



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL  
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL. UNIDAD OAXACA.

Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de  
Recursos Naturales

**“Deshidratación de hojas de estevia (*Stevia rebaudiana*  
Bertoni) en un secador de lecho fluidizado y evaluación  
de parámetros de calidad”**

Tesis que para obtener el  
grado de Maestro en Ciencias

**Presenta:**

Beatriz Noyola Altamirano

**Director de tesis:**

Dr. Juan Rodríguez Ramírez

Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca

Diciembre 2017



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Oaxaca siendo las 10:00 horas del día 27 del mes de noviembre del 2017 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR OAXACA

para examinar la tesis titulada:  
Deshidratación de hojas de estevia (Stevia rebaudiana Bertoni) en un secador de lecho fluidizado y evaluación de parámetros de calidad

Presentada por el alumno:

Noyola Altamirano  
Apellido paterno Apellido materno  
Nombre(s) Beatriz

Con registro: 

B	1	5	0	5	0	7
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Director(a) de tesis

Dr. Juan Rodríguez Ramírez

Dra. Lilia Leticia Méndez Lagunas

Dr. Sadoth Sandoval Torres

Dr. Víctor Guillermo Jiménez Quero

Dr. Luis Gerardo Barriada Bernal

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez



CENTRO INTERDISCIPLINARIO  
DE INVESTIGACIÓN PARA EL  
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
CIIDIR  
UNIDAD OAXACA  
IPN.

## CESIÓN DE DERECHOS



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

### *CARTA CESIÓN DE DERECHOS*

En la Ciudad de México, D.F. el día 7 del mes de diciembre del año 2017, el (la) que suscribe NOYOLA ALTAMIRANO BEATRIZ alumno(a) del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES, con número de registro B150507, adscrito(a) al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, manifiesto(a) que es el (la) autor(a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del (de la, de los) Dr. Teodulfo Aquino Bolaños y cede los derechos del trabajo titulado “Deshidratación de hojas de estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) en un secador de lecho fluidizado y evaluación de parámetros de calidad.”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del (de la) autor(a) y/o director(es) del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones [posgradoax@hotmail.com](mailto:posgradoax@hotmail.com) ó [hna76@hotmail.com](mailto:hna76@hotmail.com). Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

  
NOYOLA ALTAMIRANO BEATRIZ  
Nombre y firma del alumno(a)



CENTRO INTERDISCIPLINARIO  
DE INVESTIGACIÓN PARA EL  
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
C.I.I.D.I.R.  
UNIDAD OAXACA  
IPN.

# **Deshidratación de hojas de estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) en un secador de lecho fluidizado y evaluación de parámetros de calidad**

Beatriz Noyola Altamirano

## **RESUMEN**

Las hojas de estevia son fuente de compuestos bioactivos, dentro de los cuales destacan los glucósidos de esteviol que le confieren una alta capacidad edulcorante y compuestos antioxidantes tales como fenoles y flavonoides, los cuales le otorgan valor terapéutico. El valor comercial de las hojas deshidratadas de estevia está relacionado con el contenido de glucósidos y su apariencia. Las condiciones de secado de estevia afectan sus características físicas, el contenido de glucósidos de esteviol y los compuestos antioxidantes presentes en la hoja fresca. El presente trabajo de investigación aborda el efecto en las características fisicoquímicas de la deshidratación de estevia en un secador de lecho fluidizado. Se analizó el efecto de las condiciones de secado temperatura (40, 50 y 60°C), velocidad de aire (2 y 3.5 ms<sup>-1</sup>) y densidad de carga (1.5 y 3.0 kgm<sup>-2</sup>) en un diseño factorial completo general 3X2X2. Se evaluaron los parámetros de color, la concentración de esteviósido (E<sub>V</sub>), rebaudiósido A (R<sub>A</sub>), fenoles totales (F<sub>T</sub>), flavonoides (F<sub>L</sub>) y capacidad antioxidante (C<sub>A</sub>) en lecho empacado y no empacado de hojas. Los tiempos de secado oscilaron entre 24 y 160 minutos. Los resultados indican variabilidad de acuerdo al tipo de lecho utilizado durante el proceso. En lechos no empacados (LNE), los resultados indicaron un ΔE de 3.47 a 11.54, F<sub>T</sub> de 40.90-73.82 mgEAGg<sub>ss</sub><sup>-1</sup>, F<sub>L</sub> de 43.00-386.34 mgEQg<sub>ss</sub><sup>-1</sup>, C<sub>A</sub> de 65.44 a 93.87%, E<sub>V</sub> de 31.65 a 65.50 mgg<sub>ss</sub><sup>-1</sup> y R<sub>A</sub> de 56.70 a 75.66 mgg<sub>ss</sub><sup>-1</sup>. En lechos empacados (LE) se determinaron ΔE de 12.67 a 18.89, F<sub>T</sub> de 81.85 a 118.19 mgEAGg<sub>ss</sub><sup>-1</sup>, F<sub>L</sub> de 100.19 a 402.68 mgEQg<sub>ss</sub><sup>-1</sup>, C<sub>A</sub> de 91.55 a 93.80%, E<sub>V</sub> de 30.67 a 51.85 mgg<sub>ss</sub><sup>-1</sup> y R<sub>A</sub> de 77.42 a 92.94 mgg<sub>ss</sub><sup>-1</sup>. Las condiciones para una conservación aceptable de las características fisicoquímicas de la hoja de estevia fueron en lecho empacado a 50°C, 2ms<sup>-1</sup> y 1.5 kgm<sup>-2</sup>.

Dirigido por:  
Dr. Juan Rodríguez Ramírez

# Dehydration of stevia leaves (*Stevia rebaudiana* Bertoni) in a fluidized bed dryer and evaluation of quality parameters

Beatriz Noyola Altamirano

## ABSTRACT

Stevia leaves are a source of bioactive compounds, among which are the steviol glycosides that confer a high sweetening capacity and antioxidant compounds such as phenols and flavonoids, which give it therapeutic value. The commercial value of stevia dehydrated leaves is related to the content of glycosides and their appearance. The drying conditions of stevia affect its physical characteristics, the content of steviol glycosides and the antioxidant compounds present in the fresh leaf. The present work of investigation approaches the effect in the physicochemical characteristics of the dehydration of stevia in a drier of fluidized bed. The effect of temperature drying conditions (40, 50 and 60 ° C), air velocity (2 and 3.5 ms<sup>-1</sup>) and load density (1.5 and 3.0 kgm<sup>-2</sup>) in a general 3X2X2 complete factorial design was analyzed. They were evaluated color parameters, the concentration of stevioside (EV), rebaudioside A (RA), total phenols (FT), flavonoids (FL) and antioxidant capacity (CA) in packed bed and not packed leaves. The drying times ranged between 24 and 160 minutes. The results indicate variability according to the type of bed used during the process. In unpacked beds (LNE), the results indicated an  $\Delta E$  of 3.47 to 11.54, FT of 40.90-73.82 mgEAG<sub>gss</sub><sup>-1</sup>, FL of 43.00-386.34 mgEQg<sub>ss</sub><sup>-1</sup>, CA of 65.44 to 93.87%, Ev of 31.65 to 65.50 mgg<sub>ss</sub><sup>-1</sup> and RA from 56.70 to 75.66 mgg<sub>ss</sub><sup>-1</sup>. In packed beds (LE) were determined  $\Delta E$  from 12.67 to 18.89, FT from 81.85 to 118.19 mgEAG<sub>gss</sub><sup>-1</sup>, FL from 100.19 to 402.68 mgEQg<sub>ss</sub><sup>-1</sup>, CA from 91.55 to 93.80%, Ev from 30.67 to 51.85 mgg<sub>ss</sub><sup>-1</sup> and RA from 77.42 to 92.94 mgg<sub>ss</sub><sup>-1</sup>. The conditions for an acceptable conservation of the physicochemical characteristics of the stevia leaf were in packed bed at 50 ° C, 2ms<sup>-1</sup> and 1.5 kgm<sup>-2</sup>.

Directed by:

Dr. Juan Rodríguez Ramírez

## **DEDICATORIA**

A mi papá, mamá, herman@s, esposo e hij@s por su amor, apoyo constante y con quienes comparto el día a día.

## **AGRADECIMIENTOS**

A todos aquellos que formaron parte de mis estudios de maestría en el CIIDIR-IPN-Oaxaca: maestr@s, compañer@s, amig@s, administrativ@s.

Al Dr. Juan Rodríguez Ramírez, por su acertado e invaluable apoyo y consejos durante el desarrollo de mi trabajo de investigación.

A mi comité tutorial, por apoyarme con sus observaciones y consejos a mejorar las distintas fases de mi trabajo de investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada durante mis estudios de posgrado.

Al Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI) por la beca otorgada durante los períodos: Julio-Diciembre 2016 y Enero-Junio 2017.

# INDICE

**Lista de Figuras**

**Lista de tablas**

**Abreviaturas**

**Simbología**

## ***Capítulo 1. Planteamiento de la investigación***

<b>1.1</b>	<b>Introducción</b>	<b>1</b>
<b>1.2</b>	<b>Planteamiento del problema</b>	<b>2</b>
<b>1.3</b>	<b>Antecedentes</b>	<b>3</b>
<b>1.4</b>	<b>Justificación</b>	<b>7</b>
<b>1.5</b>	<b>Objetivos</b>	<b>8</b>
<b>1.6</b>	<b>Hipótesis</b>	<b>8</b>

## ***Capítulo 2. Marco teórico y conceptual***

<b>2.1</b>	<b>Generalidades de la planta de estevia</b>	<b>9</b>
2.1.1.	Aspectos bioquímicos y nutricionales de la estevia	11
<b>2.2</b>	<b>Generalidades del proceso de secado</b>	<b>12</b>
2.2.1	Secado por aire caliente	14
2.2.2.	Etapas del proceso de secado	16
2.2.3.	Mecanismos básicos de transferencia de calor	17
<b>2.3</b>	<b>Fluidización</b>	<b>18</b>
2.3.2	Descripción de un lecho fluidizado	19
2.3.3	Clasificación de las partículas	20
2.3.4	Regímenes de fluidización	21
2.3.5	Fases de fluidización	22
2.3.6	Aplicaciones del secado por lecho fluidizado	24
<b>2.4</b>	<b>Caracterización física de partículas</b>	<b>24</b>

<b>2.5. Aspectos de calidad relacionados con el proceso de secado</b>	<b>29</b>
2.5.1 Color	30
2.5.2. Compuestos antioxidantes	33
2.4.3. Glucósidos de esteviol	38
<b>Capítulo 3. Metodología</b>	
<b>3.1 Generalidades</b>	<b>40</b>
<b>3.2 Materiales</b>	<b>41</b>
<b>3.3 Caracterización física de hojas</b>	<b>42</b>
<b>3.4 Caracterización de lecho de hojas</b>	<b>44</b>
<b>3.5 Deshidratación en secador de lecho fluidizado</b>	<b>44</b>
<b>3.6. Cuantificación de compuestos antioxidantes</b>	<b>48</b>
<b>3.7. Cuantificación de glucósidos de esteviol</b>	<b>50</b>
<b>3.8 Diseño experimental y análisis de datos</b>	<b>50</b>
<b>Capítulo 4. Resultados</b>	
<b>4.1 Caracterización hojas y lecho de hoja de estevia</b>	<b>52</b>
4.1.1 Caracterización de la hoja	52
4.1.2. Caracterización de lecho de hojas de estevia	59
<b>4.2. Secado de hojas de estevia</b>	<b>60</b>
4.2.1. Curvas de secado	60
4.2.2. Tiempos de secado	62
4.2.3. Curvas de velocidad de secado	66
<b>4.3 Compuestos antioxidantes</b>	<b>73</b>
<b>4.4. Glucósidos de esteviol</b>	<b>79</b>
<b>Capítulo 5. Conclusiones</b>	<b>85</b>
<b>Recomendaciones</b>	<b>86</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>87</b>
<b>Anexos</b>	<b>92</b>



## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Hojas de la planta <i>Stevia rebaudiana</i>	10
<b>Figura 2.</b> Curva de secado típica.	16
<b>Figura 3.</b> Secador de lecho fluidizado (Miranda M. 2014)	19
<b>Figura 4.</b> Clasificación de las partículas de acuerdo a Geldart, 1973.	20
<b>Figura 5.</b> Regímenes de fluidización, Kunni y Levenspiel, 1991.	22
<b>Figura 6.</b> Partículas regulares e irregulares	25
<b>Figura 7.</b> Esfera circunscripta en un elipsoide	26
<b>Figura 8.</b> Estructuras de dipertenos dulces aislados de Stevia.	38
<b>Figura 9.</b> Material de estevia previo a proceso	41
<b>Figura 10.</b> Hojas de estevia acondicionadas para el proceso de secado.	42
<b>Figura 11.</b> Secador de lecho fluidizado	45
<b>Figura 12.</b> Lecho no empacado de hoja de estevia	46
<b>Figura 13.</b> Lecho empacado de 1.5 kgm <sup>-2</sup> (A) y 3.0 kgm <sup>-2</sup> (B)	47
<b>Figura 14.</b> Lecho empacado de 1.5kgm <sup>-2</sup> (A) y lecho empacado de 3.0 kgm <sup>-2</sup> (B)	47
<b>Figura 15.</b> Escaneo de hojas de estevia para cálculo de dimensiones	53
<b>Figura 16.</b> Efectos significativos coordenadas de color (LNE)	56
<b>Figura 17.</b> Efectos significativos coordenadas de color (LE)	57
<b>Figura 18.</b> Lecho no empacado de hoja de estevia a 2 ms <sup>-1</sup>	59
<b>Figura 19.</b> Curvas experimentales de secado de hojas de estevia (LNE)	61
<b>Figura 20.</b> Curvas experimentales de secado de hojas (LE)	62
<b>Figura 21.</b> Efectos principales tiempo de secado (LNE)	63
<b>Figura 22.</b> Efectos principales (A) e interacciones (B) tiempo de secado (LE)	65
<b>Figura 23.</b> Comparativo de tiempos de secado (LNE, LE)	65
<b>Figura 24.</b> Velocidad de secado de hoja de estevia a 40°C (LNE)	67

<b>Figura 25.</b> Velocidad de secado de hoja de estevia a 50°C (LNE)	68
<b>Figura 26.</b> Velocidad de secado de hoja de estevia a 60°C (LNE)	69
<b>Figura 27.</b> Velocidad de secado a 40°C (LE)	70
<b>Figura 28.</b> Velocidad de secado a 50°C (LE)	71
<b>Figura 29.</b> Velocidad de secado a 60°C (LE)	72
<b>Figura 30.</b> Efectos principales e interacciones para fenoles totales (LNE)	75
<b>Figura 31.</b> Interacciones para fenoles totales (LE)	75
<b>Figura 32.</b> Efectos principales para flavonoides totales (LNE)	77
<b>Figura 33.</b> Efectos principales sobre flavonoides totales (LE)	77
<b>Figura 34.</b> Efectos principales para capacidad antioxidante (LNE)	78
<b>Figura 35.</b> Efectos principales (A) e interacciones (B) DPPH· (LE)	79
<b>Figura 36.</b> Efectos principales e interacciones para $E_V$ (LNE)	81
<b>Figura 37.</b> Efectos principales e interacciones para $E_V$ (LE)	82
<b>Figura 38.</b> Efectos principales e interacciones para $R_A$ (LNE)	83
<b>Figura 39.</b> Efectos principales e interacciones para RA (LE)	84

### **Lista de tablas**

<b>Tabla 1.</b> Análisis proximal de hojas de estevia deshidratada (g/100 g <sub>ss</sub> )	11
<b>Tabla 2.</b> Cantidad de glucósidos dulces en hojas de estevia (g/100 g <sub>ss</sub> )	11
<b>Tabla 3.</b> Diseño factorial completo general 3x2x2	51
<b>Tabla 4.</b> Porcentaje de humedad en tratamientos de secado	52
<b>Tabla 5.</b> Dimensiones y características dimensionales de la hoja de estevia	53
<b>Tabla 6.</b> Valores coordenadas de color por tipo de tratamiento de secado (LNE)	54
<b>Tabla 7.</b> Valores parámetros de color por tipo de tratamiento de secado (LE)	57
<b>Tabla 8.</b> Densidad a granel hoja de estevia	59
<b>Tabla 9.</b> Tiempo de secado por lecho fluidizado no empacado de hoja de estevia	63

<b>Tabla 10.</b> Tiempo de secado por lecho fluidizado empacado de hoja de estevia	64
<b>Tabla 11.</b> Efecto del secado fluidizado en lecho no empacado sobre compuestos antioxidantes de hoja de estevia	73
<b>Tabla 12.</b> Compuestos antioxidantes presentes en la hoja de estevia fresca y deshidratada en lecho empacado	74
<b>Tabla 13.</b> Contenido de glucósidos de esteviol en hoja de estevia (LNE)	80
<b>Tabla 14.</b> Contenido de glucósidos de esteviol en hoja de estevia (LE)	80

## Abreviaturas

ANOVA	Análisis de varianza
T	Temperatura
VA	Velocidad del aire
DC	Densidad de carga
LNE	Lecho no empacado
LE	Lecho empacado
F <sub>T</sub>	Fenoles totales
F <sub>L</sub>	Flavonoides totales
C <sub>A</sub>	Capacidad antioxidante
R <sub>A</sub>	Rebaudiósido A
E <sub>V</sub>	Esteviósido
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EQ	Equivalentes de quercetina
I.O	Indice de oscurecimiento
t	Tiempo
ss	Sólido seco
s	Segundos
min	Minutos

## Simbología

$X/X_0$

Contenido de humedad

Adimensional

$dx/dt$

Velocidad de secado

$\text{kg}_{\text{ag}} \text{kg}_{\text{ss}}^{-1}$

# Capítulo 1. Planteamiento de la investigación

## 1.1 Introducción

En las últimas décadas la sociedad ha ido cambiando sus hábitos alimenticios, reemplazando algunos alimentos ricos en grasas y carbohidratos por otros con menor contenido de los mismos. Debido a esta tendencia por parte de los consumidores, la industria alimentaria ha realizado un esfuerzo por ofrecer un amplio conjunto de edulcorantes, naturales o artificiales, de características organolépticas similares a las de los azúcares pero con un aporte calórico inferior. En este contexto aparecen los glucósidos procedentes de la *Stevia rebaudiana* Bertoni como una alternativa al uso de azúcar y de edulcorantes artificiales, debido a que además de ser acalóricos son también naturales.

La estevia es una planta perenne originaria de Paraguay perteneciente a la familia Asteraceae (Goyal *et al.* 2010). La principal característica de la hoja de estevia es su elevado sabor dulce, entre 250-300 veces superior al de la sacarosa, consecuencia de la presencia de glucósidos de esteviol (Ghanta *et al.* 2007). El uso más común de la hoja de estevia está dirigido a la extracción y purificación de los esteviósidos con el fin de obtener un edulcorante natural acalórico, aunque la hoja de la planta produce metabolitos secundarios que le dan propiedades terapéuticas, dentro de las cuales se encuentran propiedades antiinflamatorias (Jayaraman *et al.* 2008), diuréticas (Kochikyan *et al.* 2006), antihipertensas (Chan *et al.* 2000) antihiperlipemicas y antitumorales (Chen *et al.* 2006), además de antioxidantes en la reducción de radicales libres que reducen el daño a tejidos (Shukla *et al.* 2012)., características que le dan un carácter de alimento funcional.

En este contexto, la calidad de este tipo de plantas, depende en gran medida del crecimiento, cosecha, condiciones de procesamiento y la aplicación de adecuadas prácticas de manufactura, entre otras consideraciones. Después de un proceso de cosecha óptimo, los procesos de lavado, secado, procesamiento inicial y almacenamiento son los puntos críticos para asegurar su calidad (Houghton y Mukherjee, 2009).

Este trabajo de investigación, aborda el proceso de secado como parte indispensable para asegurar la calidad de la hoja de estevia, realizando la evaluación de parámetros de calidad, tales como color, presencia de glucósidos de esteviol y compuestos antioxidantes.

El tipo de secado que se estudia para el caso, es el de lecho fluidizado, cuya técnica permite eliminar la humedad del material procesado mediante el paso de aire caliente ascendente a través de un lecho en el que se encuentra depositado el sólido, en el cual la velocidad y la temperatura del aire, permitirán una rápida transferencia de masa y calor, disminuyendo de esta manera los tiempos de proceso, permitiendo que éste método de secado sea una alternativa viable y económica para productores de este cultivo, toda vez que no existen datos disponibles del proceso de secado en hoja de estevia.

## **1.2 Planteamiento del problema**

El secado, como parte del proceso integral en el manejo de alimentos, causa cambios en las propiedades de los mismos, incluyendo degradación de color, pérdida de aroma, cambios de textura, valores nutritivos y cambios en apariencia física y forma. Altas temperaturas de secado, reducen el tiempo de secado, pero pueden resultar en productos de baja calidad, daño por calor en la superficie y alto consumo de energía. Por otro lado, un secado suave con bajas temperaturas puede mejorar la calidad del producto, sin embargo la velocidad de secado decrece, así el período de secado se prolonga (Kumar *et al.* 2014).

Uno de los procesos de secado utilizados en la industria de alimentos es el secado por lecho fluidizado, cuya técnica se basa en la eliminación de humedad de un sólido mediante el paso de un gas o líquido a través de un lecho en el cual se encuentra depositado el sólido. La velocidad de fluido debe ser tal, que los sólidos “floten” en él, condición que presenta una rápida transferencia de masa y calor, lo que hace que este tipo de secado sea rápido a comparación de otros tipos de secado con aire caliente.

En este contexto, la problemática por abordar es la falta de datos y/o condiciones para llevar a cabo el secado de hoja de estevia en lecho fluidizado y que tenga como finalidad la conservación de sus características de calidad, expresadas en parámetros de color, contenido de glucósidos de esteviol y compuestos antioxidantes.

### **1.3 Antecedentes**

El secado de la hoja de estevia por lecho fluidizado ha sido poco estudiado, dado que sólo se han encontrado algunas referencias que no indican condiciones, tiempos de secado, variables estudiadas o algún tipo de datos que sirvan de referencia en la presente investigación.

Chua *et al.* (2003) proponen al secador de lecho fluidizado como un equipo de bajo costo, mantenimiento, fácil de implementar e ideal para países en desarrollo, con las siguientes ventajas:

- Excelente contacto entre partículas y el aire de secado, condición que incrementa la transferencia de masa y energía.
- Uso de bajas temperaturas, lo que ayuda a minimizar la degradación de la calidad relacionada con la temperatura.
- Secado uniforme
- Cinética de secado mejorada que da como resultado tiempos de secado más cortos

Dwivedy *et al.* (2012) evaluaron el efecto del secado de lecho fluidizado sobre las características de calidad de hojas de orégano (*Coleus aromaticus*). Trabajaron condiciones de 50 a 80°C, 14.8 a 16.2 ms<sup>-1</sup> y 50 gramos de carga. Los tiempos de secado oscilaron entre 150 a 270 minutos. Existió decremento en cuantificación de fenoles totales y actividad antioxidante con respecto a otros métodos de secado, situación que explican por las condiciones de secado trabajadas, principalmente por las altas velocidades de aire aplicadas al material.

