

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 DESCRIPCIÓN DE LA STEVIA

La *Stevia rebaudiana* o Ka'a He'ê es una planta fanerógama, dicotiledónea, del orden de las campanulares de la familias de las compositaseas, clasificada por primera vez en el año 1899 por Moisés S. Bertoni. Entre los glucósidos podemos destacar el steviol, el esteviósido y el rebaudiósido-A, además del rebaudiósido-B, rebaudiósido-C, rebaudiósido-D, rebaudiósido-E y dulcósido A. Gracias a las diferentes pruebas y análisis realizados se ha comprobado que el rebaudiósido-A es el que mejor sabor tiene mientras que los otros dulcósidos, que están presentes en menor cantidad, tienen un sabor amargo residual por incluir en su composición una sustancia con este sabor. Las hojas contienen vitaminas A, B complejas y C, minerales, como calcio, cobre, hierro y fósforo, y aminoácidos esenciales, como lisina, cisteína, triptófano y metionina.

La hoja, en su estado natural, posee una gran cantidad de nutrientes como carbohidratos de fácil asimilación (más del 50%), más del 10% en fibras, más del 10% de polipéptidos (proteínas vegetales), además del 1% de lípidos y potasio

El mejor método de reproducción para su cultivo son los esquejes. El hábitat natural de esta planta son las regiones semiáridas como las de la región de la Cordillera de Amambay en Paraguay. En estado silvestre crece en terrenos arenosos, poco fértiles pero con un buen drenaje. Necesita de días largos y mucho sol.



Fig1-1

1.2 OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA.

La cosecha se realiza en el momento del corte que cuando la planta empieza a emitir botones florales o una semana antes que aparezcan flores abiertas. En esta etapa tiene el máximo contenido de los edulcorantes, o sea el pico más alto de esteviósido y del Rebaudiósido A.

La altura del Corte es de 5 cm del suelo, con esta altura de corte el porcentaje de plantas muertas es mínimo. NUNCA se debe realizar el corte con machete a ras del suelo (como se acostumbra hacer). Porque el porcentaje de plantas muertas es muy alta. Pueden ocurrir de 60 a 65% de mortandad, sobre todo en el mes de Noviembre, Diciembre o Enero

El mejor sistema de corte es con tijera de podar (las grandes) o con segadoras motorizadas. Estos implementos no dañan demasiado al tallo y las raíces. Producen un corte liso y limpio. No ocasionan magulladuras, ni desarraigo de la planta.



Fig 1-2 (corte)

1.3 MANEJO DEL CORTE DE LAS PLANTAS DE STEVIA.

Se debe cosechar en tiempo seco y después que el rocío se haya levantado. En caso de que no se tenga secadora artificial: El corte de las plantas se realiza hasta las 10:00 hs. Las plantas cortadas van siendo colocadas sobre una malla media sombra en camadas

que no deben superar los 15 cm. de espesor. Las mallas son extendidas en el propio cultivo a los largo de las hileras ya cortadas o en los camineros de las parcelas.

1.4 SECADO DE LAS HOJAS DE STEVIA.

Las plantas cortadas y puestas sobre la malla, se dejan secar al sol por unas 4 horas.

Aproximadamente a las 16:00 o 17:00 horas, se enrolla la malla con las plantas en su interior y se las traslada a un lugar (depósito o pista) para proceder al deshojado. Las plantas secas o semi secas son colocadas sobre grandes carpas. En ella, se realiza el deshojado, golpeando suavemente las plantas con una horquilla de palo o de metal, para que las plantas suelten sus hojas sobre la carpa. En caso de que las plantas aun no estén bien secas, será necesario nuevamente sacar por uno o dos días al sol para completar el secado. El porcentaje de humedad de la hoja no debe ser superior a 11%, preferentemente entre 9 a 10%, para un perfecto almacenamiento.



Fig 1-3 (secado)

1.5 EMBOLSADO PARA EL ALMACENAMIENTO DE LAS HOJAS DE STEVIA

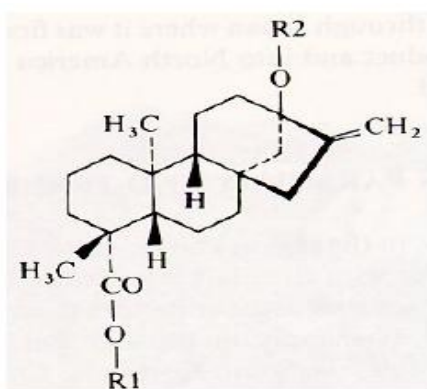
Las hojas bien secas pueden ser embolsadas en bolsas arroceras, para proteger las hojas de la humedad. En una bolsa entran aproximadamente 10 a 13 Kg. de hoja seca. También pueden enfardarse haciendo uso de prensa, similares a las de alfalfa o tabaco. Los fardos se hacen envolviéndolos en tejido de las mismas bolsas arroceras.

1.6 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS.

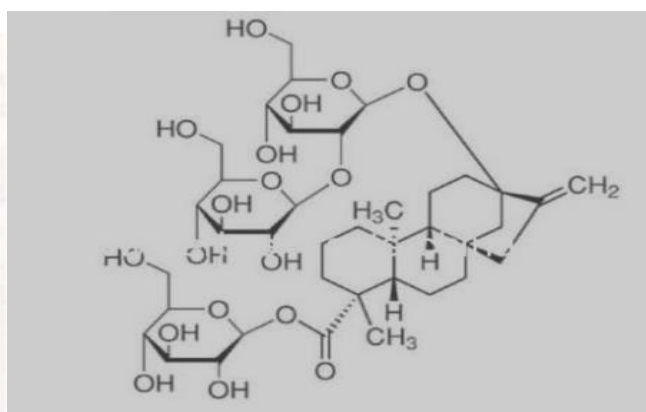
Entre sus propiedades físico-químicas de la stevia deseables para la elaboración de alimentos podemos destacar:

- La resistencia al calor. Su estructura no se modifica por su exposición a altas temperaturas y por lo tanto no pierde su poder edulcorante. Es apto para alimentos calientes u horneados. Es estable a temperaturas normales empleadas en el procesamiento de los alimentos: Pasteurización, esterilización, cocción.
- La alta solubilidad en agua y en soluciones hidroalcohólicas.
- La resistencia al pH. Es estable en un rango amplio de pH, 3 a 9, aun a 100 °C. Por encima de pH 9 se produce una rápida pérdida del dulzor, no obstante pocos alimentos muestran valores de pH > 9. En bebidas gasificadas que incluyen en su composición ácido cítrico y fosfórico, se detectan pérdidas de dulzor del 36% y 17%, respectivamente, cuando se almacenan a 37 °C.
- No aporta calorías.

1.7 Estructura



Formula general de los glicósidos
de la stevia



Formula del estevósido

Fig 1-4

1.7.1 Nombres químicos de los componentes de las hojas de Stevia (Europea Stevia Asociación, eustas 2006)

Nombre	Estructura Química
Esteviósidos	13-[(2-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosil) oxi] ácido Kaur-16-en-18-oico, β-D-glucopiranosil éster
Rebaudiósido A	13-[(2-O-β-D-glucopiranosil-3-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosil) oxi] ácido Kaur-16-en-8-oico, β-D-glucopiranosil éster.
Rebaudiósido B	13-[(2-O-α-L-ramnopiranosil-3-O-β-D-glucopiranosil) oxi] ácido Kaur-16-en-18-oico, β-D-glucopiranosil éster.
Dulcósido A	13-[(2-O-α-L-ramnopiranosil-β-D-glucopiranosil) oxi] ácido Kaur-16-en-18-oico, β-D-glucopiranosil éster.

Ref.: European Stevia Asociación, eustas (2006).

Tabla I-1 propiedades de la stevia

nombre	Punto de Fusión °C	Peso molecular	Solubilidad en el agua	Dulzor relativo	Cualidad Del sabor
Esteviósido	196-198	804	0.13	200-250	Amargo
Rebaudiósido A	242-244	966	0.80	350-400	Similar a la sacarosa
Rebaudiósido B	193-195	804	0.10	300-350	Amargo
Rebaudiósido C	215-217	958	0.21	50-120	Muy amargo
Rebaudiósido D	283-286	1128	1.00	250;300	Similar a la sacarosa
Rebaudiósido E	205-207	966	1.70	150-200	Similar a la sacarosa
Dulcósido A	193-195	788	0.58	50-120	Muy amargo

1.8 EDULCORANTES.

La palabra edulcorante viene de la palabra latina “Dulcor”, que significa dulzor. Los edulcorantes son sustancias capaces de endulzar un alimento, una bebida o un medicamento dándole un sabor dulce. Existen edulcorantes calóricos y no calóricos (sintéticos y naturales).

Se debe tener en cuenta que un edulcorante natural o artificial debe tener ciertas características para ser utilizados por la industria alimenticia, debe ser inocuo, el sabor dulce debe percibirse inmediatamente y debe ser lo más parecido posible al azúcar común, sin dejar sabor residual. También debe resistir las condiciones del procesamiento del alimento en que se va a utilizar, así como a los tratamientos a los que se va a someter.

1.8.1 EDULCORANTES CALÓRICOS.

Los naturales se derivan de los azúcares naturales como la miel, la caña de azúcar, la remolacha o incluso la leche, por el contrario, los endulzantes naturales en su mayoría sí aportan calorías, provocan caries y no deben ser consumidos por personas con diabetes, como el azúcar refinado, la miel, la fructosa y la lactosa, tendrían que ser modificados para mantener las propiedades y el sabor del azúcar, pero sin sus calorías.

Uno de los edulcorantes más conocidos en nuestro medio es el azúcar.

Dentro del mercado del azúcar se diferencian dos tipos principales de productos, el azúcar crudo y el azúcar blanco.

El azúcar crudo se produce solamente de la caña de azúcar, mientras que el azúcar blanco refinado se produce tanto de la caña de azúcar como de la remolacha azucarera.

En el proceso de refinamiento, el alimento es separado de sus componentes, con lo que se desechan algunos nutrientes complementarios. El alimento contiene vitaminas, minerales y factores accesorios necesarios para que al ingerirlos se metabolice

correctamente. La azúcar refinada es nociva para la salud debido a que el refinamiento convierte el nutriente en anti nutriente.

Dividir un alimento y desechar los nutrientes para metabolizarlo, hace que el organismo tenga que movilizar de sus reservas de esos elementos, ocasionado un grave déficit de sustancias necesarias para estar saludables.

Además el azúcar está asociada a la caries dental, acidificación de la sangre, descalcificación, arterioesclerosis, infarto de miocardio, obesidad, acné, úlcera de estómago, colesterol, tensión nerviosa, problemas de circulación , hiperexcitabilidad, degeneración hepática, y diabetes.

1.8.2 EDULCORANTES NO CALÓRICOS.

1.8.2.1 EDULCORANTES NO CALÓRICOS SINTÉTICOS.

Los edulcorantes sintéticos son resultado de la combinación de elementos químicos en laboratorio. Los más consumidos en todo el mundo son la sacarina y el aspartame, que aportan cero calorías.

Desde mediados de la década de los años 70, dentro del contexto de los altos precios del azúcar en el mercado internacional, comienzan a ampliarse y desarrollarse alternativas de edulcorantes, tanto naturales como artificiales.

Los científicos descubrieron edulcorantes sintéticos químicamente a fines del decenio de 1980 y los obtuvieron por medio de ingeniería genética en el decenio de 1990 y se han mantenido en el mercado debido a necesidades tales de cómo prevenir la diabetes, cuidar la salud, mantener la línea, prevenir la caries, adelgazar, y para la prescripción médica.

Los edulcorantes artificiales tiene características comunes: Son muy bajos en calorías, reducen el contenido energético global, aportan poco o ningún nutriente al organismo.

A este tipo de edulcorantes se le atribuye algunos efectos nocivos para la salud, en febrero de 1994 el Departamento de Salud y Servicios Humanos de Estados Unidos

publicó y suministro a la Food and Drug Agency (FDA), la lista de las reacciones negativas de los edulcorantes (como el aspartame).”

Entre las lesiones reportadas figuran los dolores de cabeza, migraña, vértigo, náuseas, espasmos musculares, depresión, fatiga, irritabilidad, insomnio, pérdida de audición, dificultades respiratorias, ataques de ansiedad, pérdida de memoria, entre otras.

Cuadro I-1 edulcorantes no calóricos sintéticos

PRODUCTO	DESCRIPCIÓN	USOS
ASPARTAME	Es una combinación de fenilamina y Acido aspártico los cuales son dos aminoácidos	Se emplea en la gran mayoría de productos light Como principal sustituto del azúcar
ACELSUFACE K	Es un edulcorante artificial conocido También como sunette 130- 200 Veces más dulce que la sacarosa No es metabolizado por el cuerpo y es excretado sin sufrir cambios por los riñones	Bebidas refrescantes, néctares de fruta, concentrados de bebidas, Edulcorantes de mesa productos lácteos, productos hechos al horno, pasta de dientes, productos farmacéuticos, etc.,
SACARINA	Edulcorante artificial	Se emplea en varios alimentos y bebidas dietéticas

1.8.2.2 EDULCORANTES NO CALÓRICOS NATURALES.

Son edulcorantes de origen natural que tienen un gusto parecido al de la sacarosa, es decir, al azúcar común, aportan poco o ninguna caloría y son mucho más seguros para la salud, que los edulcorantes artificiales, y que a la vez, mantienen el índice de dulzor en niveles adecuados para el consumo humano. Entre las sustancias naturales más estudiadas figuran la traumatina, neohesperidina, mohelina, hernandulcina, los esteviósidos y la brazehina, los cuales ya forman parte de muchos productos alimenticios.

Cuadro I-2 edulcorantes naturales

PRODUCTO	DESCRIPCION	USOS
TRAUMATINA	Se obtiene a partir de un fruto del Katemfe de África occidental Tahumatococcus danielli Conocida como la fruta del milagro	Bebidas a base café, gomas de Mascar, aperitivos, productos bajos en grasas ,yogurt, productos farmacéuticos, bebidas alcohólicas
NEOHESPERIDINA	Se produce por hidrogenación de neohesperidina un flavonoide que Se encuentra de modo natural en las naranjas amargas	Goma de mascar, caramelos, bebidas Carbonatadas y no carbonatadas, postres edulcorantes de mesa
MOHELINA	Está formada por dos aminoácidos y cadenas compuestas de los edulcorantes naturales más dulces	Es útil en la obtención de nuevas Variedades de tomates y lechugas con mejor sabor
HERNANDULCINA	Edulcorante natural utilizado por la cultura azteca	Su principal uso está en las infusiones
ESTEVIÓSIDO	Es un glucósido diterpenico cristalino y dulce su sabor dulce es considerado excelente	Edulcorantes de mesa, en bebidas, pastelería, confitería, mermeladas Goma de mascar, etc.
BRAZEINA	Una proteína dulce extraída de la baya originaria del África occidental brazeina	Utilizado en África como edulcorante Natural en comidas y bebidas

1.8.2.3 INFORMACIÓN NUTRICIONAL DEL EDULCORANTE COMERCIAL DE STEVIA.

Tabla I-2

Información nutricional	Por 100 gr
Proteínas	0 g
Hidratos de carbono	95,5 g
Grasas	0 g
Valor energético	0 kcal

1.9 COLOIDES.

Son partículas en suspensión estables, por lo que es imposible su sedimentación natural, son sustancias responsables de la turbiedad que tienen cargas eléctricas, que pueden ser de dos tipos:

- *Positivas*

- *Negativas*

También pueden ser:

- *Hidrófilos*: Se unen al agua

- *Hidrófobos*: Repelen al agua

Las partículas coloidales que se caracterizan por ser hidrofílicas (tienen afinidad por el agua) e hidrófobas (es decir que rechazan al agua), las primeras se dispersan espontáneamente dentro del agua y son rodeadas de moléculas de agua que previenen todo contacto posterior entre estas partículas; las partículas hidrofóbicas no son rodeados de moléculas de agua, su dispersión dentro del agua no es espontánea por lo que requiere de la ayuda de medios químicos y físicos. Las partículas hidrofobas son en general partículas de materias inorgánicas mientras que las hidrofílicas son materias orgánicas; en realidad solo un poco son las partículas que son exclusivamente hidrofílicas o hidrofóbicas; se obtienen más bien partículas hidratadas a los diferentes grados.

Dentro del Agua Superficial, las partículas coloidales, son las causantes de la turbiedad y del color por lo que el tratamiento del agua está orientado a la remoción de estas partículas; estas poseen normalmente una carga eléctrica negativa situado sobre su superficie. Estas cargas llamadas cargas primarias, atraen los iones positivos del agua, los cuales se adhieren fuertemente a las partículas y atraen a su alrededor iones negativos acompañados de una débil cantidad de iones positivos.

1.9.1 PROPIEDADES O EFECTOS DE LAS DISOLUCIONES COLOIDALES:

- **Efecto Tyndall:** Fenómeno por el que se pone de manifiesto la presencia de partículas coloidales con puntos luminosos debido a la luz que dispersan.
- **Movimiento Browniano:** Impide que los coloides vayan al fondo debido a que las moléculas chocan unas con otras.
- **Efecto inestable:** En determinadas ocasiones los coloides precipitan, van al fondo, por lo que si no lo clarificamos los coloides van al fondo originando los posos.

1.10 ADSORCIÓN.

Es un proceso por el cual átomos, iones o moléculas son atrapados o retenidos en la superficie de un material en contraposición a la absorción, que es un fenómeno de volumen. Es decir es un proceso en el cual un contaminante soluble (adsorbato) es eliminado del agua por contacto con una superficie sólida (adsorbente). El proceso inverso a la adsorción se conoce como desorción.

En química, la adsorción de una sustancia es su acumulación en una determinada superficie interfacial entre dos fases. El resultado es la formación de una película líquida o gaseosa en la superficie de un cuerpo sólido o líquido.

1.11 CLARIFICACIÓN.

El proceso de clarificación tiene como objetivo eliminar sustancias en suspensión, sustancias disueltas y la supresión de la flora microbiana, así como la corrección de algunas características físico-químicas. Incluye las siguientes etapas: coagulación, floculación, decantación (sedimentación inducida) y filtración.

