

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

EFECTO DE LA TECNOLOGÍA DE IMPRESIÓN 3D SOBRE LAS PROPIEDADES ESTRUCTURALES Y REOLÓGICAS EN GALLETAS CON MICROALGAS

TRABAJO FIN DE MÁSTER

MÁSTER UNIVERSITARIO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE
LOS ALIMENTOS

ALUMNO/A: Segundo Javier Reino Moyón

TUTOR/A ACADEMICO: Javier Martínez Monzó

COTUTOR/A: Purificación García Segovia

DIRECTOR EXPERIMENTAL: Zaida Natalia Uribe Wandurraga

Curso Académico: 2017-2018

VALENCIA, SEPTIEMBRE 14 DE 2018

EFFECTO DE LA TECNOLOGÍA DE IMPRESIÓN 3D SOBRE LAS PROPIEDADES ESTRUCTURALES Y REOLÓGICAS EN GALLETAS CON MICROALGAS

Segundo Javier Reino Moyón¹; Zaida Natalia Uribe Wandurraga²; Purificación García Segovia²; Javier Martínez Monzó²

RESUMEN

El uso de la tecnología de impresión 3D en el sector de alimentos puede emplearse para la creación de diseños con geometrías complejas, nuevas o mejoradas e incluso permitiría la obtención de alimentos personalizados desde el punto de vista nutricional. Por esta razón la tecnología 3D representa un alto potencial para la innovación en la industria de alimentos. No obstante, es importante resaltar que el campo de la investigación en esta área es todavía muy incipiente y es necesario establecer tres factores clave en el diseño de alimentos con esta tecnología: características del producto, condiciones de impresión y post-procesado del alimento.

En este trabajo se estudió el efecto de la adición de microalgas en masas de galletas tipo danesas. Por otra parte se evaluaron las características reológicas y texturales de las masas, así como su color. Las características reológicas determinaron que la adición de microalgas condujo a una mayor resistencia mecánica y un predominio de la componente elástica frente a la viscosa, éste comportamiento fue confirmado por el análisis de textura que evidenció una mayor fuerza para la extrusión de masas con microalgas. El efecto de la composición y condiciones de impresión sobre las galletas impresas se evaluó mediante el análisis de imagen de las mismas. Las galletas con una mayor altura, longitud y diámetro después del proceso de impresión se obtuvieron con Spirulina, mientras que después del proceso de horneado los resultados fueron mejores para las galletas con la adición de Chlorella.

PALABRAS CLAVE: Galletas danesas, microalgas, impresión 3D de alimentos, propiedades reológicas, variables de impresión, color.

RESUM

L'ús de la tecnologia d'impressió 3D en el sector d'aliments pot emprar-se per a la creació de dissenys amb geometries complexes, noves o millorades i fins i tot permetria l'obtenció d'aliments personalitzats des del punt de vista nutricional. Per aquesta raó la tecnologia 3D representa un alt potencial per a la innovació en la indústria d'aliments. No obstant açò, és important ressaltar

¹ Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural

² Grupo de Investigación CUINA. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera, s/n 46022. Valencia. España

que el camp de la recerca en aquesta àrea és encara molt incipient i és necessari establir tres factors clau en el disseny d'aliments amb aquesta tecnologia: característiques del producte, condicions d'impressió i post-processament de l'aliment. En aquest treball es va estudiar l'efecte de l'addició de microalgues en masses de galetes tipus daneses. D'altra banda es van avaluar les característiques reològiques i texturals de les masses, així com el seu color. Les característiques reològiques van determinar que l'addició de microalgues va conduir a una major resistència mecànica i un predomini de la component elàstica enfront de la viscosa, aquest comportament va ser confirmat per l'anàlisi de textura que va evidenciar una major força per a l'extrusió de masses amb microalgues. L'efecte de la composició i condicions d'impressió sobre les galetes impreses es va avaluar mitjançant l'anàlisi d'imatge de les mateixes. Les galetes amb una major altura, longitud i diàmetre després del procés d'impressió es van obtenir amb Spirulina mentre que després del procés de fornejat els resultats van ser millors per a les galetes amb l'addició de Chlorella.

PARAULES CLAU: Galetes daneses, microalgues, impressió 3D d'aliments, propietats reològiques, variables d'impressió, color.

ABSTRACT

The use of the 3D printing technology in the food sector can be used for the creation of designs with complex, new or improved geometries, and it would even allow the obtaining of customized food from the nutritional point of view. Therefore, the technology 3D represents a high potential for the innovation in the food industry. However, it is important to stand out that the research in this area is still incipient and it is necessary to establish three key factors in the food design with this technology: characteristics of the product, conditions of printing and food post-processing.

The aim of this work was to study the effect of the addition of microalgae in Danish cake doughs. On the other hand, the rheological and textural characteristics of the doughs, as well as their color were evaluated. The rheological characteristics determined that the addition of microalgae lead to a greater mechanical resistance and a predominance of the elastic component in front of the viscose component, this behavior was confirmed by the textural analysis that showed a greater force for the extrusion of masses with microalgae. The effect of the composition and conditions of printing on printed cakes was evaluated by means of the image analysis of the samples. The cakes with a greater height, length and diameter after the printing process were obtained with Spirulina whereas after the baking process the results were better for cakes with the addition of Chlorella.

KEYWORDS: Danish cakes, micro algae, 3D printed foods, rheological properties, impression variables, color.

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la tecnología de impresión 3D ha llamado la atención del sector alimentario ya que permite el diseño de alimentos con propiedades dimensionales, sensoriales y nutricionales de acuerdo a las necesidades de cada individuo, es decir, orientado hacia un modelo personalizado. Permitiendo que cada día se diseñen alimentos con nuevos sabores, formas, estructuras, colores y presenten mejoras en cuanto a su valor nutricional.

Una de las innovaciones en cuanto a elevar el valor nutricional, constituye la adición de microalgas en la formulación de alimentos, *Spirulina maxima*, *Chlorella vulgaris*, *Haematococcus pluvialis*, *Diacronema vlkianum* e *Isochrysis galbana*, son algunas de las microalgas más interesantes con posibles propiedades bioactivas que revelan una composición química bien equilibrada y una fuente de moléculas de gran valor como los ácidos grasos poliinsaturados, pigmentos (carotenoides y clorofilas), esteroles, vitaminas, hidrocoloides y otros compuestos biológicamente activos (Batista et al., 2013).

Sin embargo, no hay en la población europea una tradición del consumo de alimentos a base de microalgas, por lo tanto, su aceptación y consumo se ve limitado. Aunque cabe destacar que este criterio puede cambiar a medida que los consumidores tomen mayor atención a la relación de dieta y salud. La personalización masiva de alimentos a través de la automatización permitirá la producción de alimentos impulsada por los datos del consumidor. Esto tendría un efecto potencialmente transformador en la salud humana (Lipton, 2017).

La impresión 3D más conocida como fabricación aditiva (AM), es un proceso innovador que mediante una construcción robótica controlada digitalmente se puede hacer objetos tridimensionales (Severini et al., 2018). Gracias a ésta tecnología, un material blando formulado con ingredientes comestibles se carga en un cilindro y se extruye en capas consecutivas a través de una boquilla mediante la fuerza de un pistón (Godoi et al., 2016).