En cuanto a calidad se refiere, no existen normas o especificaciones para el procesamiento y/o consumo de la hoja seca de estevia, sin embargo algunos de los



parámetros de calidad que pudieran ser los más importantes en la industria agroalimentaria se dividen en dos grupos:

1) Concentración de edulcorantes: cantidad de glucósidos de esteviol presentes en la hoja de estevia, dentro de los más representativos se encuentran el Esteviósido y el Rebaudósido A.

2) Presencia de compuestos bioactivos: compuestos fenólicos tales como fenoles totales, flavonoides, capacidad antioxidante, entre otros.

Asimismo, cabe señalar que otros parámetros tales como color y apariencia de la hoja de estevia, son importantes para el consumidor final del producto, aunado a que pudiesen estar relacionados con la presencia tanto de edulcorantes como de compuestos bioactivos.

En este contexto, los requerimientos que a continuación se presentan para el secado de plantas aromáticas y medicinales, pueden ser una guía para el secado de la hoja de estevia.

- Reducción mínima de calidad en términos de ingredientes activos, color, sabor y aroma.
- Cuenta microbiana no debe rebasar los límites permitidos. Aditivos químicos no deben ser usados (Rocha *et al.* 2011)

El secado natural es el método más simple para secar. Este es usualmente llevado a cabo para plantas que se encuentran en espacios fuera de la luz directa bien ventilados. Las hierbas son secadas ya sea en capas delgadas en bandejas o en ramas.

Los métodos tradicionales de secado, como es el secado en la sombra o en el sol, tienen varios inconvenientes relacionados a la gran capacidad de las cosechadoras mecánicas y el logro de los estándares de alta calidad requeridos por las plantas medicinales. Altas temperaturas ambientales y alta humedad relativa durante la temporada de cosecha promueven el desarrollo de insectos y hongos. Además una intensa radiación solar causa efectos adversos en la calidad, causando pérdida de aceites esenciales y cambios de color en plantas secas. Así, el secado tradicional

natural al sol o a la sombra no reúne los estándares requeridos que los consumidores demandan.

Para superar estos problemas de secado, el secado convectivo es ampliamente usado (Rocha *et al.* 2011).

Periche *et al.* (2015), estudiaron la influencia de algunos métodos de secado en los glucósidos de esteviol y antioxidantes de hojas de *Stevia rebaudiana*. Aplicaron diferentes condiciones de secado, por aire caliente a 100°C y 180°C, liofilización y secado la sombra. Fueron evaluados los efectos en cuatro glucósidos de esteviol (esteviosido, dulcosido A, rebaudiosido A y rebaudiosido C) y estudiaron tres parámetros antioxidantes (fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante) Encontraron que el esteviósido, que se encuentra en mayor cantidad en hojas frescas, sufrió una importante reducción en todos los casos, siendo el secado a la sombra el menos agresivo. En cuanto a los parámetros antioxidantes, el secado con aire caliente a 180°C fue el más adecuado, dado que mostró un incremento substancial en todos ellos (76.8 mgEAGg<sup>-1</sup>, 45.1 mgECTg<sup>-1</sup> y 126 mgETrg<sup>-1</sup>), respecto a los valores presentes en hojas frescas (44.4 mgEAGg<sup>-1</sup>, 2.5 mgECTg<sup>-1</sup> y 52.9 mgETrg<sup>-1</sup>) y concluyeron que el método ideal para el secado de hojas de estevia depende del uso final que se le dé, como endulzante o como antioxidante. Aunque, si algún tratamiento tuviera que ser escogido, el secado por aire caliente a 180°C sería el más recomendable.

Ahora bien, Sledz en 2013, evalúa algunas propiedades químicas y fisicoquímicas de material vegetal conocido (orégano, menta, perejil, albahaca y rúcula) después de ser sometidas a un secado combinado convectivo-microondas. Evaluaron contenido de polifenoles y color, utilizando 40°C de temperatura, a una velocidad del aire de 0.8 ms<sup>-1</sup>, 300 W y una densidad de carga de 0.5 kgm<sup>-2</sup>. Durante el proceso de secado no se observó un período de velocidad constante, asimismo, encontraron una degradación de compuestos fenólicos en todo el material vegetal, como resultado del secado combinado convectivo-microondas, así como un cambio de color. La degradación de polifenoles como resultado del secado combinado depende del tipo de material vegetal (familia taxonómica), dado que las que más

sufrieron esta degradación fueron la menta, el orégano y la albahaca (Lamiaceae). En cambio, en la rúcula y el perejil (Brassicaceae y Apiaceae), los contenidos de polifenoles, no fueron influenciados significativamente por el tipo de secado. Con respecto a la evaluación de color, se observaron cambios de color después del secado en todas las muestras. Generalmente, la mayoría de las hojas se oscurecieron y la más sensible al cambio de color ( $\Delta E$ ) fue el orégano con un  $\Delta E$  de 11.30. Para todo el material vegetal, los valores de  $\Delta E$  fueron más altos que dos, lo que significa que el cambio en la apariencia del material vegetal durante el secado es detectado por el ojo humano. Además, se observó una correlación significativa entre valores de degradación de polifenoles y valores de cambio de color total, por lo tanto los compuestos fenólicos presentes, fueron los principales responsables de los cambios de color en hojas de perejil. Concluyen que todas las propiedades analizadas fueron dependientes del tipo de material vegetal y consecuentemente de su familia taxonómica. Generalmente, la retención de polifenoles y los cambios bajos de color se observaron en las Apiáceas (perejil). Las Lamiáceas se caracterizaron por la más alta degradación de compuestos fenólicos y cambios de color total.

Lemus-Mondaca *et al.* (2012), referencia los valores de capacidad antioxidante (% de inhibición del DPPH) de los extractos metanólicos de la hoja de estevia obtenidos por diversos investigadores, cuyos resultados presentan diferencias entre sí, Tadhani *et al.* (2007) reporta un 33.17%, mientras que Ahmad *et al.* (2010) indica un valor de 77.67%. De igual forma, Muanda *et al.* (2010) reporta un 96.91% de inhibición en extractos metanólicos/acuosos.

Rocha *et al.* (2011), realizaron un estudio de la influencia del proceso de secado en la calidad de material vegetal de diversas especies. Dentro de sus conclusiones reporta que el método de secado, la velocidad y temperatura del aire de secado tienen influencia en la cantidad y calidad de los ingredientes activos presentes en plantas medicinales y aromáticas. De igual forma, la elección de una óptima temperatura es un criterio central tanto económico como ecológico. Recomienda temperaturas de entre 50 y 60°C para el secado de un gran número de material vegetal de diversas especies.

En la bibliografía disponible, no se encontraron trabajos en los que se haya estudiado el secado de estevia por lecho fluidizado, ni tampoco otro tipo de secado que incluyera las tres variables en los distintos niveles de tratamiento propuestos. En este sentido, la presente investigación plantea la combinación de tres variables de proceso (temperatura, velocidad del aire y densidad de carga), a diferentes niveles (40, 50 y 60°C; 2.0 y 3.5 ms<sup>-1</sup>; 1.5 y 3.0 kgm<sup>-2</sup>, respectivamente), con la finalidad de estudiar la deshidratación de hojas de estevia en un secador de lecho fluidizado y evaluar sus propiedades fisicoquímicas.

#### **1.4 Justificación**

Ante el aumento de enfermedades crónico-degenerativas tales como hipertensión, obesidad y diabetes, derivado del consumo excesivo de alimentos elaborados con azúcar, resulta necesario incentivar el consumo de edulcorantes naturales alternativos como la estevia, debido a su composición rica en glucósidos de esteviol bajos en calorías y que a su vez, ha demostrado poseer compuestos bioactivos en beneficio de la salud humana.

En este contexto y dado que la operación de secado es una de las etapas más críticas en el procesamiento de plantas con presencia de compuestos bioactivos, resulta importante conocer las condiciones óptimas del proceso, con la finalidad de evitar posibles cambios en sus propiedades físicas, tales como decoloración, cambios en textura, valores nutritivos y terapéuticos, entre otras, afectando con ello la calidad del producto final.

El tipo de secado que se estudia para el caso, es el de lecho fluidizado, cuya técnica permite eliminar la humedad del material procesado mediante el paso de aire caliente ascendente a través de un lecho en el que se encuentra depositado el sólido, en el cual la velocidad y la temperatura del aire, permitirán una rápida transferencia de masa y calor, disminuyendo de esta manera los tiempos de proceso, permitiendo que éste método de secado sea una alternativa viable y

económica para productores de este cultivo, toda vez que no existen datos disponibles del proceso de secado en hoja de estevia.

## **1.5 Objetivos**

### ***Objetivo general***

Estudiar la deshidratación de hojas de estevia en un secador de lecho fluidizado y evaluar el efecto de las condiciones de secado sobre sus propiedades fisicoquímicas.

### ***Objetivos específicos***

- 1) Analizar el proceso de secado de hojas de estevia en lecho empacado y no empacado en un secador de lecho fluidizado
- 2) Implementar los métodos de análisis para la evaluación de sus propiedades físicoquímicas
- 3) Evaluar el efecto de la temperatura, velocidad del aire y densidad de carga del secado por lecho fluidizado sobre el cambio de color, contenido de fenoles totales, flavonoides, capacidad antioxidante y glucósidos de esteviol de la hoja fresca de estevia, con la finalidad de determinar las condiciones de secado que permitan su conservación.

## **1.6 Hipótesis**

La interacción de variables (temperatura, velocidad de aire y densidad de carga) en el secado de hoja de estevia en lecho fluidizado, está significativamente correlacionada con sus características de calidad expresadas en parámetros de color, contenido de glucósidos de esteviol y compuestos antioxidantes.

## Capítulo 2. Marco teórico y conceptual

### 2.1 Generalidades de la planta de estevia

Nombre científico: *Stevia rebaudiana* Bertoni

Nombres vulgares: La estevia se conoce popularmente de diversas maneras en castellano: se denomina como hoja dulce, hoja de caramelo, hoja de miel, dulce hierba o estevia (Kinghorn, 2002).

La estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) es una especie del género *Stevia* de la familia de las Asteráceas nativa de la región tropical de Sudamérica; se encuentra aún en estado silvestre en el Paraguay, especialmente en el Departamento de Amambay y en la provincia argentina de Misiones, pero desde hace varias décadas se cultiva por sus propiedades edulcorantes y su ínfimo contenido calórico. El primer informe de cultivo comercial en Paraguay fue en 1964. Desde entonces, ha sido introducida como un cultivo en un gran número de países como Brasil, Corea, México, Estados Unidos, Indonesia, Tanzania y Canadá desde 1990. En la actualidad su producción está centrada en China y el principal mercado está en Japón (Martínez, 2015).

La estevia es una planta perenne que produce una variedad de edulcorantes de alto-potencial bajos en calorías llamados glucósidos de esteviol, estos se encuentran en el tejido de la hoja y en algunas partes a lo largo del tallo. Los glucósidos de esteviol que se encuentran principalmente en las hojas, son el esteviósido (4-20%) cuyo contenido depende del cultivar y de las condiciones de crecimiento, seguido del rebaudiósido A ( $\pm 3\%$ ), rebaudiósido C ( $\pm 1.5\%$ ), dulcósido ( $\pm 0.5\%$ ), (Lemus-Mondaca, 2012). Los glucósidos de esteviol son ampliamente utilizados en muchos alimentos, en varios países incluido Japón, Brasil y China.



**Figura 1.** Hojas de la planta *Stevia rebaudiana*

De acuerdo a Sharma *et al.* (2006), las hojas frescas de estevia contienen una gran cantidad de agua (80 a 85%). Aunado a los componentes mencionados (glucósidos de esteviol), las hojas contienen ácido ascórbico,  $\beta$ -caroteno, cromo, cobalto, magnesio, hierro, potasio, fósforo, riboflavina, tiamina, estano, zinc, etc. Entre los productos químicos encontrados están la apigenina, austroinilina, avicularin,  $\beta$ -sitoesterol, ácido caféico, campesterol, cariofileno, centaureidin, ácido clorogénico, clorofila, kaempferol, luteolina, quercetina, estigmasterol, entre otras, que le confieren sus propiedades terapéuticas.

Es una planta considerada como medicinal, pues varios estudios demuestran que puede tener efectos beneficiosos sobre la diabetes tipo II (Misra, *et al.* 2011), ya que posee glucósidos con propiedades edulcorantes sin calorías. Su poder de edulcoración es 30 veces mayor que el azúcar y el extracto alcanza de 200 a 300 veces más. Las hojas tienen el mayor contenido de esteviosido y rebaudiosido A, que son sus principales principios activos (Martínez, 2015)

### 2.1.1. Aspectos bioquímicos y nutricionales de la estevia

Lemus-Mondaca *et al.* (2012) en su artículo de revisión, presenta los resultados de investigación de varios autores, quienes han trabajado con aspectos bioquímicos y funcionales de la planta de estevia, mismos que a continuación se detallan:

**Tabla 1.** Análisis proximal de hojas de estevia deshidratada (g/100 g<sub>ss</sub><sup>-1</sup>)

Componente	Referencias						
	Mishra <i>et al.</i> (2010)	Goyal <i>et al.</i> (2010)	Serio (2010)	Savita <i>et al.</i> (2004)	Abou-Arab <i>et al.</i> (2010)	Tadhani y Subhash (2006a)	Kaushik <i>et al.</i> (2010)
Contenido de Humedad	7	4.65	ND	7	5.37	ND	7.7
Proteínas	10	11.2	11.2	9.8	11.4	20.4	12
Grasas	3	1.9	5.6	2.5	3.73	4.34	2.7
Cenizas	11	6.3	ND	10.5	7.41	13.1	8.4
Carbohidratos	52	ND	53	52	61.9	35.2	ND
Fibra cruda	18	15.2	15	18.5	15.5	ND	ND

ND, no determinado

**Tabla 2.** Cantidad de glucósidos dulces en hojas de estevia (g/100 g<sub>ss</sub><sup>-1</sup>)

Glucósidos (%)	Referencias		
	Gardana <i>et al.</i> (2010)	Goyal <i>et al.</i> (2010)	Kinghorn y Soejarto (1985)
Esteviosido	5.8±1.3	9.1	5-10
Rebaudiósido A	1.8±1.2	3.8	2-4
Rebaudiósido C	1.3±1.4	0.6	1-2
Dulcósido A	ND	0.3	0.4-0.7

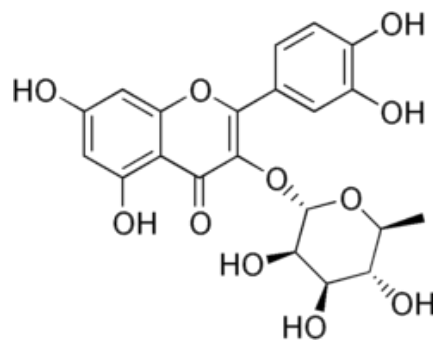
ND, no determinado

Los órganos de la planta de estevia presentan diferentes cantidades de glucósidos de esteviol, mismos que disminuyen en el siguiente orden: hojas, flores, tallo, semillas y raíces. Las raíces son el único órgano que no contiene esteviosido. La dulzura en las hojas es dos veces más alta que en la inflorescencia (Dwivedi, 1999). El hecho de que el contenido más alto se encuentre en las hojas sugiere que ellas

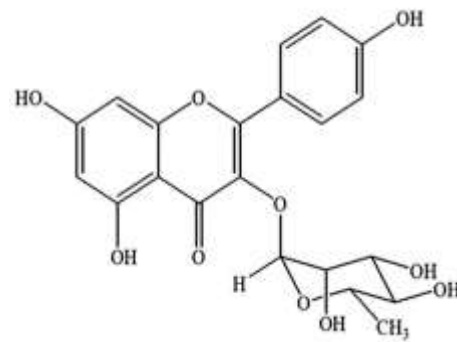


sirven como el tejido principal en la síntesis y acumulación primaria de compuestos de esteviósido.

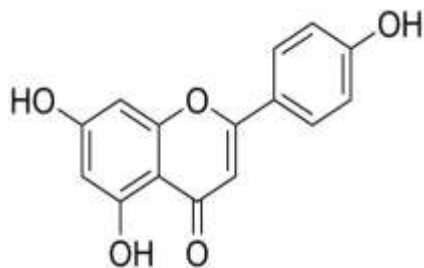
Ghanta *et al.* (2007), aisló exitosamente seis flavonoides de la hoja de estevia: Quercitrina, Quercentina-3-O-arabinoside, Kaempferol-3-O-rhamnoside, Apigenina, Apigenina-4-O-glucósido y Luteolina, de los cuales es conocido son poderosos antioxidantes, debido a su estructura química.



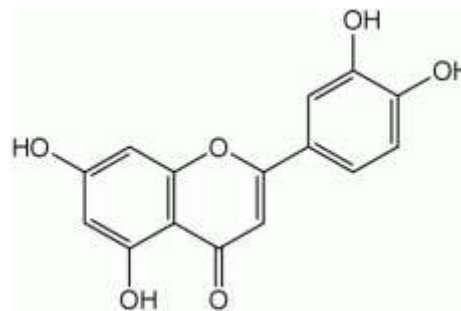
Quercitrina



Kaempferol-3-O-rhamnosido



Apigenina



Luteolina

## 2.2 Generalidades del proceso de secado

El secado o deshidratación de materiales biológicos (en especial los alimentos), se usa también como técnica de preservación. Los microorganismos que provocan la descomposición de los alimentos no pueden crecer y multiplicarse en ausencia de agua. Además, muchas de las enzimas que causan los cambios en alimentos y otros

materiales biológicos no pueden funcionar sin agua y muchos microorganismos dejan de ser activos cuando el contenido de agua se reduce por debajo de 10% en peso.

La operación de secado es definido como un proceso de remoción de humedad debido a la transferencia simultánea de masa y energía. La transferencia de calor del ambiente circundante evapora la humedad superficial. La humedad puede ser transportada a la superficie del producto y luego evaporada, o evaporada internamente en una interfase de vapor líquido y después transportada como vapor a la superficie (Okos *et al.* 1992).

El término secado se refiere básicamente a la operación que se encarga de eliminar o remover pequeñas cantidades de sustancias volátiles (humedad libre) contenidas dentro de un sólido, esto hasta llegar a una humedad en equilibrio, es decir a la porción de humedad de sólidos que ya no puede ser separada por el aire que entra, debido a la humedad de éste. Por otra parte, esta humedad que se volatiliza puede estar presente dentro del sólido de dos formas, como humedad ligada y no ligada. La humedad ligada es aquella que se encuentra atrapada en la microestructura del sólido y su evaporación es difícil debido a que ejerce una presión de vapor menor que la del líquido puro, a la misma temperatura.

Esto es más claro en sustancias como las orgánicas en las que la humedad está física y químicamente combinada o que se encuentra dentro de las paredes de la estructura de la sustancia o en finos capilares. Las sustancias que contienen agua ligada con frecuencia se llaman sustancias higroscópicas. Por el contrario, la humedad no ligada es la que se encuentra en exceso; es decir, sobre la superficie de la sustancia y su eliminación es más sencilla. La distinción entre agua ligada y no ligada depende del material, mientras que la distinción entre la humedad libre y la de equilibrio depende de las condiciones de secado (Geankoplis, 2006).

El contenido de humedad de un sólido o solución ya sea la humedad libre o humedad en equilibrio, generalmente se describen en función del porcentaje en peso de humedad; a menos que se indique otra cosa esta expresión es conocida como: Contenido de humedad en base húmeda,  $\text{kg de humedad}/(\text{kg ss} + \text{kg de}$

humedad o en otro caso puede estar expresado como contenido de humedad en base seca la cual se expresa como [kg humedad/kg sólido seco] (Geankoplis, 2006).

El propósito del secado de productos alimenticios es permitir períodos largos de almacenamiento con requerimientos de empaque mínimos y reducción de peso para su transporte de un lugar a otro. La calidad de un producto alimenticio y su costo están muy influenciados por la operación de secado. La calidad de un producto alimenticio es juzgado por la degradación física y bioquímica ocurrida durante el proceso de deshidratación. El tiempo de secado, la temperatura y la actividad de agua tiene influencia sobre la calidad del producto final. Bajas temperaturas generalmente tienen una influencia positiva en la calidad pero requieren largos tiempos de proceso (Okos, *et al.* 1992).

En algunos casos, el exceso de humedad contenida por los materiales puede eliminarse por métodos mecánicos (sedimentación, filtración, centrifugación), sin embargo, la eliminación más completa de la humedad se obtiene por evaporación, es decir, mediante el secado térmico, ya sea empleando una corriente de gas o sin la ayuda del mismo para extraer el vapor de agua. En muchas industrias, el secado suele ser la etapa final de los procesos antes de empaque y permite que muchos materiales, sean más adecuados para su manejo (Calva, 2007).

### **2.2.1 Secado por aire caliente**

El secado puede realizarse haciendo circular aire caliente sobre la superficie de un material húmedo, por lo que el flujo de aire caliente es el medio empleado para suministrar la energía que evapora la humedad del material y retira la humedad del sólido.

Ya que el proceso involucra la aplicación de calor y la remoción de humedad, el secado puede ser dividido en dos subprocesos que ocurren simultáneamente y que determinan la velocidad de la operación (Vaquiro, 2009): transferencia de calor desde el aire circundante para evaporar la humedad superficial; y transferencia de humedad del interior hacia la superficie del sólido y su posterior evaporación.

La transferencia de calor desde el medio ambiente circundante hacia el sólido puede ocurrir por convección, conducción, radiación o como resultado de una combinación de estos mecanismos. Tales mecanismos suministran calor a la superficie del objeto que está siendo secado, de forma tal que el calor luego se difunde dentro del sólido esencialmente por conducción. En algunos casos el calor es también suministrado de forma volumétrica mediante microondas o campos electromagnéticos de radio frecuencia.

La eliminación de agua en forma de vapor desde la superficie del material depende fundamentalmente de las condiciones externas de temperatura, humedad, velocidad y dirección del flujo de aire caliente, así como de la geometría del sólido. La evaporación es controlada por la difusión de vapor desde la superficie del sólido hacia el aire que lo circunda. El contacto entre el aire y el agua líquida contenida en la matriz sólida involucra fenómenos de transporte interfacial, donde tienen especial consideración las características higroscópicas del material, los coeficientes de transferencia por convección y las propiedades termodinámicas de la mezcla aire-vapor.