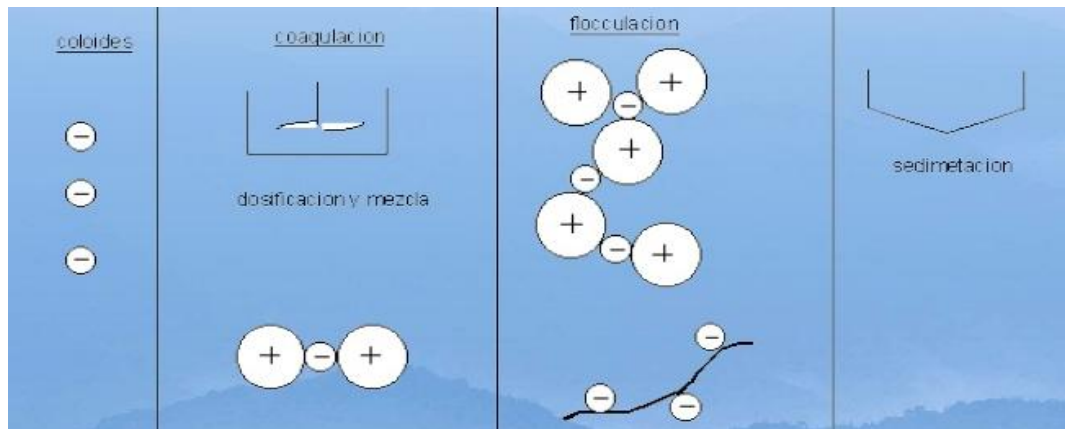


Figura 1-5 (proceso de clarificación)

1.11.1 COAGULACIÓN.

La coagulación es un proceso de desestabilización química de las partículas coloidales que se producen al neutralizar las fuerzas que las mantienen separadas, por medio de la adición de los coagulantes químicos y la aplicación de la energía de mezclado, que permite incrementar la tendencia de las partículas de agregarse unas a otras para formar partículas mayores y así precipitar más rápidamente. Los coagulantes son agentes que ayudan a la precipitación de muchas partículas, como los coloides que son sustancias tan pequeñas que no sedimentan en un tiempo razonable y además no pueden ser eliminadas por filtración.

Las fuerzas de atracción y repulsión son las responsables de las partículas de los contaminantes. Estas fuerzas se reducen mediante la adición de productos químicos agentes coagulantes (clarificantes), que posibilita la interacción de las partículas mediante agitación física.

La mezcla permite la dispersión del producto en el líquido, lo que hace que las partículas se agrupen para formar flóculos.

1.11.2 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA COAGULACIÓN.

Es necesario tener en cuenta los siguientes factores con la finalidad de optimizar el proceso:

- pH.

- Turbiedad.
- Sales disueltas.
- Temperatura del agua.
- Tipo de coagulante utilizado.
- Condiciones de Mezcla.
- Sistemas de aplicación de los coagulantes.
- Tipos de mezcla y el color. La interrelación entre cada uno de ellos permiten predecir cuáles son las cantidades de los coagulantes a adicionar al agua.
- Tipos de Coagulación

Se presentan dos tipos básicos de coagulación: Por Adsorción y Por Barrido.

a) Coagulación Por Adsorción.- Se presenta cuando el agua tiene una alta concentración de partículas al estado coloidal; cuando el coagulante es adicionado al agua turbia los productos solubles de los coagulantes son absorbidas por los coloides y forman los flóculos en forma casi instantánea.

b) Coagulación por Barrido.- Este tipo de coagulación se presenta cuando el agua es clara (presenta baja turbiedad) y la cantidad de partículas coloides es pequeña; en este caso las partículas son atrapadas al producirse una sobresaturación de precipitado de sulfato de aluminio o cloruro férrico.

11.11.3 MATERIALES AYUDANTES DE COAGULACIÓN.

En general, son sustancias químicas agregadas para optimizar la coagulación, formar un flóculos más fuerte y más sedimentable, superar caídas de temperatura que retardan la coagulación, reducir la cantidad de coagulante requerido y disminuir la Cantidad de lodo producido. Los compuestos químicos que más se usan son los polímeros. Los polímeros sintéticos son solubles, de alto peso molecular, orgánicos, con múltiples cargas a lo largo de una cadena molecular de átomos de carbono. Otras ayudas de coagulación son la sílice activa, algunos agentes adsorbentes y sustancias

oxidantes y agentes lastradores las más comunes son las arcillas como la caolinita y la bentonita

1.11.4 AGENTES CLARIFICANTES.

El clarificante se añade a una sustancia reactiva o adsorbente para reducir o eliminar la concentración de uno más compuestos indeseables. Los agentes clarificantes se usan para lograr claridad y para mejorar el color, sabor y estabilidad física.

- **Los agentes clarificantes.**-Se pueden agrupar de acuerdo a su naturaleza química y modo de acción en:

- 1) tierras: Bentonita
- 2) proteínas: gelatina , caseína, albumina, isinglass
- 3) polisacáridos: Agares
- 4) carbones
- 5) polímeros sintéticos :pvpp
- 6) dióxido de silicio (kiesesol)
- 7) otros, incluyendo quelatnes y enzimas.

1.11.5 FLOCULACIÓN.

Consiste en la agitación de la masa coagulante que sirve para permitir el crecimiento y aglomeración de flóculos recién formados, con la finalidad de aumentar el tamaño y peso necesarios para sedimentar con facilidad.

La floculación es favorecida por el mezclado lento que permite juntar poco a poco los flóculos; un mezclado demasiado intenso los rompe difícilmente se vuelven a formar en su tamaño y fuerzas óptimas.

1.11.6 SEDIMENTACIÓN

La sedimentación es una operación unitaria que consiste en la separación por la acción de la gravedad de las fases sólida y líquida de una suspensión diluida para obtener una suspensión concentrada y un líquido claro.

1.11.6.1 TIPOS DE SEDIMENTACIÓN

- **SEDIMENTACIÓN SIMPLE**

Se entiende por sedimentación simple, a la operación de eliminación de las partículas sólidas contenidas en un fluido, por acción de la gravedad, generalmente es parte de los tratamientos primarios y tiene por objetivo reducir la carga de sólidos sedimentables cuyos tamaños de partículas son relativamente grandes. Destinado a eliminar partículas denominadas discretas es decir que no cambian de características (forma, tamaño, densidad) durante la caída.

- **SEDIMENTACIÓN INDUCIDA**

Llamada también decantación, se refiere a la sedimentación de partículas coloidales, cuya coagulación o aglomeración ha sido inducida previamente por agentes químicos tales como el alumbre o hidróxido férrico, entre otros. Implica la aglutinación de los coloides para formar flóculos para su remoción

Los sedimentadores industriales pueden realizar. Operaciones de sedimentación intermitente o discontinua y operaciones de sedimentación continuas.

1.11. 7 FILTRACIÓN.

La filtración es una de las técnicas de separación más antiguas. Es un método físico-mecánico para la separación de mezclas de sustancias compuestas de diferentes fases. Un medio filtrante poroso es atravesado por un líquido o gas y las partículas sólidas o gotículas de un líquido quedan retenidas en la superficie o en el interior del medio filtrante. En función de las fases se distinguen diferentes campos de aplicación de la filtración de:

- Partículas sólidas de líquidos (suspensiones)

- Partículas sólidas de gases
- Gotículas líquidas de gases (aerosoles)
- Gotículas de un líquido no miscible de otro líquido (emulsiones).

Con ayuda de la filtración se pueden separar componentes sólidos de suspensiones o gases, así como componentes líquidos de aerosoles o emulsiones.

1.11.7.1 CLASIFICACIÓN DE LOS PROCESOS DE FILTRACION.

El patrón de clasificación de los procesos de filtración es diverso, se puede realizar en función de los siguientes criterios:

- El mecanismo de filtración.
- La naturaleza de la mezcla.
- La meta del proceso.
- El ciclo operacional.
- La fuerza impulsora.

En general, estas categorías no se excluyen mutuamente y los procesos de filtración suelen clasificarse principalmente de acuerdo al mecanismo, a la fuerza, al ciclo operacional.

1.11.7.2 TIPOS DE FILTRACIÓN

- **Microfiltración**

Generalmente se llama microfiltración al proceso de filtración con membranas cuyos tamaños de poro varían entre 0,1 y 10 micrones. Con estas membranas se retienen partículas en suspensión con tamaños dentro del rango de los poros o mayores, dejando pasar las partículas disueltas de dimensiones menores.

- **Ultrafiltración**

Generalmente se considera ultra filtración la que se obtiene utilizando membranas cuyos poros permiten separar moléculas con un peso molecular superior a los 10^3

Dalton/gmol. Con estas membranas se logra separar y concentrar proteínas, desinfectar el agua reteniendo bacterias y virus, etc.

- **Nanofiltración**

Las membranas utilizadas en la nanofiltración son capaces de retener moléculas sin carga eléctrica con peso molecular superior a los 200 Dalton/gmol. Este tipo de filtración es usado para concentrar compuestos orgánicos y para desmineralizar parcialmente el solvente.

1.11.7.3 MEDIO FILTRANTE

El medio filtrante es el elemento fundamental para la práctica de la filtración y su elección es, habitualmente, la consideración más importante para garantizar el funcionamiento del proceso.

La variedad de tipos de medios porosos utilizados como medios filtrantes es muy diversa, en forma de telas, fibras tejidas, fibras no tejidas, fieltros, sólidos porosos o perforados, membranas poliméricas o sólidos particulados, a lo que se suma la gran variedad de materiales: fibras naturales, fibras sintéticas, materiales metálicos, materiales cerámicos y polímeros.

En general, entre los principales criterios de selección del material de medio filtrante, se pueden destacar:

- Compatibilidad y resistencia química con la mezcla
- Permeabilidad al fluido y resistencia a las presiones de filtración
- Capacidad en la retención de sólidos
- Adaptación al equipo de filtración y mantenimiento
- Relación vida útil y costo

Las exigencias para el filtro son tan diferentes como lo son cada uno de los campos de aplicación. Se tienen que tener en cuenta las características químicas y físicas de

la muestra a filtrar, así como el consiguiente análisis o manipulación del precipitado o del filtrado

1.11.7.4 TIPOS DE FILTROS.

La variedad de dispositivos de filtración o filtros es tan extensa como las variedades de materiales porosos disponibles como medios filtrantes y las condiciones particulares de cada aplicación: Desde sencillos dispositivos, como los filtros domésticos de café o los embudos de filtración para separaciones de laboratorio, hasta grandes sistemas complejos de elevada automatización como los empleados en las industrias petroquímicas y de refino para la recuperación de catalizadores de alto valor, o los sistemas de tratamiento de agua potable destinada al suministro urbano.

1.11.7.5 MATERIALES AYUDA FILTROS.

Adicionalmente, por la baja velocidad del fluido, complejidad de la mezcla o calidad no satisfactoria de clarificación, requieren el empleo de *ayudafiltros* materiales de prefiltración o materiales de precapa.

Estas son sustancias granuladas o fibrosas que permiten la formación sobre el medio filtrante de una torta prefiltrante adicional de mayor permeabilidad y mayor profundidad, donde quedan retenidas las fases heterogéneas en forma de flóculos deformables o pastas de mayor viscosidad y contenido en sólidos finos. Ejemplos de sustancias frecuentemente empleadas para la ayuda de filtración son:

- tierras de diatomeas o tierras diatomáceas (sílice de alta pureza)
- Tierras de *Kieselguhr* (diatomita)
- Perlita o lava expandida (silicato alcalino de aluminio)
- Fibras de celulosa o pulpa de madera molida
- Yeso
- Carbón activado

En general, estas sustancias se caracterizan por su baja densidad, su facilidad para recubrir la superficie del medio filtrante, su compresibilidad, su baja tendencia a sedimentarse y su inercia química con el fluido. En el caso del yeso y del carbón, sólo se emplean en casos muy específicos debido a su baja eficacia, aunque en el caso de éste último, es frecuente emplearlo bajo forma de carbón activado, en combinación con las diatomeas para añadir una función de adsorción.

➤ **Filtración con membrana**

La membrana filtra fundamentalmente en la superficie de la misma.

Partículas mayores que la porosidad nominal permanecen sobre el filtro, mientras que las partículas más pequeñas pasan el filtro, a no ser que otras interacciones en el filtro retengan éstas en la matriz de la misma. Se puede ensayar la integridad de los filtros de membrana. La filtración es claramente más lenta que con filtros de profundidad. El tamaño de los poros de los filtros de membrana es desde 0,1 a 12 μm .

➤ **Filtración por vacío o por presión**

En filtraciones sencillas únicamente la gravedad actúa sobre el proceso. Como consecuencia, los tiempos de filtración son largos.

La aplicación de vacío en el lado donde se recoge el filtrado o la presión en la parte superior del filtro aceleran la filtración. El montaje aparatístico resulta así algo más complejo, pero es una desventaja que queda claramente compensada gracias a la obtención de tasas de flujo más elevadas. Los aparatos de filtración para filtración en línea o por lotes, son mecánicamente estables a la presión y están fabricados con materiales de elevada calidad químicamente resistentes. Soportes adecuados para los filtros garantizan que estos resistan las diferencias de presión. La construcción de los aparatos posibilita la sencilla sustitución y una limpieza cómoda.

➤ **Unidades de filtración listas**

El filtro de membrana y el aparato de filtración conforman una unidad pre confeccionada. Son la solución ideal que racionaliza su tiempo cuando se tienen que filtrar muchas muestras, pero también son una alternativa real cuando se tiene que

filtrar muy esporádicamente. El filtro y el aparato están perfectamente compensados y las unidades de filtración estériles ofrecen una protección óptima para los productos.

1.11.7.6 CRITERIOS DE SELECCIÓN DE EQUIPOS DE FILTRACIÓN.

- tipo de ciclo: continuo o por lotes
- fuerza de impulsión
- caudales admisibles
- calidad de la separación
- fiabilidad y mantenimiento
- materiales de construcción y dimensiones
- costo

1.11.7.7 FILTRACIÓN CLARIFICANTE.

En la filtración clarificante, el líquido se debe limpiar en lo posible completamente de componentes indeseados o precipitados, para poder seguir trabajando con el líquido purificado. La filtración tiene una amplia gama de aplicaciones: Desde el procedimiento analítico en el laboratorio hasta aplicaciones técnicas en grandes líneas de producción. En prácticamente todas las ramas industriales se filtra.

1.12. EVAPORACIÓN.

Es un proceso físico que consiste en el paso lento y gradual de un estado líquido hacia un estado gaseoso, tras haber adquirido suficiente energía para vencer la tensión superficial. A diferencia de la ebullición, la evaporación se puede producir a cualquier temperatura, siendo más rápido cuanto más elevada sea esta. Vista como una operación unitaria, la evaporación es utilizada para eliminar el vapor formado por ebullición de una solución o suspensión líquida.

1.13 ANALISIS BÁSICO DE LOS ALIMENTOS.

En la mayoría de los alimentos se realizan una serie de determinaciones comunes, lo que se entiende por **composición bruta**: a) Contenido en agua (humedad); b)

Nitrógeno total o proteína bruta; c) Cenizas. ; d) Fibra bruta; e) Extracto etéreo o grasa bruta; f) Sustancias extractadas no nitrogenadas; g) Minerales; h) Acidez.

1.13.1 LA BROMATOLOGÍA.

Es la ciencia que estudia los **alimentos** en cuanto a su producción, manipulación, conservación, elaboración y distribución, así como su relación con la sanidad. Esta ciencia permite conocer la composición cualitativa y cuantitativa de los alimentos, el significado higiénico y toxicológico de las alteraciones y contaminaciones, cómo y por qué ocurren y cómo evitarlas, cuál es la tecnología más apropiada para tratarlos y cómo aplicarla, cómo utilizar la legislación, seguridad alimenticia, protección de los alimentos y del consumidor, qué métodos analíticos aplicar para determinar su composición y su calidad.

La bromatología estudia los alimentos, su composición química, su acción en el organismo, su valor alimenticio y calórico así como sus propiedades físicas, químicas, toxicológicas y también adulterantes, contaminantes, etc. El análisis de los alimentos es un punto clave en todas las ciencias que estudian los alimentos, puesto que actúa en varios segmentos del control de calidad como el procesamiento y almacenamiento de los alimentos procesados.

Esta ciencia se relaciona con todo aquello que, de alguna forma, es alimento para los seres humanos o tiene que ver con el alimento desde la producción, recolección, transporte de la materia prima, etc. hasta su venta como alimento natural o industrializado verificando si el alimento se encuadra en las especificaciones legales, detectando la presencia de adulterantes, aditivos perjudiciales para la salud, la adecuación en la esterilización, el correcto envasado y los materiales del embalaje.

En resumen, la bromatología comprende la medición de las cantidades a suministrar a los individuos de acuerdo con los regímenes alimenticios específicos de cada ser; por esta razón la bromatología se divide en dos grandes categorías:

- La **antropobromatología**, que corresponde al estudio de los alimentos destinados específicamente al consumo por parte del humano.

- La **zoobromatología**, que corresponde al estudio de los alimentos destinados al consumo de las distintas especies animales y que incluyen el estudio de los valores alimenticios y dietas en general.

1.14 PROPIEDADES FISICO-QUÍMICAS DE LOS ALIMENTOS.

1.14.1 PROPIEDADES FÍSICAS DE LOS ALIMENTOS.

Las propiedades físicas son aquellas que podemos ver y medir sin alterar su composición de los alimentos. Sabemos que los alimentos nos dan nutrientes esenciales pero también existen otras propiedades de igual importancia que hacen que los alimentos sean consumibles y aceptados comercialmente.

Entre las propiedades físicas que tienen los alimentos tenemos como principales:

- **Textura**

Esta entendemos como el conjunto de sensaciones que produce el alimento en la boca cuando lo estamos ingiriendo. Es decir si es jugoso o el alimento está seco, si es suave de masticar o duro, cremoso. Entonces ya sabemos que la textura de los alimentos son las sensaciones que se producen en la boca al momento de ingerir.

- **Color**

El color de los alimentos es importante desde el punto de vista comercial ya que un alimento para ser seleccionado o aceptado debe tener el color que espera el consumidor.

Por otra parte el color puede tener aplicaciones analíticas o diagnosticas como al momento de determinar qué tan maduro está el fruto.

1.14.2 PROPIEDADES QUÍMICAS DE LOS ALIMENTOS.

Las propiedades químicas son aquellas que podemos observar cuando los alimentos sufren cambios en su composición. Existen alimentos con propiedades químicas útiles para el ser humano que otorgan beneficios sobre los procesos fisiológicos y/o reducen el riesgo de padecer una enfermedad, entre sus propiedades principales tenemos:

- **Aroma y sabor**

Estas dependen de la composición del alimento y de la presencia de sustancias ácidas, salinas o volátiles. El aroma y sabor se encuentran influenciados por otras propiedades como la temperatura o el estado de agregación del alimento.

- **Acidez**

La acidez de una sustancia puede ser medida a través del volumen. En los alimentos en general el grado de acidez indica el contenido en ácidos libres. El resultado se expresa como el % del ácido predominante en el material. Los ejemplos más usados son en aceites es el % en ácido oléico, en zumo de frutas es el % en ácido cítrico, en leche es el % en ácido láctico.

- **Oxidación**

Las reacciones de oxidación afectan las propiedades nutricionales del alimento afecta en el color del alimento, el sabor y su textura.

Las causas principales de la oxidación de alimentos es cuando: Se expone el alimento rico en grasa y aceites al oxígeno, al aire, a las radiaciones, temperaturas ambientales elevadas. Esta reacción consta de 3 etapas: Inicial la cual no es visible por el consumidor seguido de una reacción en cadena, hasta terminar en una reacción compleja de productos tóxicos, olor desagradable, color oscuro en el alimento y un aspecto que no es deseable para el consumo. Es importante saber que una vez que se inicia la oxidación es casi imposible de detenerla.

