

**UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA EN DISEÑO DE PRODUCTOS
VALPARAÍSO - CHILE**



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

**DIEGO IGNACIO BENAVENTE GUTIÉRREZ
MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO EN DISEÑO DE PRODUCTOS
DR. PABLO PRIETO
DR. CRISTIAN ACEVEDO
ABRIL 2018**

AGRADECIMIENTOS

A mis profesores guías, Pablo Prieto y Cristian Acevedo, quienes me permitieron ser parte de este proyecto tan importante.

Al equipo de trabajo del Centro de Biotecnología, Katherine Avarias, Nicole Orellana, Rina Ortiz y Elizabeth Sanchez.

A todos mis amigos y familiares que me han ayudado y estado conmigo en todo momento de mi vida.

A la comunidad XIX, por permitirme ser parte de ellos y al Team XIX, que estamos en camino a la gloria.

Al proyecto FONDECYT no° 1160311, por el apoyo económico.

DEDICATORIA

A mis padres Agustín y María Angélica, por estar siempre conmigo y permitirme realizar mis sueños y realizarme como persona.

A mis hermanos, Alejandro, Angélica y Paulina por apoyarme en todo.

A mi Memé, por también siempre estar mi lado.

RESUMEN

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

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

Para producir este tipo de alimento, hay una serie de elementos que deben ser estudiados y optimizados, uno de ellos es la microestructura de la matriz donde se cultivarán las células, estas deben poseer forma de canal, esto porque

permiten la alineación de las células diferenciadas para la generación de fibras musculares que, unidas entre sí, forman la carne comestible.

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

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

ABSTRACT

The following report is part of the project FONDECYT NO: 1160311, at the Biotechnology Center "Dr. Daniel Alkalay Lowitt ", this project consists of the development of micro and nano edible structures to manufacture in-vitro meat.

The in vitro meat is an edible muscle tissue produced in the laboratory. Several studies report the benefit of producing this food, for example, animal welfare, the reduction of diseases transmitted by animals and the reduction of the environmental impact of the livestock sector.

To produce this type of food, there is a series of elements that must be studied and optimized, one of them is the microstructure of the matrix where cells are grown, these must be channel-shaped, because they allow the alignment of differentiated cells to the

generation of muscle fibers that, joined together, form edible flesh.

For the generation of these micro structured molds, two types of technologies have been used, the first one is the stereolithography and the second is the laser cutting.

For this, was necessary the use of CAD technologies for the design and modeling of the samples.

ÍNDICE GENERAL	AGRADECIMIENTOS	2
	DEDICATORIA	3
	RESUMEN	4
	ABSTRACT	6
	CAPÍTULO 1	
	LA CARNE CULTIVADA	14
	1.1 ¿QUÉ ES LA CARNE CULTIVADA?	15
	1.2 HISTORIA	18
	1.3 LA DIFERENCIACIÓN CELULAR	19
	1.4 VENTAJAS	20
	1.5 DESVENTAJAS	21
	1.6 COMO SE PRODUCE	21
	CAPÍTULO 2	
	CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA	24
	2.1 EL CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA	24
	2.2 MISIÓN, VISION Y OBJETIVOS	26
	2.3 MODELO DE NEGOCIOS	26
	2.4 ALGUNOS PROYECTOS	27

CAPÍTULO 3

BIOMATERIALES

30

3.1 DEFINICIONES	30
3.2 TIPOS DE BIOMATERIALES	31
3.3 SCAFFOLDS	33
3.3.1 FABRICACIÓN	35
3.3.2 LIOFILIZACIÓN	35

CAPÍTULO 4

DESARROLLO DE MOLDES

37

4.1 MANUFACTURA POR ADICIÓN DE MATERIAL	37
4.2 ESTEREOLITOGRAFÍA	38
4.3 MOLDES A PARTIR DE LA ESTEREOLITOGRAFÍA	40
4.4 PROCESOS POR MANUFACTURA SUSTRACTIVA DIGITAL EN 2D	73
4.5 CORTE POR LÁSER	74
4.6 MOLDES A PARTIR DEL CORTE LÁSER	75

CAPÍTULO 5

EXPERIMENTACIÓN

93

5.1 METODOLOGÍA	93
5.2 PROCESO DE FABRICACIÓN DE SCAFFODLS	95
5.3 TRABAJO CON MOLDES APARTIR DE ESTEREOLITOGRAFÍA	97
5.4 TRABAJO CON MOLDES APARTIR DEL CORTE LÁSER	98

CAPÍTULO 6

MÁS ALLÁ DE LA CARNE

107

6.1 HUESOS IN-VITRO	107
---------------------	-----

CAPÍTULO 7

CONCLUSIONES

114

6.1 CONCLUSIONES	114
------------------	-----

BIBLIOGRAFÍA

117

ANEXOS **122**

1. RENDERS DE MOLDES GENERADOS	123
2. POSICIONAMIENTO DE PIEZAS	137
3. ERRORES ENCONTRADOS EN PROCESO DE FABRICACIÓN	140
4. FOTOS DEL MOLDE NÚMERO DECIMOSÉPTIMO TOMADAS EN EL LABORATORIO SEM	143
5. PUBLICACIÓN EN SPRINGER JOURNALS	146

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La creciente demanda de consumo de carne tradicional en los últimos años da a conocer que no existirá un nivel de producción suficiente para satisfacer esta necesidad, uno de los principales factores es el crecimiento y expansión de la población.

También tenemos el impacto ambiental que posee la industria ganadera, esta produce el 9% de dióxido de carbono, el 65% de óxido nitroso y 37% del metano, que son los principales gases invernaderos y acelerantes del calentamiento global, Asimismo es responsable del 64% de la producción de amoníaco, el cual es responsable de la lluvia ácida.

Es por ello por lo que hoy en día es necesario ir en la búsqueda de métodos de producción de carne alternativos, y una de las más prometedoras es la

producción de carne en laboratorio, la denominada “carne cultivada o in-vitro”.

Es aquí en donde el centro de biotecnología Dr. Daniel Alkalay Lowitt de la Universidad Técnica Federico Santa María en su área de ingeniería de tejidos ha tomado el reto para el desarrollo de este tipo de productos, obteniendo así el FONDECYT N° 1160311, el cual se titula: “Desarrollo de micro y nano estructuras comestibles para fabricar carne in-vitro”.

Para poder producir este tipo de alimento, hay una serie de elementos que deben ser estudiados y optimizados, uno de ellos es la micro y nanoestructura de la matriz donde se cultivarán las células madre, ya que los canales microestructurados permiten la alineación de las células diferenciadas posibilitando la generación de fibras musculares, que,

unidas entre sí formarán la carne comestible.

Las células no pueden ser cultivadas en cualquier material, sino que necesitan de un medio especializado, aquí es donde entran los biopolímeros o scaffolds, estos poseen la característica de ser líquidos en primera instancia, por lo cual se necesita de algún molde para que al momento de solidificar adopte una forma favorable para el desarrollo de las células.

He aquí donde comienza el desafío: ¿Será posible generar un molde con surcos tan pequeños para que las células puedan alinearse correctamente?

Es por ello, que los objetivos del proyecto son en primer lugar desarrollar un molde con surcos microestructurados

que posean un diámetro que bordeen entre los 50 a 70 [μm].

Para ello, primeramente, se ha de conceptualizar y diseñar modelos por medio de herramientas CAD.

Segundo, se ha utilizar las herramientas de prototipado ubicadas en el departamento de ingeniería en diseño de productos para la generación de muestras.

Tercero, se debe corroborar las medidas de las piezas obtenidas por medio de una lupa electrónica.

Cuarto, generar matrices de caucho de silicona para la generación de réplicas.

Y finalmente, crear replicas con un material adecuado para hacer pruebas con los biopolímeros.

CAPÍTULO 1

LA CARNE CULTIVADA

CAPÍTULO 1

LA CARNE CULTIVADA

1.1 ¿QUÉ ES LA CARNE CULTIVADA?

En palabras sencillas, la carne cultivada o carne in-vitro es aquella carne hecha en un laboratorio y no es perteneciente a ningún tipo de animal vivo, ni tampoco es creada a base de ningún tipo de vegetal como lo es la carne de soya (Group, 2005).

La generación de este tipo de carne comestible es posible gracias a la ingeniería de tejidos, esta ha estudiado los comportamientos de las células, las cuales, dependiendo del medio y la estimulación, pueden diferenciarse en células musculares, que, al unirse entre sí, forman fibras musculares que al ensamblarse, se obtiene la carne comestible.

1.2 HISTORIA

La idea de crear carne cultivada en un laboratorio no es reciente, si no, que se remonta alrededor del año 1931, en donde Winston Churchill, en uno de sus ensayos llamado “Cincuenta años después”, en el cual describe los cambios sociales y posibles avances en la ciencia y tecnología. En una de sus ideas dice: *“Debemos escapar de lo*

absurdo que es criar un pollo entero para comer la pechuga o el ala, y sustituirlo por el crecimiento de estas partes por separado en un medio adecuado” (Stephens et al, 2015).

Si bien Churchill, pensaba esto, alrededor del 1941, el holandés Willem Van Eelen, prisionero en un campo de concentración japonés en indonesia, al sufrir maltratos, se sintió identificado con el trato animal en las granjas y pensó



Imagen 1.1 – Es difícil justificar la forma en que se trata a los animales en este planeta para la producción de carne. Cultivarla sin causar dolor es la solución natural, Willem van Eelen (Fuente: nextnature).

que se debía investigar una forma de hacer carne, sin tener que maltratar animales. Ya en 1950, recibido de medicina, dedicó toda su vida en encontrar la forma de poder hacer carne cultivada, si bien no obtuvo resultados, en 1991 se le atribuyó una patente sobre la producción industrial de carne (Stephens et al, 2015).

Ya en 2002, la NASA, se muestra interesada en este proyecto, y decide financiar a Morris Benjaminson, del Touro College de Nueva York, para la realización del proyecto, esto para poder alimentar a los astronautas en periodos de viajes largos (Cohen, 2011).

El Dr. Benjaminson, logró sacar células de músculo de pez dorado y cultivarlas, logrando así filetes de pez dorado, lamentablemente por las leyes estadounidenses estos no pudieron ser

degustados, ya que está prohibido el consumo de productos experimentales. Según expertos catadores, estos filetes de pez dorado, poseían la apariencia y olor idénticos a uno real (Stephens et al, 2015).

Con el pasar del tiempo la NASA decidió cortar el proyecto, debido a que encontraron otras formas más económicas para alimentar a los astronautas en sus viajes (Cohen, 2011).

En el año 2005, el Doctor Van Eelen, logró financiar su proyecto gracias al financiamiento entregado por el estado holandés, consiguiendo así US \$3M de dólares estadounidenses. Con el dinero se generaron variados proyectos, en los cuales destacan, el estudio de células embrionarias, las cuales pueden ser estimuladas para convertirse en células musculares y cuál es el medio de cultivo

óptimo para el crecimiento de las células (Cohen, 2011).

En el año 2008 PETA, organización dedicada a los derechos de los animales, anuncia un premio de US \$1M al primer laboratorio que logre generar piezas de pollos comestibles hechas in-vitro (Stephens et al, 2015).

A finales del año 2010, los fondos obtenidos por el Doctor Van Eelen, se van agotando, pero un donador anónimo, decide financiar el proyecto para creación de la primera hamburguesa en laboratorio (Stephens et al, 2015).

En 2013, se da a conocer el nombre de quien financió el proyecto, este resulta ser Sergey Brin, el cofundador de Google. El mismo año también se hace una conferencia en donde se da a conocer la primera hamburguesa in-vitro

(ver imagen 1.2) la cual es cocinada por el chef Richard McGowan y testada por el Doctor Mark (uno de los científicos a cargo) y los críticos gastronómicos Hanni Ruetzler y Josh Schonwald (Stephens et al, 2015).



Imagen 1.2 - Conferencia en Londres donde se da a conocer por primera vez una hamburguesa hecha en laboratorio (fuente: euronews).

Finalmente, en Febrero del 2015, el Doctor Van Eelen fallece a la edad de 91 años, dejando un gran legado como investigador y promotor de la producción de “carne sin víctimas” (ver imagen 1.1).

1.3 LA DIFERENCIACIÓN CELULAR

Nuestro cuerpo está compuesto por miles y miles de células altamente especializadas, como lo son las neuronas, músculos, órganos, huesos, etc.

Todo comienza con el cigoto, que, al multiplicarse, forma las denominadas células madres, las cuales poseen la capacidad de dividirse en células hijas, las que pueden continuar como una

célula madre o pueden seguir la vía de diferenciación, dando origen a células

terminales o especializadas (ver ilustración 1.1) como lo son miocitos (células musculares), hepatocitos (células del hígado), enterocitos (células del intestino), entre muchas otras (Contreras, 2014).

Es por esto por lo que es posible tomar células animales en una etapa temprana para poder cultivarlas, y con un medio propicio y estímulos adecuados es

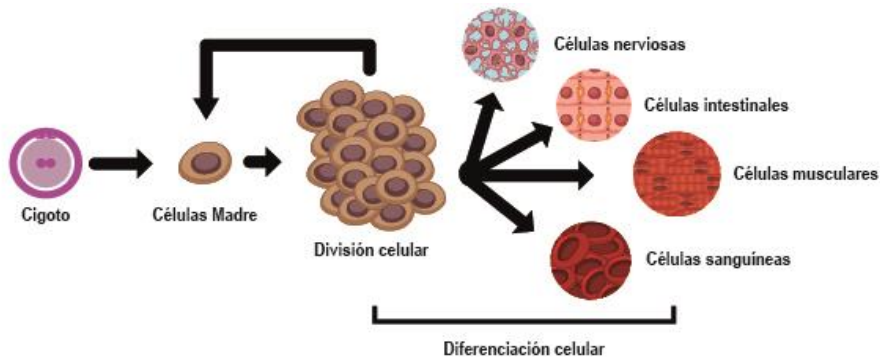


Ilustración 1.1 Proceso de diferenciación celular a partir del cigoto.

posible generar células musculares y con ello, la carne cultivada.

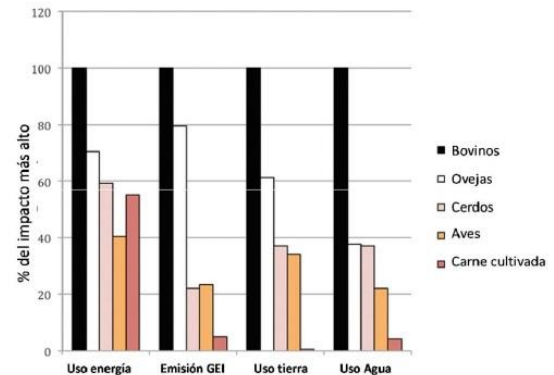
1.4 VENTAJAS

Existe un gran número de ventajas vinculadas con la producción de carne cultivada, y la gran mayoría relacionadas con el gran problema que hay detrás de la industria ganadera actual.

En primer lugar, existe un mejor control de las condiciones sanitarias de la producción, pudiendo así evitar la zoonosis o enfermedades transmitidas de animales a personas por faenas sin los controles sanitarios correspondientes.

Otra de las ventajas destacables es la reducción del impacto ambiental, esto se debe a que el ganado debe estar en un lugar físico, lo que provoca la deforestación para el uso de terrenos,

además este debe ser alimentado, lo que conlleva al uso de recursos como hiedra, heno y agua (ver Gráfica 1).



Gráfica 1 - Comparación de consumo de energía, emisión de gases invernaderos, uso de tierra y agua para la producción de carne cultivada y carne tradicional por cada 1000 kg de carne producidos (Pérez, 2017).

Ya entrando en los beneficios de la carne cultivada propiamente tal, tenemos que, al estar en condiciones controladas, nos permite la manipulación de perfiles nutritivos, disminuyendo las grasas saturadas y el colesterol (Pérez, 2017).

1.5 DESVENTAJAS

La principal desventaja que posee la producción de carne cultivada es el precio. La hamburguesa presentada en 2013 por el Doctor Mark, costó alrededor de €250.000 las 5 oz (aproximadamente 142 grs), lo que no da a conocer que por el momento no es posible competir con la producción de carne convencional a gran escala (VeISid, 2014).

Otras de las desventajas de la producción de este tipo de alimento, es la aceptación de la gente (consumidores de carne), esto se debe a que se genera una percepción de un alimento artificial que al consumirlo en reiteradas ocasiones podría dañar la salud.

Finalmente, tenemos los grupos veganos extremos que afirman que este tipo de fabricación de igual manera viola

los derechos de los animales, ya que, si bien se requieren únicamente células para comenzar la producción, de igual forma se necesita a un animal donante de estas células, teniendo pequeñas “granjas” de animales (Tovar et al, 2011).

1.6 COMO SE PRODUCE

El primer paso para la producción es la obtención de las células, estas son obtenidas mediante biopsia de tejidos musculares bovinos.

Luego las células deben ser expandidas lo que requiere de un medio de cultivo rico en minerales y vitaminas. El objetivo de esto es maximizar o multiplicar el número de células (Pandurangan, 2015).

Ahora el objetivo es la diferenciación celular, para ello es necesario ciertos estímulos de tipo metabólico, bioquímico y mecánico (Pérez, 2017).

Los estímulos mecánicos son extremadamente importantes ya que permiten el desencadenamiento de la síntesis de proteínas y su organización (Pérez, 2017). Estas células se moldean en biopolímeros ó scaffolds (ver ilustración 1.2) los que funcionan como “una mesa de trabajo” que permite la diferenciación en pequeñas fibras

musculares, las que al ir juntando varias de ellas, se obtiene la carne cultivada.

Aproximadamente se requieren 20.000 hebras de fibras musculares para la generación de una hamburguesa de 110 [grs] (Pérez, 2017).

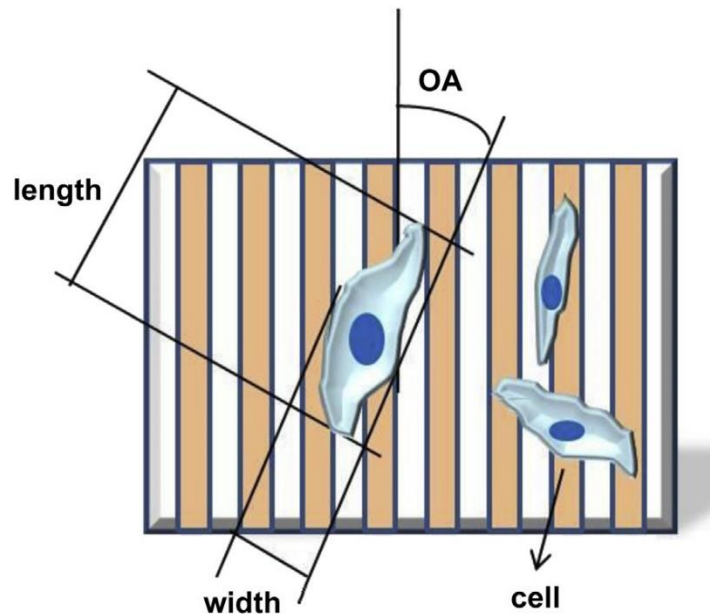


Ilustración 1.2 – Interacción de células con un medio microestructurado. (Fuente: Li et al, 2014).

CAPÍTULO 2

**CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA
CBDAL**

CAPÍTULO 2

CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA

CBDAL

2.1 EL CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA

El centro de biotecnología Dr Daniel Alkalay Lowitt (CB-DAL), es un centro de investigación dependiente de la vicerrectoría académica de la Universidad Técnica Federico Santa María.



Ilustración 2.1 - Logotipo del Centro de biotecnología.

El centro es responsable de impulsar y desarrollar investigaciones en el ámbito de la biotecnología, gestionando y ejecutando proyectos multidisciplinarios en conjunto con todos los departamentos de la universidad, como también con otras universidades y empresas, tanto nacionales como extranjeras.



Imagen 2.1 –Instalaciones y ubicación del centro de biotecnología (General Bari, número 699).

Fundada el 20 de Enero del 2000, por el consejo superior de la universidad, este busca contribuir al desarrollo de la Biotecnología haciendo aportes inéditos en investigación, extensión y formación en área de la biotecnología.

2.2 MISIÓN, VISION Y OBJETIVOS

La misión del centro de biotecnología busca: “Incorporar la dimensión biotecnológica en todas las áreas en que la Universidad Técnica Federico Santa María define su quehacer en Ciencia y Tecnología”.

Por otro lado, la visión pretende: “Ser referente nacional e internacional en la Biotecnología”

Finalmente, dentro de su objetivo general se encuentra “el desarrollo de

investigación en Biotecnología fortaleciendo las áreas existentes en la UTFSM e implementando áreas con impacto estratégico, tanto dentro de la Universidad como en el medio productivo nacional”.

2.3 MODELO DE NEGOCIOS

El modelo de negocio está basado en servicios de apoyo al desarrollo agrícola y ganadero, orientados a la sustentabilidad del proceso exportador. Además, formula programas de formación de recursos humanos para satisfacer la demanda de capacitación formal en el área de la Biotecnología, complementaria a la formación profesional y capacitación técnica a nivel de sectores industriales y productivos básicos.

2.4 ALGUNOS PROYECTOS

BACTERIA BIORREMEDIADORA MSR33

Características:

Alta resistencia a metales pesados, capaz de remover mercurio, cadmio y cobre de suelos contaminados, aguas contaminadas o residuos industriales contaminados.

Potenciales Aplicaciones:

Útil para la biorremediación de ambientes contaminados con compuestos inorgánicos y orgánicos de mercurio, cadmio y cobre. Los ambientes pueden ser suelos, lodos, sedimentos y aguas contaminadas con una o ambas formas químicas del mercurio.

BACTERIA MHP41

Características:

Cepa bacteriana capaz de degradar o mineralizar herbicidas s-triazina, tales como simazina y atrazina. Es una cepa nativa aislada de suelo y pertenece al género *Pseudomonas*, que es de fácil cultivo, alcanza alta biomasa celular y muestra un rápido crecimiento en condiciones de laboratorio.

Potenciales aplicaciones:

Biorremediación de ambientes contaminados con s-triazinas, las cuales son usadas ampliamente en el control de malezas en varias regiones de agricultura del mundo.

BACTERIA RECOMBINANTE JMS34

Características:

Bacteria recombinante capaz de degradar completamente o mineralizar diversos PCBs en presencia o ausencia de m-toluato.

Potenciales aplicaciones:

Permite realizar una degradación biológica a través de microorganismos para la remediación de suelos o aguas contaminadas con los PCBs.

CARTRIDGE DESECHABLE PARA MEDICIÓN DE CARGA ORGANICA EN AGUAS

Características:

Paquete tecnológico que contempla un elemento Biosensor basado en respirometría para la determinación rápida de DBO en aguas, consistente en un reactor tipo cartridge (BTC) removible, con una cantidad de biomasa inmovilizadas en cápsulas.

Potenciales aplicaciones:

Sistemas de monitoreo de efluentes industriales, gran utilidad en sector industrial que requiere manejo de riles y empresas sanitarias que requieran de la externalización del monitoreo para rangos entre 50 y 10.000 ppm.

CAPÍTULO 3

BIOMATERIALES

CAPÍTULO 3

BIOMATERIALES

3.1 DEFINICIONES

Existen un gran número de definiciones del concepto de biomaterial, una de ellas fue dada en la segunda conferencia para el consenso de definiciones en biomateriales en 1992, la cual definió el término como:

“Material destinado a funcionar en conjunto con los sistemas biológicos para evaluar, tratar, mejorar o reemplazar cualquier tejido, órgano o función del organismo” (Leeuwenburgh et al. 2008; Williams, 2009; Peña y Alvarado, 2010).

Por otro lado, Jonathan Black, experto investigador de biomateriales, entrega la siguiente definición:

“Los biomateriales son materiales de origen natural o hechos por el hombre que se utilizan para dirigir, complementar

o reemplazar las funciones de tejidos vivos del cuerpo humano” (Ramakrishna et al. 2001; Katti, 2004).

La principal conclusión que se puede obtener de este tipo de definiciones es que el término biomaterial hace referencia a criterios especiales de biocompatibilidad, es decir debe tener un comportamiento biológico con otros materiales de la misma índole, de modo que materiales biocompatibles son biomateriales, siendo un término que indica la capacidad del material para desempeñar una respuesta apropiada a una aplicación específica.

Hoy en día se utilizan muchos biomateriales en la medicina, como lo son los implantes (Ej: placas óseas, reposiciones articulares, injertos, etc.), dispositivos médicos (Ej: corazones artificiales, tubos para la circulación de la

sangre, etc.) lo que permite la curación de tejidos u órganos lesionados.

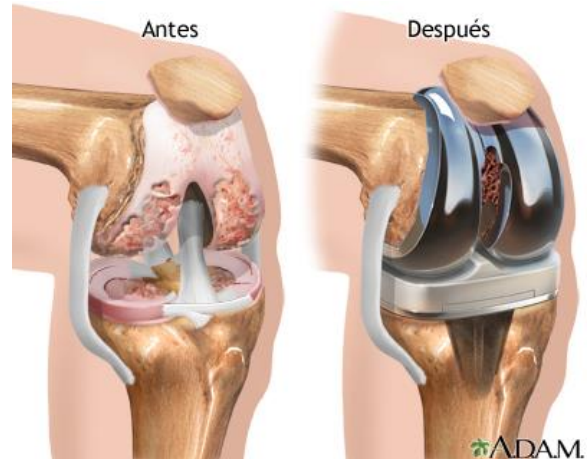


Ilustración 3.1 - Ejemplo de uso de titanio para reemplazo de rodilla dañada (Fuente ADAM).

3.2 TIPOS DE BIOMATERIALES

Los biomateriales se pueden clasificar dependiendo de su naturaleza, estos pueden ser metálicos, cerámicos, polímeros o compuestos a partir de los materiales anteriormente mencionados. Estos también se pueden clasificar como

bioinertes o bioactivos (tipo de interacción con el cuerpo), sólidos o hidrogeles (según su contenido en agua), bioestables o biodegradables dependiendo de la durabilidad (Serrano, 2011)

A continuación, se muestra una tabla con ejemplos de biomateriales según su primera clasificación como así también algunas de sus aplicaciones.

Clasificación	Biomaterial	Aplicaciones
Metal	Aleación Níquel-Titanio	Stents, alambres de ortodoncia
Metal	Titanio	Fijación de fracturas, sustitución de las articulaciones
Polímero	Poliuretano	Catéteres, tubos, vendaje para heridas, corazones artificiales
Polímero	Polimetilmetacrilato (PMMA)	Cemento óseo, lentes intraoculares
Cerámico	Carbón	Válvulas de corazón, electrodos
Cerámico	Hidroxiapatita	Recubrimiento de implantes

Tabla 3.1 Ejemplos de biomateriales según su clasificación (Santos, 2013).

3.3 SCAFFOLDS

Los scaffolds o andamios son biomateriales de tipo polimérico (también conocido como biopolímero), su función principal es actuar como una matriz extracelular artificial (ECM por sus siglas en inglés), las que son encargadas de formar tejidos nuevos a partir de células.

Las ECM artificiales se crean para que tipos de células interactúen con su entorno tridimensional el cual brinda un soporte mecánico hasta que las células

formen tejidos estructurales estables (Khamdemhosseini et al. 2005).

Para el diseño de las ECM artificiales, hay que imitar la estructura y funciones biológicas que poseen las ECM nativas (naturales del cuerpo), tanto como en su composición química como su estructura física (Hosseinkhani et al. 2006).

La ECM nativa, actúa como un andamio (de allí su nombre) para que las células estén lo suficientemente cercas para que se ensamblen y formen tejidos de forma controlada (Rosso et al. 2004).

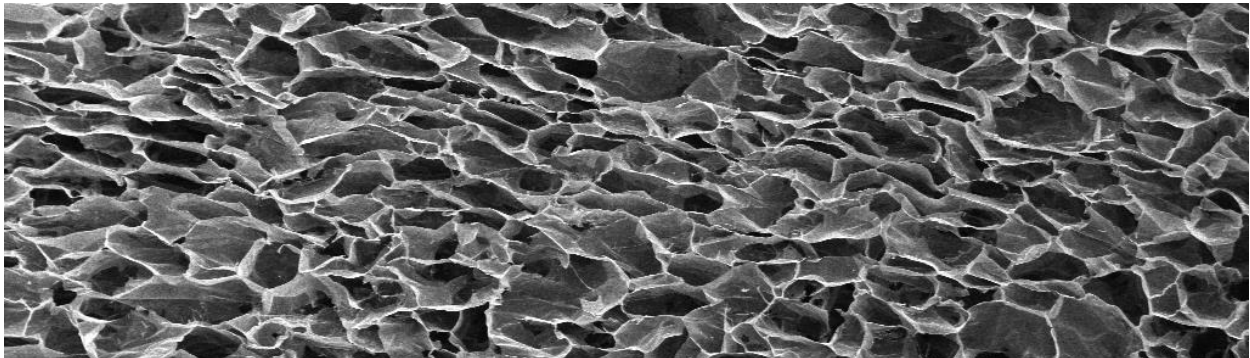


Imagen 3.1 Scaffold desarrollado en CB-DAL por medio de la liofilización.

Los scaffolds, además deben cumplir con propiedades mecánicas como elasticidad, resistencia a la tracción, a la fatiga y a la fractura. Estas propiedades deben ser lo más cercano al tipo de tejido que se desea trabajar, por ejemplo, si van a trabajar con tejidos duros, como lo son los huesos, se deben implementar scaffolds rígidos, al contrario, si se trabaja con elementos blandos como piel, se necesitará de scaffolds flexibles (Nerem, 2007).

Los scaffolds deben proporcionar un entorno micromecánico adecuado, el cual permita de forma correcta la síntesis y organización de la ECM, permitiendo regular el comportamiento de las células mediante señales de mecanotransducción* (Hodges y Atala, 2008).

Las propiedades de los scaffolds están definidas por los materiales que la constituyen, estos pueden ser de origen natural o sintéticos.

Los naturales pueden ser proteínas de origen animal como el colágeno, gelatina, o polisacáridos como el ácido hialurónico o el quitosano. Los de origen vegetal pueden ser proteínas como la soja o polisacáridos como el almidón, celulosa, agarosa, alginato (Isenberg y Wong, 2006).

* La mecanotransducción es el proceso que tiene la célula de percibir su entorno y adaptarse a él mediante cambios en su estructura (Barreno, 2014).

3.3.1 FABRICACIÓN

Existen numerosas formas de fabricación de scaffolds como el método de unión de fibras, laminación de membranas, espumado gaseoso y la liofilización (Santos, 2013).

En este caso, profundizaremos en la liofilización ya que es el método que se utilizará en este trabajo.

3.3.2 LIOFILIZACIÓN

También conocida como freeze-drying, técnica que pretende la separación de disolventes del biopolímero y la formación de una estructura porosa (Santos, 2013).

Esta técnica usa la congelación y posteriormente la sublimación y desorción del disolvente en vacío, sin alterar la composición cualitativa o

cuantitativa del material (U. Barcelona, S/A).

Para esta técnica existen un gran número de polímeros biocompatibles como la agarosa, quitosano y quitosano-gelatina (Madihally y Matthew, 1999; Mao et al. 2003).

Como bien se mencionaba anteriormente este tipo de técnica permite la formación de porosidades en el scaffold, pero no se tiene la certeza del tamaño o distribución de los poros (Sachlos y Czermuszka, 2003).

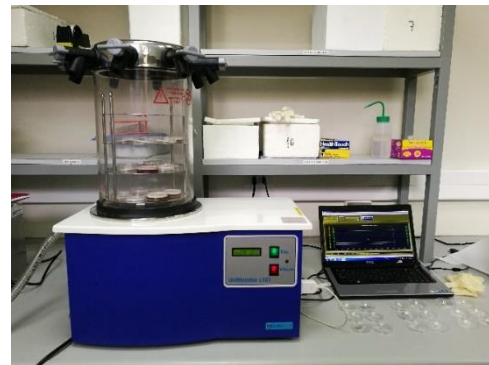


Imagen 3.2 Máquina de liofilización usada en el Proyecto.

CAPÍTULO 4

DESARROLLO DE MOLDES

CAPÍTULO 4

DESARROLLO DE MOLDES

4.1 MANUFACTURA POR ADICIÓN DE MATERIAL

También conocida como manufactura aditiva, este tipo de tecnología pretende tanto el desarrollo de prototipos como productos finales.

Este tipo de herramienta permite la obtención de piezas directamente de un archivo modelado en 3D en un software CAD, “imprimiéndolas” de forma controlada y por capas (Ver imagen 4.1), que por lo general van de los 0.05 [mm] a los 0.5 [mm] de espesor (Kalpakjian y Schmid, 2008).

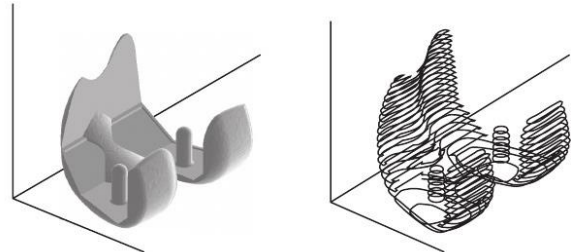


Ilustración 3.1 - Metodología de partición de objeto 3D en capas (Kalpakjian y Schmid, 2008).

Existen varios tipos de manufactura aditiva, destacando entre ellas el modelado por deposición de material fundido, la estereolitografía y la sintetización selectiva por láser (Kalpakjian y Schmid, 2008).

A continuación, nos centraremos en la estereolitografía, que fue el tipo de técnica utilizada en la generación de los moldes microestructurados.

4.2 ESTEREOLITOGRAFÍA

La estereolitografía se basa en el curado o endurecimiento de un polímero fotosensible en estado líquido usando un haz de láser (ver imagen 4.2) con una frecuencia y potencia muy concretas (Kalpakjian y Schmid, 2008).

Para la generación de la pieza es necesario un recipiente con la resina y

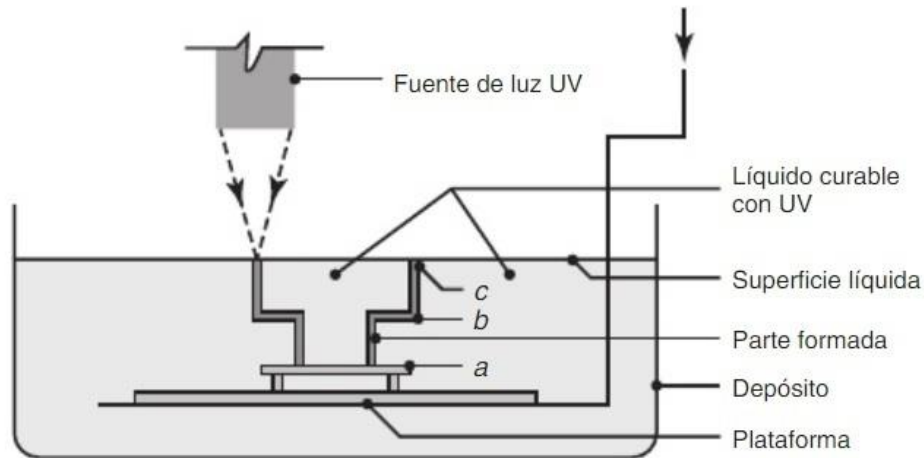


Ilustración 4.2 - Funcionamiento de una máquina de estereolitografía (Kalpakjian y Schmid, 2008).

una plataforma que se pueda mover de forma vertical (eje z).

El proceso comienza cuando la plataforma entra en contacto con la resina, luego el haz de laser impacta con la plataforma y se mueve en los ejes x-y formando la primera capa de la figura, luego la plataforma baja para que el láser pueda pasar nuevamente para generar la segunda capa, este proceso se repite “n” veces hasta terminar la pieza que se desea crear (Kalpakjian y Schmid, 2008).

Luego de terminada la pieza existe un proceso de limpieza por medio de un disolvente, por lo general se usa alcohol isopropílico, esto para eliminar el exceso de resina no solidificada (Formlabs, S/A).

Para este proyecto se ha utilizado la máquina **formlabs 1+**.

Sus principales características son:

- Superficie de trabajo de 125x125x165 [mm]
- Tamaño mínimo de operación 300 [μm]
- Grosor de capas posibles, 25, 50 ó 100 [μm] dependientes del material.



Imagen 4.1 - Máquina formlabs 1+ (Fuente: Formlabs).

4.3 MOLDES A PARTIR DE LA ESTEREOLITOGRAFÍA

En este trabajo se ha usado la resina “Clear FLGPCL02”, esta posee muy buenas propiedades como alta resistencia a la tracción y flexión, excelente rigidez y resistencia a altas temperaturas.



Imagen 4.2 - Resina Clear FLGPCL02 usado por la máquina formlabs 1+ (Fuente: Formlabs Forums).

Para la modelación de las piezas tridimensionales se usó el software CAD, Autodesk Inventor Professional 2017.

Las muestras realizadas fueron de un cubo con dimensiones de 10x10x

5 [mm], en donde la cara superior se realizaba el texturizado.

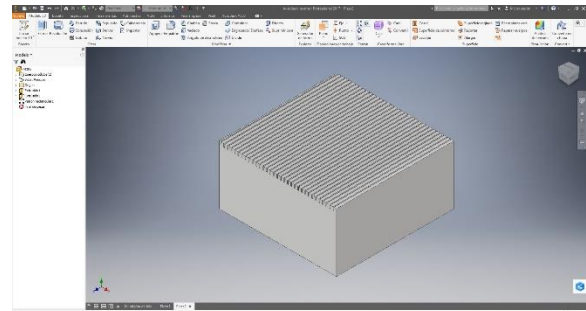


Imagen 4.3 - Modelación de pieza en 3D en software Autodesk inventor.

Ya teniendo los archivos listos, se guardaron en formato “.stl” y se posicionaron en el software “PreForm” el cual es el encargado de enviar el archivo a la máquina para que este lo interprete y realice la muestra física.

Para obtener los resultados óptimos, se usa la resolución mínima soportada por la máquina (0.025 [mm]).

4.3.1 PRIMER MOLDE

Tipo de surco:

Se genera la primera prueba, con los surcos extremos que se desean lograr, con alto y ancho de 0.05 [mm] y 0.03 [mm].