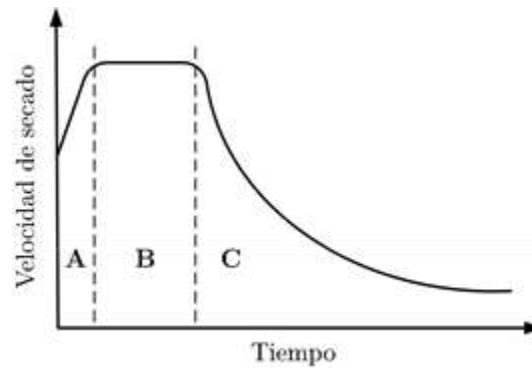
A medida que la humedad superficial se evapora, el transporte de humedad desde el interior hacia la superficie del sólido se desarrolla fundamentalmente a través de uno o varios de los siguientes mecanismos: difusión líquida (si el sólido se encuentra a una temperatura por debajo del punto de ebullición del líquido), difusión de vapor (si el líquido se evapora dentro del material) y diferencias de presión hidrostática (por tensión interna debido al encogimiento del material). Los mecanismos de transferencia de humedad interna pueden variar durante el secado ya que son función de la estructura física, temperatura y humedad del material (Rodríguez, 2013).

Cuando el movimiento de humedad interno controla el proceso, como es habitual en la obtención de productos con valores bajos de humedad final, se hace necesaria la utilización de tiempos de residencia largos y temperaturas altas. En este caso, variables externas como la velocidad y la temperatura del aire son menos

importantes en la transferencia de humedad que en la transferencia de calor (Rodríguez, 2013).

### 2.2.2. Etapas del proceso de secado

El comportamiento del proceso de secado puede ser caracterizado midiendo la pérdida de humedad en función del tiempo o del contenido de humedad promedio, construyendo de esta forma curvas de secado, que permiten distinguir los mecanismos de secado predominantes. Una representación típica de una curva de secado de un alimento se esquematiza en la Figura 1, en ella pueden distinguirse tres periodos de velocidad de secado (Rodríguez, 2013):



**Figura 2.** Curva de secado típica.

- Periodo de inducción o de velocidad de secado creciente (Figura 2.A): Durante este período el producto se calienta, aumentando la temperatura de la interfase y el material se adapta a las condiciones de operación.
- Periodo de velocidad de secado constante (Figura 2.B): Durante este periodo, el transporte de humedad desde el interior del material permite que la superficie permanezca saturada. La velocidad de secado está controlada por las condiciones externas que determinan la evaporación del agua y su

transferencia desde la superficie saturada del material hasta el aire de secado, por lo cual es independiente de la naturaleza del producto.

- Periodo de velocidad de secado decreciente (Figura 2.C): Cuando la superficie del sólido deja de estar saturada, la velocidad de secado irá disminuyendo con el tiempo hasta que el contenido de humedad del material se aproxime a su valor de equilibrio. En este periodo la velocidad del proceso depende principalmente de la estructura interna del sólido y de los mecanismos de migración de humedad.

### 2.2.3. Mecanismos básicos de transferencia de calor

La transferencia de calor puede verificarse por medio de uno o más de los tres mecanismos de transferencia:

- 1) **Conducción:** Por este mecanismo, el calor puede ser conducido a través de sólidos, líquidos y gases. La conducción se verifica mediante la transferencia de energía cinética entre moléculas adyacentes. En un gas las moléculas “más calientes”, que tienen más energía y movimiento, se encargan de impartir energía a moléculas colindantes que están a niveles energéticos más bajos. Este tipo de transferencia siempre está presente, en mayor o menor grado, en sólidos, líquidos y gases en los que existe un gradiente de temperatura. En la conducción, la energía también se transfiere por medio de electrones “libres”, un proceso muy importante en los sólidos metálicos.
- 2) **Convección:** La transferencia de calor por convección, implica el transporte de calor en un volumen y la mezcla de elementos macroscópicos de porciones calientes y frías de un gas o un líquido. Además, con frecuencia incluye también el intercambio de energía entre una superficie sólida y un fluido. Conviene aclarar que hay una diferencia entre la transferencia por convección forzada en la que se provoca el flujo de un fluido sobre una superficie sólida por medio de una bomba, un ventilador, u otro dispositivo mecánico, y la convección libre y natural, en la cual el fluido más caliente o

más frío que está en contacto con la superficie sólida causa una circulación debido a la diferencia de densidades que resulta del gradiente de temperaturas en el fluido.

**3) Radiación:** La radiación difiere de la conducción y convección en cuanto a que no requiere de un mecanismo para la transferencia. La radiación es la transferencia de energía a través del espacio por medio de ondas electromagnéticas, de manera similar a las ondas electromagnéticas que propagan y transfieren la luz. La transferencia radiante de calor se rige por las mismas leyes que dictan el comportamiento de la transferencia de luz. Los sólidos y los líquidos tienden a absorber la radiación que está siendo transferida a través de ellos, por lo que la radiación es más importante en la transferencia a través del espacio o de gases (Geankoplis, 2006).

### **2.3 Fluidización**

Uno de los métodos más utilizados para producir contacto entre sólidos y fluidos es el proceso de fluidización.

La fluidización se basa en el principio de suspensión de partículas, donde se hace pasar un flujo ascendente de fluido a través de un lecho de sólidos. Cada partícula es rodeada por el medio fluidizante (gas o líquido) lo cual favorece los mecanismos de transferencia.

Las aplicaciones industriales abarcan diversos campos, tales como la industria metalúrgica y la industria de alimentos, en donde se realizan procesos de secado, separaciones, clasificaciones, concentraciones, todos los cuales requieren el contacto entre el fluido y las partículas.

Lo más importante en la fluidización es el contacto de un sólido con un fluido. Cuando el flujo es fluido, en este caso aire, actúa sobre una columna de sólidos en forma granular se obtiene al mismo tiempo una expansión de ésta.

El flujo es directamente proporcional a la expansión del lecho o columna, lo cual produce que las partículas sólidas se suspendan, presentando características similares del fluido que las suspenden.

### 2.3.2 Descripción de un lecho fluidizado

El lecho fluidizado depende mucho del tipo de fluidización que se esté realizando y la aplicación que quiera tenerse, pero puede decirse que existen ciertos componentes que son bastante comunes en todos ellos. A continuación una breve descripción de algunos:

- a) Columna de fluidización: consiste en un tubo sobre el cual viajará el fluido que suspenderá las partículas.
- b) Sección uniformadora: se trata de un cono difusor que existe con el objeto de obtener un perfil de velocidad de aire de secado.
- c) Distribuidor: consiste en una placa con algunas perforaciones. Es uno de los componentes más importantes, ya que su diseño impacta directamente en la calidad de la fluidización.
- d) Sistema de suministro de fluido: consiste en un sistema de válvulas reguladoras de flujo, instrumentos medidores de flujo, calentadores y otros dispositivos con el objeto de proporcionar el fluido en las condiciones termodinámicas requeridas.
- f) Sistema de medición de temperatura.



**Figura 3.** Secador de lecho fluidizado (Miranda M. 2014).

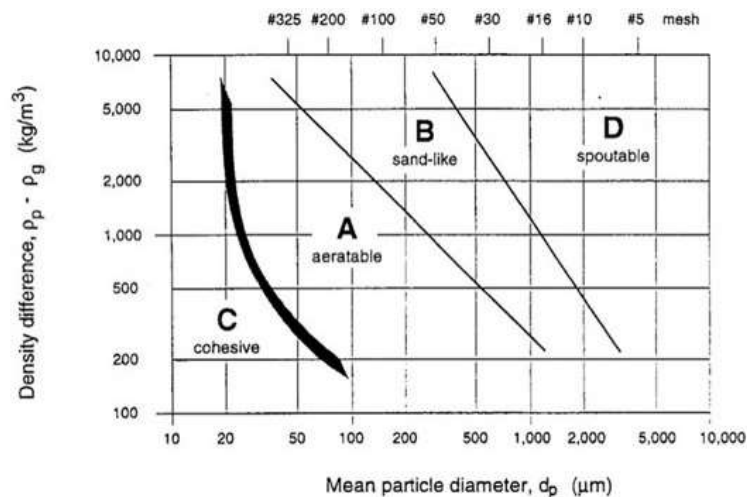


Es importante describir dos diferentes estados de un lecho: fijo y fluidizado. Se le llama lecho fijo cuando la diferencia de presión varía con respecto a la velocidad, esto es, en valores menores que la mínima de fluidización. En estas condiciones, la altura del lecho permanece constante debido a que las partículas no han sido aún suspendidas.

Cuando el fluido alcanza la velocidad mínima de fluidización, entonces su altura comienza a cambiar. El fenómeno de expansión es una característica de los lechos fluidizados.

### 2.3.3 Clasificación de las partículas

Las propiedades de las partículas impactan en la velocidad mínima de fluidización, por lo cual es importante formar ciertas clases de partículas para las cuales su comportamiento en el lecho fluidizado sea similar. De esta forma es posible extrapolar los resultados obtenidos con un tipo de partícula a otras partículas con características parecidas. Mediante la observación de la fluidización de diferentes partículas, Geldart en 1973, logró una clasificación, de menor a mayor tamaño.



**Figura 4.** Clasificación de las partículas de acuerdo a Geldart, 1973.

Grupo C: polvos muy finos o cohesivos. Son difíciles de fluidizar debido a que las fuerzas entre partículas son más importantes que las logradas por el arrastre. El talco y la harina son buenos ejemplos.

Grupo A: materiales que tienen un tamaño medio pequeño o una baja densidad ( $<1.4 \text{ gcm}^{-3}$ ). Se fluidizan fácilmente.

Grupo B: parecidos a la arena, o partículas con diámetro medio de 40 a 500  $\mu\text{m}$  y densidad de 1.4 a 4  $\text{gcm}^{-3}$ . Fluidizan bien con un burbujeo vigoroso.

Grupo D: partículas grandes y/o densas. Lechos profundos son difíciles de fluidizar. Algunos ejemplos son los guisantes y los granos de café.

### **2.3.4 Regímenes de fluidización**

Es importante, una vez que se tiene fluidización, reconocer de qué tipo de régimen de fluidización se trata. Las formas descritas más comunes son fluidización suave, con burbujeo, turbulento, con “slugging” axial y plano, y de fase diluida con transporte neumático. La fluidización suave sólo puede lograrse en sistemas líquido-sólido. La Figura 5 muestra su comportamiento.

Cuando unas burbujas van subiendo a través de una columna usualmente se unen y puede llegar cierto momento en que la burbuja formada sea tan grande como para ocupar toda la sección transversal. Con esto, las pequeñas partículas fluyen hacia abajo por la pared, alrededor del hueco formado por el gas. Esto es lo que se llama slugging axial. Con partículas gruesas esto no es posible y entonces la burbuja empuja la porción del lecho arriba. Ellas bajan sólo cuando se desintegra, y luego puede formarse otro, repitiéndose el ciclo. Esto se conoce como slugging plano (Kunni y Levenspiel, 1991).

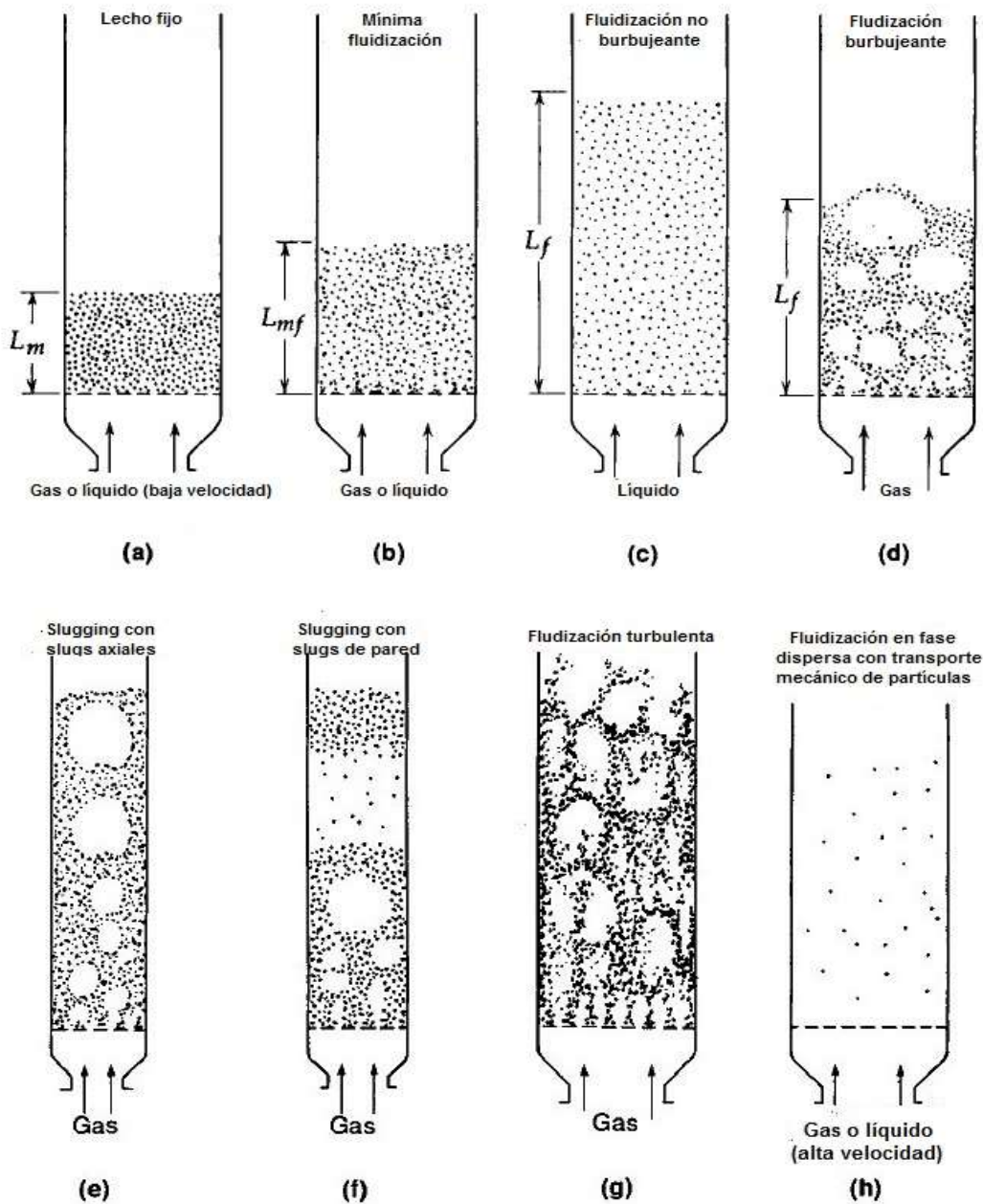


Figura 5. Regímenes de fluidización (Kunni y Levenspiel, 1991).

### 2.3.5 Fases de fluidización

Para estar en condiciones de producir las diferentes etapas de la fluidización, se hace pasar un flujo ascendente de fluido a través del lecho de partículas sólidas finas, colocadas sobre la placa distribuidora del secador.

Si el flujo es bajo, el fluido se filtra a través de los espacios huecos entre partículas, pasando con la consiguiente pérdida de carga. A esta etapa se le llama lecho fijo, puesto que las partículas no están en suspensión.

Con el aumento gradual en el flujo, aumenta la fricción entre el fluido y la partícula, lo que produce a su vez, un aumento en la porosidad del lecho. Las partículas vibran levemente, esto es, porque se orientan de manera que oponen resistencia al paso del fluido moviéndose en zonas restringidas. A esta etapa se le llama lecho expandido. A mayor velocidad se alcanza un punto en que todas las partículas son suspendidas en el flujo del gas, en este momento la fuerza de fricción entre partícula y fluido se equilibran con el peso de la partícula.

La pérdida de carga del lecho, es igual al peso del lecho por unidad de área, en estas condiciones, se denomina estado incipiente de fluidización o lecho en estado mínimo de fluidización.

Los sistemas gas-sólido con un aumento en el porcentaje de flujo, además de una fluidización mínima se observan inestabilidades con burbujeos y canalización de gas. En porcentajes más altos la agitación se hace más violenta y el movimiento de sólidos se hace más vigoroso. Además, el lecho no se expande más allá de su volumen con una mínima fluidización. Este lecho es llamado lecho fluidizado agregativo, lecho fluidizado burbujeante o simplemente un lecho fluidizado por gas. En pocos casos los sistemas gas-sólido no burbujean.

Los lechos fluidizados son considerados en fase densa, mientras exista un límite más alto claramente definido o una superficie para el lecho. Sin embargo, en un porcentaje de flujo suficientemente alto se excede la velocidad terminal de los sólidos, desaparece la superficie más alta del lecho, se puede apreciar el arrastre y los sólidos son llevados con el chorro del flujo. En esta etapa, tenemos un lecho fluidizado disperso, diluído con un transporte neumático de sólidos (Kunni y Levenspiel, 1991).

### **2.3.6 Aplicaciones del secado por lecho fluidizado**

El secado en este tipo de equipos permite tanto una operación por lotes como continua. Las altas velocidades de transferencia de calor lo hacen un proceso económico y la carencia de partes mecánicas permite bajos costos de mantenimiento. El rápido mezclado en el lecho, proporciona condiciones cercanas al secado isotérmico (Kunni. y Levenspiel, 1991).

Los secadores de lecho fluidizado tienen por fundamento hacer pasar aire caliente a través de un lecho de sólidos, en tales condiciones, los sólidos se encuentran suspendidos en el aire. El aire caliente actúa de medio de fluidización y de secado. Para obtener una fluidización eficiente es esencial que el gas de secado se distribuya uniformemente en todo el lecho, a una velocidad suficientemente elevada para provocar la fluidización incipiente de partículas, pero no tan alta como para dar el aspecto de un lecho que hierve vigorosamente. Cuando se usan platos perforados, es conveniente que sean cóncavos con el objeto de incrementar el flujo de aire en el centro del lecho, su finalidad también es la de proporcionar un soporte a la materia prima (Nonhebel, 1979).

Los secadores de lecho fluidizado, son secadores que se rigen por la transferencia de calor por convección y han sido utilizados comúnmente en la industria química, farmacéutica y de alimentos, debido a su bajo costo de construcción, la fácil operatividad y el elevada contacto aire-sólido. Las características principales de los lechos fluidizados son: el flujo tangencial del sólido y el gas de secado, un tiempo de residencia controlable de los sólidos de segundos a minutos y la posibilidad de emplear prácticamente cualquier temperatura de gas.

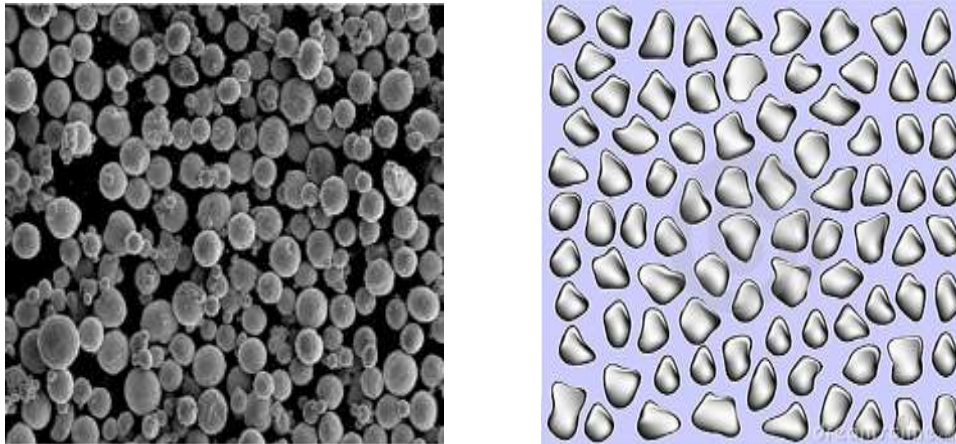
El secado de lecho fluidizado se ha aplicado, tanto en escala comercial, como en escala experimental a diversos productos con mayor o menor éxito.

### **2.4 Caracterización física de partículas**

Una descripción confiable de dimensiones, forma, volumen y densidad de una partícula es crucial en aplicaciones tecnológicas. Asimismo, es importante conocer su densidad aparente (bulk density), dado que raramente un proceso se da con una

sola partícula, es más común contar con gran cantidad de ella (Ferreira y Lima, 2011).

En este contexto, las partículas involucradas en diversos procesos pueden ser muy regulares, por ejemplo las esferas o muy irregulares.



**Figura 6.** Partículas regulares e irregulares

### Tamaño y forma

Algunos cálculos utilizados para la determinación del tamaño de partículas se muestran a continuación:

Diámetro volumétrico de partícula: es definido como el diámetro de una esfera hipotética con el mismo volumen de la partícula:

$$D_v = (6/\pi \cdot V_p)^{1/3} \quad (1)$$

donde  $D_v$  es el diámetro volumétrico de la partícula y  $V_p$  es el volumen de la partícula.

Estas definiciones de tamaño, si bien, son muy populares, tienen un uso limitado para partículas irregulares o planas. El uso de un diámetro volumétrico equivalente parece inadecuado como medida de tamaño de una hoja, aunque podría ser usado para describir un grano o una semilla de forma casi esférica.

Usualmente la forma de las partículas, se describe por uno o dos factores de forma. Consideremos una partícula elipsoide irregular con interceptos a,b y c, en la cual a es el intercepto más largo, b es es el intercepto más largo normal al intercepto a y c y c es el intercepto más largo normal de a y b.

Algunos factores de forma, son definidas usando la relación de identidades geométricas, comparando una característica de una partícula real con la de una partícula regular.

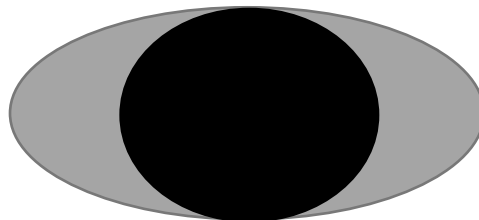
Una definición muy usada es la esfericidad de Wadell  $\Phi$ , la cual es calculada con la relación del área superficial de una esfera con el mismo volumen que una partícula real y el área superficial total de la partícula:

$$\Phi = \frac{\pi D v^2}{A_p} \quad (2)$$

Este índice refleja la desviación de la forma de la partícula de la forma esférica.

