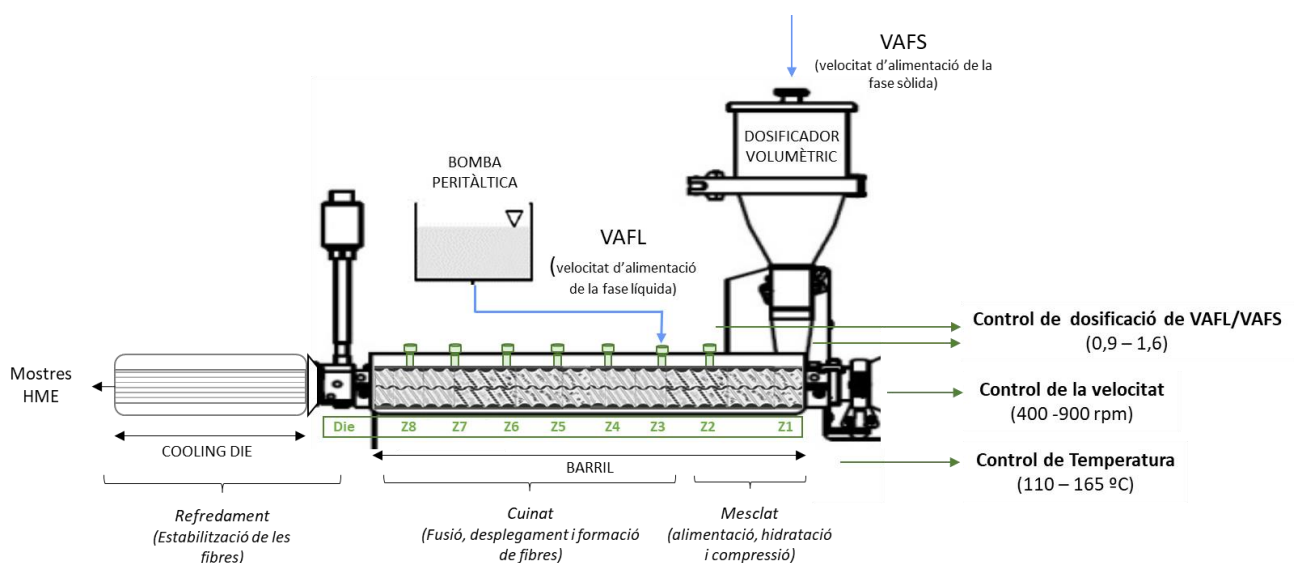


Figura 2.4. Esquema Extrusora d'alta humitat. Font: Clara Barnés

La primera peça que intervé en el procés és el dosificador volumètric i és on s'introdueix la proteïna en pols. Disposa d'un mètode per mesurar un volum específic de producte sòlid i dosificar-lo (en percentatge de volum) mitjançant una hèlix i dos visos sense fi, que introdueixen la pols a la primera etapa de l'extrusora. La precisió de la dosificació és de $\pm 1.5\%$ a $\pm 3.0\%$ i depèn de la uniformitat i la consistència de la matèria primera que s'utilitzi i, per tant, requereix un calibratge previ per cada una d'elles (Acrison, n.d.). La matèria primera es va transportant al llarg del procés mitjançant dos visos sense fi que treballen mitjançant co-rotació i dels quals se'n pot regular la velocitat (**Figura 2.5**) a l'interior del cilindre de l'extrusor. Aquests estan conformats de manera que combinen peces de transport, barreja i tall (**Figura 2.5** (a), (b) i (c), respectivament). En funció de la configuració de les peces i de la velocitat de rotació que s'estableixi, variaran les condicions de cisalla, l'esforç, el mecanisme de mescla i el temps de residència del producte dins l'extrusora.

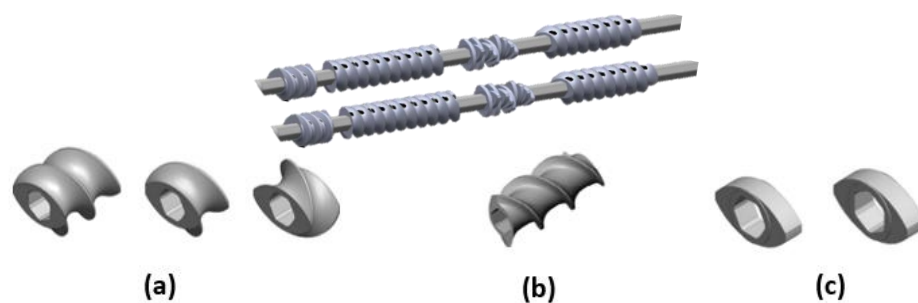


Figura 2.5. Visos sense fi i els seus components. Elements d'alimentació (a); Elements de transport (b) ; Elements de tall (c) Font: (Thermo Scientific Process 11 Extruder Operating Instructions, 2013)

Els líquids s'introdueixen a la mescla mitjançant una bomba peristàltica que sovint es connecta a la tercera etapa. Aquest element pot servir per incorporar l'aigua, emulsions oli-aigua o bé aromes o altres ingredients líquids. La bomba pot incorporar fins a tres líquids a la vegada perquè consta de tres canals diferents, que es poden connectar a diferents etapes. Un cop s'introdueix el líquid, aquest es comença a barrejar amb la fase sòlida, la mescla segueix el camí amb l'ajuda dels visos sense fi i passa per les diferents etapes en les que es combina, com s'ha esmentat abans, acció mecànica, pressió i temperatura. Durant aquest procés, les proteïnes vegetals es despleguen, s'agreguen i es tornen a alinear (Ferawati et al., 2021). A continuació el producte passa per un orifici de sortida de distància curta (*die*), on es controla la pressió i la temperatura mitjançant sondes de control. Aquest és el punt del procés on hi ha una major pressió i és l'etapa immediatament anterior al refredament del producte. Finalment, el producte passa pel *cooling die* que, com s'ha explicat anteriorment, és una boca de sortida més llarga en la qual es controla la temperatura mitjançant un bany independent i també s'hi pot mesurar la temperatura del producte amb la incorporació de sondes (**Figura 2.6**). Quan el producte passa per aquesta última secció, es refreda i surt amb una estructura fibrosa.



Figura 2.6. Producte sortint de la matriu de refredament (*cooling die*) després de l'extrusió humida.

A banda de tots els paràmetres que es poden modificar en el procés d'extrusió, existeixen una sèrie d'*outputs* que es poden monitoritzar:

- El **temps de residència**: és el temps que triga en formar-se el producte des de que s'introdueix el sòlid a la primera etapa fins la sortida del producte final. Es pot calcular cronometrant el temps que triga una gota de colorant dosificada per l'orifici de la primera etapa fins que surt el producte final tintat.
- La **temperatura i la pressió** en el die, mitjançant les sondes.
- El **torque** (par de torsió), que representa la força que s'aplica per girar els visos sense fi per transportar el producte al llarg de l'extrusora. Tot i que es mesura en N.m, en l'extrusora ve expressat en percentatge (%) respecte el màxim torque que es pot assolir, que és 6 N.m.

La informació recollida de la monitorització dels *outputs* és d'interès perquè, a més de poder comparar-la entre diferents processos a la mateixa extrusora, facilita l'escalat a un equip de planta pilot més gran o a un extrusora industrial.

2.3. Formulació d'anàlegs carnis

A banda de les condicions d'extrusió, les matèries primeres que s'incloguin a la formulació del producte també condicionaran les característiques del producte obtingut. Generalment, la formulació base consta d'una font proteica i aigua, amb la possibilitat d'incorporar altres ingredients.

2.3.1. Font proteica

En l'elaboració de productes *plant-based*, les proteïnes són l'ingredient més important a tenir en compte gràcies a la seva funcionalitat. A més del seu valor nutricional, poden tenir diferents propietats tecno-funcionals com capacitat emulsionant, texturitzant i escumant, entre d'altres. És per això, que la selecció de la font de proteïna vegetal és un punt clau per arribar a obtenir un producte final d'alta qualitat. Una de les dificultats en l'elaboració d'anàlegs és imitar les proteïnes musculars que es troben

a la carn, que són filamentoses i formen estructures complexes que acaben determinant els atributs físics i sensorials dels productes carnis ((Tornberg, 2013); (Tornberg et al., 2000). En canvi, les proteïnes aïllades de fonts vegetals són globulars i tenen una estructura més simple. La simulació de proteïnes fibril·lars amb proteïnes globulars és molt complexa, i depèn de les característiques de la font proteica que s'utilitzi.

Les proteïnes globulars estan formades per cadenes polipeptídiques que es pleguen en estructures empaquetades. La força principal de plegament d'aquestes proteïnes són interaccions hidrofòbiques encara que també hi ha altres interaccions moleculars com els ponts d'hidrogen, forces electrostàtiques, forces de van der Waals i ponts disulfur (Mc Clements & Grossmann, 2021). La superfície de les proteïnes globulars sol ser activa perquè tenen molècules no polars enganxades que fan que la seva adsorció a les interfícies oli-aigua o aire-aigua s'afavoreixi i es puguin utilitzar com a emulsionants o agents escumants. Quan es sotmeten a calor, aquestes tendeixen a desplegar-se, la qual cosa fa que els grups no polars i sulfhidrils quedin exposats a la fase aquosa circumdant, es formin enllaços hidròfobs i disulfurs i s'agreguin. Aquest fenomen permet que s'utilitzin com a agents gelificants. A la natura, les proteïnes vegetals es troben formant part de conjunts moleculars que contenen proteïnes globulars unides covalent i físicament. Depenent del grau de descomposició d'aquests conjunts durant el seu aïllament i dels seus estats d'agregació i desnaturalització posteriors a l'alliberament, seran més o menys funcionals. Algunes característiques de les proteïnes a tenir en compte a l'hora de la seva aplicació alimentària són el seu punt isoelèctric i les temperatures de desnaturalització de les proteïnes, que són diferents segons l'origen i tindran un efecte en la seva conformació.

Les fonts proteiques vegetals per utilitzar com a ingredient en l'extrusió es poden trobar al mercat en forma de farines, concentrats i aïllats, els quals es diferencien pel seu contingut proteic, essent la farina el format amb el contingut més baix i l'aïllat la font amb el contingut més elevat. La farina s'obté només molent el gra, sense la posterior extracció de la proteïna. Per tant, cada farina té un contingut proteic diferent ja que depèn del contingut proteic de la matèria primera. En canvi, els concentrats contenen al voltant del 48-65% de proteïnes i es produeixen amb fraccionament sec mentre que els aïllats contenen al voltant del 75-90% de proteïna i es produeixen amb fraccionament humit. Com s'obtenen de dues maneres diferents, les propietats tecno-funcionals entre aïllats i concentrats també són diferents (Kantanen et al., 2022a). Un dels principals problemes de l'aïllat és que l'estructura nativa de les proteïnes vegetals es pot veure afectada en el procés d'obtenció, i les proteïnes globulars individuals poden agregar-se en diferents graus provocant una reducció de la seva solubilitat en l'aigua (Mc Clements & Grossmann, 2021).

La quantitat i el tipus de proteïna són importants en la formació de l'estructura fibrosa. Ferawati et al. (2021), entre d'altres autors, suggereixen que la matèria primera ha de tenir com a mínim un 50% de proteïna ja que, si no s'arriba a aquest valor, la possibilitat de que es formi una estructura fibrosa és baixa. La proteïna més estudiada en la producció d'anàlegs per extrusió és la proteïna de soja, ja que té bones propietats tecno-funcionals i nutricionals.

En el cas de la soja, el problema principal és que és un al·lergen, que la majoria de soja és transgènica i que no és apta per ser cultivada a l'hemisferi nord, la qual cosa comporta que s'hagi d'importar i impacti negativament sobre el medi ambient.

Les fonts que generen molt d'interès com a possible alternativa a la soja altres lleguminoses, ja que tenen un alt contingut proteic, tenen un baix potencial d'al·lèrgens i els seus cultius no són transgènics. La proteïna de pèsol n'és un exemple ja que, tot i que no conté tots els aminoàcids essencials (a diferència de la soja o la carn), el seu potencial a respostes al·lèrgiques és molt baix i a nivell fisiològic i funcional pot complir la seva funció satisfactòriament. Osen et al. (2014) van utilitzar diferents aïllats comercials de proteïna de pèsol per elaborar anàlegs carnis per HMEC i van demostrar que són una bona alternativa per elaborar aquests productes.

La fava, que també és una lleguminosa, és una altra font proteica d'interès. El seu perfil aminoacídic té els mateixos factors limitants que el pèsol o altres llegums, però té característiques funcionals similars a les de la proteïna de soja. Algunes d'aquestes propietats són la capacitat de retenció d'aigua i oli, que és un bon estabilitzant d'escumes, té una bona capacitat escumejant i de gelificació (Kantanen et al., 2022).

Una altra font proteica molt utilitzada en l'elaboració d'anàlegs carnis és el gluten, un subproducte del processament del midó de blat. Es tracta d'una proteïna insoluble que tot i que té un baix valor nutricional i biològic, és interessant per la seva capacitat de formar masses amb caràcter viscoelàstic. Sovint es combina amb altres fonts proteiques, com és la proteïna de soja, per compensar la seva escassetat d'aminoàcids essencials i alhora millora la texturització i la creació d'estructures fibroses (Ryu, 2020), Un dels problemes principals d'aquest ingredient, però, és que també és un al·lèrgen.

Com s'ha comentat, en funció del tipus de font proteica, el perfil aminoacídic de l'ingredient es veu modificat. És per això que també és interessant fer combinacions de diferents matèries primeres per compensar la manca d'aminoàcids d'algunes fonts amb altres. La Taula 2.1 mostra el perfil aminoacídic de les fonts proteiques esmentades anteriorment i el de la carn. El perfil aminoacídic se sol expressar en forma de valor DIAAS (*Digestible Indispensable Amino Acid Score*), que és la relació entre el contingut aminoacídic digerible de l'ingredient (mg/g de proteïna) i el requeriment de referència del mateix aminoàcid per un grup específic d'edat. Normalment es calcula pel grup d'edat de 0.5 a 3 anys, que és el cas més desfavorable on els requeriments aminoacídics són majors (*Dietary Protein Quality Evaluation in Human Nutrition Report of an FAO Expert Consultation*, n.d.). Es pot expressar el valor DIAAS per cada un dels aminoàcids essencials, però es pot donar només el valor de l'aminoàcid limitant, que serà el que tingui un valor DIAAS menor, com a valor únic.