La implementación de la tecnología para la impresión de alimentos en 3D, ha impulsado la realización de varias investigaciones. En este año se han publicado numerosos trabajos que estudian aspectos reológicos o el efecto de las condiciones de impresión sobre las características de varios alimentos impresos como snacks, puré de patata, gel de zumo de limón, surimi, verduras, salsas o queso procesado (Derossi et al., 2018; Hamilton et al., 2018; Holland et al., 2018; Le Tohic et al., 2018; Liu et al., 2018; C Severini et al., 2018; Yang et al., 2018). Sin embargo, se puede considerar a la tecnología de impresión en 3D aún en fase de investigación y desarrollo.

Las propiedades y la composición de los materiales han sido consideradas como los factores más importantes en el proceso de impresión 3D. Estos materiales deben ser homogéneos y tener propiedades de flujo apropiadas para la extrusión, así como también puedan soportar su estructura durante y después del proceso de impresión (Godoi et al., 2016). La viscosidad aparente (η_{ap}) es un factor importante, que debe ser lo suficientemente bajo como para permitir un proceso de extrusión fácil y lo suficientemente alto como para adherirse a capas depositadas previamente (Liu et al., 2018).

La impresión de una fórmula compleja de alimentos con la estructura 3D deseada es un trabajo riguroso, inclusive si solo se presta atención a la reproducibilidad de la estructura, conocida como imprimibilidad. El conocimiento de las propiedades reológicas, la fórmula alimenticia y la optimización de las variables de impresión también son factores clave para conseguir una buena impresión (Derossi et al., 2018).

El objetivo principal de este trabajo fue estudiar el efecto de la adición de dos especies de microalgas (*Arthrospira platensis* (Spirulina) y *Chlorella vulgaris*), en diferentes concentraciones y su influencia en la calidad de impresión de galletas. Ésta correlación se estudió mediante el análisis de las propiedades ópticas (colorimétricas y de imagen) y propiedades mecánicas (reológicas y texturales) tanto de la masa como de las galletas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materias primas

Para la elaboración de las masas base de las galletas se utilizó: harina de trigo para repostería, mantequilla, sal, azúcar, y agua, los cuales se compraron en un supermercado local (Alcampo, Aldaia, España). A esta mezcla se le añadió microalgas Spirulina (S) o Chlorella (C) suministradas por AlgaEnergy (AlgaEnergy S.A., Madrid, España) según formulación. Se prepararon 5 formulaciones, una para cada porcentaje de microalga (Tabla 1). De cada formulación se realizaron 4 combinaciones posibles variando tanto los parámetros de impresión como la altura de capa y el diámetro de filamento (Tabla 2).

TABLA 1. Formulaciones para la preparación de masas de galletas con ingredientes fijos y variables para cada porcentaje de microalga.

FORMULA	INGREDIENTES						TOTAL
	FIJOS				VARIABLES		
	Agua (%)	Azúcar (%)	Sal (%)	Margarina (%)	Harina (%)	Microalga (%)	
F1 B	25	13	0,2	18	43,8	0	100
F2 S o C	25	13	0,2	18	43,3	0,5	100
F3 S o C	25	13	0,2	18	42,8	1	100
F4 S o C	25	13	0,2	18	42,3	1,5	100
F5 S o C	25	13	0,2	18	41,8	2	100

TABLA 2. Combinaciones posibles variando los parámetros de impresión para la primera formulación correspondiente al banco (F1 B)

	FORMULA	ALTURA DE CAPA (mm)	DIAMETRO DE FILAMENTO (mm)
Blanco	F1 B	1,3	26
		1,3	27
		1,5	26
		1,5	27

2.2. Preparación de masas

La preparación consistió en realizar el proceso de cremado de forma manual entre la margarina y los cristales de azúcar. A esta preparación se añadió sal y las microalgas (*Chlorella* o *Spirulina*) a excepción del blanco (muestra sin microalgas), se fue añadiendo harina y agua de forma simultánea hasta formar una masa homogénea para finalmente mezclar la masa obtenida en la mezcladora Kenwood chef classic (Modelo: KM400/99 plus, Kenwood Corporation, Tokio, Japón). La Tabla 1 resume las diferentes formulaciones establecidas de acuerdo a ingredientes fijos y variables utilizados en el diseño experimental.

Una vez obtenida la masa se imprimieron las galletas, para cada formulación se ajustaron los parámetros de impresión altura de capa (1,3-1,5 mm) y diámetro de filamento (26-27 mm) (Tabla 2). La impresión se realizó por triplicado y la temperatura de trabajo se mantuvo en 25°C.

Finalizado el proceso de impresión se realizó el registro fotográfico para el análisis de imagen, se tomaron fotografías de la vista frontal y superior.

Las muestras fueron abatidas a -18°C por 90 minutos seguido de un proceso de horneado durante 55 minutos a 140°C. Una vez las muestras se enfriaron a temperatura ambiente, se realizó nuevamente el registro fotográfico y las mediciones de color. La optimización de las mezclas de materias primas y el proceso de secado son necesarios para producir productos con las propiedades mecánicas deseadas (Lille et al., 2018).

2.3. Caracterización reológica

Las determinaciones reológicas se realizaron en un reómetro giratorio (Kinexus pro +, Malvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido) controlado con un software informático comercial (rSpace, software de reometría para Kinexus). Las muestras se analizaron utilizando una geometría placa-placa de 25 mm de diámetro (DSR II, placa superior), un espacio de 3 mm entre las placas y a una temperatura constante de 25°C.

Se realizaron ensayos oscilatorios para cada una de las formulaciones establecidas por masa (blanco, *Spirulina* 0,5-1,0-1,5-2,0% y *Chlorella* 0,5-1,0-1,5-2,0%). Se realizó un barrido de frecuencia entre 0,1-10 Hz a una tensión de cizalla de 0,05%.

Los parámetros que se obtuvieron concretamente a una frecuencia de 1 Hz, con el objetivo de caracterizar el comportamiento viscoelástico fueron:

El valor del módulo de almacenamiento (G'), que representa el componente elástico de la masa. El módulo de pérdida (G''), que representa el comportamiento viscoso de la muestra. El módulo complejo (G^*), que representa la resistencia total de una sustancia frente a la deformación aplicada. La tangente de pérdidas ($\tan \delta$), que indica la razón entre la componente viscosa y elástica presentada por la masa.

Los resultados se reportaron a partir del promedio de tres replicas.

2.4. Caracterización de la textura

La evaluación de la capacidad de extrusión de las masas se realizó con el uso de un texturómetro (modelo TA-XT2, Stable Micro System Ltd., Leicestershire, Reino Unido). Se utilizó una jeringuilla de 100 mL de volumen y un pistón de 31 mm de diámetro. La jeringuilla se llenó con masa de galletas hasta 100 mL y el pistón se colocó a la misma altura (en contacto con la muestra). La muestra fue extruida por un orificio de 1,0 mm de diámetro. Las mediciones se realizaron a una temperatura controlada de 25°C utilizando una bobina de enfriamiento para cubrir la jeringuilla conectada a un baño con recirculación de agua (Heidolph rotacool chiller, Heidolph, Illinois, EE. UU.).