Para granos y semillas, la definición de grado de esfericidad propuesta por Mohsenin, 1970, es ampliamente aplicada. Asumiendo que el volumen del sólido es igual al volumen de un elipsoide triaxial con interceptos a,b,c y que el diámetro de la esfera circunscripta es el intercepto a del elipsoide (Figura 7), el grado de esfericidad es definido como:

$$\Phi_M = \left[ \frac{(\pi/6)abc}{\pi/6 a^3} \right]^{1/3} = \frac{(abc)^{1/3}}{a} \quad (3)$$



**Figura 7.** Esfera circunscripta en un elipsoide

## Volumen y densidad

Una metodología usada ampliamente para medir el volumen real de semillas y granos es la técnica del desplazamiento de líquido. Líquidos como hexano o tolueno, con densidades relativas de 0.659 y 0.867 a 20°C, respectivamente, son comúnmente usados. Esta metodología puede ser aplicada para hojas, aunque no se ha encontrado trabajo suficiente en literatura (Ferreira y Lima, 2011).

El volumen aparente de partículas irregulares, puede ser estimado con la medición de su área proyectada y espesor o diámetro equivalente.

La medición de estos parámetros puede realizarse a través de programas de procesamiento de imágenes digitales, tales como Image-Pro Plus 3.0 e Image J.

Una vez medido el volumen, la densidad de la partícula puede ser estimada con buena precisión con la medición de la masa de un número conocido de partículas usando una balanza. Para partículas porosas, la densidad aparente (bulk density) es la relación entre la masa de la partícula y su volumen externo o aparente y la densidad real es obtenida de la relación de la masa y el volumen real.

Un método alternativo para medir la densidad es el principio de Arquímedes, el cual dice que la fuerza boyante hacia arriba en un objeto parcialmente o completamente sumergido en el líquido es igual al peso del fluido, desplazado por el objeto.

Para la determinación de densidad por este método se ocupa la fórmula:

$$\rho = \frac{W(a) \cdot \rho(fl)}{0.99983 G} + 0.0012 \text{ g/cm}^3 \quad (4)$$

donde

G ( flotabilidad) = Peso del sólido en el aire (Wa) – Peso del sólido en el fluido (Wf)

$\rho(fl)$  = densidad del fluido

0.0012 g/cm<sup>3</sup> = factor de corrección

Los datos reportados sobre densidad de hojas o materiales similares son escasos en la literatura. Una excepción es el trabajo de Ferreira y Brito, 2011, quienes



investigaron lechos de hojas frescas (heliotropo, pirul, boldo, siempreviva y bugambilia) fluidizados y vibrofluidizados. Obtuvieron rangos de esfericidades desde 0.063 a 0.213, densidades aparentes de lecho de hojas (bulk densities) desde 0.038 a 0.251 g/cm<sup>3</sup>, densidades aparentes desde 0.52 a 0.97 g/cm<sup>3</sup> y relaciones de área superficial total y volumen desde 21 a 224 cm<sup>-1</sup>.

### **Propiedades de lecho fijo y a granel (bulk)**

La información de propiedades a granel, son útiles para determinar los requerimientos de espacio en el diseño de tolvas, instalaciones de almacenamiento y sistemas de transporte. Una propiedad importante es la densidad a granel (bulk density), la cual es definida como la relación de la masa de muchas partículas de un mismo material entre el volumen total que ocupan, resultando fácil de medir poniendo las partículas en un contenedor (usualmente de 1,000 mL) y pesar su contenido. Debe asegurarse que los efectos de pared son despreciables y que las partículas están envasadas de forma holgada, aleatoria y uniforme a lo largo de la altura del recipiente. Similar a la densidad real, la densidad a granel también varía con el contenido de humedad (Ferreira y Lima, 2011).

Para la determinación de bulk density, se ocupa la fórmula siguiente:

$$\rho_b = \frac{M_L}{V_L} \quad (5)$$

Donde  $M_L$  es la masa del lecho de hojas y  $V_L$  el volumen del lecho de hojas.

La determinación de la fracción de huecos o porosidad del lecho de hojas, se calcula de la siguiente forma:

$$\theta = 1 - \frac{\rho_b}{\rho} \quad (6)$$

Donde  $\rho_b$  es bulk density del lecho de hojas y  $\rho$  es la densidad de la hoja.

## **2.5. Aspectos de calidad relacionados con el proceso de secado**

El secado es una operación compleja que involucra la transferencia de masa y energía. Derivado del proceso de secado existen cambios fisicoquímicos en el producto, que a su vez pueden causar cambios en su calidad. Además de cambios físicos tales como el encogimiento, la cristalización y la transición vítrea, en muchos casos también pueden ocurrir reacciones químicas o bioquímicas deseables o indeseables, que conducen a cambios en el color, la textura, el aroma-olor u otras propiedades del producto. Es así como un secado inadecuado puede conducir al deterioro irreversible de la calidad del alimento, con la consiguiente disminución en la aceptabilidad comercial (Vaquiro, 2009).

Dentro de los principales atributos de calidad físico-químicos, biológicos y nutricionales de los productos secos se encuentran el color, la retención de nutrientes, la apariencia visual, la textura, la capacidad de rehidratación, el aroma, la actividad de agua, la carga microbiana y la presencia de agentes contaminantes (Perera, 2005). Diversos autores han demostrado que las condiciones y el método de secado, junto con la aplicación de pretratamientos, tienen gran influencia en estos atributos (Vaquiro 2009).

La calidad del producto deshidratado es un aspecto fundamental que debe ser considerado a la hora de diseñar u optimizar el proceso de secado, especialmente en la deshidratación de alimentos (Vaquiro 2009). Para el desarrollo de productos deshidratados de calidad se presentan como alternativas la utilización de tecnologías de secado novedosas, el uso de pretratamientos, la selección apropiada de métodos de secado, y la optimización de las condiciones de secado con el fin de maximizar los atributos de calidad (Vaquiro, 2009).

La tendencia actual del consumidor moderno se ha centrado tanto en la valoración de la calidad nutritiva o funcional como las propiedades físicas de los productos. Es así como muchos productos deshidratados de origen hortofrutícola han cobrado notable interés por su contribución en cuanto a valor energético, minerales, vitaminas y compuestos funcionales (Vaquiro 2009). En tal sentido, diferentes estudios experimentales han sido realizados con el objetivo de reducir los efectos

del secado en la retención o pérdida de la calidad nutricional de los productos hortofrutícolas (Vaquiro, 2009).

Este trabajo de investigación plantea incluir 5 parámetros como indicadores de calidad en hoja de estevia: color, contenido de fenoles totales, flavonoides, capacidad antioxidante, estaviósido y rebaudiósido A.

### **2.5.1 Color**

Yusof *et al.* 2014, menciona que las mediciones de color en materiales alimenticios, son usados como una alternativa para determinar las variaciones de calidad porque son más rápidas que un examen fisicoquímico completo. Varios investigadores tienen estudios relacionados con el proceso de secado y modelos matemáticos de varias frutas, hojas y vegetales, tales como durazno, ciruela, berenjena, pimiento rojo, té negro, brócoli, entre otros.

El color es una de las principales características de calidad de los alimentos y la principal característica perceptible por el consumidor. Varios pigmentos presentes en los alimentos se correlacionan con el contenido en compuestos bioactivos tales como compuestos fenólicos, carotenoides, betalaínas y vitaminas, asimismo varios estudios, han revelado que su consumo diario promueve la salud de los seres humanos mediante la reducción de los niveles de colesterol, esclerosis coronaria, factores de riesgo cardiovascular, entre otros efectos beneficios (García, 2014).

El color y la apariencia son el primer contacto que tiene el consumidor con un alimento, condicionando sus preferencias e influenciando su elección. El color está relacionado con las cualidades sensoriales.

El espacio uniforme CIELab, propone dos coordenadas de color,  $a^*$  y  $b^*$ , así como un índice de luminosidad,  $L^*$ . El parámetro  $a^*$  toma valores positivos para los colores rojizos y negativos para los verdosos, mientras que  $b^*$  toma valores positivos para los colores amarillentos y negativos para los azules.  $L^*$  es una medida aproximada de luminosidad, que es la propiedad según la cual cada color

puede considerarse equivalente a un miembro de la escala de grises, entre blanco y negro, tomando valores dentro del rango 0 - 100 (Granato y Masson, 2010).

El estímulo cromático está compuesto por tres sensaciones diferentes, dándole al color su carácter tridimensional (Méndez, 2013).

Estos atributos son:

- **Luminosidad**: Es la característica que hace a un color más claro u oscuro. Es una medida relativa de la luz reflejada frente a la absorbida.

- **Saturación (Chroma C\*)**: Determina, para cada tono, la diferencia frente al gris de la misma luminosidad, y describe la reflexión o transmisión a una determinada longitud de onda. Chroma es calculada usando la siguiente ecuación:

$$C^*=(a^{*2}+b^{*2})^{1/2} \quad (8)$$

- **Matiz o tono (Hue h\*)**: Es el principal atributo. Es una propiedad cualitativa que permite clasificar los colores como rojizos, amarillentos, etc. Está relacionado con las diferencias de absorbancia de la energía radiante a distintas longitudes de onda. Se calcula usando la siguiente ecuación:

$$h^*=\tan^{-1}(b^*/a^*) \quad (9)$$

En el espacio de color CIELAB, estos atributos se representan con las variables claridad (L\*), croma (C\*) y tono (h) y contribuyen a la cromaticidad el tono, de manera cualitativa, y la saturación, de manera cuantitativa (Méndez, 2013).

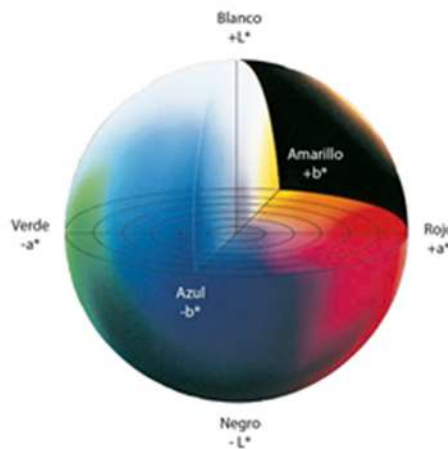
La aplicación de la teoría tricromática al estudio del color de los alimentos proporciona una caracterización cromática segura mediante la metodología recomendada por organizaciones como la Comisión Internacional de Iluminación (Commission Internationale de l' Eclairage) (CIE) (Méndez, 2013). Una integración adecuada de los espectros de absorción, de acuerdo con las condiciones de referencia seleccionadas (iluminante y observador), permite obtener los valores triestímulo con los cuales la CIE define los diferentes sistemas colorimétricos: los espacios de color y sus correspondientes diagramas cromáticos asociados, así como los parámetros psicofísicos (claridad, tono y saturación) (Méndez, 2013).

La medida instrumental del color se realiza mediante colorimetría triestímulo y se pueden usar diferentes tipos de instrumentos, entre ellos:

- Colorímetro: Mide el color de fuentes de radiación primaria y secundaria (según emitan luz propia o reflejen o transmitan luz externa), así se obtienen los valores triestímulo X, Y y Z de una manera óptica sin necesidad de un proceso matemático posterior. Este equipo da una respuesta según un observador y un iluminante estándares, de este modo los valores son distintos para cada instrumento (Méndez, 2013).

- Espectrofotómetro: Mide la distribución espectral de la luz transmitida o reflejada de una muestra. Esta transmitancia o reflectancia son propiedades de los objetos, así que no se alteran con la iluminación usada ni con el observador, obteniéndose en teoría el mismo valor independientemente del instrumento. Los valores triestímulo se obtienen de manera matemática (Méndez, 2013).

- Espectrorradiómetro: Realiza medidas radiométricas de la distribución espectral de una fuente de radiación primaria o secundaria; al igual que el espectrofotómetro, calcula los valores triestímulo matemáticamente (Méndez, 2013)



**Figura 1.** Representación tridimensional del espacio de color  $L^* a^* b^*$

El cambio de color total puede ser medido por la siguiente ecuación:

$$\Delta E = \Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2 \quad (10)$$

Muchos autores usan la diferencia de color total ( $\Delta E$ ) para describir los cambios en color, pero hay que destacar que esta diferencia puede mostrar sólo la "cantidad" de diferencia de color y no su "dirección". Si es importante mostrar en qué dirección de los cambios de color, es mejor utilizar uno de la blancura, amarillez o índice de oscurecimiento (Hirschler, 2012).

Índice de oscurecimiento en la literatura puede significar una de dos cosas: un simple indicador de un cambio químico (a menudo caracterizado por la densidad óptica a una longitud de onda dada o la relación de la reflectancia a 570 y 650 nm) o el cambio de color debido a la oxidación de una superficie de fruta o verdura recién cortada, durante el almacenamiento o secado, o el horneado de pan. El indicador más simple (y probablemente el menos adecuado) del cambio de color es la coordenada  $L^*$ . El índice de oscurecimiento más conocido y más citado es una forma de pureza de excitación que se expresa como sigue, Oro *et al.* (2008):

$$Br_{Buera} = 100 (X_c - 0.31) / 0.172 \quad (11)$$

Donde  $X_c$  es la coordinada de cromaticidad CIE y las constantes que fueron determinadas bajo condiciones límite:

$$X_c = a + 1.75L / 5.645L + a - 3.012b \quad (12)$$

### 2.5.2. Compuestos antioxidantes

Un antioxidante puede ser definido, en el sentido más amplio de la palabra, como cualquier molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas, generalmente sustratos biológicos como lípidos, proteínas o ácidos nucleicos. La oxidación de tales sustratos podrá ser iniciada por dos tipos de especies reactivas: los radicales libres y aquellas especies que sin ser

radicales libres, son suficientemente reactivas para inducir la oxidación de sustratos como lo mencionados.

Ahora bien, un radical libre, desde el punto de vista químico, es cualquier especie (átomo, molécula o ión) que contenga a lo menos un electrón desapareado en su orbital más externo, y que sea a su vez capaz de existir en forma independiente (de ahí el término libre), (Lemus-Mondaca, *et al.* 2012).

La presencia de antioxidantes naturales en los alimentos es importante, no sólo porque estos compuestos contribuyen a definir las características organolépticas y a preservar la calidad nutricional de los productos que los contienen, sino además, porque al ser ingeridos, ayudan a preservar en forma considerable la salud de los individuos que los consumen. En efecto, la recomendación de aumentar la ingesta de alimentos ricos en antioxidantes naturales es, en la actualidad, considerada una de las formas más efectivas de reducir el riesgo de desarrollo de aquellas enfermedades crónicas no transmisibles que más limitan la calidad y expectativas de vida de la población mundial (Lemus-Mondaca *et al.* 2012).

La riqueza antioxidante de los alimentos está generalmente dada por la suma e interacción de numerosas moléculas. Si bien la estructura química de tales moléculas puede ser significativamente diferente, entre los principales antioxidantes presentes en los alimentos es posible distinguir:

- ❖ Las vitaminas antioxidantes que comprenden al Ácido ascórbico (o vitamina C); la Vitamina E, un término que incluye no solo alfa-tocoferol, sino además, a las isoformas, alfa, beta, gama y delta, de los tocoferoles y los tocotrienoles; y los compuestos Pro-Vitamina A (representados por el betacaroteno, el alfa-caroteno y la beta-criptoxantina).
- ❖ Los Carotenoides, entre los cuales destacan la luteína, el licopeno, la zeaxantina y la astaxantina. Bajo la denominación de carotenoides se incluyen también aquellos compuestos que son Pro-Vitamina A (arriba mencionados). Desde el punto de vista químico, los carotenoides comprenden los carotenos (alfa-caroteno, beta-caroteno y licopeno), que no incluyen átomos de oxígeno en su estructura, y las xantofilas (beta-

criptoxantina, luteína, astaxantina y zexantina), que si lo presentan, mayormente bajo la forma de hidroxilos.

- ❖ Los Polifenoles dan cuenta de la riqueza antioxidante de la parte mayor de los alimentos habitualmente consumidos por la población. Todos los polifenoles exhiben en su estructura, a lo menos, uno o más grupos hidroxilos unidos a un anillo aromático. Entre los polifenoles es posible distinguir dos tipos mayores de compuestos: los flavonoides, para los cuales se han descrito miles en el reino vegetal y cuya estructura comprende dos anillos aromáticos unidos, un heterociclo de 3 átomos de carbono y uno de oxígeno (C6-C3-C6) y los llamados no-flavonoides (algunos cientos) que comprenden, mayormente alcoholes mono-fenólicos, ácidos fenólicos y estibenos.

Aunque la medición de antioxidantes depende principalmente de la naturaleza del alimento a analizar, en términos generales es posible medir en los alimentos:

- 1.- El contenido específico de aquellos antioxidantes que dicho alimento concentra, o la de aquellos cuya presencia es más relevante para su distinción como fuente o aporte de dicho compuesto, por ejemplo el contenido de ácido ascórbico, el de licopeno, etc.
- 2.- El contenido total de un determinado tipo de antioxidante, por ejemplo el contenido total de polifenoles o el contenido total de flavonoides de un alimento.
- 3.- La actividad antioxidante de un alimento. A diferencia de la sola medición del contenido de un antioxidante determinado, la medición de la “actividad antioxidante” de un alimento permite cuantificar la “capacidad que tendrían todos los compuestos antioxidantes presentes en éste” (vitaminas + carotenoides + polifenoles + otros que no responden las categorías anteriores) para actuar simultáneamente como una mezcla de compuestos antioxidantes (Lemus *et al.* 2012).



Para los alcances de este trabajo de investigación se pretende la cuantificación de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de la hoja seca fresca y seca de estevia.

## **Métodos para la cuantificación de compuestos antioxidantes**

### ***Fenoles totales***

Uno de los métodos más usados para la cuantificación de fenoles totales en alimentos es el de de Folin-Ciocalteu, el cual se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico (Peterson, 1979). La transferencia de electrones a Ph básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno ( $W_8O_{23}$ ) y de molibdeno ( $Mo_7O$ ), siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula (Julkunen-Tiito, 1985).

### ***Flavonoides totales***

El contenido de flavonoides es determinado usando el método colorimétrico con cloruro de aluminio descrito por Ivanova *et al.* 2010.

El principio de este método se basa en la reacción de los iones de aluminio con los flavonoides en medio alcalino formando un completo color rojo. Al medir la absorbancia es posible determinar la concentración de flavonoides totales.

En la primera etapa de la reacción los grupos hidroxilo del anillo B en las posiciones C2' y C3', en presencia de  $NaNO_2$  sufren una oxidación convirtiéndose en carbonilos. Como producto de la reacción se genera  $HNO_2$  el cual en la segunda etapa, en presencia de  $AlCl_3$ , promueve una nitrosilación del anillo B en C5'. Adicionalmente, el aluminio se enlaza con el oxígeno en C4' y se coordina con el grupo carbonilo del C3'. En esta etapa, la muestra adquiere un color amarillo.

Finalmente con la adición de NaOH se reduce el oxígeno del grupo nitrosilo y la muestra adquiere el color rojo característico de esta prueba (Zhu *et al.* 2010).

### **Capacidad antioxidante**

Este trabajo de investigación evaluará la capacidad antioxidante por medio del método DPPH:

Brand-Williams *et al.* (1995) evaluó la actividad de compuestos específicos o extractos usando el radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•) en una solución metanólica. La reducción del DPPH• se monitorea por la disminución en la absorbancia a una longitud de onda característica. En su forma de radical libre, el DPPH• absorbe a 515 nm y cuando sufre reducción por un antioxidante, esta absorción desaparece. En consecuencia, la desaparición del DPPH• proporciona un índice para estimar la capacidad del compuesto de prueba para atrapar radicales. El modelo que explica la actividad de un compuesto como antirradical se ejemplifica con la siguiente ecuación:



Donde AH es un antioxidante que actúa como antirradical donando átomos de hidrógeno, dando como resultado radicales con estructuras moleculares estables que detendrán la reacción en cadena, tal es el caso de los fenoles. El nuevo radical formado (A) puede interactuar con otro radical para formar moléculas estables (DPPH-A, A-A). La reacción entre el DPPH y un compuesto depende de la conformación estructural del mismo, por lo que las comparaciones cuantitativas no siempre son apropiadas.

La fórmula utilizada para el cálculo del porcentaje de inhibición de radicales libres por la muestra es la siguiente (Shukla *et al.* 2012):

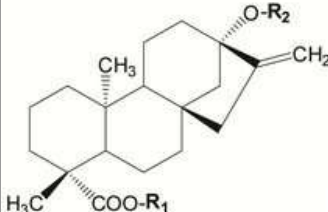
$$\% \text{inhibición} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100 \quad (13)$$

Donde  $A_0$  = absorbancia del blanco o control

At= absorbanca en presencia de la muestra

### 2.4.3. Glucósidos de esteviol

Diversos productos naturales han sido aislados de *Stevia rebaudiana*, los más conocidos son los diterpenoides, específicamente los glucósidos de ent-kaureno de sabor dulce (Figura 8). Se han descrito seis glucósidos de origen natural de *S. rebaudiana*, que comprenden: esteviósido, rebaudiósidos A y C-E y dulcosido A, siendo el esteviósido el compuesto de sabor dulce más abundante en las hojas, seguido por el rebaudiósido A.



Componente	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	MW
Esteviósido	Glc(β)-	Glc(β1-2)Glc(β)-	804.9
Rebaudiósido A	Glc(β)-	Glc(β1-2)Glc(β)- Glc(β1-3) ↓	967.0
Rebaudiósido B	H-	Glc(β1-2)Glc(β)- Glc(β1-3) ↓	804.9
Rebaudiósido C	Glc(β)-	Rha(α1-2)Glc(β)- Glc(β1-3) ↓	951.0
Rebaudiósido D	Glc(β1-2)Glc(β)-	Glc(β1-2)Glc(β)- Glc(β1-3) ↓	1129.2
Rebaudiósido F	Glc(β)-	Xyl(β1-2)Glc(β)- Glc(β1-3) ↓	937.0
Esteviolbósido	H-	Glc(β1-2)Glc(β)-	642.7
Dulcósido A	Glc(β)-	Rha(α1-2)Glc(β)-	788.9
Rubusosido	Glc(β)-	Glc(β)-	642.7

Glc: D-glucosa, Rha: L-ramnosa, Xyl: D-xilosa

**Figura 8.** Estructuras de dipertenos dulces aislados de *Stevia*.

Como resultado de una glicosilación diferencial, cada glucósido de esteviol tiene propiedades organolépticas. Por ejemplo, el esteviósido es 143 veces más dulce que la sacarosa en un peso base, pero el rebaudiósido A es 242 veces más dulce (Brandle and Telmer, 2007). La calidad gustativa del rebaudiosido A es mejor que la del esteviosido, porque es más dulce y menos amargo (Brandle and Telmer, 2007).

Estas diferencias le otorgan a la hoja de estevia su gran potencial comercial, ya sea como edulcorante sin calorías de alta potencia en variedades clonales, en las que el rebaudiósido A se encuentra en mayor concentración, por así convenir a la industria alimenticia o como un endulzante de sabor equilibrado dulce-amargo con propiedades antioxidantes.