Taula 2.1. Valor DIAAS (*Digestible Indispensable Amino Acid Score*) dels aminoàcids essencials de diverses fonts proteiques segons els valors de referència de 0,5 a 3 anys expressades com a mitjana dels valors DIAA individuals \pm desviació estàndard i el valor DIAAS únic, de cada aminoàcid limitant. Font: Herreman et al., 2020

Font proteica	Espècie	Histidina	Isoleucina	Leucina	Lisina	Metionina + Cisteïna	Fenilalanina + Tirosina	Treonina	Triptòfan	Valina	DIAAS	Aminoàcid limitant
Fava	<i>Vicia faba</i>	108 \pm 4,1	106 \pm 2,2	95 \pm 5,4	95 \pm 4,3	55 \pm 5,1	119 \pm 3,4	91 \pm 6,2	68 \pm 7,8	83 \pm 2,2	55	Metionina + Cisteïna
Pèsol	<i>Pisum sativum</i>	99 \pm 9,7	101 \pm 13,1	87 \pm 11,5	110 \pm 10,8	70 \pm 12,3	116 \pm 16,3	94 \pm 7,9	77 \pm 7,1	83 \pm 9,8	70	Metionina + Cisteïna
Soja	<i>Glycine max</i>	119 \pm 9,4	124 \pm 8,3	102 \pm 6,1	96 \pm 9,0	91 \pm 11,5	147 \pm 8,3	105 \pm 6,0	132 \pm 21,1	95 \pm 7,3	91	Metionina + Cisteïna
Gluten (blat)	<i>Triticum durum</i>	118 \pm 21,7	91 \pm 10,5	87 \pm 11,1	48 \pm 10,6	127 \pm 19,4	109 \pm 16,9	78 \pm 7,1	127 \pm 17,8	92 \pm 9,8	48	Lisina
Carn de porc	<i>Sus scrofa domesticus</i>	197 \pm 13,6	153 \pm 11,1	122 \pm 9,2	157 \pm 10,7	128 \pm 10,7	148 \pm 10,4	145 \pm 10,1	144 \pm 17,1	117 \pm 9,0	117	NA

2.3.2. Greix

Una limitació important en els anàlegs de carn d'origen vegetal és la manca de propietats sensorials com la tendresa i la sucositat (Kumar et al., 2017). Aquestes dues propietats estan relacionades amb el greix intramuscular de la carn que, en productes *plant-based*, es sol substituir amb olis d'origen vegetal. Tot i que l'addició d'oli contribueix a l'increment de la sucositat i tendresa del producte, el sistema d'addició durant l'extrusió pot afectar a la textura del producte final. Quan l'oli és pre-mesclat amb la proteïna, provoca una disminució de la viscositat que inhibeix la formació de l'estructura anisotròpica (Noguchi i Saio 1987) i, quan és dosificat directament a l'extrusora, provoca una disminució de la temperatura i la pressió que també dificulten la formació de l'estructura fibrosa (Kendler et al., 2021). Recentment, Wang et al. (2022) han estudiat la incorporació d'oli de blat de moro en forma d'emulsió en concentracions d'entre 4.6 i 11.4% durant el procés d'extrusió humida, i han demostrat el seu potencial per millorar la masticabilitat dels extrudits d'alta humitat.

Pel que fa a l'origen dels olis, en l'elaboració d'anàlegs carnis se n'utilitzen un ampli ventall, com ara de blat de moro, soja, colza, palma, coco, sèsam, oliva i gira-sol, entre d'altres.

2.3.3. Altres ingredients

Com ja s'ha esmentat, els productes elaborats per extrusió, al final del procés ja tenen l'estructura desitjada, fet que redueix significativament la llista d'ingredients. En aquests tipus de productes es pot ometre la incorporació d'agents texturitzants i aglutinants però és molt important controlar l'etapa d'estructuració del procés per obtenir un producte fibrós i sucós. Els additius que es solen afegir són colorants i aromes. Els colorants es poden incorporar durant el procés d'estructuració o en forma de marinat o adob en el producte final. En el cas dels aromes, la majoria d'addicions són en forma de marinat, ja que les condicions d'extrusió poden ser perjudicials pels compostos que els formen donat que són termosensibles (Kyriakopoulou et al., 2021).

2.4. Avaluació de la textura d'anàlegs carnis

Els mètodes analítics d'avaluació de les propietats sensorials relacionades amb la textura dels anàlegs carnis estan poc desenvolupats i poden presentar diferències importants amb els mètodes dels productes alimentaris analitzats fins ara. La característica clau dels anàlegs extrusionats amb HMEC és l'estructura fibrosa que imita les fibres musculars. Per caracteritzar aquesta semblança, varis autors han analitzat la textura del producte a nivell instrumental utilitzant diferents mètodes. Lin et al., (2000) van utilitzar l'Anàlisi del Perfil de Textura (TPA), que consisteix en comprimir de forma uniaxial i durant dues vegades consecutives una mostra per simular el moviment de la mandíbula durant la masticació, i permet avaluar diferents paràmetres com l'elasticitat, la cohesió, la gomositat, la duresa i la masticabilitat. Altres opcions per analitzar la textura del producte són assajos de tracció (o *Tensile Test*), per mesurar la força i la deformació a la ruptura estirant els extrudits, o bé assajos de cisalla (o *Shear Test*) per mesurar la resistència al tall. L'assaig de cisalla, pretén avaluar la sensació de mossegar el producte per primera vegada amb els incisius frontals (Osen et al., 2014) i s'utilitza sobretot per

avaluar la qualitat de la formació de les fibres, ja que permet mesurar indirectament la duresa i la texturització (Palanisamy et al., 2019).

D'altra banda, una propietat que és interessant avaluar en anàlegs carnis és l'anisotropia, una propietat general de la matèria que mesura si hi ha diferències en el valor d'una propietat física o mecànica quan s'avalua al llarg de diferents eixos (Kocks et al., 2000). En el cas dels anàlegs carnis, aquesta propietat pot ser un indicador del grau de texturització i formació d'estructura fibrosa. Aquesta característica ha estat estudiada en anàlegs carnis elaborats per extrusió humida a partir de la relació entre valors de força transversal i longitudinal obtinguts en assajos de tracció (Saldanha do Carmo et al., 2021) i també de cisalla (Wittek et al. 2021).

Altres anàlisis que són d'interès en anàlegs carnis són, d'una banda, fisicoquímiques i, d'altra, les relacionades amb l'aspecte i percepció del producte a nivell sensorial. En quant a la composició, sovint s'analitzen el contingut proteic i aminoacídic, d'aigua, carbohidrats i greix, que poden condicionar la qualitat del producte tant a nivell nutricional com de textura (Saldanha do Carmo et al., 2021). L'activitat d'aigua (a_w) és un paràmetre que es relaciona amb la disponibilitat de l'aigua en un aliment i és determinant en la vida útil del producte ja que, l'aigua disponible determina el desenvolupament dels microorganismes i l'activitat enzimàtica durant la conservació de l'aliment (Cardona Serrate, n.d.). En l'avaluació d'aquests productes, també és molt important l'acceptabilitat per part del consumidor. En aquest sentit, sovint s'analitza el color de forma instrumental (Wang, van den Berg, et al., 2022) i també es poden realitzar anàlisis sensorials tant a nivell descriptiu com afectiu (McClements et al., 2021).

A part de ser útils per l'avaluació descriptiva i individual del producte, les anàlisis que es realitzin també poden servir per comparar productes extrusionats en diferents condicions de procés o bé amb productes carnis de referència per tal d'avaluar-ne la similitud entre ells. Wang, et al., (2022) per exemple, van comparar la textura instrumental d'anàlegs carnis extrusionats elaborats a partir de soja i pèsol amb carn de pollastre.

3. OBJECTIUS

L'objectiu general d'aquest treball és estudiar l'efecte de diferents formulacions en base a un concentrat de proteïna de fava així com l'efecte de les condicions del procés d'extrusió humida en les característiques fisicoquímiques i la textura de l'extrudit d'alta humitat (HME) obtingut.

Per tal d'assolir l'objectiu general, s'han definit els següents objectius específics:

1. Estudiar l'efecte de l'addició de l'oli d'oliva en el concentrat de proteïna de fava sobre el contingut d'humitat i la textura de l'HME elaborat utilitzant diferents temperatures i concentracions de sòlid. Prèviament, ha estat necessari definir la metodologia d'incorporació d'oli en forma d'emulsió durant el procés d'extrusió humida.
2. Estudiar l'efecte de la incorporació de diferents concentracions d'aïllat de proteïna de pèsol en combinació amb el concentrat de fava sobre el contingut d'humitat i la textura de l'HME elaborat utilitzant diferents temperatures i concentracions de sòlid.
3. Estudiar l'efecte de la incorporació de gluten en combinació amb el concentrat de fava sobre el contingut d'aigua i la textura de l'HME obtingut utilitzant diferents temperatures i concentracions de sòlid.
4. Determinar el perfil aminoacídic teòric de les formulacions utilitzades.
5. Finalment, seleccionar la millor formulació i condicions del procés d'extrusió per a l'obtenció de l'HME amb unes característiques de textura més similars a les de la carn de pollastre.

4. MATERIALS I MÈTODES

4.1. Materials

Per les proves preliminars per definir la metodologia per afegir l'oli en forma d'emulsió, es va utilitzar aïllat de proteïna de fava (PROTEINEL FEV60, BRENNTAG QUIMICA S.AU, Espanya), aïllat de proteïna de soja (EXPRO™ 510A, BRENNTAG QUIMICA S.AU, Espanya), aïllat de proteïna de pèsol (PISANE™ M9, Activa Food Tech SA, Espanya), concentrat de proteïna de soja (ARCON® SM, ADM, IL EEUU), concentrat de proteïna de lletia (AGT Foods, ND EEUU) i concentrat de proteïna de cigró (BRENNTAG QUIMICA S.AU, Espanya).

Per elaborar els extrusionats d'alta humitat (HME) es va utilitzar concentrat de proteïna de fava amb un 60.4% de proteïna sobre extracte sec (AGT Foods, ND, Estats Units) i aigua embotellada (Font Vella, Aguas Danone S.A, Espanya). A més, a diferents formulacions es va afegir oli d'oliva (Gourmet, Vilamalla, Espanya), aïllat de proteïna de pèsol amb un 86% de proteïna sobre extracte sec (PISANE™ M9, Activa Food Tech SA, Espanya) i gluten (Vital wheat gluten, Interstarch GmbH, Ucraïna). També s'ha utilitzat pit de pollastre cuit com a producte de referència.

4.2. Definició de la metodologia per l'addició de l'oli en emulsió amb aigua

Per l'addició de l'oli en la formulació, es va estudiar la seva incorporació en forma d'emulsió oli en aigua (o/w), dosificada per una bomba peristàltica connectada a la tercera etapa de l'extrusora. Una emulsió és una dispersió estable i homogènia de dos líquids immiscibles que tendeixen a separar-se (Farooq & Boye, 2011) i que, sovint, requereixen d'un agent lligant per estabilitzar les dues fases. La fase dispersa (en aquest cas l'oli d'oliva) és dispersada en la fase contínua (en aquest cas l'aigua) i, els agents emulsionants, que poden ser de diferents naturaleses (en aquest cas, un ingredient proteic), estabilitzen la suspensió de les petites gotes, evitant la seva coalescència en gotes de major mida (Peter Clark, 2013).

Per definir la metodologia per afegir l'oli en emulsió durant el procés d'extrusió per l'elaboració de les mostres, es van provar diferents fonts proteiques com a agents emulsionants de l'oli d'oliva en aigua, en una concentració del 2% (d'acord amb procediments de l'IRTA Monells utilitzats per la formació d'emulsions per productes carnis): d'aïllats de proteïna de fava, soja i pèsol i concentrats de proteïna de soja, lletia i cigró.

Es va utilitzar un robot de cuina Thermomix® (TM5, Vorwerk, Alemanya) per emulsionar l'aigua (90%) i l'oli (8%) amb els diferents ingredients proteics i es va seguir el mateix procediment en tots els casos. Es varen pesar 450 g d'aigua, 10 g de font proteica i 40 g d'oli d'oliva. En primer lloc, es va mesclar 450 g d'aigua amb 10 g d'ingredient proteic, durant 4 minuts a velocitat 2, a temperatura ambient. Posteriorment, es van afegir 40 g d'oli d'oliva progressivament i es va mesclar durant 5 minuts a velocitat 8. Un cop obtingudes les emulsions, es van envasar en ampolles i es van deixar reposar durant 30 minuts. A continuació es va avaluar, a nivell visual, quins dels ingredients proteics formava l'emulsió més estable segons si s'observava separació de fases (sediment/oli/escuma/emulsió) o no i en quina proporció. Es va mesurar el gruix (cm) de les 3 fases de les emulsions després de l'obtenció (t=0).

També es va mesurar el pH de totes les emulsions utilitzant un pH-metre (M 540P, Mettler Toledo, EEUU).

Totes les emulsions es van mantenir emmagatzemades a 4 ± 1 °C durant 24 hores i, passat aquest temps, es van tornar a avaluar mesurant amb un regle el gruix de cada fase, per decidir quin ingredient proteic permetia l'obtenció d'una emulsió més estable.

4.3. Disseny experimental i elaboració de les mostres extrusionades

Les mostres HME, en base a un concentrat de proteïna de fava es van elaborar utilitzant una extrusora de doble cargol, co-rotativa i d'escala de laboratori (**Figura 4.1**) (Process 11, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EEUU), equipada amb un dosificador volumètric (567-7660 Volumetric MiniTwin Feeder, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EEUU) per introduir la fórmula proteica seca; una bomba peristàtica (Masterflex® Ismatec Industry Solutions, Alemanya) per introduir la fase líquida a la tercera etapa; i un bany de refrigeració (Huber K6, Peter Huber Kältemaschinenbau AG, Offenburg, Alemanya) connectat al *cooling die*. Durant l'extrusió, la velocitat de rotació dels visos sens fi es va mantenir constant a 650 rpm i la temperatura del bany de refrigeració a 20 °C. De les 8 etapes de l'extrusora en les què es pot controlar la temperatura de forma independent (Z2-Z8 i die, (**Figura 2.4**) es van mantenir constants les etapes Z2 a Z4 (a 50, 90 i 110 °C, respectivament) i la zona del die (a 100 °C).