Tiempo de fabricación:

2 horas y 15 minutos.

Montaje en Preform:

Se usa la opción “one-click print”, la cual posiciona la pieza de forma automática. (ver anexo 2.1).

Observación:

Se logra observar un pequeño surco para el lado más amplio (0.05 [mm]), pero no se observa una profundidad considerable.

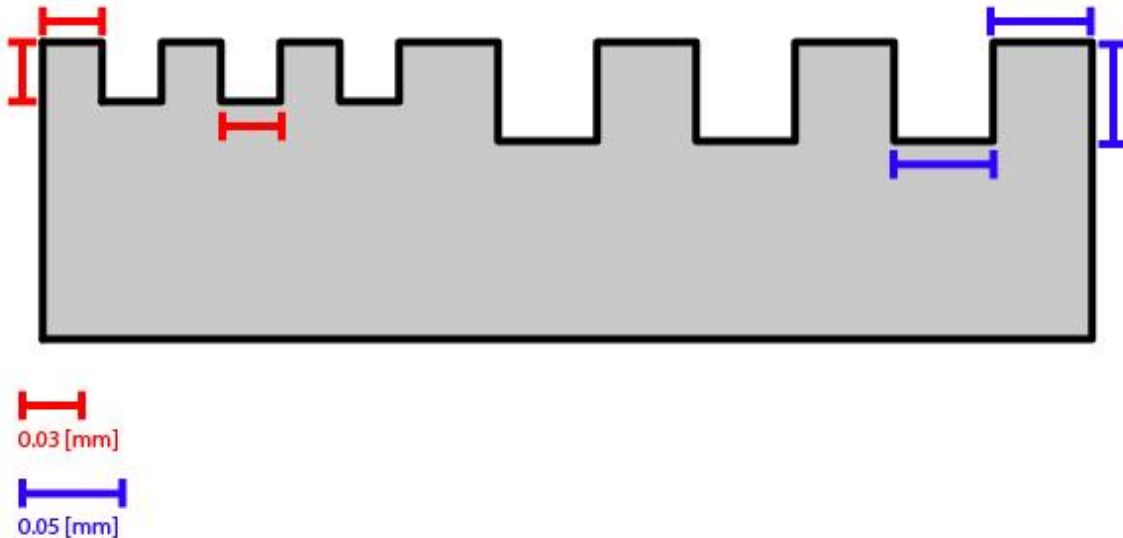


Ilustración 4.3 – Diagrama del primer molde.

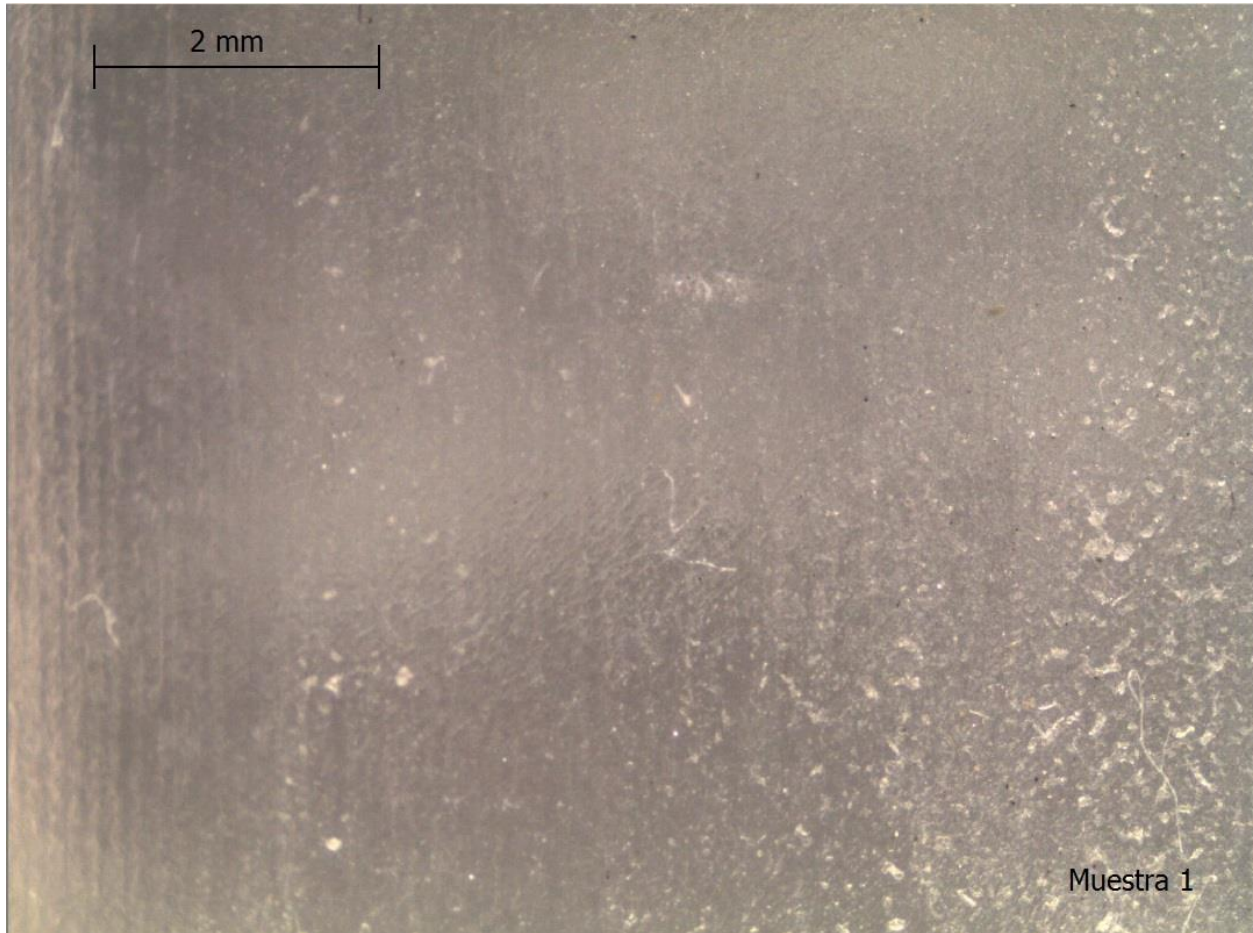


Imagen 4.4 – Fotografía del primer molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.3.2 SEGUNDO MOLDE

Se genera un segundo molde con características similares al anterior, solo cambia la profundidad de este, siendo el doble de su ancho.

Tiempo de fabricación:

2 horas y 30 minutos.

Montaje en Preform:

Se usa la opción “one-click print”, la cual posiciona la pieza de forma automática.

Observación:

Se observan surcos mas definidos para ambos anchos pero al igual que molde anterior no poseen una profundidad relevante.

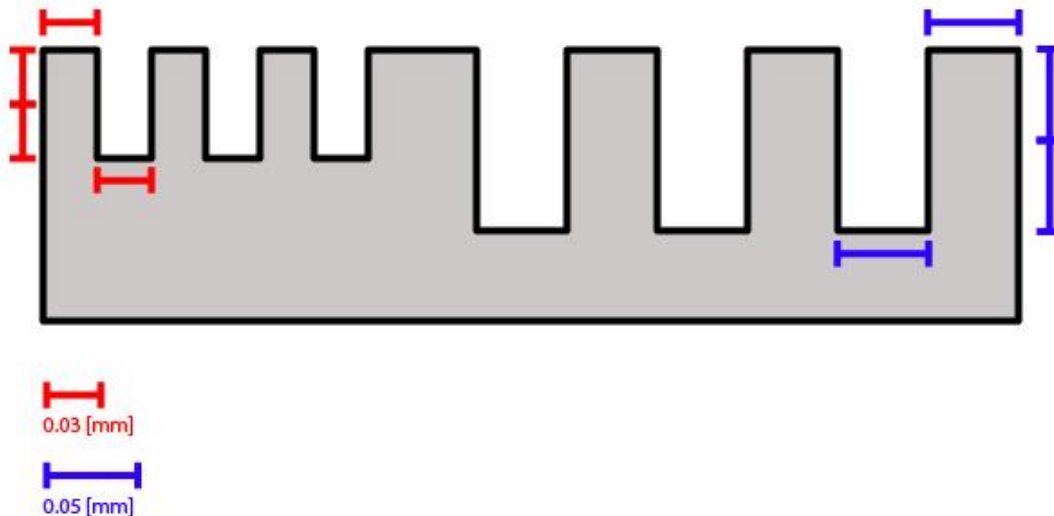


Ilustración 4.4 - Diagrama del segundo molde.

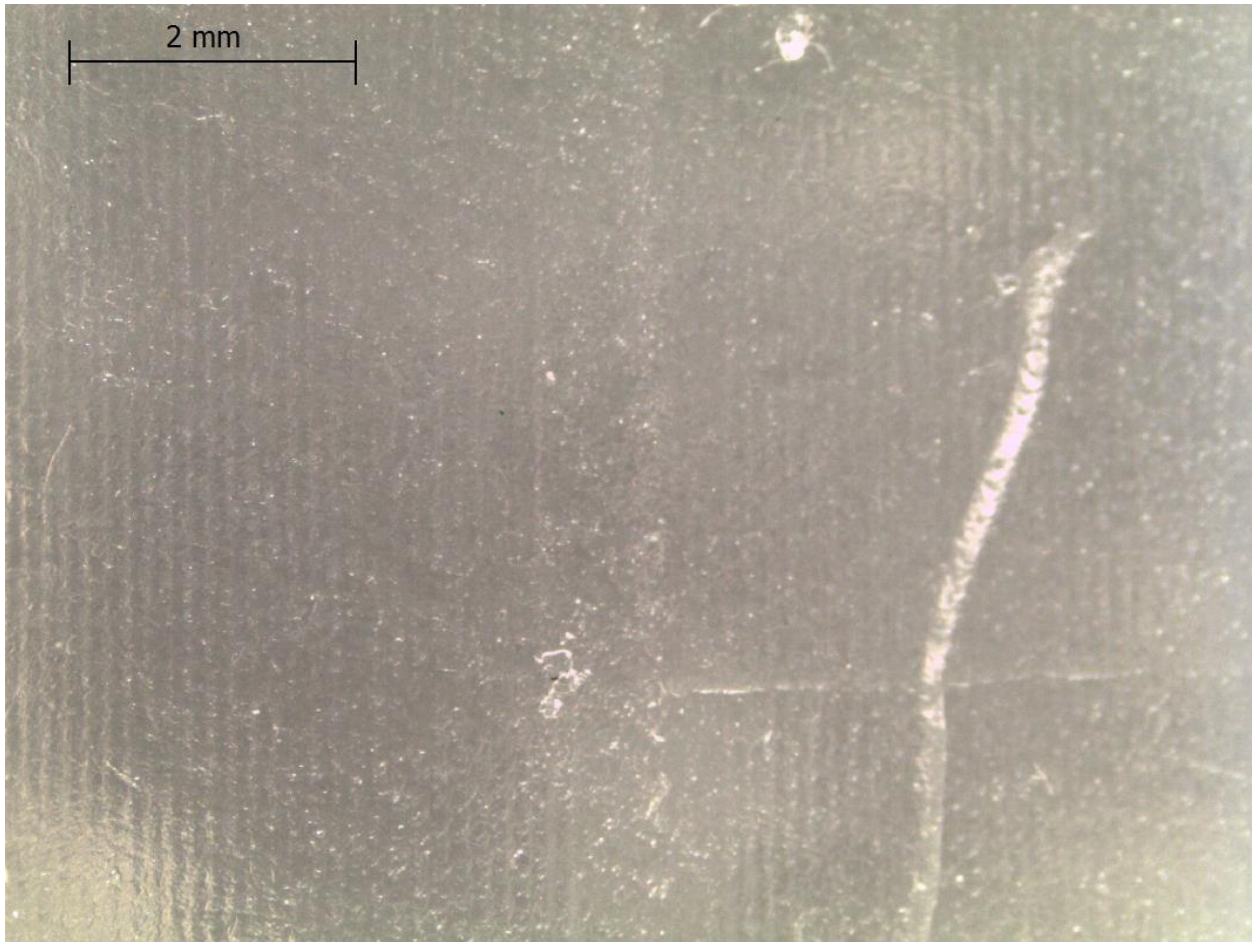


Imagen 4.5 - Fotografía del segundo molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.3.3 TERCER MOLDE

Se hacen surcos con ancho de 0.02 [mm] a 0.1 [mm] en donde su altura inicial es su ancho y se va sumando 0.01 [mm] hasta llegar a un máximo de 0.1 [mm].

Tiempo de fabricación:

2 horas y 56 minutos.

Montaje en Preform:

Se usa la opción “one-click print”, la cual posiciona la pieza de forma automática.

Observación:

Se observa un surco más definido para el lado más amplio, pero este no posee una profundidad considerable.

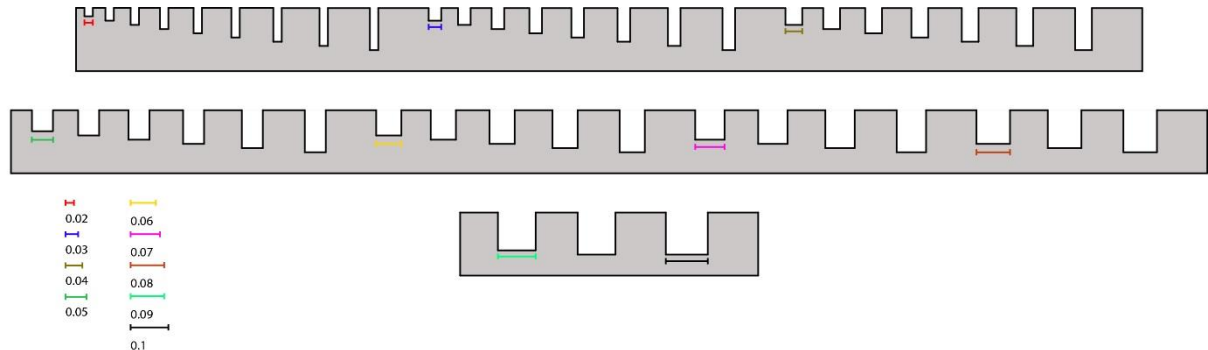


Ilustración 4.5 - Diagrama del tercer molde.

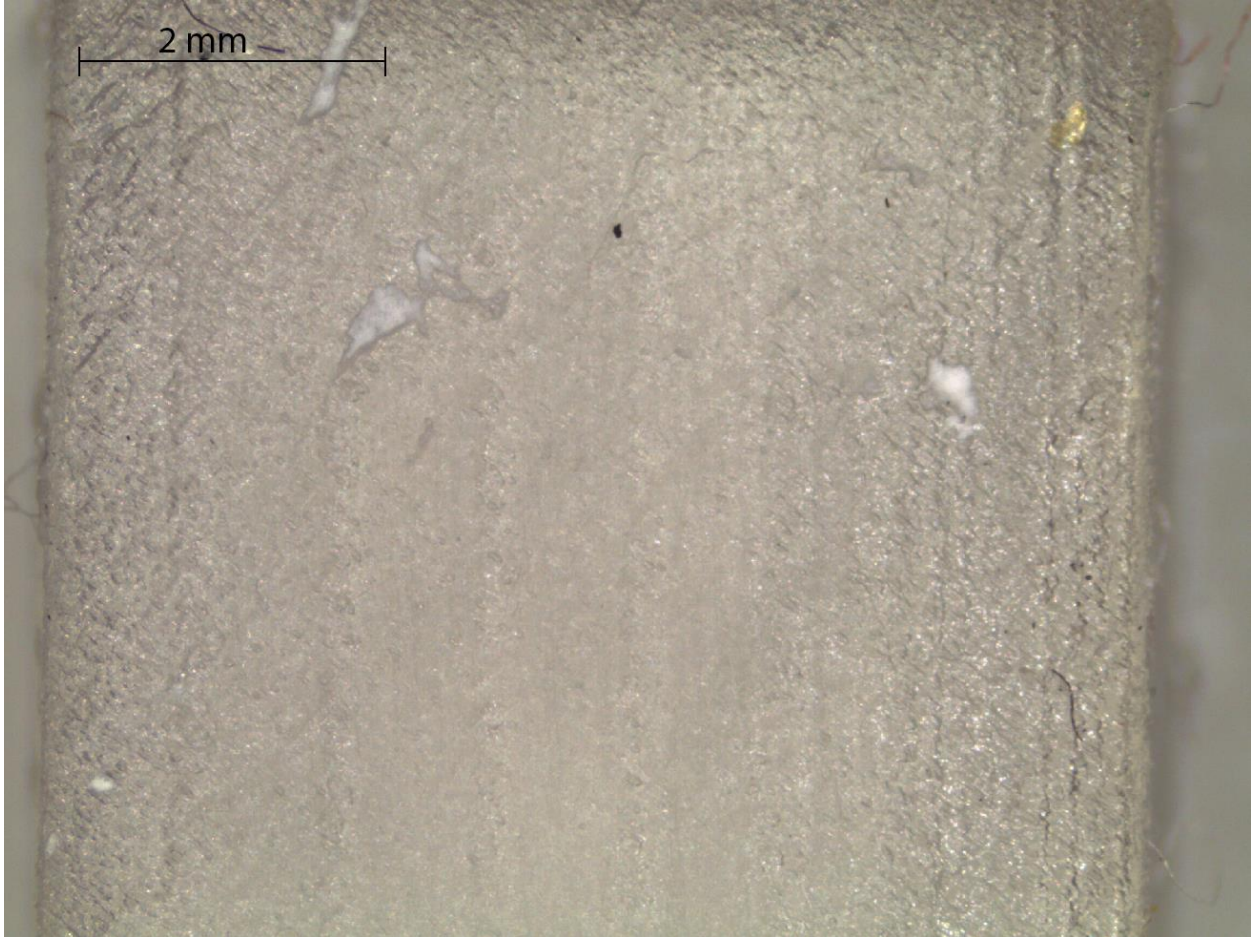


Imagen n 4.6 - Fotografía del tercer molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.3.4 CUARTO MOLDE

Debido al tipo de posicionamiento de las piezas con la opción one-click print, se realizan surcos a 45° con anchos de 0.03 [mm] hasta 0.06 [mm] y alturas iniciales de su ancho, se va sumando 0.01 [mm] hasta una altura de 0.1 [mm].

Tiempo de fabricación:

2 horas y 27 minutos.

Montaje en Preform:

Se usa la opción “one-click print”, la cual posiciona la pieza de forma automática.

Observación:

No se observa ningún tipo de surco.

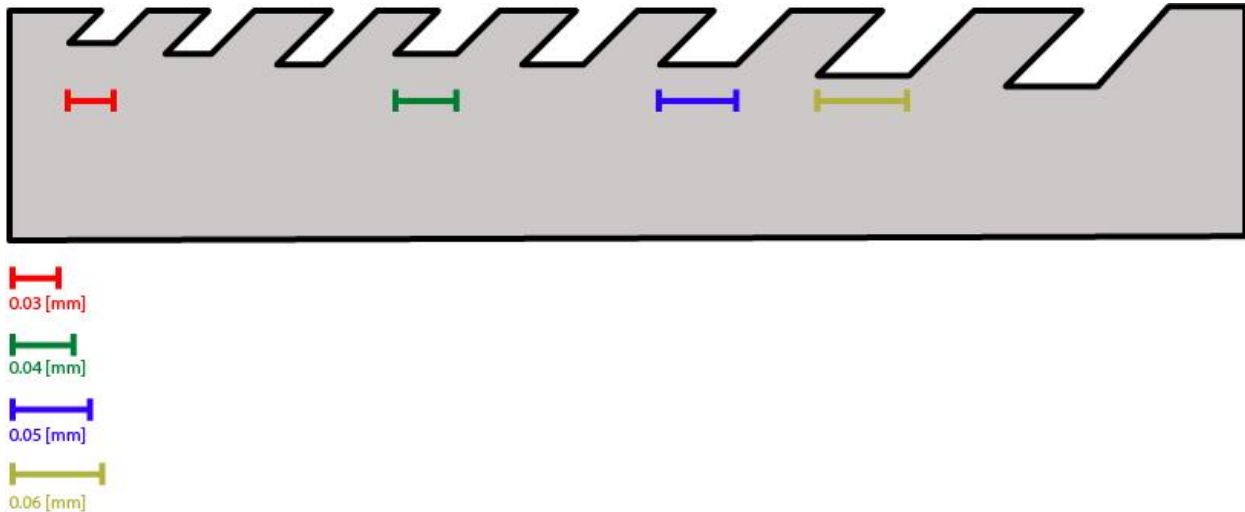


Ilustración 4.6 - Diagrama del cuarto molde.

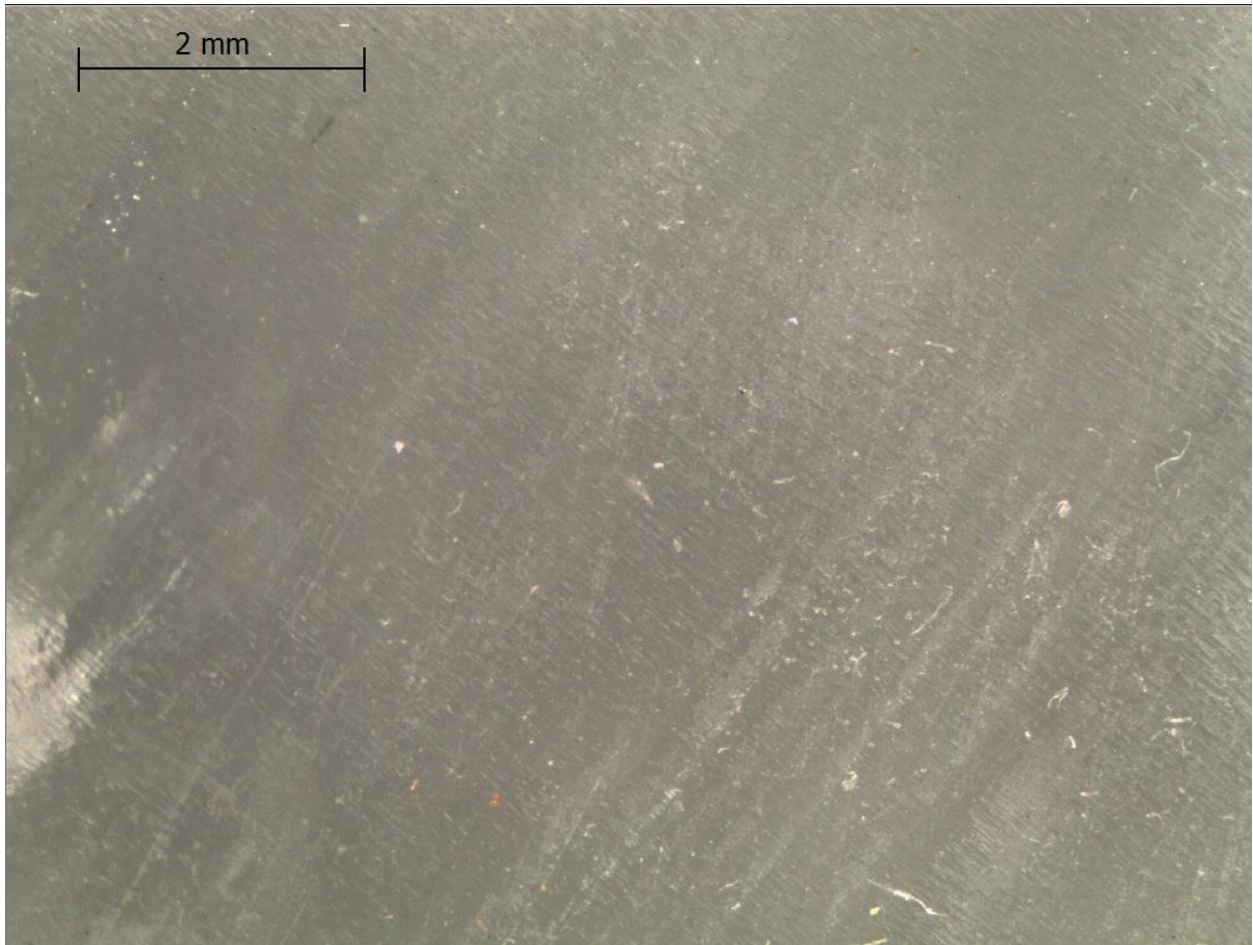


Imagen 4.7 - Fotografía del cuarto molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.3.5 QUINTO MOLDE

Se generan surcos de ancho de 0.04 [mm] hasta de 0.14 [mm] con alturas multiplicadas desde 1 al 4.

En este caso se trabajó en un plano de corte de dos vértices opuestos (Ver

anexo 1.8 para la visualización de la pieza).

Tiempo de fabricación:

2 horas y 45 minutos.

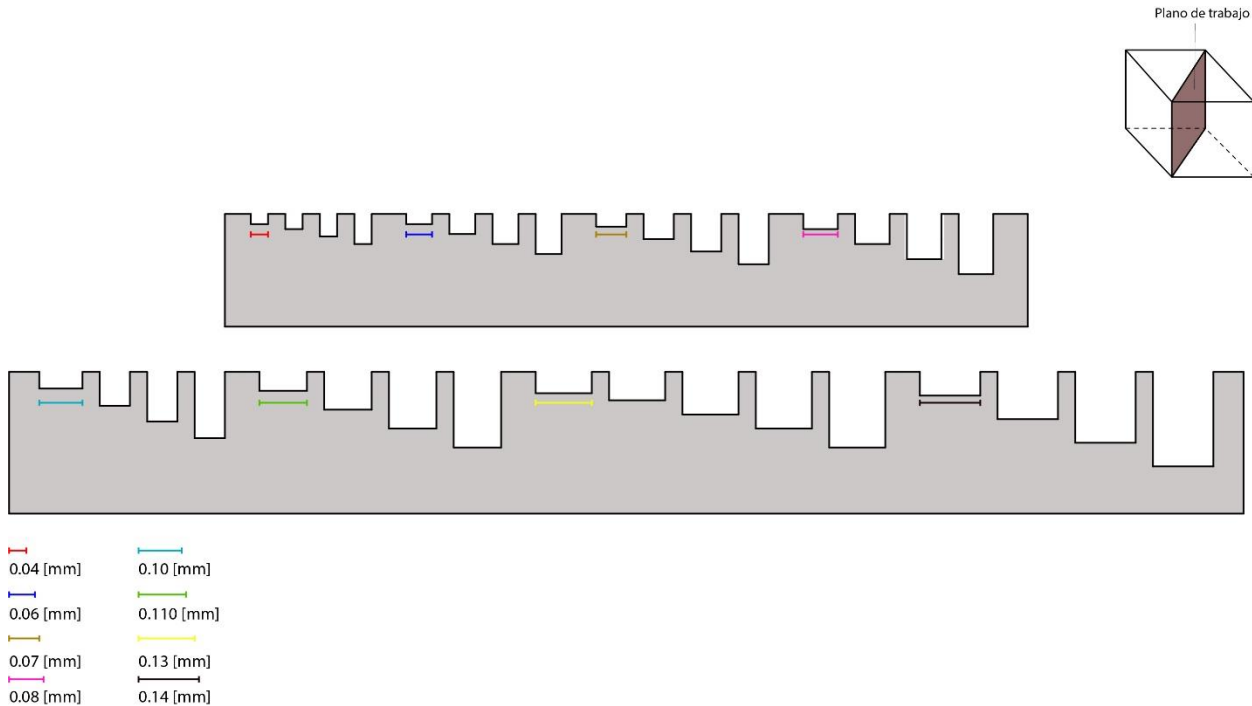


Ilustración 4.7 - Diagrama del quinto molde.

Montaje en Preform:

Se usa la opción “one-click print”, la cual posiciona la pieza de forma automática.

Observación:

Se observan surcos mas notorios en el centro en donde el ancho y alto son mucho mayores a la meta.

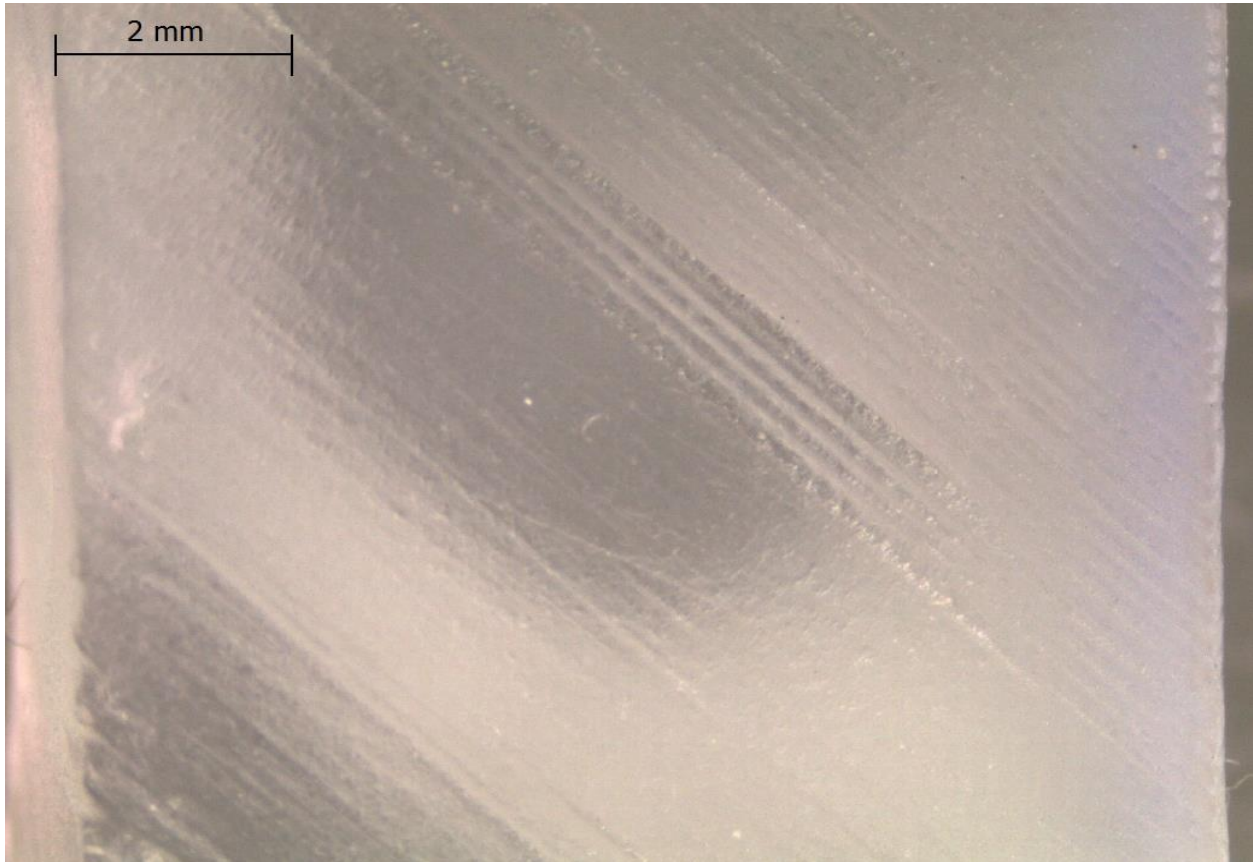


Imagen 4.8 - Fotografía del quinto molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.3.6 SEXTO MOLDE

Se genera un molde con un ancho fijo de 0.03 [mm] y alturas cambiantes multiplicando su altura hasta llegar a un máximo de 0.18 [mm].

Tiempo de fabricación:

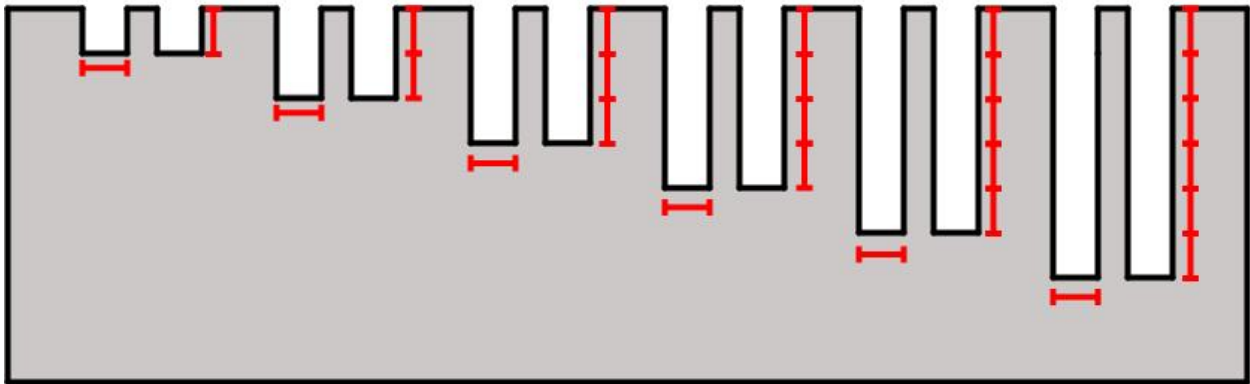
3 horas y 2 minutos.

Montaje en Preform:

Se usa la opción “one-click print”, la cual posiciona la pieza de forma automática.

Observación:

No se observan surcos definidos.




0.03 [mm]

Ilustración 4.8 - Diagrama del sexto molde.

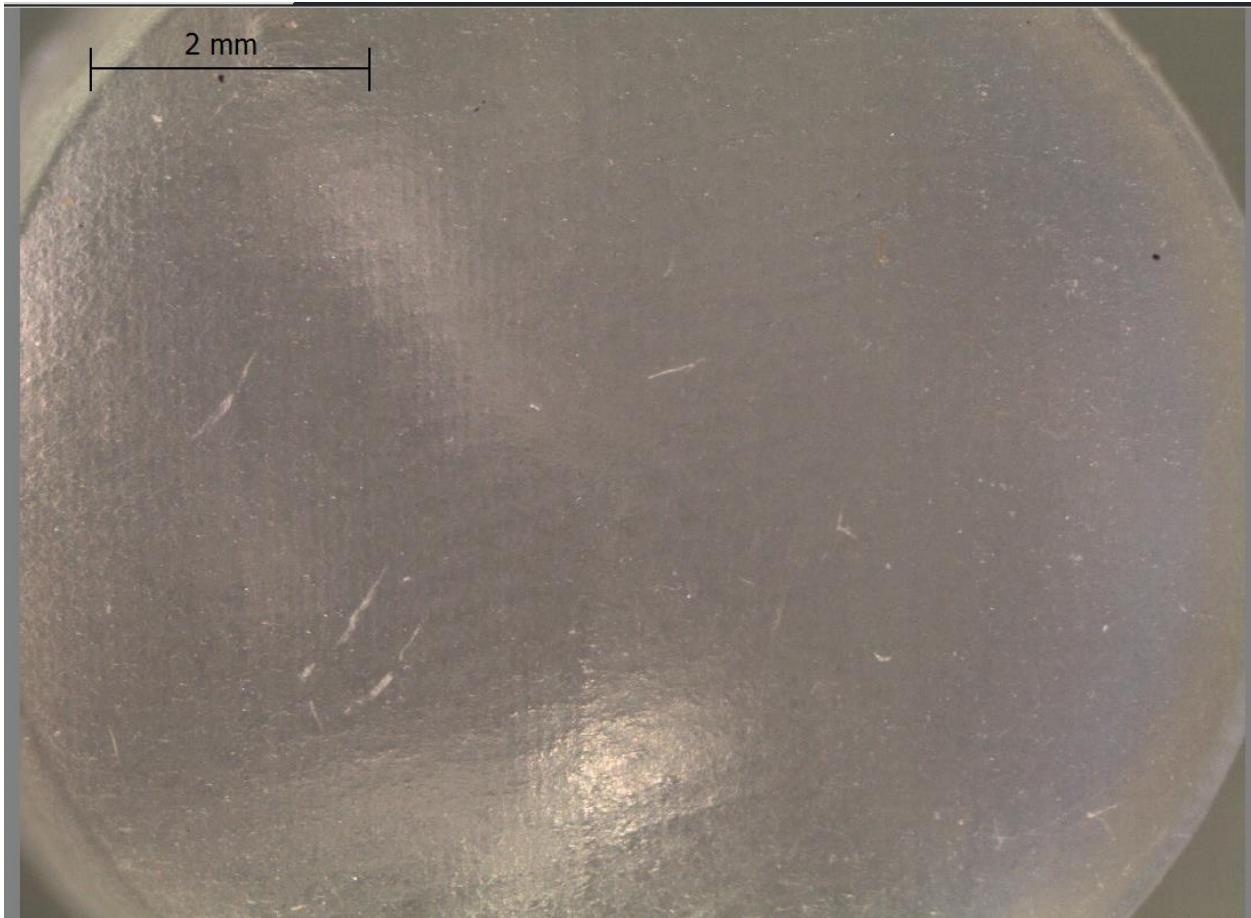


Imagen 4.9 - Fotografía del sexto molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.3.7 SÉPTIMO MOLDE

Se genera un molde con un ancho fijo de 0.04 [mm] y alturas cambiantes multiplicando su altura hasta llegar a un máximo de 0.16 [mm].

Tiempo de fabricación:

3 horas y 10 minutos.

Montaje en Preform:

Se usa la opción “one-click print”, la cual posiciona la pieza de forma automática.

Observación:

No se observan surcos muy definidos.



0.04 [mm]

Ilustración 4.9 - Diagrama del séptimo molde.