## Capítulo 3. Metodología

### 3.1 Generalidades

La experimentación se realizó en tres etapas. En la etapa 1 se realizaron pruebas preliminares del secador, en la etapa 2 se llevan a cabo doce tratamientos de secado en lecho no empacado (LNE) y en la etapa 3, doce tratamientos de secado con lecho empacado (LE).

En la etapa 1, se probaron los alcances del secador de lecho fluidizado, tomando como variables, la temperatura (T), velocidad del aire de entrada (VA) y densidad de carga (DC), mismas que inciden sobre las características de calidad físicoquímica de la hoja de estevia, que si bien no se encuentran definidas como tales en alguna norma o lineamiento específico, diversos trabajos de investigación en plantas aromáticas y/o medicinales los toman en cuenta para tal fin.

Los niveles para trabajar cada variable se propusieron con base a dos aspectos principales:

- Trabajos desarrollados en materiales similares a la hoja de estevia, con los cuales se ha logrado la preservación de sus propiedades nutritivas y terapéuticas
- Alcances prácticos del secador experimental de lecho fluidizado

Se evaluó el efecto de las variables sobre las características de calidad de la hoja de estevia propuestas, a través de las siguientes mediciones y ensayos:

- Medición de propiedades físicas
- Contenido de humedad
- Medición de color
- Cuantificación de fenoles totales
- Cuantificación de flavonoides
- Cuantificación de capacidad antioxidante
- Cuantificación de esteviósido y rebaudiósido A.

En las etapas 2 y 3 se trabajaron, doce tratamientos en lecho no empacado y empacado.

Los procesos de secado, mediciones y ensayos se llevaron a cabo en el laboratorio de alimentos del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca.

### **3.2 Materiales**

#### ***Material vegetal***

Los lotes de estevia (*Stevia rebaudiana*) variedad Morita II fueron recolectadas en dos plantaciones diferentes, el primer lote en el mes de marzo de 2017 en la localidad de Santiago Tapextla, Pinotepa Nacional y el segundo lote en el mes de julio de 2017 en el paraje el Arenal de Bahías de Huatulco, ambos ubicados en la región costa del estado de Oaxaca.

La planta fue cosechada entre las 7:00 y las 8:00 horas, debido a que en las primeras horas de la mañana, los ingredientes activos de las plantas se encuentran en mayor concentración, procediendo a empacarla para su transporte a las instalaciones del CIIDIR Oaxaca, ubicado en la ciudad de Oaxaca, lugar en el que se llevó a cabo el trabajo experimental de la presente investigación.



**Figura 9.** Material de estevia previo a proceso

Como acondicionamiento del material, se realizaron las siguientes actividades:

-Separación de hojas-ramas, retirándose las partes dañadas, así como cualquier otro vegetal o material extraño.

-Lavado con agua a temperatura ambiente, dejando reposar el material sobre material absorbente para eliminar el exceso de humedad.

-Refrigeración en bolsas de plástico color negro a una temperatura de 4°C hasta el momento de su uso.



**Figura 10.** Hojas de estevia acondicionadas para el proceso de secado.

### **3.3 Caracterización física de hojas**

#### ***Contenido de humedad***

La determinación del contenido de humedad de la hoja se realizó por el método de la estufa en condiciones de vacío, de acuerdo a la norma número 934.01 del AOAC, con algunas modificaciones, tal y como se describe a continuación:

Portamuestras para determinación de humedad de 4 cm de diámetro y 1.5 cm de profundidad sin tapa, se lavaron, se secaron y se introdujeron en estufa a 75°C por 12 horas, hasta alcanzar un peso constante.

Las hojas, se picaron y se introdujeron en los portamuestras previamente acondicionados, se pesó 1 gramo de cada tratamiento en báscula de precisión y se

introdujeron en estufa de vacío a 70°C y 67.73 kPa de presión de vacío por 5 horas o hasta que se alcanzara un peso constante a 2 decimales.

### ***Dimensionamiento***

Las dimensiones características de la hoja (área superficial, perímetro, interceptos a y b, esfericidad) se obtuvieron a través de análisis de imágenes del programa Image J versión 1.50i.

El espesor medio de cada partícula se midió con la ayuda de un micrómetro.

### ***Densidad***

Se ocupó el método de medición de densidad por fuerza boyante a través del kit de determinación de densidad YDK 01S Denver Instrument.

### ***Color***

El color de la superficie de la hoja de estevia en términos de los valores de Hunter L, a, b se determinó utilizando el colorímetro Hunter Lab MiniScan EZ 450/°C.

Se consideró el espacio uniforme CIELab, en el que se miden dos coordenadas de color,  $a^*$  y  $b^*$ , así como un índice de luminosidad,  $L^*$ .

El colorímetro, se calibró con mosaicos de color blanco y negro suministrados con el instrumento.

La medición de la hoja fresca de estevia se realizó colocando el cono del colorímetro en la superficie de la hoja, de tal manera que la fuga de luz emitida por el colorímetro se minimizara. La medición se llevó a cabo por triplicado.

La medición de color en hojas secas, se llevó a cabo con muestra molida finamente con la ayuda de un molino de café y tamizada en malla 100, se introdujo en portamuestras de 2.9 cm de diámetro y 1 cm de profundidad. El cono del colorímetro se colocó encima de los portamuestras preparados previamente y se realizó la medición correspondiente por triplicado.



### **3.4 Caracterización de lecho de hojas**

El método para la caracterización de lecho empacado de hojas de estevia fue el de desplazamiento de volumen, mismo que se realizó con y sin hojas de estevia:

- Se pesó un vaso de precipitado de 1,000 mL en balanza analítica con sensibilidad de 0.01 g y tarado
- Se introdujo en el vaso de precipitado, canastilla sin hojas de estevia y densidades de carga de 1.5 ó 3.0 kgm<sup>-2</sup>, se pesa
- Se adicionó un volumen conocido de agua hasta tapar la canastilla.
- Se calculó el volumen del lecho de hojas
- Se calculó la densidad del lecho

### **3.5 Deshidratación en secador de lecho fluidizado**

#### ***Equipo***

Para el proceso de secado de hojas de estevia se utilizó un secador de lecho fluidizado escala piloto ensamblado en el laboratorio de alimentos del CIIDIR- Unidad Oaxaca, con las siguientes características:

- Ventilador trifásico con un motor de 1/2 hp capaz de generar velocidades de aire comprendidas en el rango de 0.5 a 10 ms<sup>-1</sup>
- Distribuidor de calor y aire de entrada al tubo de fluidización de 21 cm de diámetro y 12 cm de altura
- Tubo de fluidización de vidrio de 50 cm de altura, 10 cm de diámetro y 0.2 cm de espesor
- Malla de acero inoxidable número 200 de 10 cm de diámetro que permite el acomodo y soporte del material (en este caso, hojas de estevia), así como el paso del calor y aire para el proceso de secado
- Accesorio de acero inoxidable de aproximadamente 10 cm de diámetro y 10 cm de altura, con un tamaño de poro de 0.36 cm<sup>2</sup>, que hace la función de tope para que el material (en este caso, hojas de estevia) no salga del tubo de fluidización.

- El equipo permite operar temperaturas de trabajo entre los 40°C y 125°C para lo cual cuenta con 1 resistencia eléctrica, además de contar con un sensor-controlador de temperatura.
- Caja de control marca telemecanique de temperatura básico y control de velocidad del aire, tal y como se muestra a continuación:



**Figura 11.** Secador de lecho fluidizado

### ***Proceso de secado***

El equipo de secado se ajustó para cada uno de los tratamientos del diseño experimental, siguiendo un proceso general como se muestra a continuación:

- Se pesó el tubo de fluidización sin hoja de estevia
- Se ajustó y controló la temperatura y velocidad del aire de entrada
- Se pesó hoja de estevia con o sin canastilla y se colocó sobre la malla de acero inoxidable dentro del tubo de fluidización, dependiendo de la densidad de carga del tratamiento

- Se inició el proceso de secado
- Se pesó el tubo de fluidización con la hoja de estevia, en intervalos de tiempo determinados por el tipo de tratamiento (5,3 y 2 min), con la finalidad de conocer las cinéticas de secado correspondientes
- Se finalizó el proceso de secado, en cuanto el peso del tubo de fluidización con las hojas de estevia de mantuvo constante
- Se dejó reposar 5 minutos antes de su empaque en bolsas de polietileno de 30 gramos de capacidad y se almacenó en un desecador.

### **Lecho empacado (LE) y no empacado (LNE) de hojas de estevia**

El secado se llevó a cabo en dos tipos de lechos de hojas de estevia: el no empacado, en el cual el lecho de hojas durante el proceso no se controla (Figura 12) y el empacado (Figura 13), en el cual con ayuda de una canastilla de plástico se fijó la densidad de carga para cada tratamiento.



**Figura 12.** Lecho no empacado de hoja de estevia



**Figura 13.** Lecho empacado de  $1.5 \text{ kgm}^{-2}$  (A) y  $3.0 \text{ kgm}^{-2}$  (B)

En el lecho empacado se controló el lecho de hojas durante el proceso de secado con la ayuda de 2 canastillas de plástico, una para cada densidad de carga ( $1.5$  y  $3.0 \text{ kgm}^{-2}$ ), con la finalidad de caracterizar el lecho de hojas de estevia.



**Figura 14.** Lecho empacado de  $1.5 \text{ kgm}^{-2}$  (A) y lecho empacado de  $3.0 \text{ kgm}^{-2}$  (B)

Los lechos empacados con hojas de estevia se introdujeron en el tubo de fluidización (Figura 14) para cada uno de los tratamientos correspondientes.

### **3.6. Cuantificación de compuestos antioxidantes**

#### **Extracto metanólico de hojas de estevia**

Se utilizó la metodología propuesta por Periche *et al.* (2015), con modificaciones, utilizando como solvente o agente extractante metanol acidificado con HCl al 1% (v/v) para la cuantificación de fenoles totales y metanol al 80% para la cuantificación de flavonoides y capacidad antioxidante.

En un tubo para centrifuga de 50 mL, se colocaron 0.4 g de hoja fresca ó 0.1 g de hoja seca de estevia correspondiente a cada tratamiento/réplica, previamente triturada, al que se le añadieron 5 mL de solvente, sometándose a baño ultrasónico (Cole-Parmer 8892) por 20 minutos, se separó el sobrenadante con pipeta de transferencia en viales color ámbar, se repitió el proceso tres veces consecutivas, manteniéndose en refrigeración hasta su uso.

#### **Fenoles totales**

Se cuantificaron usando el método espectrofotométrico de Folin-Cicolteau propuesto por Singleton y Rossi (1965), con modificaciones.

Se realiza una dilución 1:1 (v/v) de cada uno de las muestras con MeOH acidificado al 1% y realizó el procedimiento siguiente en tubos de ensayo, por triplicado: a 2.6 mL de agua destilada, se añadieron 2.0 mL de NaOH al 7% (p/v), se mezclaron con ayuda de un vortex, se procedió a adicionar 200 microlitros de solución Folin-Cicolteau y 200 microlitros de dilución de cada uno de los extractos, se mezcló nuevamente y se dejó reposar 1 hora y media en la oscuridad, antes de tomar lectura a 760 nm utilizando un espectrofotómetro UV- Visible marca GBC Cintral 4040. El blanco usado en la determinación, siguió el mismo procedimiento, sólo que sin añadir el extracto. Se reportaron resultados como mg EAG<sub>gs</sub><sup>-1</sup> (miligramos equivalentes de ácido gálico sobre gramo de sólido seco).

La curva de calibración se realizó con diferentes concentraciones de ácido gálico marca Sigma-Aldrich (Anexo B).

## **Flavonoides totales**

La cuantificación de flavonoides se realizó de acuerdo a la metodología de Ivanova *et al.* (2010). Esta determinación cuantitativa se basa en el método espectrofotométrico de cloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ) y se ocupa como estándar Quercetina.

En tubos de ensayo, se añadió 1 mL de dilución conocida, 4 mL de agua destilada, 0.3 mL de Nitrito de Sodio ( $\text{NaNO}_2$ ) al 5% (p/v), se agitó y se dejó incubar por 5 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad, pasado este lapso, se agregaron 0.3 mL de  $\text{AlCl}_3$  al 10% (p/v) se agitó nuevamente la mezcla y se dejó reposar 6 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad, se agregaron 2 mL de hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ) 1M y 2.4 mL de agua destilada, haciendo una lectura a 510 nm antes de 30 minutos, en espectrofotómetro UV- Visible GBC Cintral 4040, los resultados se reportaron como  $\text{mg EQ}_{\text{gs}}^{-1}$  (miligramos equivalentes de quercetina por gramo de sólido seco.) El blanco usado en la determinación, siguió el mismo procedimiento, sólo que sin añadir el extracto. Cada tratamiento se realizó por triplicado.

La curva de calibración se preparó con el estándar quercetina marca Sigma-Aldrich a diferentes concentraciones (Anexo B).

## **Actividad antioxidante**

La actividad antioxidante se determinó utilizando la metodología de captura de radicales DPPH, descrita por Brand-William *et al.* (1995) con algunas modificaciones.

En tubos de ensayo, se agregaron 100 microlitros de dilución 1:1 (v/v) de cada uno de los extractos y 3.9 mL de solución DPPH, se mezclaron con ayuda de un agitador vortex, la mezcla se dejó en reposo 30 minutos en la oscuridad y se realizaron las lecturas correspondientes en espectrofotómetro UV-Vis GBC Cintral 4040 a 517 nm. Los resultados fueron reportados en porcentaje de inhibición. Cada tratamiento se realizó por triplicado.

La curva de calibración, se preparó con una solución de ácido ascórbico a diferentes concentraciones (Anexo B).

### **3.7. Cuantificación de glucósidos de esteviol**

#### ***Extracto acuoso de hojas de estevia.***

En tubos para centrífuga de 50 mL, se colocaron 0.4 g de hoja fresca o 0.1 g de hoja seca de estevia, se añadieron 5 mL de agua grado HPCL (grado cromatográfico) para su posterior sonicación en baño ultrasónico de 44 KHz por 20 minutos a temperatura ambiente y centrifugación a 2080 rpm por 5 minutos, se separó el sobrenadante con pipeta de transferencia en viales color ámbar, repitiéndose el proceso tres veces consecutivas, finalmente se realizó el filtrado del extracto con filtro de 0.45 micrometros y se almacenó en congelación hasta su uso.

Con la finalidad de cuantificar dos glucósidos de esteviol presentes en el extracto acuoso, se utilizó un cromatógrafo de líquidos marca Perkin Elmer flexar series equipado con bomba cuaternaria, con las siguientes especificaciones: Columna C-18 Fase reversa, Modo Isocrático, Flujo de 0.9 mL/min, Fase Móvil: Acetonitrilo-Agua (proporción 35:65 v/v), se usaron estándares de esteviósido y rebaudiósido A como referencia. Se realizaron tres inyecciones por cada tratamiento.

La curva de calibración, se preparó con estándares de rebaudiósido A y esteviósido marca Sigma-Aldrich, a diferentes concentraciones (Anexo B).

### **3.8 Diseño experimental y análisis de datos**

El diseño experimental en esta investigación, es un diseño factorial completo general 3X2X2, con 3 niveles para la variable temperatura (T), 2 niveles para la velocidad del aire (VA) y 2 niveles para la densidad de carga (DC).

En el Tabla 3, se aprecia el orden en el que se realizaron las corridas experimentales mismas que se realizaron de manera aleatoria, con el fin de evitar efectos de factores externos.

**Tabla 3.**Diseño factorial completo general 3X2X2

Tratamiento	Orden	T (°C)	VA (ms <sup>-1</sup> )	DC (kgm <sup>-2</sup> )
<b>T1</b>	13,19	40	2	1.5
<b>T2</b>	3,15	40	2	3.0
<b>T3</b>	14,16	40	3.5	1.5
<b>T4</b>	7,9	40	3.5	3.0
<b>T5</b>	12,18	50	2	1.5
<b>T6</b>	2,11	50	2	3.0
<b>T7</b>	8,17	50	3.5	1.5
<b>T8</b>	1,24	50	3.5	3.0
<b>T9</b>	6,21	60	2	1.5
<b>T10</b>	20,22	60	2	3.0
<b>T11</b>	5,23	60	3.5	1.5
<b>T12</b>	4,10	60	3.5	3.0

Se utilizó el método de análisis de varianza (ANOVA) para estudiar el efecto de los tratamientos propuestos en las variables de respuesta (color, fenoles totales, flavonoides, actividad antioxidante, esteviósido y rebaudiósido A). Para el manejo de datos se empleó el paquete estadístico Minitab versión 17.



## Capítulo 4. Resultados

### 4.1 Caracterización hojas y lecho de hoja de estevia

#### 4.1.1 Caracterización de la hoja

##### *Contenido de humedad*

La Tabla 4 muestra los valores asociados al contenido de humedad final base seca para cada uno de los tratamientos evaluados en lechos no empacados (LNE) y lechos empacados (LE). El criterio utilizado para considerar el final del proceso de secado fue el de peso constante.

**Tabla 4.** Porcentaje de humedad de hojas de estevia por tratamiento de secado

Tratamiento	Condiciones (T, VA, DC)	%Contenido de Humedad (bs) (LNE)	%Contenido de Humedad (bs) (LE)
T1	40°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	5.73	15.73
T2	40°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	5.22	14.47
T3	40°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	8.10	14.68
T4	40°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	5.19	13.02
T5	50°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	2.69	15.04
T6	50°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	2.38	6.36
T7	50°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	2.05	11.76
T8	50°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	2.38	2.68
T9	60° C 2.0 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	1.56	7.01
T10	60°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	1.39	3.86
T11	60°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	2.98	7.17
T12	60°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	1.67	2.42

Para lechos no empacados (LNE), los contenidos de humedad presentaron un rango de variación de 6.71%, observándose los valores más altos de humedad en los tratamientos a 40°C y los menores a 60°C.

Para lechos empacados (LE), el rango de variación alcanza un 13.31%, presentándose los valores más altos de humedad a 40°C.

Las variaciones en el contenido de humedad de los tratamientos realizados, indican que el criterio utilizado al término el proceso de secado en un secador de lecho fluidizado, no resulta apropiado para este tipo de materiales.

### **Dimensionamiento**

En la Tabla 5 se muestran las dimensiones características de las hojas de estevia, mismas que fueron obtenidas a través de análisis de imágenes del programa Image J. (Figura 15).

**Tabla 5.** Dimensiones y características de la hoja de estevia

<b>Diámetro (max-min) (cm)</b>	<b>Área proyectada (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Perímetro (cm)</b>	<b>Volumen (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>Esfericidad</b>	<b>Espesor (cm)</b>	<b>Densidad (gcm<sup>-3</sup>)</b>
6.53±0.45 2.53±0.60	12.9±0.22	19.01±0.31	2.08±0.11	0.61±0.29	0.12±0.78	0.95±1.23



**Figura 15.** Escaneo de hojas de estevia para cálculo de dimensiones

## Densidad

Los valores de densidad obtenidos, concuerdan con el trabajo realizado por Ferreira y Lima (2011), quienes reportan en sus caracterización de hojas para fluidización (*Duranta repens*, *Schinus molle*, *Coleus barbatus*, entre otras), densidades que van desde 0.85 a 0.97 gcm<sup>-3</sup>.

## Clasificación de partícula

Tomando como base la clasificación de partículas de Geldart (1973), la hoja de estevia se ubica en el Grupo A para materiales que tienen un tamaño medio pequeño o una muy baja densidad (<1.4 gcm<sup>-3</sup>), por lo que las hojas pueden ser aireadas y fluidizar fácilmente.

## Color

### Lecho no empacado (LNE)

La Tabla 6 presenta los datos de los diferentes parámetros de color obtenidos de los 12 tratamientos de secado, así como los valores correspondientes a la hoja fresca.