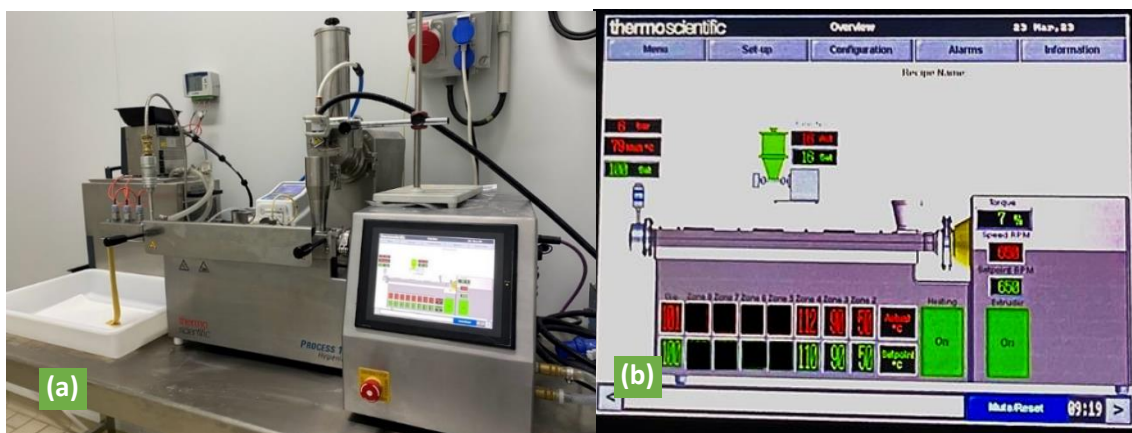


Figura 4.1. Foto extrusora Thermo Scientific Process utilitzada per obtenir les mostres extrusionades d'alta humitat(a) i pantalla de l'extrusora Thermo Scientific Process amb les temperatures fixes (b)

Les velocitats d'alimentació de fórmula seca (FS) i fase líquida (FL), així com la seva composició, es van modificar d'acord amb el següent disseny experimental. Es van elaborar mostres amb 5 formulacions diferents amb base de proteïna de fava. Una amb un 100% de concentrat de fava i les 4 restants afegint diferents ingredients: aïllat de pèsol (una formulació amb un 50% i una altra amb un 20% a la FS), gluten (formulació amb un 31% a la FS) i oli d'oliva (8% afegit en forma d'emulsió amb l'aigua) (Taula 4.1).

Cadascuna d'aquestes formulacions es va elaborar en 6 condicions d'extrusió diferents, modificant la concentració de fórmula seca (40%, 45% i 50%) i la temperatura d'extrusió de les etapes Z5 a Z8 (a 145°C i 155°C). D'aquesta manera, es van elaborar un total de 30 mostres diferents, tal com es mostra a la **Taula 4.1**.

Durant l'elaboració, es va mantenir un flux constant de producte de 12 g/min. La concentració de FS es va controlar regulant la velocitat d'alimentació (VA) del dosificador volumètric, prèviament calibrat per cada una de les FS. Per cada concentració de FS estudiada, es va modificar proporcionalment també el contingut de FL, regulant la velocitat d'alimentació de la bomba peristàltica, per mantenir el flux total. A la **Taula 4.1**, també es mostra la relació entre la velocitat d'alimentació de la FL i la FS (VAFL/VAFS) per cada una de les mostres. Els paràmetres es van introduir al sistema de control de l'extrusora i es van monitoritzar la temperatura i la pressió al *die*. Un cop la temperatura i la pressió del die es mantenien estables, les mostres van ser recollides en triplicats (en diferents moments durant el procés d'extrusió: inicial, intermedi i final; deixant 2 minuts de funcionament entre cada rèplica). Després, s'envasaven en bosses de plàstic en condicions de buit suau i es van emmagatzemar en congelació a -18 ± 2 °C fins la realització de les anàlisis corresponents. Durant l'elaboració de les mostres, també es va registrar el *torque* (%) i la temperatura del producte al seu pas pel *cooling die*, mitjançant sondes de temperatura (LogBox Connect BLE-881300400, NOVUS, IL, EUA).

4.4. Determinació del perfil aminoacídic

Per la formulació amb addició de gluten, es va tenir en compte el perfil aminoacídic de la fava i del gluten per calcular les proporcions òptimes que maximitzessin el contingut dels aminoàcids limitants de cada font proteica. Tal i com es mostra a la **Taula 2.1**, l'aminoàcid limitant del gluten és la lisina i el seu valor DIAAS és 48. En el cas de la fava, els aminoàcids limitants són metionina + cisteïna i el seu valor DIAAS és 55. Per calcular la proporció òptima de cada font proteica, es va tenir en compte el contingut proteic (essent 60% el contingut al concentrat de fava i 90% al gluten) i el contingut de lisina i metionina + cisteïna de cada un dels ingredients. Amb aquesta informació i utilitzant l'eina de càlcul Solver.XLAM del programa Excel Microsoft 365 (Microsoft Coporation, EEUU), es va determinar que les proporcions òptimes que permetien maximitzar els valors DIAAS de lisina i metionina + cisteïna, essent 76 i 84, respectivament, eren un 69% de concentrat de fava i un 31% de gluten. A partir de les combinacions dels diferents ingredients proteics, també es van poder calcular els valors DIAAS resultants de cada FS per cada un dels aminoàcids essencials d'acord amb les següents equacions (**Figura 4.2**):

	Aminoàcid (aa) limitant MP 1	Aminoàcid (aa) limitant MP 2
Matèria Primera (MP) 1	a_1	b_1
Matèria Primera (MP) 2	a_2	b_2
<i>Proporció prot. MP1</i>		
	$= \frac{\% \text{ prot MP1} \cdot \text{proporció pes MP1}}{\% \text{ prot MP1} \cdot \text{proporció pes MP1} + \% \text{ prot MP2} \cdot \text{proporció pes MP2}}$	
<i>Proporció prot. MP2</i>		
	$= \frac{\% \text{ prot MP2} \cdot \text{proporció pes MP2}}{\% \text{ prot MP2} \cdot \text{proporció pes MP2} + \% \text{ prot MP1} \cdot \text{proporció pes MP1}}$	
<i>DIAAS aa limitant MP1 = $(a_1 \cdot \text{Proporció prot. MP1}) + (a_2 \cdot \text{Proporció prot. MP2})$</i>		
<i>DIAAS aa limitant MP2 = $(b_1 \cdot \text{Proporció prot. MP1}) + (b_2 \cdot \text{Proporció prot. MP2})$</i>		

Figura 4.2. Equacions per calcular els valors DIAAS resultants de la FS per cadascun dels aminoàcids essencials.

Taula 4.1 Disseny experimental per l'obtenció de les mostres extrusionades: formulacions i condicions d'extrusió per l'elaboració de les mostres HME.

Codi mostra	Fórmula sòlida (FS)	Fase líquida (FL)	Concentració FS (%)	Vel. Alimentació FS g/min	Vel Alimentació FL g/min	Relació VAFL/VAFS	Temperatura d'extrusió (°C)
P1	100 Fava	Aigua	40%	4,8	7,2	1,50	145
P2	100 Fava	Aigua	40%	4,8	7,2	1,50	155
P3	100 Fava	Aigua	45%	5,4	6,6	1,22	145
P4	100 Fava	Aigua	45%	5,4	6,6	1,22	155
P5	100 Fava	Aigua	50%	6	6	1,00	145
P6	100 Fava	Aigua	50%	6	6	1,00	155
P7	100 Fava	Emulsió 8% oli	40%	4,8	7,2	1,50	145
P8	100 Fava	Emulsió 8% oli	40%	4,8	7,2	1,50	155
P9	100 Fava	Emulsió 8% oli	45%	5,4	6,6	1,22	145
P10	100 Fava	Emulsió 8% oli	45%	5,4	6,6	1,22	155
P11	100 Fava	Emulsió 8% oli	50%	6	6	1,00	145
P12	100 Fava	Emulsió 8% oli	50%	6	6	1,00	155
P13	50 Fava / 50 Pèsol	Aigua	40%	4,8	7,2	1,50	145
P14	50 Fava / 50 Pèsol	Aigua	40%	4,8	7,2	1,50	155
P15	50 Fava / 50 Pèsol	Aigua	45%	5,4	6,6	1,22	145
P16	50 Fava / 50 Pèsol	Aigua	45%	5,4	6,6	1,22	155
P17	50 Fava / 50 Pèsol	Aigua	50%	6	6	1,00	145
P18	50 Fava / 50 Pèsol	Aigua	50%	6	6	1,00	155
P19	80 Fava / 20 Pèsol	Aigua	40%	4,8	7,2	1,50	145
P20	80 Fava / 20 Pèsol	Aigua	40%	4,8	7,2	1,50	155
P21	80 Fava / 20 Pèsol	Aigua	45%	5,4	6,6	1,22	145
P22	80 Fava / 20 Pèsol	Aigua	45%	5,4	6,6	1,22	155
P23	80 Fava / 20 Pèsol	Aigua	50%	6	6	1,00	145
P24	80 Fava / 20 Pèsol	Aigua	50%	6	6	1,00	155
P25	69 Fava / 31 Gluten	Aigua	40%	4,8	7,2	1,50	145
P26	69 Fava / 31 Gluten	Aigua	40%	4,8	7,2	1,50	155
P27	69 Fava / 31 Gluten	Aigua	45%	5,4	6,6	1,22	145
P28	69 Fava / 31 Gluten	Aigua	45%	5,4	6,6	1,22	155
P29	69 Fava / 31 Gluten	Aigua	50%	6	6	1,00	145
P30	69 Fava / 31 Gluten	Aigua	50%	6	6	1,00	155

4.5. Anàlisis fisicoquímiques

4.5.1. Preparació de les mostres per les anàlisis

Les mostres es varen descongelar a 4 ± 1 °C, 24 hores abans de ser analitzades. Per descongelar-les es varen deixar temperar a temperatura ambient. Es varen analitzar un cop assolida la temperatura de la sala ($18 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$).

El producte de referència (pit de pollastre fresc) es va coure en un bany d'aigua calenta (WNB, Memmert GmbH, Schwabach, Alemanya) a 77 °C fins que l'interior del producte va assolir els 75 °C . Un cop cuit, es va deixar temperar a temperatura ambient i es va analitzar el producte un cop assolida la temperatura de la sala ($18 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$).

4.5.2. Determinació de la humitat

El contingut de humitat tant dels productes obtinguts com del pollastre es va determinar per gravimetria, d'acord amb el mètode oficial (AOAC 1990). Es varen pesar aproximadament 5g de mostra en plaques (**Figura 4.3**) emprant una balança de precisió de quatre dígitos (XS204 Delta Range®, Mettler Toledo S.A.E., Barcelona, Espanya) i es varen assecar a 102 ± 2 °C durant 24h en una estufa amb circulació per aire forçat (Digitronic, J.P Selecta S.A.U) fins assolir un pes constant. Passades les 24h, les mostres es varen retirar de l'estufa i es varen deixar refredar durant 30 minuts en un dessecador per pesar-les posteriorment.



Figura 4.3. Mostres abans (esquerra) i després de ser assecades (dreta)

Es varen analitzar tres rèpliques de cada formulació, realitzant la mesura per duplicat. El resultat es va expressar en percentatge d'humitat respecte al pes inicial de la mostra, d'acord amb la següent fórmula :

$$\% \text{ humitat} = \frac{[\text{pes mostra} - (\text{pes final} - \text{pes placa})]}{\text{pes mostra}} \cdot 100$$

4.5.3. Anàlisi de textura

Per analitzar la textura de les mostres, aquestes es varen tallar en quadrats de 2x2 cm, mantenint el seu gruix original de 4.5 mm (Figura 4.4). El producte de referència (pollastre cuit) es va llescar amb una llescadora (Kolossal 300 IK, Manconi SRL, Sumirago VA, Itàlia) a un gruix de 4.5 ± 0.5 mm i es va tallar en quadrats de 2x2 cm per simular la mida de les mostres extrusionades. Es va realitzar un assaig de cisalla (*Shear Test*) utilitzant un texturòmetre TA.HDPlus (Stable Micro Systems, Surrey, Anglaterra), amb una cèl·lula de càrrega de 5 kg i a una velocitat de 2 mm/s. Es va utilitzar una base de tall amb una fulla de ganivet de ranura rectangular tipus Warner-Bratzler (HDP/WBR) (Figura 4.5).



Figura 4.4. Mostres tallades a mida 2x2 cm per ser analitzades



Figura 4.5. Fulla de ganivet emprada per executar Shear Test

Les mostres extrusionades es varen analitzar efectuant un assaig de tall en sentit paral·lel al flux d'extrusió (del qual es va enregistrar la força longitudinal, F_L) i també en sentit perpendicular al flux d'extrusió (del qual es va enregistrar la força transversal, F_T), tal i com es mostra a la Figura 4.6. Per cada condició experimental i mostra, es varen realitzar 6 assajos en sentit paral·lel i 6 en sentit perpendicular. Les mostres de pollastre també es van avaluar en sentit perpendicular i paral·lel a les seves fibres.

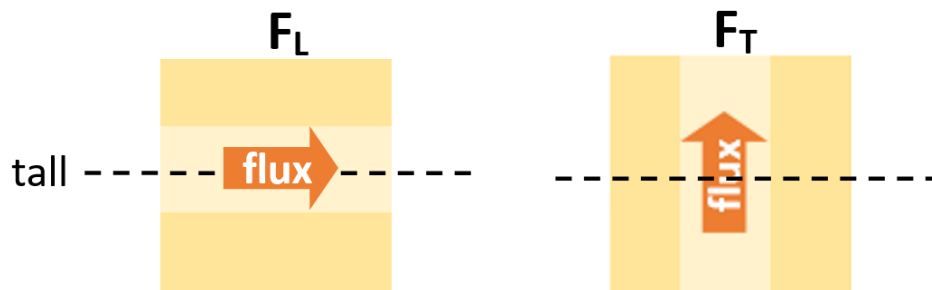


Figura 4.6. Esquema dels talls longitudinals i transversals realitzats en l'anàlisi de textura de les mostres

A més, en l'assaig en sentit transversal es van enregistrar els següents paràmetres, que estan relacionats amb característiques la mostra:

- **La força de cisalla (N):** força màxima necessària per tallar la mostra. Està relacionada amb la duresa i el grau de texturització assolit amb l'extrusió humida.
- **L'àrea de cisalla (N.mm):** és l'àrea sota la corba de força i és l'energia total necessària per tallar la mostra. Està relacionada amb la masticabilitat, com major sigui l'àrea, major treball es requerirà per mastegar la mostra.
- **El pendent (N/mm):** És el pendent de la corba del 20% al 80% de la força. Està relacionat amb la resistència a la deformació elàstica. Com major sigui el seu valor, més elàstic serà el producte.