Se ha demostrado que el consumo de alimentos de origen vegetal, como frutas, verduras, cereales integrales y leguminosas tienen efectos preventivos sobre el cáncer y las enfermedades cardiovasculares. Estos alimentos son excelentes fuentes de antioxidantes, tales como las vitaminas C, E y A y beta caroteno, utilizados por la planta para protegerse de la oxidación, especialmente en aquellas partes expuestas a las radiaciones luminosas, pero esta no es la razón por la que estos protegen de enfermedades cardiovasculares esto se da debido a que estos alimentos contienen otro tipo de compuestos que no son nutrientes, pero tienen propiedades saludables, entre

los cuales se encuentran los fitoquímicos, compuestos que en su gran mayoría son antioxidantes y que incluso pueden tener efectos medicinales. Aunque no ejercen un rol nutricional, su consumo concede una protección adicional contra la acción nociva de sustancias provenientes de la dieta y del entorno ambiental y que afectan la salud de la población.

1.15 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

1.15.1 LA PURIFICACIÓN DEL EXTRACTO POR MEDIO DEL PROTOCOLO

CHAGAS SPACE DE LA UNIVERSIDAD EARTH.

Con este protocolo se pudo separar diferentes compuestos como los taninos y las grasas determinando la influencia de estos sobre el potencial edulcorante de esta planta. Luego de realizado estos análisis, se procedió a encontrar la solución extractora adecuada para la producción de este edulcorante. Se probó con agua y etanol de 96% como soluciones extractoras, las cuales al poseer diferentes polaridades, extraen diferentes compuestos como ácidos carboxílicos, aminas, ésteres, aldehídos, cetonas y aromáticos. De esta manera se obtuvo dos soluciones con capacidades edulcorantes y concentraciones desiguales.

Otro aspecto importante de esta investigación fue eliminar el sabor amargo que posee esta solución al principio de su degustación, problema que ha ocasionado baja aceptación de este producto en el mercado. Para lograr este objetivo se realizaron pruebas en las cuales se pasó el extracto de Stevia por filtros de carbón **activado**. Además de este filtrado, se adicionó pequeñas cantidades de ácido cítrico, el cual es utilizado en bebidas y productos alimenticios como controlador de sabores mediante la regulación del pH. Para verificar el resultado de estas pruebas se hicieron análisis sensoriales del producto. En la actualidad son varias las empresas que están produciendo y comercializando los insumos agrícolas a base de stevia, en el Japón. El método de fabricación varía según la empresa y muchos de ellos están patentados.

1.15.2 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE IMAT.

1.15.2.1 Extracto de ka'a he'e / "Bio_Ka'a he'e ALFA": Consiste en mezclar 75 % (7,5 kg) de hojas y 25 % (2,5 kg) de tallos y ramas de ka'a he'e, se hierve con 11 litros de agua natural, durante 10 minutos. Este líquido concentrado se filtra para ser fermentado y se deja madurar durante unos seis meses dentro de un bidón de plástico para tener el producto terminado.

El Bio_Ka'a he'e ALFA se utiliza preferentemente por vía foliar en los primeros estados fenológicos de los cultivos hortícolas. Desde la producción de mudas hasta el inicio de la fructificación.

Elaborado por IMAT 07/2003

1.15.2.2 Extracto de ka'a he'e / "Bio_Ka'a he'e BETA": Consiste en mezclar 50 % (5 kg) de hojas y 50 % (5 kg) de tallos y ramas de ka'a he'e, se hierve con 11 litros de agua natural, durante 10 minutos. Este líquido concentrado se filtra para ser fermentado y se deja madurar durante unos seis meses dentro de un bidón de plástico para tener el producto terminado.

El Bio_Ka'a he'e BETA se utiliza de dos maneras. En primer lugar vía riego por goteo o aspersión (en función al cultivo) para el tratamiento de suelo pre y pos trasplante de la muda, y durante todo el ciclo del cultivo. En segundo lugar por vía foliar desde el inicio de la fructificación hasta la cosecha.

Observación 01: La olla debe ser preferentemente de hierro o de acero inoxidable o enlosado, nunca en ollas de aluminio.

Observación 02: Para que el extracto este totalmente madurado debe reposar durante 6 meses. Eso no quiere decir que no se pueda usar antes. Sólo que no tendrá la concentración adecuada, en consecuencia si lo empleamos sin la maduración total debemos usar dosis más altas.

Observación 03: Si va ser fermentado por 6 meses debe guardarse en un lugar oscuro y no exponerlo a la luz solar.**Elaborado por IMAT 07/2003**

1.16 MÉTODO PARA LA CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LA STEVIA

REBAUDIANA (M. Bravo AN. Ale B D. Rivera C., J. Huamán M. D.

Delmás R M. Rodríguez B., M. Polo S., M. Bautista).

Se realizaron extracciones acuosas, controlando el pH con CaCO_3 e Ca(OH)_2 , se usaron como clarificantes carbón activado y arcillas activadas en soluciones frías y calientes; de ello se obtuvo los mejores resultados con bentonita en frío, arcilla activada y carbón activado en caliente. Los resultados analíticos se comparan con una muestra de Stevia comercial.

Etapas del proceso

1era etapa: Selección, molienda y tamizado en malla 200.

2da etapa: Extracción acuosa con CaCO_3 por 24 horas, posterior filtración cuidadosa.

3ra etapa: Extracción regulando el pH con Ca(OH)_2 en frío y en caliente para definir el método más óptimo y posterior filtración cuidadosa.

4ta etapa: Regular el pH del extracto 10 - 12 y posterior filtración.

5ta etapa: Clarificación usando en unos casos carbón activado y en otras arcillas activadas. Regulando a un pH 7,5.

6ta etapa: Purificación usando resinas de intercambio iónico y obtención de cristales.

Procedimiento experimental

Selección, molienda y tamizado en malla 200, posterior extracción acuosa regulando el pH con CaCO_3 por 24 horas con agitación constante. (Extracto Bruto 1). Se filtra el extracto obtenido separando los gruesos de los finos (Extracto 2), se adiciona Ca(OH)_2 regulando el pH. Se realiza la filtración adecuada del extracto para eliminar impurezas efectuando múltiples filtraciones (Extracto 3) y luego precipitándolo a un pH de 10 con H_3PO_4 al 2% para eliminar interferentes persistentes (Extracto 4). Se procede a la clarificación, usando carbón activado y en

otros casos arcilla activada (Extracto clarificado) con un pH 7,5 regulando con una temperatura máxima de 45 °C para los procesos en caliente. Finalmente, se purifica usando resinas de intercambio iónico, para su posterior cristalización.

1.17 EL DISEÑO EXPERIMENTAL.

Es una técnica estadística que permite identificar y cuantificar las causas de un efecto dentro de un estudio experimental. En un diseño experimental se manipulan deliberadamente una o más variables, vinculadas a las causas, para medir el efecto que tienen en otra variable de interés. El diseño experimental prescribe una serie de pautas relativas qué variables hay que manipular, de qué manera, cuántas veces hay que repetir el experimento y en qué orden para poder establecer con un grado de confianza predefinido la necesidad de una presunta relación de causa-efecto.

El diseño experimental encuentra aplicaciones en la industria, la agricultura, la mercadotecnia, la medicina, la ecología, las ciencias de la conducta, etc. constituyendo una fase esencial en el desarrollo de un estudio experimental.

1.17.1 DISEÑO FACTORIAL.

En estadística, un experimento factorial completo es un experimento cuyo diseño consta de dos o más factores, cada uno de los cuales con distintos valores o niveles, cuyas unidades experimentales cubren todas las posibles combinaciones de esos niveles en todo los factores. Este tipo de experimentos permiten el estudio del efecto de cada factor sobre la variable respuesta, así como el efecto de las interacciones entre factores sobre dicha variable.

1.17.2 PASOS PARA LA PLANEACIÓN Y REALIZACIÓN DE UN EXPERIMENTO.

- 1.- Entender y delimitar el problema u objeto de estudio
- 2.- Elegir las variables de respuesta que será medida en cada punto del diseño y verificar que se mide de manera confiable
- 3.-Determinar cuáles factores deben estudiarse o investigarse, de acuerdo con la

Supuesta influencia que tiene sobre la respuesta

4.-seleccionar los niveles de cada factor, así como el diseño experimental adecuado a los factores que se tiene y al objetivo del experimento

5.-Planear y organizar el trabajo experimental.

6.- Realizar el experimento

1.17.3 CONSTRUCCIÓN DE UN DISEÑO FACTORIAL COMPLETO 2^k .

Por su sencillez, una matriz de experimentos factorial completa 2^k no requiere un software especializado para construirla ni para analizar sus resultados. En estos diseños, cada factor se estudia a sólo dos niveles y sus experimentos contemplan todas las combinaciones de cada nivel de un factor con todos los niveles de los otros factores.

1.17.4 REPRESENTACIÓN DE LA MATRIZ EXPERIMENTAL 2^2 .

El diseño experimental a dos niveles y dos factores de estudio, se puede representar en una matriz experimental combinada entre símbolos geométricos y letras minúsculas para indicar las combinaciones de tratamientos de un experimento 2^2 de cuatro corridas que se detalla en la tabla.... para $k=2$ factores.

Los símbolos geométricos en la interacción de los efectos, suele evaluarse multiplicando el símbolo de cada factor y su relación de interacción individual de cada efecto, como se muestra en la tabla.

Tabla I-3 Matriz experimental del diseño factorial 2^2

Comienza con el signo (-) y alterna con el signo (+)

Cambia de signo cada dos observaciones

Corridas	Combinación de tratamientos	Factores		Interacción de los efectos	Respuesta
		A	B	AB	Y_i
1	(1)	-1	-1	+1	Y1
2	a	+1	-1	-1	Y2
3	b	-1	+1	-1	Y3
4	ab	+1	+1	+1	Y4

1.17.5 ESTIMACIÓN DE LOS EFECTOS PROMEDIO DE LOS FACTORES.

La estimación de los efectos promedio de los factores principales y las interacciones; suele realizarse en función de la representación geométrica de la figura....

En general, el efecto de un factor vendrá dado por el promedio del efecto del mismo factor en los niveles bajo y alto del otro factor, siendo “n” el número de réplicas.

Para encontrar los efectos de los factores y de la interacción, existen dos métodos en los cuales se utiliza la representación geométrica, los cuales se explicaran a continuación:

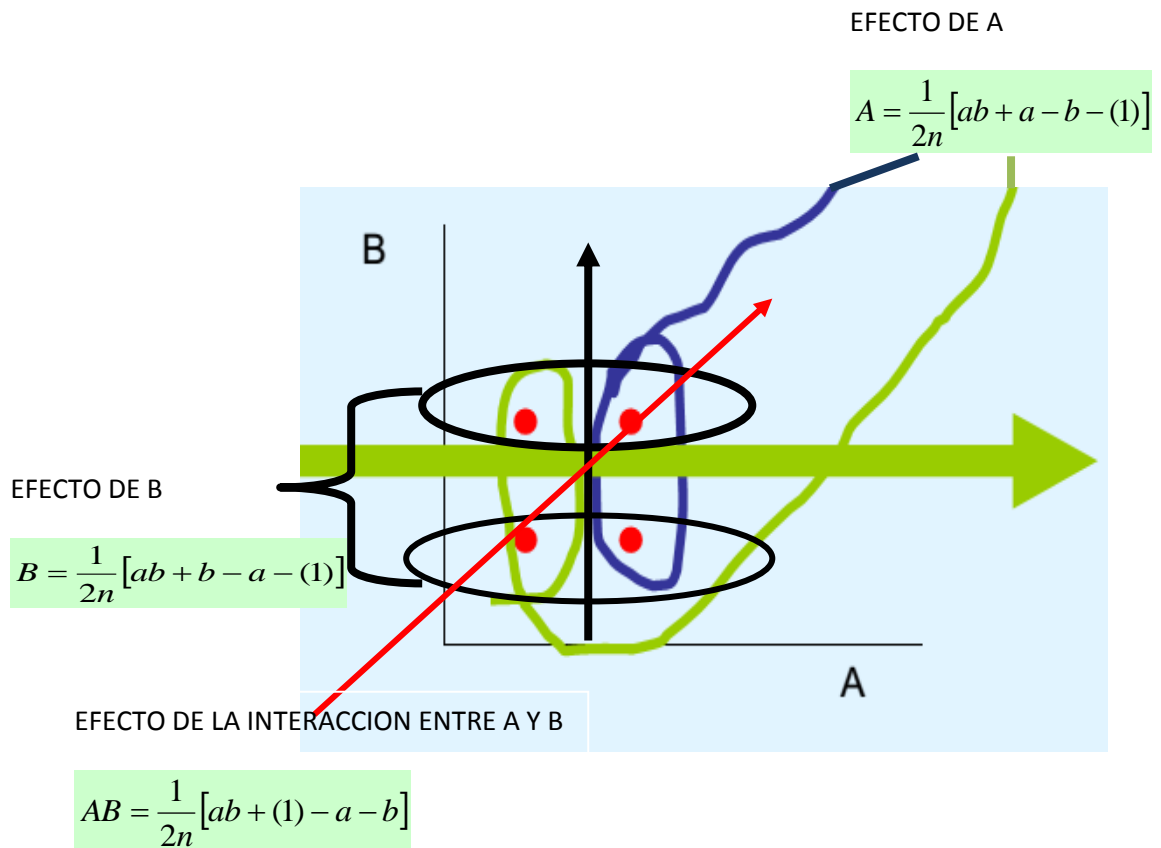


Fig 1-6

Efecto promedio del Factor A:

De acuerdo a la representación geométrica de las combinaciones de tratamientos; tomando de derecha a izquierda se observa que:

El efecto del Factor A en el nivel bajo del Factor B: $A = \frac{(a - (1))}{n}$

El efecto del Factor A en el nivel alto del Factor B: $A = \frac{(ab - b)}{n}$

Por lo tanto:

$$A = \frac{1}{2} \left[\frac{(a - (1))}{n} + \frac{(ab - b)}{n} \right] = \frac{1}{2n} (a - (1)) + ab - b$$

$$\text{Entonces: } A = \frac{1}{2n} [ab + a - b - (1)]$$

Efecto promedio del Factor B:

De acuerdo a la representación geométrica de las combinaciones de tratamientos; tomando de arriba hacia abajo se observa que:

$$\text{El efecto del Factor B en el nivel bajo del Factor A: } B = \frac{(b - (1))}{n}$$

$$\text{El efecto del Factor B en el nivel alto del Factor A: } B = \frac{(ab - a)}{n}$$

Por lo tanto:

$$B = \frac{1}{2} \left[\frac{(b - (1))}{n} + \frac{(ab - a)}{n} \right] = \frac{1}{2n} (b - (1) + ab - a)$$

$$\text{Entonces: } B = \frac{1}{2n} [ab + b - a - (1)]$$

Efecto promedio de la interacción de los Factores AB:

Se define como la diferencia promedio entre el efecto del factor A en el nivel alto del Factor B, que es: $\left[\frac{(ab - b)}{n} \right]$; y su efecto promedio en el nivel bajo del Factor B, que

$$\text{es: } \left[\frac{(a - (1))}{n} \right].$$

Por lo tanto:

$$AB = \frac{1}{2} \left[\frac{(ab - b)}{n} - \frac{(a - (1))}{n} \right] = \frac{1}{2n} (ab - b - a + (1))$$

$$\text{Entonces: } AB = \frac{1}{2n} [ab + (1) - a - b]$$

También se puede definir como la diferencia promedio entre el efecto del Factor B en el nivel alto del Factor A, que es: $\left[\frac{(ab - a)}{n} \right]$; y el efecto promedio en el nivel bajo del Factor A, que es: $\left[\frac{(b - (1))}{n} \right]$.

Por lo tanto:

$$AB = \frac{1}{2} \left[\frac{(ab - a)}{n} - \frac{(b - (1))}{n} \right] = \frac{1}{2n} (ab - a - b + (1))$$

$$\text{Entonces: } AB = \frac{1}{2n} [ab + (1) - a - b]$$

1.17.6 ANÁLISIS DE VARIANZA DEL DISEÑO EXPERIMENTAL 2².

Para determinar los valores de los efectos e interacciones del Análisis de Varianza (ANOVA), se deben obtener los contrastes de los efectos; que son las cantidades entre corchetes de los efectos promedio de los factores determinados:

$$\text{Contraste}_A = ab + a - b - (1)$$

$$\text{Contraste}_B = ab + b - a - (1)$$

$$\text{Contraste}_{AB} = ab + (1) - a - b$$

A estos contrastes se suelen denominar efecto total de A, B y AB respectivamente. Estos tres contrastes son ortogonales.

La suma de cuadrados de los efectos pueden ser obtenidas fácilmente; ya que a cada una le corresponde un contraste elevado al cuadrado, entre el producto del número de observaciones de cada total del contraste y la suma de los cuadrados de los coeficientes del mismo.

Por lo tanto:

$$SS_c = \frac{\left(\sum_{i=1}^a C_i y_i\right)^2}{n \sum_{i=1}^a C_i^2}$$

Por lo tanto, las sumas de cuadrados de los efectos principales y la interacción pueden obtenerse por los contrastes respectivos, elevado al cuadrado entre el número total de observaciones; tal como se puede observar:

$$SS_c = \frac{(\text{Contraste})^2}{4n}$$

Entonces la Suma de Cuadrados para los efectos principales e interacciones son las siguientes:

La suma de Cuadrados del factor A:

$$SS(A) = \frac{(ab + a - b - (1))^2}{4n}$$

La suma de Cuadrados del factor B:

$$SS(B) = \frac{(ab + b - a - (1))^2}{4n}$$

La suma de Cuadrados de la interacción de los factores AB:

$$SS(AB) = \frac{(ab + (1) - a - b)^2}{4n}$$

La suma total de cuadrados y la suma de cuadrados del error se calcula de forma usual.

La suma de Cuadrados del total de los factores T:

$$SS(T) = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n Y_{ijk}^2 - \frac{T^2}{4n}$$

La suma de Cuadrados del Error de los factores E:

$$SS(E) = SS(T) - SS(A) - SS(B) - SS(AB)$$

1.17.7 REPRESENTACIÓN DEL ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ANOVA) EN EL DISEÑO 2^2 .

En el Cuadro..., se muestra la tabla de análisis de varianza (ANOVA) para un diseño factorial de 2^2 , en base a la aplicación de la prueba estadística de Fisher (F).