Para el ensayo se fijaron los siguientes parámetros: velocidad previa a la prueba 0,04 mm/s, velocidad de prueba 0,04 mm/s, velocidad post prueba 0,04 mm/s y distancia de 15 mm. Con base a éstos parámetros se determinó la fuerza máxima (N) necesaria para mover 15 mm de masa en la cámara, la fuerza media aplicada en el proceso (N) y el área bajo la curva (N.s).

2.5. Proceso de impresión

Se utilizó una impresora 3D comercial (BCN 3D+, BCN3D Technologies, Barcelona, España) equipada con una boquilla extrusora de pasta para trabajar con materiales alimentarios (extrusora de pasta, BCN3D Technologies, Barcelona, España) (Figura 1). El sistema de impresión 3D se compone de las siguientes partes principales: un sistema de extrusión (jeringa) y un sistema de posicionamiento X-Y-Z que utiliza motores paso a paso.

La figura (cilindro) se modeló utilizando el programa Thinkercad (Thinkercad, software gratuito, Autodesk, Inc., San Rafael, California, EE. UU.).

Una vez modelada la figura, se utilizó otro programa llamado Slic3r (Slic3r, software gratuito, desarrollado por Alessandro Ranellucci con la ayuda de colaboradores y la comunidad) para proporcionar archivos de código g, una extensión que puede leer la impresora y permite el movimiento, posicionamiento y control de la misma

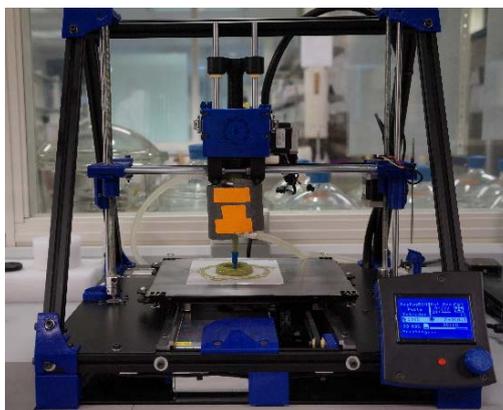


FIGURA 1. Impresora comercial BCN 3D usada para la impresión de galletas con microalgas

El proceso de impresión se realizó a una temperatura constante de 25°C utilizando una bobina de enfriamiento para cubrir la cámara de medición cilíndrica conectada a un baño de agua circulante (Heidolph rotacool chiller, Heidolph, Illinois, EE. UU.).

En la Figura 2 se muestra una vista frontal y superior de las masas de galletas impresas, las muestras se extruyeron sobre una placa de acero inoxidable cubierta con papel de horno para facilitar el proceso de horneado usando boquillas de forma circular con un diámetro de 1,0 mm.

Para evaluar los efectos sobre la geometría extruida, se variaron los siguientes parámetros de impresión: Altura de capa (1,3-1,5 mm) y diámetro de filamento (26-27 mm). La velocidad de impresión fue fijada en 8 mm/s, así como también las dimensiones de la figura (50x50x15 cm).

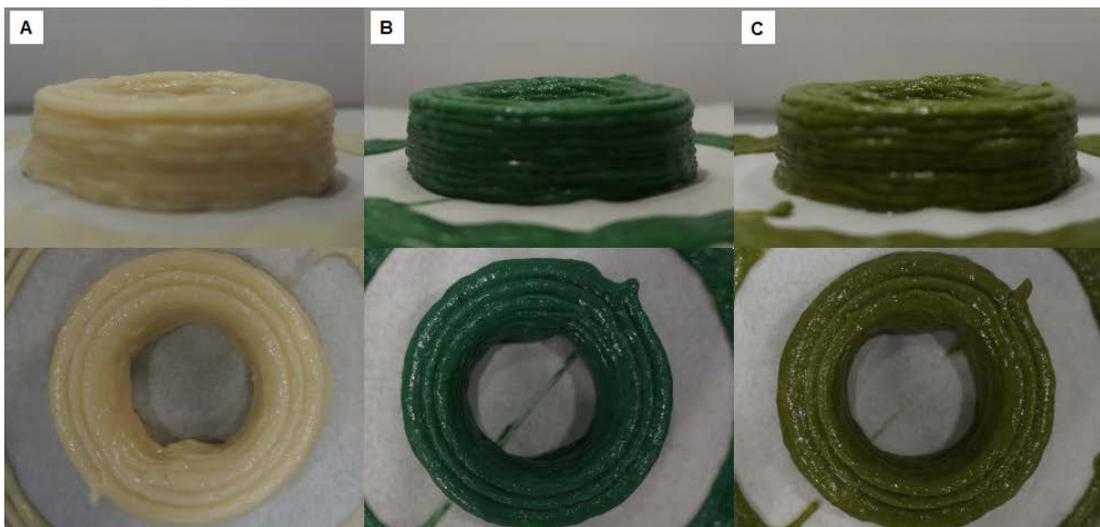


FIGURA 2. Vista frontal y superior de las masas de galletas impresas A) Masa sin adición de microalgas (Blanco), B) Masa con adición de Spirulina (1%) y C) Masa con adición de Chlorella (1%)

2.6. Caracterización del color

Para el análisis de color, en cada galleta se tomaron 6 medidas, 3 de la parte superior y 3 de la parte lateral. Las medidas de color, coordenadas L^* , a^* y b^* del espacio CIE $L^*a^*b^*$ se obtuvieron mediante un colorímetro (Konica Minolta CM-700d/600d., Tokio, Japón) con máscara de 3 mm, las cuales fueron registradas por el Software SpectraMagic. La diferencia de color total (ΔE) fue calculada mediante la siguiente ecuación:

$$\Delta E = \left[((L^* - L^*_0))^2 + ((a^* - a^*_0))^2 + ((b^* - b^*_0))^2 \right]^{1/2} \quad (1)$$

dónde: L^* =Luminosidad de la muestra; a^* =valores de rojo/verde; b^* =valores de amarillo/azul; L_0 , a_0 y b_0 =corresponden a los valores de luminosidad, rojo/verde y amarillo/azul, a los diferentes tiempos de la muestra patrón respectivamente.

2.7. Análisis de imagen

Las imágenes de cada figura impresa fueron tomadas inmediatamente después de su impresión, se tomó una vista frontal y una vista superior, de igual manera, una vez finalizado el proceso de horneado, se tomaron otras dos imágenes. Para este análisis se utilizó el software Image J (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>; Abramoff et al., 2004; Braadbaart y Van Bergen, 2005). De la vista superior se midió el diámetro exterior e interior y de la vista frontal se midió la altura y la longitud tal como se muestra en la Figura 3.