Les mesures es varen adquirir i tractar amb el programa Exponent Connect (Texture Technologies Corp., Hamilton (MA), EEUU).

D'altra banda, es va calcular l'índex d'anisotropia (IA) mitjançant la relació entre la força màxima donada per la mesura de tall transversal i la força màxima donada pel tall longitudinal (F_T / F_L), segons Best et al. (2015).

4.6. Anàlisi estadística

L'anàlisi estadística de les dades es va realitzar utilitzant el programa estadístic XLSTAT (Addinsoft, París, França).

Es van realitzar tres anàlisis de la variància (ANOVA) per estudiar l'efecte de les condicions d'extrusió i de l'addició de cada un dels ingredients a la formulació (oli d'oliva, aïllat de pèsol i gluten). En cada cas, es va realitzar una ANOVA de tres factors, per estudiar l'efecte de l'addició de l'ingredient en qüestió, la relació VAFL/VAFS i la temperatura (efectes fixes) sobre la textura, l'índex d'anisotropia i la humitat de les mostres. Davant diferències significatives ($p < 0,05$) entre formulacions i condicions d'extrusió, es va realitzar la prova de Tukey per fer comparacions múltiples entre valors mitjans per cada paràmetre estudiat. També es va realitzar una ANOVA d'un sol factor (amb la mostra com a efecte fixe) per comparar cada un dels paràmetres fisicoquímics estudiats de les mostres elaborades i el pollastre.

Per tal d'avaluar la variació entre mostres i agrupacions dades de determinar la correlació amb les propietats de textura i humitat de les mostres, es va realitzar una anàlisi de components principals (PCA). La correlació entre paràmetres fisicoquímics i *outputs* mesurats durant l'extrusió es va estudiar mitjançant una matriu de correlació de Pearson amb nivell de significació $P < 0,05$. Els resultats es van expressar en forma de gràfic.

5. RESULTATS I DISCUSSIÓ

5.1. Avaluació qualitativa dels efectes de les condicions de procés d'extrusió humida mitjançant un anàlisi de components principals

La **Figura 5.1**. PCA biplot del les interaccions entre els resultats de les mostres descrites en la **Taula 4.1** (blau), "outputs" (verd) i les característiques fisicoquímiques (vermell) dels HME mostra els resultats del PCA realitzat per tot el conjunt de dades (incloent mostres, outputs de les condicions d'extrusió i paràmetres fisicoquímics de les mostres). Es van seleccionar els dos primers components principals (F1 i F2), que explicaven el 81,72% de la variabilitat total (F1 n'explica un 62,41% i F2 un 19,31%). El primer component (F1) es va veure influït positivament pel contingut d'aigua i negativament per la pressió (P) i el *Torque* (correlacionats positivament entre ells; $r = 0,81$) i els paràmetres de textura (força, àrea i pendent) longitudinals i transversals. El contingut d'humitat de la mostra està correlacionat negativament amb la pressió ($r = -0,728$) i el *Torque* ($r = -0,759$). D'aquesta manera, quan el producte presenta un major contingut d'humitat, la pressió i el *Torque* són menors. Alhora, ambdós outputs influeixen als següents paràmetres de textura: àrea, força i pendent, tant longitudinals com transversals en el mateix sentit. Tot i així, estan més correlacionats amb els paràmetres de textura longitudinals ($r > 0,7$) que amb els transversals ($0,44 < r < 0,55$).

La temperatura del *die* (T die) i l'índex d'anisotropia (IA), en canvi, van presentar un efecte positiu sobre el segon component principal (F2).

Pel que fa a les mostres, les que es situen més a prop del paràmetre de contingut d'humitat són; P1, P2, P8, P13, P19, P20, P25 i P26, fet que té sentit ja que aquestes mostres són les que tenen un rati velocitat d'alimentació de la fase líquida i la velocitat d'alimentació de la fase sòlida (VAFL/VAFS) de 1,5 i, per tant, a les que s'alimenta el màxim volum d'aigua. Per altra banda, les mostres P6, P11, P12, P23 i P24 se situen més a prop dels punts per les àrees, els pendents i les forces, longitudinals i transversals, que coincideixen amb 1 de rati VAFL/VAFS. Això indica que les mostres elaborades amb aquest rati de VAFL/VAFS presenten una major duresa, elasticitat i masticabilitat que les que s'han elaborat amb major contingut d'aigua.

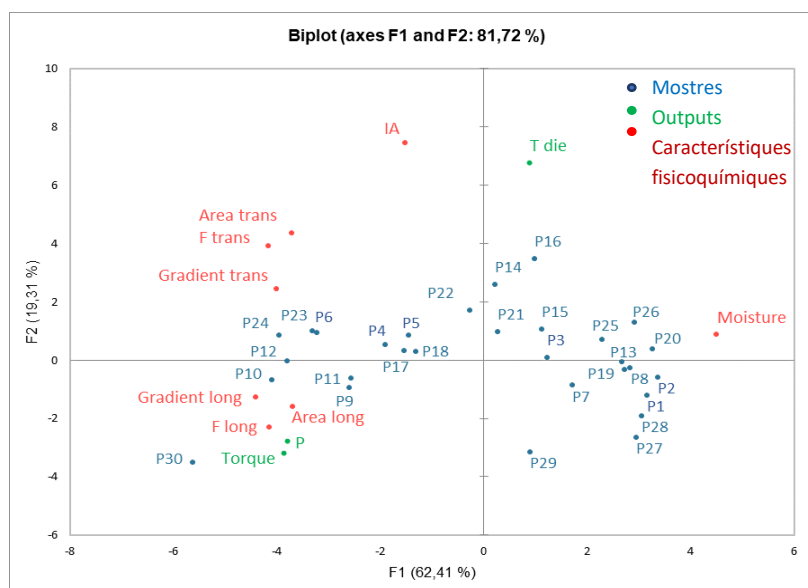


Figura 5.1. PCA biplot del les interaccions entre els resultats de les mostres descrites en la Taula 4.1 (blau), "outputs" (verd) i les característiques fisicoquímiques (vermell) dels HME

5.2. Efecte de l'addició d'oli d'oliva i les condicions d'extrusió en les característiques de l'extrudit

5.2.1. Selecció de la proteïna amb millor capacitat emulsionant per a l'addició de l'oli

Les emulsions o/w amb solucions de les farines i oli, obtingudes 30 min després de la preparació, es poden observar en la **Figura 5.2**. Passat aquest temps, ja es va començar a observar separació de fases en les emulsions elaborades amb aïllat de proteïna fava i amb els concentrats de proteïna de cigró, llentia i soja.



Figura 5.2. Emulsions d'aïllat de soja, aïllat de fava, aïllat de pèsol, concentrat de cigró, concentrat de llentia i concentrat de soja amb oli (ordenades d'esquerra a dreta) després de 30 minuts de la seva preparació.

A la Taula 5.1 es mostra el gruix (en cm) de cada fase (sediment/oli/emulsió), com a mesura indicativa per avaluar la capacitat emulsionant i l'estabilitat de l'emulsió. Les emulsions elaborades amb els concentrats i amb l'aïllat de proteïna de fava són les que van presentar una major separació de fases. En el cas dels concentrats, es pot relacionar amb què la puresa de la fracció proteica i el rendiment de recuperació de les proteïnes després del procés d'obtenció dels concentrats són més baixos que en els processos d'obtenció dels aïllats (Bayram, 2018). Tenen un menor contingut proteic i alhora un major contingut d'altres components (com per exemple fibra) que poden influir la seva solubilitat i propietats funcionals.

Pel que fa a l'emulsió amb aïllat de fava, aquesta presenta separació de fases, mentre que les altres dues emulsions elaborades amb aïllats (de proteïna de soja i de pèsol) són més homogènies. Aquesta diferència es podria atribuir al procés d'obtenció de l'aïllat proteic i als tractaments que hagin patit les proteïnes. Kinsella (1979) va afirmar que les interaccions entre proteïnes i solvents estan influïdes pels processos d'extracció o post extracció i per factors ambientals com la força iònica, el pH i la temperatura. A la Taula 5.1 també es mostra el pH de les emulsions just després de la seva elaboració, que es troba entre 7,62 i 8,04. D'entre les dues emulsions més estables (amb aïllat de soja i de pèsol), es va seleccionar la de pèsol per evitar afegir un ingredient al·lergen (la soja) a les formulacions. A més, Osen et al. (2014) va estudiar les propietats funcionals de 3 aïllats de pèsol de diferents marques

comercials, entre ells l'aïllat de pèsol M9 de Pisane™, el mateix que es va utilitzar per elaborar les emulsions en aquest projecte, i ja va demostrar que tenia bones propietats emulsionants.

Taula 5.1. Diferents fases (gruix en cm) i valors de pH de les emulsions obtingudes amb diferents ingredients proteics passades 24 hores de la seva elaboració.

Matèria primera	Sediment (cm)	Oli (cm)	Emulsió (cm)	pH
<i>Aïllat de Soja</i>	< 0,1	< 0,1	7,6	8,00
<i>Aïllat de Fava</i>	0,6	1,0	5,7	7,62
<i>Aïllat de pèsol</i>	< 0,1	< 0,1	7,0	8,04
<i>Concentrat de cigró</i>	0,4	0,3	5,7	7,64
<i>Concentrat de llentia</i>	0,4	0,3	6,3	7,62
<i>Concentrat de soja</i>	0,9	0,4	6,3	7,86

5.2.2. Efecte de l'addició d'oli d'oliva, la temperatura i la concentració de sòlid en l'HME

S'han estudiat els tres efectes principals (addició d'oli d'oliva, temperatura d'extrusió i rati VAFL/VAFS) i l'efecte de les seves interaccions dobles i triples sobre les característiques fisicoquímiques de l'HME.

La Taula 5.2 mostra els resultats de les diferents característiques fisicoquímiques (expressats en *LS-means* pels tres efectes principals.

Pel que fa a l'addició d'oli, s'observen efectes significatius ($p < 0,05$) en tots els paràmetres excepte en l'àrea transversal. En primer lloc, es pot observar que l'addició d'oli disminueix el contingut d'humitat. Això és degut a que part de l'aigua que és incorporada a les formulacions sense oli, és substituïda per oli en les formulacions que en porten i, per tant, el contingut total de humitat és menor. L'IA també disminueix quan s'incorpora oli en la formulació, fet que indica que la seva incorporació dificulta la formació d'una estructura amb caràcter anisotròpic. Aquests resultats coincideixen amb els de Kendler et al (2021), on va concloure que en augmentar el contingut d'oli, el caràcter anisotròpic de les mostres disminuïa. En canvi, el pendent transversal de les mostres amb oli tenen valors significativament majors ($p < 0,05$) que les que no n'incorporen.

En relació a la temperatura, tan sols s'observen efectes significatius ($p < 0,05$) sobre l'àrea transversal, relacionada amb la masticabilitat del producte. A major temperatura d'extrusió, s'obtenen productes amb valors d'àrea transversal més elevats i, per tant, que requereixen de més treball per mastegar el producte.

Quant al rati VAFL/VAFS, es mostren efectes significatius sobre tots els paràmetres menys sobre l'IA. Quan el rati VAFL/VAFS augmenta, també incrementa el contingut d'humitat, ja que com major és el flux d'aigua respecte el sòlid, més aigua s'incorpora a la mostra i per tant més contingut d'humitat té el producte final. Pel que fa als paràmetres de textura enregistrats per l'assaig en sentit transversal, tots disminueixen en augmentar el rati VAFL/VAFS. Per tant, a mesura que s'incrementa el contingut d'aigua respecte el sòlid a la formulació, s'obtenen mostres més toves (menor àrea i força) i alhora menys elàstiques (menor pendent). Ferawati et al., (2021) va estudiar les diferències en els paràmetres de textura, en mostres elaborades amb aïllats de pèsol i concentrat i aïllat de fava, i amb diferents

continguts d'humitat, i també va demostrar que les mostres elaborades amb un contingut d'humitat més elevat, resultaven més toves.

Taula 5.2. Propietats fisicoquímiques de les mostres (expressades com a *LS-means*, $n=3$) pels tres efectes principals: addició d'oli, temperatura i rati VAFL/VAFS.

	Oli		Temperatura		VAFL/VAFS		
	Sí	No	145 °C	155 °C	1	1.2	1.5
Humitat % (H)	50,10 ^b	57,30 ^a	N/S		49,00 ^c	51,20 ^b	60,90 ^a
IA	1,00 ^b	1,10 ^a	N/S		N/S		
Àrea transversal (AT)	N/S		50,27 b	61,80 ^a	78,27 ^a	63,9 ^b	25,93 ^c
Força transversal (FT)	14,04 ^a	13,28 ^b	N/S		18,34 ^a	16,12 ^b	6,51 ^c
Pendent transversal (PT)	9,01 ^a	6,85 ^b	N/S		10,30 ^a	9,63 ^b	3,864 ^c

Per cada efecte, lletres diferents mostren diferències significatives ($p<0,05$) entre resultats.

N/S: no es detecten efectes significatius

RMSE_H= 0,012; RMSE_{IA}= 0,087; RMSE_{AT}= 4,636; RMSE_{FT}= 1,063; RMSE_{PT}= 0,417

La Taula 5.3 mostra les propietats fisicoquímiques de les HME (expressades com a *LS-means*) per l'efecte de la interacció entre el rati VAFL/VAFS i la temperatura.