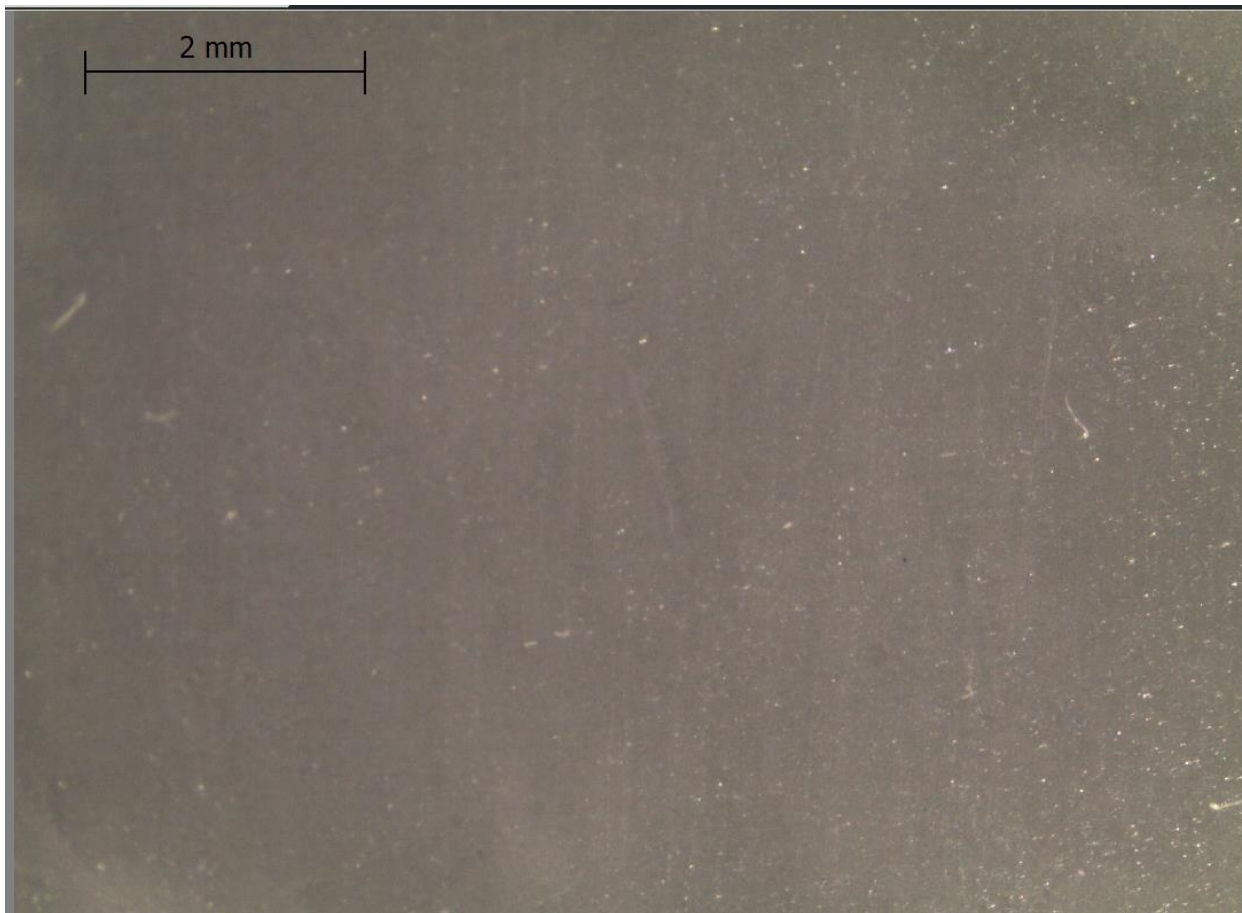


Imagen 4.10 - Fotografía del séptimo molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.3.8 OCTAVO MOLDE

Se genera mismo tipo de molde que el anterior, cambiando únicamente el plano de trabajo, usando un plano de vértices opuestos.

Tiempo de fabricación:

3 horas y 12 minutos.

Montaje en Preform:

Se usa la opción “one-click print”, la cual posiciona la pieza de forma automática.

Observación:

Existe una tendencia a formarse el surco, pero no posee una profundidad adecuada.

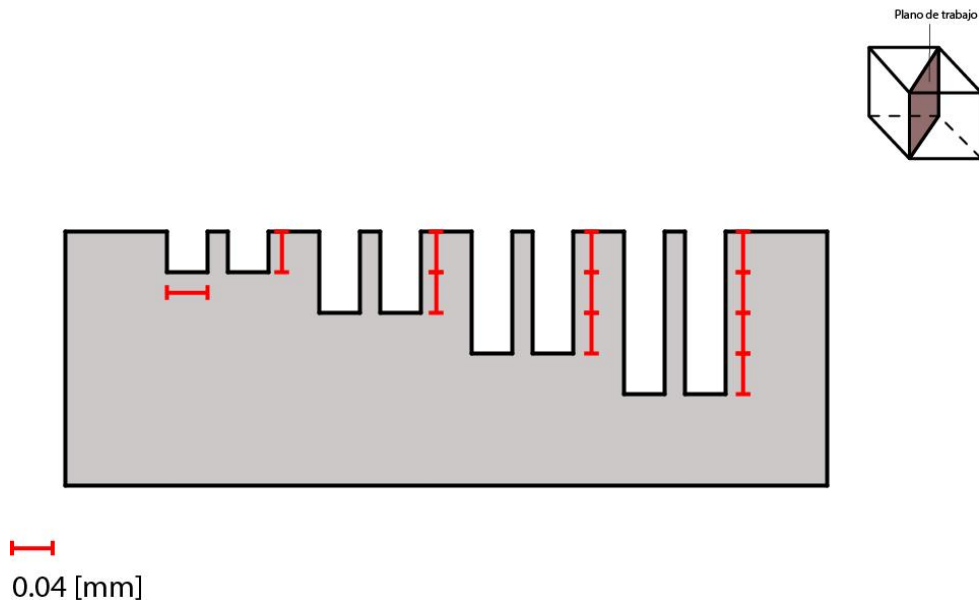


Ilustración 4.10 - Diagrama del octavo molde.

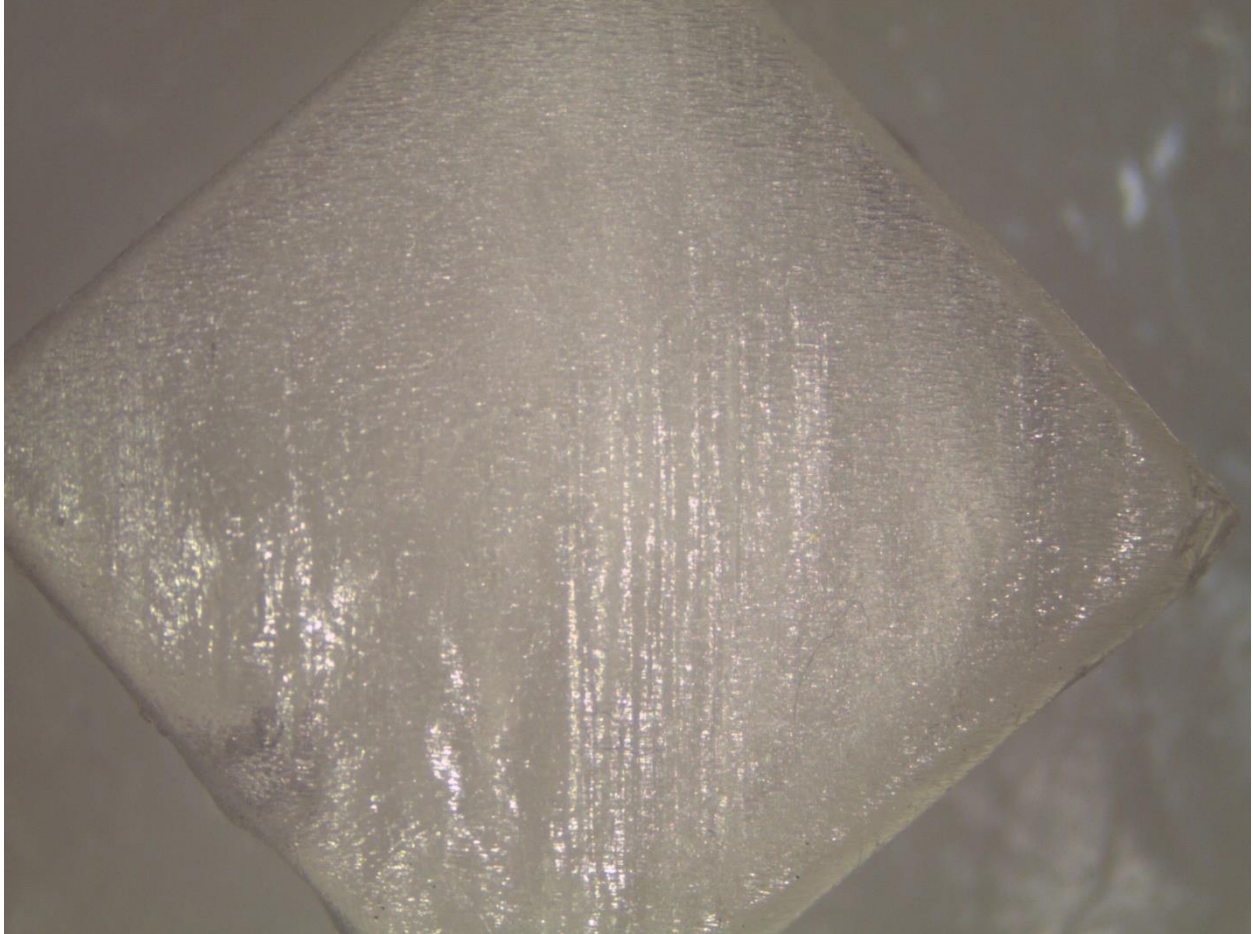


Imagen 4.11 - Fotografía del octavo molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.3.9 NOVENO MOLDE

Se crea un molde idéntico al sexto molde, solo que esta vez se cambia el posicionamiento.

Tiempo de fabricación:

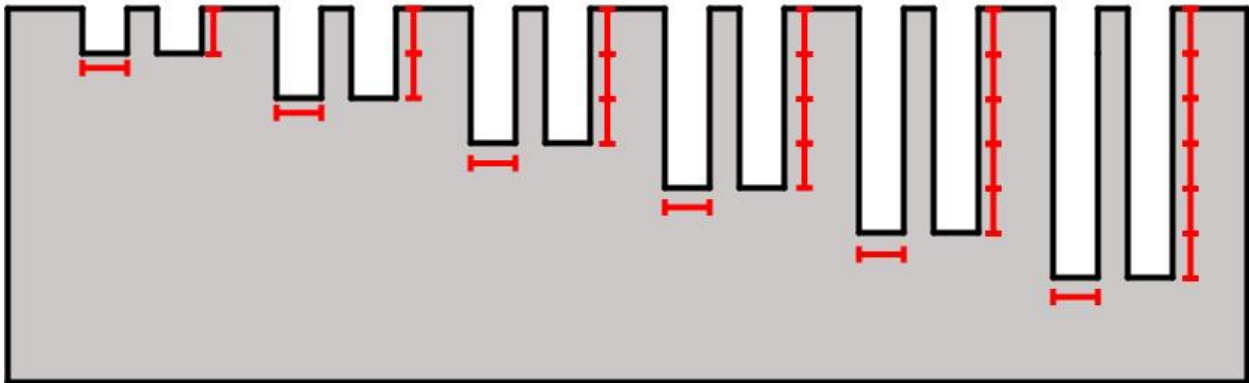
2 horas y 45 minutos.

Montaje en Preform:

Se posiciona la pieza de forma manual, dejandola de forma vertical con los surcos de forma paralela a la base (ver anexo 2.2).

Observación:

Extrañamente se observa una cuadrícula en vez de surcos definidos.



0.03 [mm]

Ilustración 4.11 - Diagrama del noveno molde.

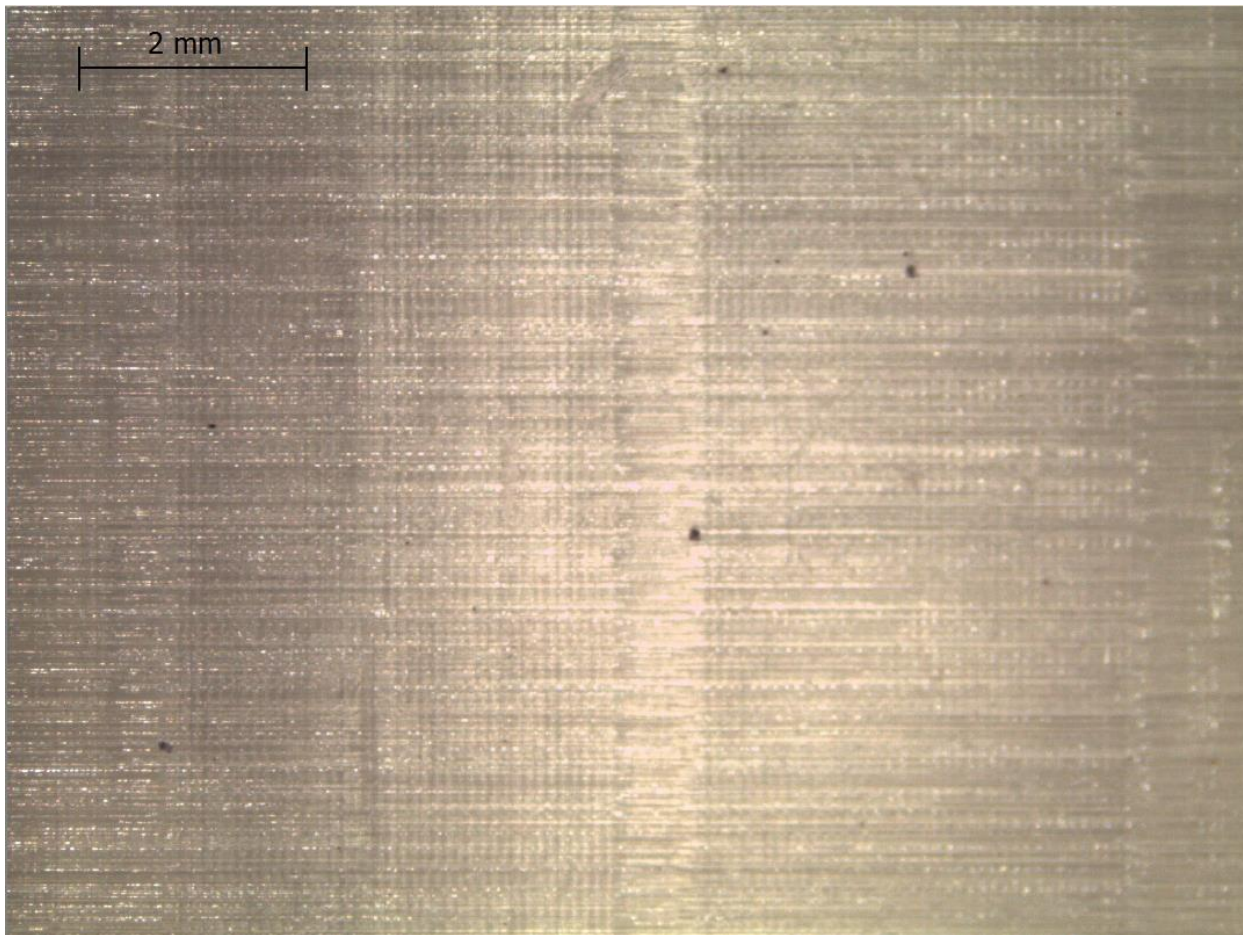


Imagen 4.12 - Fotografía del noveno molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.3.10 DÉCIMO MOLDE

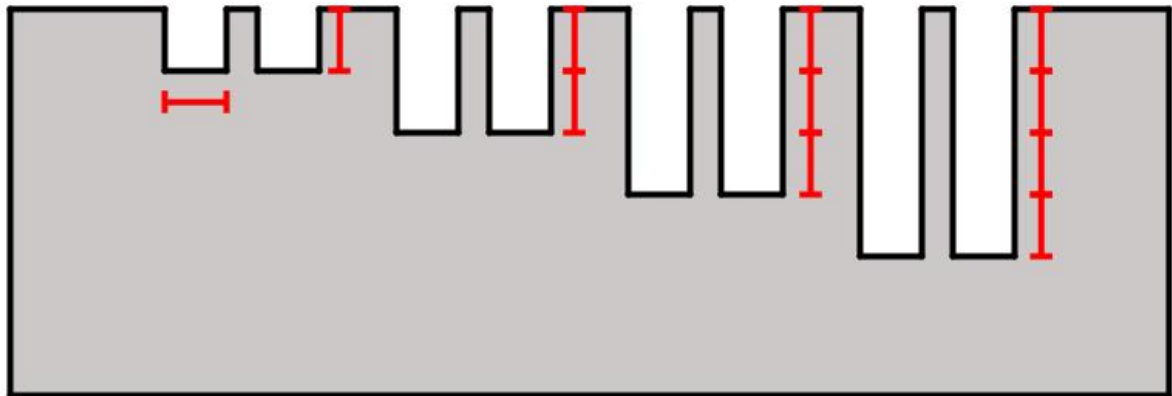
Se genera el séptimo molde otra vez, pero con posicionamiento manual.

Tiempo de fabricación:

3 horas y 2 minutos.

Montaje en Preform:

Se posiciona la pieza de forma manual, dejandola de forma vertical con los surcos de forma paralela a la base. Pero esta vez rotando 90° desde la base.



0.04 [mm]

Ilustración 4.12 - Diagrama del décimo molde.

Observación:

Al igual que el molde anterior se observa una cuadrícula en vez de surcos definidos.

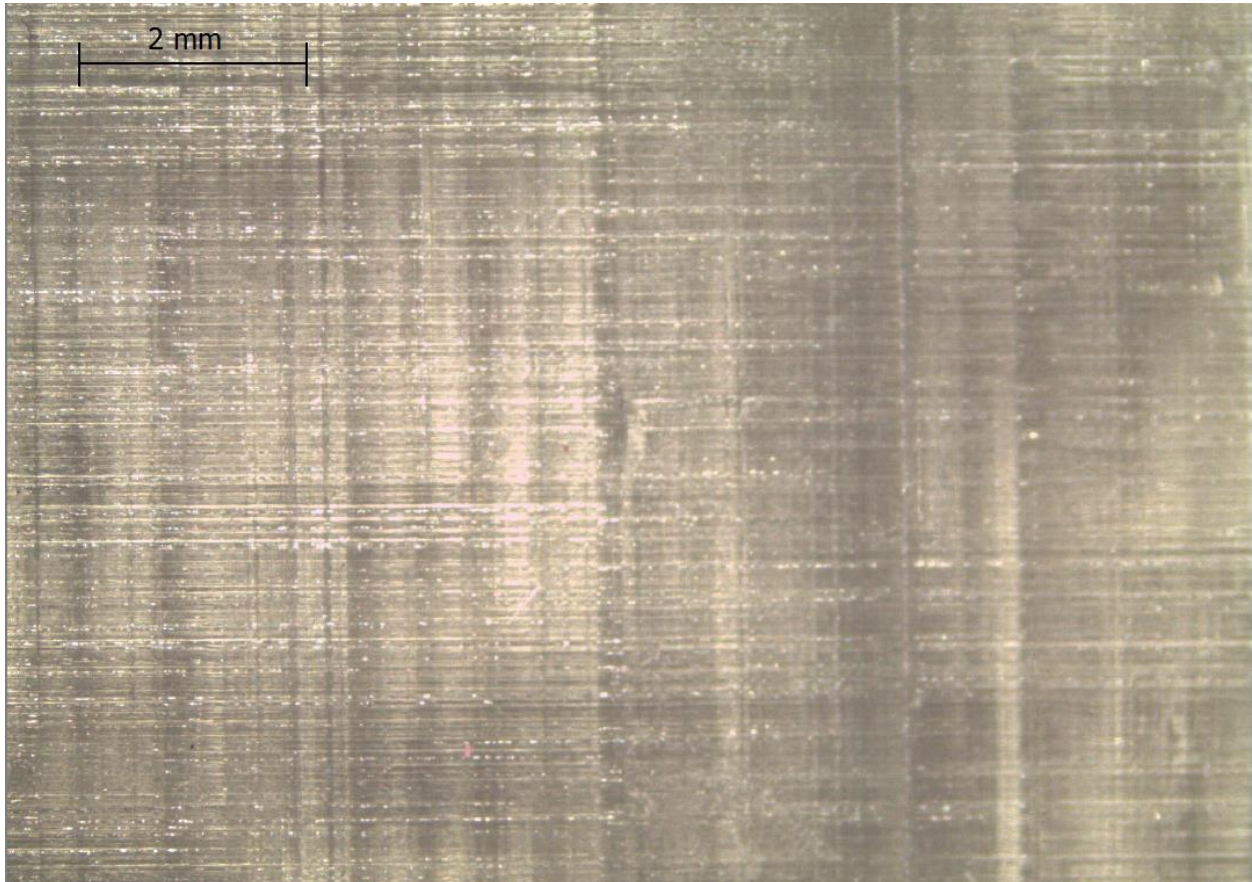


Imagen 4.13- Fotografía del décimo molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.3.11 DECIMOPRIMER MOLDE

Se genera un molde con un ancho fijo de 0.05 [mm] y alturas cambiantes multiplicando su altura hasta llegar a un máximo de 0.20 [mm].

Tiempo de fabricación:

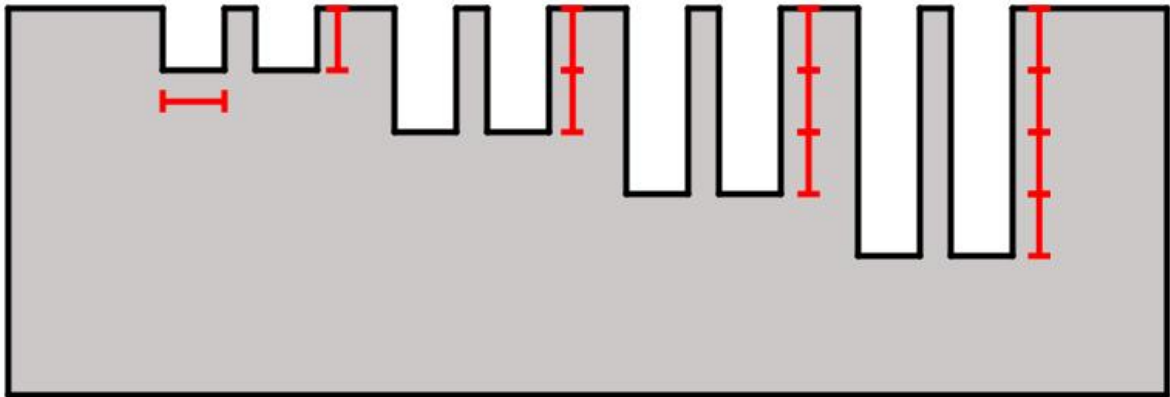
2 horas y 49 minutos.

Montaje en Preform:

Se posiciona la pieza de forma manual, dejandola de forma vertical con los surcos de forma paralela a la base.

Observación:

Se ven los mismos resultados que los moldes anteriores. La posible razón a esto es el movimiento XY continuo del laser.



0.05 [mm]

Ilustración 4.13 - Diagrama del decimoprimer molde.

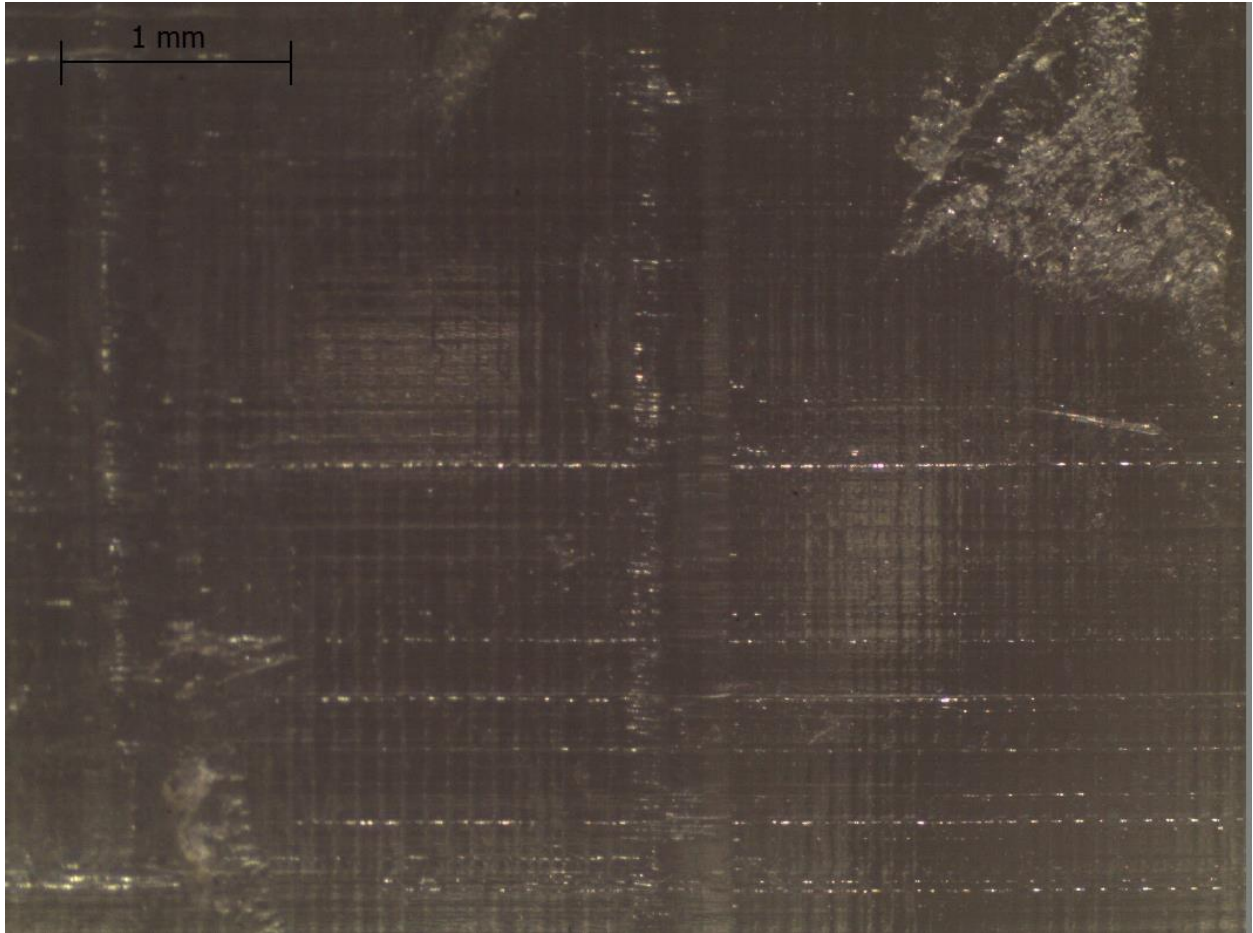


Imagen 4.14 - Fotografía del decimoprimer molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.3.12 DECIMOSEGUNDO MOLDE

Se genera el mismo molde que el anterior.

Tiempo de fabricación:

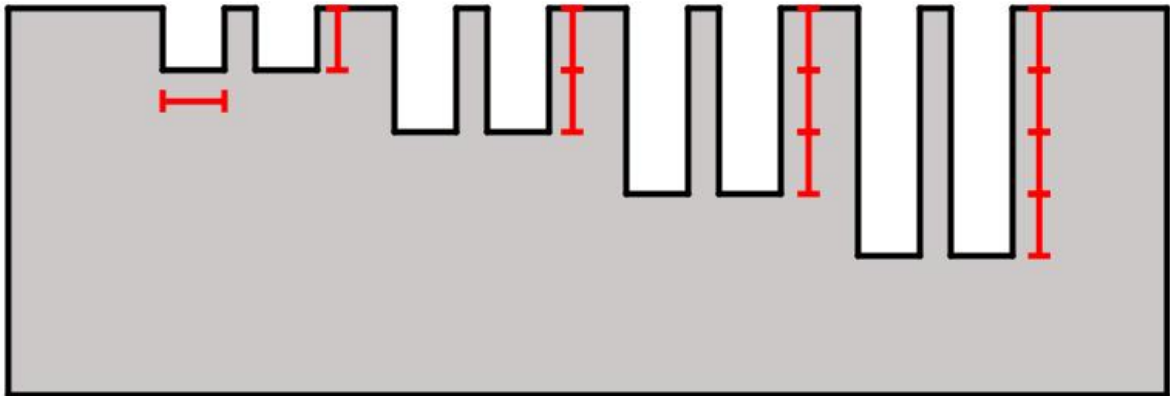
2 horas y 45 minutos.

Montaje en Preform:

Se usa un montaje manual, dejando la pieza en 45° con los surcos de forma paralela a la base (Ver anexo 2.3).

Observación:

No se observan registros de surcos en el molde.



0.05 [mm]

Ilustración 4.14 - Diagrama del decimosegundo molde.

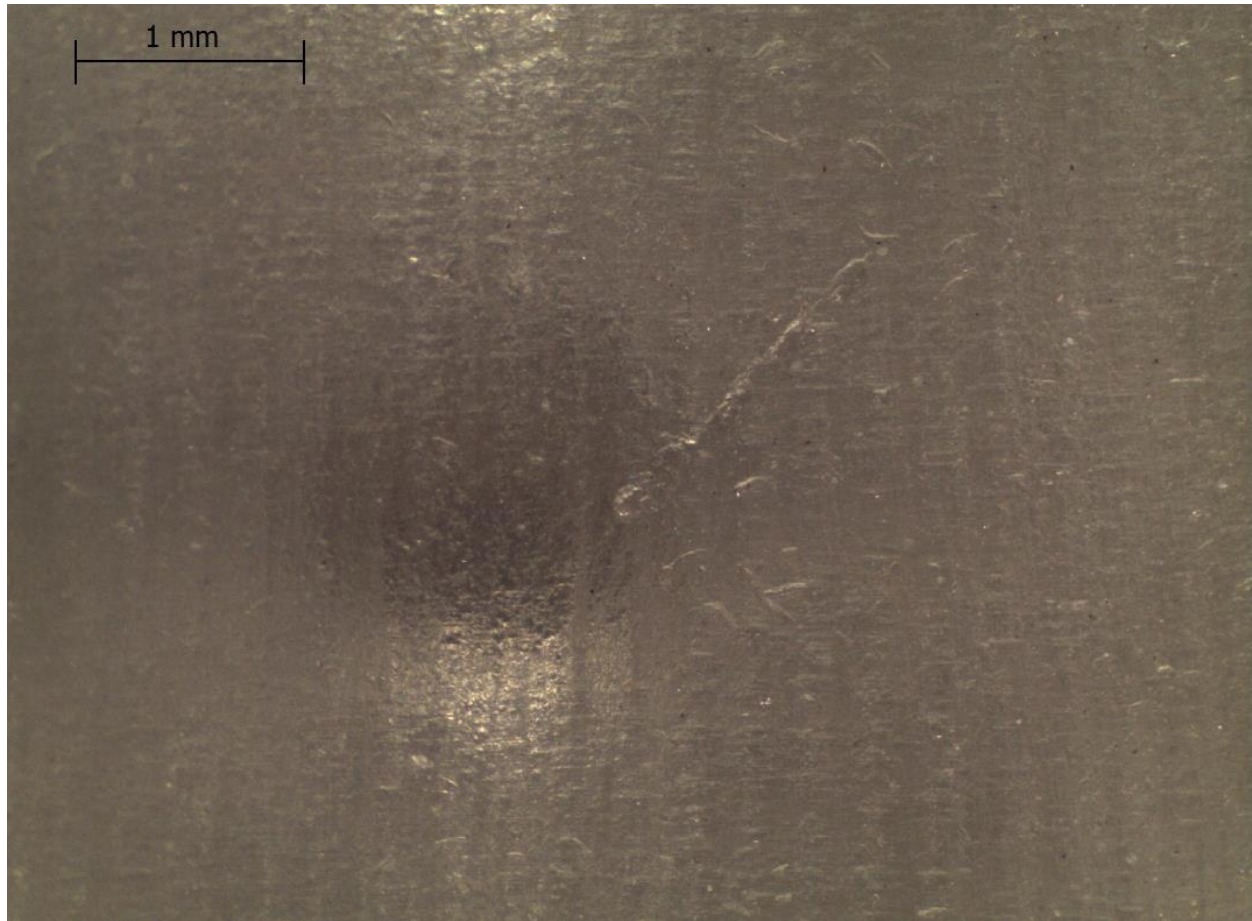


Imagen 2.15- Fotografía del decimosegundo molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.3.13 DECIMOTERCER MOLDE

Se genera el mismo molde que el anterior.

Tiempo de fabricación:

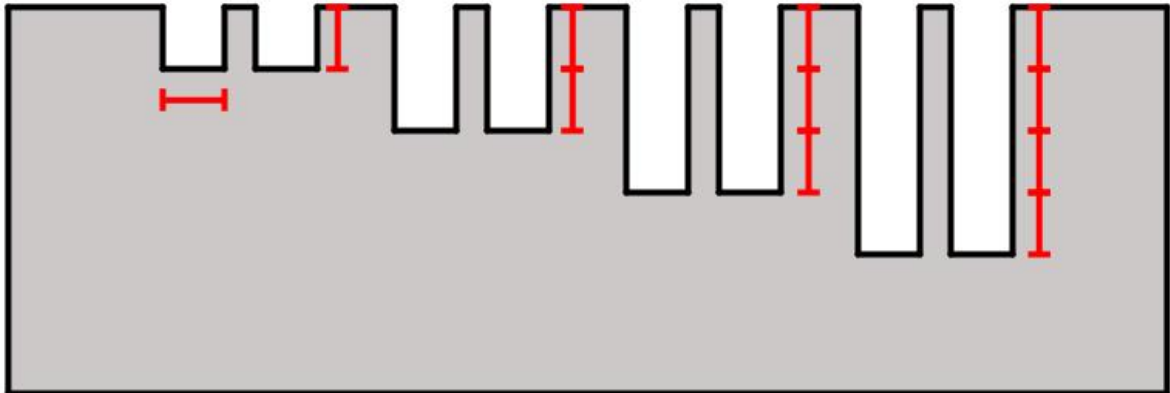
2 horas y 46 minutos

Montaje en Preform:

Se usa el mismo montaje que el anterior, solo que esta vez, se rota la pieza en 90° con respecto a la base.

Observación:

No se observan registros de surcos en el molde.



0.05 [mm]

Ilustración 4.15 - Diagrama del decimotercer molde.

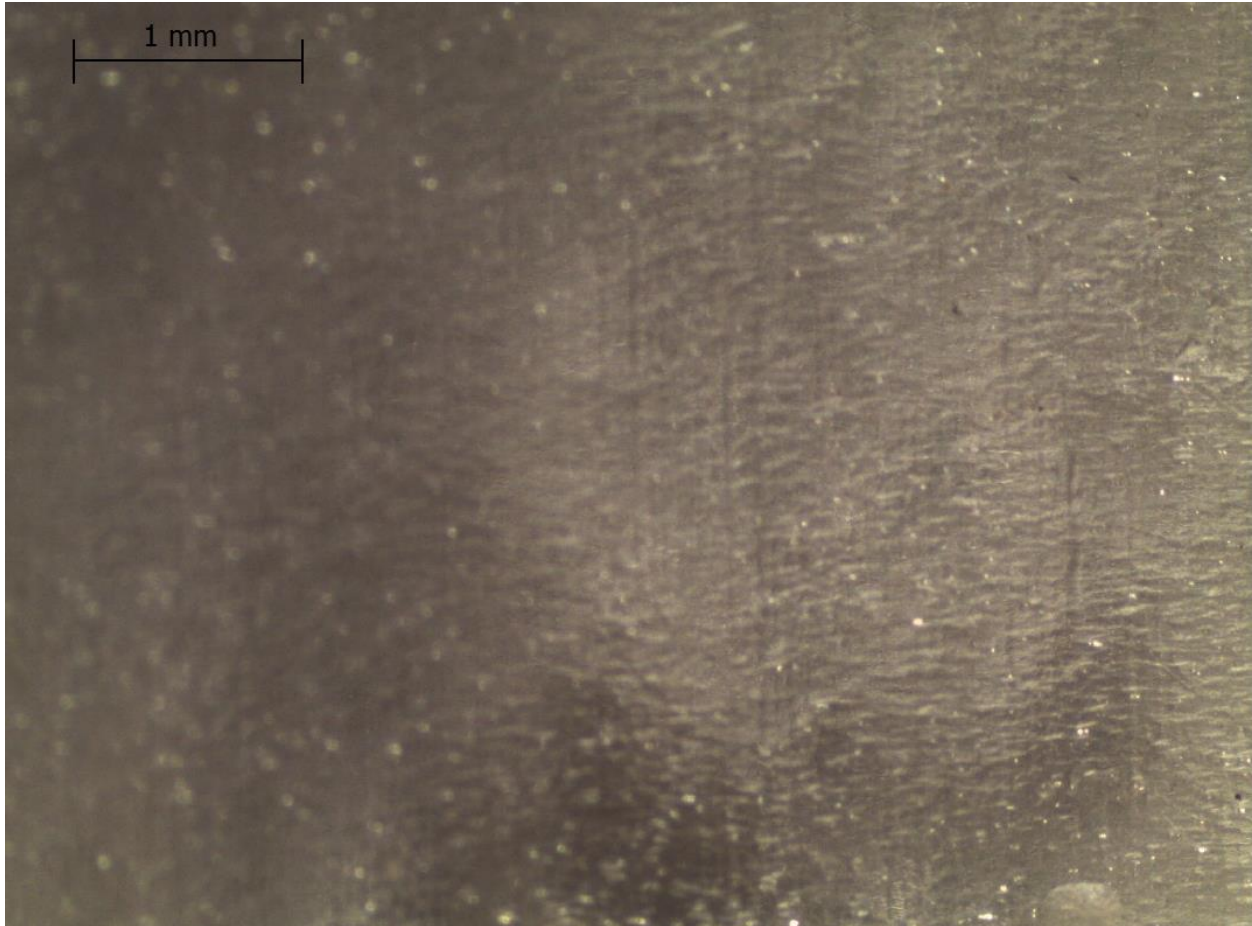


Imagen 4.16 - Fotografía del decimotercer molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.3.14 DECIMOCUARTO MOLDE

Se genera un molde con ancho de 0.05 [mm] y con una altura 0.5 [mm].

Tiempo de fabricación:

3 horas y 5 minutos.

Montaje en Preform:

Se usa el mismo montaje que la pieza anterior.

Observación:

Se logran ver algunos indicios de surcos, pero al ver detalladamente se observa que estos se encuentran rellenos.