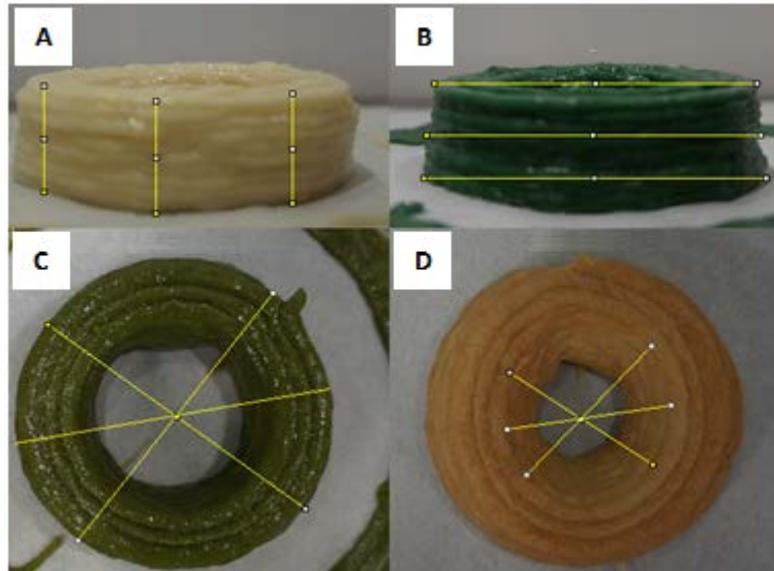


FIGURA 3. Vista frontal y superior de las masas de galletas impresas y horneadas, mediciones de A) Altura, B) Longitud, C) Diámetro externo y D) Diámetro interno.

2.8. Diseño experimental y análisis estadístico

Para el diseño de mezclas (vértices extremos) y el análisis de datos experimentales se utilizó Minitab 18 Statistical Software (Minitab Inc., EE. UU.). Los cinco componentes a tomar en cuenta fueron las formulaciones a diferente concentración de microalga, 0% (X1), 0,5% (X2), 1,5% (X3), y 2,0% (X4), y dos variables de proceso, altura de capa (1,3-1,5 mm) y diámetro de filamento (26,27 mm) para la impresión de un cilindro. El software de Minitab generó un diseño experimental con 120 impresiones para cada microalga (Spirulina y Chlorella).

Se realizó un análisis mediante el uso de regresiones múltiples y análisis de varianzas (ANOVA), se realizaron comparaciones de medias mediante la prueba de Diferencia Significativa Mínima (LSD) de Fisher utilizando el sistema Statgraphics Centurion XVI para Windows 10.0 (Statpoint Technologies, Inc., Warrenton, Virginia, EE. UU.). Se determinaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los valores promedio de las muestras.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la impresión de las muestras en 3D son importantes las siguientes condiciones: la capacidad de extrusión de la masa, la capacidad de soportar la estructura y la forma de los productos impresos en 3D. Si se cumplen las condiciones, la masa se puede extruir con éxito y además mantendrán su estructura y forma durante mucho tiempo. Sin embargo, a veces estas condiciones se contradicen entre sí. Por ejemplo, una muestra de masa con menor fuerza de gel podría extruirse bien, pero podría no tener la capacidad de soportar las estructuras y viceversa, una muestra de masa con una fuerza mucho más alta podría incluso no extruirse. Por lo tanto, las propiedades físicas adecuadas que corresponden a cierta formulación de diferentes tipos de material alimentario son vitales para la impresión 3D exitosa del producto (Yang et al., 2018).

3.1. Caracterización reológica de las masas

Las propiedades mecánicas y el comportamiento reológico de los alimentos desempeñan un papel importante durante la fabricación, el almacenamiento, la manipulación y, por último, pero no menos importante, el consumo (Vliet, 2013). La capacidad de impresión de los materiales por extrusión está altamente regulada por las propiedades reológicas de estos (Godoi et al., 2016).

La Figura 4 muestra la variación del módulo elástico (G') frente a un barrido de frecuencia, tanto para concentraciones crecientes de Spirulina como para Chlorella, respectivamente. Se observan valores superiores de G' cuando la adición de microalga fue Spirulina.

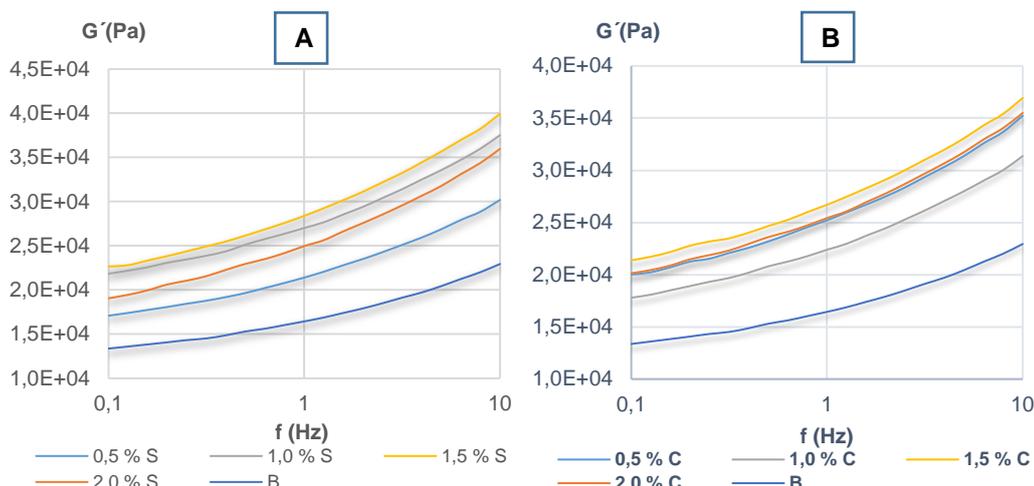


FIGURA 4. Variación del módulo elástico (G') frente a un barrido de frecuencia para A) Spirulina y B) Chlorella.

La Figura 5 muestra la variación del módulo viscoso (G'') frente a un barrido de frecuencia, tanto para concentraciones crecientes de Spirulina como para Chlorella respectivamente. Se observan valores superiores de G'' cuando la adición de microalga fue Spirulina.

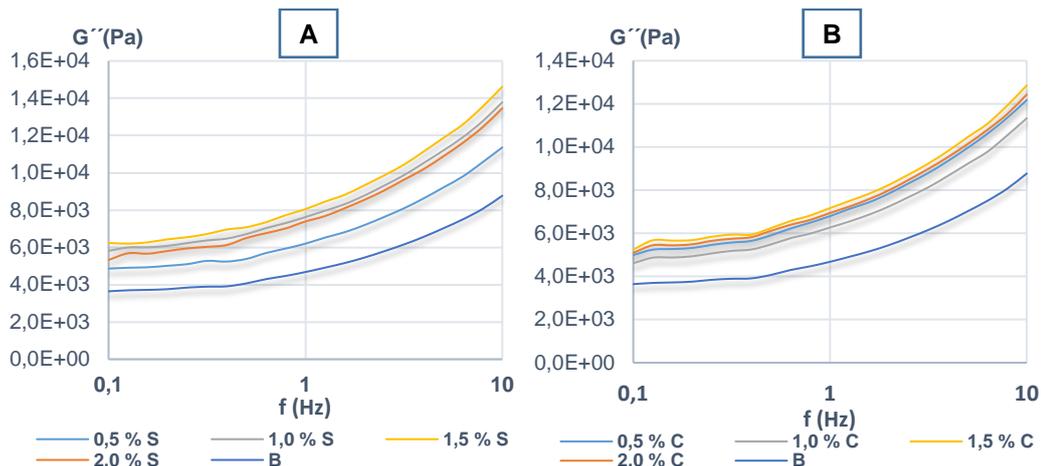


FIGURA 5. Variación del módulo viscoso (G'') frente a un barrido de frecuencia para A) Spirulina y B) Chlorella.