Pel que fa al contingut d'humitat, tot i que tant a 145 °C com a 155 °C les formulacions amb un valor més alt de VAFL/VAFS tenen un contingut d'humitat més elevat, s'aprecia que a la temperatura més elevada, el contingut d'humitat és significativament menor ($p>0,05$) en els casos de 1 i 1,22 VAFL/VAFS, la qual cosa pot estar relacionada amb que a major temperatura d'extrusió s'evapora més quantitat d'aigua.

En relació a l'IA, no es mostren diferències significatives pel que fa a la interacció doble entre el VAFL/VAFS i la temperatura.

Pel que fa a l'àrea, la força i el pendent transversals, en general s'observa un augment significatiu ($p<0,05$) en disminuir els valors de VAFL/VAFS, i, en tots els casos, aquest efecte és major a 155 °C que a 145 °C. Això pot ser degut a que, tal i com s'ha comentat anteriorment, a una major temperatura el producte obtingut és més sec i, per tant, serà més dur. A més, a 155 °C, la força i el pendent transversals només canvien significativament quan el rati VAFL/VAFS és superior a 1,2, mentre que a 145 °C es veuen diferències per a tots els nivells de VAFL/VAFS.

Taula 5.3. Propietats fisicoquímiques de les mostres (expressades com a *LS-means*, $n=3$) per l'efecte de les interaccions dobles entre el rati VAFL/VAFS i la temperatura

	VAFL/VAFS*T						
	T VAFL/VAFS	145 °C			155 °C		
		1.0	1.2	1.5	1.0	1.2	1.5
Humitat (%)	50,90 ^{CA}	53,50 ^{BA}	60,90	47,10 ^{BB}	48,90 ^{BB}	60,90	
IA	N/S			N/S			
Àrea transversal	68,36 ^{AB}	52,92 ^{BB}	29,52 ^c	88,18 ^{AA}	74,88 ^{BA}	22,34 ^c	

Força transversal	16,28 ^{ab}	13,49 ^{bb}	6,51 ^c	20,41 ^{aA}	18,75 ^{aA}	6,51 ^b
Pendent transversal	9,44 ^{ab}	8,37 ^{bb}	3,86 ^c	11,15 ^{aA}	10,89 ^{aA}	3,86 ^b

Lletres minúscules mostren diferències significatives ($p < 0,05$) entre diferents ratis VAFL/VAFS, i lletres majúscules entre diferents temperatures.

N/S: no es detecten efectes significatius

La Taula 5.4 mostra les propietats fisicoquímiques de les mostres (expressades com a *LS-means*) per l'efecte de la interacció entre el rati VAFL/VAFS i l'addició o no d'oli d'oliva.

En relació a la humitat, no s'observen efectes significatius per aquesta interacció.

Pel que fa a l'índex d'anisotropia (IA), les formulacions sense oli presenten valors més alts d'IA que les formulacions amb oli, excepte per la formulació amb VAFL/VAFS d'1,5; que l'efecte va resultar invers. Això indica que, en les dues primeres condicions (VAFL/VAFS d'1 i d'1,22) la presència d'oli afecta negativament l'anisotropia del producte.

L'àrea i la força transversal, relacionades amb la masticabilitat i la duresa, augmentaven significativament al disminuir el rati VAFL/VAFS. Aquest efecte, però, es va veure esmorteït per l'addició d'oli, ja que no incrementava tant com en les formulacions sense oli.

Per altra banda, destaca que l'addició de l'oli en les formulacions amb menor rati VAFL/VAFS (1), provocava una disminució de la masticabilitat i la duresa, mentre que el seu efecte es veia invertit a mesura que s'incrementava el rati VAFL/VAFS. Els resultats obtinguts per la formulació amb menor contingut d'aigua, concorden amb els de Wang et al. (2022), que van descriure que mostres elaborades per extrusió humida amb oli mostraven una textura menys dura que les mateixes mostres elaborades sense oli. Per les formulacions de les mostres amb oli amb ratis de 1,2 i 1,5; en canvi, s'obtenen resultats contraris als esperats. Pot estar relacionat amb què a major VAFL/VAFS, s'observava la formació d'exsudat al producte final. Per tant, això és indicador de que una part de l'emulsió no s'havia incorporat correctament al producte i, en comparació a la mateixa formulació sense oli, acabava incorporant-se un menor contingut de fase líquida, afectant a la textura del producte.

En el cas del pendent transversal, s'observa que a mesura que es disminueix el rati VAFL/VAFS, incrementa l'elasticitat del producte. Aquest efecte, es veu encara més en el cas de les formulacions amb oli. Akdogan, (1999), va exposar que l'elasticitat i la fluïdesa necessàries per la texturització podrien disminuir quan els continguts d'humitat i de greix eren elevats a causa de la reducció de la viscositat.

Taula 5.4. Propietats fisicoquímiques de les mostres (expressades com a *LS-means*, $n=3$) pels efectes de les interaccions dobles entre el rati VAFL/VAFS i l'oli

VAFL/VAFS*Oli						
Addició d'oli VAFL/VAFS	Amb oli			Sense oli		
	1.0	1.2	1.5	1.0	1.2	1.5
Humitat (%)	N/S			N/S		
IA	1,00 ^B	1,00 ^B	1,00 ^A	1,30 ^{aA}	1,21 ^{aA}	0,78 ^{bb}
Àrea transversal	72,20 ^{ab}	67,12 ^a	29,96 ^{ba}	84,30 ^{aA}	60,68 ^a	21,91 ^{bb}
F transversal	17,20 ^{ab}	17,45 ^{ab}	7,45 ^{ca}	19,48 ^{aA}	14,78 ^{ba}	5,57 ^{cb}

Pendent transversal	11,23 ^{aA}	11,61 ^{aA}	4,20 ^{bA}	9,36 ^{aB}	7,65 ^{bB}	3,53 ^{cB}
----------------------------	---------------------	---------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------

Per cada efecte, lletres “abc” diferents mostren diferències significatives ($p < 0,05$) entre resultats d’una mateixa formulació i diferent rati VAFL/VAFS, lletres “ABC” diferents mostren diferències significatives entre resultats d’un mateix rati VAFL/VAFS i diferent formulació.

N/S: no es detecten efectes significatius

La Taula 5.5 mostra les *LS-means* de la interacció triple entre el contingut d’oli, la temperatura i el rati VAFS/VAFL.

Pel que fa al contingut d’humitat, s’observa un increment a mesura que augmenta el rati VAFL/VAFS, però aquest només és significatiu ($p < 0,05$) a partir de VAFL/VAFS d’1.2, excepte en les formulacions sense oli elaborades a 145 °C, on ja s’observen diferències significatives a partir de VAFL/VAFS d’1. Alhora, l’efecte de disminució del contingut d’humitat a major temperatura es veu afectat pel rati VAFL/VAFS (ja que a 1,5 no s’observen diferències significatives) i també per l’addició d’oli (ja que a les formulacions amb oli, només s’observen diferències significatives a VAFL/VAFS d’1, mentre que a les que no incorporen oli s’observen diferències també a 1,2).

En relació a l’IA, s’observa un clar efecte de l’addició de l’oli, que no es veu influït ni per la temperatura ni pel rati VAFL/VAFS, ja que no s’observen diferències significatives entre les mostres amb oli en cap cas. En les formulacions sense oli, en canvi, s’observa un increment de l’IA a mesura que es disminueix el rati VAFL/VAFS, que és més accentuat en les mostres elaborades a 155 °C on s’observa un salt major.

La interacció triple no va presentar efecte significatiu ($p < 0,05$) sobre els paràmetres de textura (àrea força i pendent transversals).

Taula 5.5. Propietats fisicoquímiques de les mostres (expressades com a *LS-means*, $n=3$) per les interaccions triples entre els tres efectes principals: addició d’oli, temperatura i rati VAFL/VAFS.

Humitat (%)		145 °C			155 °C		
		1.0	1.2	1.5	1.0	1.2	1.5
Humitat (%)	Amb Oli	47,80 ^{byB}	48,10 ^{by}	57,60 ^{ay}	43,80g ^{byA}	45,60 ^{by}	57,60 ^{ay}
	Sense Oli	53,90 ^{cxA}	58,80 ^{bxA}	64,10 ^{ax}	50,30 ^{bxB}	52,22 ^{bxB}	64,10 ^{ax}
IA		145 °C			155 °C		
		1.0	1.2	1.5	1.0	1.2	1.5
IA	Amb Oli	1,00	1,00	1,00	1,00 ^y	1,00 ^y	1,00
	Sense Oli	1,19 ^a	1,06 ^{aB}	0,79 ^b	1,40 ^{ax}	1,36 ^{axA}	0,78 ^b

Les lletres “abc” mostren diferències significatives ($p < 0,05$) entre ratis VAFL/VAFS diferents a la mateixa temperatura, les lletres “xy” mostren diferències significatives entre diferents formulacions, les lletres “ABC” mostren diferències significatives entre mateix VAFL/VAFS a diferent temperatura.

5.3. Efecte de l'addició d'aïllat de pèsol, la temperatura d'extrusió i la concentració de sòlid en les característiques de l'extrudit

Per estudiar els efectes de l'addició d'aïllat de proteïna de pèsol, la temperatura d'extrusió i el rati VAFL/VAFS en l'HME, s'han contemplat els efectes principals, les seves interaccions dobles i triples.

La Taula 5.6 mostra els resultats de les diferents característiques fisicoquímiques (expressats en *LS-means*) pels tres efectes principals.

Pel que fa al contingut d'aïllat de proteïna de pèsol, s'observa que hi ha un augment de la humitat quan aquest s'incorpora en un 50% en la formulació seca, que podria ser degut a diferències del contingut d'humitat inicial entre les matèries primeres. L'índex d'anisotropia i l'àrea i la força transversals també presenten valors més elevats quan s'augmenta el contingut d'aïllat de proteïna de pèsol, indicant que l'aïllat de proteïna de pèsol té major capacitat de formar estructura anisotròpica i aporta una major duresa i masticabilitat al producte final que el concentrat de proteïna de fava. Respecte al pendent transversal, quan l'aïllat de proteïna pèsol és afegit al 50 %, el valor disminueix significativament respecte quan no és afegit o és afegit a la formulació en menor proporció. Per tant, la seva addició al 50 % provoca l'obtenció de mostres més dures però menys elàstiques.

En quant a la temperatura, s'observa una disminució significativa del contingut de humitat quan s'incrementa la temperatura. Això pot estar relacionat amb què tot i que la major part de l'aigua afegida a la formulació es manté al producte al llarg del procés gràcies a l'etapa de refredament, les temperatures que s'assoleixen durant l'extrusió poden provocar l'evaporació d'una part de l'aigua afegida. A més temperatura, doncs, aquesta evaporació pot ser major i, per tant, pot provocar una disminució del contingut d'humitat del producte final. Pel que fa als valors dels paràmetres de textura i a l'IA, tots incrementen significativament en augmentar la temperatura. Per tant, l'extrusió a temperatura més elevada permet l'obtenció de mostres més dures i elàstiques, i amb valors d'IA més elevats. Això pot estar relacionat amb què quan s'incrementa el contingut d'aïllat de proteïna de pèsol, també es veu incrementat el contingut proteic (ja que el contingut proteic de l'aïllat de pèsol és major que el del concentrat de proteïna de fava). Al haver-hi més proteïna, s'augmenta la possibilitat de formar més enllaços hidròfobs i disulfurs i que s'agreguin formant aquesta estructura fibrosa i més dura.

Pel que fa al rati VAFL/VAFS, té efectes significatius ($p < 0,05$) sobre tots els paràmetres excepte l'IA. S'observa un increment del contingut d'humitat quan el rati VAFL/VAFS augmenta. Per altra banda, a ratis més elevats de VAFL/VAFS, igual que s'ha comentat en l'apartat anterior, s'obtenen mostres més toves i menys elàstiques.

Taula 5.6. Propietats fisicoquímiques de les mostres (expressades com a *LS-means*, $n=3$) pels tres efectes principals: contingut de pèsol, temperatura i rati VAFL/VAFS.

	Pèsol			Temperatura		VAFL/VAFS		
	0	20	50	145	155	1	1.2	1.5
Humitat % (H)	57,25 ^b	56,86 ^b	59,00 ^a	58,66 ^a	56,74 ^b	52,73 ^c	57,82 ^b	62,56 ^a
IA	1,10 ^b	1,15 ^{ab}	1,22 ^a	1,08 ^b	1,23 ^a	N/S		
Àrea transversal (AT)	55,33 ^c	73,53 ^b	85,4 ^a	62,23 ^b	80,61 ^a	96,81 ^a	76,56 ^b	40,89 ^c

Força transversal (FT)	13,28 ^b	15,26 ^a	15,58 ^a	13,25 ^b	16,16 ^a	20,42 ^a	15,46 ^b	8,24 ^c
Pendent transversal (PT)	6,85 ^a	6,66 ^a	5,76 ^b	5,94 ^b	6,90 ^a	8,73 ^a	6,59 ^b	3,94 ^c

Les lletres mostren diferències significatives ($p < 0,05$) entre resultats

N/S no es detecten efectes significatius

RMSE_H = 0,010; RMSE_{IA} = 0,086; RMSE_{AT} = 5,259; RMSE_{FT} = 0,759; RMSE_{PT} = 0,323

La **Taula 5.7** mostra les propietats fisicoquímiques de les mostres (*expressades com a LS-means*, $n=3$) per la interacció triple entre els tres efectes principals: contingut de pèsol, temperatura i rati VAFL/VAFS.

Pel que fa al contingut d'humitat, els valors es troben entre 49,70% i 64,30%. Es detecten diferències significatives ($p < 0,05$) entre les diferents VAFL/VAFS, mostrant que el contingut d'humitat augmenta a mesura que augmenta VAFL/VAFS en les tres formulacions i ambdues temperatures. D'altra banda, a la formulació que no incorpora aïllat de proteïna de pèsol s'observa una disminució del contingut d'humitat a major temperatura, però aquest efecte queda emmascarat en les formulacions que sí que n'incorporen.

Referent a l'índex d'anisotropia, el valor de l'IA és més gran quan el VAFL/VAFS és més baix en les mostres sense pèsol i amb un 20% pèsol. En general no s'han observat diferències significatives ($p < 0,05$) entre formulacions extrudides en les mateixes condicions. Per tant, tot i que es coneix que el tipus de font proteica pot tenir un impacte en el grau de texturització de la mostra (Cheftel et al., 1992), en aquest cas, l'addició de major proteïna de pèsol en barreja amb la de fava, només va tenir efecte sobre l'IA quan es va afegir al 50%, amb VAFL/VAFS d'1.5 i a 155 °C.