Tabla I-4 ANOVA para el diseño factorial 2^2

Fuente de variación (FV)	Suma de cuadrados (SC)	Grados de libertad (GL)	Cuadrados medios (CM)	Fisher calculado (Fcal)	Fisher tabulado (Ftab)
Total	$SS(T)$	$4n - 1$			
Factor A	$SS(A)$	$(a - 1)$	$CM(A) = \frac{SS(A)}{(a - 1)}$	$\frac{CM(A)}{CM(E)}$	$\frac{v_1}{v_2} = \frac{GL_{SS(A)}}{GL_{SS(E)}}$
Factor B	$SS(B)$	$(b - 1)$	$CM(B) = \frac{SS(B)}{(b - 1)}$	$\frac{CM(B)}{CM(E)}$	$\frac{v_1}{v_2} = \frac{GL_{SS(B)}}{GL_{SS(E)}}$
Interacción AB	$SS(C)$	$(a - 1)(b - 1)$	$CM(AB) = \frac{SS(AB)}{(a - 1)(b - 1)}$	$\frac{CM(AB)}{CM(E)}$	$\frac{v_1}{v_2} = \frac{GL_{SS(AB)}}{GL_{SS(E)}}$
Error	$SS(E)$	$4(n-1)$	$CM(E) = \frac{SS(E)}{4(n-1)}$		

CAPÍTULO II

PARTE EXPERIMENTAL

2.1 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Para la caracterización de las hojas secas de stevia, se hizo la determinación de las características fisicoquímicas de la stevia y su análisis microbiológico en el Laboratorio de RIMH (laboratorio de aguas, suelos, alimentos y análisis ambiental)



Fig 2-1 (materia prima)

2.1.1 ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LA MATERIA PRIMA

CARACTERÍSTICA	MÉTODO DE DETERMINACIÓN	RESULTADO
HUMEDAD	Humidímetro	9,83
MATERIA SECA	Gravimétrico	90,17
CENIZA	Gravimétrico	6,07
SOLIDOS VOLATILES	Volatilización	93,93

2.1.2 ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LA MATERIA PRIMA

CARACTERÍSTICA	MÉTODO DE DETERMINACIÓN	UNIDAD	MUESTRA
PROTEINA TOTAL (base seca)	Norma ISO 466-81 NB 466-81	%	7,00
MATERIA GRASA base seca	Método gravimétrico	%	4,20
FIBRA (base seca)	Método gravimétrico	%	14,80
CARBOHIDRATOS (base seca)	Método gravimétrico	%	62,93
VALOR ENERGETICO (base seca)	Cal/100gr	Cal/100gr	317,53

2.1.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA MATERIA PRIMA

CARACTERÍSTICA	MÉTODO DE DETERMINACIÓN	RESULTADO
BACTERIA AEROBICAS MESÓFILAS	RECUESTO DE PLACAS (unidades formadoras de colonias)	0,00E+00
COLIFORMES FECALES	NÚMERO MAS PROBABLE	0,00E+00
COLIFORMES TOTALES	NÚMERO MAS PROBABLE	0,00E+00
MOHOS	RECUESTO DE PLACAS (unidades formadoras de colonias)	0,00E+00
LEVADURAS	RECUESTO DE PLACAS (unidades formadoras de colonias)	4,00E+00

2.2. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.

Para el desarrollo de este trabajo investigativo, se utilizaron algunos métodos y técnicas como: Modelos de diseño de experimentos que se basa en la experimentación y en el análisis de los resultados que se obtienen en un experimento bien planificado. En muy pocas ocasiones es posible aprovechar estos métodos a partir de datos disponibles o datos históricos, aunque también se puede aprender de los estudios realizados a partir de datos recogidos por observación, de forma aleatoria y no planificada.

La metodología del diseño de experimentos se basa en la experimentación. Es sabido que si se repite un experimento, en condiciones indistinguibles, los resultados presentan una cierta variabilidad. Si la experimentación se realiza en un laboratorio donde la mayoría de las causas de variabilidad están muy controladas, el error experimental será pequeño y habrá poca variación en los resultados del experimento

2.3. MÉTODOS Y MATERIALES

Los métodos utilizados en la investigación son: Para desarrollar la **técnica de extracción** se elaboró en base a métodos descritos en los punto **1.15** Elaborado por IMAT 07/2003 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LA STEVIA REBAUDIANA (M. Bravo AN. Ale B D. Rivera C., J. Huamán M. D. Delmás R M. Rodríguez B., M. Polo S., M. Bautista) Protocolo Chagas Space, elaborado en la Universidad Earth, por medio del cual se logró obtener un extracto crudo, destanificado y depurado (desalinización y desengrase del extracto) procurando la mayor purificación del producto. Eliminación del sabor amargo del producto final (extracto) utilizando filtros de carbón activado

Se desarrolló el diseño experimental aplicando el método de clarificación por adsorción con los agentes clarificantes: gelatina Bloom 240, mezcla de bentonita sódica con agua destilada, bentonita sódica y carbón activado granulado que también se emplea para desodorizar y tierras diatomeas en la filtración.

En desarrollo del trabajo, se usó los siguientes materiales que son: Para la extracción (balanza de precisión, espátula, varilla de agitación, olla de acero inoxidable, molino de cuchillas de cocina, estufa, guantes, cuchara, colador, filtro de tela, termómetro y cronómetro)

En procedimiento de esterilización (Tubos de ensayo ,tapones de goma, vasos de precipitada, papel aluminio, algodón y Autoclave de esterilización a vapor RAYPA AES-28); para el diseño experimental (vasos de precipitada, tubos ensayo de 16x180mm con sus tapones, gradilla ,Jarra Probeta y espátula); en los ensayos posteriores de clarificación para la obtención del edulcorante (vasos de precipitada ,frascos de plástico estériles de 100ml , balanza espátula, Colador y Filtro de tela) y equipo de filtración al vacío (Embudo de Büchner, matraz de Kitasato ,adaptador de goma o de caucho ,varilla de vidrio ,conexión a un sistema de vacío (bomba de succión). algunos de estos materiales mencionados serán descritos posteriormente en cada ensayo.

2.4 PROCESOS DE EXTRACCIÓN

Materiales:

- Olla de acero inoxidable
- Molino de cuchillas de cocina
- Estufa
- Guantes
- Cuchara
- Colador
- Filtro de tela
- Termómetro
- Cronómetro

Reactivos:

- Hojas secas de stevia
- Agua destilada

DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO:

- **Balanza digital** La balanza digital es un instrumento de medición se caracteriza por dos rasgos fundamentales: su gran rango de pesaje y su capacidad para obtener el peso con una precisión asombrosa.
- **Termómetro de Nahita.-** Un termómetro es un instrumento utilizado para medir la temperatura con un alto nivel de exactitud. Puede ser parcial o totalmente inmerso en la sustancia que se está midiendo. Esta herramienta está conformada por un tubo largo de vidrio con un bulbo en uno de sus extremos fabricados con mercurio (Hg), ya que éste se dilata cuando está sujeto al calor y ello nos permite medir su dilatación en una escala graduada de temperatura (la escala puede ser Celsius o Fahrenheit). El mercurio es una sustancia líquida dentro del rango de temperaturas de $-38,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $356,7\text{ }^{\circ}\text{C}$. Cuando el mercurio en el interior del termómetro recibe calor, éste experimenta una dilatación que hace que recorra el tubo del termómetro en el que está contenido. Así, cuando el mercurio atraviesa la escala numérica, podemos medir la temperatura.
- **El Refractómetro Digital HI 96811.-** Es un equipo portátil resistente, impermeable. El HI 96811 es un instrumento óptico que emplea las mediciones del índice de refracción para desplegar el contenido de azúcar en muestras de frutas. Las mediciones del índice de refracción son simples y rápidas. Las muestras son medidas, luego de una calibración simple realizada por el usuario con agua desionizada o destilada. En segundos el instrumento mide el índice de refracción de la muestra de la fruta y lo convierte en unidades Brix de % de concentración. El refractómetro digital HI 96811 elimina la incertidumbre asociada con los refractores mecánicos y es portátil para efectuar mediciones en terreno.

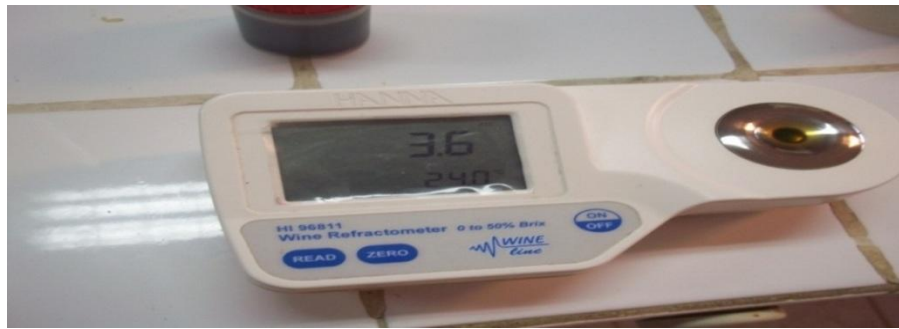


Fig. 2-2 (refractómetro)

- **Peachímetro WTW 330.-** Es fácil de usar, robusto y resistente al agua. Su selección de parámetros incluye: La temperatura, el pH, el potencial redox, contenido de oxígeno disuelto (mg / l o saturación%), la conductividad y la salinidad. La calibración es automática. Registrador de datos incorporado. IP67. Salida RS232.

La determinación de pH consiste en medir el potencial que se desarrolla a través de una fina membrana de vidrio que separa dos soluciones con diferente concentración de protones. En consecuencia se conoce muy bien la sensibilidad y la selectividad de las membranas de vidrio delante el pH. Una celda para la medida de pH consiste en un par de electrodos, uno de calomel (mercurio, cloruro de mercurio) y otro de vidrio, sumergidos en la disolución de la que queremos medir el pH.



Fig. 2-3 (peachímetro)

2.5 PROCEDIMIENTOS PARA LA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN.

La extracción de los rebaudiósidos de las hojas de stevia, se realizó en el laboratorio. Utilizando una olla de acero inoxidable como se aconseja en la bibliografía, se procedió a pesar 50 gr de hojas molidas en la balanza digital, en la olla se calentó un litro de agua destilada se llevó a ebullición alcanzada la temperatura, se añadió la stevia molida mezclando y dejando evaporar parcialmente el agua, durante 90 minutos moviendo regularmente con una varilla. Después del tiempo transcurrido, se procedió a filtrar con un colador de plástico y los sólidos resultantes de la separación sólido-líquido son nuevamente filtrados en un filtro de tela para extraer la mayor cantidad de extracto líquido retenido y añadirlos al líquido filtrado con el colador. Al finalizar se recolecto apenas 150 ml de extracto líquido de color café verdoso oscuro, denso y con olor herbáceo característico de la planta.

Se hizo una segunda extracción con el mismo procedimiento anterior, pero el tiempo de evaporación fue de 30 minutos obteniendo de un litro de agua, un extracto líquido del mismo color café verdoso oscuro y de olor característico de la planta, pero mayor cantidad que el caso anterior cerca de 500 ml de extracto.

Se efectuó una tercera extracción a la temperatura de 70 °C en este caso se calentó un litro de agua destilada hasta alcanzar dicha temperatura y se le añadió 50 gr de stevia molida; en un Erlenmeyer, se calentó en un calentador magnético para mantener la temperatura de 70 °C constante durante 60 minutos y se filtró para separar los sólidos del líquido con un colador y un filtro de tela; en este caso la cantidad de extracto obtenido fue de los 700 ml.

Las tres muestras fueron puestas en botellas de plástico en lugar oscuro y fresco para su posterior análisis y selección del extracto que se utilizó para la obtención del edulcorante final.



**Fig 2-4 (material para el ensayo de extracción para la obtención de extracto
Con evaporación de 30 y 90 minutos)**



Fig 2-5 (material para la extracción a 70 °C)

2.5.1 MEDICIONES DE LOS EXTRACTOS OBTENIDOS

2.5.1.1 MEDICIONES DEL EL EXTRACTO OBTENIDO A TEMPERATURA DE EBULLICIÓN EVAPORANDO EL AGUA POR 90 MINUTOS.

- pH = 6,03
- MEDICIÓN DE LA CARGA ELÉCTRICA = +19 mv a t= 25,2 C
- GRADOS BRIX = 4,9
- DENSIDAD = 1,014 gr/ml

- TURBIDEZ= > 1000 NTU
- PRUEBA MICROBIANA = presencia ligera de esporas

2.5.1.2 MEDICIONES DEL EXTRACTO OBTENIDO A TEMPERATURA DE EBULLICIÓN EVAPORANDO EL AGUA POR 30 MINUTOS.

- pH = 6,07
- MEDICIÓN DE LA CARGA ELÉCTRICA = +19 mv a t= 25,2 C
- GRADOS BRIX = 3,6
- DENSIDAD = 0,987 gr/ml
- TURBIDEZ= > 1000 NTU
- PRUEBA MICROBIANA = presencia ligera de bacterias

2.5.1.3 MEDICIONES DEL EL EXTRACTO OBTENIDO A TEMPERATURA DE 70 °C.

- pH = 6,03
- MEDICIÓN DE LA CARGA ELÉCTRICA = +19 mv a t= 25,2 C
- GRADOS BRIX = 4,9
- DENSIDAD = 1,014 gr/ml
- TURBIDEZ= > 1000 NTU
- PRUEBA MICROBIANA = presencia ligera de bacterias

2.5.2 ANÁLISIS DE LA RESPUESTA EN LA DETERMINACIÓN DE LA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN

Se determinó seleccionar el extracto obtenido con la primera técnica de extracción para los ensayos posteriores, por sus resultados en las mediciones en cuanto a los grados brix y la menor presencia de bacterias, mohos y esporas, que aparecieron pasado pocos días de la extracción

Se utilizó material estéril para evitar la contaminación y proliferación de bacterias. También se consideró necesario utilizar conservante para evitar la descomposición del extracto y el producto

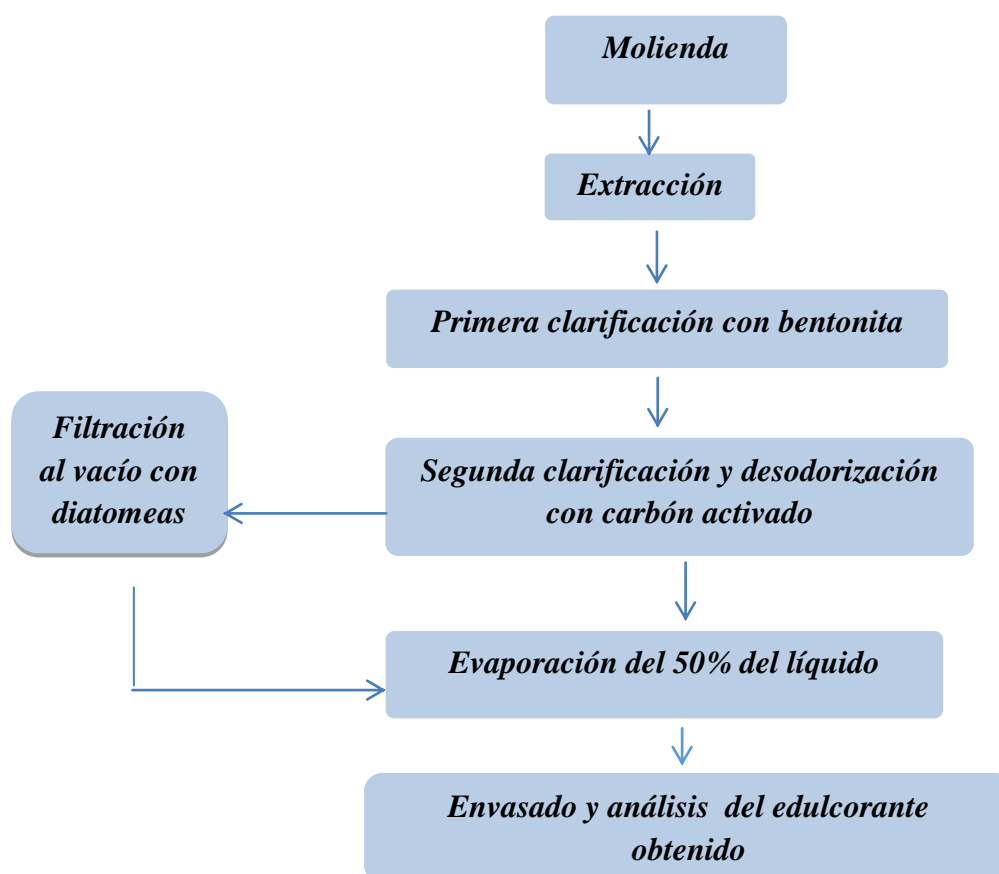
2.6 DESARROLLO EXPERIMENTAL.

2.6.1 MATERIAL BIOLÓGICO.

La materia prima utilizada mayormente, provino de Santa Cruz; donde como ya se mencionó la cosecha se realiza en el momento del corte cuando la planta empieza a emitir botones florales o una semana antes que aparezcan flores abiertas. Porque esta etapa tiene el máximo contenido de los edulcorantes, o sea el pico más alto de esteviósido y Rebaudiósido A la materia prima para la extracción fueron hojas deshidratadas.

2.6.2 PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES.

2.6.2.1 DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCEDIMIENTO.



2.6.3 ETAPAS DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DEL EDULCORANTE:

2.6.3.1 PRIMERA ETAPA.- Consistió en la molienda que se realizó en un molino de cuchillas de cocina que redujo las hojas a aproximadamente 2 a 3 mm de diámetro.

2.6.3.2 SEGUNDA ETAPA.- Se obtuvo el extracto con la técnica seleccionada pero haciendo un ajuste en las cantidades, se utilizaron 3 litros de agua destilada a temperatura de ebullición con 100 gr de hojas secas molidas evaporando la solución extractora durante 90 minutos, con lo que se logró mayor cantidad de extracto de 450 a 500 ml, además se previó por las observaciones en los anteriores ensayos, la necesidad de usar material estéril y añadir conservante al extracto obtenido.

2.6.3.3 TERCERA ETAPA.- Mediante ensayos se buscó determinar los factores y dominios experimentales a emplear para la elaboración respectiva del diseño factorial.

2.6.3.4 CUARTA ETAPA.- Por medio de ensayos se hizo una estimación de las cantidades probablemente más óptimas a usar del agente clarificante seleccionado del diseño experimental para una primera clarificación con bentonita sódica.

2.6.3.5 QUINTA ETAPA.- Se realizaron ensayos para estimar la cantidad de carbón activado más adecuada para una segunda clarificación y desodorización del extracto previamente clarificado con bentonita sódica.

2.6.3.6 SEXTA ETAPA.- Consistió en un ensayo de filtración al vacío con tierras diatomeas después de clarificar usando una cantidad 10 gr de carbón activado, pudiendo descartar esta procedimiento al no tener resultados significativamente más óptimos que con el uso de carbón activado en mayor cantidad de 20 gr.

2.6.3.7 SEPTIMA ETAPA.- Obtención del extracto y clarificación con los agentes bentonita sódica y carbón activado en las cantidades determinadas en los ensayos previos.

2.6.3.8 OCTAVA ETAPA.- Concentración del edulcorante evaporando una parte considerable de solución extractora.

2.6.3.9 NOVENA ETAPA.- Envasado en recipientes de plástico estériles del edulcorante obtenido, para un análisis de calidad general de los alimentos en los laboratorios.

2.6.3.10 DECIMA ETAPA.- Elaboración de encuestas para obtener resultados del grado de aceptación del edulcorante obtenido.

2.7 DESARROLLO EXPERIMENTAL DE LA PRIMERA ETAPA

2.7.1 MOLIENDA DE LA MATERIA PRIMA.

Las hojas secas de stevia se las molió hasta reducirlas a un tamaño similar al de las hojas de orégano para que estas liberen mejor los rebaudiósidos, se usó un molino de cocina similar al de cuchillas por el tamaño de las hojas y su textura que dificultaban su molido en uno molino de laboratorio. Se evitó pulverizar las hojas por las observaciones en resultados de otras experiencias de investigación, que muestran como las hojas pulverizadas complican el filtrado y aumenta la turbidez.