La adición de microalga, en ambos casos, condujo a un incremento considerable en G' y G'' , lo que indica una mayor resistencia mecánica durante el proceso de impresión en 3D. Los resultados numéricos de las mediciones del barrido de frecuencia se presentan en la tabla 3. Los resultados indican una estructura elástica dominante en todos los casos ($G' > G''$).

Según las propiedades viscoelásticas, el módulo de almacenamiento (G') fue mayor que el módulo de pérdida (G'') en todos los casos en la región viscoelástica lineal (Figura 5), sugiriendo su potencial para formar una estructura similar a un gel (Wang et al., 2018).

Los valores máximos de G' , G'' y viscosidad obtenidos son para la F4 S y los mínimos para el blanco. El efecto del incremento de microalga de 0,5% a 2,0% no sigue un patrón creciente o decreciente en ninguno de los casos.

En la Tabla 3 se muestran los resultados de G' , G'' , viscosidad y $\tan \delta$ tomados para una frecuencia de 1 Hz, para el blanco y las muestras con adición de microalgas.

Según Godoi et al., (2016), la viscosidad del material debe ser lo suficientemente baja a altas velocidades de corte para permitir el flujo a través de una pequeña boquilla, pero el material tiene que recuperar rápidamente una alta viscosidad en reposo para soportar la estructura después de la deposición.

La F4 S presentó una mayor viscosidad dificultando el proceso de impresión de manera similar a lo expuesto por Lille et al., (2018), quienes determinaron que a mayor viscosidad aparente, mayor dificultad de impresión del material. La grasa presente podría haber actuado como lubricante y ayudar en la fluidez de la masa, en este caso no debería influir en los resultados ya que la cantidad aplicada fue la misma en todas las formulaciones.

Valores de la tangente ($\tan \delta = G''/G'$) de pérdida < 1 significa un comportamiento predominantemente elástico y > 1 indica un comportamiento predominantemente viscoso. Un valor alto indica que el material muestra un comportamiento más parecido al fluido y un valor bajo significa un comportamiento más parecido al sólido con una fluidez pobre (Liu et al., 2018).

En todas las formulaciones los resultados indican masas con una fluidez mínima.

TABLA 3. Resultados del barrido de frecuencia para los diferentes tipos de formulaciones.

Muestra	Fórmula	G' (kPa)	G'' (kPa)	η^* (Pa·s)	Tan δ
Blanco	F1 B	5,48 ± 0,1	1,56 ± 0,05	907 ± 24	0,285 ± 0,005
Spirulina 0,5%	F2 S	7,1 ± 0,5	2,1 ± 0,20	1180 ± 90	0,289 ± 0,004
Spirulina 1,0%	F3 S	9,0 ± 0,2	2,54 ± 0,04	1490 ± 26	0,282 ± 0,001
Spirulina 1,5%	F4 S	9,5 ± 0,4	2,68 ± 0,07	1570 ± 57	0,284 ± 0,006
Spirulina 2,0%	F5 S	8,3 ± 0,3	2,5 ± 0,20	1380 ± 60	0,296 ± 0,070
Chlorella 0,5%	F2 C	8,4 ± 0,5	2,27 ± 0,01	1,390 ± 75	0,270 ± 0,001
Chlorella 1,0%	F3 C	7,4 ± 0,4	2,09 ± 0,02	1230 ± 71	0,280 ± 0,007
Chlorella 1,5%	F4 C	8,9 ± 0,7	2,39 ± 0,02	1470 ± 12	0,269 ± 0,003
Chlorella 2,0%	F5 C	8,5 ± 0,3	2,31 ± 0,01	1400 ± 45	0,273 ± 0,003

La Figura 6 muestra cómo cambian los valores de los 3 módulos, módulo de almacenamiento, módulo de pérdida y módulo complejo (Figura 6A) y la tangente de pérdidas y la viscosidad compleja (Figura 6B) para las masas de galletas en función de la concentración de microalgas.

Al evaluar el efecto que tiene la adición de microalgas, ya sea Spirulina o Chlorella a la masa de galletas, se observa que la relación G'-G'' y el módulo complejo G* aumenta a medida que aumenta la concentración de microalgas tomando como base el blanco, mientras que, la tangente del ángulo de fase disminuye y la viscosidad compleja aumenta indicando que la adición de microalgas hace que predomine la componente elástica sobre la viscosa.

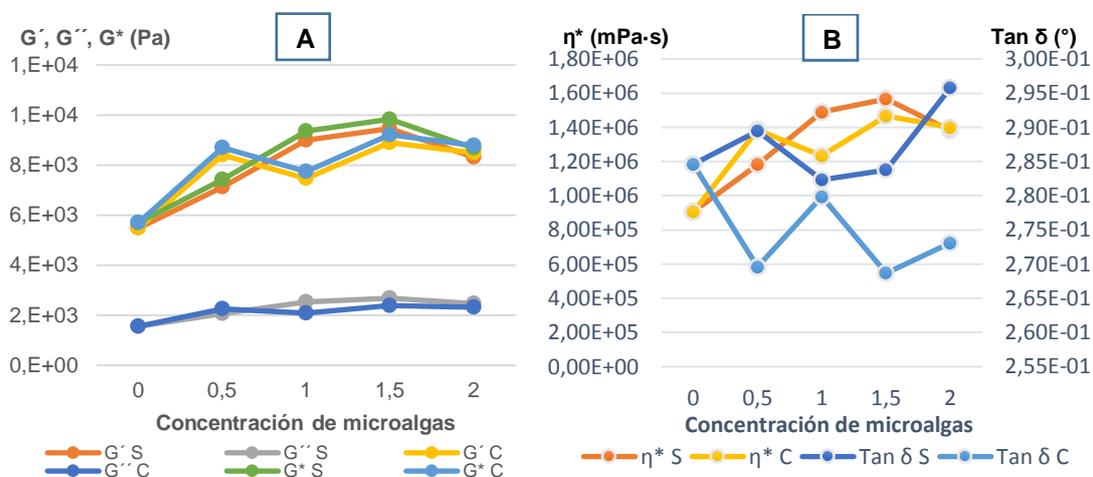


FIGURA 6. Variación de la concentración de Spirulina y Chlorella con respecto a A) el módulo de almacenamiento, módulo de pérdida y módulo complejo y B) Tangente del ángulo de fase y viscosidad compleja.

3.2. Caracterización textural de las masas

Las curvas de fuerza frente al tiempo muestran los diferentes periodos que atraviesa la masa durante el proceso de extrusión. En la Figura 7 se observa una curva para una masa con una concentración de 2,0% de Spirulina.

Para asegurar un empaquetado uniforme se empujó previamente el pistón sobre la muestra. La primera etapa demandó una fuerza mayor para comenzar la extrusión, una vez que la fuerza llegó a su punto máximo se observa una meseta, la cual indica la fuerza necesaria para continuar con el proceso de extrusión. Para caracterizar las muestras se utilizó la pendiente de la curva (N/s) durante los 25 primeros segundos, la fuerza máxima (N) para mover el pistón 15 mm, la fuerza media (N) aplicada en la meseta a partir de los 150 segundos y el área bajo la curva (N.s).

Las pequeñas caídas de fuerza que se observan en la gráfica, pueden ser debidas a las burbujas de aire que pudieran quedar en el interior de la masa.