Quant a l'àrea transversal, disminueix significativament ($p < 0,05$) en les tres formulacions a mesura que augmenta la VAFL/VAFS. També s'observen diferències significatives entre les HME que no contenen pèsol i les que si que en contenen. L'àrea transversal augmenta si s'incorpora pèsol en la formulació, però no s'observen diferències significatives entre les formulacions amb un 20 % i 50 % d'aïllat de proteïna de pèsol.

Pel que fa a la força transversal, se n'observa un increment a temperatura més elevada a totes les formulacions elaborades amb VAFL/VAFS d'1.2. A més, aquest efecte també s'observa a la formulació sense aïllat de pèsol quan VAFL/VAFS és 1, i a la formulació amb 50% de pèsol quan VAFL/VAFS és 1.5. Això indica que la temperatura provoca un augment de la duresa de l'HME que és influït per la formulació i el contingut d'aigua i sòlid. Sobre el concentrat de fava, l'increment de duresa a major temperatura es veu afavorit a menors continguts d'aigua i més sòlid, mentre que a mesura que s'incrementa el contingut d'aïllat de pèsol l'efecte es veu accentuat a major rati VAFL/VAFS.

En relació amb el pendent transversal, en general, el valor disminueix significativament ($p < 0,05$) quan el VAFL/VAFS augmenta en totes les formulacions excepte la que conté un 50% de pèsol a 155 °C de temperatura, on no s'observen diferències significatives entre VAFL/VAFS d'1.2 i 1.5. També es pot observar que a mesura que el VAFL/VAFS augmenta, la diferència entre els resultats de les diferents formulacions també augmenta.

Taula 5.7. Propietats fisicoquímiques de les mostres (expressades com a *LS-means*, $n=3$) per les interaccions triples entre els tres efectes principals: addició d'aïllat de proteïna de pèsol, temperatura i rati VAFL/VAFS.

		145 °C			155 °C		
		1.0	1.2	1.5	1.0	1.2	1.5
Humitat	Sense Pèsol	53,90 ^{cxYA}	58,80 ^{bxyA}	64,30 ^{ax}	50,60 ^{byB}	52,30 ^{bzB}	63,50 ^{ax}
	20% Pèsol	51,60 ^{cy}	58,10 ^{by}	63,00 ^{axy}	49,70 ^{cy}	56,60 ^{by}	62,20 ^{axy}
	50% Pèsol	55,70 ^{bx}	60,90 ^{ax}	61,60 ^{ay}	54,90 ^{bx}	60,10 ^{ax}	60,70 ^{ay}
		145 °C			155 °C		
		1.0	1.2	1.5	1.0	1.2	1.5
IA	Sense Pèsol	1,19 ^a	1,06 ^{aB}	0,80 ^b	1,40 ^a	1,36 ^{aA}	0,77 ^{by}
	20% Pèsol	1,36 ^a	1,16 ^{aB}	0,81 ^b	1,27 ^a	1,47 ^{aA}	0,85 ^{by}
	50% Pèsol	1,16 ^{ab}	1,25 ^a	0,93 ^{bA}	1,32	1,32	1,32 ^{xB}
		145 °C			155 °C		
		1.0	1.2	1.5	1.0	1.2	1.5
Àrea transversal	Sense Pèsol	71,96 ^{ayB}	44,04 ^{byB}	21,56 ^{cy}	96,73 ^{ayA}	77,31 ^{byA}	20,37 ^{cy}
	20% Pèsol	104,67 ^{ax}	71,87 ^{bx}	38,24 ^{cx}	112,88 ^{ax}	84,10 ^{by}	29,41 ^{cy}
	50% Pèsol	92,98 ^{ax}	74,02 ^{bxB}	40,77 ^{cxB}	101,60 ^{xy}	108,01 ^{xA}	94,96 ^{xA}
		145 °C			155 °C		
		1.0	1.2	1.5	1.0	1.2	1.5
F transversal	Sense Pèsol	17,17 ^{ayB}	11,48 ^{byB}	5,43 ^{cy}	21,79 ^{axyA}	18,08 ^{bA}	5,71 ^{cy}
	20% Pèsol	22,05 ^{ax}	14,87 ^{bxB}	7,60 ^{cxY}	23,09 ^{ax}	17,64 ^{bA}	6,29 ^{cy}
	50% Pèsol	18,64 ^{cy}	14,04 ^{bxB}	8,00 ^{cxB}	19,79 ^{ay}	16,64 ^{bA}	16,39 ^{bxA}
		145 °C			155 °C		
		1.0	1.2	1.5	1.0	1.2	1.5
Pendent transversal	Sense Pèsol	8,60 ^{ayB}	6,31 ^{bxB}	3,50 ^c	10,12 ^{axA}	8,99 ^{bxA}	3,56 ^{cy}
	20% Pèsol	9,78 ^{ax}	6,15 ^{bxYB}	3,52 ^c	9,87 ^{ax}	7,17 ^{byA}	3,45 ^{cy}
	50% Pèsol	6,79 ^{az}	5,30 ^{by}	3,49 ^{cb}	7,21 ^{ay}	5,61 ^{bz}	6,13 ^{cxA}

Les lletres "abc" mostren diferències significatives ($p<0,05$) entre ratís VAFL/VAFS diferents a la mateixa temperatura, les lletres "xyz" mostren diferències significatives entre diferents formulacions, les lletres "ABC" mostren diferències significatives entre mateix VAFL/VAFS a diferent temperatura.

5.4. Efecte de l'addició de gluten, la temperatura d'extrusió i la concentració de sòlid en les característiques de l'extrudit

Després de la producció de les mostres que incorporaven gluten, es van obtenir mostres que presentaven una forma irregular, provocant que la mostra no presentés el mateix gruix en tots els punts de les tires, fet que dificultava l'anàlisi instrumental de la textura. Per aquest motiu, es va decidir avaluar de manera visual l'efecte de l'addició del gluten ja que aquestes irregularitats podien alterar els resultats obtinguts amb mètodes instrumentals, fent que no fossin comparables a la resta de mostres. A més, de la mostra P-26 (Gluten; 1,5 VAFL/VAFL; 155 °C) només es va aconseguir elaborar-ne una rèplica perquè la combinació de la formulació i les condicions d'extrusió provocaven el col·lapse de l'extrusora. Aquestes condicions provocaven una evaporació de massa aigua durant el procés, que provocava un taponament al die perquè la temperatura era massa elevada per aquesta formulació. Per tant, es va considerar que aquesta combinació de formulació i condicions d'extrusió no són aptes per a l'obtenció d'HME.

A continuació es mostren imatges de les mostres obtingudes amb addició de gluten, ordenades de menys sòlid i menys temperatura, a més. Es mostren imatges de les mostres tal i com surten de l'extrusora i també del seu interior, després de plegar-les en dos sentits diferents. En el cas de la mostra P25 (Figura 5.3), es pot observar l'estructura interna en forma de "V" quan la mostra es plega en contra del sentit de l'extrusora. Quan la mostra es plega en sentit contrari (perpendicular a la sortida de l'extrusor), en canvi, s'observa un tall més net.

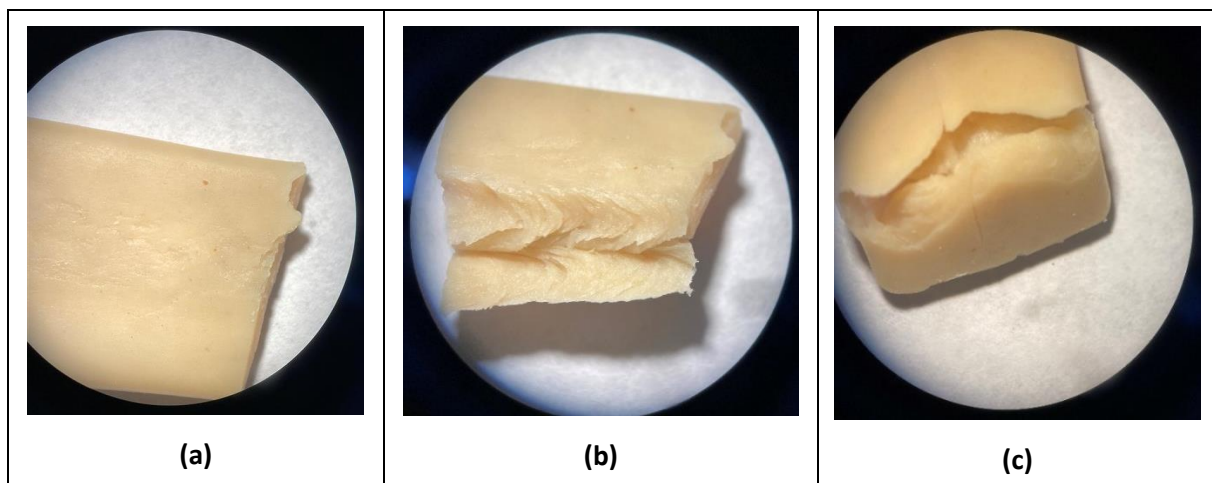


Figura 5.3. Mostra P25 (1,5 VAFL/VAFLS 145 °C) amb augment (a) i estructura interior fragmentada en sentit longitudinal (b) i perpendicular o transversal (c) a la sortida de l'extrusor.

Pel que fa la mostra P27 (Figura 5.4) , també s'observa una estructura anisotròpica, en forma de "V" quan es plega en sentit longitudinal i no s'observa estructura fibrosa quan es plega en sentit transversal .

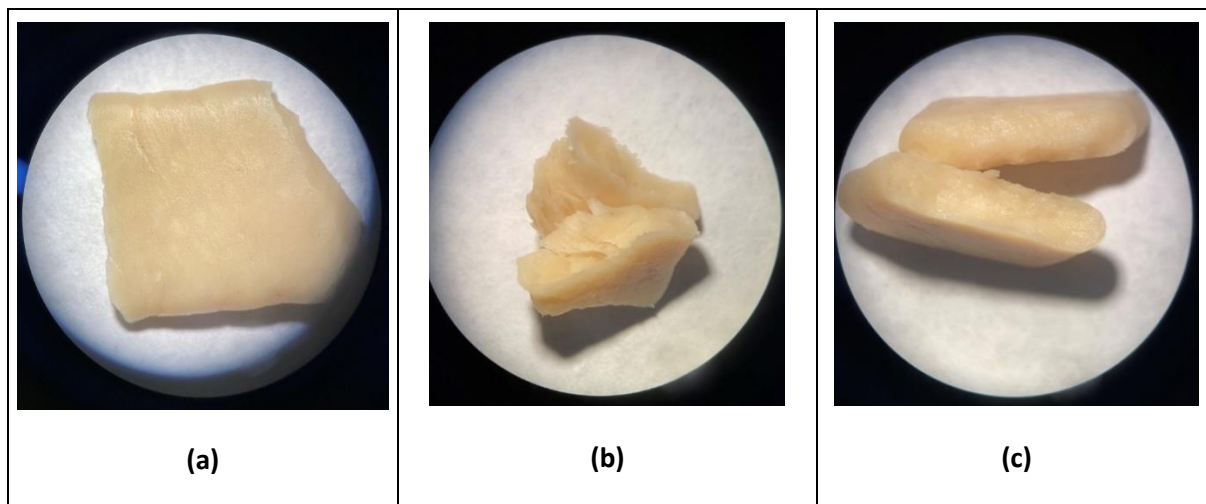


Figura 5.4. Mostra P27 (1,2 VAFL/VAFS 145 °C) amb augment (a) i estructura interna (b) i (c)

Quant a la mostra P28 (Figura 5.5), no mostra gaires diferències visuals comparat amb la mostra anterior (P27) quan estan senceres, però quan es doblega, mostra una estructura més fibrosa que la mostra P27.

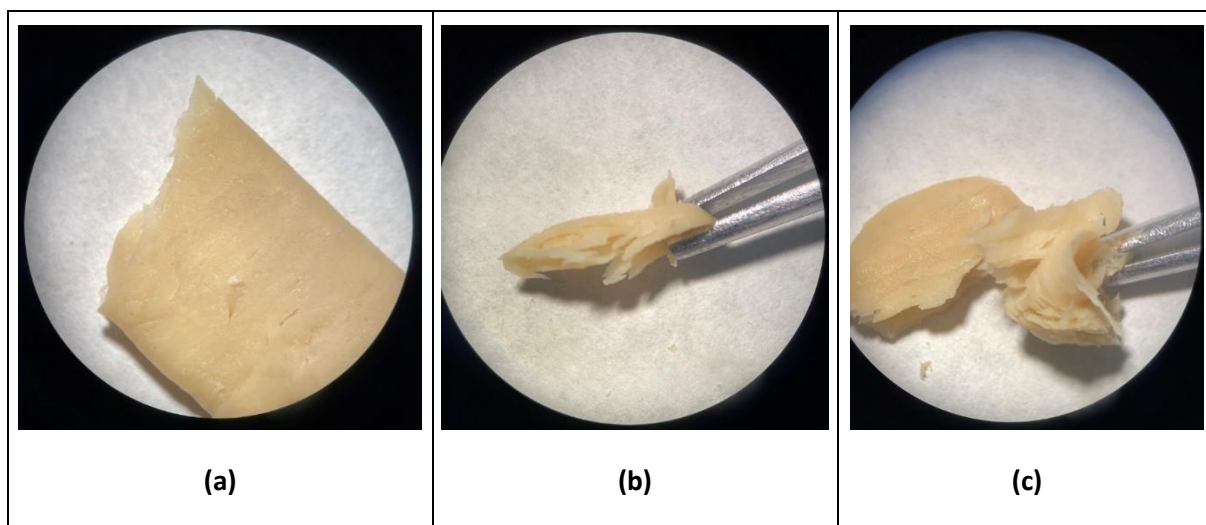


Figura 5.5. Mostra P28 (1,2 VAFL/VAFS 155 °C) amb augment (a) i estructura interna (b) i (c)

Pel que fa a la mostra P29 (Figura 5.6), la forma que té no és regular, ja que l'extrusora es va col·lapsar durant la producció. Per altra banda però, s'observa una matriu fibrosa quan es doblega en diferents sentits.