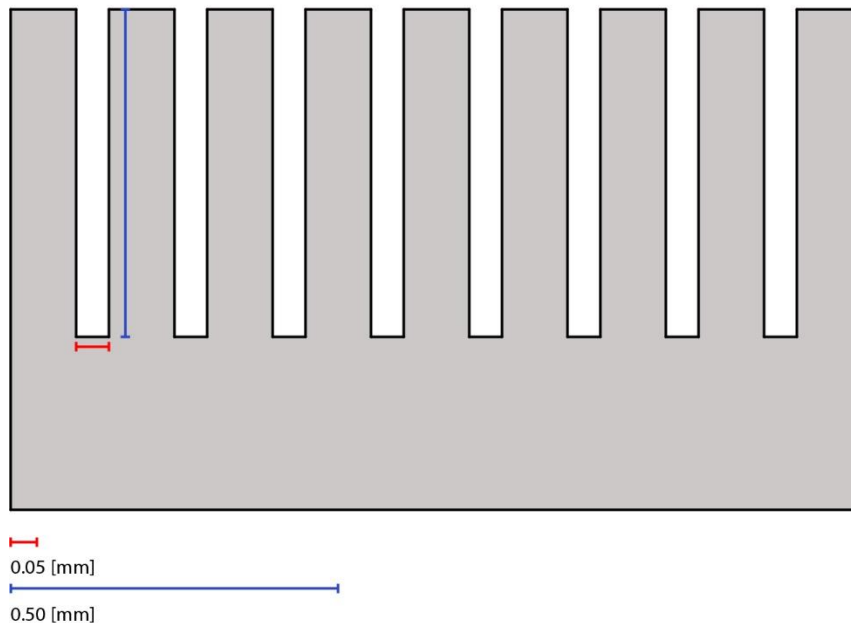


Ilustración 4.16 - Diagrama del decimocuarto molde.

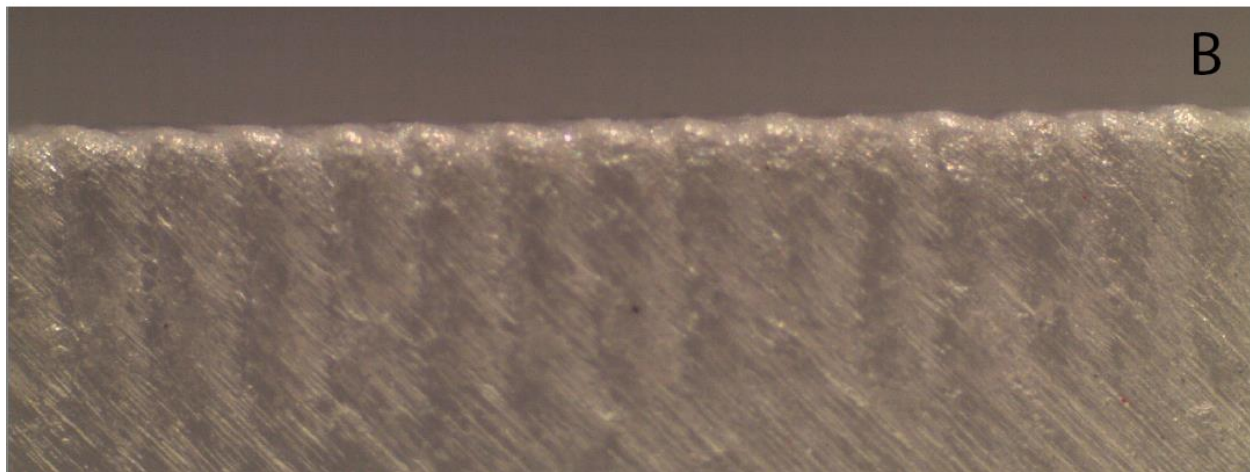
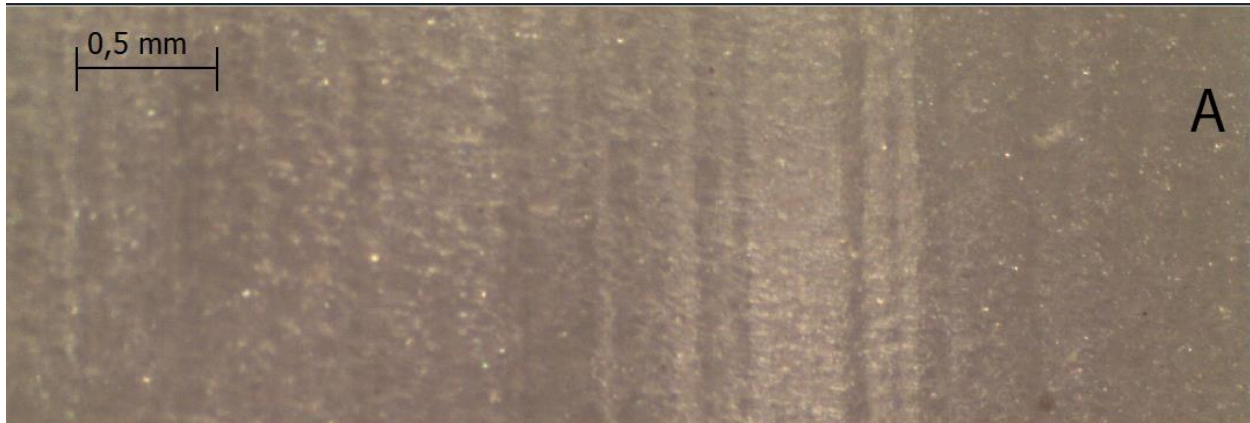


Imagen n 4.17 – Parte superior (A) y lateral (B) del decimocuarto molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.3.16 DECIMOQUINTO MOLDE

Se utiliza el mismo ancho del molde anterior pero esta vez se utiliza una altura de 1 [mm].

Tiempo de fabricación:

3 horas y 3 minutos.

Montaje en Preform:

Se usa el mismo montaje que la pieza anterior.

Observación:

Al igual que el molde anterior se ven indicos de surco, pero se encuentran rellenos.

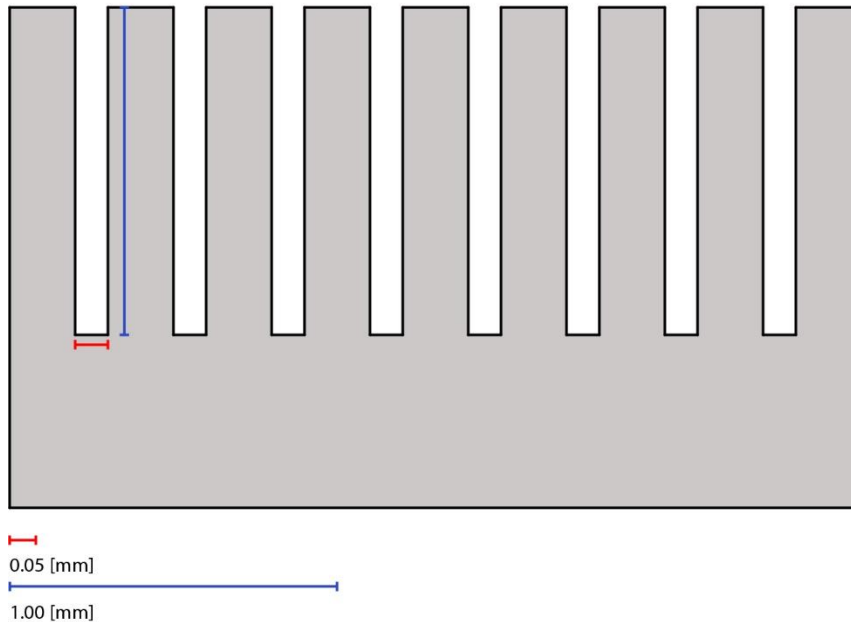


Ilustración 4.17 - Diagrama del decimosexto molde.

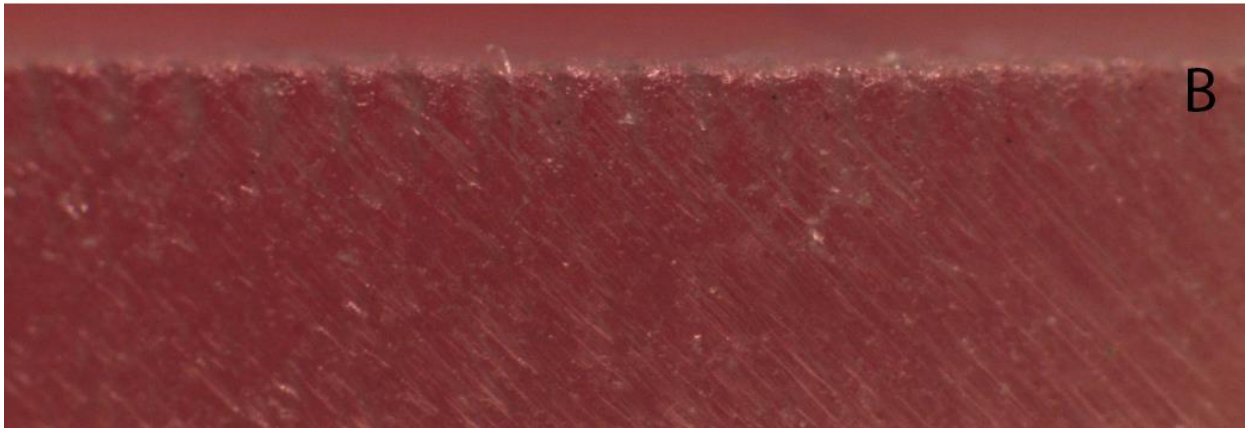
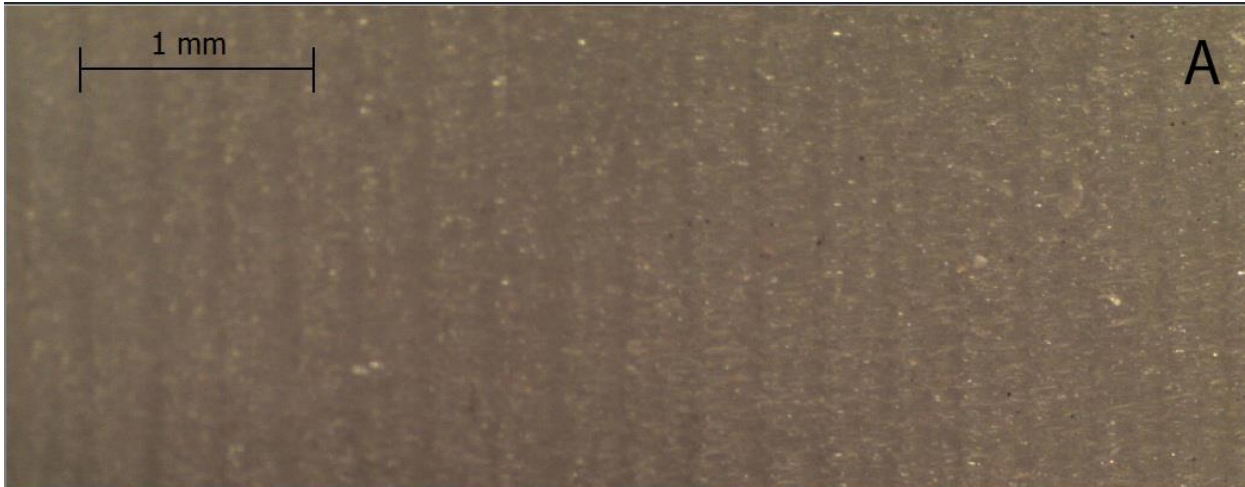


Imagen 4.18- Parte superior (A) y lateral (B) del decimosexto molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.3.17 DECIMOSEXTO MOLDE

Se genera un molde liso, sin ningún tipo de surco en él. Además, se cambia a la resolución más baja dada por el material (0.1 [mm]).

Tiempo de fabricación:

18 minutos.

Montaje en Preform:

Se usa la opción “one-click print”, la cual posiciona la pieza de forma automática.

Observación:

Se logra apreciar surcos bien definidos con anchos de 0.14 [mm] y profundidad de 0.08 [mm]. Para ver imágenes mas detalladas ver anexo 4.



Ilustración 4.18 - Diagrama del decimoséptimo molde.

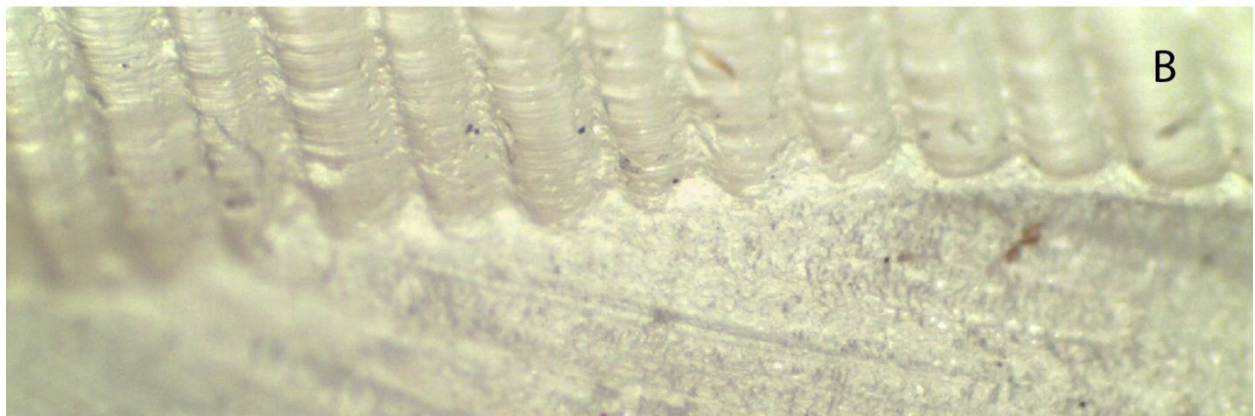
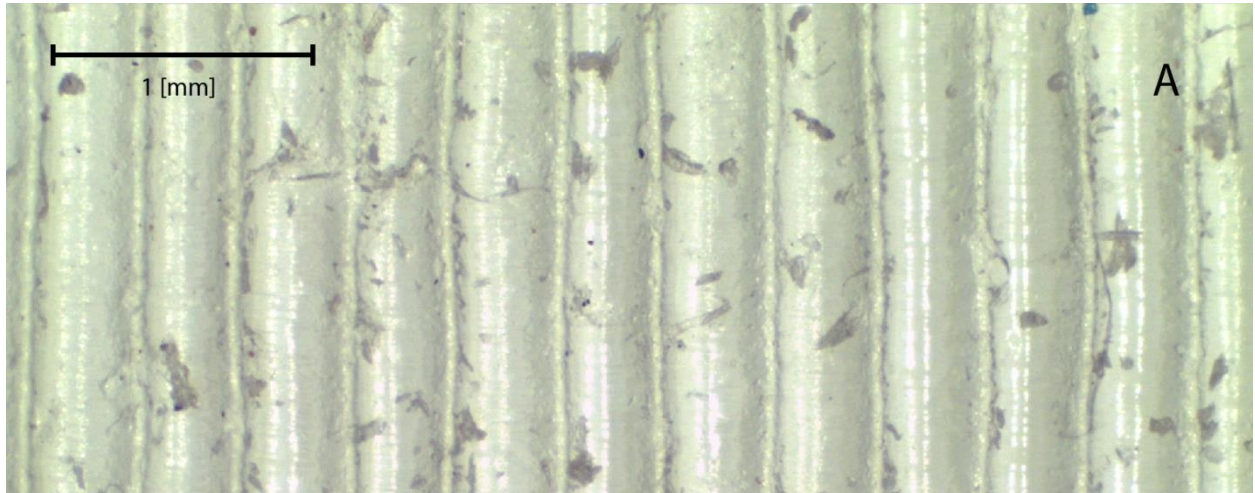


Imagen 4.19 - Parte superior (A) y lateral (B) del decimoséptimo molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.4 PROCESOS POR MANUFACTURA SUSTRACTIVA DIGITAL EN 2D.

Al igual que la manufactura aditiva, este tipo de tecnología sirve tanto para la producción de prototipos como productos finales.

Este método pretende la generación de piezas por medio de la remoción de exceso de material a través de una herramienta de corte (ver imagen 4.20), el material recibe una deformación cortante, creando viruta o residuos del

mismo material (Kalpakjian y Schmid, 2008).

Los procesos de manufactura sustractiva digital, al igual que la manufactura aditiva, requieren de un archivo digital diseñado en un software CAD, pero esta vez los archivos son en 2D, permitiendo únicamente cortes y semi-cortes en un solo plano del material.

Dentro de la tecnología de sustracción se destacan principalmente dos tipos, en primer lugar, tenemos el maquinado, estas usan herramientas que entran en contacto con la pieza (ej: una broca) para



Imagen 4.20 – Ejemplo de maquinado por medio de CNC (Fuente: fundación vmo).

la remoción de material, ejemplos de estos tenemos las maquinas CNC y fresadoras. Por otro lado, tenemos las maquinas que no usan herramientas, si no que usan recursos para el corte, ejemplos de esto son las tecnologías como Waterjet, que usa un chorro de agua a alta presión, el corte por plasma y el láser. En este último se profundizará

ya que fue utilizado para la generación de moldes (Kalpakjian y Schmid, 2008).

4.5 CORTE POR LÁSER

El corte láser es un proceso térmico de alta precisión y velocidad que permite cortar o grabar una gran cantidad de materiales como plástico, madera y metal. Esta tecnología funde y evapora total o parcialmente el material por medio

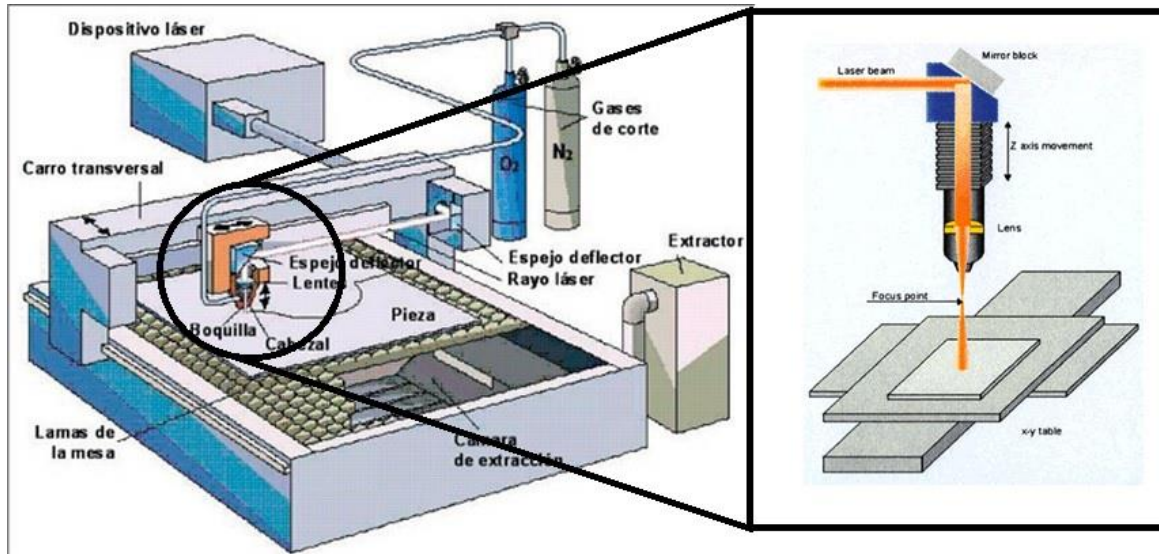


Ilustración 4.19 – Diagrama del funcionamiento del corte por láser (fuente: lemaco).

de la energía de un haz de luz láser (ver imagen 4.19) concentrada en una pequeña área, la alta potencia concentrada en un punto da como resultado el corte o semi-corte. Por lo general el corte láser va asistido por un gas de alta presión que arrastra el material fundido fuera del surco de corte, generando así una pieza limpia y sin deformaciones (Sculpteo, S/A).

4.6 MOLDES A PARTIR DEL CORTE POR LÁSER

Para este proyecto se ha utilizado la cortadora láser Acctek modelo AKJ 1390, sus principales características son:

- Área de trabajo de 1300x900 [mm].
- Láser tipo CO₂.
- Potencia regulable (130, 150, 180 260 y 300 W).

- Velocidad regulable (1 a 1000 [mm/s]).
- Presición del +/- 0.01 [mm].



Imagen 4.21 – Máquina ACCTEK AKJ1390 (Fuente: Acctek).

El material seleccionado ha sido acrílico de 3 [mm] de espesor. Debido a sus excelentes propiedades, como una gran dureza, siendo similar a algunos metales no ferrosos como el cobre, posee una gran resistencia mecánica (siendo este 6 veces mejor al vidrio) y maleabilidad, lo

que permite el trabajo con herramientas (RKIPLUS, S/A).

Para la modelación de las piezas se ha usado el software CAD, Autocad 2016 y se generaron muestras de 52 [mm], simulando el tamaño de una placa petri (Ver imagen 4.20).

Ya teniendo modelada la pieza, se debe guardar en formato “.dxf” y se posiciona el software de la maquina llamado “LaserCut”, en donde se deben seleccionar los trazos e ingresar la

potencia y velocidad deseada (para generar corte o semi-corte) luego de ello mediante el mismo programa se envía el archivo a la maquina para que interprete y comience el trabajo.

Al tratarse de solo cortes, el tiempo de trabajo es mucho menor, llegando a un promedio de 5 minutos por cada 3 placas creadas.

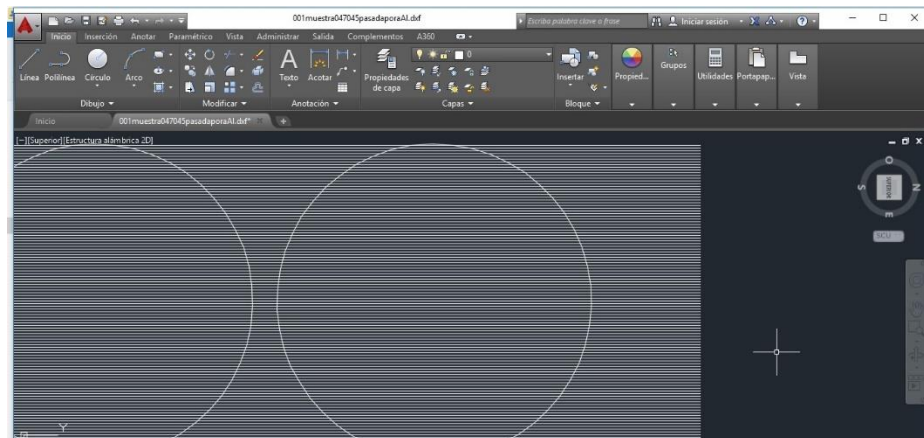


Ilustración 4.20 – Diagrama del primer molde en 2D.

4.6.1 PRIMER MOLDE

TIPO DE SURCO

Se generan moldes con surcos de separación de 0.03 [mm].

PARAMETROS:

Para semi-corte (surcos):

- Laser power: 16
- Corner power: 13
- Speed: 300

Para corte (generar la placa):

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

OBSERVACIÓN:

El resultado fue una pieza totalmente lisa, esto es debido a que no se ha considerado el grosor del láser como parámetro.

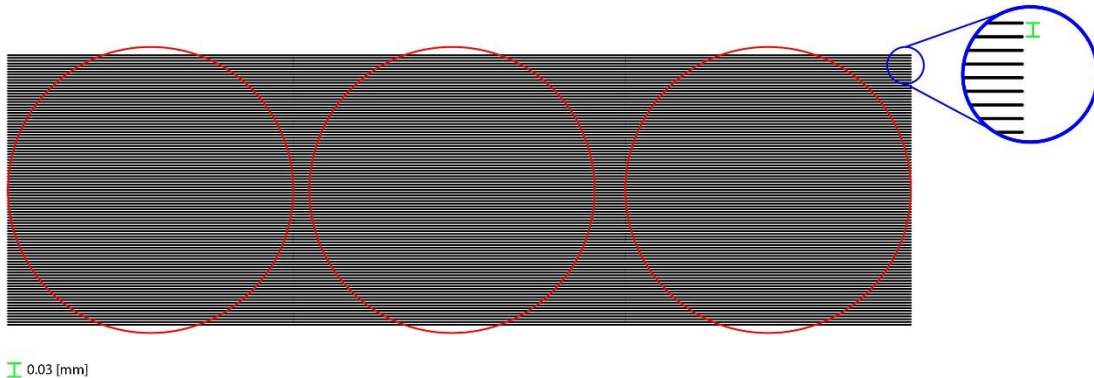


Imagen 4.22– Diseño de moldes en 2d por medio del software Autocad.

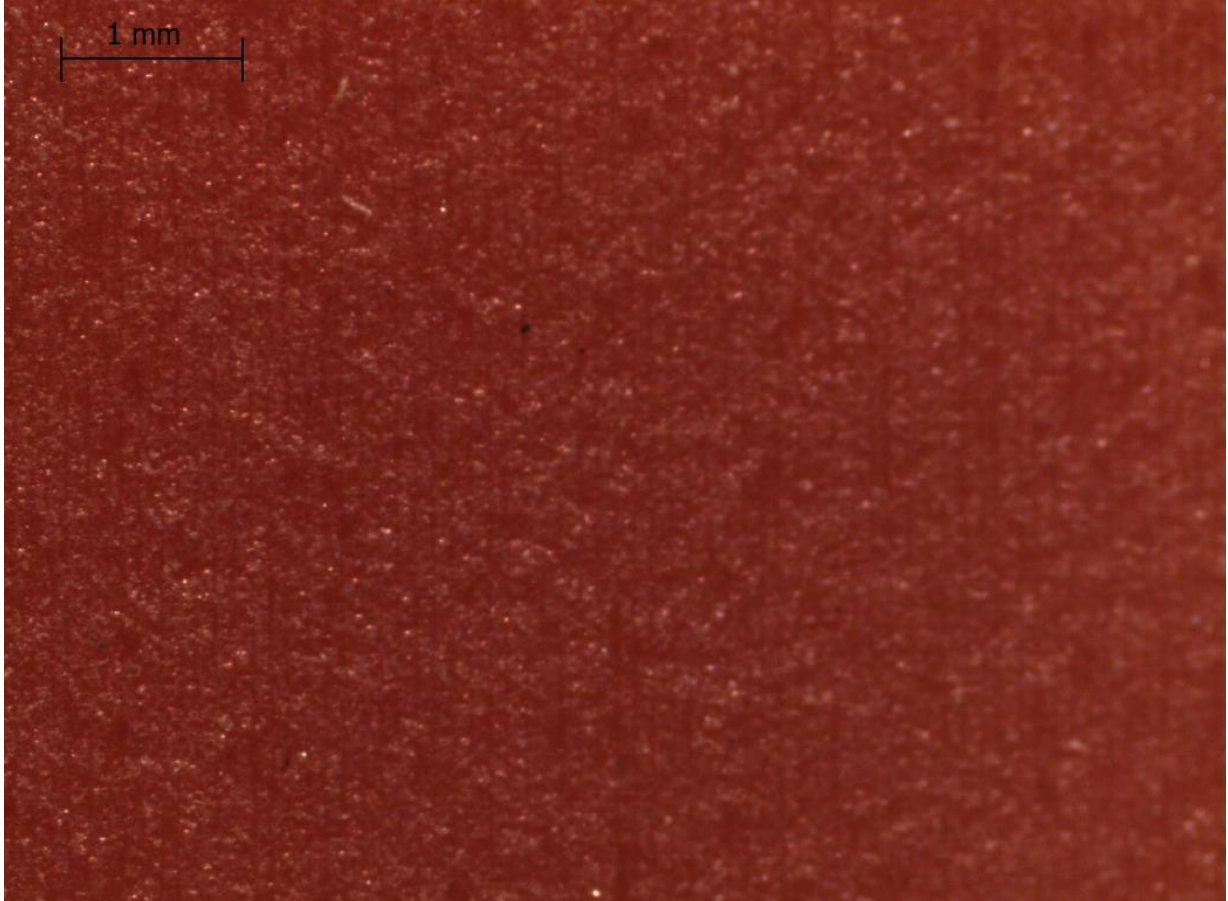


Imagen 4.23 - Fotografía del primer molde tomada con lupa Leica EZ4HD.

4.6.2 SEGUNDO MOLDE

TIPO DE SURCO

Se generan moldes con surcos de separación de 0.55 [mm], considerando el grosor del láser a 0.5 [mm], se usa una potencia estándar para semi-cortes en acrílicos.

PARAMETROS:

Para semi-corte (surcos):

- Laser power: 20
- Corner power: 18
- Speed: 300

Para corte (generar la placa):

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

OBSERVACIÓN:

Se logran apreciar pequeños surcos, llegando a un promedio de 0.2 [mm] de profundidad.

Debido a cercanía del inicio de los semi-cortes con los bordes de las placas, se ve deformada la placa, esto es debido a

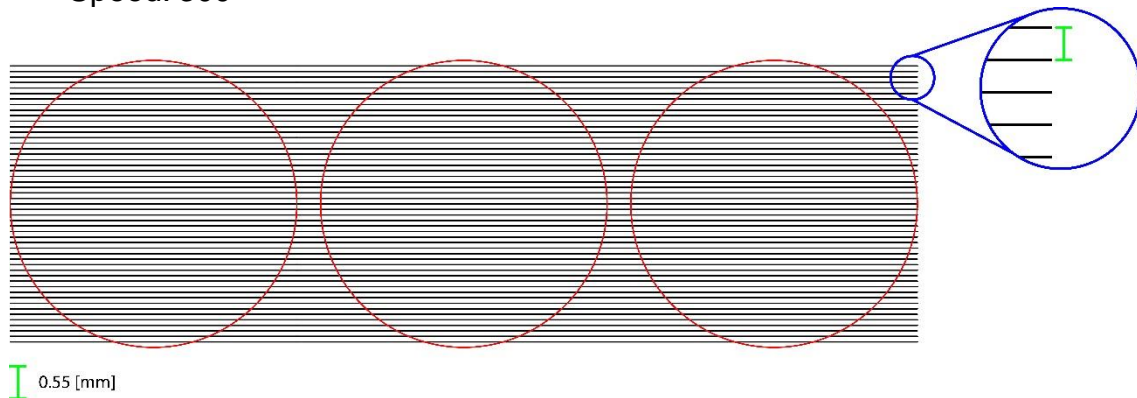


Ilustración 4.21 – Diagrama del segundo molde.

la gran potencia inicial del láser la cual se va regulando.

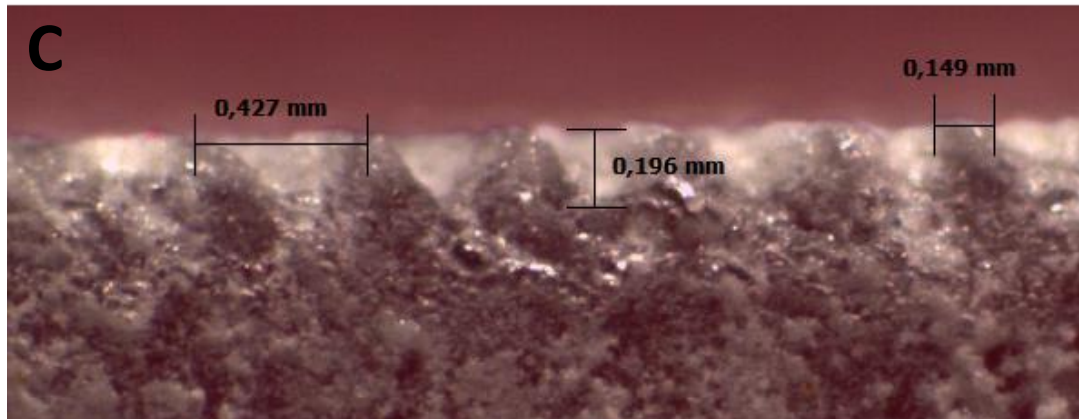
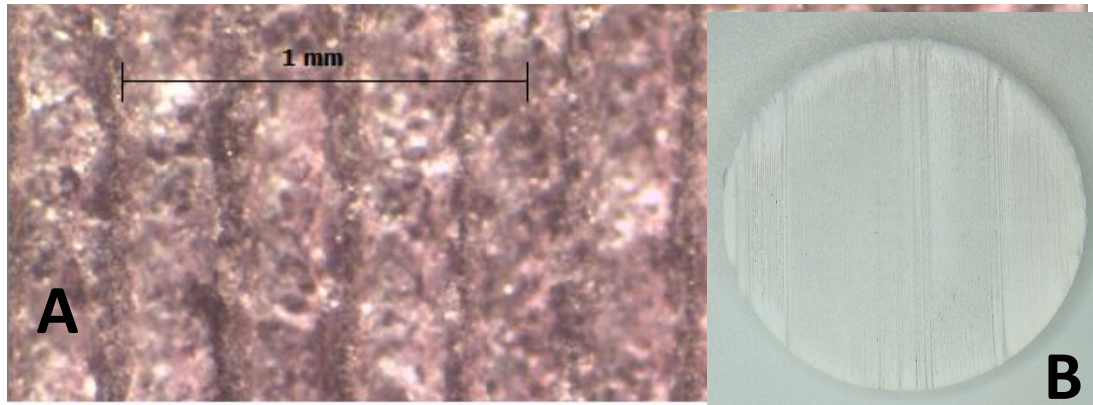


Imagen 4.24 – Vista superior de la microestructura del molde (A), Vista superior de molde dañado en los laterales por inicio del láser (B), vista lateral y mediciones del molde (C).

4.6.3 TERCER MOLDE

TIPO DE SURCO:

Se usa el mismo modelo del molde anterior, se cambian los parámetros de la potencia del láser en la cortadora para poder alcanzar la profundidad deseada y se extienden las líneas finales.

PARAMETROS:

Para semi-corte (surcos):

- Laser power: 22
- Corner power: 19
- Speed: 300

Para corte (generar la placa):

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

OBSERVACIÓN:

Lo que se busca es encontrar la potencia adecuada para la generación de una placa con 0.3 [mm] de profundidad.

Para este caso se ha logrado una altura de 0.24 [mm] promedio.

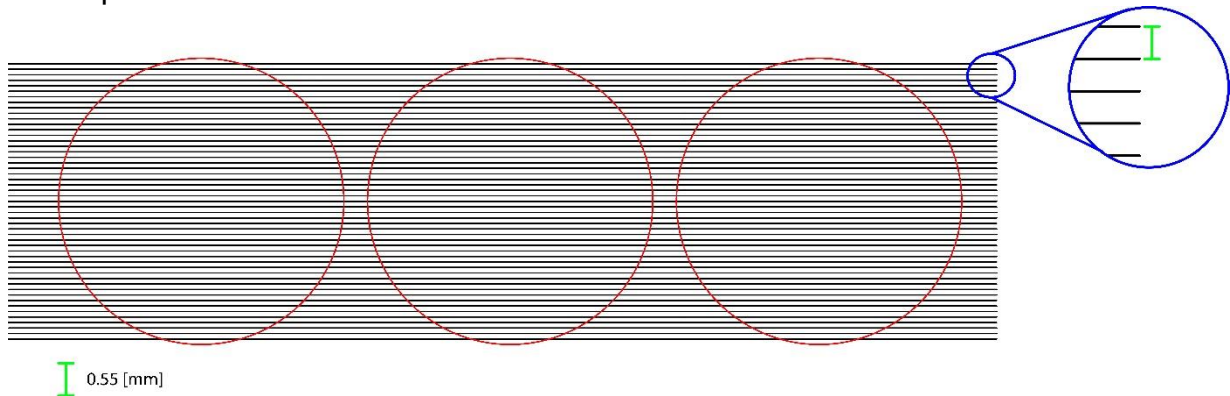


Ilustración 4.22 – Diagrama del tercer molde.

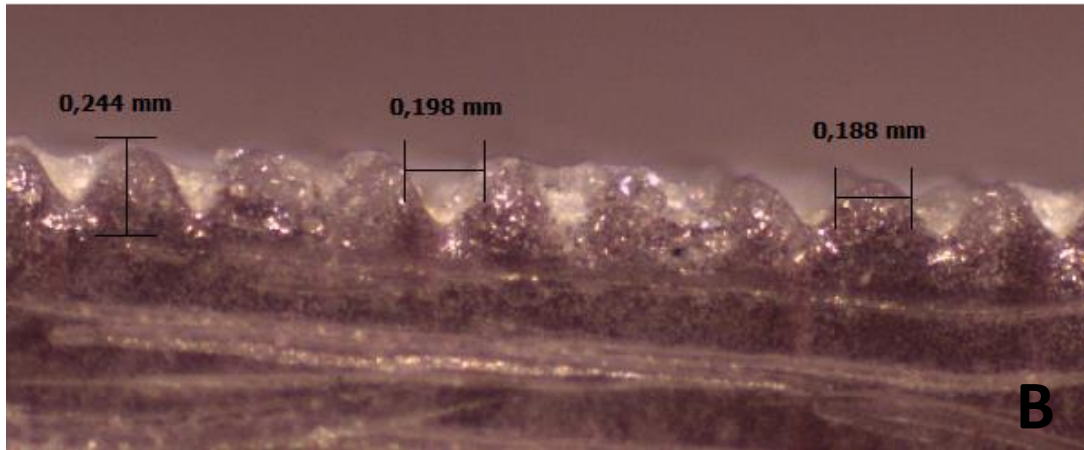
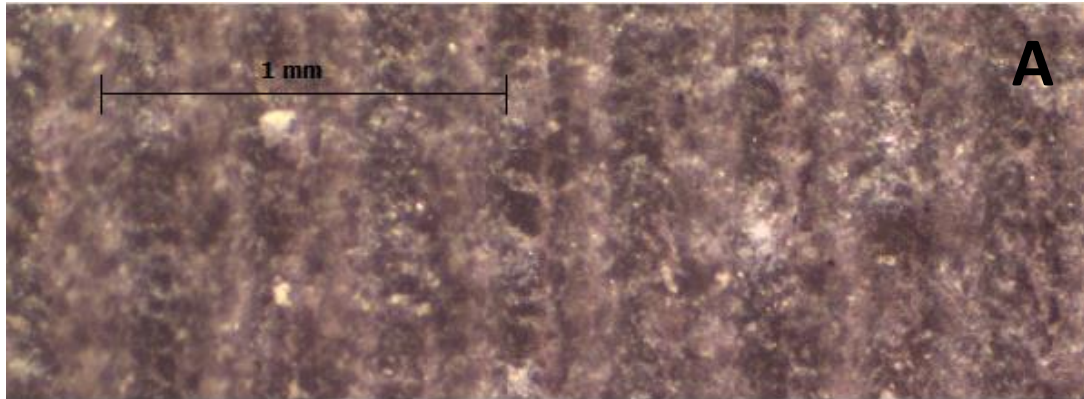


Imagen 4.25 - Vista superior de la microestructura del molde (A) y vista lateral y mediciones del molde (B).