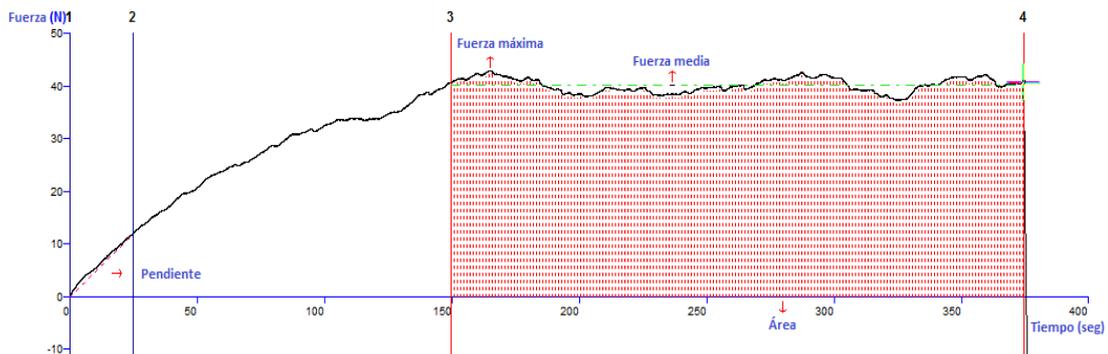


FIGURA 7. Curva característica de la extrusión de la masa con una concentración de 2,0% de Spirulina.

Se evaluó la fuerza máxima ejecutada por la impresora para las formulaciones preestablecidas. En la Tabla 4 se muestran los valores medios de Fuerza máxima (N), Fuerza media (N) y Área (N.s) para las muestras extruidas a una temperatura controlada de 25°C. Los resultados indican que estos parámetros fueron mayores para la formulación F5 S mientras que los valores mínimos se presentaron en la F3 S, además indican que a excepción de la F5 S, en todos los casos se necesitó una fuerza mayor para las masas con Chlorella.

Al añadir microalgas a la formulación vemos que se incrementa la fuerza necesaria para la extrusión en la mayoría de los casos.

Respecto al área se observa, al igual que la fuerza, una mayor proporción para la F4S lo que indica una mayor deposición de masa para ésta formulación.

TABLA 4. Valores medios de gradiente, fuerza máxima y media y área de compresión de las diferentes formulaciones.

Fórmula	Masa cantidad	Alga cantidad	Gradiente (N/s)	Fuerza máxima (N)	Fuerza media (N)	Área (N.s)
F1 B	1	0	0,27 ± 0,06	19 ± 3	16 ± 3	3733 ± 813
F2 S	0,995	0,005	0,29 ± 0,06	19 ± 4	16 ± 4	3712 ± 821
F3 S	0,990	0,010	0,14 ± 0,02	18 ± 4	14 ± 3	3209 ± 857
F4 S	0,985	0,015	0,21 ± 0,08	19 ± 5	15 ± 5	3529 ± 1195
F5 S	0,980	0,020	0,499 ± 0,05	48 ± 6	44 ± 5	9976 ± 1246
F2 C	0,995	0,005	0,4 ± 0,10	30 ± 5	27 ± 5	6096 ± 1155
F3 C	0,990	0,010	0,3 ± 0,10	24 ± 7	22 ± 7	5015 ± 1584
F4 C	0,985	0,015	0,31 ± 0,07	21 ± 4	19 ± 3	4383 ± 8920
F5 C	0,980	0,020	0,3 ± 0,10	24 ± 11	22 ± 10	5052 ± 2399

3.3. Análisis de imagen

Según la clasificación establecida por Kim et al (2018), los alimentos correspondientes al grado A podrían extruirse con alta resolución y estabilidad dimensional. Los materiales de grado B incluyen alimentos de impresión fácilmente extruibles, como la pasta de frijoles y el queso. Las masas de galletas se encuentran en los materiales de grado C y requieren un alto rendimiento para la extrusión y por último los alimentos de grado D no están disponibles para la impresión porque son extremadamente flexibles para ser extruidos.

La medición de altura, longitud y diámetro externo e interno son esenciales para determinar la precisión de la impresora 3D de alimentos en la construcción del objeto (Mantihal et al.,2017).

Las imágenes de las galletas, una vez impresas y luego horneadas, fueron analizadas mediante el software Image J, los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA. Las pruebas de múltiples rangos nos permitieron determinar si existen diferencias significativas entre las muestras sin la adición de microalgas (blanco) y muestras con adición de Spirulina y Chlorella, en este caso no se tomó en cuenta el porcentaje de adición.

En la Tabla 5 se muestra la diferencia en cuanto a la altura de cada galleta. Una vez impresa la galleta, los resultados muestran que el blanco presenta un valor medio de 1,63 cm, para las muestras con Chlorella 1,72 cm y para las muestras con Spirulina 1,80 cm, lo que indica que existe una diferencia significativa entre los 3 grupos. Finalizado el proceso de horneado, los valores medios obtenidos fueron: para el blanco: 1,46 cm, Chlorella: 1,50 cm, y Spirulina: 1,44 cm. Tras el proceso de horneado se puede observar como se ha dado una reducción de la altura inicial en los tres grupos, además éstos resultados expresan una diferencia significativa entre la adición de Chlorella y Spirulina mas no entre el blanco y las muestras con microalgas.

A medida que el proceso de impresión se mueve continuamente capa por capa de recubrimiento de masa, la capa superpuesta a la capa inferior genera la presión debido a su peso y puede producirse una ligera deformación en cada capa y además en consecuencia, el proceso de horneado, produjo una

compresión mayor en las primeras capas en el fondo de la galleta, lo que condujo a la disminución observada de la altura y al aumento del diámetro exterior (Severini et al., 2018). El mismo efecto se observó en la elaboración de productos 3D a base de cereales (Severini et al., 2016).

Los resultados restantes de las pruebas de múltiples rangos dieron como resultado que para la longitud, las muestras recién impresas indican que existe diferencia entre las muestras con Chlorella y los otros dos grupos pero entre el blanco y las muestras con Spirulina no existe una diferencia significativa. Cuando estas muestras fueron horneadas, en los tres casos se produjo un incremento de la longitud producto de la disminución de la altura. La diferencia significativa más relevante está entre las muestras con Spirulina y las muestras con Chlorella siendo mayor la longitud media en el caso de la Chlorella.

Para el diámetro interno no existen diferencias significativas entre los grupos cuando las muestras han sido recién impresas ni después del proceso de horneado. Por último, para el diámetro externo cuando las muestras son impresas, no existe diferencia entre el blanco y las muestras con Chlorella pero si entre estos dos grupos y las muestras con Spirulina, en cambio, cuando las muestras ya fueron horneadas la principal diferencia está entre las muestras con Chlorella y las muestras con Spirulina ya que el blanco no presenta diferencias con los dos grupos.

TABLA 5. Medias de las pruebas de múltiples rangos para: Altura, longitud, diámetro interno y externo por cada tipo microalga añadida.