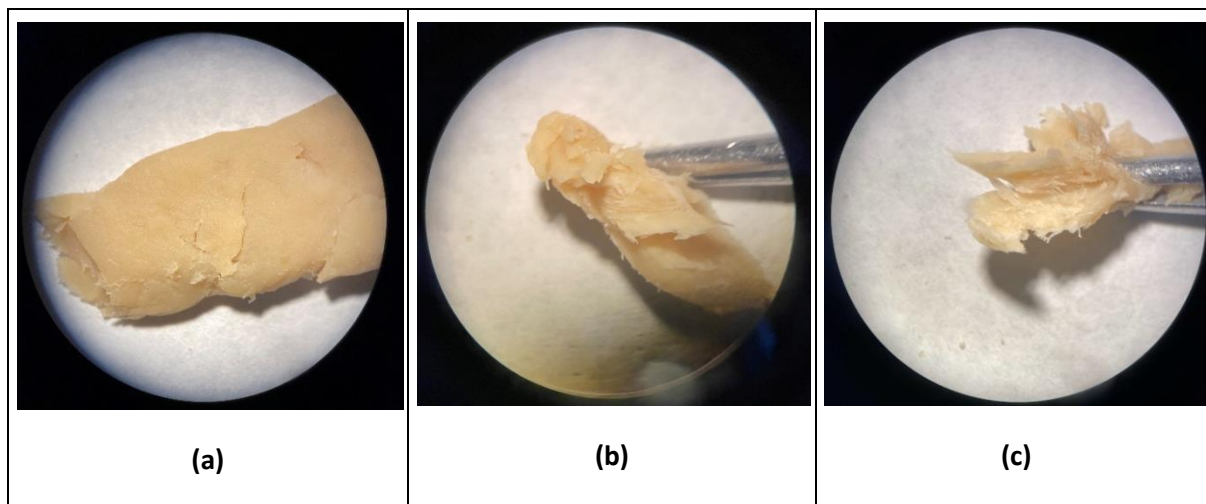


Figura 5.6. Mostra P29 (1 VAFL/VAFS 145 °C) amb augment (a) i estructura interna (b) i (c)

En relació a la mostra P30 (Figura 5.7), passa el mateix que amb la anterior (P29) que la forma no és regular, és a dir que no té les dimensions que hauria de tenir. Quan es doblega, passa un fet molt curiós, i és que el sentit de les fibres és justament el contrari del qual s'obté amb les altres formulacions. Tot i que no es va poder realitzar l'anàlisi de textura de manera instrumental, visualment aquesta mostra té comportament anisotròpic.

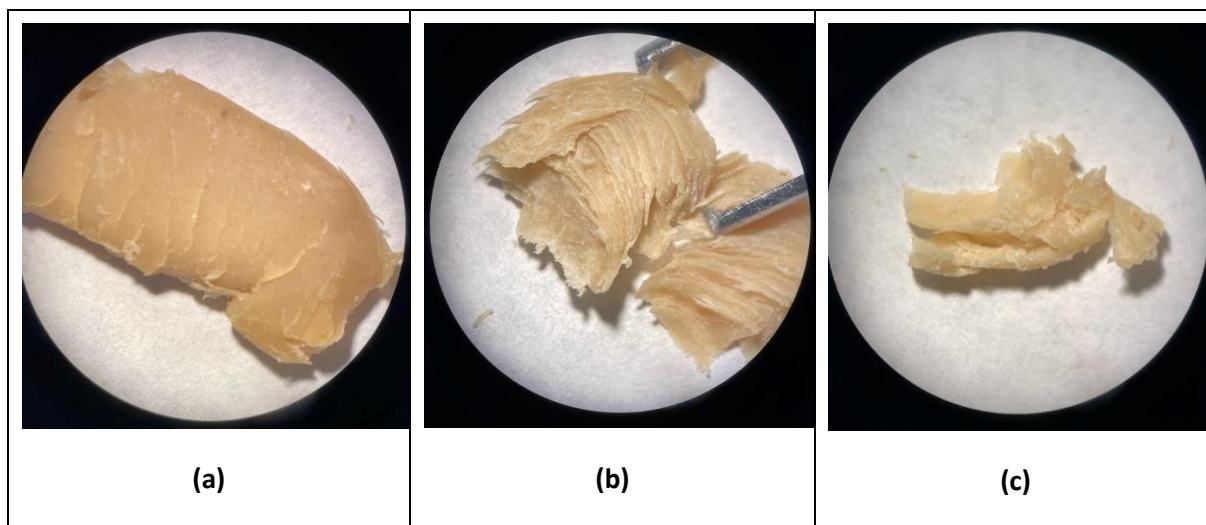


Figura 5.7. Mostra P30 (1 VAFL/VAFS 155 °C) amb augment (a) i estructura interna (b) i (c)

En general, a mesura que augmenta el contingut de sòlid s'observa una millora de l'estructura fibrosa, les mostres són cada vegada més irregulars i més seques. Akdogan, (1999), també va obtenir una millora de la textura i de l'anisotropia de les mostres en afegir gluten a la formulació de soja.

5.5. Determinació del perfil aminoacídic de les formulacions

La **Taula 5.8**. *Perfils aminoacídics de les proteïnes utilitzades i de les seves combinacions* Taula 5.8 mostra el perfil aminoacídic teòric de les formulacions seques utilitzades d'acord amb el càlcul explicat a l'apartat 4.4. En comparació amb les altres formulacions seques, la fava sola mostra un perfil aminoacídic menys complet. Les formulacions basades exclusivament en lleguminoses tenen Metionina + Cisteïna com a aminoàcid limitant. L'addició de pèsol millora el valor DIAAS, ja que el pèsol presenta un millor perfil aminoacídic que la fava, com es mostra a la **Taula 2.1**. Això implica que a mesura que augmenta la proporció de pèsol en la formulació, el valor DIAAS augmenta. En el cas de la formulació que incorpora gluten, la Lisina és l'aminoàcid limitant i s'aconsegueix incrementar el valor DIAAS respecte la formulació amb només concentrat de fava. Malgrat la millora en els perfils aminoacídics, cap d'ells arriba a imitar òptimament el de la carn.

Taula 5.8. Perfils aminoacídics de les proteïnes utilitzades i de les seves combinacions

	<i>His</i>	<i>Ile</i>	<i>Leu</i>	<i>Lys</i>	<i>Met + Cys</i>	<i>Phe + Tyr</i>	<i>Thr</i>	<i>Trp</i>	<i>Val</i>	<i>Aa limitant</i>	<i>DIAAS</i>
Fava	108	106	95	95	55	119	91	68	83	<i>Met +Cys</i>	55
50 Fava/50 Pèsol	103	103	90	104	64	117	93	73	83	<i>Met +Cys</i>	64
80 Fava/ 20 Pèsol	106	105	93	99	59	118	92	70	83	<i>Met +Cys</i>	59
69 Fava /31 Gluten	112	100	92	76	84	115	86	92	87	<i>Lys</i>	76

Nota: Dades expressades amb la mitjana dels valors DIAA individuals

5.6. Comparació de les característiques dels HME amb la carn de pollastre

Per estudiar la semblança de les HME elaborades en aquest treball, s'ha realitzat una ANOVA d'un sol factor amb la mostra com a factor fix per comparar tots els resultats obtinguts amb els valors de la carn de pit de pollastre (

Taula 5.9). S'han exclòs les mostres que incorporaven gluten ja que, tal i com s'ha explicat anteriorment, presentaven forma irregular i no es van poder determinar els paràmetres de textura instrumental de textura.

Pel que fa al contingut d'humitat, totes les HME tenen una humitat significativament inferior ($p < 0,05$) a la del pollastre (69,8%). Els valors de les mostres amb els continguts d'humitat més semblants al de la carn de pit de pollastre són de 64,0%, 63,8% i 63,5% i corresponen a la P2 (Fava; 1,5 VAFL/VFS; T 155), P1 (Fava; 1,5 VAFL/VFS; T 145 °C) i a la P1 (Fava; 1,5 VAFL/VFS; T 145 °C) però que, alhora, presenten més diferències en quant a les característiques de textura amb el pollastre que les altres mostres.

En el cas de l'IA passa el mateix, totes les mostres tenen valors d'IA significativament ($p < 0,05$) més baixos que el de la carn de pollastre (1,96). Tot i així, s'identifica un grup de mostres que presenten valors d'IA més propers al pollastre que la resta, essent el valor més proper al del pollastre és el de la mostra P.22 (IA = 1,47), la qual es va elaborar amb un 80% concentrat de proteïna de fava i 20% aïllat de proteïna de pèsol, un rati VAFL/VAFS d'1,2 i a 155 °C.

Pel que fa als paràmetres de textura transversals, les mostres P14 (elaborada amb 50% aïllat de proteïna de pèsol, un rati 1,5 VAFL/VAFS i 155 °C) i P15 (elaborada amb 50% aïllat de proteïna de pèsol, un rati 1,2 VAFL/VAFS i a 145 °C) tenen una duresa, una masticabilitat i una elasticitat semblant a les del pollastre ja que no s'observen diferències significatives ($p < 0,05$) entre els resultats d'aquestes dues mostres i els del producte de referència. A més, els valors de l'IA d'aquestes dues mostres també són força propers al del pollastre. Ferawati et al., (2021), va demostrar que els extrudits elaborats amb aïllats de proteïna de pèsol presentaven una masticabilitat més semblant a la del pollastre que els elaborats amb concentrat de fava, aquest fet explicaria que, afegint aïllat de proteïna de pèsol en la formulació base de fava, s'obtingran resultats més similars al del pollastre que si s'utilitza el concentrat de farina de fava sol.

Tot i haver aconseguit productes que s'acosten força a les característiques d'humitat i textura del pollastre, no s'ha aconseguit imitar-les del tot, per tant, caldria seguir investigant per millorar el producte i obtenir una major similitud.

D'una banda, caldria incorporar més aigua en el producte per aconseguir augmentar el contingut d'humitat. Tanmateix, s'ha vist que incorporant l'aigua durant el procés perjudica a l'obtenció de la textura fibrosa, per tant, s'hauria de buscar una altra forma d'incorporar aquesta aigua. Una opció podria ser marinar el producte al final del procés.

D'altra banda, caldria millorar-ne la textura. Per aconseguir assolir valors dels paràmetres de textura del test de tall transversal com els del pollastre, una possible solució podria ser modificar la temperatura de la formulació amb un 50% concentrat de proteïna de soja i 50% aïllat de proteïna de pèsol, i un rati VAFL/VAFS de 1,2, ja que és la formulació de les mostres que han obtingut els resultats més semblants. Es podria provar una temperatura intermèdia a 145°C i 155°C, ja que els resultats de la mostra P15 (155°C) es troben per sobre dels valors del pollastre i els de la P14 (145°C) per sota. Tot i així, encara que els valors d'IA d'aquestes mostres siguin els més similars al del pollastre d'entre les HME elaborades, queden una mica allunyats i caldria fer més proves per millorar-ho.

Taula 5.9. Comparació de les propietats fisicoquímiques i paràmetres de textura dels HME (segons diferents formulacions en base a proteïna de fava i condicions d'extrusió) amb els de la carn de pit de pollastre (mitjanes *LS-means*, n=3).

Mostra	Ingredient afegit	VAFL/VAFS	T (°C)	Humitat (%)	IA	Àrea transversal	F transversal	Pendent transversal
P1	-	1,5	145	63,80 ^b	0,80 ^{kl}	21,56 ^m	5,43 ^m	3,50 ^j
P2	-	1,5	155	64,00 ^b	0,77 ^l	20,37 ^m	5,71 ^{lm}	3,56 ^{ij}
P3	-	1,22	145	58,80 ^{de}	1,06 ^{efghi}	44,04 ^k	11,48 ^j	6,31 ^{efg}
P4	-	1,22	155	52,30 ^{ij}	1,36 ^{bcd}	77,31 ^{ghi}	18,08 ^{cdef}	8,99 ^{cd}
P5	-	1	145	53,90 ^{hi}	1,19 ^{cdefg}	71,96 ^{hij}	17,17 ^{defgh}	8,60 ^d
P6	-	1	155	50,60 ^{jk}	1,40 ^{bc}	96,73 ^{bcde}	21,79 ^{ab}	10,12 ^b
P7	Oli d'oliva	1,5	145	47,80 ^{lm}	1,00 ^{ghijkl}	64,77 ^{ij}	15,38 ^{ghi}	10,28 ^b
P8	Oli d'oliva	1,5	155	43,50 ⁿ	1,03 ^{efghijk}	79,64 ^{fgh}	19,02 ^{cd}	12,18 ^a
P9	Oli d'oliva	1,22	145	48,10 ^{klm}	1,04 ^{efghij}	61,79 ^j	15,50 ^{ghi}	10,44 ^b
P10	Oli d'oliva	1,22	155	45,50 ^{mn}	1,03 ^{fghijk}	72,45 ^{hij}	19,41 ^{cd}	12,79 ^a
P11	Oli d'oliva	1	145	57,30 ^{efg}	1,04 ^{efghijk}	37,49 ^{kl}	8,61 ^k	4,58 ^{hi}
P12	Oli d'oliva	1	155	58,40 ^{de}	0,87 ^{ijkl}	24,31 ^{lm}	6,29 ^{klm}	3,81 ^{ij}
P13	Pèsol 50%	1,5	145	63,50 ^b	0,93 ^{hijkl}	40,77 ^k	8,00 ^{kl}	3,49 ^j
P14	Pèsol 50%	1,5	155	58,80 ^{de}	1,32 ^{bcd}	94,96 ^{bcde}	16,39 ^{efghi}	6,13 ^{fg}
P15	Pèsol 50%	1,22	145	60,40 ^{cd}	1,25 ^{bcdef}	74,02 ^{ghij}	14,04 ⁱ	5,30 ^{gh}
P16	Pèsol 50%	1,22	155	60,70 ^{cd}	1,38 ^{bcd}	108,01 ^{ab}	16,64 ^{efgh}	5,62 ^{gh}
P17	Pèsol 50%	1	145	55,30 ^{gh}	1,16 ^{defgh}	92,98 ^{cdef}	18,64 ^{cde}	6,70 ^{ef}
P18	Pèsol 50%	1	155	55,30 ^{fgh}	1,26 ^{bcdef}	101,67 ^{abcd}	19,79 ^{bc}	7,21 ^e
P19	Pèsol 20%	1,5	145	62,60 ^{bc}	0,81 ^{ijkl}	38,24 ^{kl}	7,60 ^{klm}	3,52 ^j
P20	Pèsol 20%	1,5	155	62,60 ^{bc}	0,86 ^{ijkl}	29,41 ^{klm}	6,29 ^{klm}	3,45 ^j
P21	Pèsol 20%	1,22	145	58,10 ^{def}	1,16 ^{defgh}	71,87 ^{hij}	14,87 ^{hi}	6,15 ^{fg}
P22	Pèsol 20%	1,22	155	56,60 ^{efgh}	1,47 ^b	84,11 ^{efgh}	17,64 ^{cdefg}	7,17 ^{ef}
P23	Pèsol 20%	1	145	51,60 ^{ij}	1,36 ^{bcd}	104,67 ^{abc}	22,05 ^{ab}	9,78 ^{bc}
P24	Pèsol 20%	1	155	49,70 ^{ijkl}	1,27 ^{bcde}	112,88 ^a	23,09 ^a	9,87 ^{bc}
Carn de pollastre				69,80 ^a	1,96 ^a	88,256 ^{defg}	15,73 ^{fghi}	5,54 ^{gh}