4.6.4 CUARTO MOLDE

TIPO DE SURCO:

Se usa el mismo modelo del molde anterior, solo se cambia la potencia del láser para poder encontrar la profundidad deseada.

PARAMETROS:

Para semi-corte (surcos):

- Laser power: 23
- Corner power: 20
- Speed: 300

Para corte (generar la placa):

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

OBSERVACIÓN:

Subiendo sólo un punto en la potencia del láser no se logran ver diferencias con el molde anterior.

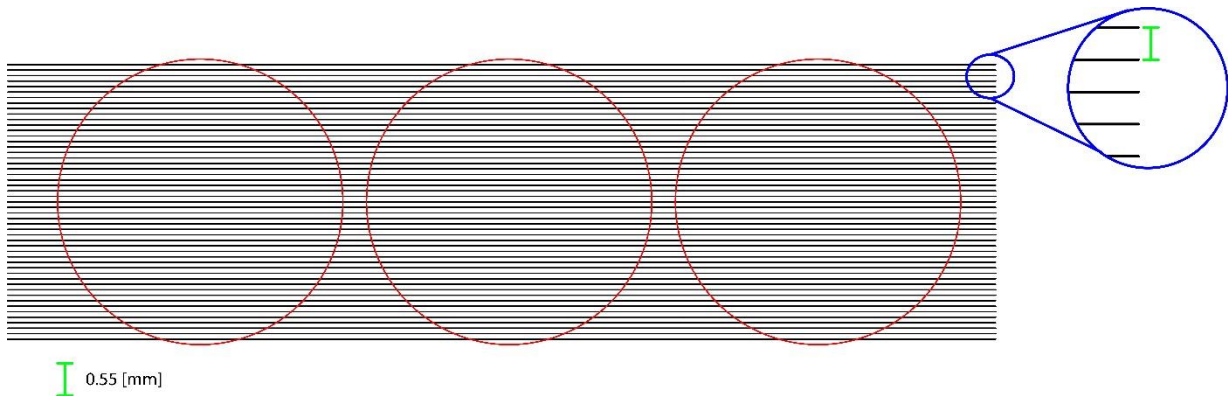


Ilustración 4.23 – Diagrama del cuarto molde.

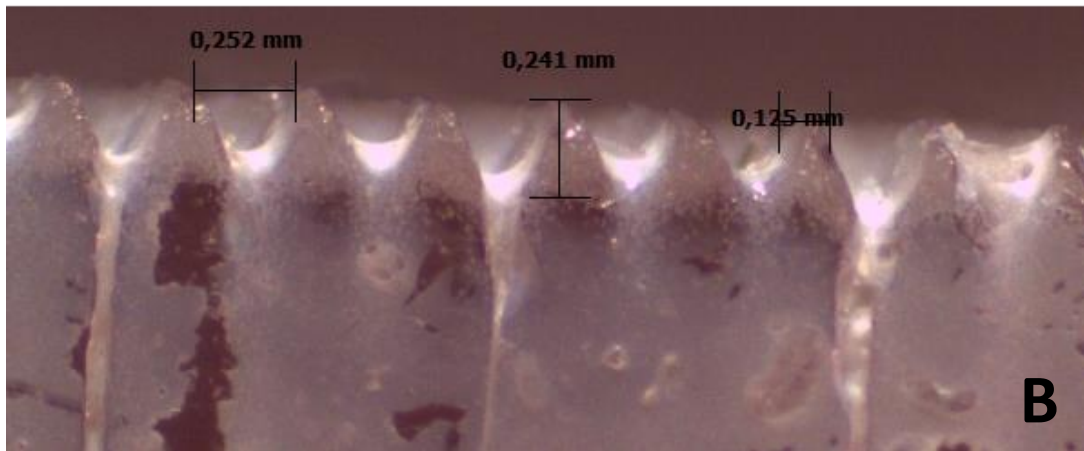
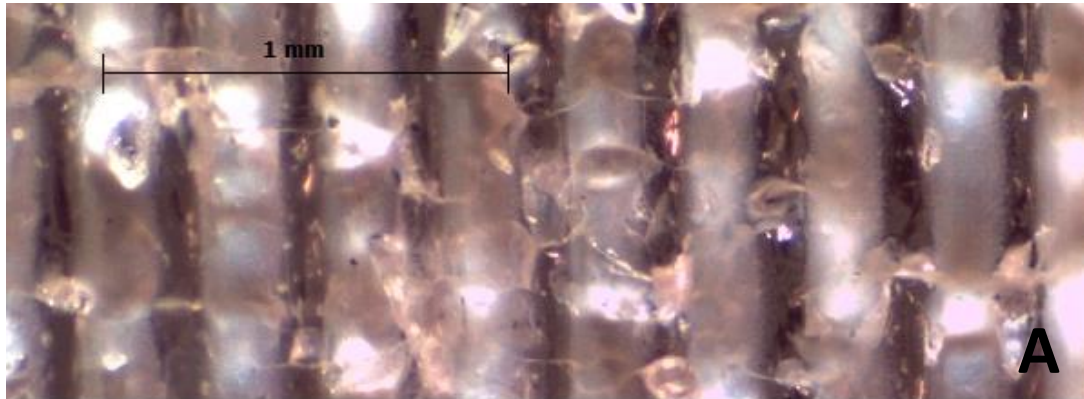


Imagen 4.26 - Vista superior de la microestructura del molde (A) y vista lateral y mediciones del molde (B).

4.6.5 QUINTO MOLDE

TIPO DE SURCO:

Se usa el mismo modelo del molde número tres, al igual que el molde anterior solo se cambia la potencia del láser para alcanzar mayor profundidad.

PARAMETROS:

Para semi-corte (surcos):

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

Para corte (generar la placa):

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

OBSERVACIÓN:

Se logra obtener la altura deseada llegando a un promedio de 0.37 [mm]

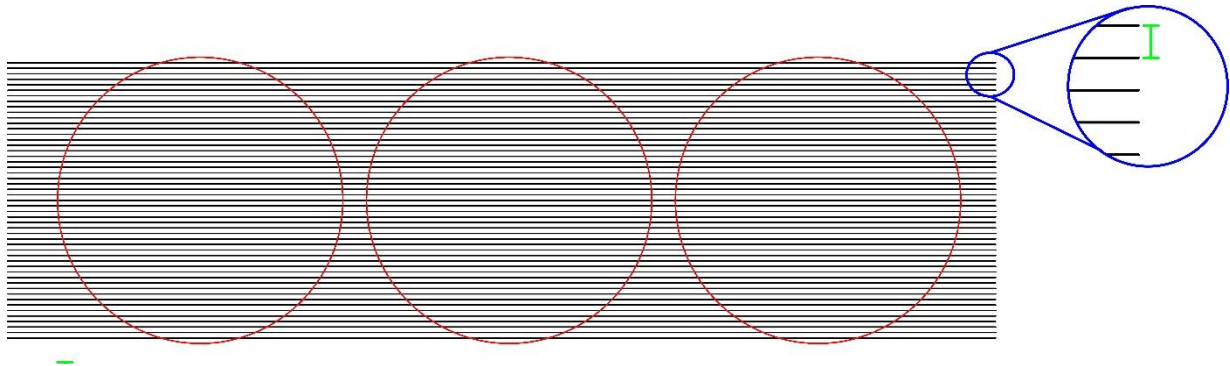


Ilustración 4.24 – Diagrama del quinto molde.

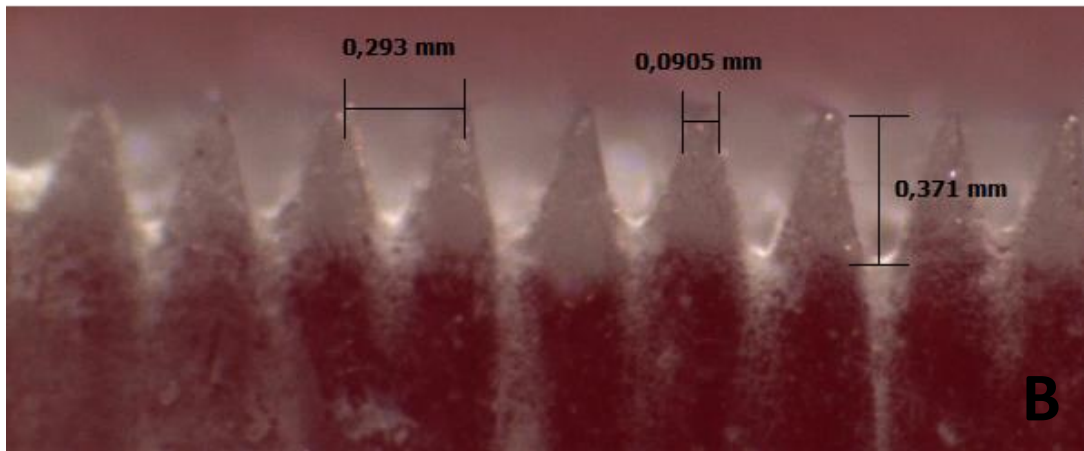
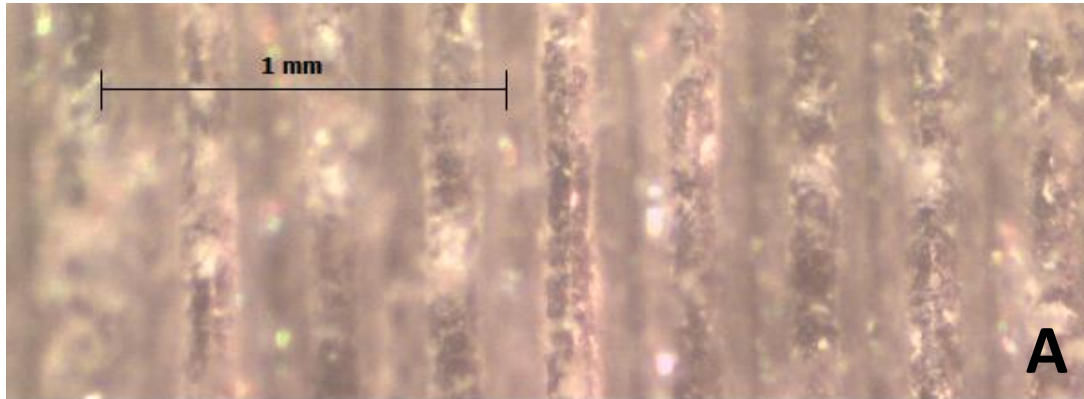


Imagen 4.27 - Vista superior de la microestructura del molde (A) y vista lateral y mediciones del molde (B).

4.6.6 MEDICIÓN DEL CORTE LÁSER

TIPO DE SURCO

Solo se hace una linea para la medición exacta del grosor del láser.

PARAMETROS:

Para semi-corte (surcos):

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

OBSERVACIÓN:

Se logra obtener el grosor del láser de la máquina siendo este de 0.4 [mm].

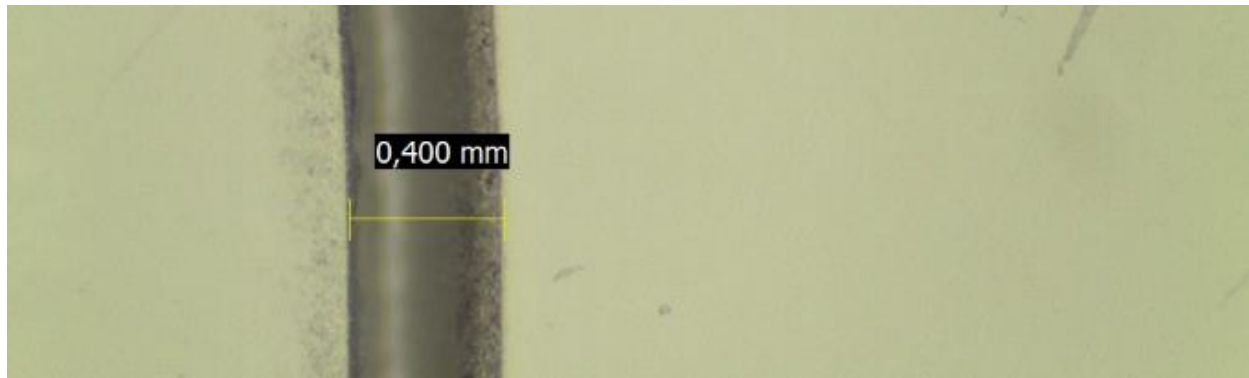


Imagen 4.28 – Imagen de un solo semicorte para medición del ancho del láser.

4.6.7 OCTAVO MOLDE

TIPO DE SURCO

Se generan líneas de semicorte separadas por 0.47 [mm].

PARAMETROS:

Para semi-corte (surcos):

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

Para corte (generar la placa):

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

OBSERVACIÓN:

Se logran observar surcos bien definidos con valles de ancho promedio de 0.074 [mm], siendo perfectos para las pruebas con scaffolds.

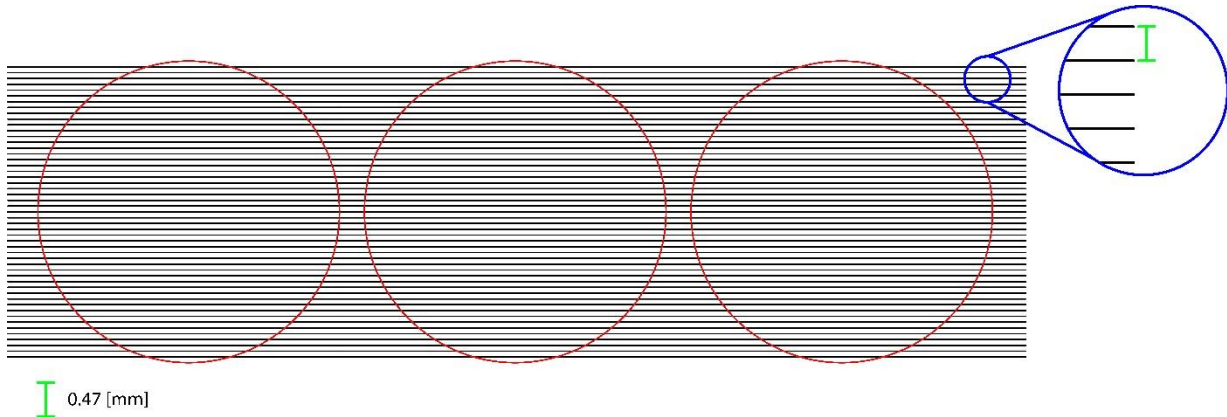


Ilustración 4.25 – Diagrama del octavo molde.

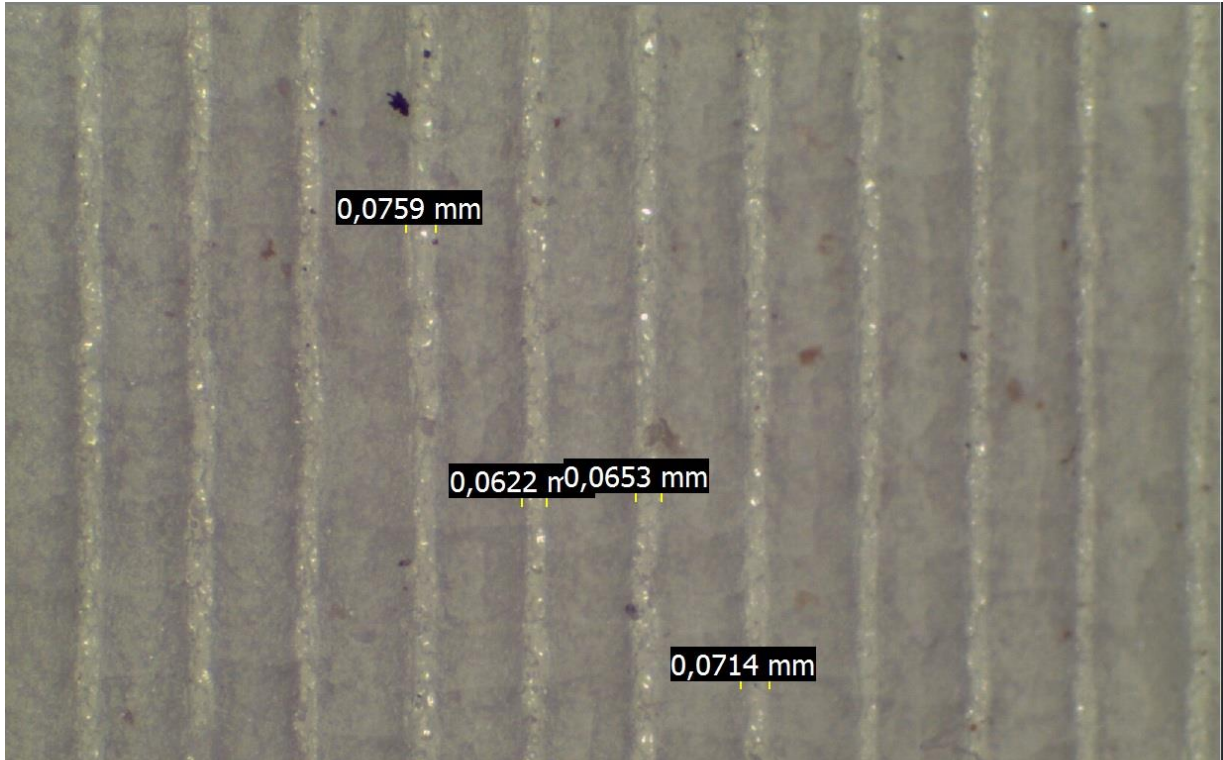


Imagen 4.29 – Vista superior del octavo molde con mediciones.

4.6.8 NOVENO MOLDE

TIPO DE SURCO

Se generan líneas de semicorte separadas por 0.45 [mm].

PARAMETROS:

Para semi-corte (surcos):

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

Para corte (generar la placa):

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

OBSERVACIÓN:

Se hace este molde solo como prueba para ver si se logra hacer un surco más pequeño. Se logran apreciar anchos de 0.065 [mm] promedio.

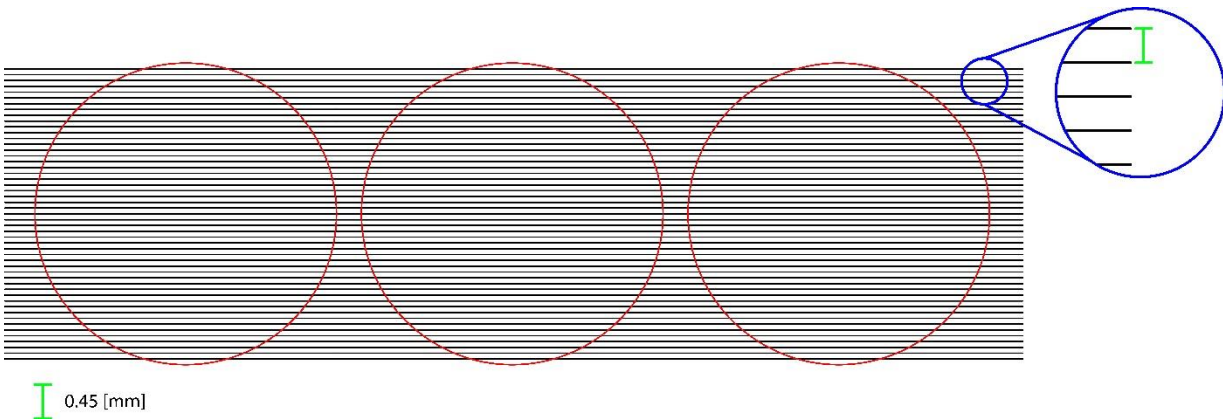


Ilustración 4.26 – Diagrama del noveno molde.

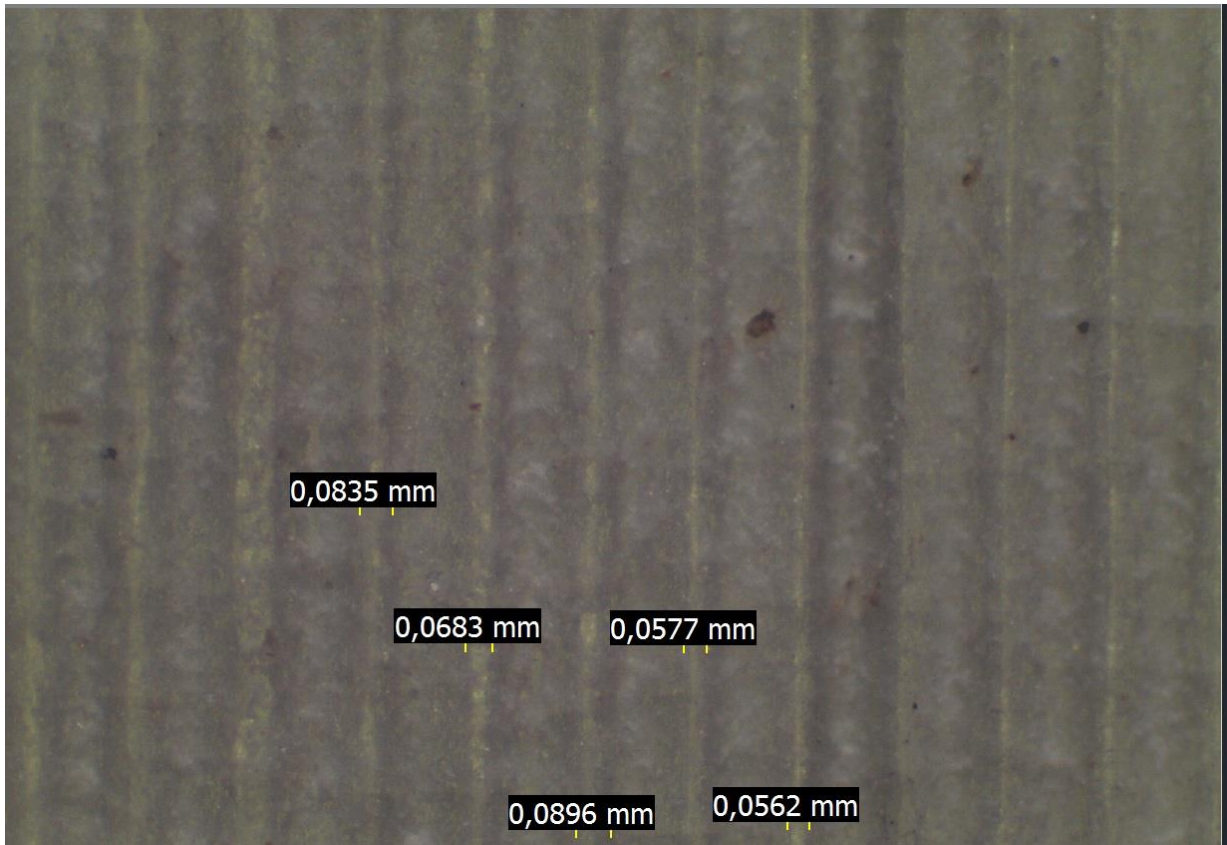


Imagen 4.30 – Vista superior del nove no molde con mediciones.

CAPÍTULO 5
EXPERIMENTACIÓN

CAPÍTULO 5 EXPERIMENTACIÓN

5.1 METODOLOGÍA

Luego de terminados los moldes se procede a hacer matrices de caucho de silicona para realizar futuras réplicas de estos.

El caucho se divide en dos partes, una es el caucho propiamente tal y otra su catalizador. En este caso se ha usado el caucho mold max 14, creado por la empresa Plastiquímica cuya característica principal es realizar el curado en 4 [hrs].

La proporción de caucho y catalizador es de 10:1, es decir que por cada 10 [grs] de caucho se debe usar 1 [gr] de catalizador.

Para generar los matrices replicadoras es necesario el uso de una cámara de vacío, esta permite la extracción de todo el aire que puede entrar o generar al

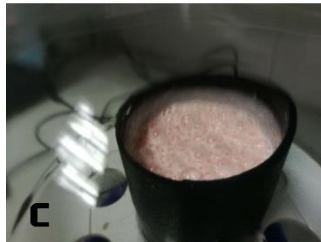


Imagen 5.1 – Proceso de generación de moldes de silicona. (A) Materiales necesarios para realizar mezcla del caucho. (B) Cámara de vacío utilizada en CB-DAL. (C) Proceso de extracción de aire al interior del molde. (D) Obtención de moldes de caucho y replicas.

hacer la mezcla del caucho y el catalizador.

Ya obteniendo el molde de caucho, se debe realizar las réplicas, por lo cual se debe buscar un material que sea compatible con el biopolímero.

Para este caso se ha hecho pruebas de tres tipos:

- **Masilla mágica:** Al ser altamente espesa, no logra cubrir los surcos alojados en el molde, por lo cual queda descartado.
- **Masilla mágica más resina de poliéster:** la mezcla sigue siendo altamente espesa, ocurriendo algo similar a la masilla mágica sola.
- **Resina de poliéster:** Al ser menos espeso tiene la posibilidad de escurrir por el molde y cubrir

todas las áreas, creando así fieles réplicas de los moldes originales.

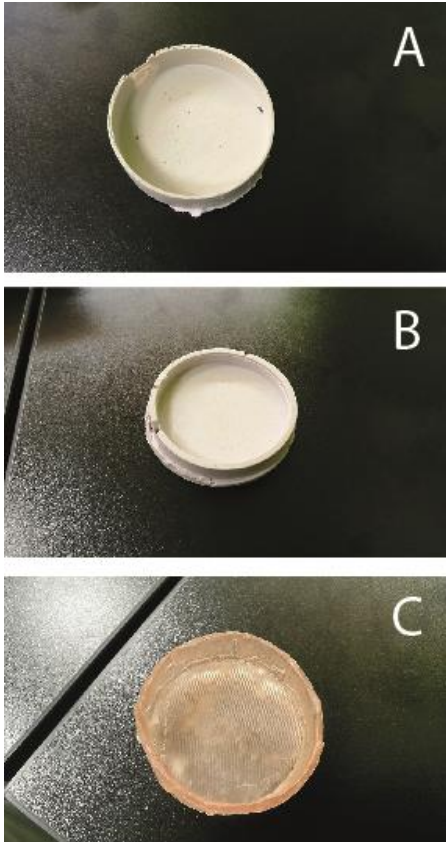


Imagen 5.2 – Molde hecho a partir de masilla mágica (A), molde hecho a partir de masilla mágica y resina de poliéster (B) y molde hecho con resina de poliéster solamente.

5.2 PROCESO DE FABRICACIÓN DE SCAFFODLS

Para la generación de los scaffolds es necesario los reactivos, por lo general se usan:

- Gelatina
- Glicerol y/o sorbitol
- Quitosano o alginato
- Agua MiliQ autoclavada

Y en algunos casos también se usa:

- Agarosa
- NPs (TiO₂) [Óxido de titanio]

Para preparar los scaffolds en primera instancia se deben disolver los componentes de forma separada a 50°C en un baño termostático (ver imagen 5.3).

Ya teniendo las mezclas, estas se van agregando a en una botella en un baño

termorregulado a 50°C, estas deben ser mezcladas al menos por 45 [min].

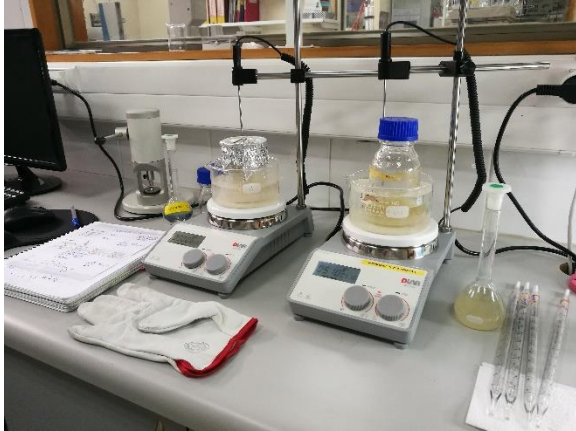


Imagen 4.3 – Proceso de mezclado en baño termorregulado.

Ya teniendo la mezcla de los scaffolds, estos deben ser vertidos en los moldes micro estructurados por medio de una pipeta regulada (ver imagen 5.4) y deben reposar a temperatura ambiente durante 3 a 4 [hrs].

Al pasar ese tiempo, es necesario pasar las muestras a 4°C al menos unas 12 [hrs].



Imagen 5.4 – Uso de pipeta para verter mezclas en moldes.

Luego, esta se debe colocar a -20°C por 8 [hrs] para finalmente pasarlas a -80°C, por unas 15 [hrs].

Transcurrido ese tiempo se llevan las muestras a liofilizar, obteniendo así los scaffolds finales (ver imagen 5.5)



Imagen 5.5 – Resultado de scaffolds luego de liofilizar.

5.3 TRABAJO CON MOLDES APARTIR DE ESTERIOLOGRAFÍA

5.3.1 SCAFFOLDS A BASE DE GELATINA DE PEZ (0.36%), ALGINATO (0.6%), AGAROSA (0.04%) Y GLICEROL (0.02%)

Al hacer las primeras pruebas con los moldes hechos a partir de la estereolitografía, nos dan a conocer que

su altura del surco es muy pequeña ya que al desmoldar los scaffolds, se ven surcos apenas visibles, los cuales no servirían para la experimentación con células.

Dejando así, esta tecnología descartada, ya que se trabajó con la resolución mínima, la cual no permite la modificación de altura.

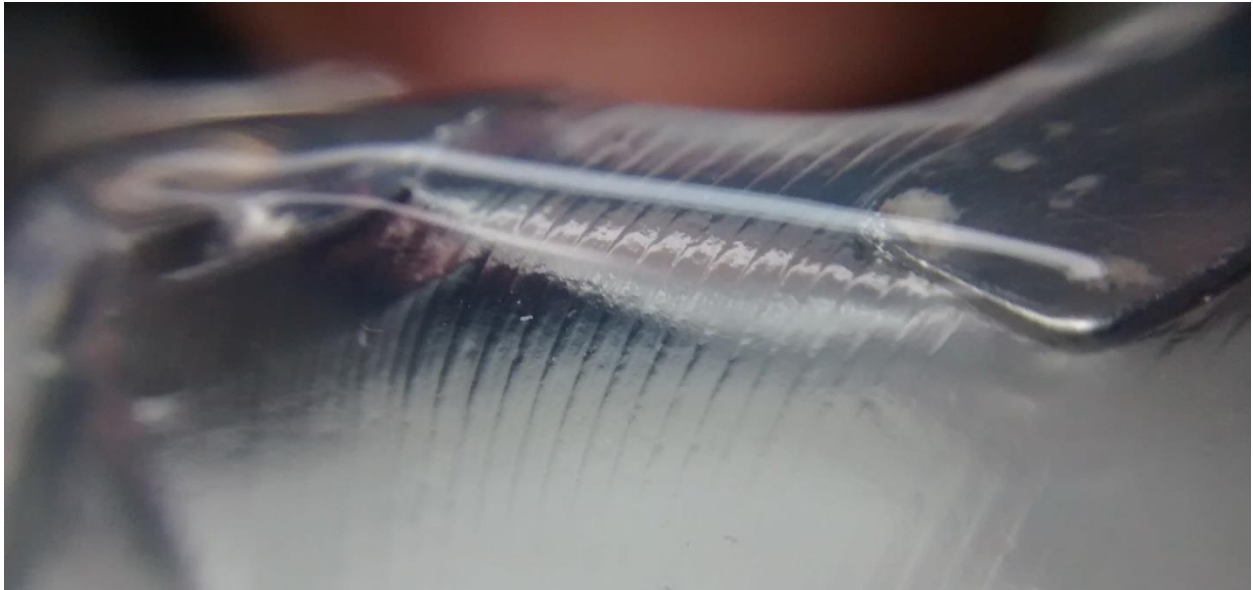


Imagen 5.6- Scaffold usando el molde final a partir de la estereolitografía.

5.4 TRABAJO CON MOLDES APARTIR DEL CORTE LÁSER

5.4.1 SCAFFOLDS A BASE DE GELATINA DE PEZ (0.9%), ALGINATO (0.4%), GLICEROL (0.1%) Y AGAROSA (0.2%)

Al hacer las pruebas con este tipo de mezclas, se logran ver los surcos bien definidos, pero extrañamente los anchos

mas pequeños que deberían ser los valles, se ven hacia afuera.

Una posibilidad a que esto ocurriese es que el scaffold al tener una estructura muy similar a la de un algodón se adhiriera a los moldes de resina, al cual al momento de desmoldar, se invirtiera el surco.

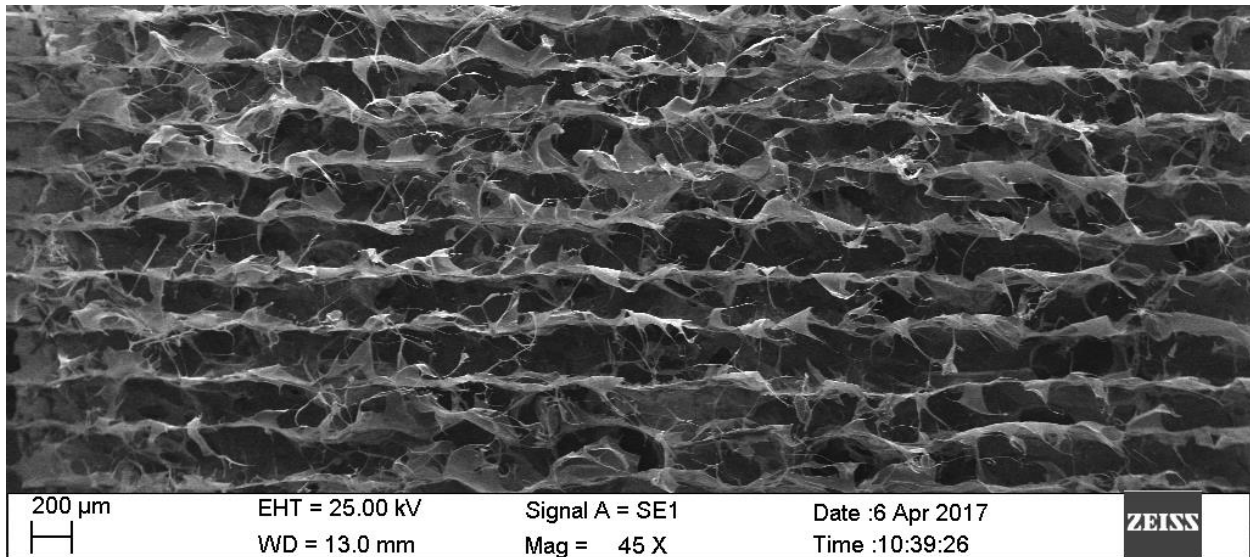


Imagen 5.7 - Vista general de scaffold, tomada en microscopio SEM.

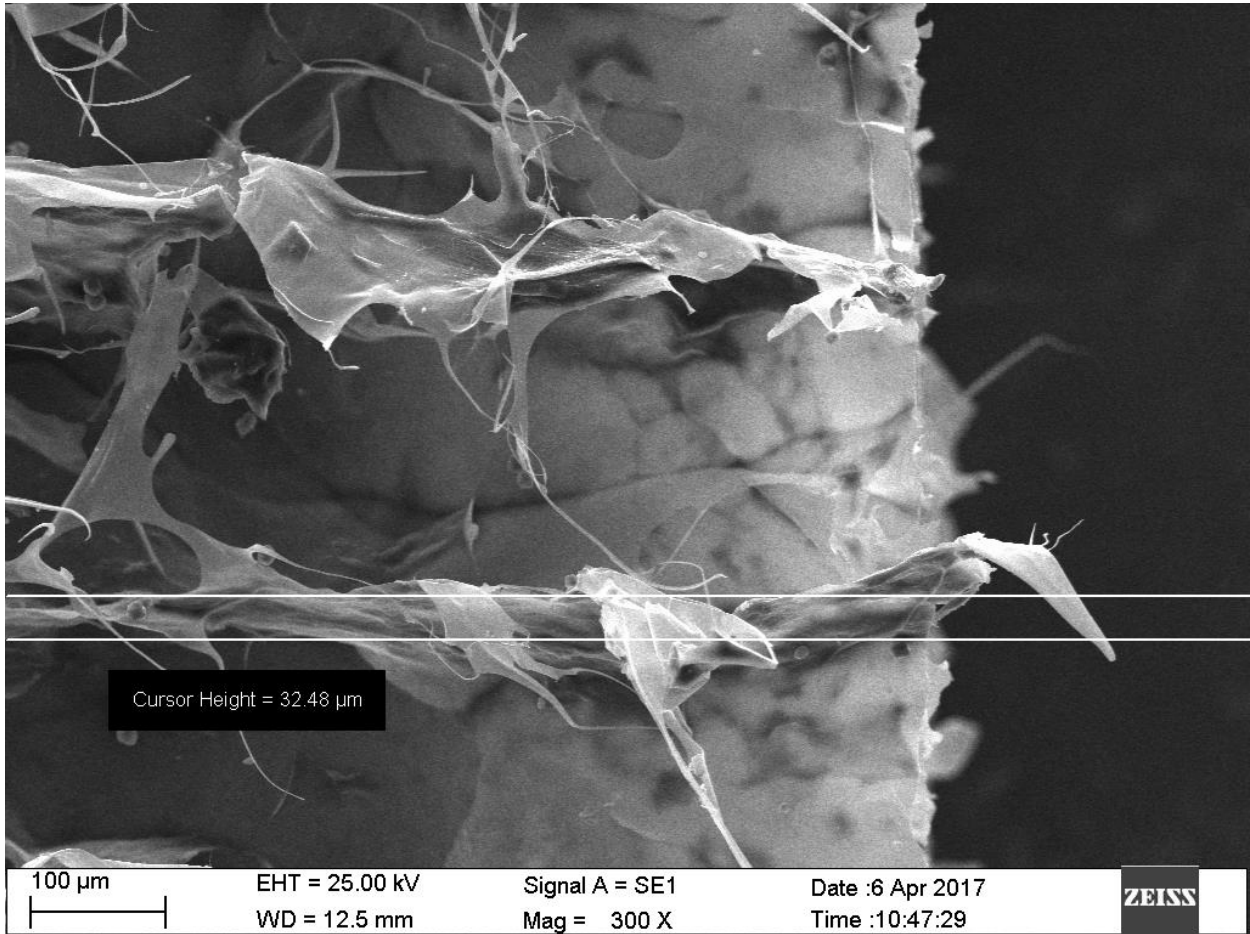


Imagen 5.8 – Vista detallada del surco, tomada en microscopio SEM.