Tipo de microalga	Blanco	Chlorella	Spirulina
Media Altura Impreso (cm)	1,6±0,07 ^a	1,7±0,1 ^b	1,8±0,09 ^c
Media Altura Horneado (cm)	1,5±0,08 ^{ab}	1,5±0,1 ^b	1,5±0,1 ^a
Media Longitud Impreso (cm)	4,9±0,2 ^b	4,8±0,3 ^a	4,9±0,3 ^b
Media Longitud Horneado (cm)	5,0±0,2 ^{ab}	5,1±0,2 ^c	4,9±0,4 ^a
Media Diámetro interno Impreso (cm)	3,7±0,1 ^a	3,7±0,09 ^a	3,7±0,2 ^a
Media Diámetro interno Horneado (cm)	3,3±0,3 ^a	3,4±0,2 ^a	3,4±0,3 ^a
Media Diámetro externo Impreso (cm)	5,7±0,1 ^b	5,7±0,1 ^b	5,5±0,4 ^a
Media Diámetro externo Horneado (cm)	5,3±0,5 ^{ab}	5,5±0,2 ^b	5,2±0,5 ^a

^{a,b,c}: Los valores dentro de una misma fila que llevan diferentes superíndices son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) según la prueba de rango múltiple

En cuanto al efecto de las condiciones de impresión (altura de capa y diámetro del filamento) sobre las características de la muestra impresa (antes de hornear) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en lo que hace referencia al parámetro diámetro del filamento en la altura de la muestra, longitud, diámetro externo y diámetro interno. Por el contrario sí que aparecieron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en la altura de la muestra y la longitud en cuanto al efecto del parámetro altura de capa. Las muestras con una altura de capa de 1,5 presentaron mayor altura y menor longitud que las muestras con una altura de capa de 1,3. Por lo que respecta a las características de las muestras tras el horneado, los resultados mostraron que la única diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) se produjo el valor de la longitud de las

muestras con el parámetro diámetro de filamento, siendo las que fueron impresas con un diámetro de filamento de 26 las que mayor longitud presentaron tras el horneado. El parámetro diámetro del filamento está relacionado con la cantidad de masa que deposita la impresora de manera que a menor diámetro de filamento mayor deposición. Por el contrario, el parámetro altura de capa se relaciona con la anchura de la capa y por tanto con la altura de la muestra. A pesar de que las experiencias realizadas no mostraron grandes diferencias en las características geométricas de las muestras en función de los parámetros de impresión, parece que lo más recomendable para estas masas sería trabajar con una altura de capa de 15 y un diámetro de filamento de 27, ya que se obtendrían muestras un poco más definidas en cuanto a las proporciones altura/longitud con respecto al diseño programado.

3.4. Cambios de color

En los alimentos se dan diferentes fenómenos ópticos y según el que prevalece, podemos clasificarlos en alimentos transparentes, donde predomina la transmisión especular, en alimentos opacos, donde predomina la reflexión y en alimentos translúcidos, donde dependiendo de sus características predomina la reflexión o la transmisión difusa (Talens, 2016).

Para las mediciones de color se empleó un espectrocólorímetro obteniéndose valores de reflectancia en el rango de 360 a 740 nanómetros. En la Tabla 6 se muestran los atributos de color. Al comparar las cinco formulaciones para cada una de las microalgas, observamos que la F1 (Blanco) tanto para Spirulina como para Chlorella tienen mayor luminosidad que el resto de formulaciones. Los resultados indican una mayor luminosidad en las formulaciones con adición de Spirulina que las que contienen Chlorella, además presentan una disminución de éste parámetro al ir aumentando la adición de microalgas.

TABLA 6. Valores medios de los atributos de color para las 5 formulaciones con cada una de las microalgas.

Fórmula	Microalga (%)	L*	a*	b*	h* _{ab}	C* _{ab}	ΔE
F1 S	0	63±2	10,0±0,9	31,5±0,4	72±1	33,1±0,6	0
F2 S	0,5	48±2	1,6±0,6	22,4±0,4	86±2	22,6±0,4	19,2
F3 S	1	41±1	-1,4±0,8	17,7±0,4	94±2	17,8±0,4	28,6
F4 S	1,5	36±2	-0,6±1,2	15,4±0,4	92±5	15,5±0,4	33,3
F5 S	2	32±2	-0,9±0,7	13,1±0,4	94±3	13,2±0,4	37
F1 C	0	63±2	9,5±0,6	30,3±0,2	72±1	31,8±0,2	0
F2 C	0,5	46±2	2,3±0,7	25,2±0,5	84±2	25,3±0,4	19,0
F3 C	1	39±1	2,0±0,5	21,2±0,7	84±2	21,3±0,6	26,5
F4 C	1,5	35±1	1,8±0,1	17,9±0,7	84±1	18,0±0,7	31,4
F5 C	2	32±1	1,7±0,3	14,8±0,9	83±2	14,9±0,8	35,5

En la Figura 8 se observa la representación de las coordenadas a* y b* para cada una de las formulaciones. Todas las formulaciones presentan una tonalidad amarilla, aunque la F3 S, F4 S y F5 S tiene cierta tendencia hacia los verdes, mientras que la F2 S, F2 C, F3 C, F4 C y F5 C, se inclina hacia los rojos así como la formulación sin microalgas en mayor proporción.

La pureza de color es bastante similar en la mayoría de formulaciones, el blanco en los dos casos tiene mayor valor de pureza. Se evidencia que al ir añadiendo microalgas a la formulación, va disminuyendo la pureza de color en ambos casos, sin embargo es ligeramente superior al añadir Chlorella.

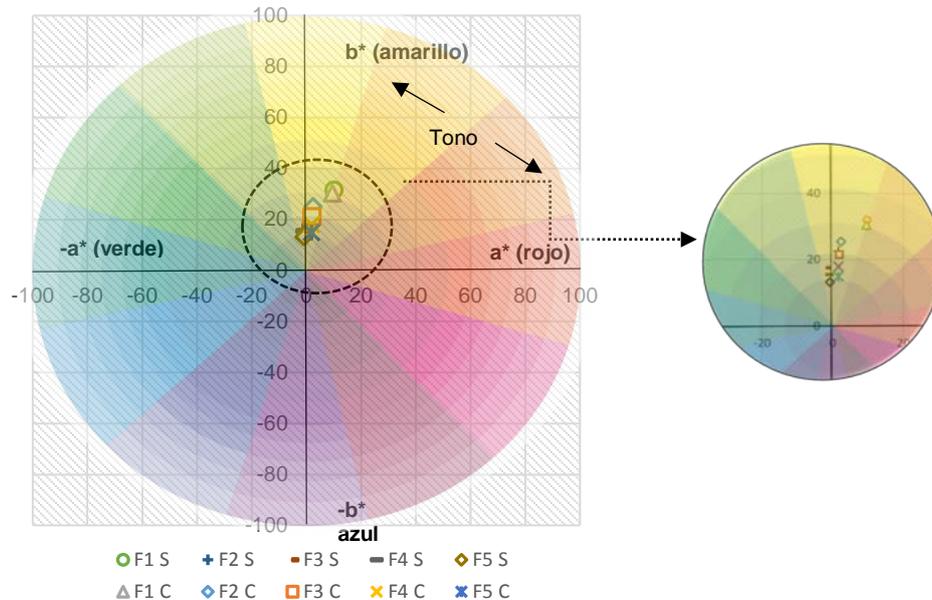


FIGURA 8. Representación de las coordenadas a^* y b^* para cada una de las formulaciones.