Per cada paràmetre, lletres diferents mostren diferències significatives ($p < 0,05$) entre resultats. RMSE_H= 0,010; RMSE_{IA}= 0,081; RMSE_{AT}= 5,048; RMSE_{FT}= 0,802; RMSE_{PT}= 0,357

6. APLICABILITAT

Tot i que l'HMEC és una tecnologia que està guanyant interès en el sector dels anàlegs carnis per aconseguir imitar la textura "fibrosa" característica de la carn i ja s'està començant a utilitzar a la indústria, segueix havent-hi molt camí per recórrer en el seu coneixement i la seva optimització. A més, un altre repte important dins aquest àmbit és ampliar el ventall de matèries primeres que puguin ser processades amb aquesta tecnologia per tal de trobar alternatives a les que s'utilitzen actualment al mercat, que son majoritàriament soja i gluten, els quals són ingredients al·lèrgens i/o associats a problemes ambientals.

En aquest treball s'ha observat que les condicions d'extrusió i la formulació dels productes tenen efectes significatius sobre les característiques de textura i l'estructura del producte, fet que ha permès avaluar quines formulacions i condicions d'extrusió permetrien obtenir un producte amb estructura més similar a la carn. S'ha demostrat que és possible obtenir HME amb una estructura anisotròpica en base a proteïna de fava en combinació amb altres ingredients com proteïna de pèsol i oli d'oliva, tot i que per tal d'aconseguir una estructura equiparable a la de la carn de pollastre, seria necessari seguir investigant en aquesta línia. Els resultats obtinguts, però, serveixen com a punt de partida per futures investigacions i acoten els rangs de condicions a treballar en un futur.

El fet d'utilitzar una extrusora d'escala de laboratori proporciona flexibilitat i capacitat per estudiar l'efecte de molts paràmetres diferents que faciliten la optimització del procés. Això permetrà definir les condicions òptimes de formulació i del procés en els següents estudis que es realitzin i, un cop definides, realitzar un escalat a nivell de planta pilot o fins i tot industrial. Això permetria traslladar l'equivalència de la informació recollida com a outputs del procés a l'escalat i les característiques necessàries de l'equip d'extrusió corresponent. La optimització de la formulació i del procés d'extrusió pot ser de molta utilitat per a empreses del sector que vulguin treballar amb aquesta tecnologia.

D'altra banda, des del punt de vista nutricional, la fava té molt potencial a ser utilitzada com a font proteica alternativa ja que la probabilitat de ser al·lèrgen és molt baixa. A més, tal i com s'ha descrit al treball, el fet de combinar-la amb altres fonts proteiques que, a banda de servir com a additius per millorar-ne les propietats tecno-funcionals, pot permetre l'enriquiment proteic del producte i la millora del seu perfil aminoacídic, acostant-lo al de la carn.

7. CONCLUSIONS

- 1) L'extrusió humida permet l'obtenció d'extrudits amb caràcter anisotròpic utilitzant diferents formulacions en base a concentrat de proteïna de fava.
- 2) L'addició d'oli disminueix el contingut d'humitat dels extrudits i dificulta la formació d'una estructura anisotròpica. Tant l'aïllat de proteïna de soja com l'aïllat de proteïna de pèsol permeten l'obtenció d'emulsions d'oli d'oliva en aigua estables per ser dosificades durant l'elaboració d'HME.
- 3) L'increment del contingut d'aïllat de proteïna de pèsol en la formulació proteica en base a fava incrementa l'índex d'anisotropia, aporta una major duresa i masticabilitat però provoca una disminució de l'elasticitat de l'extrudit.
- 4) L'addició de gluten a la formulació permet l'obtenció d'extrudits amb caràcter anisotròpic però amb forma irregular, la qual cosa dificulta una avaluació instrumental de la textura. A menor rati entre la velocitat d'alimentació de la fase líquida i la velocitat d'alimentació de la fase sòlida (VAFL/VAFS), s'observa un major caràcter anisotròpic a nivell visual.
- 5) En general, l'increment de la temperatura d'extrusió provoca una disminució del contingut d'humitat. Aquesta disminució de la humitat augmenta quan disminueix el rati VAFS/VAFL i quan s'afegeix oli. L'increment de la temperatura també provoca un increment dels valors d'anisotropia, duresa, masticabilitat i elasticitat de l'HME en totes les formulacions.
- 6) La incorporació de proteïna de pèsol i gluten (les quals tenen un perfil aminoacídic amb un major valor DIASS que la proteïna de fava) milloren el perfil aminoacídic del producte final tot i que no s'arriba a imitar el perfil de la carn.
- 7) Els extrudits elaborats amb un 50% d'aïllat de proteïna de pèsol i 50% de proteïna de fava amb un rati VAFL/VAFS d'1,5 a una temperatura de 145 °C o 155 °C, permeten l'obtenció d'una textura fibrosa similar a la del pollastre tot i que amb un contingut d'humitat i IA inferiors.
- 8) És necessari fer més estudis per aconseguir una textura encara més similar a la del pollastre.

8. BIBLIOGRAFIA

- Acrison. (n.d.). *Dosificadores Volumétricos*. Retrieved May 31, 2023, from <https://acrison.com/es/linea-de-productos/dosificadores-gravimetricos/>
- Akdogan, H. (1999). *Review High moisture food extrusion*.
- Andreani, G., Sogari, G., Marti, A., Frolidi, F., Dagevos, H., & Martini, D. (2023). Plant-Based Meat Alternatives: Technological, Nutritional, Environmental, Market, and Social Challenges and Opportunities. In *Nutrients* (Vol. 15, Issue 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/nu15020452>
- Bayram, M. (2018). *Protein Extraction Techniques from Cereals and Legumes Silk Road Silk Roads View project Geographical signing View project*. <https://www.researchgate.net/publication/331812186>
- Bryant Taimie. (2022). Novel Food Ingredients: Food Safety Law, Animal Testing, and Consumer Perspectives Consumer Perspectives. In *Marquette Law Review Marquette Law Review* (Vol. 106, Issue 1, pp. 97–162). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03630-9>
- Cardona Serrate, F. (n.d.). *Actividad del agua en alimentos: concepto, medida y aplicaciones*.
- Cheftel, J. C., Kitagawa, M., & Quéguiner, C. (1992). New protein texturization processes by extrusion cooking at high moisture levels. *Food Reviews International*, 8(2), 235–275. <https://doi.org/10.1080/87559129209540940>
- Dietary protein quality evaluation in human nutrition Report of an FAO Expert Consultation*. (n.d.).
- Espinosa-Ramírez, J. (2022). 1/44 octubre, 2022¿Cómo tener una alimentación más sustentable sin volverme vegano en el intento? *Pulses*. <https://doi.org/10.4060/i5528e>
- Farooq, Z., & Boye, J. I. (2011). Novel food and industrial applications of pulse flours and fractions. In *Pulse Foods* (pp. 283–323). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382018-1.00011-3>
- Ferawati, F., Zahari, I., Barman, M., Hefni, M., Ahlström, C., Witthöft, C., & Östbring, K. (2021). High-moisture meat analogues produced from yellow pea and faba bean protein isolates/concentrate: Effect of raw material composition and extrusion parameters on texture properties. *Foods*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/foods10040843>
- Fiorentini, M., Kinchla, A. J., & Nolden, A. A. (2020). Role of sensory evaluation in consumer acceptance of plant-based meat analogs and meat extenders: a scoping review. In *Foods* (Vol. 9, Issue 9). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/foods9091334>
- Herreman, L., Nommensen, P., Pennings, B., & Laus, M. C. (2020). Comprehensive overview of the quality of plant- And animal-sourced proteins based on the digestible indispensable amino acid score. *Food Science & Nutrition*, 8(10), 5379–5391. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1809>
- Kantanen, K., Oksanen, A., Edelmann, M., Suhonen, H., Sontag-Strohm, T., Piironen, V., Diaz, J. M. R., & Jouppila, K. (2022a). Physical Properties of Extrudates with Fibrous Structures Made of Faba

- Bean Protein Ingredients Using High Moisture Extrusion. *Foods*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/foods11091280>
- Kantanen, K., Oksanen, A., Edelman, M., Suhonen, H., Sontag-Strohm, T., Piironen, V., Diaz, J. M. R., & Jouppila, K. (2022b). Physical Properties of Extrudates with Fibrous Structures Made of Faba Bean Protein Ingredients Using High Moisture Extrusion. *Foods*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/foods11091280>
- Kendler, C., Duchardt, A., Karbstein, H. P., & Emin, M. A. (2021). Effect of oil content and oil addition point on the extrusion processing of wheat gluten-based meat analogues. *Foods*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/foods10040697>
- Kinsella, J. E. (1979). Functional properties of soy proteins. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 56(3Part1), 242–258. <https://doi.org/10.1007/BF02671468>
- Kocks, U. F., Tomé, C. N., & Wenk H.R. (2000). *Texture and Anisotropy: Preferred Orientations in Polycrystals and their effect on Materials Properties*. .
- Kumar, P., Chatli, M. K., Mehta, N., Singh, P., Malav, O. P., & Verma, A. K. (2017). Meat analogues: Health promising sustainable meat substitutes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(5), 923–932. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.939739>
- Kyriakopoulou, K., Keppler, J. K., & van der Goot, A. J. (2021). Functionality of ingredients and additives in plant-based meat analogues. In *Foods* (Vol. 10, Issue 3). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/foods10030600>
- Lin, S., Huff, H. E., & Hsieh, F. (2000). Texture and chemical characteristics of soy protein meat analog extruded at high moisture. *Journal of Food Science*, 65(2), 264–269. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb15991.x>
- Matas Ferrer, G., & Gou Botó, P. (2022). *La extrusión y la elaboración de análogos cárnicos*.
- McClements, D. J., Weiss, J., Kinchla, A. J., Nolden, A. A., & Grossmann, L. (2021). Methods for testing the quality attributes of plant-based foods: Meat-and processed-meat analogs. In *Foods* (Vol. 10, Issue 2). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/foods10020260>
- OCDE-FAO *Perspectivas Agrícolas 2022-2031*. (2022). OECD. <https://doi.org/10.1787/820ef1bb-es>
- OECD-FAO *Agricultural Outlook 2021-2030*. (n.d.). <https://doi.org/10.1787/agr-outl-data>
- Osen, R., Toelstede, S., Wild, F., Eisner, P., & Schweiggert-Weisz, U. (2014). High moisture extrusion cooking of pea protein isolates: Raw material characteristics, extruder responses, and texture properties. *Journal of Food Engineering*, 127, 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.11.023>
- Palanisamy, M., Franke, K., Berger, R. G., Heinz, V., & Töpfl, S. (2019). High moisture extrusion of lupin protein: influence of extrusion parameters on extruder responses and product properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(5), 2175–2185. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9410>

- Peter Clark, J. (2013, August 1). *Emulsions: When Oil and Water Do Mix*.
- Ryu, G.-H. (2020a). Extrusion cooking of high-moisture meat analogues. In *Extrusion Cooking* (pp. 205–224). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815360-4.00007-9>
- Ryu, G.-H. (2020b). Extrusion cooking of high-moisture meat analogues. In *Extrusion Cooking* (pp. 205–224). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815360-4.00007-9>
- Saldanha do Carmo, C., Knutsen, S. H., Malizia, G., Dessev, T., Geny, A., Zobel, H., Myhrer, K. S., Varela, P., & Sahlstrøm, S. (2021). Meat analogues from a faba bean concentrate can be generated by high moisture extrusion. *Future Foods*, 3. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100014>
- Thermo Scientific Process 11 Extruder Operating Instructions*. (2013).
- Tornberg, E. (2013). Engineering processes in meat products and how they influence their biophysical properties. In *Meat Science* (Vol. 95, Issue 4, pp. 871–878). <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.053>
- Tornberg, E., Andersson, K., Andersson, A., & Josell, A. (2000). The texture of comminuted meat products. *Food Australia*, 52(11), 519–524.
- Valverde, M. (2022, February 16). *Análogos cárnicos y proteína texturizada: ¿Qué tecnología hay detrás de estos productos?*
- Wang, H., van den Berg, F. W. J., Zhang, W., Czaja, T. P., Zhang, L., Jespersen, B. M., & Lametsch, R. (2022). Differences in physicochemical properties of high-moisture extrudates prepared from soy and pea protein isolates. *Food Hydrocolloids*, 128. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107540>
- Wang, H., Zhang, L., Czaja, T. P., Bakalis, S., Zhang, W., & Lametsch, R. (2022). Structural characteristics of high-moisture extrudates with oil-in-water emulsions. *Food Research International*, 158. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111554>
- What consumers want: a survey on European consumer attitudes towards plant-based foods*. (2021). www.smartproteinproject.eu
- Wittek, P., Karbstein, H. P., Azad Emin, M., José, M., & Apesteguía, B. (2021). *Blending Proteins in High Moisture Extrusion to Design Meat Analogues: Rheological Properties, Morphology Development and Product Properties*. <https://doi.org/10.3390/foods>