Fig. 2-6 (molino de cuchillas)

2.8 DESARROLLO EXPERIMENTAL DE LA SEGUNDA ETAPA

2.8.1 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO SELECCIONADO PARA CLARIFICAR.

La extracción se realizó añadiendo 100 gramos de hojas de stevia molidas de tamaño similar al de las hojas de orégano, a tres litros de agua destilada a temperatura de ebullición en una olla de acero inoxidable la que se destapo parcialmente para la evaporación de la solución extractora, durante 90 minutos, obteniendo aproximadamente 450 a 500 ml se repite la extracción para tener más cantidad de extracto.

2.9. DESARROLLO EXPERIMENTAL DE LA TERCERA ETAPA

2.9.1 PROCESO DE ESTERILIZACIÓN DEL MATERIAL DE LABORATORIO A UTILIZAR.

Materiales

- Tubos de ensayo (16x180mm)
- Tapones de goma
- Vasos de precipitada
- Papel aluminio
- Autoclave de esterilización a vapor RAYPA AES-28

Reactivos

- Agua de grifo

DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO:

- **Autoclave de esterilización a vapor RAYPA AES-28.-** Consta de: Temperatura regulable desde 105 °C hasta 139 °C, presión máxima de 2,5 bar. EN SEGURIDAD· tiene un dispositivo independiente que impide abrir la tapa del autoclave mientras exista presión en la cámara de esterilización, termostato de

seguridad de sobre-temperatura, válvula de seguridad que descarga la presión en caso de que ésta sobrepase el límite máximo.

CARACTERÍSTICAS: La autoclave de esterilización a vapor, tiene: Cámara simple, purga de aire automática, capacidad para 10 programas de esterilización, micro-procesador, funcionamiento automático, válvulas manuales de drenaje desvaporización, mueble exterior y encimera en acero inoxidable AISI 304 que se suministra con gradilla perforada protectora, depósito, tapa y cierre en acero inoxidable AISI 316. Del elemento calefactor y sin cestos, calefacción eléctrica con resistencia blindada en la propia cámara, orificio roscado BSP1/2 con tapón, para permitir la introducción de sondas para la validación o calibración del autoclave. (Accesible por la parte posterior), sensor de la temperatura Pt 100 clase A, control de la temperatura con microprocesador con acción P.I.D y junta de silicona en la tapa.

FUNCIONES DEL MICROPROCESADOR.- Su pantalla LCD nos indica en todo momento los parámetros del proceso. En la primera línea nos indica el N° del programa, la temperatura y el tiempo, y en la segunda línea nos da información de la fase en que se encuentra el ciclo de esterilización. Así se visualiza con un ciclo en marcha:

- PURGA-CALENTANDO: Purga de aire y calentamiento.
- CALENTANDO: Calentamiento y aumento de la presión.
- ESTERILIZANDO

Procedimiento.- Se tapó parte del material como ser los tubos de ensayo preferentemente de 16 x 180 mm, con algodón y se envolvió a todo el material con papel aluminio , antes de ser colocarlo en la canastilla de acero inoxidable del autoclave; que fue previamente llenada con agua hasta cubrir la resistencia interior ; se introdujo la canastilla en el autoclave se tapa y sierran ambas válvulas de los lados de agua y vapor , se programa en p3 que esteriliza a 121 °C durante 20 minutos, previo calentamiento , después empieza el tiempo de esterilización y luego de

enfriamiento eliminando el vapor por una de las mangueras de forma automática, si se desea acelerar la desvaporización se puede hacer abriendo la válvula del vapor solo cuando el autoclave marca el fin del proceso previo sonido de aviso sin embargo es mejor no acelerar si no es necesario.



Fig. 2-7 (material a esterilizar para los primeros ensayos)



Fig. 2-8 (material envuelto para colocar en la canasta de la autoclave)



Fig. 2-9 (autoclave)

2.10 DESARROLLO EXPERIMENTAL DE LA CUARTA ETAPA

2.10.1 ENSAYO PARA OBTENER LOS POSIBLES FACTORES Y VALOR

APROXIMADO DE EL DOMINIO EXPERIMENTAL EN LA CLARIFICACIÓN CON GELATINA BLOOM 240

Materiales:

- 2 Vasos de precipitada
- Peachímetro
- Balanza
- 14 Tubos de ensayo con sus tapones
- Gradilla
- Espátula y Varilla

Reactivos:

- Extracto de stevia a clarificar de pH 6,1
- Sorbato de potasio
- Ácido cítrico anhidro
- Gelatina Bloom 240

DESCRIPCIÓN DE LOS REACTIVOS:

- **Sorbato de potasio.-** Es uno de los conservantes más usados en todo el mundo. La razón es su excelente efecto antimicrobiano, inhibe el crecimiento de hongos, moho y bacterias, y al ser un ácido graso, es catabolizado y asimilado por el organismo. Por tal motivo es inofensivo y no constituye ningún riesgo para la salud.

Debido a sus excelentes propiedades químicas y físicas, es fácil y económico de utilizar y dado que no influye en el sabor ni en el olor de los productos, ha sido adoptado en muchos países como el conservante ideal para varios productos alimenticios.



Fig 2-10 (conservante sorbato de potasio y extracto a tratar)

- **La gelatina Bloom 240.-** La gelatina se prepara a partir de fuentes de colágeno óseo. Su uso principal es para suavizar vinos tintos pero también se utiliza para reducir el nivel de fenoles, color café de los jugos blancos y la pérdida de taninos. El potencial de sobreclarificar con gelatina es muy grande. Algunas veces cuando los fenoles grandes astringentes se eliminan, los fenoles amargos se desenmascaran teniendo un efecto negativo en la sensación bucal.

Procedimiento.- Se obtuvo previamente entre 450 a 500 ml del extracto a clarificar de pH aproximado a 6,1 evaporando la solución extractora el agua destilada durante 90 minutos, a este extracto posteriormente al enfriarse se le añadió entre 0,066 y 0,08 gr de sorbato de potasio. Entonces el extracto fue separado en dos vasos de precipitada, uno de los vasos conservo el pH 6,1 mientras que al otro vaso se le agregó pequeñas cantidades de ácido cítrico anhidro hasta que se alcanzó un pH de 4; luego se distribuyó el extracto de pH 6,1 de uno de los vasos en siete tubos de ensayo a los que posteriormente se les agregó el agente clarificante gelatina boom 240 en las siguientes cantidades de : 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 y 0,7 gramos; después repetimos este procedimiento agregando las mismas cantidades de agente clarificante gelatina Bloom 240 a otros siete tubos previamente llenados con extracto de pH 4 del otro vaso de precipitada. A los 14 tubos de ensayo se los dejó reposar por unos días para analizar el comportamiento del agente clarificante con el tiempo y el pH ácido para determinar si se emplearían como factores del diseño factorial.

2.11 ENSAYO PARA OBTENER LOS POSIBLES FACTORES Y EL VALOR APROXIMADO DEL DOMINIO EXPERIMENTAL DE LA CLARIFICACIÓN CON LA MEZCLA DE BENTONITA SÓDICA, ALCOHOL ETÍLICO Y AGUA DESTILADA.

Materiales:

- 3 Vasos de precipitada estériles
- Peachímetro
- Balanza

- 10 Tubos de ensayo con sus tapones
- Gradilla
- 1 probeta
- Espátula y Varilla

Reactivos:

- Extracto de stevia a clarificar de pH 6,1
- Sorbato de potasio
- Ácido cítrico anhidro
- Bentonita sódica
- Alcohol etílico
- Agua destilada

DESCRIPCIÓN DE LOS REACTIVOS:

- **Bentonita sódica.-** La bentonita es un material parecido a la arcilla de origen volcánico. La arcilla consiste en un complejo de silicato de aluminio hidratado de componentes de intercambio catiónico. La bentonita de calcio y sodio son dos formas que están disponibles comercialmente para su uso en el vino. La forma sódica se hidrata mejor, tiene mayor área de superficie reactiva y por tanto es más efectiva.

El modo de reacción de la bentonita es electrostático. La superficie plana de una plaqueta de bentonita hidratada se carga negativamente. Las partículas de carga positiva son adsorbidas por la superficie de la bentonita. La reacción se lleva a cabo rápidamente pero la gravedad hace que la bentonita se deposite lentamente en el fondo del contenedor.

La bentonita se utiliza principalmente para eliminar proteínas del vino blanco y jugo. También se adhieren compuestos de carga positiva como otros compuestos fenólicos y nitrogenados. La bentonita también se puede aprovechar para eliminar polifenoloxidasas del jugo.

Procedimiento.- Se obtuvo previamente entre 450 a 500 ml del extracto a clarificar de pH aproximado a 6,1 evaporando la solución extractora el agua destilada durante 90 minutos, este extracto, posteriormente al enfriarse se le añadió entre 0,066 y 0,08 gr de sorbato de potasio, entonces el extracto fue separado en dos vasos de precipitada en uno se mantuvo el pH inicial de 6,1 y al otro vaso se le adiciono pequeñas cantidades de ácido cítrico anhidro hasta que el extracto alcanzo un pH de 4, también se preparó una mezcla de 1gr de bentonita sódica con 2 ml alcohol etílico y 8 ml de agua destilada medidos en una probeta, posteriormente se mezclaron en un vaso de precipitada y se agitaron con una varilla hasta que se logró tener una mezcla de consistencia semifluida. Después se distribuyó esta mezcla de bentonita con agua y alcohol en cinco tubos de ensayo en las siguientes cantidades: 1; 1,2; 1,4; 1,6 y 1,8 ml enrasándolos con el extracto de pH 6,1 de uno de los vasos, este procedimiento se repitió con la única variante que se enraso otros cinco tubos con extracto de pH de 4 del otro vaso. Los 10 tubos se los dejo reposar unos días para analizar el comportamiento del agente clarificante con el pH ácido y el tiempo para determinar si serían considerados como los factores del diseño factorial.

2.12 ENSAYO PARA OBTENER LOS POSIBLES FACTORES Y EL VALOR APROXIMADO DE EL DOMINIO EXPERIMENTAL DE LA CLARIFICACIÓN DE LA MEZCLA BENTONITA SÓDICA CON AGUA DESTILADA.

Materiales:

- 3 vasos de precipitado
- Peachímetro
- Balanza
- 10 Tubos de ensayo con sus tapones
- Gradilla
- 1 probeta

- Espátula y varilla

Reactivos:

- Extracto de stevia a clarificar de pH 6,1
- Sorbato de potasio
- Ácido cítrico anhidro
- Bentonita sódica
- Agua destilada

Procedimiento.- Se obtuvo previamente entre 450 a 500 ml del extracto a clarificar de pH aproximado a 6,1 evaporando la solución extractora el agua destilada durante 90 minutos, a este extracto, posteriormente al enfriarse se añadió entre 0,066 y 0,08 gr de sorbato de potasio, entonces el extracto fue separado en dos vasos de precipitada en un vaso se mantuvo su condición inicial, al otro vaso se adiciono ácido cítrico anhidro hasta que se alcanzó un pH de 4, también se preparó una mezcla de 1gr de bentonita sódica con 10 ml de agua destilada medidos en una probeta, posteriormente mezclados en un vaso de precipitada y agitados con una varilla hasta tener una mezcla de consistencia semifluida, después a cinco tubos de ensayo se les añadió las siguientes cantidades de la mezcla obtenida: 1; 1,2; 1,4; 1,6 y 1,8 ml; luego estos tubos fueron enrazados con el extracto de pH 6,1 de uno de los vasos de precipitada , este procedimiento se repitió con la única variante que se llenaron otros cinco tubos de ensayo, con extracto de pH de 4 del otro vaso. Los 10 tubos se dejaron reposar unos días para analizar el comportamiento del clarificante con el tiempo y el pH ácido para determinar si serían considerados como factores del diseño factorial.

2.13 ENSAYO PARA LA OBTENCIÓN DE LOS POSIBLES FACTORES Y EL VALOR APROXIMADO DEL EL DOMINIO EXPERIMENTAL DE LA CLARIFICACIÓN CON EL AGENTE BENTONITA SÓDICA.

Materiales:

- 2 vasos de precipitado
- Peachímetro
- Balanza
- 10 Tubos de ensayo con sus tapones
- Gradilla y espátula

Reactivos:

- Extracto de stevia a clarificar de pH 6,1
- Sorbato de potasio
- Ácido cítrico anhidro
- Bentonita sódica

Procedimiento.- Se obtuvo previamente entre 450 a 500 ml del extracto a clarificar de pH aproximado a 6,1 evaporando la solución extractora el agua destilada durante 90 minutos, a este extracto, posteriormente al enfriarse se añadió entre 0,066 y 0,08 gr de sorbato de potasio, este extracto fue separado en dos vasos de precipitada en un vaso se mantuvo su condición inicial, al otro vaso se adiciono ácido cítrico anhidro hasta que alcanzo un pH de 4, posteriormente se agregó bentonita sódica en las siguientes cantidades: 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 y 0,5 gr; a cinco tubos de ensayo previamente llenados con el extracto de pH 6,1 de uno de los vasos , se repitió este procedimiento con la única variante que se llenaron otros cinco tubos con extracto de pH de 4 del otro vaso. Los 10 tubos se dejaron reposar unos días para analizar el comportamiento del agente clarificante con el tiempo y el pH ácido para determinar si se los consideraría como los factores del diseño factorial.

2.14 ANÁLISIS DE LA RESPUESTA EN LA DETERMINACIÓN DE LOS FACTORES Y DOMINIOS EXPERIMENTALES PARA LOS DIFERENTES AGENTES CLARIFICANTES.

Se determinó que para la clarificación del extracto de stevia, es mejor utilizar el extracto de pH más cercano al neutro porque conserva mejor el poder edulcorante, que utilizar un extracto de pH más ácido porque provoca pérdida del dulzor aunque favorece a la disminución del color oscuro. El pH constituye un factor que influye en el proceso de clarificación aunque no de forma favorable para el sabor en el caso de la stevia.

También se pudo observar que al colocar un tubo con extracto a clarificar a temperaturas bajas no mejora la clarificación como ocurre en el caso del vino, simplemente se debe dejar en un lugar fresco y oscuro.

El uso de la gelatina Bloom 240 como agente clarificante se ve favorecido con el transcurso de varios días de reposo comparada con el agente clarificante bentonita sódica que ya sea en mezcla o sola requiere de menos días de reposo.

En cuanto a la mezcla de bentonita con agua y alcohol es menos efectiva que la mezcla de bentonita sódica con agua debido al mayor arrastre de esteviósidos y rebaudiósidos amargos por el alcohol etílico; se obtuvo un mejor resultado del uso del agente clarificante bentonita sódica sola y no en una mezcla, en todos los casos ya sea de bentonita en mezcla o sola el dulzor mejora con unos días de reposo para un extracto de pH de 6,1 porque con el pH ácido de 4 se aclara el color del extracto con la clarificación, pero se pierde parte importante del dulzor.

Comparando el comportamiento en la clarificación con la bentonita sódica mezclada con agua, la bentonita sódica sola, y la bentonita sódica mezclada con alcohol y agua, presenta similitudes como la una mejora en el dulzor al usar el extracto de stevia con el pH 6,1 y una mejora en la claridad del color con un pH más ácido pero con una disminución del dulzor; sin embargo los resultados en el sabor son más semejantes y

mejor en los casos que se aplicó para el proceso de clarificación la bentonita sódica mezclada con agua y la bentonita sódica sola .

Es así que con estos ensayos preliminares determinamos, descartar la mezcla de bentonita sódica con alcohol y agua destilada y considerar como factores el uso de: clarificantes gelatina Bloom 240, la mezcla bentonita sódica con agua destilada y bentonita sódica sola, para un extracto de pH aproximado a 6,1 el que siempre debe contener sorbato de potasio para evitar la fermentación con el tiempo. En cuanto a los dominios se consideró, las cantidades de agente clarificante y los días de reposo.



Fig. 2-11 (Extracto con agente clarificantes bentonita sódica y ácido cítrico anhidro después de varios días de reposo)

**2.15 PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO PARA DISEÑO FACTORIAL
CORRESPONDIENTE AL AGENTE CLARIFICANTE GELATINA
BLOOM 240.**

Materiales:

- Balanza
- Jarra
- colador
- Frascos de plástico estériles de 100ml
- Espátula

Reactivos:

- Extracto de stevia a clarificar de pH 6,1
- Sorbato de potasio
- Gelatina Bloom 240



Fig.2-12 (materiales usados para el ensayo de clarificación con gelatina Bloom 240 y bentonita sódica con y sin agua)



Fig2-13 (Reactivos extracto y gelatina Bloom 240)

Procedimiento.- Se obtuvo previamente el extracto a clarificar, (que son 450 ml a 500 ml de extracto de pH aproximadamente 6,1; obtenido de una evaporación de la solución extractora durante 90 minutos al que se añadió 0,08 gr de sorbato de potasio). Se llenaron con el extracto mencionado 4 frascos de plástico estériles a los que después se añadieron las cantidades de: 0,46; 0,86; 0,46 y 0,86 gr de gelatina Bloom 240 a cada envase y se dejó reposar las muestras primero 15 días para medir los grados brix resultantes y luego se dejó reposar las muestras por 31 días para medir los grados brix, se repitió estos procedimientos para obtener las réplicas.

2.15.1 DISEÑO FACTORIAL PARA EL AGENTE CLARIFICANTE

GELATINA BLOOM 240.