**Tabla 6.** Valores de coordenadas de color por tratamiento de secado (LNE)

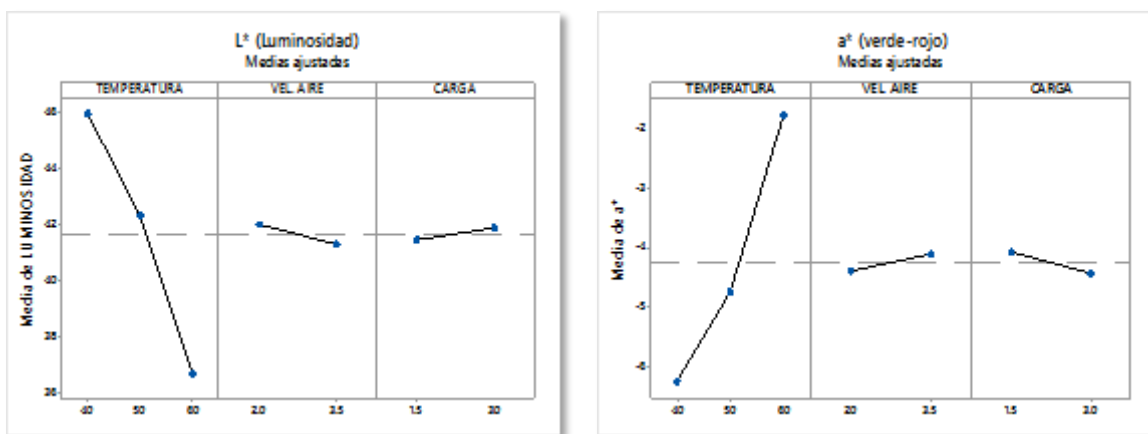
Muestra	L*	a*	b*	ΔE	C*	h*	I.O.
<b>Fresca</b>	37.37±0.44	-5.22±4.20	19.90±2.32	0.00	20.57±1.16	104.69±7.86	57.64±5.99
<b>T1</b>	45.96±3.49	-6.19±1.23	26.20±2.71	18.53±4.88	26.92±2.92	103.30±1.23	59.08±0.04
<b>T2</b>	45.79±2.57	-6.22±0.22	26.01±2.83	14.64±7.63	26.75±2.80	103.45±0.95	58.94±1.17
<b>T3</b>	45.43±1.68	-5.85±0.58	26.22±2.65	14.67±6.87	26.86±2.71	102.58±0.03	59.54±1.05
<b>T4</b>	46.70±2.02	-6.78±0.14	26.51±0.51	16.28±6.77	27.36±0.53	104.34±0.02	58.62±0.37
<b>T5</b>	40.81±1.78	-4.31±0.92	21.96±2.38	16.79±7.39	22.38±2.51	101.11±1.15	58.98±0.58
<b>T6</b>	44.33±2.32	-6.08±0.14	25.07±0.67	15.09±8.95	25.79±0.69	103.63±0.04	58.83±0.37
<b>T7</b>	45.09±5.16	-5.01±2.75	26.06±3.10	19.08±5.18	26.54±3.56	100.88±4.59	60.33±1.68
<b>T8</b>	39.22±5.86	-3.54±1.03	22.30±2.39	14.39±6.59	22.58±2.52	99.01±1.65	60.77±1.38
<b>T9</b>	35.04±0.36	-1.50±0.20	21.26±2.35	17.77±8.00	21.31±2.33	94.03±0.99	63.95±3.13
<b>T10</b>	40.20±1.26	-2.09±1.84	24.71±2.27	17.35±8.04	24.80±2.10	94.83±4.69	63.83±3.26
<b>T11</b>	36.39±0.21	-1.61±0.29	21.35±1.53	17.02±8.24	21.41±1.55	94.31±0.48	63.06±1.45
<b>T12</b>	35.12±2.93	-1.85±0.18	20.88±0.51	16.59±7.24	20.96±0.53	95.05±0.36	63.09±1.39

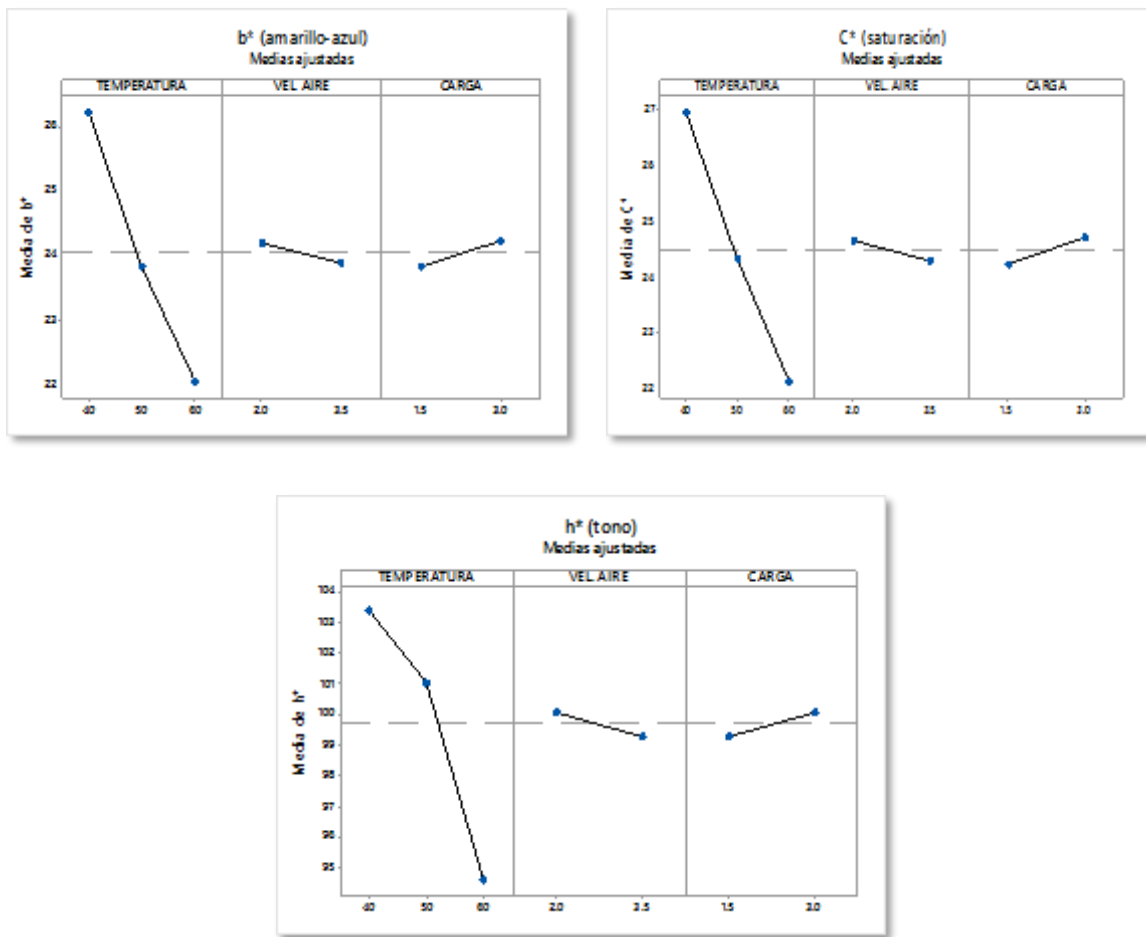
Los tratamientos a 40°C y a 50°C presentaron valores de luminosidad  $L^*$  mayores en comparación con los de la hoja fresca, proyectando un color verde más claro. Asimismo, se observa un decremento en el valor de  $L^*$  en la tratamientos a 60°C, tornándose el color de las hojas verde más oscuro. El tratamiento 4 (T4) presentó los valores más altos en los parámetros  $L^*$  (46.70),  $a^*$  (-6.78),  $C^*$  (27.36).

El  $\Delta E$  más pequeño de la serie de tratamientos, lo presenta el tratamiento T8 con un valor de 14.39, el cual indica que el tratamiento de secado permitió conservar en buena medida las características de color iniciales de la hoja fresca.

El índice de oscurecimiento (I.O) presenta un incremento gradual de acuerdo a la temperatura empleada en los tratamientos, a mayor temperatura mayor índice de oscurecimiento.

Derivado del análisis estadístico realizado a los parámetros de color reportados (Figura 16), la temperatura es el único factor que presenta un efecto significativo sobre los mismos ( $p > 0.05$ ). Los análisis de varianza se presentan en Anexo A.





**Figura 16.** Efectos significativos coordenadas de color (LNE)

### ***Lecho empacado (LE)***

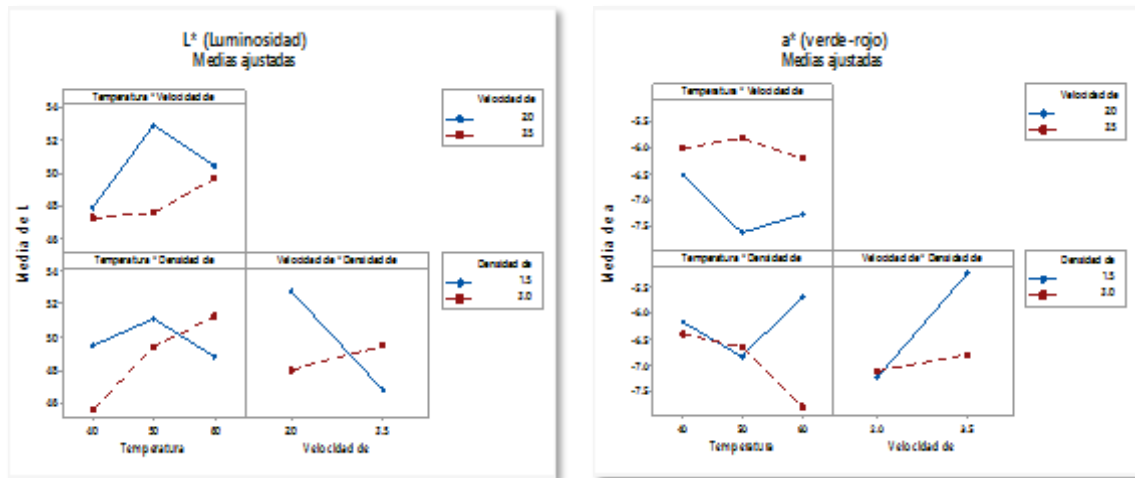
La Tabla 7 presenta los datos de los diferentes parámetros de color de los 12 tratamientos de secado realizados en LE de hojas de estevia, así como los valores correspondientes a la hoja fresca.

**Tabla 7.** Valores parámetros de color por tratamiento de secado (LE)

Muestra	L*	a*	b*	$\Delta E$	C*	h*	I.O.
Fresca	36.50±1.34	-13.36±0.16	37.99±0.24	0.00	40.27±2.32	109.37±1.12	116.34±1.11
T1	54.24±4.9	-7.94±1.52	34.41±0.11	18.89±1.25	35.31±1.22	102.99±2.37	80.55±2.24
T2	41.45±0.75	-5.15±0.12	29.70±4.63	12.67±2.23	30.14±2.10	99.84±1.30	87.13±0.27
T3	44.74±1.37	-4.39±0.88	31.30±5.82	13.90±1.26	31.61±0.55	97.98±3.09	86.56±0.33
T4	49.74±1.52	-7.65±1.16	32.40±0.44	15.46±2.23	33.29±0.11	103.29±1.77	81.52±1.01
T5	52.31±1.23	-6.95±0.30	34.53±0.72	17.41±0.23	35.23±0.78	101.38±0.25	82.71±1.27
T6	53.59±6.69	-8.35±2.06	34.24±3.39	18.20±0.55	35.24±1.11	103.70±1.95	80.60±1.90
T7	49.90±2.41	-6.72±1.67	33.46±2.02	15.63±2.21	34.13±0.56	101.36±2.08	83.40±0.56
T8	45.21±8.89	-4.95±3.79	31.23±4.04	13.87±3.01	31.62±3.06	99.00±5.70	85.58±3.45
T9	51.84±4.88	-6.77±0.49	33.33±2.43	17.34±1.78	34.01±2.03	101.48±0.01	81.57±1.78
T10	49.03±2.65	-7.80±1.42	31.17±2.12	15.31±3.12	32.14±1.45	104.05±1.54	80.30±2.05
T11	45.81±3.37	-4.62±0.08	30.63±3.28	14.74±1.12	30.97±0.34	98.57±0.77	84.20±0.67
T12	53.49±2.35	-7.80±0.86	34.54±0.12	18.21±0.34	35.41±0.97	102.73±1.39	81.35±1.56

Los tratamientos de secado presentan un incremento en valores de L\* en comparación con los de la hoja fresca (36.50), proyectando un color verde más claro. Los valores de este parámetro son mayores que en los tratamientos con LNE. El tratamiento que presentó el valor más alto de luminosidad fue el T1.

La interacción velocidad del aire-densidad de carga y la interacción entre las tres variables durante el proceso de secado de LE, presenta un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) en el parámetro luminosidad (Figura 17).



**Figura 17.** Efectos significativos coordenadas de color (LE)

Este incremento en el valor de luminosidad en hojas de estevia probablemente se debe a la degradación de la clorofila (Rudra *et al.* 2008). La estructura química de la clorofila se altera fácilmente por agentes como: oxidantes, luz, pH, altas temperaturas y algunas enzimas, en este caso, su degradación es provocada generalmente por la acción prolongada de la temperatura (Barthelemy *et al.* 2013).

Se aprecian valores menores de  $b^*$  en todos los tratamientos de secado en comparación con los encontrados en la hoja fresca, sin embargo ninguna variable y/o interacción presenta un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre este parámetro.

Dwivedy *et al.* (2012), reportan que la reducción de los valores de  $L^*$ ,  $b^*$  y el incremento de valores  $a^*$  en secado de orégano indican que el secado favoreció la obtención de productos parduscos (verde oscuro).

El tratamiento que muestra la pureza/intensidad de color más alta ( $C^*$ ) es el T12 (35.41). No existe factor y/o interacción con efecto significativo en la pureza/intensidad de color en hojas de estevia, a diferencia de los tratamientos con LNE, que muestran que la temperatura es la variable con efecto significativo.

Los valores de matiz ( $h^*$ ) se presentan en un rango de 98.57-104.05, mismos que indican una tendencia del color amarillo al verde, cuyo valor superior lo representa la hoja fresca de estevia, siendo el tratamiento T10 el que presenta el valor más alto, situación inversa a los tratamientos con LNE cuyo valor más alto se presenta a 40°C. El análisis estadístico de este parámetro indica ningún factor y/o interacción presenta efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre el matiz de las muestras.

Rudra, *et al.* (2008), sugiere que el cambio de color en hojas de menta y cilantro, del verde luminoso al olivo oscuro durante el proceso de secado, se puede atribuir a la conversión de clorofilas en feofitinas, debido a la pérdida o sustitución de un ión de magnesio central.

En Anexo C, se muestran las comparaciones gráficas de color en tratamientos con LE.

#### 4.1.2. Caracterización del lecho de hojas de estevia

##### ***Bulk density y fracción de vacío***

La Tabla 8 muestra los valores de densidad de los dos tipos de cargas evaluadas durante el proceso de secado.

**Tabla 8.** Bulk density, lecho de hoja de estevia

Densidad de carga (kgm <sup>-2</sup> )	Altura del lecho (cm)	Bulk density (kgm <sup>-3</sup> )	Fracción de vacío
1.5	3.2	60	0.93
3.0	5.2	80	0.92

##### **Régimen de fluidización**

##### ***Lecho no empacado (LNE)***

En tratamientos con VA de 2 ms<sup>-1</sup> y DC de 1.5 y 3.0 kgm<sup>-2</sup> el régimen de fluidización se comportó como lecho fijo en todo el proceso de secado.



**Figura 18.** Lecho no empacado de hoja de estevia a 2 ms<sup>-1</sup>



Para tratamientos con VA de  $3.5 \text{ ms}^{-1}$  y DC de 1.5 y  $3.0 \text{ kgm}^{-2}$ , el régimen de fluidización en un inicio del proceso fue de lecho fijo, sin embargo en tanto avanzaba el proceso, el régimen se volvió disperso, dado que el flujo de aire excedió la velocidad terminal de las hojas, desapareció la superficie más alta del lecho y se pudo apreciar el arrastre de las hojas que fueron llevadas por el flujo. Para evitar que el flujo de aire sacara las hojas fuera del tubo de fluidización, se introdujo dentro del tubo de fluidización un accesorio de acero inoxidable que sirvió como límite físico durante el proceso

## **4.2. Secado de hojas de estevia**

### **4.2.1. Curvas de secado**

#### ***Lecho no empacado (LNE)***

Los 12 tratamientos de secado, se llevaron a cabo de manera aleatoria en el transcurso de una semana, situación por la que la humedad inicial de las hojas tuvo variaciones en un rango de 68.27 a 73.71 % de humedad.

En la figura 19, se presentan las curvas de secado experimentales con parámetros adimensionales correspondientes a los 12 tratamientos realizados.

En tratamientos a mayor temperatura, los períodos de secado son menores, independientemente de su relación con la velocidad de aire y densidad de carga.

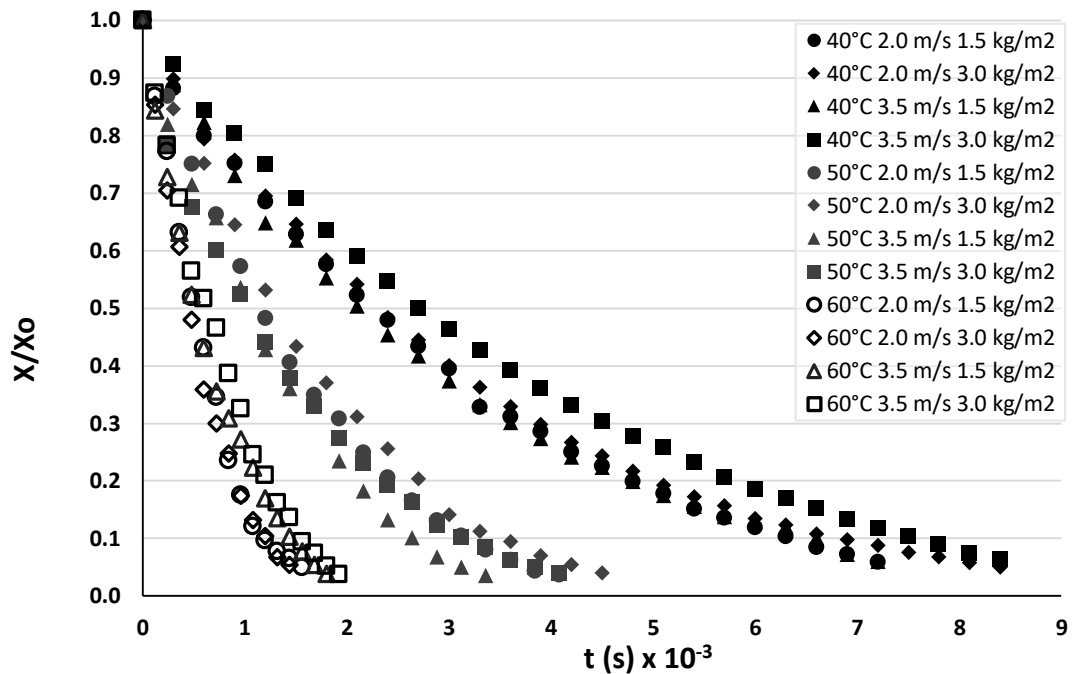
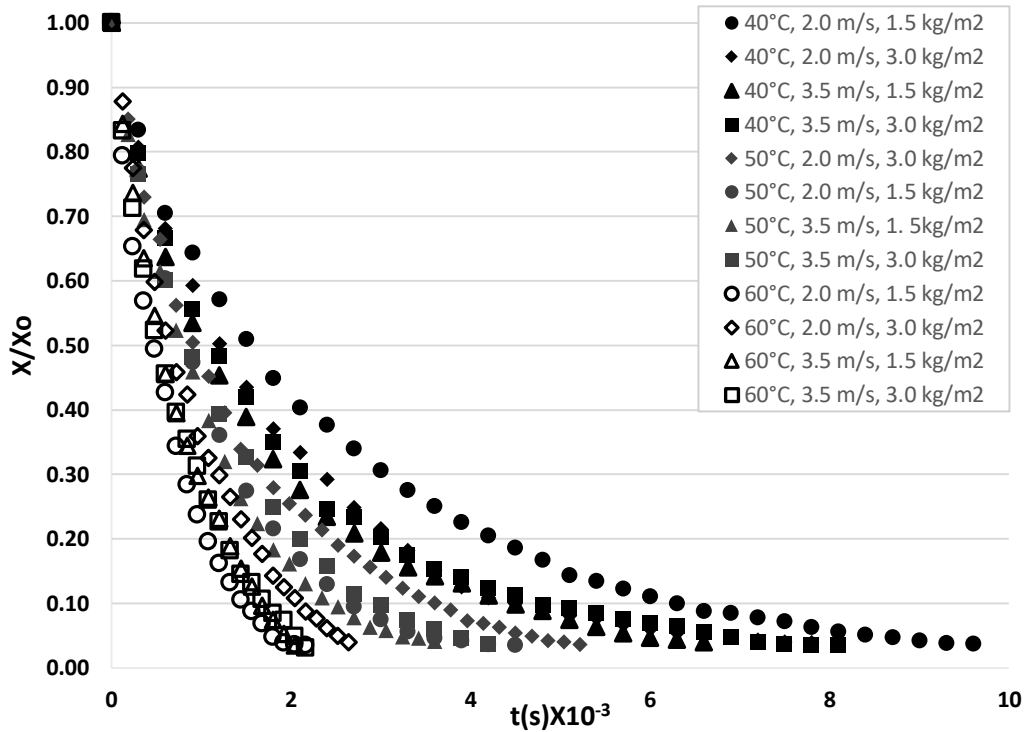


Figura 19. Curvas experimentais de secado de folhas de estevia (LNE)

### Lecho empacado (LE)

En la figura 20 se presentan las curvas de secado correspondientes a los 12 tratamientos realizados en lecho empacados.

Los tratamientos a mayor temperatura, presentan períodos menores de secado independientemente de su interacción con diferentes valores de velocidad de aire y densidad de carga.



**Figura 20.** Curvas experimentales de secado de hojas (LE)

Si bien, a mayor temperatura el tiempo de secado disminuye, no existe una marcada diferencia entre bloques de temperatura, tal como se observa en el proceso de secado fluidizado en lecho no empacado.

Esta no diferenciación, es debida a que el lecho de hojas se encuentra estático y la forma en que se secan las hojas no es homogénea, ya que la capa más superficial es la que pierde humedad más rápido, dejando a la capa interior con un porcentaje de humedad más alto, por lo que el lecho empacado tarda más en alcanzar un peso constante que permita finalizar el proceso de secado.

#### 4.2.2. Tiempos de secado

##### Lecho no empacado (LNE)

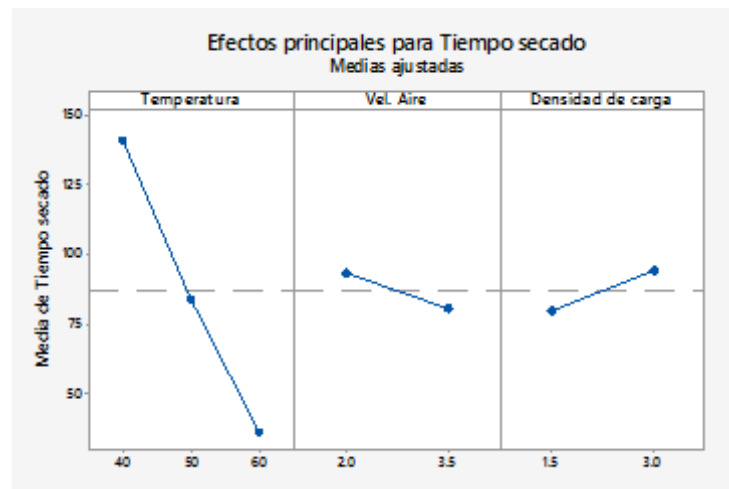
Los tiempos de secado de hoja de estevia en LNE oscilaron entre 26 a 140 minutos para alcanzar un porcentaje de humedad del 10%. Los tiempos de secado son más

cortos cuando la temperatura más alta es aplicada (32-24 minutos), en comparación de los tiempos de secado a la temperatura más baja utilizada (140-118 minutos), observándose el mismo comportamiento en los tratamientos con mayor velocidad de aire y menor densidad de carga (Tabla 9).

**Tabla 9.** Tiempo de secado en LNE de hoja de estevia

Tratamiento	T(°C)	VA (ms <sup>-1</sup> )	DC (kgm <sup>-2</sup> )	t (min)
T1	40°C	2.0	1.5	120
T2	40°C	2.0	3.0	140
T3	40°C	3.5	1.5	118
T4	40°C	3.5	3.0	138
T5	50°C	2.0	1.5	68
T6	50°C	2.0	3.0	75
T7	50°C	3.5	1.5	56
T8	50°C	3.5	3.0	68
T9	60°C	2.0	1.5	30
T10	60°C	2.0	3.0	32
T11	60°C	3.5	1.5	24
T12	60°C	3.5	3.0	26

El análisis estadístico mostró efectos significativos ( $p < 0.05$ ), de las 3 variables sobre el tiempo de secado de hoja de estevia, siendo la temperatura la variable con una pendiente más definida (Figura 21).