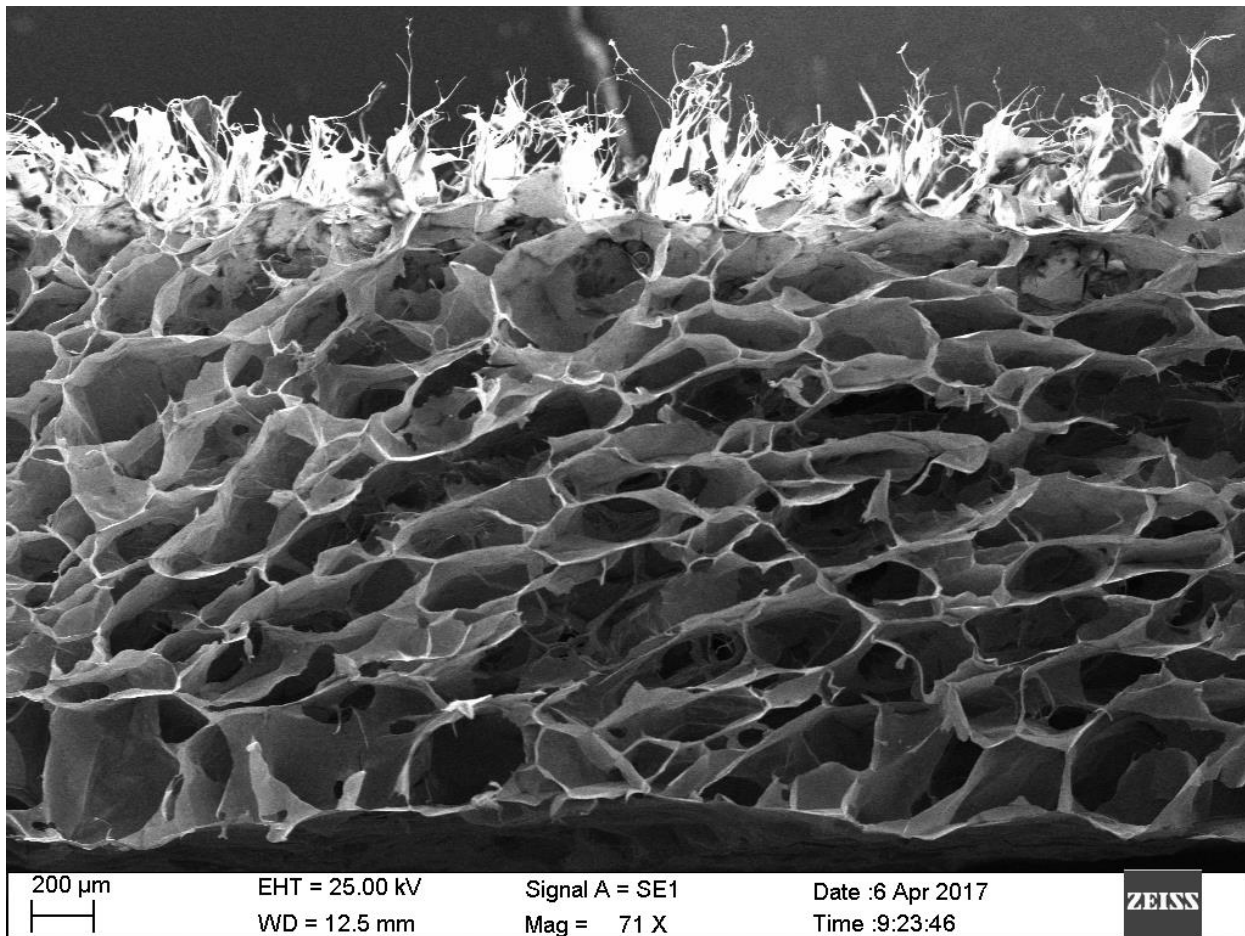


Imagen 5.9 – Vista lateral del scaffold, tomada en microscopio SEM.

5.4.2 SCAFFODLS A BASE DE GELATINA DE PEZ (0.36%), ALGINATO (0.6%), AGAROSA (0.04%) Y GLICEROL (0.02%)

Esta formulación resulta ser no porosa lo cual favorece al moldeado de las microestructuras en el scaffold, permitiendo un desmoldado limpio y sin imperfecciones.

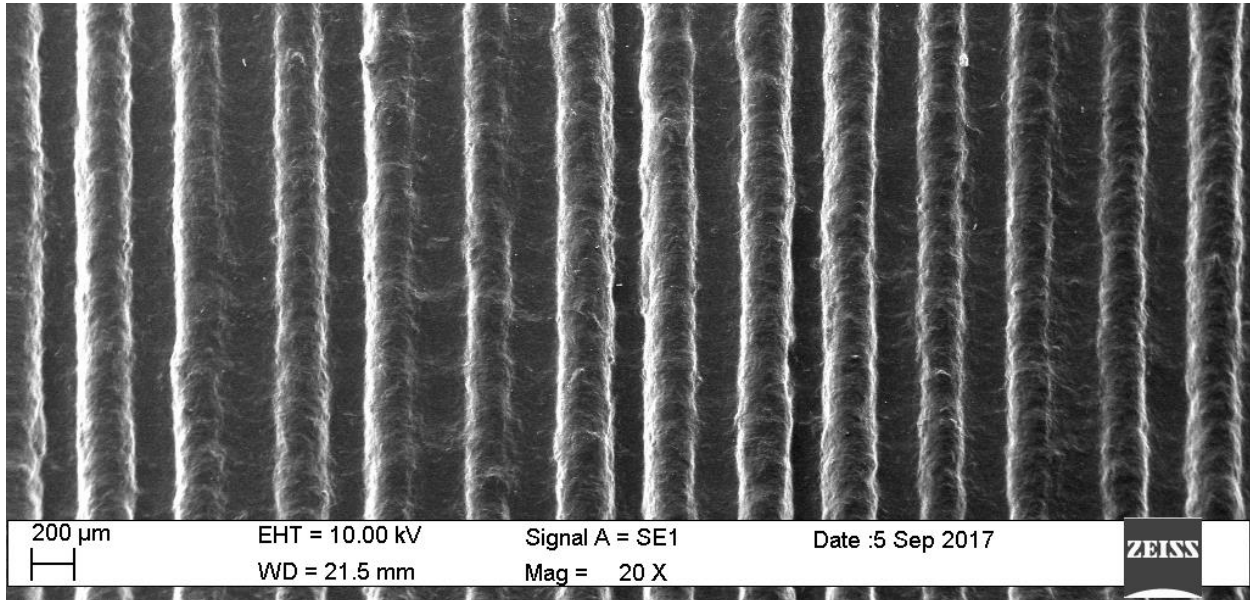
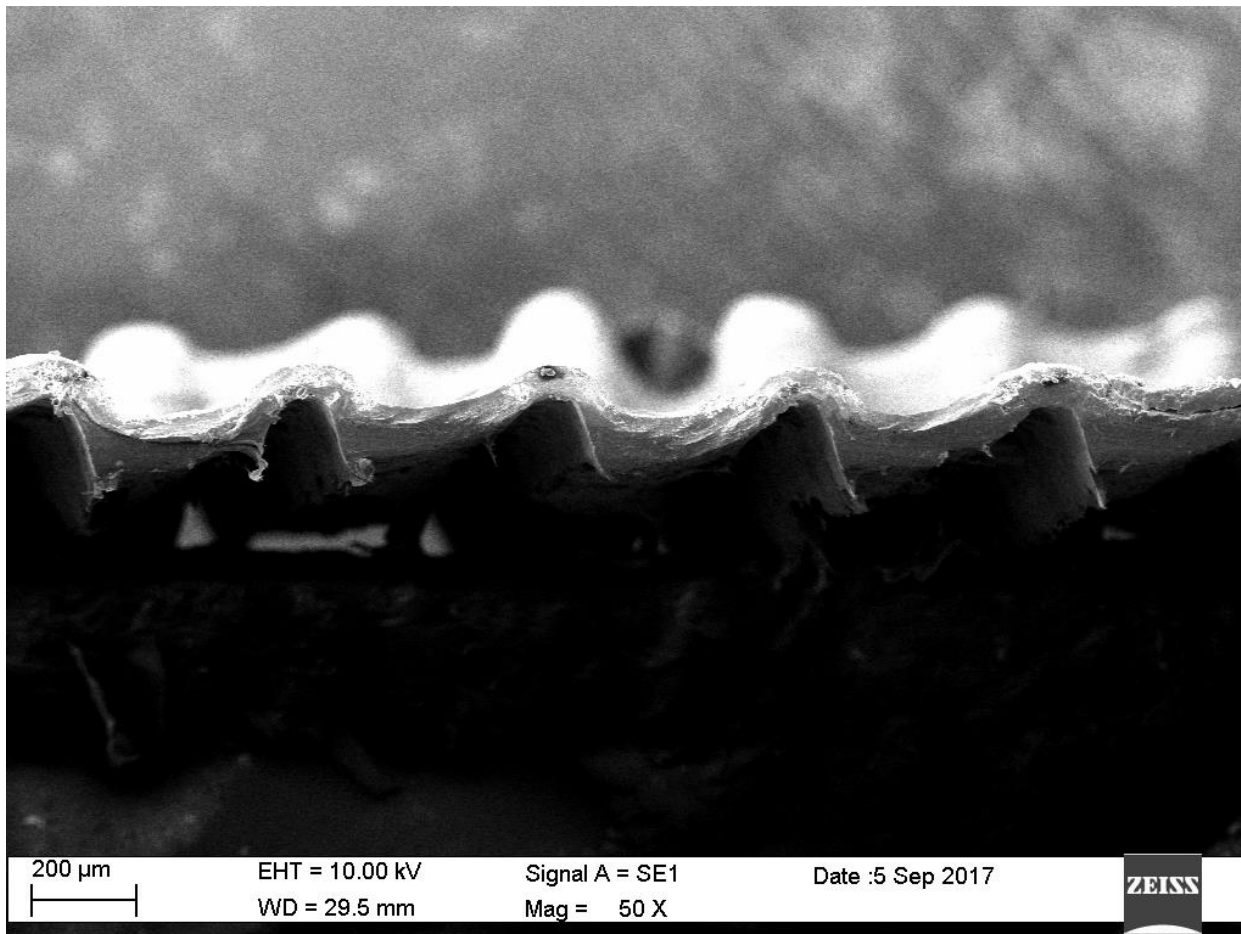


Imagen 5.10 – Vista general del scaffold, tomada en microscopio SEM.



Imsgen 5.11 – Vista lateral dels caffold, tomada en microscopio SEM.

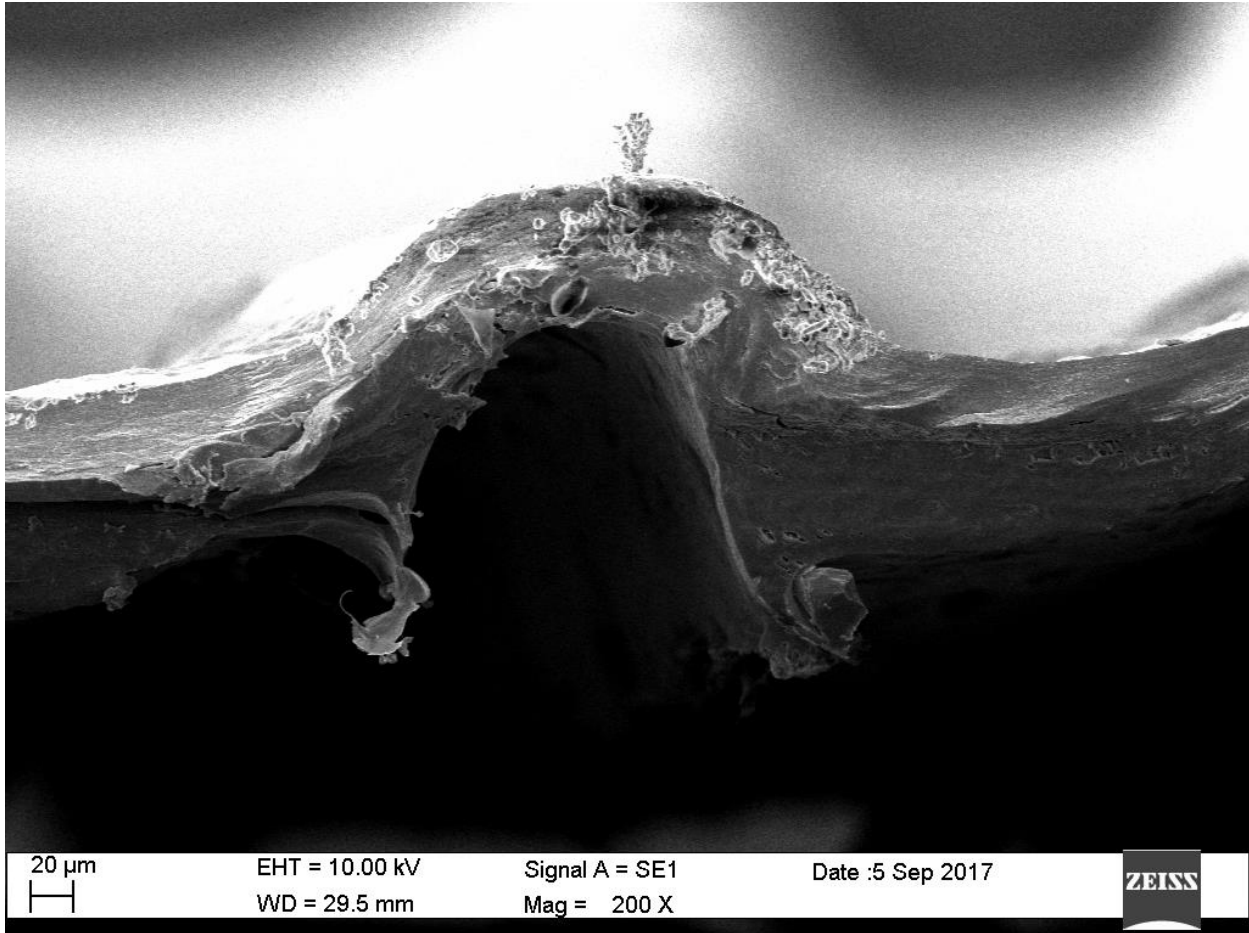


Imagen 5.12 – Vista detallada del surco, tomada en microscopio SEM.

5.5 ENSAYO DE SCAFFOLDS MICROESTRUCTURADOS CON CÉLULAS

Ya teniendo los scaffolds preparados, se hacen las pruebas con células, se

observa que estas responden de forma positiva al entorno del scaffold, alineándose sin ningún problema.

Esto nos da a conocer que se ha dado un gran paso para el objetivo final, el desarrollo de la carne cultivada.

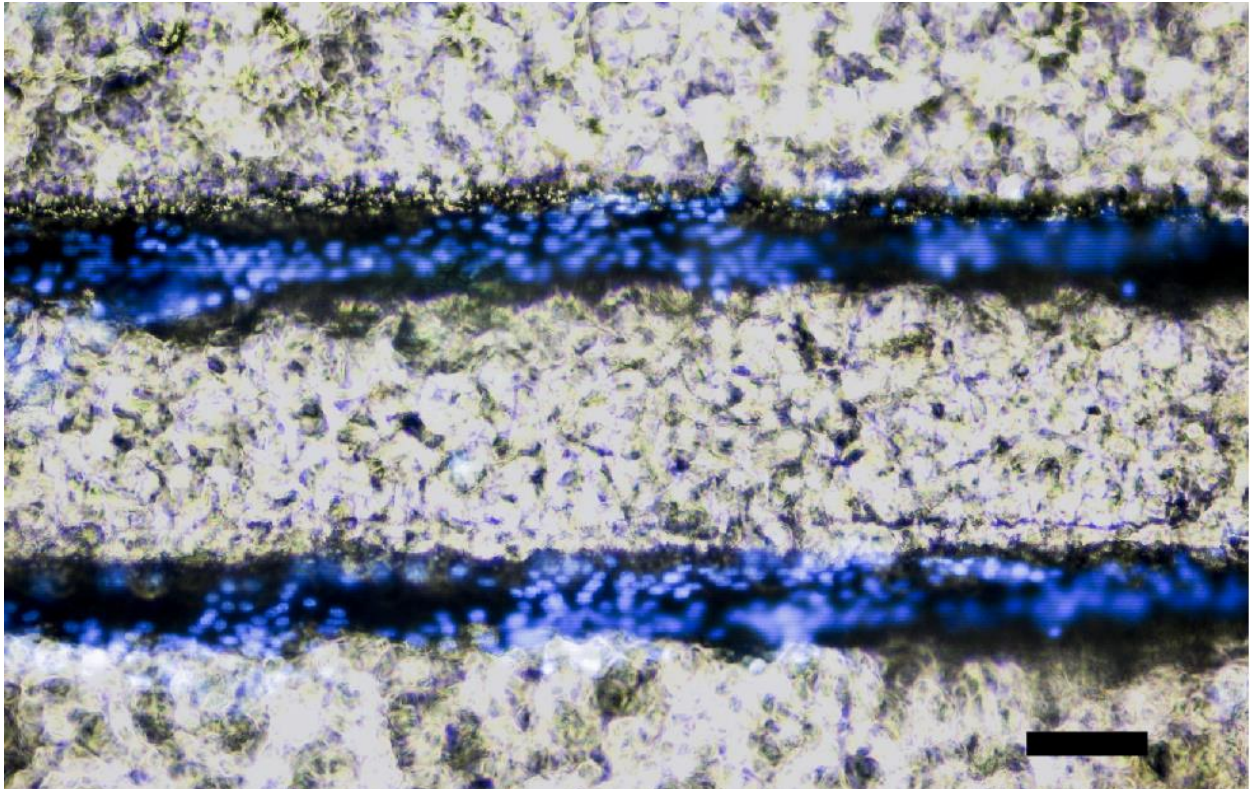


Imagen 5.13 – Células alineadas en surcos.

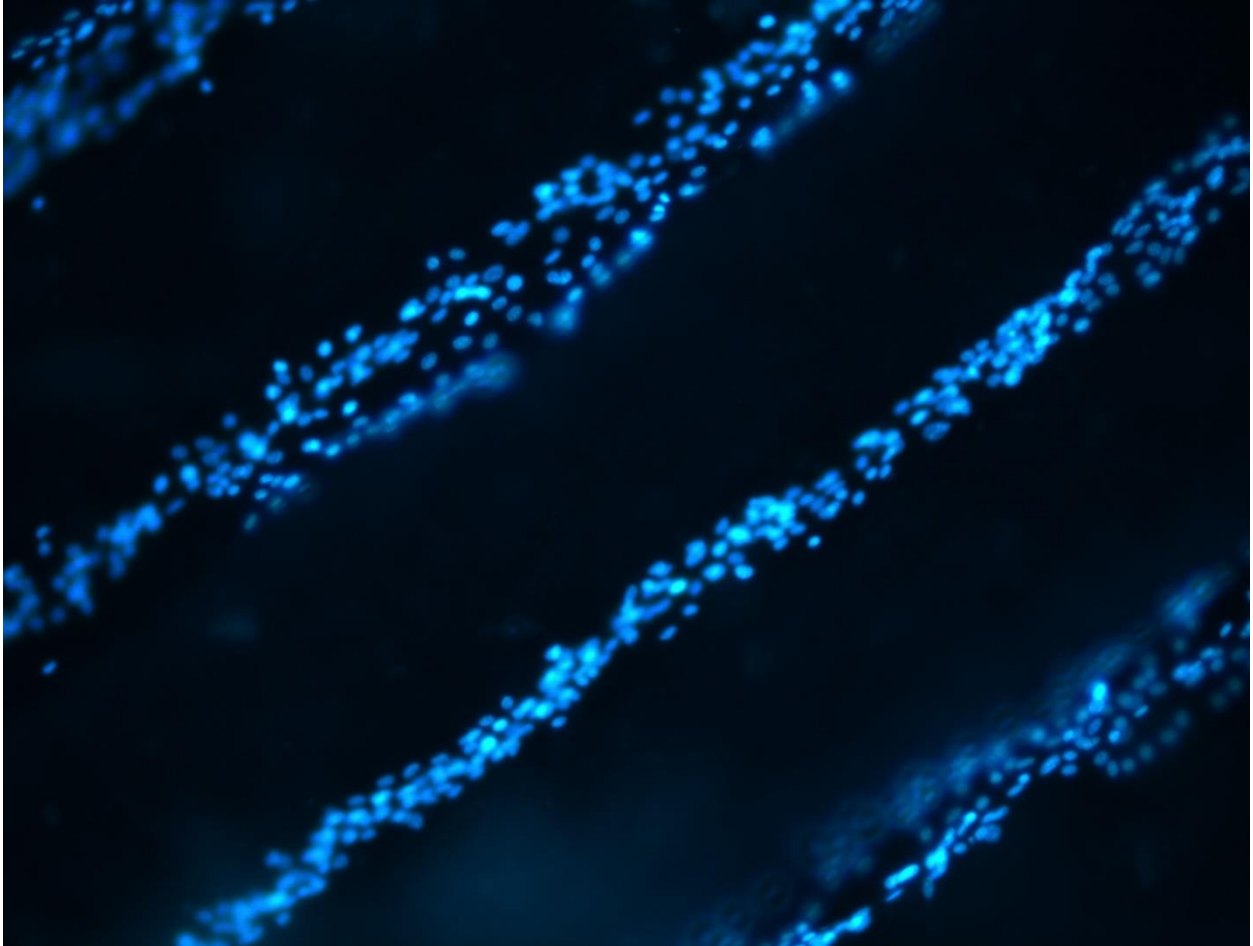


Imagen 5.14 – Células alineadas en surcos.

CAPÍTULO 6
MÁS ALLÁ DE LA CARNE

CAPÍTULO 6

MÁS ALLÁ DE LA CARNE

6.1 HUESOS IN-VITRO

La experimentación con los moles ha permitido también ir en la búsqueda de otros horizontes como es el desarrollo de huesos.

En este caso, se han usado las dos tecnologías combinadas para formar scaffolds microestructurados con forma de huesos.

Para el desarrollo de estos, primeramente, se busca un modelo 3D de huesos de la mano, en este caso se ha usado el modelo de RSID, de la web thingiverse.

Para las pruebas se seleccionado el hueso epífisis del tercer hueso metacarpiano y es creado en la máquina Formlabs 1+(ver imagen 6.1).



Imagen 6.1 Hueso desarrollado en Formlas 1+.

Ya teniendo el hueso listo, este es pasado por la cortadora láser (ver imagen 6.2) con los mismos parámetros usados en los últimos moldes del capítulo anterior, solo que esta vez son únicamente líneas de semicorte.

Obtenido el hueso con la estructura, se procede a hacer mediciones (ver imagen

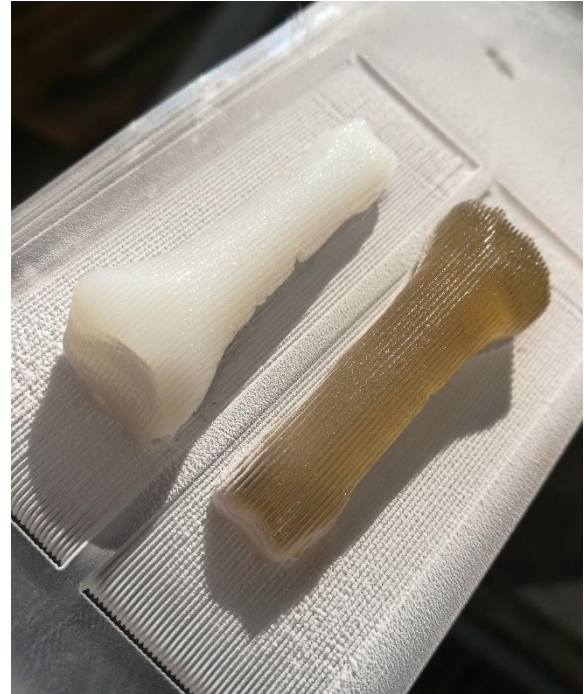


Imagen 6.2 Huesos con semicortes luego de pasar por la cortadora láser.

6.3) para corroborar los anchos y altos de los surcos.

Terminado esto, se hacen los moldes de caucho de silicona (ver imagen 6.4 A) para finalmente verter las mezclas de biopolímeros y obtener los scaffolds con

forma de hueso y microestructura en ellos (ver imagen 6.4 B).

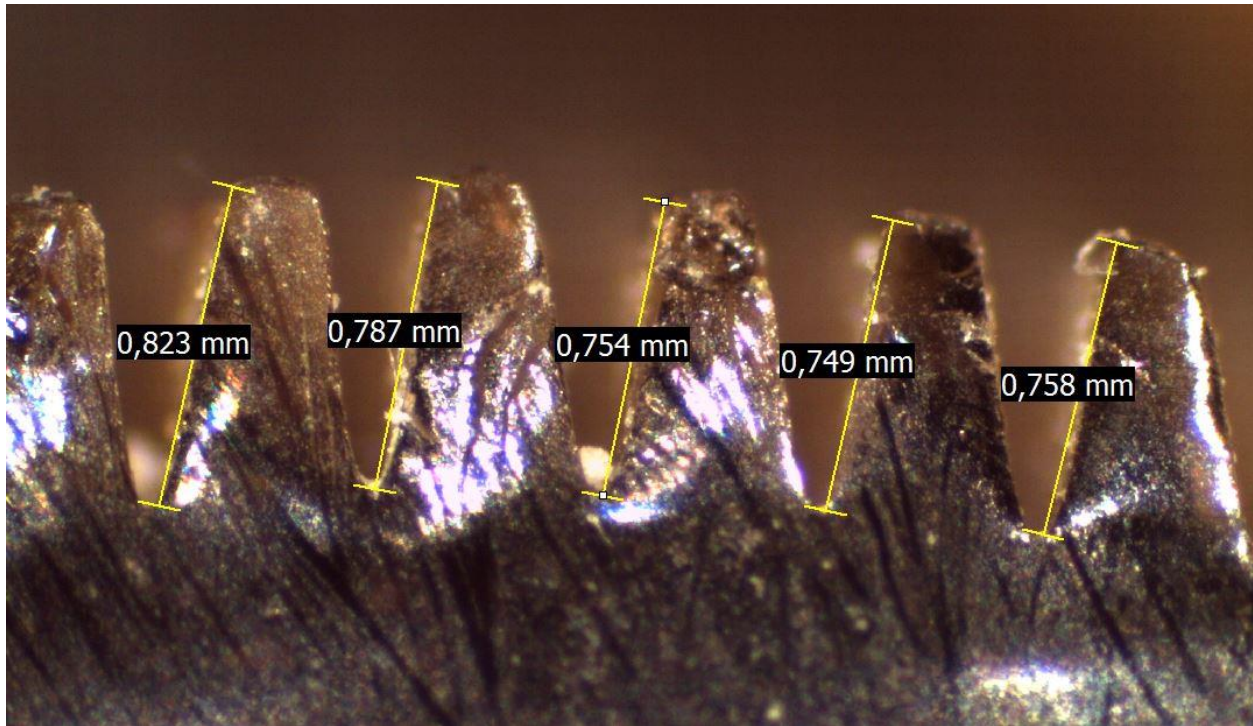


Imagen 6.3 Medición de surcos de huesos luego de pasar por la cortadora láser tomada con lupa Leica EZ4HD.

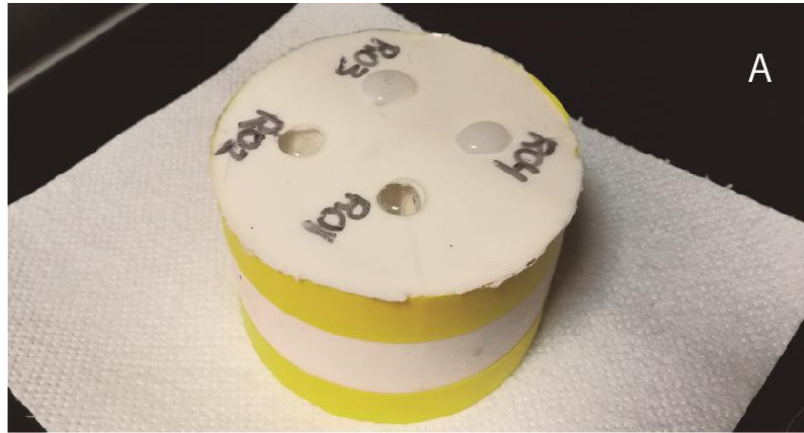


Imagen 6.4 Molde de caucho de silicona con distintas formulaciones de scaffolds (A) y resultado de scaffold con forma de hueso (B).

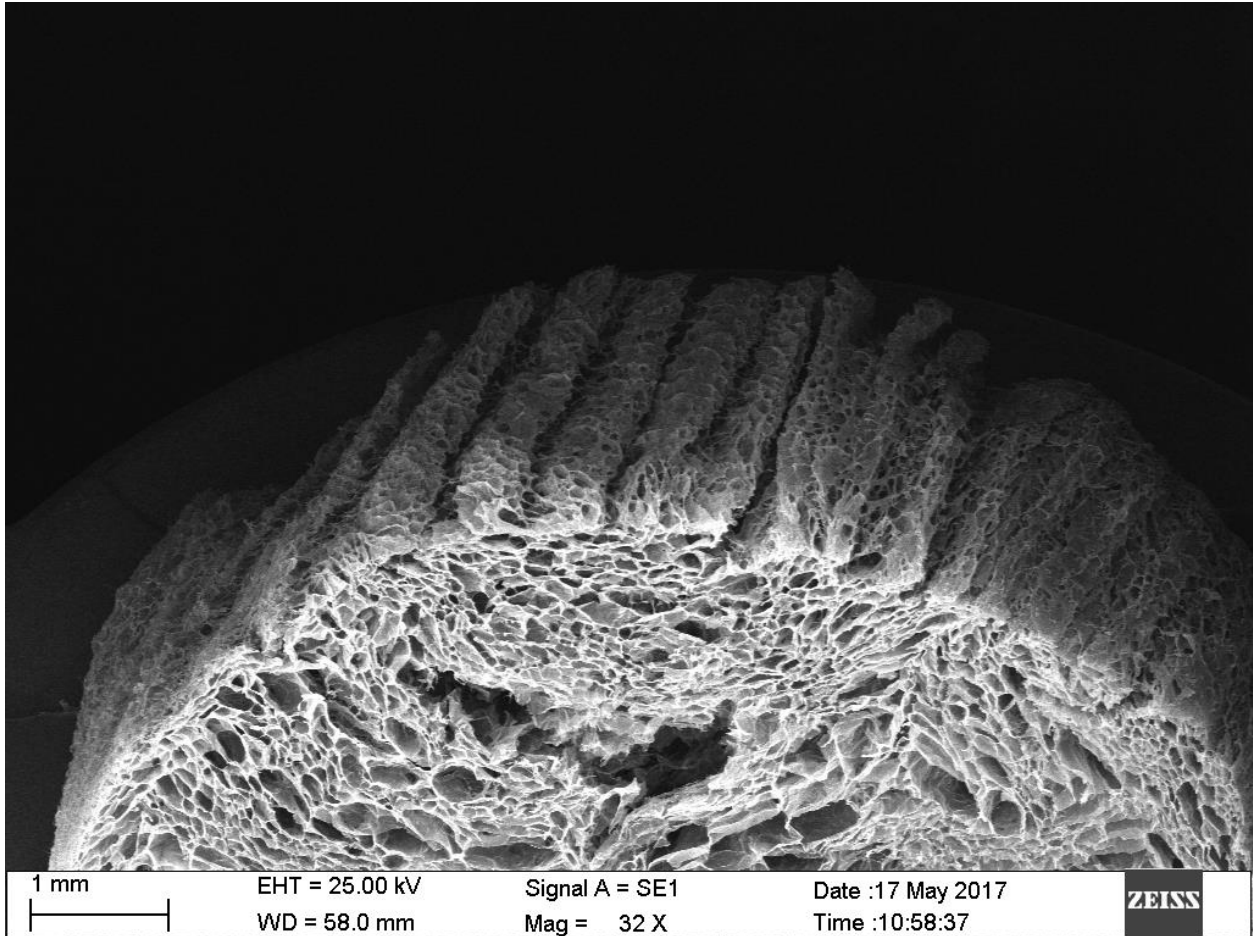


Imagen 6.5 Vista de scaffold con forma de hueso en microscopio SEM.

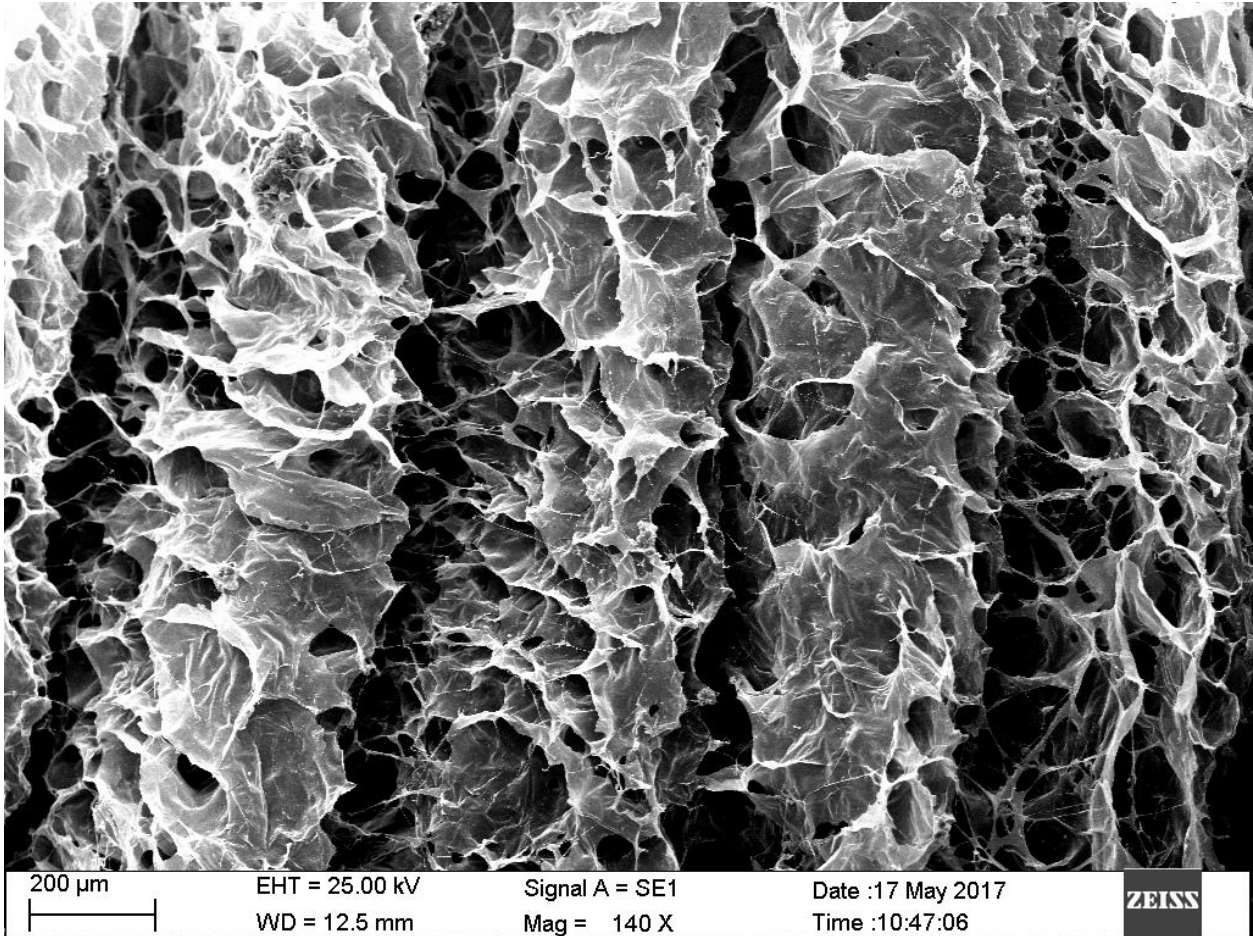


Imagen 6.6 Vista superior de scaffold con forma de hueso en microscopio SEM.

CAPÍTULO 7

CONCLUSIONES

6.1 CONCLUSIONES

El objetivo del presente trabajo fue el desarrollo de moldes con surcos micro estructurados en su interior que llegasen alrededor de los 0.03 a 0.07 [mm] de espesor, esto con el objetivo de usarlos como moldes para la creación de scaffolds que permitan la diferenciación de células a células musculares para la generación de carne in-vitro.

Para lograr esto, en primera instancia se trabajó con la tecnología de la estereolitografía, para ello se usó software de modelación 3D en donde se desarrollaron varios tipos de muestras con distintos tipos de surcos, cambiando tanto el ancho, profundidad y dirección de estos.

Sorprendentemente el tipo de surco óptimo resultó ser el aquel sin surcos en

su estructura y utilizando la resolución mínima de la máquina FormLabs 1+.

Al hacer las primeras pruebas con los scaffolds resultó ser que la altura de la estructura era muy pequeña y no lograba satisfacer las necesidades del proyecto, es aquí donde surge un problema, este tipo de molde al usar una resolución mínima no se puede variar la profundidad del surco por lo cual se tiene que ir en búsqueda de otro método de fabricación.

El segundo método de generación escogido fue el del corte por láser, al contrario de la fabricación por estereolitografía, este trabaja con dibujos en 2D, en donde solo es necesario la modificación del espaciado de los surcos, ya que la encargada de la profundidad es la máquina propiamente tal.