En la Figura 9 se puede observar la diferencia de color tras el proceso de horneado de las galletas, y el análisis de los resultados obtenidos. Tomando como estándar las galletas sin la adición de microalgas, la diferencia de color es muy grande como es de esperarse en todos los casos.

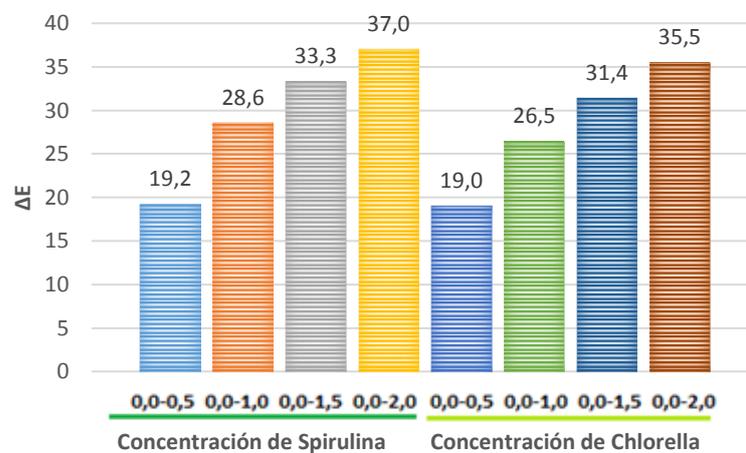


FIGURA 9. Diferencia de color entre el blanco y los porcentajes de microalga añadidos.

4. CONCLUSIONES

Este estudio demostró la posibilidad de impresión de galletas tipo danesas en 3D con la adición de microalgas como *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) y *Chlorella vulgaris* que serviría para el desarrollo de nuevos alimentos personalizados y sobre todo saludables.

Mediante la caracterización reológica se determinó que la adición de las dos especies de microalga condujo a una mayor resistencia mecánica durante el proceso de impresión en 3D además predomina la componente elástica frente a la viscosa en todos los casos, lo que significaría masas con una fluidez mínima. La formulación 4 que contenía 1,5% de Spirulina añadida presentó mayores problemas de impresión según los resultados descritos mientras que el blanco fue la muestra impresa con mayor facilidad.

Respecto a la textura se evidenció un incremento de fuerza necesaria para la extrusión al momento de añadir las microalgas, en casi todos los casos. La muestra que requirió una fuerza mayor fue la formulación que contenía 2% de Spirulina seguido por todas las formulaciones con Chlorella, mientras que la menor correspondió a la formulación con 1% de Spirulina.

El análisis de imagen dio como resultado valores de altura, una vez impresa la galleta, mayores para las muestras con Spirulina y menores para el blanco. Para las galletas horneadas los mejores resultados los obtuvieron las galletas con adición de Chlorella, y las muestras sin microalgas, mientras que las galletas con Spirulina, debido a su mayor altura presentaron una compresión mayor y por ende un incremento del diámetro externo y finalmente una menor altura.

Las mediciones de color dieron como resultado una luminosidad mayor para el blanco seguido por las muestras con adición de Spirulina en todas las concentraciones además de una tonalidad amarilla con tendencia hacia los verdes. Las muestras con Chlorella con una menor luminosidad en todas las concentraciones, presentan una tonalidad amarilla con tendencia hacia los rojos. La diferencia de color entre estas muestras es claramente evidente si se toma como estándar el blanco.

5. REFERENCIAS

- Batista, A. P., Gouveia, L., Bandarra, N. M., Franco, J. M., & Raymundo, A. (2013). Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. *Algal Research*, 2(2), 164-173. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2013.01.004>
- Derossi, A., Caporizzi, R., Azzollini, D., & Severini, C. (2018). Application of 3D printing for customized food. A case on the development of a fruit-based snack for children. *Journal of Food Engineering*, 220, 65-75. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.05.015>
- Godoi, F. C., Prakash, S., & Bhandari, B. R. (2016a). 3d printing technologies applied for food design: Status and prospects. *Journal of Food Engineering*, 179, 44-54. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.01.025>
- Hamilton, C. A., Alici, G., & in het Panhuis, M. (2018). 3D printing Vegemite and Marmite: Redefining "breadboards". *Journal of Food Engineering*, 220, 83-88. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.01.008>
- Holland, S., Foster, T., MacNaughtan, W., & Tuck, C. (2018). Design and characterisation of food grade powders and inks for microstructure control using 3D printing. *Journal of Food Engineering*, 220, 12-19. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.06.008>
- Kim, H. W., Bae, H., & Park, H. J. (2018). Classification of the printability of selected food for 3D printing: Development of an assessment method using hydrocolloids as reference material. *Journal of Food Engineering*, 220, 28-37. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.10.023>
- Le Tohic, C., O'Sullivan, J. J., Drapala, K. P., Chartrin, V., Chan, T., Morrison, A. P., ... Kelly, A. L. (2018). Effect of 3D printing on the structure and textural properties of processed cheese. *Journal of Food Engineering*, 220, 56-64. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.02.003>
- Lille, M., Nurmela, A., Nordlund, E., Metsä-Kortelainen, S., & Sozer, N. (2018). Applicability of protein and fiber-rich food materials in extrusion-based 3D printing. *Journal of Food Engineering*, 220, 20-27. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2017.04.034>
- Lipton, J. I. (2017). Printable food: the technology and its application in human health. *Current Opinion in Biotechnology*. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.015>
- Liu, Z., Zhang, M., Bhandari, B., & Yang, C. (2018). Impact of rheological properties of mashed potatoes on 3D printing. *Journal of Food Engineering*, 220, 76-82. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.017>
- Liu, Z., Zhang, M., & hui Yang, C. (2018). Dual extrusion 3D printing of mashed potatoes/strawberry juice gel. *Lwt*, 96(February), 589-596. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.06.014>
- Mantihal, S., Prakash, S., Godoi, F. C., & Bhandari, B. (2017). Optimization of chocolate 3D printing by correlating thermal and flow properties with 3D structure modeling. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 44(September), 21-29. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.09.012>
- Severini, C., Azzollini, D., Albenzio, M., & Derossi, A. (2018). On printability, quality and nutritional properties of 3D printed cereal based snacks enriched with edible insects. *Food Research International*, 106(January), 666-676. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.034>
- Severini, C., Derossi, A., & Azzollini, D. (2016). Variables affecting the printability of foods: Preliminary tests on cereal-based products. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 38, 281-291. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2016.10.001>
- Talens, P. (2016, julio 28). La medida de color en alimentos translucidos. *Universitat Politècnica de València. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural. Departamento de Tecnología de Alimentos* - . Recuperado a partir de <https://riunet.upv.es/handle/10251/68328>
- Vliet, T. van. (s. f.). *Rheology and fracture mechanics of foods*.
- Wang, L., Zhang, M., Bhandari, B., & Yang, C. (2018). Investigation on fish surimi gel as promising food material for 3D printing. *Journal of Food Engineering*, 220, 101-108. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.02.029>
- Yang, F., Zhang, M., Prakash, S., & Liu, Y. (2018a). Physical properties of 3D printed baking dough as affected by different compositions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, (November 2017). <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.01.001>