Planteamiento para el laboratorio

FACTORES
X1 = agente clarificante (gelatina bloom240)
X2= tiempo

DOMINIO EXPERIMENTAL	
(-)	(+)
0,46gr	0,86gr
15días	31días

Matriz de experimentos	
X1	X2
-	-
+	-
-	+
+	+

Plan de experimentación			
	AGENTE (gelatina bloom 240) gr	DÍAS	BRIX
1	0,46	15	6,5
2	0,86	15	6,4
3	0,46	31	6,4
4	0,86	31	6,1
RÉPLICAS			
5	0,46	15	6,8
6	0,86	15	6,7
7	0,46	31	6,6
8	0,86	31	6,2

PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS

Hp: No existen diferencias entre los tratamientos (muestras)

Ha: Si existen diferencias entre las muestras (tratamientos)

1) Criterios de decisión:

Se Acepta la Hp si el $F_{cal} < F_{tab}$

Se Rechaza la Hp si el $F_{cal} > F_{tab}$

Tabla II-1 para Análisis de Varianza (ANOVA) para elegir la variable del proceso alimenticio

Fuente de Varianza (FV)	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (GL)	Cuadrados Medios (CM)	Fcal	Ftab
Total	0,39875	abr -1 = 7			
Factor A (gelatina bloom240)	0,10125	(a-1) = 1	0,10125	3,5217*	4,5450
Factor B (tiempo)	0,15125	(b-1) = 1	0,15125	5,2608**	4,5450
Interacción AB (clarificante-Tiempo)	0,03125	(a-1)(b-1) = 1	0,03125	1,0869	4,5450
Error	0,1150	ab(r-1) = 4	0,02875		

Fuente elaboración propia (método de los contrastes)

2.15.2 ANÁLISIS DE LA RESPUESTA DE LA VARIANZA (ANOVA) PARA LA CLARIFICACIÓN CON GELATINA BLOOM 240.

Para calcular el Ftab, se recurre a la tabla de Fisher, considerando los grados de libertad del tratamiento o muestras (v_1), los grados de libertad del error (v_2) y el nivel de significancia

$$1 - \alpha = 0,9$$

$$(\alpha = 0.1)$$

Se determina el Ftab de los **tratamientos**: Entrando a la tabla de Fisher del 90% (anexo 4)

$$v_1 = 1 \text{ Hacia la derecha}$$

$$v_2 = 4 \text{ Hacia abajo}$$

$$F_{\text{tabla}} = 4,545$$

- ❖ Como se puede observar en la Tabla II-1, $F_{cal} < F_{tab}$ ($3,5217 < 4,5450$) para el factor A (agente clarificante gelatina Bloom 240), por lo cual se Acepta la hipótesis H_p y se puede afirmar que **no existe** evidencia estadística de variación de las muestras o tratamientos del proceso con el factor A, para una significancia de ($\alpha < 0.1$) es decir que la cantidad de clarificante gelatina Bloom 240, no influye significativamente en el proceso de clarificación del extracto de stevia.
- ❖ Como se puede observar en la Tabla II-1, $F_{cal} > F_{tab}$ ($5,2608 > 4,5450$) para el factor B (tiempo), lo cual se rechaza la hipótesis H_p y se puede afirmar que **si existe** evidencia estadística de variación de las muestras o tratamientos del proceso con el factor B tiempo para una significancia ($\alpha < 0.1$). Es decir, que el tiempo influye significativamente en el proceso de clarificación del extracto.
- ❖ Para el caso de la interacción de los factores (AB), se puede observar en la tabla I que $F_{cal} < F_{tab}$ ($1.0869 < 4,545$), con lo cual se Acepta la H_p y **no existe** evidencia estadística de la variación de las muestras o tratamientos del proceso por la interacción de los factores temperatura-tiempo en el proceso para una significancia de ($\alpha < 0.1$), es decir que la interacción del clarificante gelatina bloom 240 con el tiempo no influyen significativamente en el proceso de clarificación del extracto

2.16 PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO PARA EL DISEÑO

FACTORIAL DE LA CLARIFICACIÓN CON EL AGENTE MEZCLA DE BENTONITA SÓDICA CON AGUA DESTILADA.

Materiales:

- Balanza
- Varilla
- Espátula
- Probeta

- Vaso de precipitada
- 8 Frascos de plástico estériles de 100ml

Reactivos:

- Extracto de stevia a clarificar de pH 6,1
- sórbato de potasio.
- Bentonita sódica
- Agua destilada



Fig 2-14 (reactivos para el ensayo de clarificación con bentonita sódica con agua)

Procedimiento.- Se obtuvo previamente el extracto a clarificar, (que son 450 ml a 500 ml de extracto de pH aproximadamente 6,1; obtenido de una evaporación de la solución extractora durante 90 minutos al que se añadió 0,08 gr de sorbato de potasio).

Se preparó también una mezcla de 2 gr de bentonita sódica con 100ml de agua destilada; se añadió esta mezcla a 4 envases de plástico estériles en las cantidades de: 2, 5, 2 y 5 ml de la mezcla semifluida, enrasándose posteriormente estos frascos, con el extracto a clarificar. Dejamos reposar las muestras primero 5 días para medir los

grados brix resultantes luego se dejó reposar las muestras por 10 días para nuevamente medir los grados brix. Estos procedimientos se repitieron para tener las respectivas réplicas.

2.16.1 DISEÑO FACTORIAL PARA EL AGENTE CLARIFICANTE

MEZCLA DE BENTONITA SÓDICA CON AGUA DESTILADA.

Planteamiento para el laboratorio:

FACTORES	DOMINIO EXPERIMENTAL	
X1= agente clarificante(mezcla Bentonita sódica con agua destilada)	(-)	(+)
X2= tiempo	2ml	5ml
	5días	10días

Matriz de experimentos	
X1	X2
-	-
+	-
-	+
+	+

Plan de experimentación			
	AGENTE (mezcla de bentonita Con agua)ml	DÍAS	BRIX
1	2	5	6,5
2	5	5	6,6
3	2	10	6,4
4	5	10	6,3
RÉPLICAS			
5	2	5	6,2
6	5	5	6
7	2	10	6
8	5	10	5,8

PLANTEAMIENTO DE LA HIPOTESIS:

Hp: No existen diferencias entre los tratamientos (muestras)

Ha: Si existen diferencias entre las muestras (tratamientos)

2) Criterios de decisión:

Se Acepta la Hp si el $F_{cal} < F_{tab}$

Se Rechaza la Hp si el $F_{cal} > F_{tab}$

Tabla II-2 Análisis de Varianza (ANOVA) para elegir la variable del proceso alimenticio

Fuente de Varianza (FV)	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (GL)	Cuadrados Medios (CM)	Fcal	Ftab
Total	0,5400	abr -1 = 7			
Factor A (bentonita y agua)	0,0200	(a-1) = 1	0,0200	0,15780*	4,5450
Factor B (tiempo)	0,0080	(b-1) = 1	0,0080	0,06314	4,5450
Interacción AB (clarificante-Tiempo)	0,0050	(a-1)(b-1) = 1	0,0050	0,03946	4,5450
Error	0,5070	ab(r-1) = 4	0,1267		

Fuente elaboración propia (método de los contrastes)

2.16.2 ANÁLISIS DE LA RESPUESTA DE LA VARIANZA (ANOVA) PARA LA CLARIFICACIÓN CON LA MEZCLA BENTONITA SÓDICA CON AGUA DESTILADA.

Para calcular el F_{tab} , se recurre a la tabla de Fisher, considerando los grados de libertad del tratamiento o muestras (v_1), los grados de libertad del error (v_2) y el nivel de significancia

$$1-\alpha = 0,9$$

$$(\alpha = 0.1)$$

Se determina el F_{tab} de los **tratamientos**: Entrando a la tabla de Fisher del 90% (anexo 4)

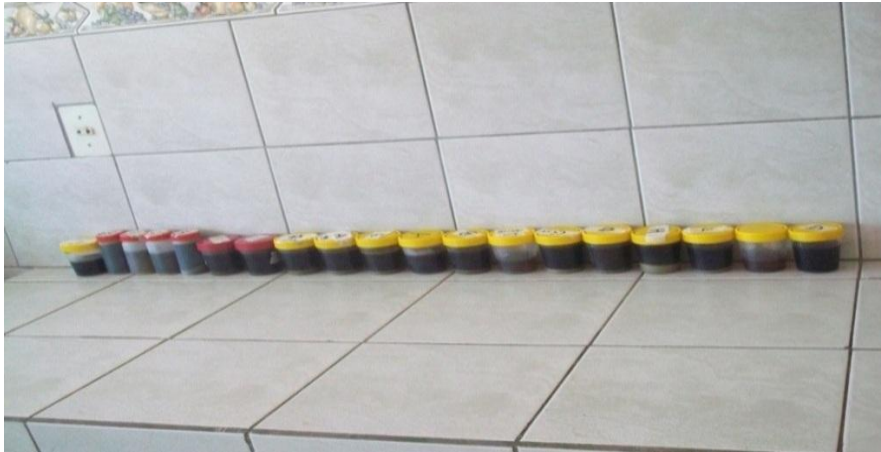
$$v_1 = 1 \text{ Hacia la derecha}$$

$$v_2 = 4 \text{ Hacia abajo}$$

$$F_{tabla} = 4,545$$

- ❖ Como se puede observar en la Tabla II-2, $F_{cal} < F_{tab}$ ($0,15780 < 4,5450$) para el factor A (agente clarificante mezcla de bentonita sódica con agua destilada), por lo cual se Acepta la hipótesis H_p y se puede afirmar que **no existe** evidencia estadística de variación de las muestras o tratamientos del proceso con el factor A, para una significancia de ($\alpha < 0.1$) es decir que la variación de la cantidad de agente clarificante A, no influye significativamente en el proceso de clarificación del extracto de stevia.
- ❖ Como se puede observar en la Tabla II-2, $F_{cal} < F_{tab}$ ($0,06314 < 4,545$) por lo cual se Acepta la hipótesis H_p y se puede afirmar que **no existe** evidencia estadística de variación de las muestras o tratamientos del proceso con el factor B (tiempo), para una significancia de ($\alpha < 0.1$) es decir que el tiempo, no influye significativamente en el proceso de clarificación del extracto de stevia.
- ❖ Para el caso de la interacción de los factores (AB), $F_{cal} < F_{tab}$ ($0,03946 < 4,545$), con lo cual se Acepta la H_p y **no existe** evidencia estadística de las

variación de las muestras o tratamientos del proceso por la interacción de los factores (cantidad de clarificante-tiempo) en el proceso para una significancia de ($\alpha < 0.1$), es decir que la interacción del clarificante bentonita sódica con el tiempo no influyen significativamente en el proceso de clarificación del extracto.



**Fig 2-15 (frascos de ensayos preliminares
y diseño experimental con sus replicas)**

2.17 PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO PARA EL DISEÑO FACTORIAL CORRESPONDIENTE AL AGENTE CLARIFICANTE BENTONITA SÓDICA.

Materiales:

- Balanza
- Espátula
- Jarra
- 8 Frascos de plástico estériles de 100ml

Reactivos:

- Extracto de stevia a clarificar de pH 6,1

- Sorbato de potasio
- Bentonita sódica



Fig. 2-16 (bentonita sódica y extracto de stevia)

Procedimiento.- Se obtuvo previamente el extracto a clarificar, (que son 450 ml a 500 ml de extracto de pH aproximadamente 6,1; obtenido de una evaporación de la solución extractora durante 90 minutos al que se añadió 0,08 gr de sorbato de potasio).

El extracto de stevia, se distribuyó en 4 frascos de plástico estériles a los que posteriormente se añadió las siguientes cantidades de bentonita sódica: 1, 2,5 ,1 y 2,5 gr y dejamos reposar las muestras primero 5 días para medir los grados brix resultantes, luego se dejó reposar las muestras por 10 días para medir nuevamente los grados brix. Se repitió los mismos procedimientos para las réplicas.

2.17.1 DISEÑO FACTORIAL PARA EL AGENTE CLARIFICANTE BENTONITA SÓDICA.

Planteamiento para el laboratorio:

FACTORES
X1 = agente clarificante(bentonita sódica)
X2= tiempo

DOMINIO EXPERIMENTAL	
(-)	(+)
1gr	2,5gr
5días	10días

Matriz de experimentos	
X1	X2
-	-
+	-
-	+
+	+

Plan de experimentación			
	AGENTE (Bentonita sódica gr)	DÍAS	BRIX
1	1	5	7,63
2	2,5	5	7,33
3	1	10	6,93
4	2,5	10	6,73
RÉPLICAS			
5	1	5	7,78
6	2,5	5	7,68
7	1	10	7,48
8	2,5	10	7,38

PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS:

Hp: No existen diferencias entre los tratamientos (muestras)

Ha: Si existen diferencias entre las muestras (tratamientos)

3) Criterios de decisión:

Se Acepta la H_p si el $F_{cal} < F_{tab}$

Se Rechaza la H_p si el $F_{cal} > F_{tab}$

Tabla II-3 para el Análisis de Varianza (ANOVA) para elegir la variable del proceso alimenticio

Fuente de Varianza (FV)	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (GL)	Cuadrados Medios (CM)	Fcal	Ftab
<i>Total</i>	15,55875	abr -1 = 7			
<i>Factor A (bentonita)</i>	0,06125	(a-1) = 1	0,06125	0,01628	4,5450
<i>Factor B (tiempo)</i>	0,45125	(b-1) = 1	0,45125	0,11997*	4,5450
<i>Interacción AB (clarificante-Tiempo)</i>	0,00125	(a-1)(b-1) = 1	0,00125	0,00033	4,5450
<i>Error</i>	15,045	ab(r-1) = 4	3,76125		

Fuente elaboración propia (método de los contrastes)

2.17.2 ANÁLISIS DE LA RESPUESTA DE LA VARIANZA (ANOVA) PARA LA CLARIFICACIÓN CON BENTONITA SÓDICA.

Para calcular el F_{tab} , se recurre a la tabla de Fisher, considerando los grados de libertad del tratamiento o muestras (v_1), los grados de libertad del error (v_2) y el nivel de significancia

$$1-\alpha = 0,9$$

$$(\alpha = 0.1)$$

Se determina el F_{tab} de los **tratamientos**: Entrando a la tabla de Fisher del 90% (anexo 4)

$v_1 = 1$ Hacia la derecha

$v_2 = 4$ Hacia abajo

$F_{tabla} = 4,545$

- ❖ Como se puede observar en la Tabla II-3, $F_{cal} < F_{tab}$ ($0,01628 < 4,545$) para el factor A (agente clarificante bentonita sódica), por lo cual se Acepta la hipótesis H_p y se puede afirmar que **no existe** evidencia estadística de variación de las muestras o tratamientos del proceso con el factor A, para una significancia de ($\alpha < 0.1$) es decir que la variación cantidad de clarificante bentonita sódica, no influye significativamente en el proceso de clarificación del extracto de stevia.
- ❖ Como se puede observar en la Tabla II-3, $F_{cal} < F_{tab}$ ($0,11997 < 4,545$) por lo cual se Acepta la hipótesis H_p y se puede afirmar que **no existe** evidencia estadística de variación de las muestras o tratamientos del proceso con el factor B (tiempo), para una significancia de ($\alpha < 0.1$) es decir que el tiempo, no influye significativamente en el proceso de clarificación del extracto de stevia.
- ❖ Para el caso de la interacción de los factores (AB), $F_{cal} < F_{tab}$ ($0,00033 < 4,545$), con lo cual se Acepta la H_p y **no existe** evidencia estadística de las variación de las muestras o tratamientos del proceso por la interacción de los factores (cantidad de clarificante-tiempo) en el proceso para una significancia de ($\alpha < 0.1$), es decir que la interacción del clarificante bentonita sódica con el tiempo no influyen significativamente en el proceso de clarificación del extracto.

2.18 DESARROLLO EXPERIMENTAL DE LA CUARTA ETAPA

2.18.1 ENSAYO PARA DETERMINAR LA CANTIDAD MÁS ÓPTIMA DE BENTONITA SÓDICA PARA CLARIFICAR EL EXTRACTO DE STEVIA SELECCIONADO.

Materiales:

- Frascos estériles de plástico
- espátula
- Balanza
- Colador
- Filtro de tela

Reactivos:

- Extracto a clarificar de stevia de pH 6,1
- sorbato de potasio
- Bentonita sódica

Procedimiento.- Se obtuvo previamente el extracto a clarificar con la técnica mencionada anteriormente al que también se añadió como siempre sorbato de potasio, el extracto clarificado fue distribuido en 4 frascos de plástico estériles a los que se adiciono bentonita sódica en las cantidades de 1; 1,5; 2,5 y 3 gramos. Se dejó reposar las muestras por cinco días, para luego filtrar el clarificado con un colador cubierto de un filtro de tela y así medir sus grados brix

ANÁLISIS DEL RESULTADO

Con este ensayo en laboratorio se pudo observar que los grados brix no aumentan significativamente son similares, a los grados brix de la clarificación con un gramo de bentonita sódica son de: 7,63 y 7,68 para cantidades superiores a 1 gramo por lo que se determinó usar 1gr por cada 100 ml de extracto y se repitió el ensayo para

conseguir más cantidad de extracto clarificado con esta dosificación de bentonita sódica.

2.19 DESARROLLO EXPERIMENTAL DE LA QUINTA ETAPA

2.19.1 ENSAYO PARA DETERMINAR LA CANTIDAD MÁS ÓPTIMA DE CARBÓN ACTIVADO PARA UNA SEGUNDA CLARIFICACIÓN Y DESODORIZACIÓN DEL EXTRACTO TRATADO

Materiales:

- Balanza
- espátula
- Frascos de plástico estériles
- Colador.
- Filtro de tela.

Reactivos:

- Extracto de stevia a clarificar de pH 6,1
- Sorbato de potasio
- Bentonita sódica
- Carbón activado granulado

DESCRIPCIÓN DE LOS REACTIVOS.

- **Carbón activado granulado.-** EL carbón activado es un agente adsorbente no específico, hecho a partir de la madera. El carbón esponjoso se enlaza con moléculas débilmente polares. El carbón elimina efectivamente compuestos fenólicos especialmente pequeños puesto que los dímeros mayores son demasiado grandes para ser adsorbidos.

Procedimiento.- Se obtuvo previamente el extracto de stevia a clarificar como se vino realizando anteriormente para los otros ensayos, pero como no se clarifico inmediatamente el extracto para asegurarse y prevenir la proliferación de cualquier organismo sin tener que aumentar conservante se procedió a llevar a ebullición el

extracto a clarificar y bien alcanza la temperatura se retira del fuego y se deja reposar nuevamente para posteriormente realizar la clarificación con bentonita sódica ,que consistió en agregar 1 gr del agente clarificante por cada 100 ml de extracto, como ya se estableció con anterioridad , posteriormente se dejó reposar las muestras por 5 días y al terminar el reposo de esta primera clarificación ,se procedió a filtrar el extracto clarificado , con un colador cubierto de un filtro de tela y el extracto resultante que fue aproximadamente 250 ml es utilizado para el ensayo de la segunda clarificación y desodorización con carbón activado en la que se agregó 10 gr de carbón activado granulado, se dejó reposar al segundo agente clarificante y desodorizante por 2 días para finalmente ser filtrado con un colador.

Este procedimiento descrito se repitió exactamente con las variantes que la cantidad de carbón activado granulado aumento de 10 a 20 gr para los 250 ml de extracto de la clarificación con bentonita sódica y los días de reposo del agente clarificante y desodorizante carbón activado granulado se extendieron de 2 a 4 días.



Fig 2-17 (carbón activado para clarificar y desodorizar)

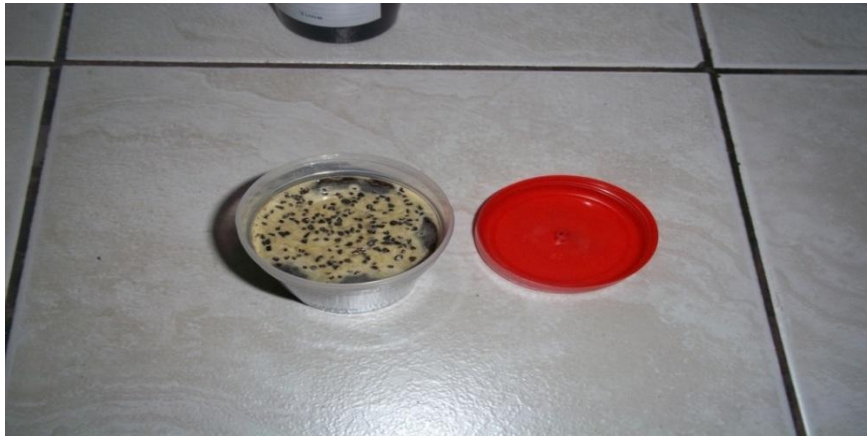


Fig 2-18 (adición del carbón activado al extracto a tratar)

2.20 DESARROLLO EXPERIMENTAL DE LA SEXTA ETAPA

2.20.1 ENSAYO DE FILTRACIÓN AL VACÍO CON TIERRAS DIATOMEAS

DEL EXTRACTO PREVIAMENTE CLARIFICADO.