Al hacer distintas pruebas con la separación de surcos en el software CAD y con las distintas potencias ofrecidas por la máquina por corte láser, se logra el desarrollo del molde idóneo con el ancho y profundidades deseadas.

Para evitar el constante uso de la cortadora láser para la generación de moldes, se idea la solución de hacer réplicas por medio del uso del caucho de silicona y se hacen distintas pruebas de material para las réplicas, siendo la resina de poliéster la que logró la mejor adaptación.

Al momento de realizar las pruebas con los polímeros para la realización de los scaffolds, se observa que hay distintos tipos de resultados según la formulación que se pruebe, siendo las mezclas a base de gelatina de pez, alginato,

agarosa y glicerol, la que mejor replican la forma de los moldes.

Por otro lado, al hacer experimentos con células en los scaffolds con microestructura, se observa la capacidad de las células de organizarse en el surco, llegando a confirmar la capacidad de adaptación de las células a su entorno.

También podemos decir que el desarrollo y experimentación de los moldes ha sido un éxito, permitiendo también la investigación en otros ámbitos como es el desarrollo de huesos.

Finalmente cabe mencionar que este trabajo fue parte de una publicación aceptada en Springer journals (ver anexo 5) bajo la categoría de tecnología en alimentos y bioprocesos, el cual se puede buscar como:

Acevedo C., Orellana, N., Avarias K., **Benavente D.** and Prieto P. "Micropatterning technology to design an edible film for in-vitro meat production". Food and Bioprocess Technology, pp. 1-7. 2018. ISI

DOI: 10.1007/s11947-018-2095-4.

IF: 2.576. (2018), Q1 (SJR), Q1 (JCR)

Este puede ser consultado en:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s11947-018-2095-4>

BIBLIOGRAFÍA

Stephens, N., Kramer, C., Denfeld, Z., & Strand, R. (2015). "What is "In Vitro Meat".

Perez, M (2017). "Carne cultivada ¿el futuro llegó hace rato?" - 25 Congreso Aapresid, Santa Fe, Argentina.

Cohen, D. (2011). "El filete del futuro no será de vaca, sino de laboratorio"- BBC Mundo [en línea] <http://www.bbc.com/mundo/movil/noticias/2011/10/111027_carne_laboratorio_celulas_madre_jg.shtml>

Contreras, R. ¿Qué es la diferenciación celular? [en línea] <<https://biologia.laguia2000.com/citologia/que-es-la-diferenciacion-celular> >

Group, E. "¿Qué es la carne cultivada?" [en línea] <<https://www.globalhealingcenter.net/sal>

ud-natural/que-es-la-carne-cultivada.html>

VeSid, “La viabilidad económica de la carne in vitro es el mayor desafío que se debe superar” [en línea]
<<https://gastronomiaycia.republica.com/2014/05/29/la-viabilidad-economica-de-la-carne-in-vitro-es-el-mayor-desafio-que-se-debe-superar/>>

UTFSM. “Centro de Biotecnología “Dr. Daniel Alkalay Lowitt”. CB-DAL” [en línea]
<<http://www.usm.cl/investigacion/centros/biotecnologia-dr-daniel-alkalay-lowitt>>

Cain, F. “Artificial meat could be grown on a large scale” [en línea]
<<https://www.universetoday.com/10663/artificial-meat-could-be-grown-on-a-large-scale/>>

Tovar, L. “Un fraude in-vitro” [en línea]
<<http://filosofiavegana.blogspot.cl/2011/07/un-fraude-in-vitro.html>>

Leeuwenburgh, S. C. G., Jansen, J. A., Malda, J., Dhert, W. A., Rouwkema, J., Van Blitterswijk, C. A., Kirkpatrick, C. J., Williams, D. F. (2008). “Trends in biomaterials research: An analysis of the scientific programme of the world biomaterials congress 2008”. *Biomaterials* 29, 3047-3052.

Peña, M. A. V., Alvarado, D. A. G. (2010). “Scaffolds implants for bone regeneration. Materials, techniques and modeling by means of reaction-diffusion Systems”. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas* 29, 140-154.

Ramakrishna, S., Mayer, J., Wintermantel, E., Leong, K. W. (2001). “Biomedical applications of polymer-

composite materials: a review. *Composite Science and Technology* 61, 1189-1224.

Katti, K. S. (2004). "Biomaterials in total joint replacement". *Colloids Surf., B* 39, 133-142.

Hosseinkhani, H., Hosseinkhani, M., Tian, F., Kobayashi, H., Tabata, Y. (2006). "Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in self-assembled peptideamphiphile nanofibers". *Biomaterials* 27, 4079-4086.

Khamdemhosseini, A., Langer, R., Borenstein, J., Vacanti, J. P. (2005). "Microscale technologies for tissue engineering and biology". *PANS* 103, 2480- 2487.

Nerem, R. M. (2007). The challenge of imitating nature. En "Principles of Tissue Engineering". (Lanza, R., Langer, R.,

Vacanti, J. eds.), pp.7-14. Elsevier Academic Press, Burlington MA, USA.

Hodges, S. J., Atala, A. (2008). "La medicina regenerativa y la vejiga neurógena". *Current Urology Reports; Edición en Español* 7, 43-50.

Madihally, S. V., Matthew, H. W. T. (1999). "Porous chitosan scaffolds for tissueengineering". *Biomaterials* 20, 1133-1142.

Mao, J. S., Zhao, L. G., Yin, Y. J., Yao, K. D. (2003). "Structure and properties of bilayer chitosan-gelatin scaffolds". *Biomaterials* 24, 1067-1074.

Isenberg, B. C., Wong, J. Y. (2006). "Building structure into engineered tissues". *Mater. Today* 9, 54-60.

Universidad de Barcelona. "El proceso de la liofilización" [en línea] < <http://www.ub.edu/talq/es/node/261> >

Barreno, P. G. (2014). "Mecanotransducción. Una aproximación tensegridal". Monografías de La Real Academia Nacional de Farmacia, XXIV, 97–122.

Pandurangan, M., & Kim, D. H. (2015, July 12). "A novel approach for in vitro meat production". *Applied Microbiology and Biotechnology*. Springer Verlag.

They, M. (2010). "Micropatterning as a tool to decipher cell morphogenesis and functions". *Journal of Cell Science*, 123(24), 4201–4213.

Sachlos, E., Czermuszka, J. T. (2003). "Making tissue engineering scaffolds work. Review on the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds". *Eur. Cells. Mater.* 5, 29-40.

Santos, L. (2013). "Síntesis y caracterización de Scaffolds poliméricos para la ingeniería de tejidos", 63–91

Serrano, C. (2011). "Biomateriales: Biología y Química en el diseño de tejidos artificiales." SEBBM Divulgación La ciencia al alcance de la mano.

Li, G., Zhao, X., Zhao, W., Zhang, L., Wang, C., Jiang, M., ... Yang, Y. (2014). "Porous chitosan scaffolds with surface micropatterning and inner porosity and their effects on Schwann cells". *Biomaterials*, 35(30), 8503–8513.

Kalpakjian, S., Schmid, S (2008) "Manufactura, ingeniería y tecnología". Pearson Educación.

Sculpteo. "Corte por láser: Técnica digital para cortar y grabar materiales" [en línea]

<<https://www.sculpteo.com/es/glosario/corte-por-laser-definicion/>>

Trotec. “En que consiste el corte con láser” [en línea]

<<https://www.troteclaser.com/es/tutorial-es-ejemplos/faqs/como-cortar-con-laser/>>

Formlabs. “Introducing the Form 1+.” [en línea]

<<https://formlabs.com/blog/introducing-form-1-plus/>>

Arkiplus. “Propiedades del acrilico” [en línea]

<<http://www.arkiplus.com/propiedades-del-acrilico>>

Acctek cnc. “1390 co2 lasers engraving and cutting machine” [en linea]

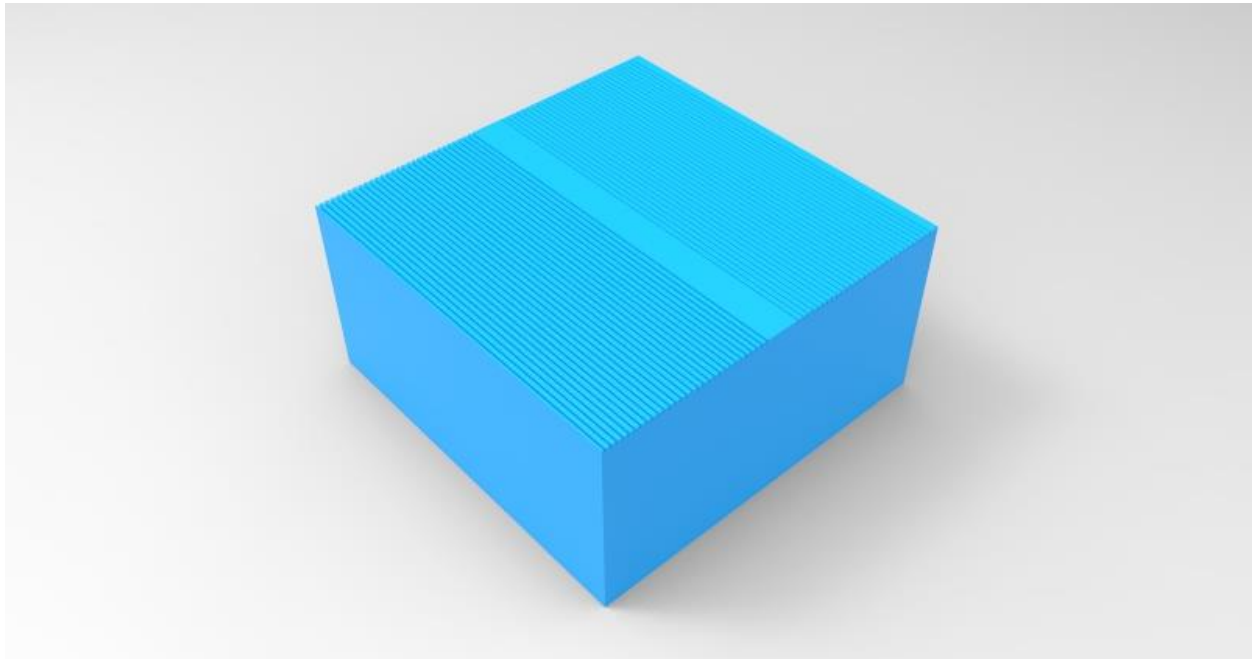
<http://www.acctekcnc.com/html/products/cnc_laser/Laser_engraving_cutting/2016/0628/273.html>