**Figura 21.** Efectos principales tiempo de secado (LNE)

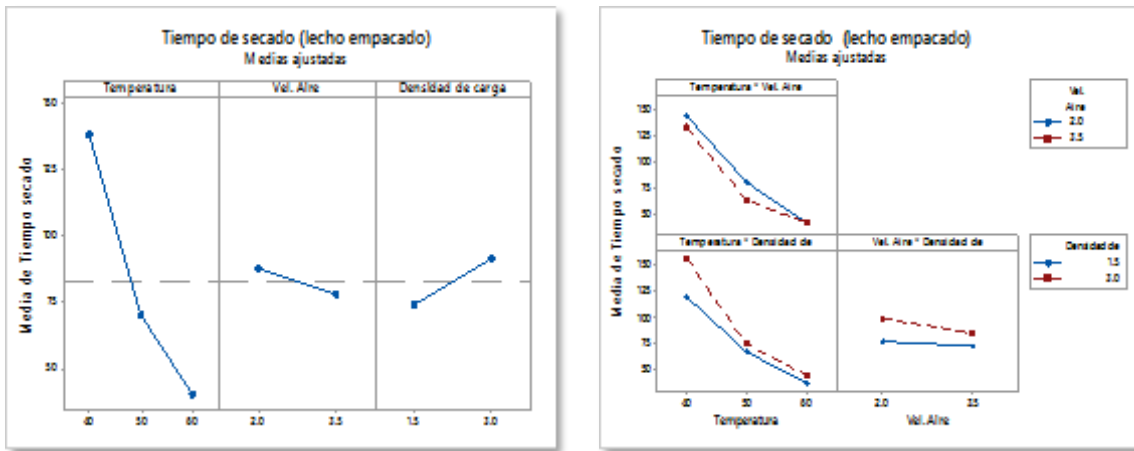
## Lecho empacado (LE)

Los tiempos de secado de hoja de estevia en lecho empacado oscilaron entre 36-160 minutos para alcanzar un porcentaje de humedad del 10%. Conforme aumenta la temperatura, los tiempos de secado son más cortos, mismo comportamiento se observa en tratamientos con mayor velocidad de aire y menor densidad de carga (Tabla 10).

**Tabla 10.** Tiempo de secado en LE de hoja de estevia

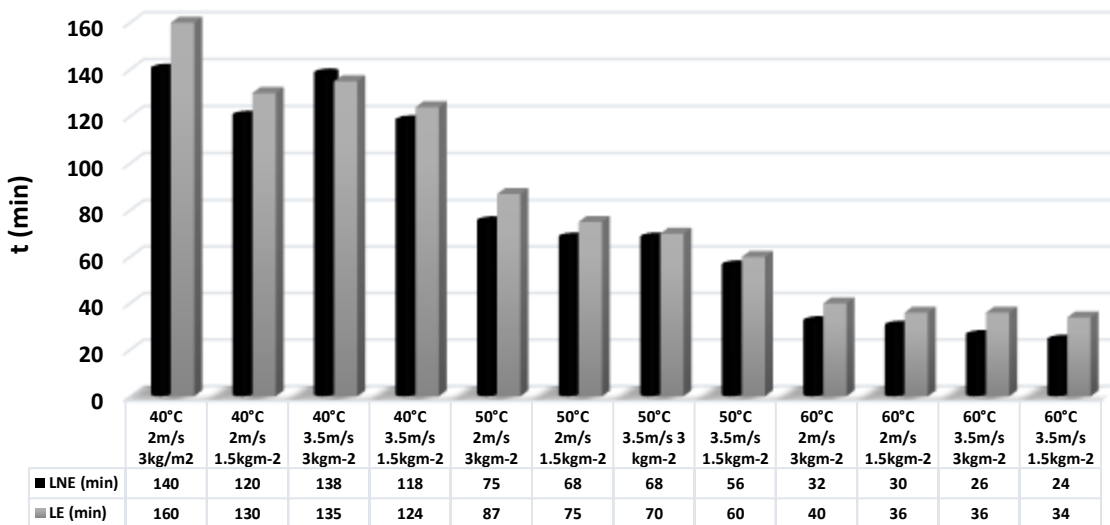
Tratamiento	T (°C)	VA (ms <sup>-1</sup> )	DC (kgm <sup>-2</sup> )	t (min)
T1	40°C	2.0	1.5	130
T2	40°C	2.0	3.0	160
T3	40°C	3.5	1.5	124
T4	40°C	3.5	3.0	135
T5	50°C	2.0	1.5	75
T6	50°C	2.0	3.0	87
T7	50°C	3.5	1.5	60
T8	50°C	3.5	3.0	70
T9	60°C	2.0	1.5	36
T10	60°C	2.0	3.0	40
T11	60°C	3.5	1.5	34
T12	60°C	3.5	3.0	36

El análisis estadístico mostró efectos significativos ( $p < 0.05$ ), de las tres variables utilizadas en el proceso, sobre el tiempo de secado; de igual manera la interacción temperatura-densidad de carga (Figura 22) muestra un efecto significativo sobre el tiempo de secado en lecho empacado.



**Figura 22.** Efectos principales (A) e interacciones (B) tiempo de secado (LE)

Realizando un comparativo entre lechos de hojas, los tiempos de secado son menores en los tratamientos de LNE, siendo las diferencias más notables en los tratamientos a temperaturas de 40 y 60°C, con diferentes densidades de carga.



**Figura 23.** Comparativo de tiempos de secado (LNE, LE)

La diferencia en tiempos de secado entre tipo de lechos, se debe principalmente a que en el lecho no empacado, las hojas de estevia se desplazan libremente en el

tubo de fluidización, existiendo así una superficie de contacto más grande durante el proceso de secado, condición que coadyuva a una pérdida de humedad más rápida.

De manera comparativa, Lemus-Mondaca *et al.* (2015) secaron hojas de estevia en bandejas, en un rango de temperaturas de 40, 50 y 60° C, velocidad constante del aire de 2 ms<sup>-1</sup> y densidad de carga de 2.08 kgm<sup>-2</sup>, los tiempos de secado fueron de 480, 270 y 180 minutos respectivamente. La comparación indica que el secado en lecho empacado o fijo (flujo transversal) es menor que en charolas con flujo longitudinal.

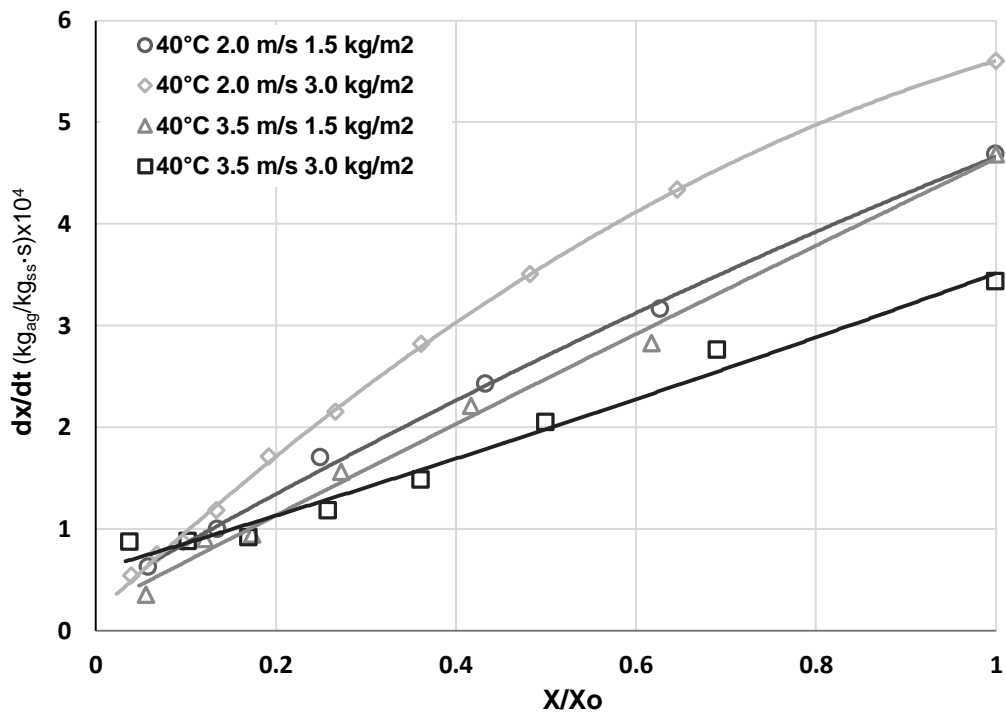
#### **4.2.3. Curvas de velocidad de secado**

##### **Lecho no empacado (LNE)**

Cuando se construyen las curvas de velocidad de secado con respecto al contenido de humedad base seca, el secado de la hoja de estevia se lleva a cabo en el período de velocidad decreciente, dada la rápida velocidad de desecación, tamaño y bajo espesor de la hoja de estevia.

La Figura 24 muestra la velocidad de pérdida de agua a 40°C, en la cual el tratamiento T2 (2.0 ms<sup>-1</sup> y 3.0 kgm<sup>-2</sup>) es el que presenta una pérdida de agua más rápida y la más lenta el T4 (3.5 ms<sup>-1</sup> y 3.0 kgm<sup>-2</sup>). Los tratamientos con una baja densidad de carga (1.5 kgm<sup>-1</sup>) presentan un comportamiento similar.

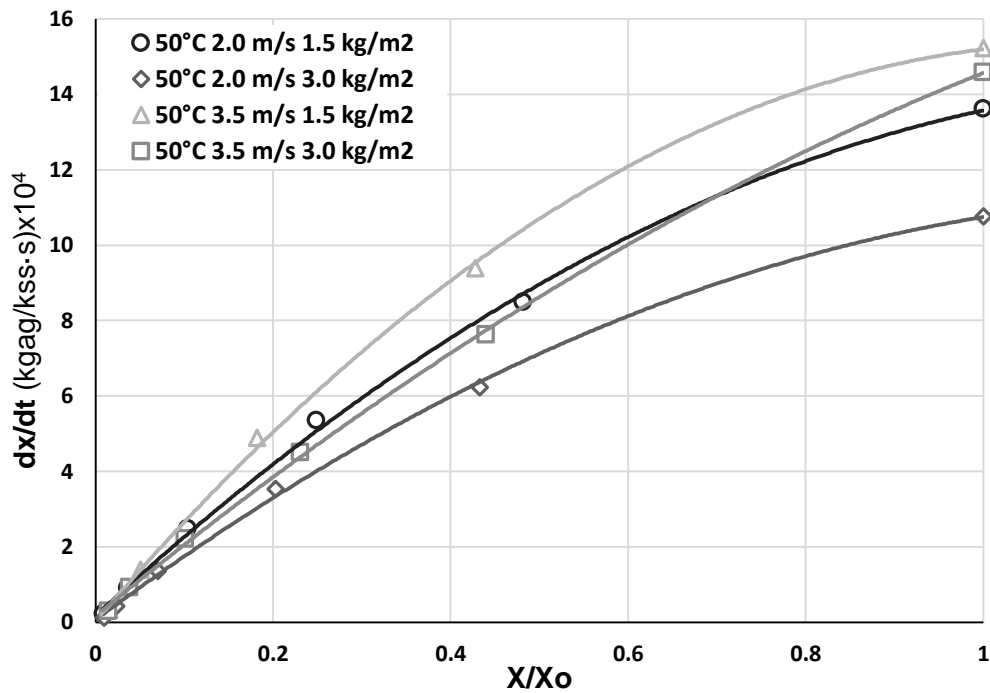
Los resultados indican que a 40°C se tiene una menor pérdida de agua a mayor velocidad de aire y alta densidad de carga, fenómeno que puede explicarse a partir de la aleatoriedad en el acomodo de hojas dentro del lecho no empacado y al efecto de “tapón” provocado por la alta densidad de carga dentro del tubo de fluidización, situación que se presume reduce el flujo de aire al proceso.



**Figura 24.** Velocidad de secado de hoja de estevia a 40°C (LNE)

La Figura 25 representa la velocidad de secado a 50°C y su relación con las variables velocidad del aire y densidad de carga en sus diferentes niveles, siendo el tratamiento con una pérdida de humedad más alta el T7 (3.5 ms<sup>-1</sup> y 1.5 kgm<sup>-2</sup>) y el más lento el T6 (2.0 ms<sup>-1</sup> y 3.0 kgm<sup>-2</sup>), a mayor velocidad del aire y menor carga, mayor velocidad de secado.





**Figura 25.** Velocidad de secado de hoja de estevia a 50°C (LNE)

La Figura 26 presenta la velocidad de secado en lecho no empacado a 60°C. El tratamiento de secado que presenta una mayor pérdida de humedad en el tiempo es el T11 (3.5 ms<sup>-1</sup>, 1.5 kgm<sup>-2</sup>), siguiendo los tratamientos T10 (2 ms<sup>-1</sup>, 3.0 kgm<sup>-2</sup>) y T12 (3.5 ms<sup>-1</sup>, 3.0 kgm<sup>-2</sup>) no presentando la densidad de carga un efecto significativo, finalmente el tratamiento más lento es el T9 (2 ms<sup>-1</sup> y 1.5 kgm<sup>-2</sup>).

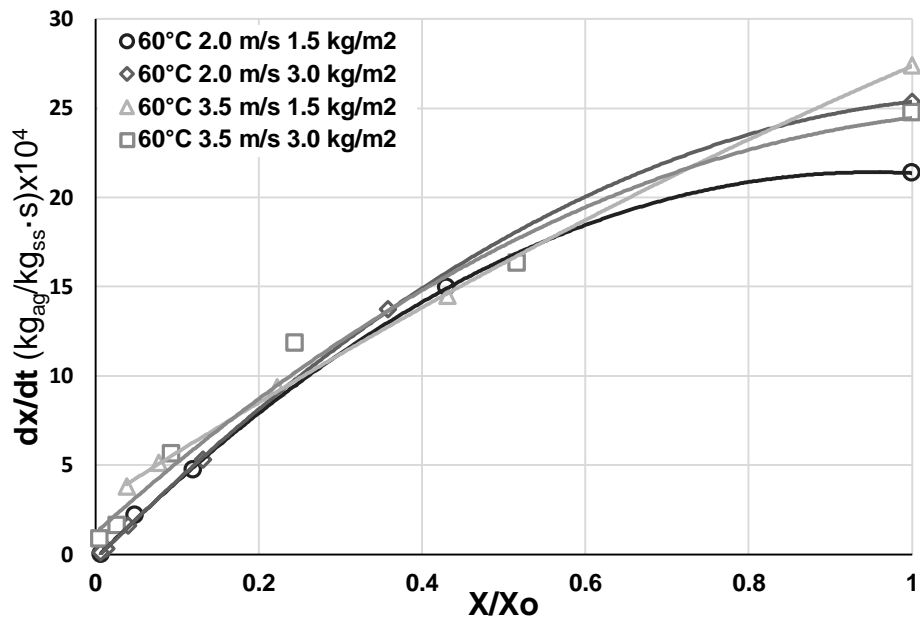
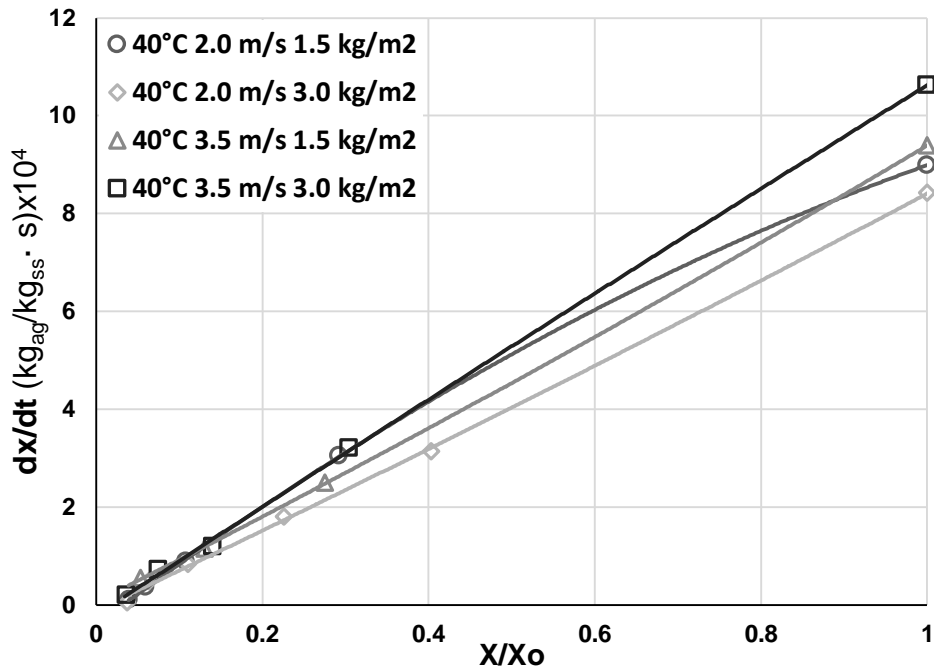


Figura 26. Velocidad de secado de hoja de estevia a 60°C (LNE)

A 60°C, el flujo de aire, no tiene efecto diferenciador en la pérdida de humedad, dado que el proceso de secado es más rápido.

### Lecho empacado (LE)

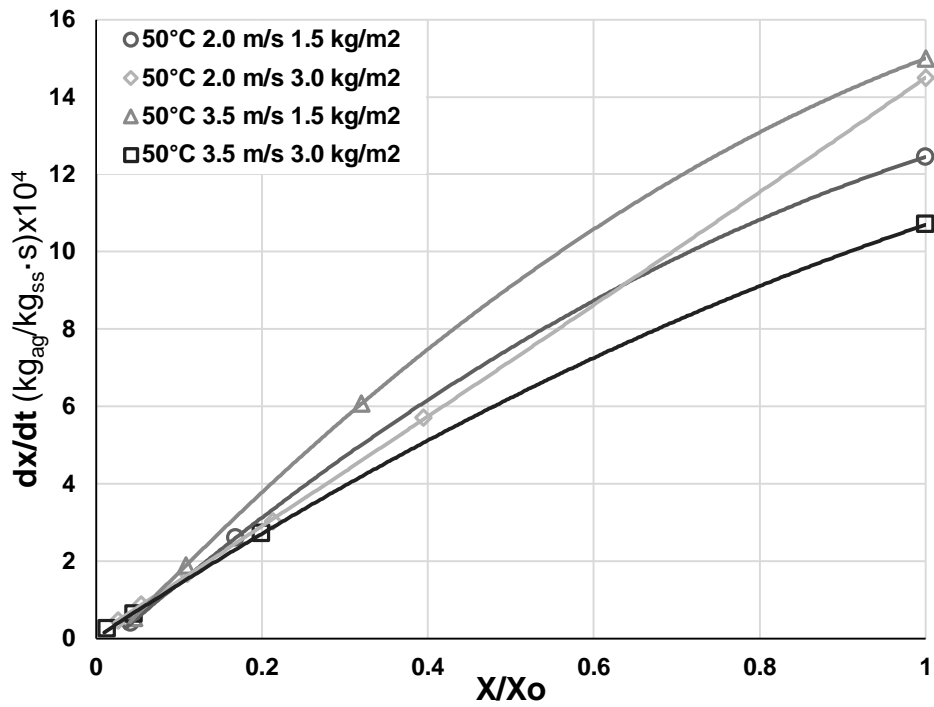
La Figura 27 indica que para 40 °C, una velocidad del aire de 3.5 ms<sup>-1</sup> coadyuvó a que la pérdida de humedad fuera más rápida, sin existir una diferencia significativa entre densidades de carga, mismo comportamiento se observa con velocidad de aire de 2 ms<sup>-1</sup>.



**Figura 27.** Velocidad de secado a 40°C (LE)

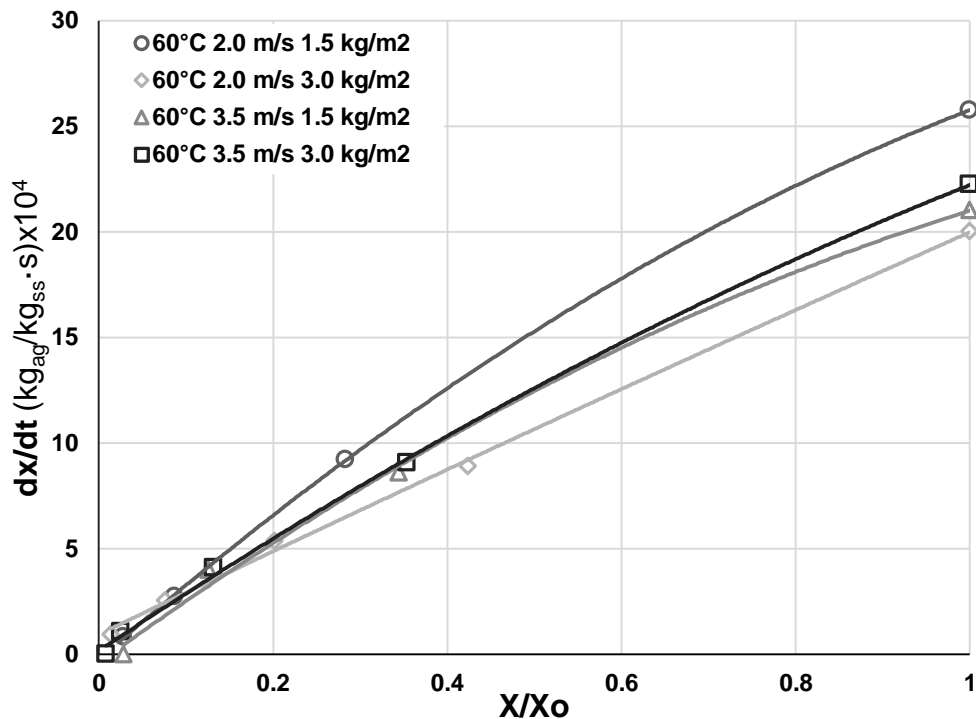
En comparación con LNE, la densidad de carga tuvo un efecto más importante sobre los tratamientos en lecho empacado.

La Figura 28 representa la velocidad de secado en lecho empacado a 50°C, siendo el tratamiento con una pérdida de humedad más eficiente el T7 (3.5 ms<sup>-1</sup> y 1.5 kgm<sup>-2</sup>). Entre los tratamientos con velocidad del aire de 3.5 ms<sup>-1</sup> la carga tiene un efecto significativo en la pérdida de humedad. A velocidades del aire de 2 ms<sup>-1</sup> la densidad de carga no presentó efecto diferenciador.



**Figura 28.** Velocidad de secado a 50°C (LE)

El lecho empacado (LE) y no empacado (LNE) presentaron una pérdida de humedad más eficiente a 3.5 ms<sup>-1</sup>, sin embargo el comportamiento ideal lo presentó el lecho no empacado al evidenciar una pérdida de humedad de acuerdo a las variables de proceso.



**Figura 29.** Velocidad de secado a 60°C (LE)

En la Figura 29 podemos observar el comportamiento de los tratamientos con lecho empacado a 60°C, siendo el tratamiento con una pérdida de humedad más eficiente el T10 (2.0 ms<sup>-1</sup> y 3.0 kgm<sup>-2</sup>). En los tratamientos con velocidad del aire de 2.0 ms<sup>-1</sup> (T9 y T10) la carga tiene un efecto significativo en la pérdida de humedad. A velocidades del aire de 3.5 ms<sup>-1</sup> la densidad de carga no presentó efecto significativo.