Materiales:

- Embudo de Büchner
- Matraz de Kitasato
- Adaptador de goma o de caucho
- Varilla de vidrio
- Conexión a un sistema de vacío (bomba de succión)

Reactivos:

- Extracto de stevia clarificado con bentonita sódica y carbón activado
- Tierras diatomeas

DESCRIPCIÓN DE LOS REACTIVOS:

- **Tierras diatomeas.-** Es una roca sedimentaria silíceas formada por micro-fósiles de diatomeas, que son algas marinas unicelulares que secretan un esqueleto silíceo llamado frústula. Un uso muy común para las diatomeas es para la

filtración. Las finas estructuras de conchas de diatomeas atrapan partículas extrañas de los fluidos, tales como suciedad, pelusas, cabellos y otros organismos microscópicos. Las diatomeas son a menudo utilizadas para filtrar el agua. Sin embargo, una gran variedad de fluidos se puede filtrar con diatomeas, incluyendo diferentes jarabes, bebidas alcohólicas, medicamentos, solventes y otros productos químicos

Procedimiento.- Se obtuvo previamente el extracto a clarificar con la técnica establecida, este extracto se procedió a clarificar con 1 gr de bentonita sódica por cada 100 ml dejando reposar 5 días. Después a los 250 ml de extracto clarificado, se volvió a clarificar y desodorizar con 10 gr de carbón activado dejando reposar a los mismos 2 días para luego nuevamente filtrar al vacío con diatomeas.

Se armó un sistema de filtración al vacío; conectamos la goma del sistema de vacío al matraz kitasato al que también se conectó, con la ayuda de un adaptador de goma un embudo buchner , provisto en su interior de un papel filtro el cuál cubría los agujeros del embudo sin sobrepasar su superficie plana; seguidamente se preparó una mezcla con 4,5 gr de tierras diatomeas con el extracto previamente clarificado con bentonita sódica y carbón activado granulado , la mezcla fue vertida cuidadosamente en el embudo una vez realizado este paso, se procedió a encender la bomba de vacío y se efectuó la respectiva filtración con tierras diatomeas.

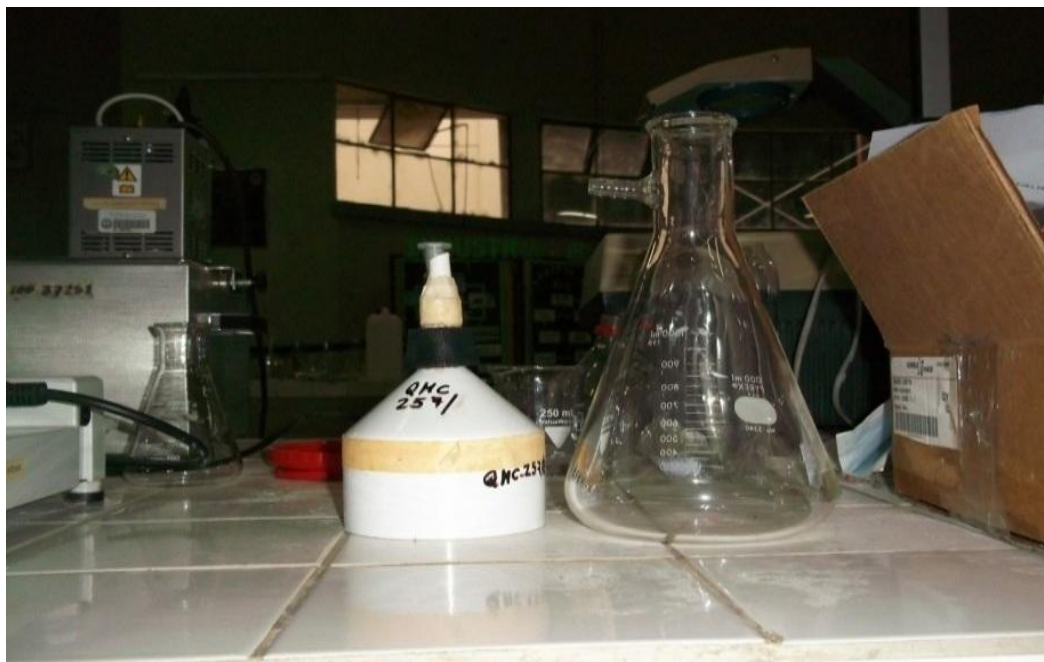


Fig 2-19 (materiales para la filtración al vacío)



Fig 2-20(restos de las diatomeas despues de la filtración al vacío)

2.21 DESARROLLO DE LA SÉPTIMA ETAPA.

2.21.1 CLARIFICACIÓN DEL EXTRACTO DE STEVIA CON BENTONITA

SÓDICA Y CARBÓN ACTIVADO GRANULADO.

Materiales:

- Balanza
- Recipientes estéril
- Colador
- Filtro de tela

Reactivos:

- Extracto de stevia a clarificar de pH 6,1
- Sorbato de potasio
- Bentonita sódica
- Carbón activado granulado

Procedimiento.- Se obtuvo previamente el extracto a clarificar con la técnica establecida, se clarificó agregando 5 gramos de bentonita sódica a 450 ml del extracto, dejando reposar el mismo por 5 días , luego por filtración simple a gravedad se separó el extracto clarificado del agente clarificante bentonita sódica, después se hizo una segunda clarificación y desodorización con 20 gr de carbón activado granulado dejando actuar a este por 4 días antes de filtrar nuevamente para tener el extracto clarificado para su posterior concentración por evaporación

2.22 DESARROLLO DE LA OCTAVA Y NOVENA ETAPA

2.22.1 CONCENTRACIÓN POR EVAPORACIÓN Y ENVASADO

Materiales

- olla de acero inoxidable
- varilla
- estufa

- frasco de plástico estéril

Reactivos

- extracto clarificado con bentonita sódica y carbón activado granulado

Procedimiento.- Se realizó una evaporación simple, de una cantidad considerable de aproximadamente del 50% del agua, para obtener un producto concentrado posteriormente se envaso en frascos de plástico estériles, dejando enfriar en la sombra cada muestra para su posterior análisis y respectivas pruebas. Los procedimientos de las últimas etapas séptima octava y novena se repiten para aumentar la cantidad de edulcorante obtenido.



Fig 2-21 (evaporación de extracto clarificado y desodorizado con y sin filtración con diatomeas)

2.23 DESARROLLO DE LA DECIMA ETAPA

2.23.1 ENSAYO PARA EL ANÁLISIS SENSORIAL DEL EDULCORANTE

OBTENIDO.

El análisis sensorial se desarrolló en las instalaciones del laboratorio de informática del bloque de ingeniería química, donde se distribuyeron en vasos desechables muestras de café con leche al cual se endulzó con edulcorante líquido de stevia obtenido.

Materiales

- Olla
- Estufa
- Termómetro
- Vasos desechables

Reactivos

- Edulcorante de stevia experimental
- 1 litro de leche
- Café
- Canela

Procedimiento.- Se preparó un litro de leche con café y canela a este se lo endulzó con aproximadamente 300 ml de edulcorante líquido de stevia, y se lo vació a un termo para conservar el calor, luego se distribuyó en 10 vasos desechables muestras del preparado a personas del laboratorio de informática de ingeniería química a los que posteriormente se distribuyó encuestas para la pruebas sensorial, las cuáles amablemente fueron llenadas por los encuestados.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. ANÁLISIS DE LA RESPUESTA DE LOS TRES PROCESOS DE EXTRACCIÓN

El método de extracción para obtener el extracto se elaboró basándose, en las técnicas de extracción mencionadas en el capítulo II en el punto **2.3 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN**.

Para poder proponer este método de extracción, se efectuaron previamente pruebas de extracción en las que se hicieron variar la temperatura y tiempo de evaporación o extracción, y posteriormente se analizó los diferentes extractos obtenidos, descartando la extracción con agua destilada a una temperatura de 70°C con un tiempo de extracción de 60 minutos, esta decisión se tomó debido a que el extracto tenía presencia ligera de bacterias con cinco días de reposo. También se descartó por un motivo similar al tratamiento que se llevó a cabo mediante agua a punto de ebullición, con un tiempo de evaporación de la solución extractora de 30 minutos.

3.1.1 ANÁLISIS DEL EXTRACTO SELECCIONADO

Por los resultados de las mediciones y observaciones de los extractos de ensayo, se determinó seleccionar el extracto obtenido por método que se evaporaba la solución extractora por 90 minutos ya que con este tiempo el extracto posteriormente se conserva más días sin la aparición de microorganismos, sin embargo como la cantidad obtenida de muestra era muy poca de 150 ml se decidió aumentar las cantidades de materia prima y por tanto también de la solución extractora. De esta forma se definió el método de extracción, usando como solución extractora agua destilada a temperatura de ebullición y como materia prima hojas de stevia seca en las cantidades de 100 gramos por cada 3 litros de solución extractora, con un tiempo de evaporación del agua de extracción de 90 minutos

Al observar la capacidad de conservarse de los extractos incluyendo el seleccionado, se vio conveniente agregar pequeñas cantidades de sorbato de potasio que es uno de los conservantes más usados en todo el mundo. La razón es su excelente efecto antimicrobiano, inhibe el crecimiento de hongos, moho y bacterias, y es asimilado por el organismo. Por tal motivo es inofensivo y no constituye ningún riesgo para la salud.

A partir de este método seleccionado se puede obtener entre 500 a 450 ml de extracto de color café verdoso oscuro y de olor herbáceo característico que se conserva más semanas.

Con el extracto obtenido en estas condiciones se realizó el plan experimental de laboratorio para posteriormente realizar el diseño factorial y otros los procesos siguientes para obtención del producto.

3.2 ANÁLISIS DE LA RESPUESTA DE LOS PROCESOS DE CLARIFICACIÓN.

3.2.1 ANÁLISIS DE LA RESPUESTA DE LA CLARIFICACIÓN CON GELATINA BLOOM 240.

En la clarificación con gelatina Bloom 240, se observó que los grados brix de las diferentes muestras o tratamientos varían muy poco o casi nada, aumentando la cantidad de agente clarificante de 0,46 a 0,86 gr e incrementando los días de reposo de 15 a 31 días.

3.2.2 ANÁLISIS DE LA RESPUESTA DE LA CLARIFICACIÓN CON LA MEZCLA BENTONITA CON AGUA DESTILADA.

En el caso de la clarificación del extracto con una mezcla de bentonita sódica con agua destilada, se alcanzó grados brix semejantes a los logrados utilizando como clarificante gelatina Bloom 240 también se observó que con una variación en la cantidad de clarificante de 2 a 5 ml, no influye significativamente en los grados brix

resultantes de las muestras como tampoco tiene influencia en estos el incremento del tiempo de reposo de 5 a 10 días.

3.2.3 ANÁLISIS DE LA RESPUESTA DE LA CLARIFICACIÓN CON BENTONITA SÓDICA.

En la clarificación con el agente clarificante bentonita sódica se pudo apreciar un pequeño incremento de la variable respuesta de los muestras o tratamientos comparada con los otros agentes clarificantes, pero como en los casos anteriores no mostro un incremento importante de los grados brix con el incremento del clarificante en este caso bentonita sódica de 1 a 2,5 gramos, ni tampoco que el aumento del tiempo de reposo de 5 a 10 días tuviera una influencia en el resultado.

3.3 SELECCIÓN DEL AGENTE CLARIFICANTE.

Comparando la clarificación del extracto con los tres agentes se notó un comportamiento semejante entre estos en cuanto a que los grados brix no aumentan al incrementar la dosis de agente clarificante y los días de reposo del mismo.

Los agentes clarificantes se diferenciaron en que: La gelatina Bloom 240, con menor cantidad obtuvo grados brix de sus diferentes muestras similares a los alcanzados en la clarificación con la mezcla de bentonita sódica con agua destilada, pero requirió mayor cantidad de días reposo que la mezcla. Para el caso solo del uso de bentonita sódica se diferencia principalmente de los otros agentes en el ligero incremento de los grados brix y con ello una pequeña potencialización sensorial del dulzor del extracto clarificado por ello es que este fue el agente seleccionado, además de que requiere solo de 5 días de reposo, descartando por este motivo el uso de gelatina Bloom 240 y la mezcla de bentonita con agua porque para ambos casos los grados brix son muy similares.

3.4 ANÁLISIS DE LA CANTIDAD ÓPTIMA DE BENTONITA SÓDICA PARA CLARIFICAR EL EXTRACTO DE STEVIA SELECCIONADO.

Con el propósito de tratar de optimizar la clarificación con el agente seleccionado, se determinó hacer otros ensayos de clarificación con bentonita sódica además de los realizados para el diseño factorial con las cantidades que de 1 y 2,5 gramos cuyos resultados de grados brix no son sustancialmente diferentes. Es así que se hizo nuevamente ensayos con el agente bentonita sódica para 5 días con las cantidades de: 1; 1,5, 2,5 y 3 gr bentonita sódica, dio como mejor resultado mantener el uso de 1gr de agente clarificante por cada 100 ml de extracto, descartando el uso de dosis mayores de clarificante al no mostrar una mejora significativa del potencial del edulcorante del extracto tratado, más al contrario se pudo comprobar, que a medida que aumenta la cantidad de bentonita sódica llevaría a producir una sobreadSORCIÓN o la adsorción de rebaudiósidos dulces lo que contribuye a una pérdida del dulzor del extracto.

3.5 ANÁLISIS DE LA CANTIDAD DE CARBÓN ACTIVADO PARA UNA DESODORIZACIÓN Y UNA SEGUNDA CLARIFICACIÓN DEL EXTRACTO SELECCIONADO.

En el uso de carbón activado granulado para desodorizar, también se consiguió clarificar más el extracto contribuyendo a aumentar la eliminación de la presencia del sabor amargo. Se hizo ensayos con el carbón activado granulado para las cantidades de 10 gramos para 250 ml de extracto previamente clarificado con bentonita sódica con un tiempo de reposo de 2 días y con 20 gramos para un tiempo de reposo de 4 días obteniendo mejor resultado con este último.

3.6 ANÁLISIS DE LA RESPUESTA DE LA FILTRACIÓN AL VACÍO CON TIERRAS DIATOMEAS.

Se pudo constatar, que las diatomeas en cantidades de 4,5 gramos por 200 ml de extracto previamente clarificado con 1 gramo de bentonita sódica por 100 ml y 10gr de carbón activado por cada 250 ml de extracto, provoco una pérdida del potencial de dulzor de la muestra, por lo que debe utilizarse en cantidades menores a las mencionada para conservar el poder edulcorante del extracto clarificado previamente o también se puede prescindir del proceso de filtración al vacío aumentando la cantidad de carbón activado en la desodorización y segunda clarificación y el tiempo de reposo como se señala en el punto anterior

3.7 CONTROL DE CALIDAD GENERAL DEL EDULCORANTE

El control del producto obtenido se hizo de acuerdo a la Norma Productos Alimenticios. Bebidas no carbonatadas sin alcohol. La cual tiene por objeto la regulación de las características y especificaciones que deben cumplir las bebidas no carbonatadas sin alcohol envasadas, conservadas mediante un tratamiento adecuado, lista para vender en el momento de su expedición o venta, producidas en el país o de origen extranjero. Deberá cumplir con: Requisitos físicos, químicos, Criterios microbiológicos y Características sensoriales: color, olor y sabor de acuerdo a los establecido por **IBMETRO –DTA CI-36-37-38-40 de la NB ISO/IEC 17025:2005.**

Según estos criterios mencionados se realizó los análisis respectivos para los dos productos obtenidos en los laboratorios de RIMH y del SEANID.

**3.7.1 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DEL
PRODUCTO (FILTRADO AL VACÍO CON DIATOMEAS).**

3.7.1.1 RESULTADO DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

CARACTERÍSTICA	MÉTODO DE DETERMINACIÓN	RESULTADO
pH	Peachímetro	5,80
DENSIDAD RELATIVA 20 C	densímetro	1,048
HUMEDAD	Humidímetro	93,14
SOLIDOS VOLATILES	Gravimétrico (volatilización)	85,57
MATERIA SECA	Gravimétrico secado	6,86
CENIZA	Gravimétrico secado	14,30
SOLIDOS SOLUBLES	Brixómetro	12,00

3.7.1.2 RESULTADOS DE LAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

CARACTERISTICA	MÉTODO DE DETERMINACIÓN	UNIDAD	MUESTRA
Calcio total	Método estandarizado SM 3500-CaB	mg/100gr	22,10
Hierro total	Método estandarizado SM 3500-CaB	mg/100gr	0,72
Proteína total	Norma ISO 466-81 NB 466-81	%	0,48
PORCENTAJE DE ACIDEZ	Por titulación	%	4,10

3.7.1.3 RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

CARACTERÍSTICA	MÉTODO DE DETERMINACIÓN	RESULTADO
BACTERIA AEROBICAS MESÓFILAS	RECuento DE PLACAS (unidades formadoras de colonias)	1,60E+02
COLIFORMES FECALES	NÚMERO MAS PROBABLE	0,00E+00
COLIFORMES TOTALES	NÚMERO MAS PROBABLE	0,00E+00
ESCHERICHIA COLI	NÚMERO MAS PROBABLE	0,00E+00
MOHOS	RECuento DE PLACAS (unidades formadoras de colonias)	0,00E+00
LEVADURAS	RECuento DE PLACAS (unidades formadoras de colonias)	4,00E+01
SALMONELLA	NÚMERO MAS PROBABLE	0,00E+00

3.7.2 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DEL PRODUCTO (SIN FILTRACIÓN CON DIATOMEAS).

3.7.2.1 RESULTADO DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

CARACTERÍSTICA	MÉTODO DE DETERMINACIÓN	RESULTADO
pH	Peachímetro	5,70
DENSIDAD RELATIVA 20 C	densímetro	1,058
HUMEDAD	Humidímetro	93,18
SOLIDOS VOLATILES	Gravimétrico (volatilización)	85,30
MATERIA SECA	Gravimétrico secado	6,82
CENIZA	Gravimétrico secado	14,70
SOLIDOS SOLUBLES	Brixómetro	14,20

3.7.2.2 RESULTADOS DE LAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

CARACTERÍSTICA	MÉTODO DE DETERMINACIÓN	UNIDAD	MUESTRA
PROTEINA TOTAL (base seca)	Norma ISO 466-81 NB 466-81	%	1,50
MATERIA GRASA base seca	Método gravimétrico	%	0,00
FIBRA (base seca)	Método gravimétrico	%	15,00
CARBOHIDRATOS (base seca)	Método gravimétrico	%	2,80
VALOR ENERGÉTICO (base seca)	Cal/100gr	Cal/100gr	17,20
ACIDÉZ TITULABLE	Por titulación	%	3,95

3.7.2.3 RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CARACTERÍSTICA	MÉTODO DE DETERMINACIÓN	RESULTADO
BACTERIA AERÓBICAS MESÓFILAS	RECuento DE PLACAS (unidades formadoras de colonias)	2,00E+00
COLIFORMES FECALES	NÚMERO MAS PROBABLE	0,00E+00
COLIFORMES TOTALES	NÚMERO MAS PROBABLE	0,00E+00
MOHOS	RECuento DE PLACAS (unidades formadoras de colonias)	3,00E+00
LEVADURAS	RECuento DE PLACAS (unidades formadoras de colonias)	6,00E+01








3.7.3 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE AMBOS PRODUCTOS.