ANEXOS

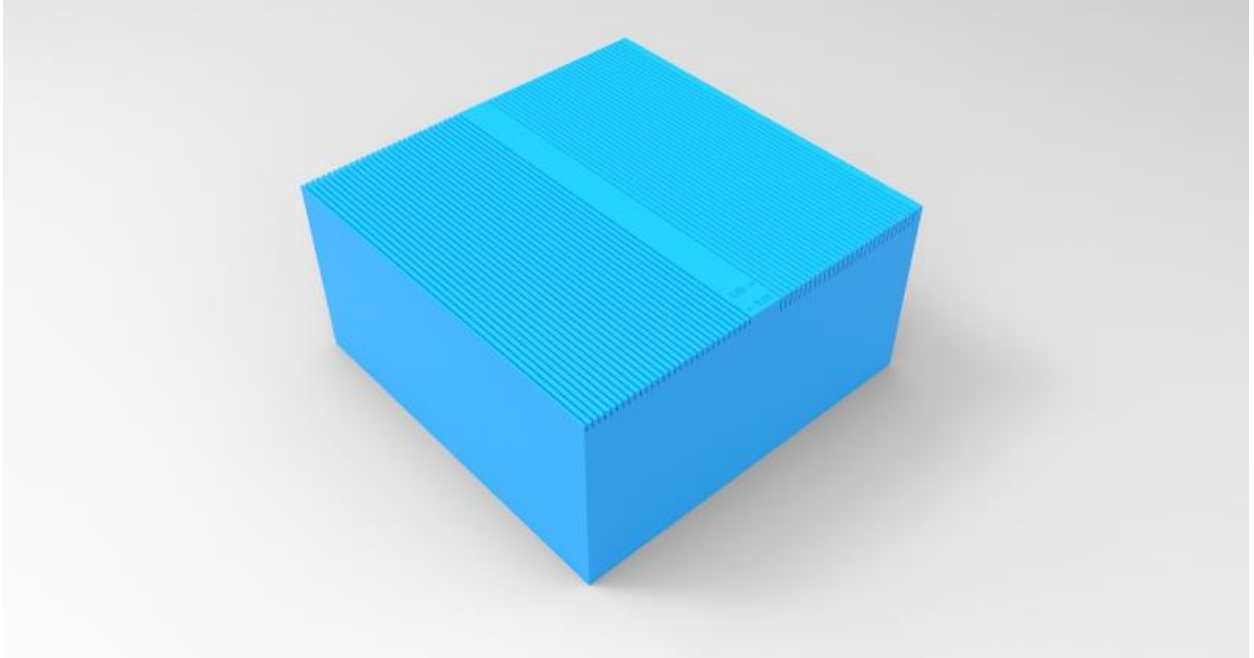
122

1. RENDERS DE MOLDES GENERADOS

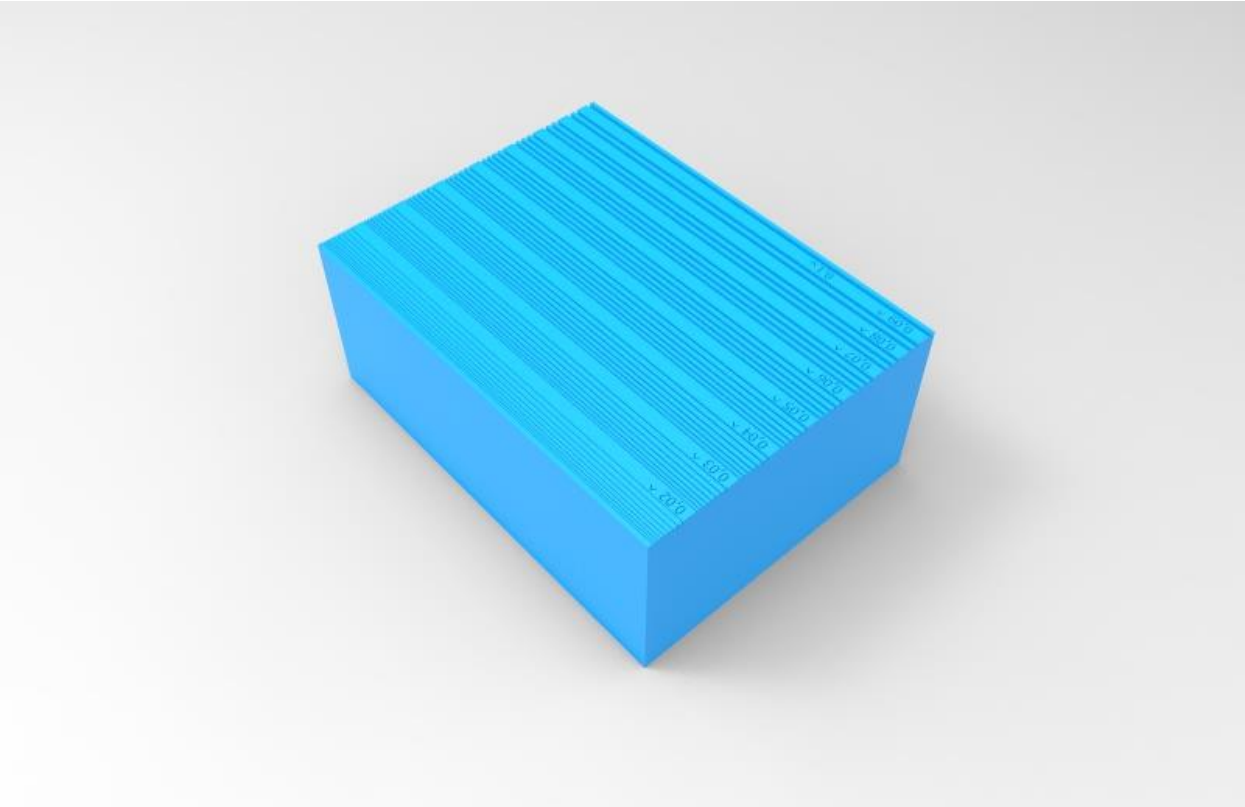
1.1 Primer molde



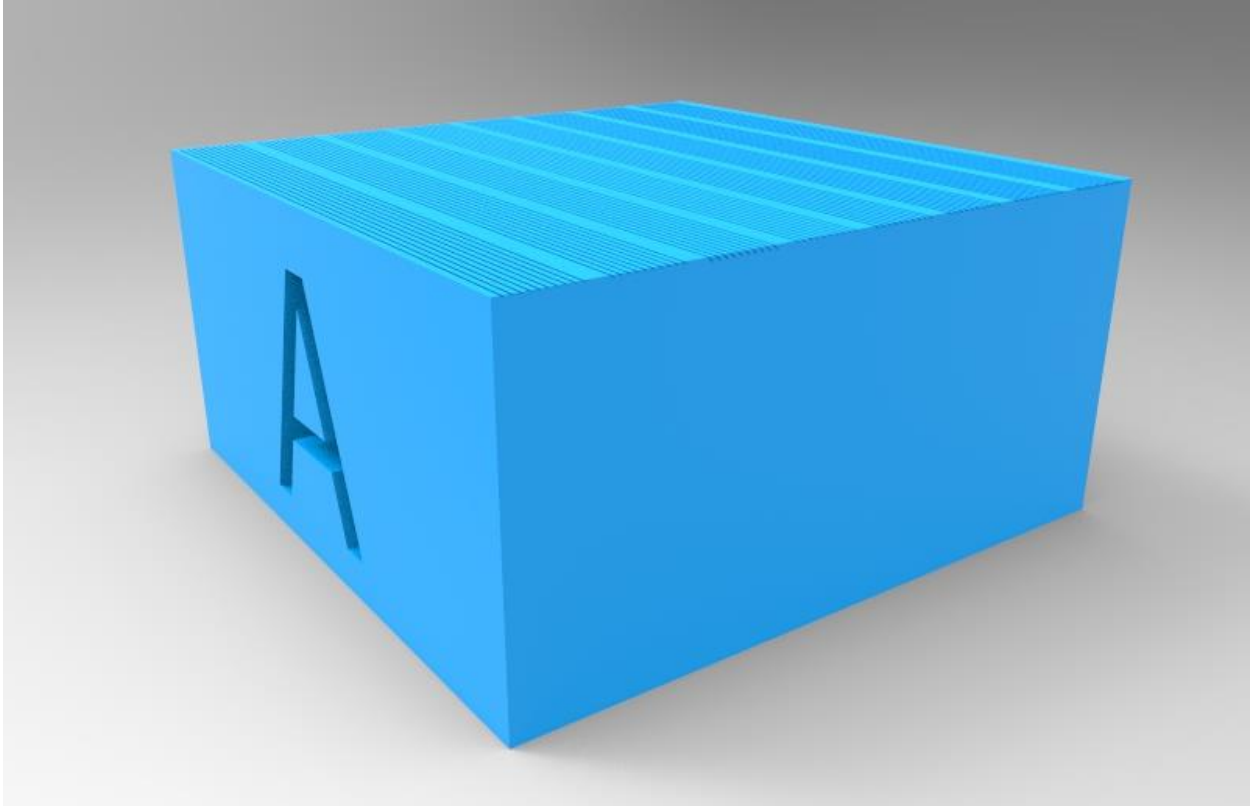
1.2 Segundo molde



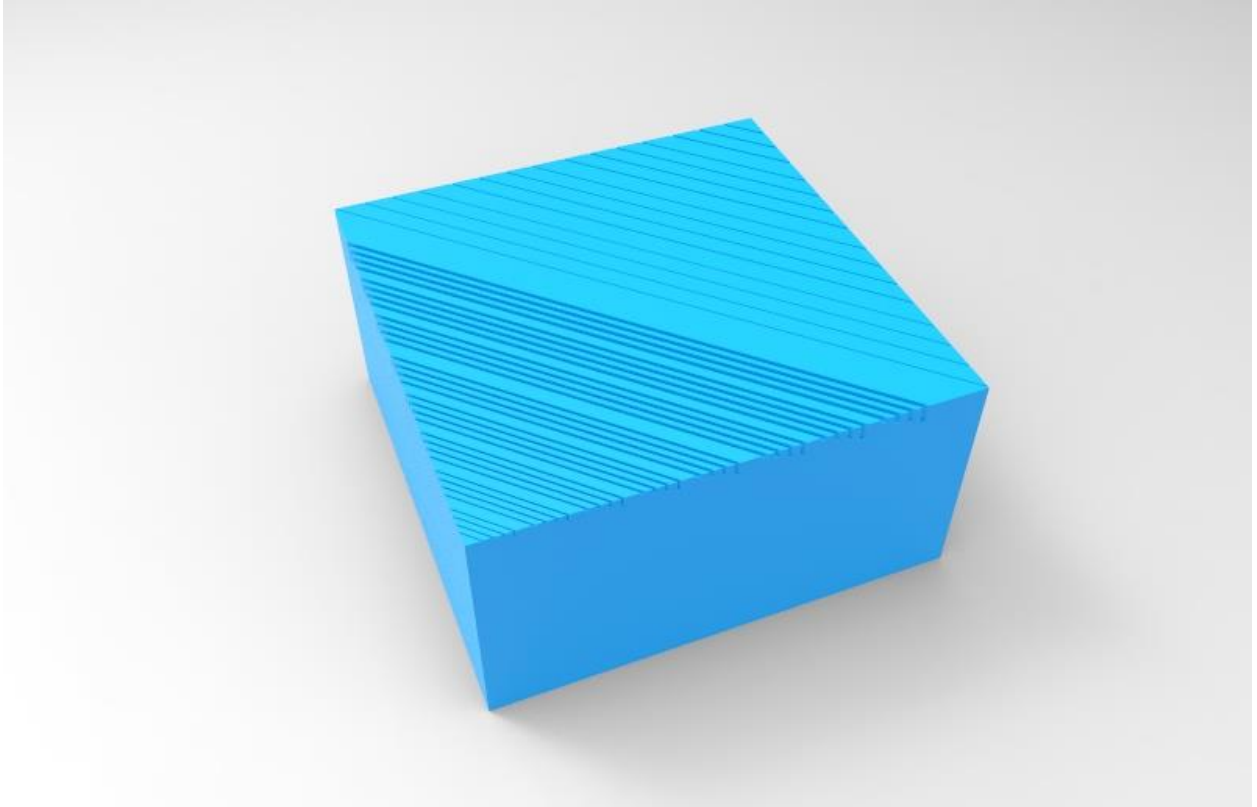
1.3 Tercer molde



1.4 Cuarto molde



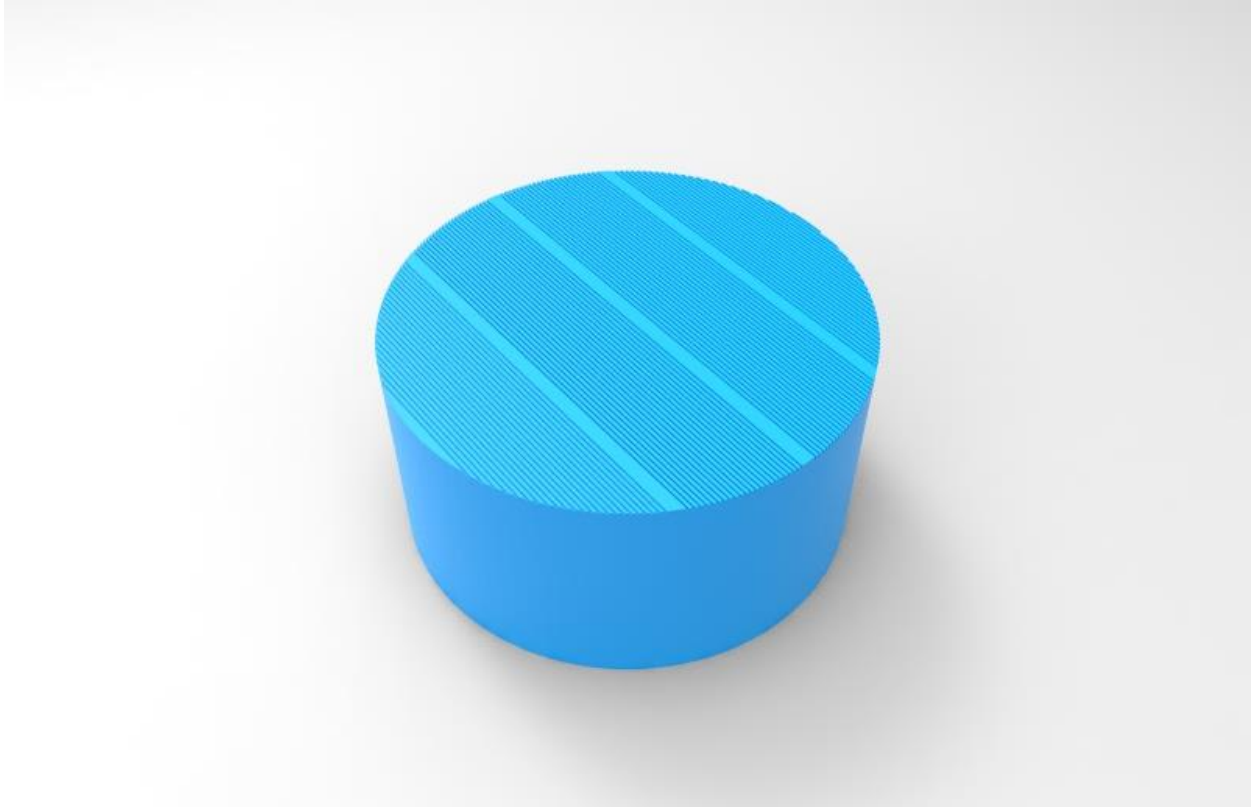
1.3 Quinto molde



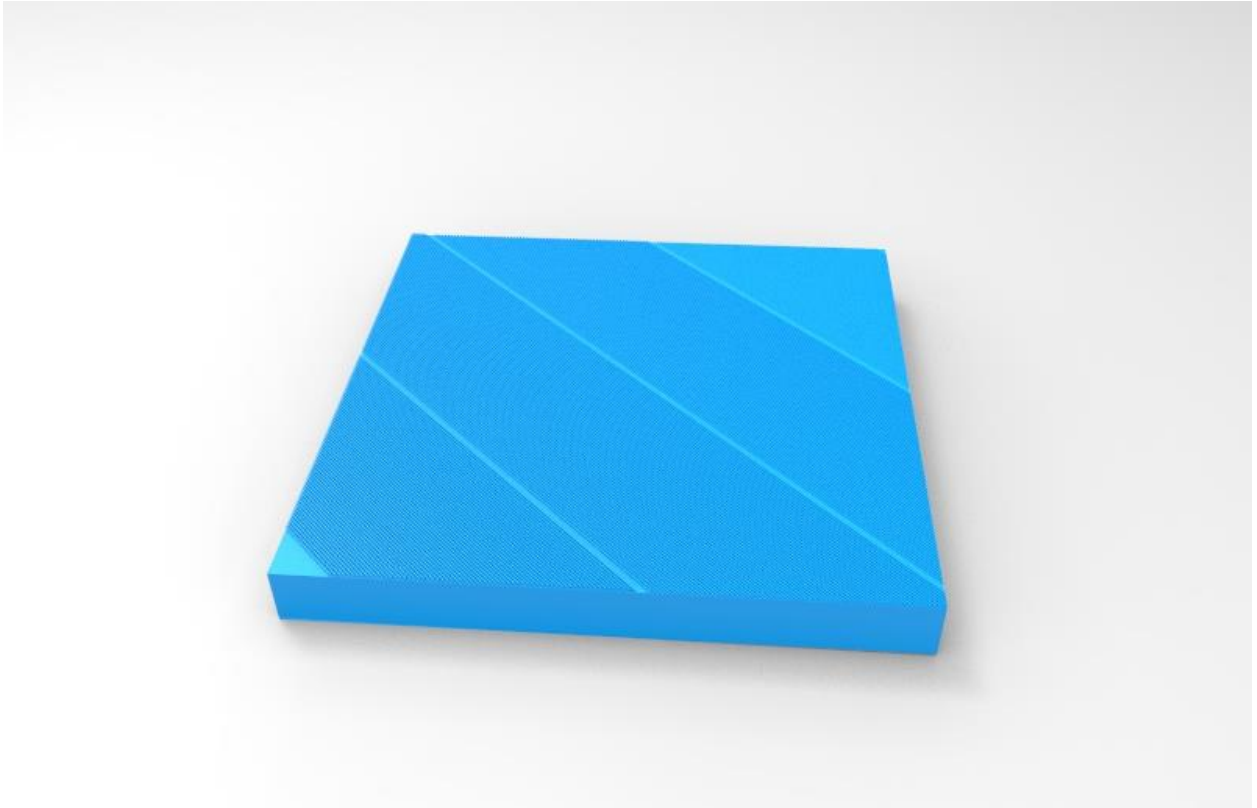
1.6 Sexto molde



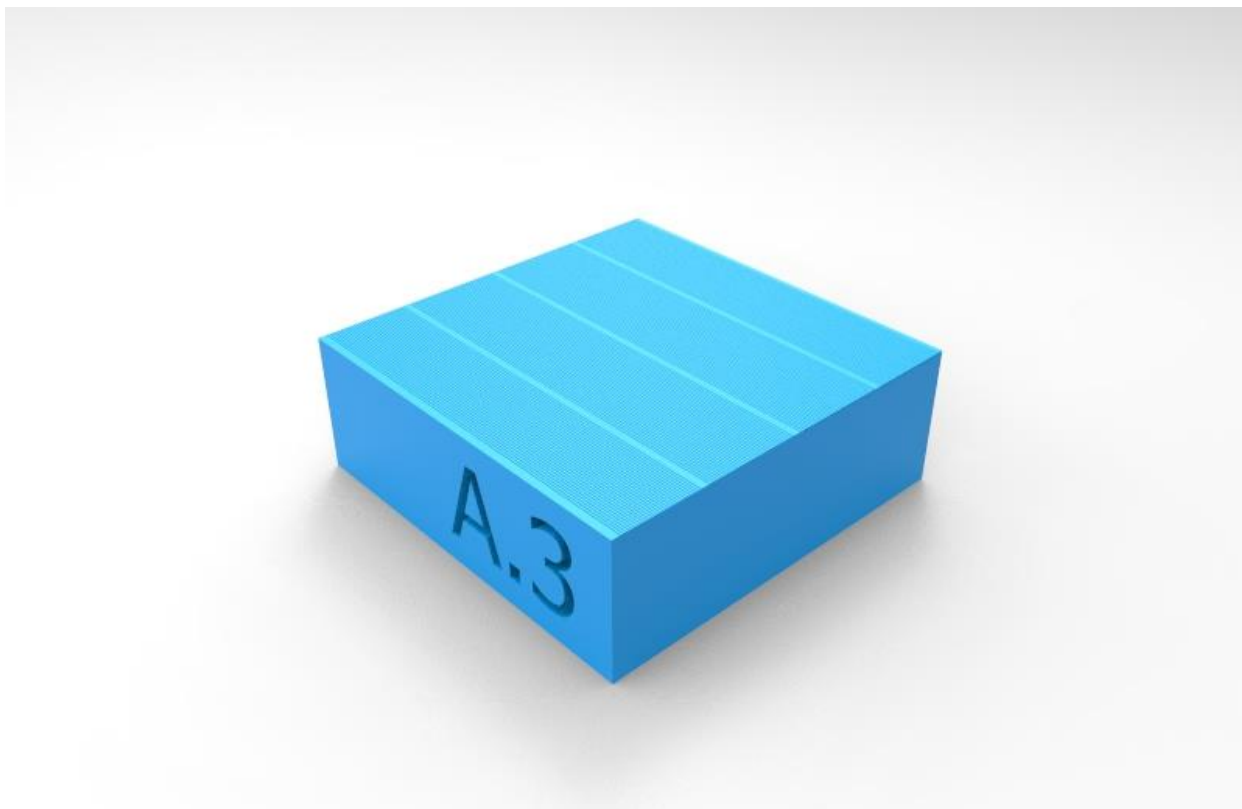
1.7 Septimo molde



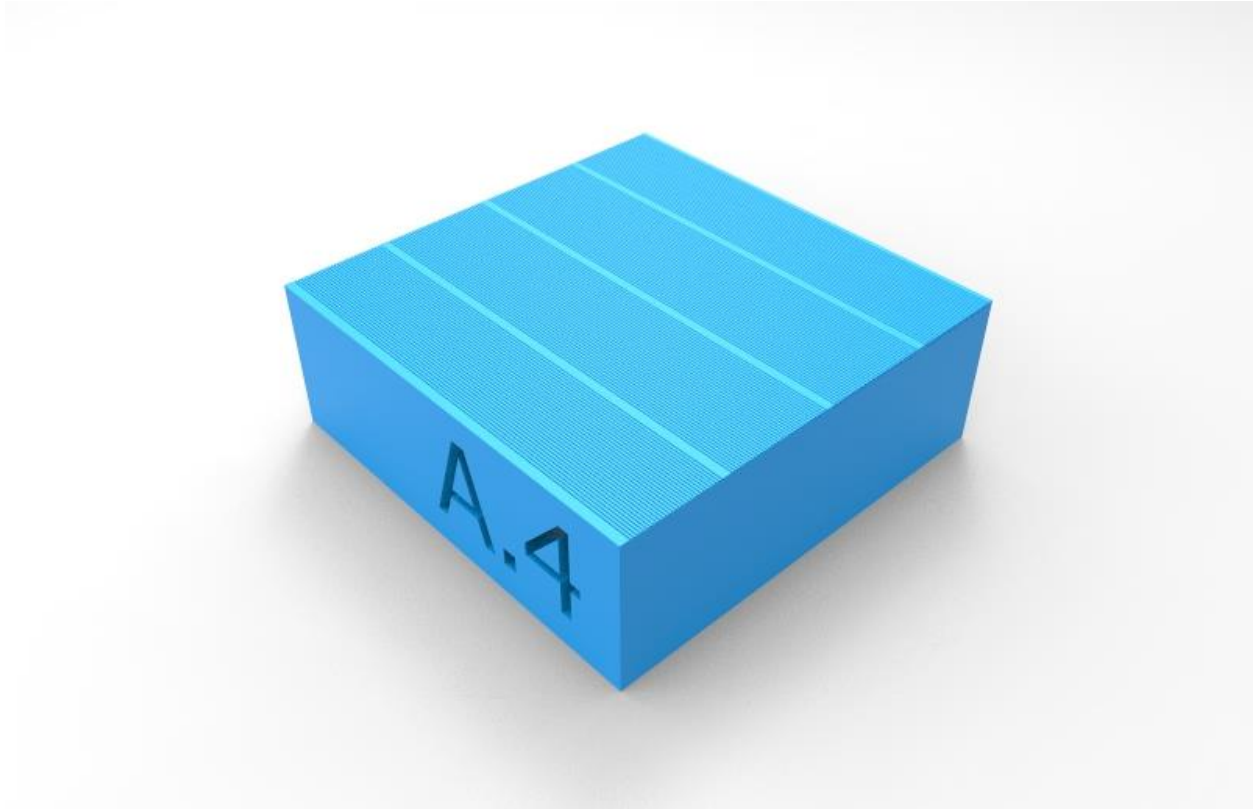
1.8 Octavo molde



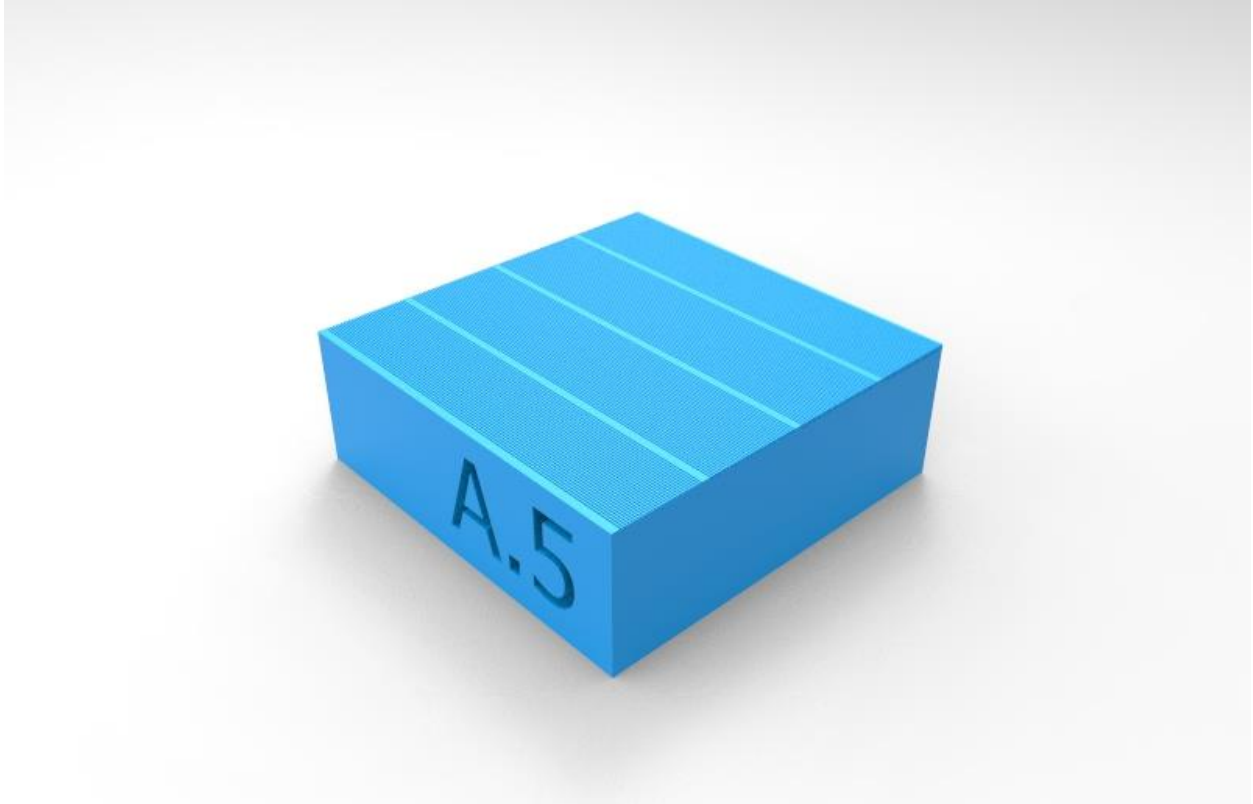
1.9 Noveno molde



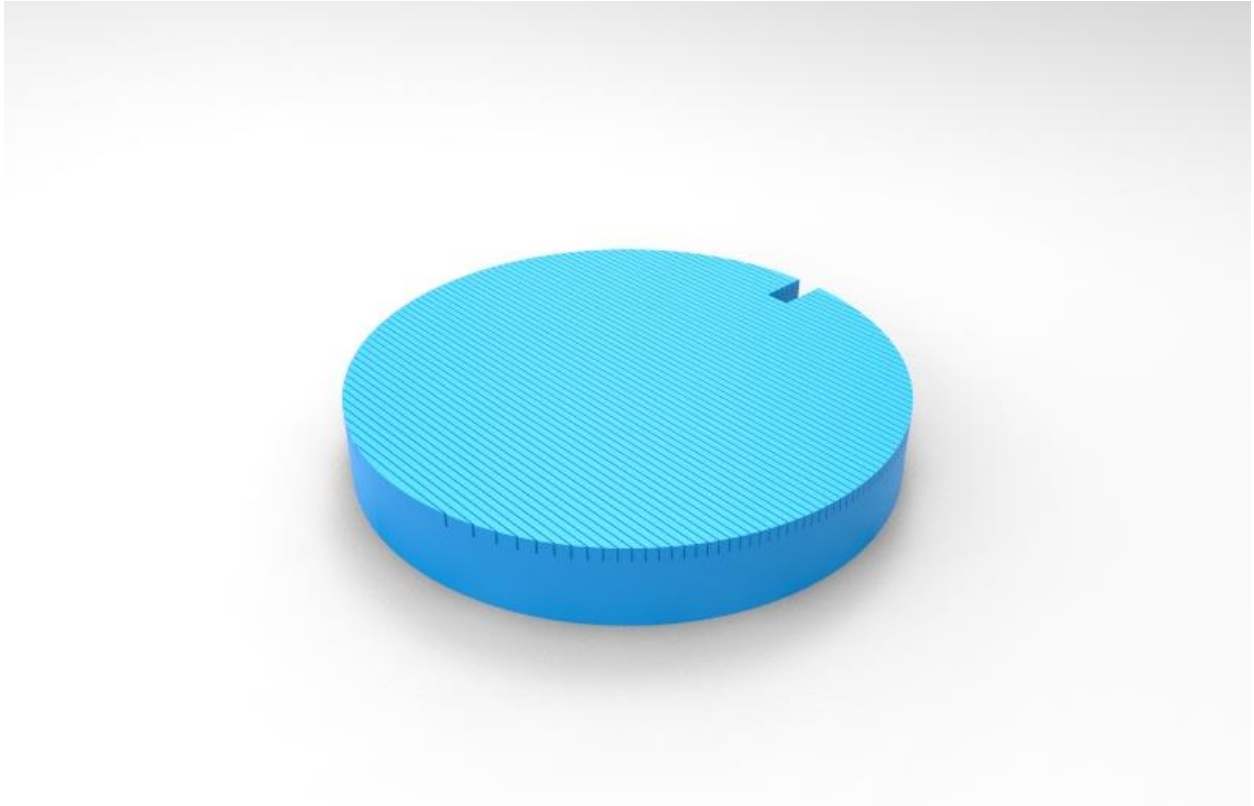
1.6 Décimo molde



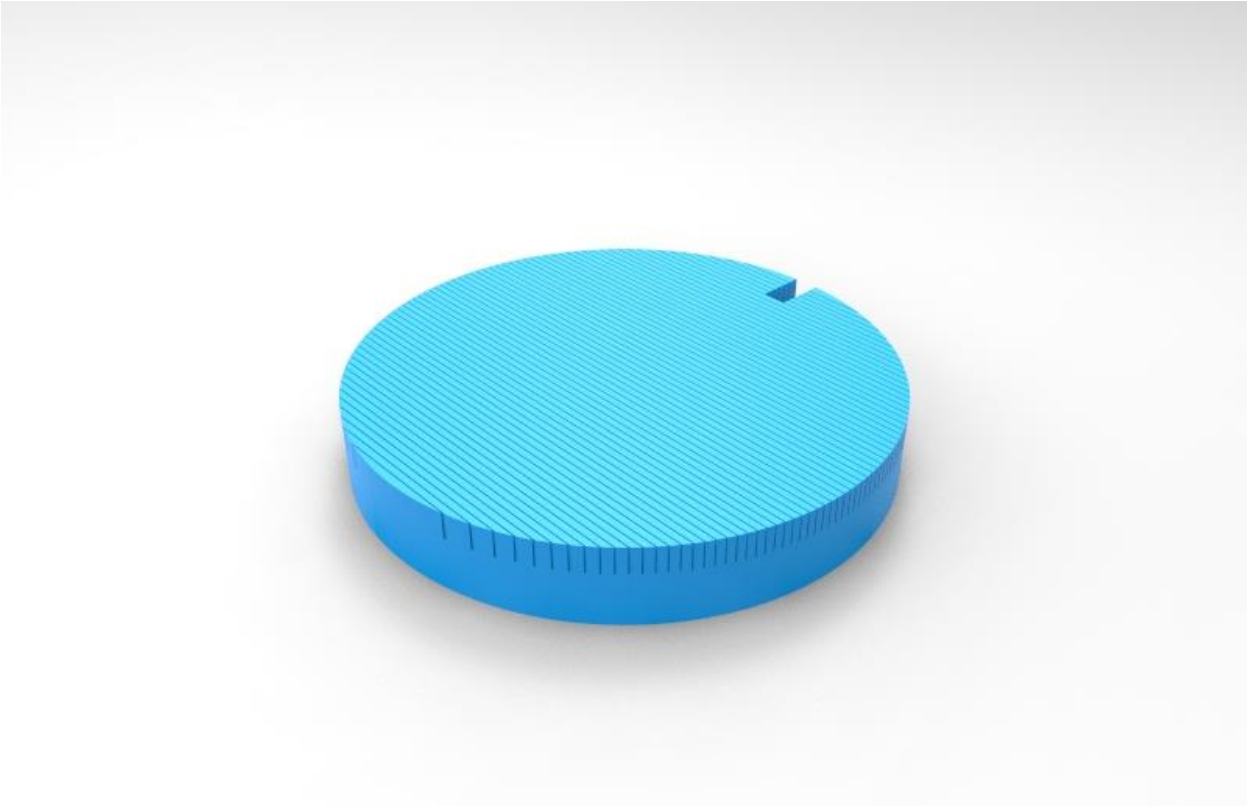
1.7 Decimoprimer, decimosegundo y decimotercer molde



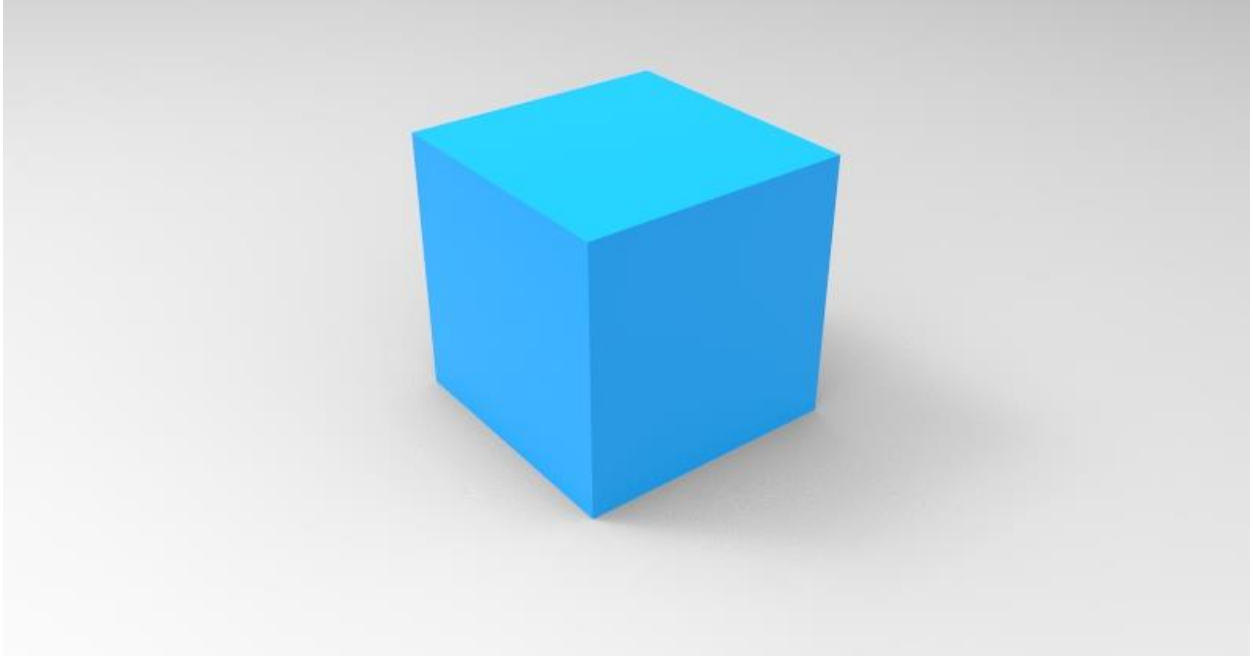
1.8 Decimocuarto y decimoquinto molde



1.9 Decimosexto molde

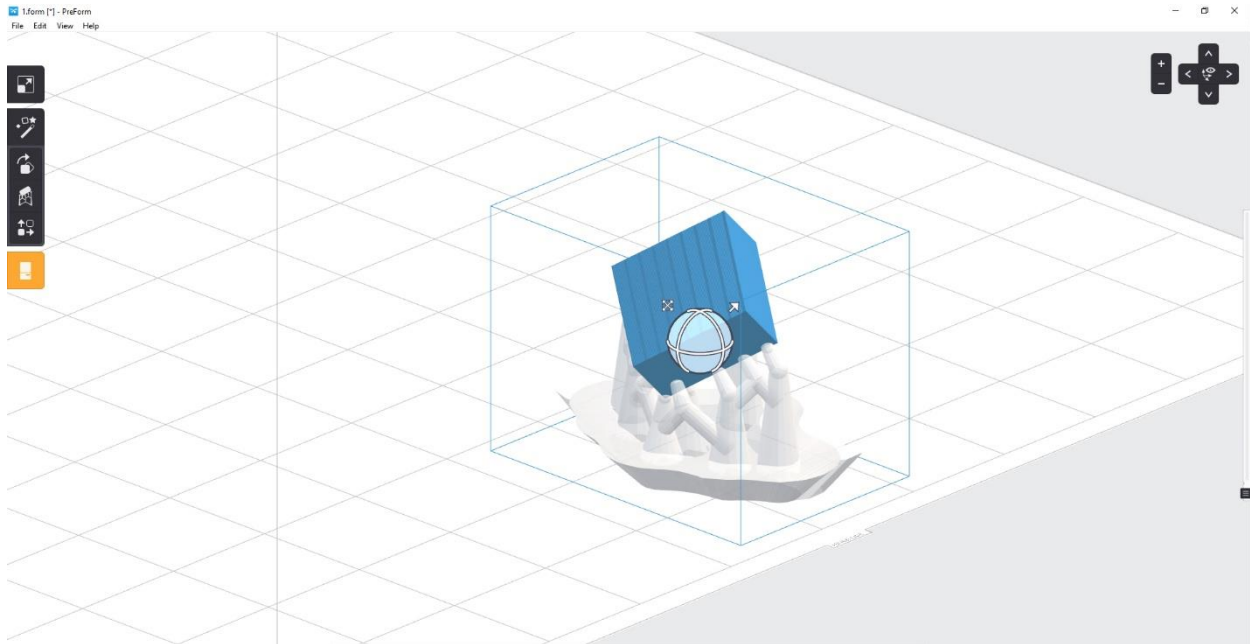


1.10 Decimoseptimo molde

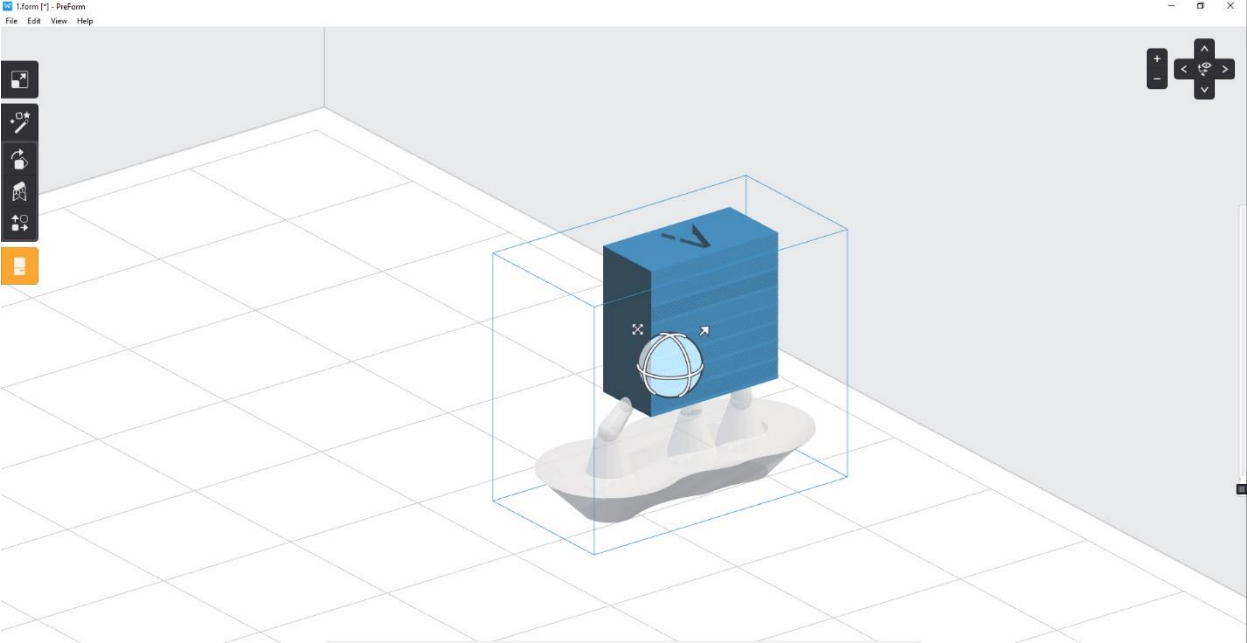


2 POSICIONAMIENTO DE PIEZAS

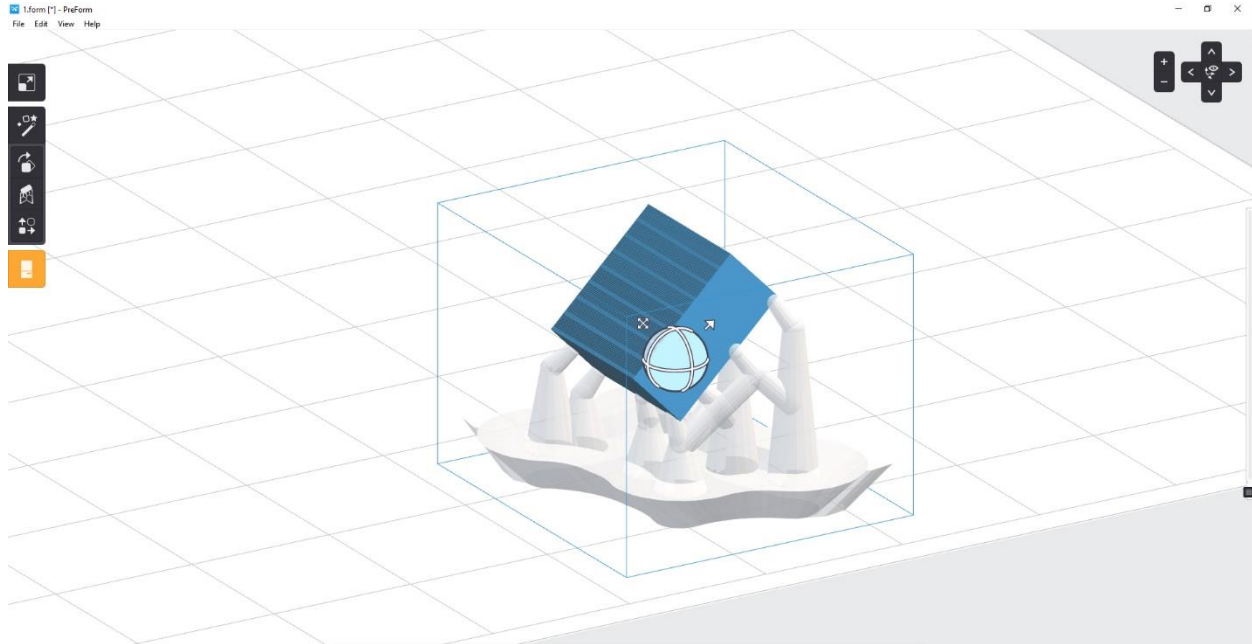
2.1 One-click print



2.2 Posicionamiento vertical



2.3 Posicionamiento a 45°



3 ERRORES ENCONTRADOS EN PROCESO DE FABRICACIÓN

3.1 MOLDES A PARTIR DE LA ESTEREOLITOGRAFÍA.

3.1.1 Falta de resina

El error mas común que puede ocurrir en la elaboración de piezas usando la estereolitografía, es la falta de resina en



Imagen Anexo 3.1.1 - Molde inconcluso por falta de resina en el tanque.

el estanque, lo que provoca un pieza cortada.

3.1.2 NO ADHESIÓN A LA PLATAFORMA DE TRABAJO

Otro error comun es que el laser al curar no se adiera correctamente a la plataforma de trabajo, generando una lámina de resina curada en el estaque.

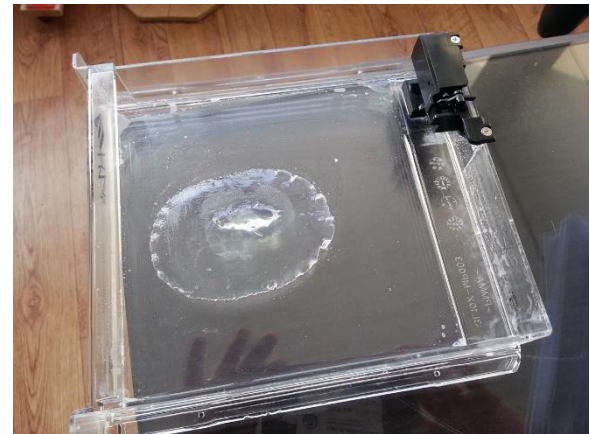


Imagen Anexo 3.1.2 - Lamina de resina generada por la no adhesión a la plataforma de trabajo (Fuente: 3dprintingindustry).

3.2 MOLDES A PARTIR DEL CORTE LÁSER

3.2.1 MATERIAL

Al tratar de hacer moldes con plasticos de baja calidad, estos resultaban quemados y deformados por el calor que emite el laser de la cortadora.

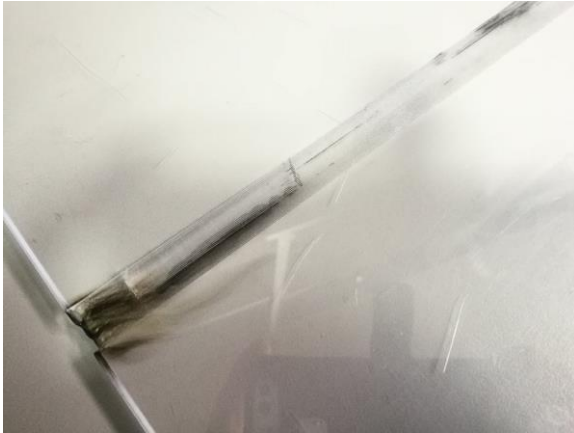


Imagen Anexo 3.2.1 - Quemadura generada por exceso de calor debido a la baja calidad de material.

3.3 GENERACIÓN DE MATRIZ DE CAUCHO DE SILICONA

3.3.1 PROPORCIONES

3.3.1.1 BAJA PROPORCIÓN DE CATALIZADOR

Al usar una baja proporción entre el caucho y el catalizador, este no logra curar en el tiempo correcto, dejando una mezcla viscosa y sin saber el tiempo de curado.



Imagen Anexo 3.3.1.1 - Matriz viscosa por falta de catalizador.

3.3.1.2 ALTA PROPORCIÓN DE CATALIZADOR

Al contrario de caso anterior, al usar una alta cantidad de catalizador en la mezcla de caucho, éste cura muy rápidamente y al estar extrayendo en aire en condición de vacío, produce un molde deformado.



Imagen Anexo 3.3.1.2 - Molde deformado por la cámara de vacío por exceso de catalizador.

**4 FOTOS DEL MOLDE NÚMERO
DECIMOSEPTIMO TOMADAS EN EL
LABORATORIO SEM**

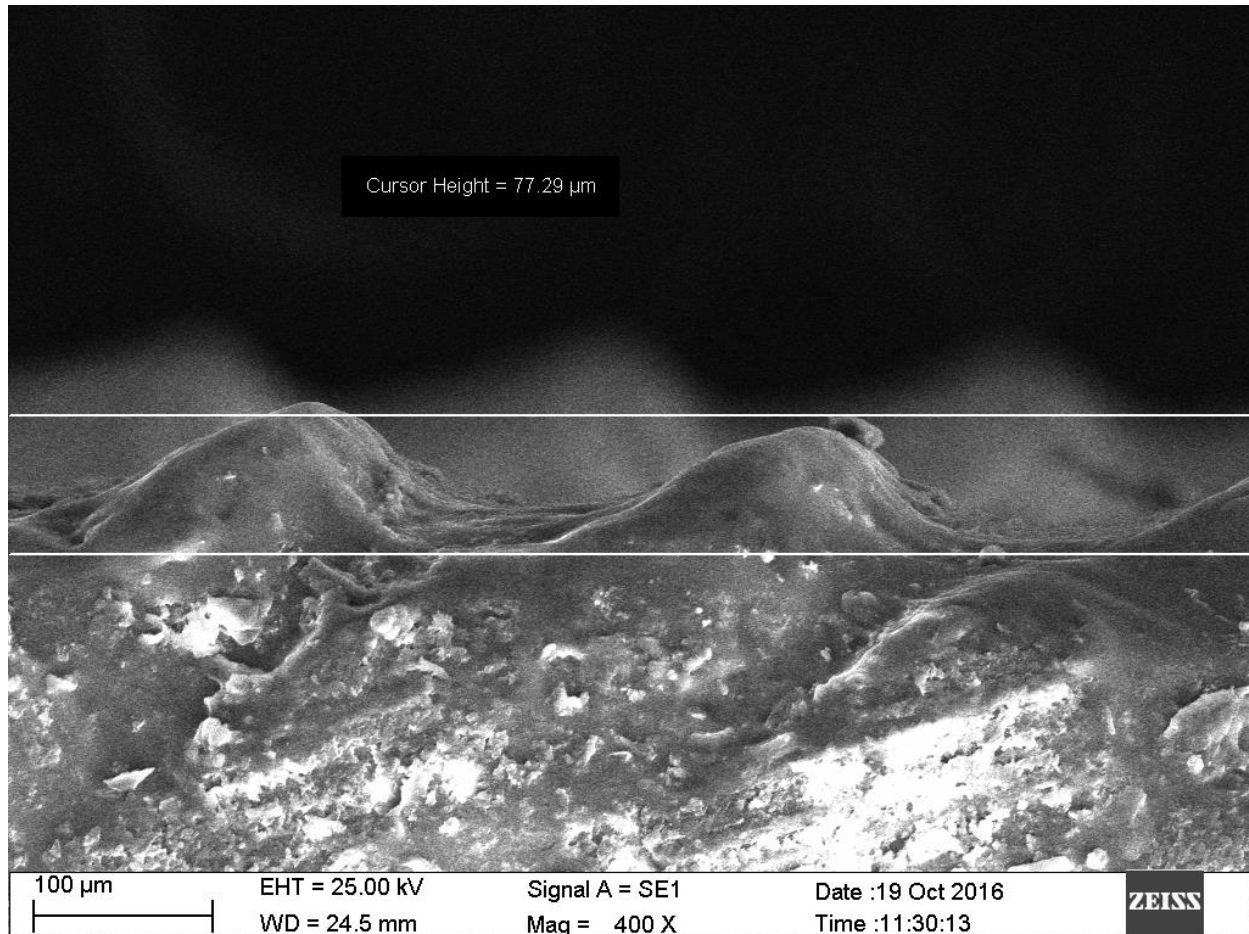


Imagen Anexo 4 – Medición de profundidad.

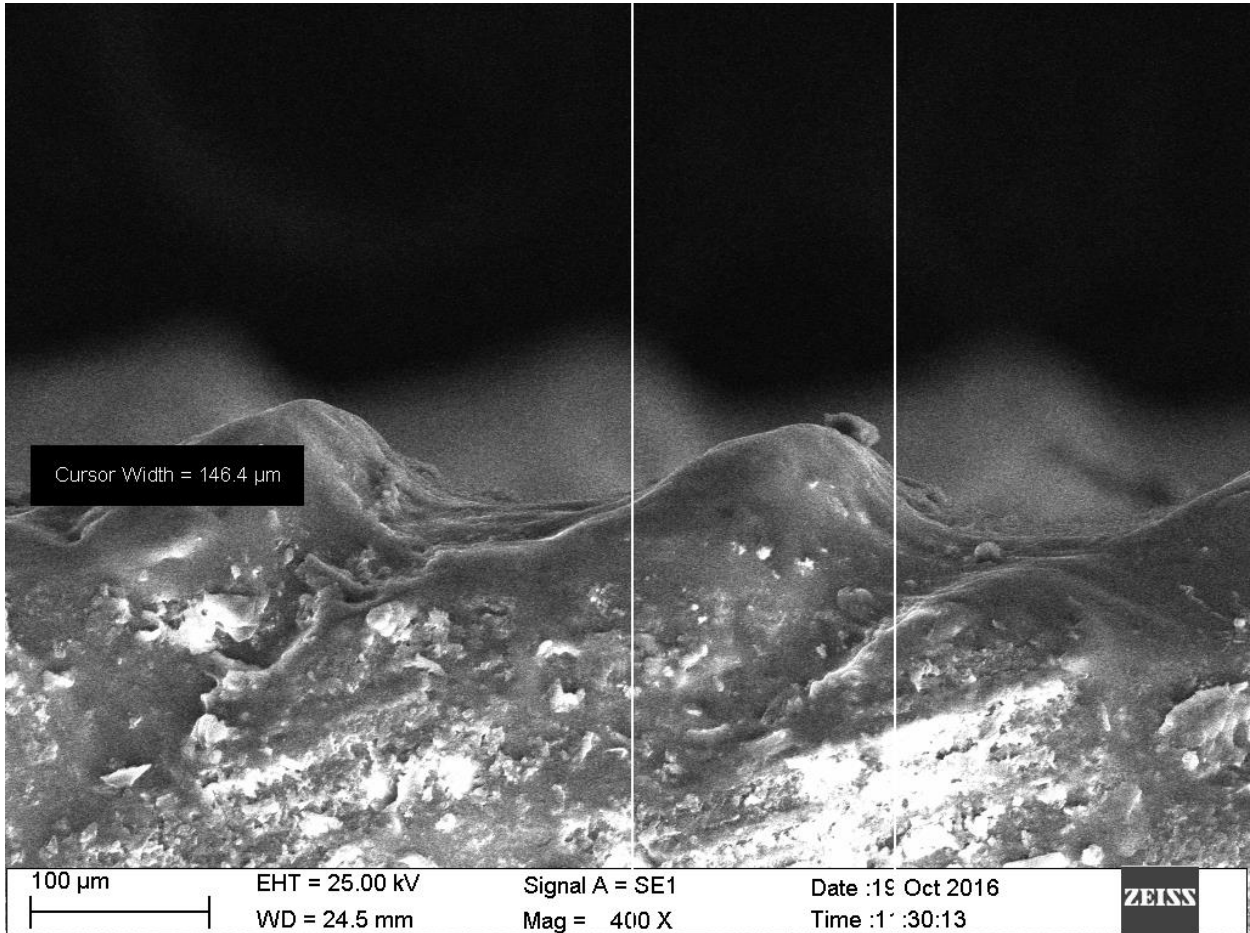


Imagen Anexo 4.1 – Medición del ancho del surco.

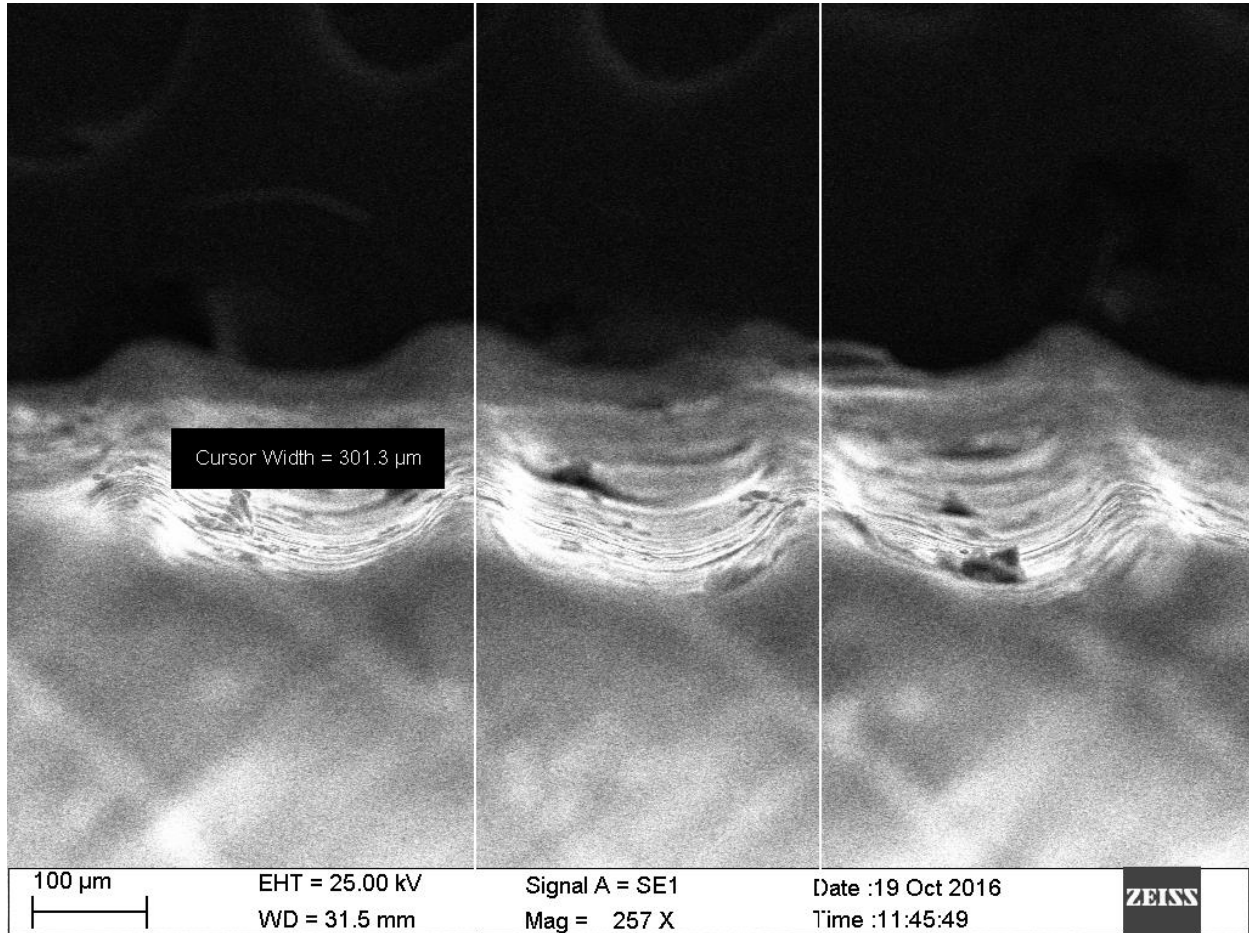
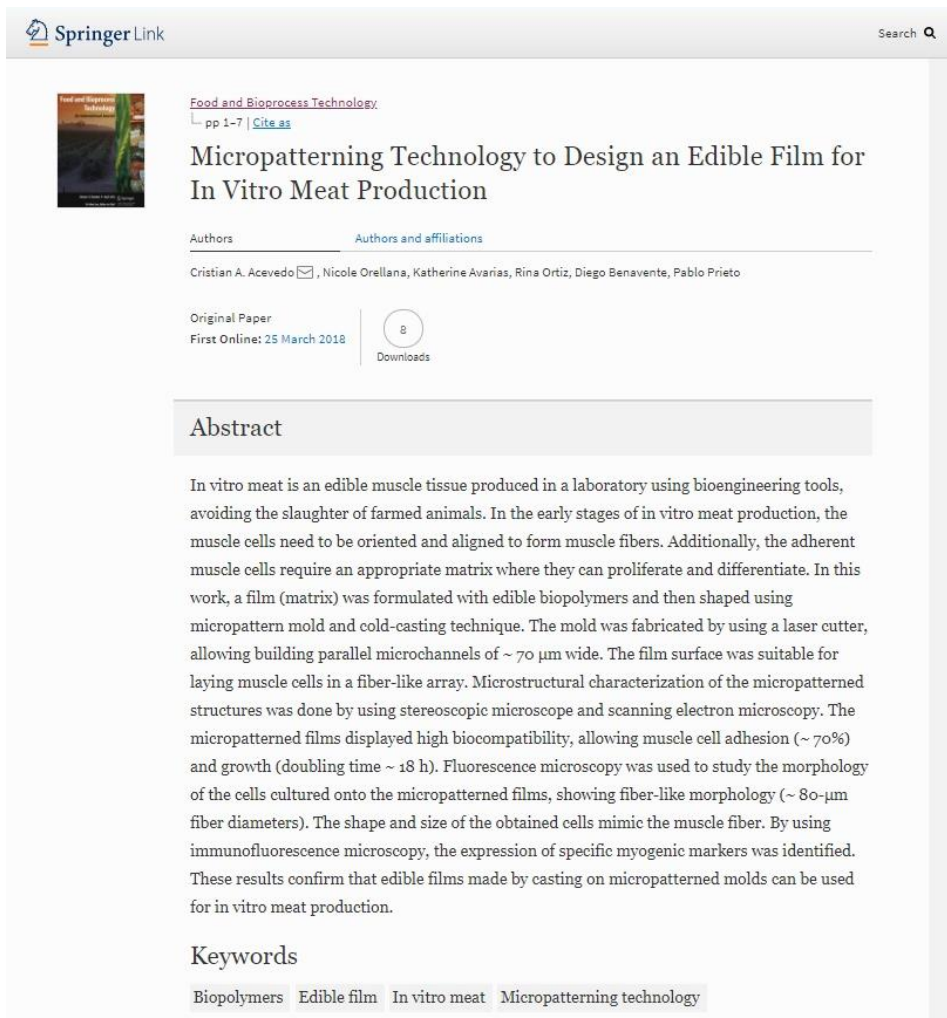




Imagen Anexo 4.2 – Medición de la separación entre surcos.

5 PUBLICACIÓN EN SPRINGER JOURNALS




The image shows a screenshot of a Springer Link article page. At the top left is the Springer Link logo, and at the top right is a search icon. Below the logo is a small thumbnail image of the journal cover. The article title is "Micropatterning Technology to Design an Edible Film for In Vitro Meat Production". Below the title, it says "Food and Bioprocess Technology" and "pp 1-7 | Cite as". There are two tabs: "Authors" and "Authors and affiliations", with the latter selected. The authors listed are Cristian A. Acevedo, Nicole Orellana, Katherine Avarias, Rina Ortiz, Diego Benavente, and Pablo Prieto. Below the authors, it says "Original Paper" and "First Online: 25 March 2016". There is a circular icon with the number 8 and the word "Downloads" below it. The abstract section is titled "Abstract" and contains a paragraph of text. Below the abstract is a "Keywords" section with the following terms: Biopolymers, Edible film, In vitro meat, and Micropatterning technology.

Springer Link Search 


 [Food and Bioprocess Technology](#)
pp 1-7 | [Cite as](#)

Micropatterning Technology to Design an Edible Film for In Vitro Meat Production

Authors | **Authors and affiliations**

Cristian A. Acevedo , Nicole Orellana, Katherine Avarias, Rina Ortiz, Diego Benavente, Pablo Prieto

Original Paper
First Online: 25 March 2016

 8
Downloads

Abstract

In vitro meat is an edible muscle tissue produced in a laboratory using bioengineering tools, avoiding the slaughter of farmed animals. In the early stages of in vitro meat production, the muscle cells need to be oriented and aligned to form muscle fibers. Additionally, the adherent muscle cells require an appropriate matrix where they can proliferate and differentiate. In this work, a film (matrix) was formulated with edible biopolymers and then shaped using micropattern mold and cold-casting technique. The mold was fabricated by using a laser cutter, allowing building parallel microchannels of $\sim 70 \mu\text{m}$ wide. The film surface was suitable for laying muscle cells in a fiber-like array. Microstructural characterization of the micropatterned structures was done by using stereoscopic microscope and scanning electron microscopy. The micropatterned films displayed high biocompatibility, allowing muscle cell adhesion ($\sim 70\%$) and growth (doubling time ~ 18 h). Fluorescence microscopy was used to study the morphology of the cells cultured onto the micropatterned films, showing fiber-like morphology ($\sim 80\text{-}\mu\text{m}$ fiber diameters). The shape and size of the obtained cells mimic the muscle fiber. By using immunofluorescence microscopy, the expression of specific myogenic markers was identified. These results confirm that edible films made by casting on micropatterned molds can be used for in vitro meat production.

Keywords

Biopolymers | Edible film | In vitro meat | Micropatterning technology

Imagen Anexo 5 Publicación en Springer journals (Fuente: springer.com).