De acuerdo con los resultados de los análisis realizados en el laboratorio de RIMH , el edulcorante obtenido con una clarificación de 5 gr de bentonita sódica por cada 450 o 500 ml , con 10 gr de carbón activado por cada 250 ml y con una filtración al vacío con diatomeas a igual que el edulcorante obtenido con una clarificación de 5 gr de bentonita sódica por cada 450 o 500ml, pero con 20 gr de carbón activado por cada 250 ml y eliminando la filtración al vacío con diatomeas, están dentro de los valores permitidos para las características general de los alimentos establecido por **INMETRO –DTA CI-36-37-38-40 de la NB ISO/IEC 1725:2005**. Por lo observado, los resultados muestran semejanzas con muy poca variación es así que, la diferencia para seleccionar al edulcorante sin la filtración al vacío con diatomeas y sólo aumentando la cantidad de carbón activado de la segunda clarificación a 20 gr, es que los sólidos solubles (grados brix) es ligeramente mayor de 14,2 > 12 que los brix de la filtración al vacío con diatomeas, además de apreciar una mayor sensación del sabor dulce, se elimina el paso y costo de una filtración al vacío aunque esta constituye a la mejor conservación de un producto .

3.8 RESULTADO DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS.

Se utilizó el método de encuestas.

3.8.1 RESULTADO PARA LA PRUEBA SENSORIAL DE SABOR:








CRITERIO	NÚMERO DE JUECES	PORCENTAJE
 Me gusta mucho	0	0
 Me gusta bastante	2	20
 Me gusta ligeramente	4	40
 No me gusta ni me disgusta	2	20
 Me disgusta moderadamente	2	20
 Me disgusta ligeramente	0	0
 Me disgusta bastante	0	0

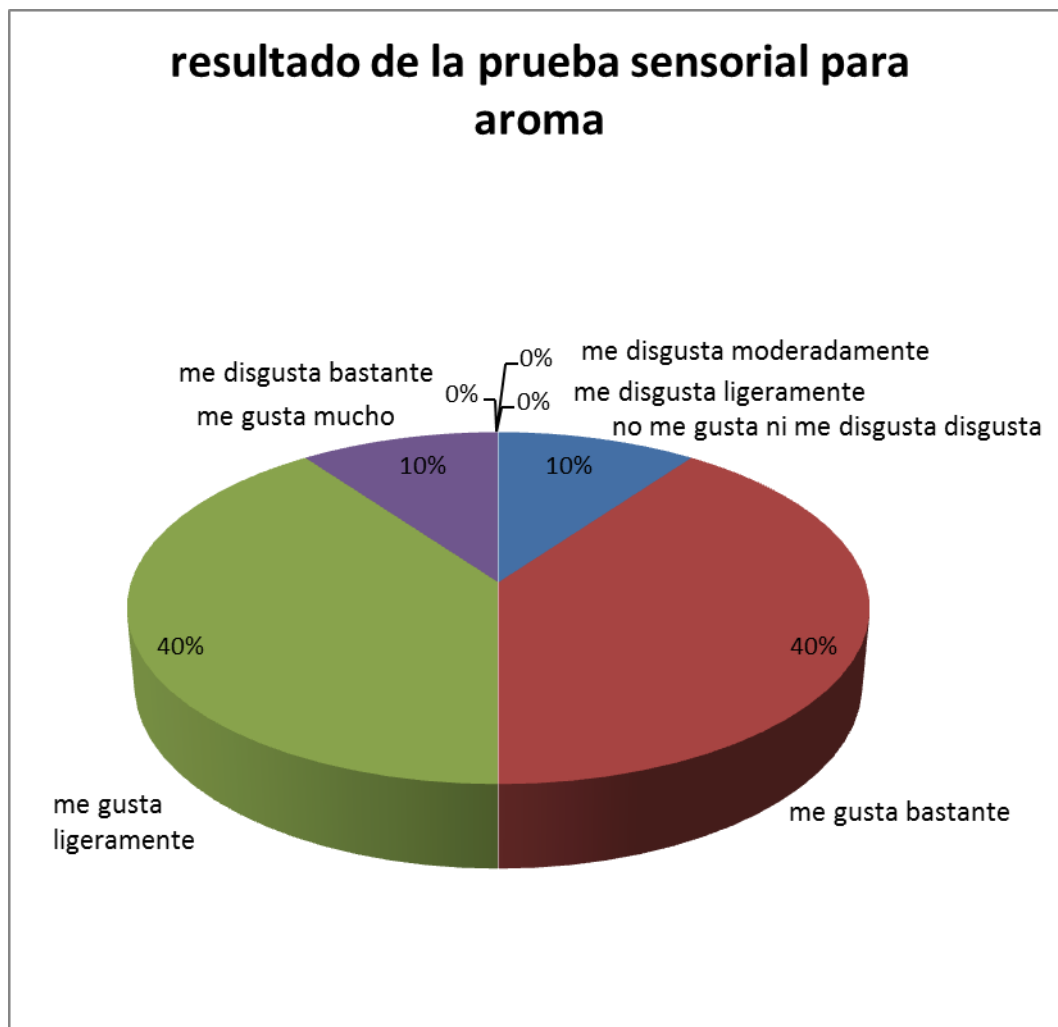


3.8.1.1 ANÁLISIS DEL RESULTADO DE LA PRUEBA SENSORIAL DE SABOR

Como se puede observar en la gráfica del resultado de la prueba organoléptica de sabor expresada en porcentaje, se encontró que hay una aceptación relativa del producto, en cuanto al sabor ya que los resultados del nivel de agrado del edulcorante líquido de stevia, dio resultados iguales para me gusta, no me gusta ni me disgusta, me disgusta moderadamente y a un 40% de los jueces el producto les agrado ligeramente. Estos resultados muestran que la persistencia ligera del sabor amargo característico de la stevia hace que no se tenga la aceptación plena del producto.

3.8.2 RESULTADO PARA LA PRUEBA SENSORIAL DE AROMA:

CRITERIO	NÚMERO DE JUECES	PORCENTAJE
 <p>Me gusta mucho</p>	1	10
 <p>Me gusta bastante</p>	4	40
 <p>Me gusta ligeramente</p>	4	40
 <p>No me gusta ni me disgusta</p>	1	10
 <p>Me disgusta moderadamente</p>	0	0
 <p>Me disgusta ligeramente</p>	0	0
 <p>Me disgusta bastante</p>	0	0



3.8.2.1 ANÁLISIS DEL RESULTADO DE PRUEBA SENSORIAL DE AROMA

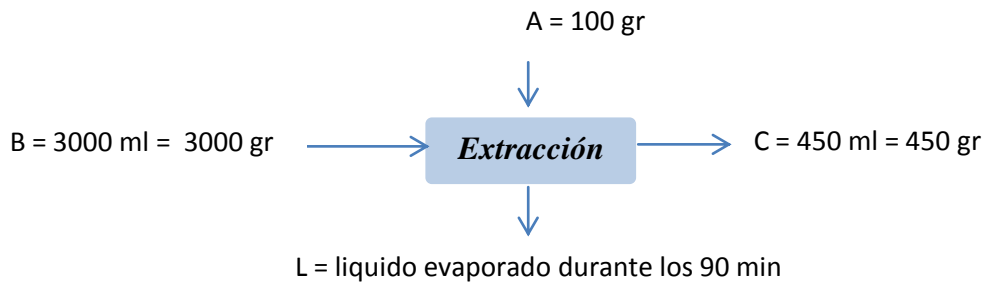
Como se puede observar en la gráfica del resultado de la prueba organoléptica de aroma expresada en porcentaje, se encontró que no hay ningún porcentaje de rechazo del producto en cuanto al olor, obteniendo un resultado iguales de aceptación para las opciones de me gusta y me gusta ligeramente; sólo se ha conseguido que a un 10% de jueces que no les gusta ni disgusta el aroma del producto, existiendo también un 10% de jueces que les gusta mucho el aroma. Estos resultados nos dicen que el uso de carbón activado en la dosis y tiempo usados fueron los adecuados (20 gramos por 250ml de extracto con un tiempo de reposo de 4 días).

3.9 ANÁLISIS DE LA CANTIDAD RESULTANTE DE LOS PROCESOS

3.9.1 BALANCE DE MATERIA

$$A = 100\text{gr}$$

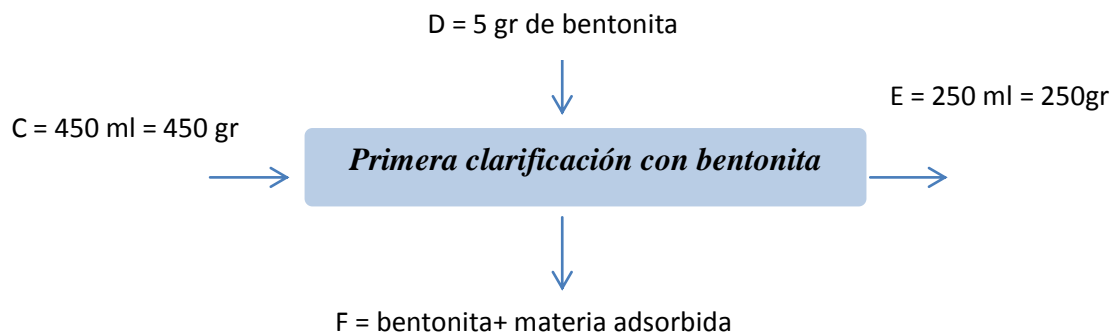
3.9.1.1 BALANCE DE MATERIA DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN



$$A+B = C+L$$

$$L = A+B - C = 100+ 3000 - 450 = 2650 \text{ gr} = 2650 \text{ ml aproximadamente}$$

3.9.1.2 BALANCE DE MATERIA PARA LA PRIMERA CLARIFICACIÓN CON BENTONITA SÓDICA.

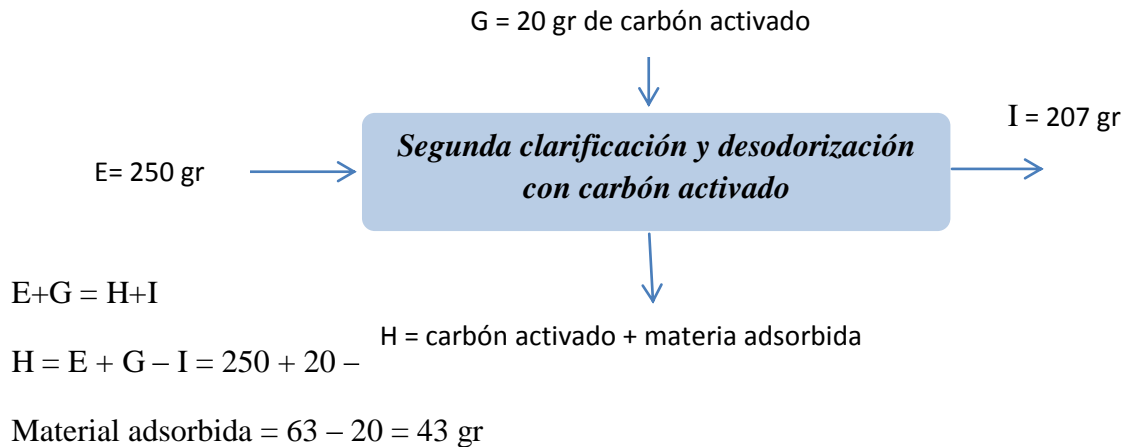


$$C+D = E+F$$

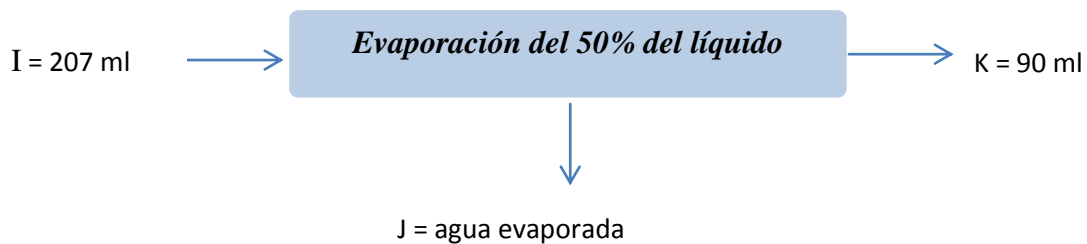
$$F = C+D- E = 450 + 5 - 250 = 205 \text{ gr}$$

$$\text{Materia adsorbida} = F - D = 205 - 5 = 200\text{gr (en forma de lodos)}$$

3.9.1.3 BALANCE DE MATERIA PARA LA SEGUNDA CLARIFICACIÓN Y DESODORIZACIÓN CON CARBÓN ACTIVADO.



3.9.1.4 BALANCE DE MATERIA PARA LA EVAPORACIÓN DE APROXIMADAMENTE EL 50 % DE LA SOLUCIÓN EXTRACTORA.



$$K = I - J$$

$$J = I - K = 207 - 90 = 117 \text{ ml}$$

3.9.2 ANÁLISIS DE LAS CANTIDADES OBTENIDAS DESPUÉS DE LAS RESPECTIVAS CLARIFICACIONES

Se consiguió poca muestra después de la filtración del extracto de la primera clarificación con bentonita sódica, por el tipo de filtro de manga y el tiempo de filtración aplicado que podría haber ocasionado que no se recuperará más extracto quedando retenido el mismo en el filtro.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES:

- Se obtuvo un extracto de color café verdoso oscuro de olor herbáceo característico de la stevia, a través de un nuevo método de extracción que utiliza 100 gr de hojas molidas no pulverizadas con 3 litros de agua destilada como solución extractora, a temperatura de ebullición, evaporado la solución durante 90 minutos y aplicando sorbato de potasio, esta técnica de extracción dio los resultados más aceptables en cuanto al dulzor y capacidad de conservarse más tiempo sin la aparición de contaminantes microbiológicos, sin embargo la cantidad de agua evaporada es grande de aproximadamente 2650 ml aunque estos se pueden ser recuperados por condensación.
- En cuanto a los trabajos de investigación referentes a la stevia, la mayor complicación que se presenta es la eliminación total del sabor amargo o el aislamiento del esteviósido y rebaudiósido A con lo se obtendría un edulcorante ideal, pero esta dificultad no sólo se presenta en este trabajo de investigación que se utiliza el método de adsorción, también en la aplicación de métodos como: extracción por reflujo y soxhlet, centrifugación, variación de pH, resinas iónicas aunque este último podría lograr mejorar los resultados esto involucraría altos costos, donde a veces aún así no se logra el rendimiento que se desea y usa reactivos que no se pueden reutilizar.
- Para seleccionar del agente clarificante más adecuado, se realizó ensayos con el extracto de stevia, utilizando como clarificantes: Gelatina Bloom 240, bentonita sódica y mezcla de bentonita sódica con agua destilada, de los tres agentes se seleccionó como agente clarificante la bentonita sódica por el ligero incremento de los grados brix respecto a los otros dos clarificantes.
- En la realización del diseño experimental en laboratorio, se pudo determinar que las variables que más influencia podían presentar en el resultado del proceso de

clarificación son: el pH, la cantidad de materia prima y la temperatura, sin embargo como se determinó utilizar un pH y una temperatura definidas para la clarificación, se decidió manipular otras variables que también, tienen influencia en la clarificación particularmente en el dulzor del extracto como son: el tipo de clarificante, la dosis de clarificante y el tiempo de reposo del mismo.

- En cuanto a temperatura de clarificación, el reposo del agente adsorbente a una temperatura muy baja como la de refrigeración produce una posible adsorción de los rebaudiósidos deseados para el producto lo que deja una sensación menos dulce del extracto, por lo que se determinó dejar en reposo al agente clarificante a una temperatura ambiente de un lugar fresco pero no de refrigeración.
- A la persistencia de un sabor amargo después de clarificar con aproximadamente 1 gr de bentonita sódica por cada 100 ml de extracto, se trató de eliminar este añadiendo 10 gr de carbón activado granulado por cada 250 ml de extracto previamente clarificado y filtrando; para nuevamente filtrar al vacío con tierras diatomeas, lo que contribuye a aumentar la conservación del extracto al ayudar a eliminar posibles restos de microorganismos o pequeñas partículas indeseables, sin embargo a medida que se aumenta la cantidad de diatomeas, no se producía un mejoramiento en el sabor, al contrario se vio afectado, por lo que se descartó el uso de diatomeas y se decidió aumentar la cantidad de carbón activado en la segunda clarificación de 10 a 20 gr, con esta cantidad se puede prescindir de la filtración al vacío con diatomeas, lo que si se podría cambiar para la filtración simple, después de la primera clarificación con bentonita sódica es el uso de un filtro de más adecuado y mayor tiempo de filtrado con lo que se podría perder menos extracto clarificado para así posteriormente obtener mayor cantidad de producto.
- En la etapa de evaporación de la solución extractora para aumentar la concentración y así el poder edulcorante se concluyó que al evaporar el 50% o más del agua aumenta la sensación del sabor dulce pero también se hace más notoria la presencia del amargo característico de la stevia.

- En la realización de las pruebas sensoriales de sabor y aroma del edulcorante obtenido se notó una marcada diferencia en cuanto a la aceptación plena del aroma y no así del sabor; esto se debe a que el sabor dulce del producto va acompañado de un pequeño sabor amargo persistente, lo que provoca que el edulcorante no sea sensorialmente en sabor igual al azúcar de mesa.
- No se logró obtener el producto esperado, que fuese totalmente incoloro, inodoro y sin rastro alguno de sabor amargo, similar a los edulcorantes sintéticos artificiales. Sin embargo se consiguió un edulcorante natural, sano cuyo retrogusto amargo se puede enmascarar, al usarse en bebidas de sabor fuerte como café o yerba mate, lo que se comprobó por las pruebas sensoriales de sabor y aroma.

4.2 RECOMENDACIONES:

A las autoridades competentes:

- Que se pueda gestionar equipamiento en materiales y reactivos al laboratorio de operaciones unitarias porque durante la experimentación, se puede notar la necesidad de hacer préstamos de materiales de vidrio y otros, que el laboratorio de operaciones unitarias debería contar con este equipamiento necesario.
- Los laboratorios de la universidad, además de hacer análisis, deberían poder actuar como intermediario, para enviar muestras, como el caso de la stevia cuyos análisis de esteviósidos y rebaudiósidos, no realiza el CEANID a los laboratorios de otras universidades con la finalidad de apoyar a la investigación aplicada sobre este tema.

A las investigaciones futuras

- Cerciorarse de la facilidad de poder conseguir la materia prima a utilizar como así también los equipos y materiales necesarios.
- Realizar una investigación previa de los análisis que se pueden efectuar en laboratorios locales.

- Se puede buscar obtener edulcorantes naturales de otras materias primas además de la stevia como azúcar de coco.
- Continuar con la investigación de alimentos y bebidas naturales que sean sanas para la salud.