Realizando un comparativo entre lechos, el lecho empacado (LE) presentó una pérdida de humedad más eficiente a 2.0 ms<sup>-1</sup> a diferencia del lecho no empacado (LNE) que la presentó a 3.5 ms<sup>-1</sup>, caso similar que a 40°C e inverso que a 50°C. La densidad de carga tuvo un efecto diferenciador en LE a una misma velocidad de aire, en LNE no se observó efecto alguno.

La pérdida de humedad en LE, mostró una tendencia lineal, situación que refleja un fenómeno de secado estable y por lo tanto una tasa de evaporación constante.

Estas diferencias denotan que el uso de un LE en el secado de hojas de estevia coadyuva a un proceso de secado más estable.

### 4.3 Compuestos antioxidantes

La Tabla 11 muestra el contenido de fenoles totales ( $F_T$ ), flavonoides totales ( $F_L$ ) y capacidad antioxidante ( $C_A$ ), presentes en la hoja de estevia antes y después del secado en lecho no empacado (LNE).

En hojas deshidratadas, existe un decremento en los niveles de antioxidantes presentes en la hoja de estevia a temperaturas mayores de 40°C.

**Tabla 11.** Compuestos antioxidantes presentes en la hoja de estevia fresca y deshidratada en LNE

Tratamiento	Condiciones	$F_T$ (mg EAGg <sup>ss-1</sup> )	$F_L$ (mg EQ/g <sup>ss-1</sup> )	$C_A$ (% Inhibición del radical DPPH)
S/T	Fresca	47.64±1.63	105.62±5.48	93.66±0.08
T1	40°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	69.88±5.35	381.53±6.74	93.74±0.17
T2	40°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	65.40±4.07	337.79±3.67	93.86±0.28
T3	40°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	73.27±3.01	386.34±1.45	93.52±0.18
T4	40°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	73.82±5.30	362.99±2.18	93.49±0.29
T5	50°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	63.17±3.52	257.28±2.81	93.66±0.18
T6	50°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	73.64±2.51	302.95±6.18	93.87±0.14
T7	50°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	69.87±3.34	283.63±6.35	92.35±0.68
T8	50°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	50.75±2.32	134.30±7.39	93.68±0.18
T9	60° C 2.0 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	42.90±2.13	62.03±3.29	66.65±0.70
T10	60°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	40.49±1.02	34.89±1.79	78.74±0.10
T11	60°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	42.06±2.31	43.00±3.43	80.27±1.73
T12	60°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	48.64±2.16	65.36±2.87	65.44±2.22

$F_T$ : Fenoles totales,  $F_L$ : Flavonoides,  $C_A$ : Capacidad antioxidante

En la tabla 12 se muestra el contenido de contenido de fenoles totales ( $F_T$ ), flavonoides totales ( $F_L$ ) y capacidad antioxidante ( $C_A$ ), presentes en la hoja de estevia antes y después del secado en lecho empacado (LE).

El proceso de secado, incrementa los niveles de antioxidantes presentes en la hoja de estevia.

**Tabla 12.** Efecto del secado en LE sobre compuestos antioxidantes de hoja de estevia

Tratamiento	Condiciones	F <sub>T</sub> (mg EAG/g <sub>ss</sub> )	F <sub>L</sub> (mg EQ/g <sub>ss</sub> )	C <sub>A</sub> (% Inhibición del radical DPPH)
S/T	Fresca	71.50±1.74	161.46±1.0	92.79±0.13
T1	40°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	91.33±0.39	135.14±3.75	91.55±1.63
T2	40°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	114.60±1.01	275.90±1.35	92.58±0.95
T3	40°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	95.82±2.92	126.45±3.33	92.00±0.12
T4	40°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	118.04±0.11	373.86±3.97	93.80±0.34
T5	50°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	115.27±1.25	342.88±5.71	91.72±2.90
T6	50°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	118.19±0.07	319.96±9.60	93.66±0.33
T7	50°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	81.85±1.86	100.19±3.99	92.40±1.75
T8	50°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	102.08±1.29	264.89±3.47	92.93±0.52
T9	60° C 2.0 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	91.35±1.67	259.49±6.67	93.16±0.57
T10	60°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	94.43±0.07	308.48±5.70	92.80±0.29
T11	60°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	83.85±0.89	276.59±3.29	92.65±0.40
T12	60°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	114.45±4.72	402.68±1.42	93.31±0.18

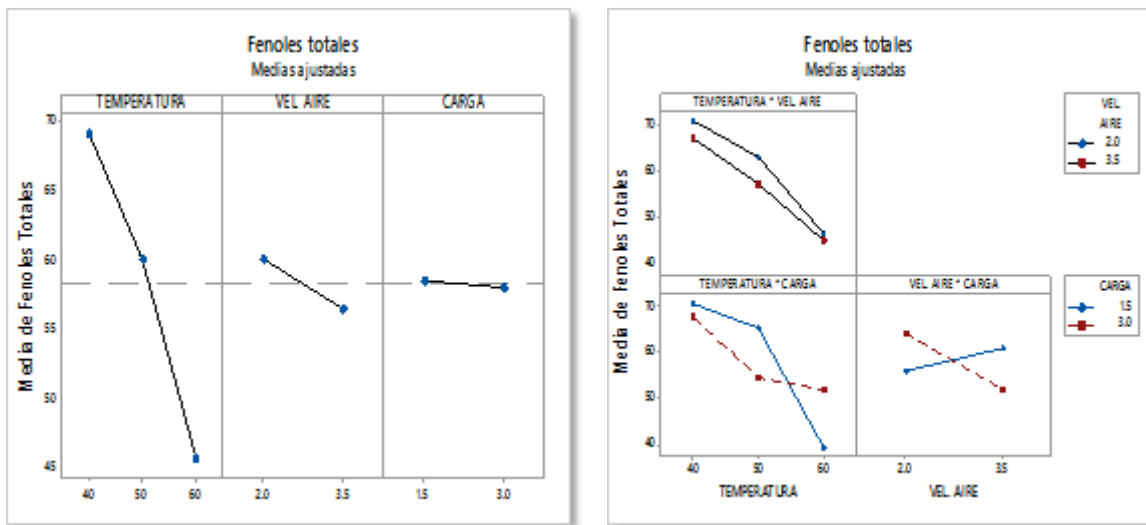
F<sub>T</sub>: Fenoles totales, F<sub>L</sub>: Flavonoides, C<sub>A</sub>: Capacidad antioxidante

### **Fenoles totales (F<sub>T</sub>)**

En LNE, los tratamientos a 40°C y 50°C presentan un incremento de fenoles totales (50.75-73.82 mg EAGg<sub>ss</sub><sup>-1</sup>) respecto a la hoja fresca (47.64 mg EAGg<sub>ss</sub><sup>-1</sup>). Los tratamientos a 60°C presentan valores muy similares a la hoja fresca y en tres de ellos (T9, T10 y T11) existe un decremento (Tabla 11).

Según Lemus-Mondaca *et al.* (2012), un decremento en fenoles durante el proceso de secado puede ser atribuido a alteraciones estructurales ocasionadas por la temperatura y/o la oxidación de los mismos por el efecto del aire. Asimismo, pueden existir interferencias en su cuantificación, tales como proteínas u otros compuestos.

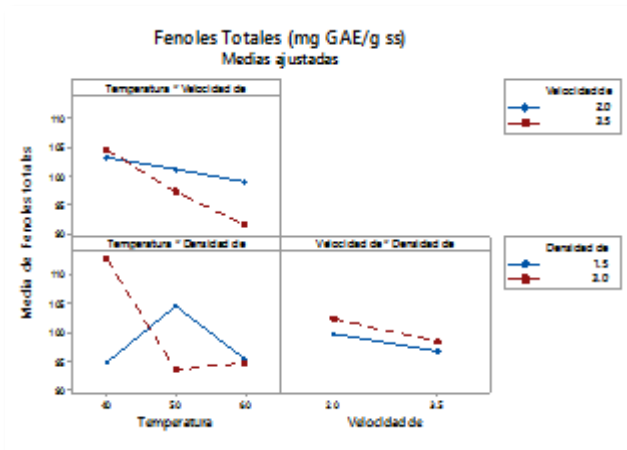
La variable que tiene un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre el contenido de fenoles totales en LNE, es la temperatura, así como las interacciones de las variables temperatura-densidad de carga y densidad de carga-velocidad del aire, tal y como se muestra en la Figura 30.



**Figura 30.** Efectos principales e interacciones para fenoles totales (LNE)

En lecho empacado (LE), todos los tratamientos presentan un incremento en la cuantificación de fenoles totales ( $83.85-118.19 \text{ mg EAG}_{\text{ss}}^{-1}$ ) respecto a la hoja fresca ( $71.50 \text{ mg EAG}_{\text{ss}}^{-1}$ ), a mayor densidad de carga ( $3.0 \text{ kgm}^{-2}$ ) mayor contenido de fenoles (Tabla 12).

La interacción temperatura-carga tiene un efecto significativo sobre el contenido de fenoles totales en hoja seca de estevia, a menor temperatura y mayor carga, mayor contenido de fenoles totales (Figura 31).



**Figura 31.** Interacciones para fenoles totales (LE)



Realizando un comparativo, los dos tipos de lecho presentan la misma interacción temperatura-densidad de carga, sin embargo en LNE, la temperatura tiene un efecto más significativo, dado que las hojas durante el secado se encuentran más expuestas.

Sledz *et al.* (2013), sugiere que la razón del incremento de los niveles de polifenoles puede deberse al rompimiento de constituyentes celulares del material.

Lemus-Mondaca *et al.* (2012), reportan a 40°C un aumento del 50% en fenoles totales respecto a la hoja fresca de estevia y explican que este aumento se encuentra relacionado con la formación de compuestos fenólicos habitualmente asociados a la disponibilidad de precursores de moléculas fenólicas que se derivan de la interconversión no enzimática entre ellas, asimismo indica que temperaturas iguales o superiores a 60°C causan una disminución.

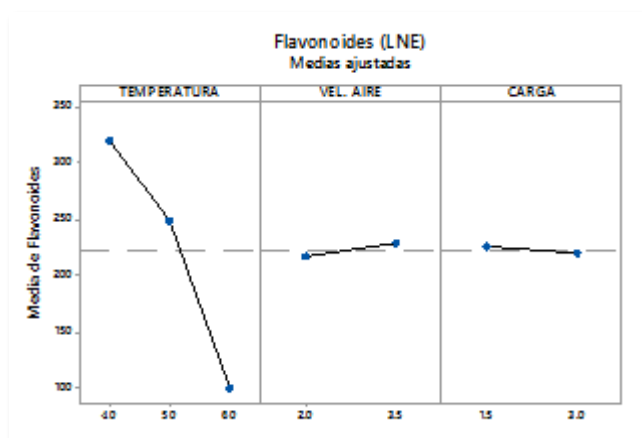
### ***Flavonoides totales (FL)***

Los tratamientos a 40°C y 50°C presentan un incremento en el contenido de flavonoides totales (134.30-386.34 mg EQg<sub>ss</sub><sup>-1</sup>) respecto a la hoja fresca en lechos no empacados (105.62 mg EQg<sub>ss</sub><sup>-1</sup>) (Tabla 11).

Los resultados de Lemus-Mondaca en 2012, presentan valores similares a temperaturas de proceso de 40°C respecto a la hoja fresca (88.65 mg QE100 g<sub>ss</sub><sup>-1</sup>), con valores de 138.97 mg QE100g<sub>ss</sub><sup>-1</sup>.

Los tratamientos a 60°C presentan un decremento en valores (65.36-34.89 mg EQg<sub>ss</sub><sup>-1</sup>) respecto a la hoja fresca, este comportamiento también se presentó en la cuantificación de fenoles totales (Tabla 11).

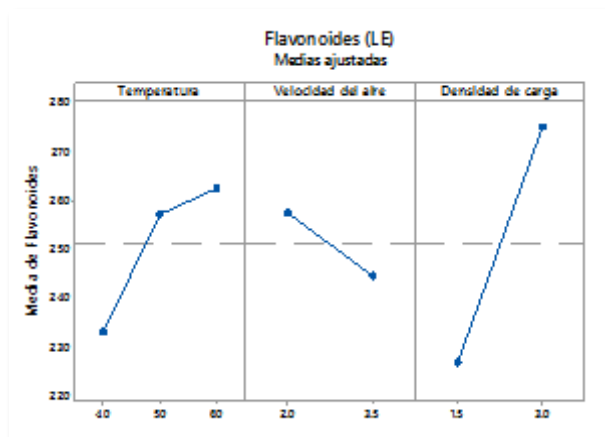
La variable que presentó un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre el contenido de flavonoides totales cuantificados en la hoja seca de estevia fue la temperatura (Figura 32).



**Figura 32.** Efectos principales para flavonoides totales (LNE)

En LE, los tratamientos a 40°C con baja densidad de carga (T1 y T3), así como el tratamiento T7 (50°C, 3.5 ms<sup>-1</sup> y 1.5 kgm<sup>-2</sup>) presentan un decremento en el contenido de flavonoides totales respecto a la hoja fresca (161.46 mg EQgs<sup>-1</sup>). Los demás tratamientos presentan un incremento máximo 149% (Tabla 12).

La variable que presentó un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre el contenido de flavonoides totales encontrados en la hoja seca de estevia fue la densidad de carga (figura 33). A mayor temperatura y menor velocidad del aire, mayor contenido de flavonoides.



**Figura 33.** Efectos principales sobre flavonoides totales (LE)

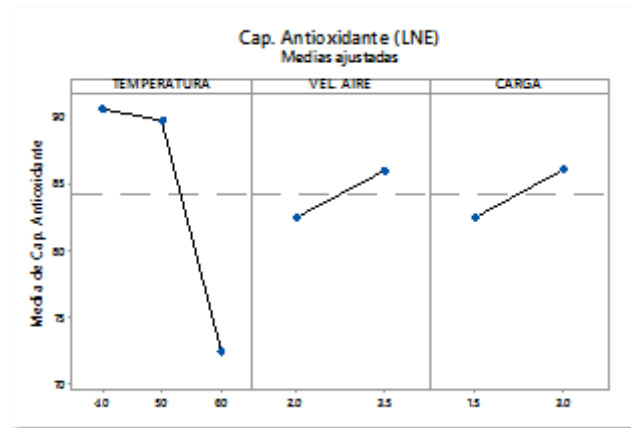
Periche *et al.* (2013), encontraron que el alto contenido de flavonoides en la hoja de estevia se debe a la facilidad de extracción de los flavonoides por modificaciones estructurales resultantes del secado del material.

### Capacidad antioxidante ( $C_A$ )

Los valores de  $C_A$  en lechos no empacados (LNE), expresados en porcentaje de inhibición del radical DPPH, oscilan entre 93.86 y 65.44%. Los mayores valores de actividad antioxidante los presentan los tratamientos a 40°C, 50°C (92.35-93.87) y hoja fresca (93.66). Para los tratamientos a 60 °C se observa un decremento (65.44-80.27%) en comparación con la hoja fresca.

El valor más alto de inhibición lo presentó el T2 (40°C, 2 ms<sup>-1</sup> 3.0 kgm<sup>-2</sup>).

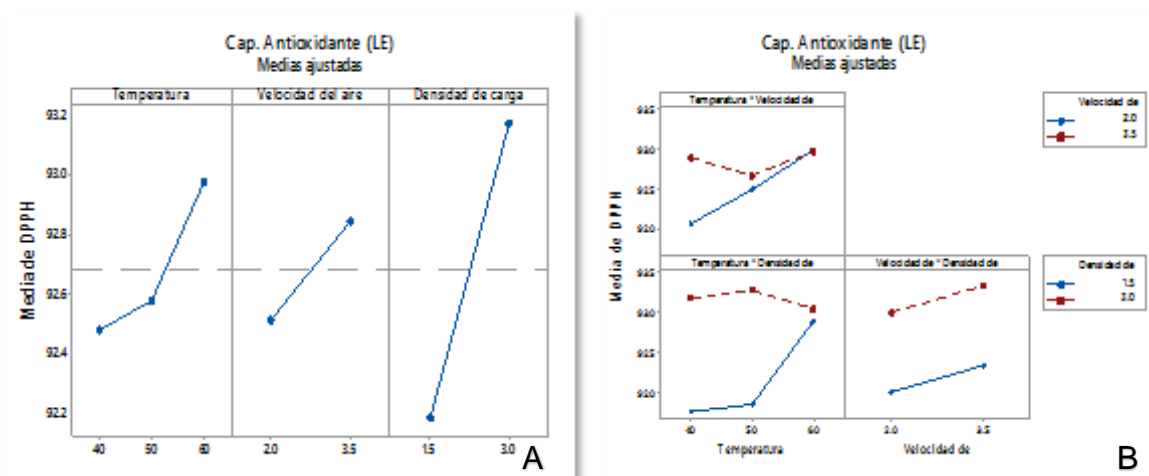
La temperatura, es el único parámetro relacionado con la capacidad antioxidante en todos los tratamientos evaluados en LNE. (Figura 34).



**Figura 34.** Efectos principales para capacidad antioxidante (LNE)

Los valores de  $C_A$  para LE, se mantienen constantes en todos los tratamientos de secado (91.55-93.80%).

La densidad de carga e interacción de las tres variables, presentaron un efecto significativo sobre la capacidad antioxidante en LE (Figura 31).



**Figura 35.** Efectos principales (A) e interacciones (B) DPPH· (LE)

Las diferencias de capacidad antioxidante entre lechos, podría explicarse por el empaqueo de hojas, mismo que se encarga de proteger sus propiedades antioxidantes al no exponerlas al flujo directo y constante de aire.

#### 4.4. Glucósidos de esteviol

Los resultados de la determinación de glucósidos de esteviol en hojas de estevia deshidratadas en lecho no empaclado (LNE), se muestran en la Tabla 13.

En la mayoría de los tratamientos evaluados, existe un decremento en el contenido de rebaudiósido A ( $R_A$ ) respecto a su valor en hoja fresca, de manera inversa los niveles de esteviósido ( $E_V$ ) se incrementan.

**Tabla 13.** Contenido de glucósidos de esteviol (LNE)

Tratamiento	Condiciones	R <sub>A</sub>	E <sub>V</sub>
		(mg g <sub>ss</sub> <sup>-1</sup> )	(mg g <sub>ss</sub> <sup>-1</sup> )
S/T	Fresca	154.69±0.13	22.54±0.08
T1	40°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	74.06±1.28	65.50±0.47
T2	40°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	56.70±0.62	40.40±0.91
T3	40°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	67.21±1.74	46.62±1.38
T4	40°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	69.24±1.92	58.39±0.21
T5	50°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	60.24±0.82	49.71±1.32
T6	50°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	61.68±1.24	55.42±0.41
T7	50°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	69.70±0.09	56.88±0.12
T8	50°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	62.91±0.92	51.22±1.12
T9	60° C 2.0 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	68.33±1.19	47.71±0.60
T10	60°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	59.06±0.23	31.65±1.69
T11	60°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	75.66±0.12	50.62±1.38
T12	60°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	71.20±1.6	53.71±0.30

La Tabla 14 muestra el contenido de rebaudiósido A (R<sub>A</sub>) y esteviósido (E<sub>V</sub>) de la hoja fresca de estevia y de la hoja deshidratada en lecho empacado (LE).

**Tabla 14.** Contenido de glucósidos de esteviol (LE)

Tratamiento	Condiciones	R <sub>A</sub>	E <sub>V</sub>
		(mg g <sub>ss</sub> <sup>-1</sup> )	(mg g <sub>ss</sub> <sup>-1</sup> )
S/T	Fresca	61.23±0.30	22.45±0.42
T1	40°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	79.57±7.96	38.27±15.01
T2	40°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	87.14±1.82	45.21±14.08
T3	40°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	87.97±1.84	41.45±0.19
T4	40°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	86.15±4.72	40.33±3.79
T5	50°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	92.94±4.43	35.25±13.02
T6	50°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	85.95±1.12	51.85±2.28
T7	50°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	77.42±11.51	36.13±9.34
T8	50°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	86.72±5.75	40.78±1.39
T9	60° C 2.0 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	81.81±0.32	30.67±10.84
T10	60°C 2.0 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	88.91±0.87	43.07±19.67
T11	60°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 1.5 kgm <sup>-2</sup>	82.80±4.64	38.94±10.70
T12	60°C 3.5 ms <sup>-1</sup> 3.0 kgm <sup>-2</sup>	83.68±5.46	44.02±6.02

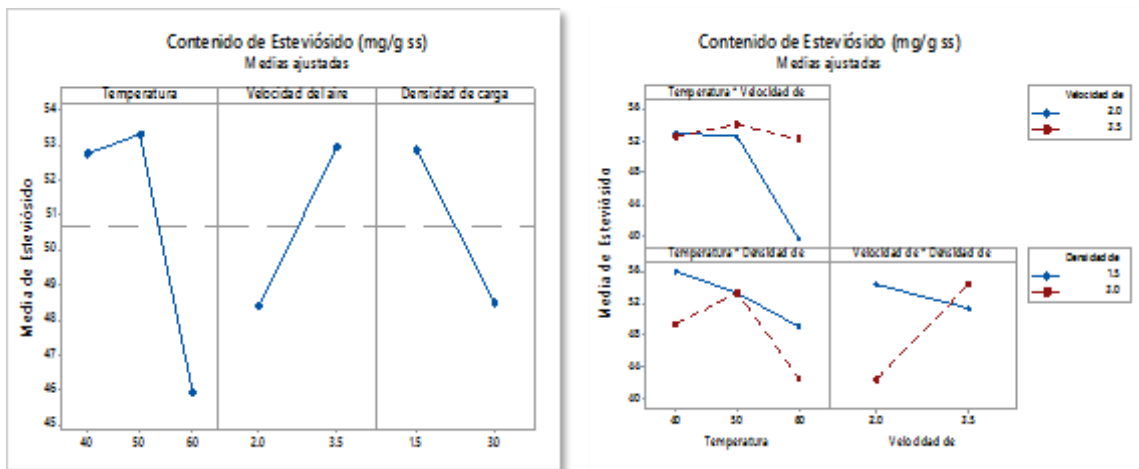
## Esteviósido ( $E_V$ )

Existe un incremento en los valores de concentración de  $E_V$  en todos los tratamientos de secado realizados con LNE, en comparación con los valores encontrados en la hoja fresca (40-190%).

De manera específica, el  $E_V$  alcanzó su mayor concentración con el tratamiento T1 (40°C, 2 ms<sup>-1</sup> y 1.5 kgm<sup>-2</sup>).

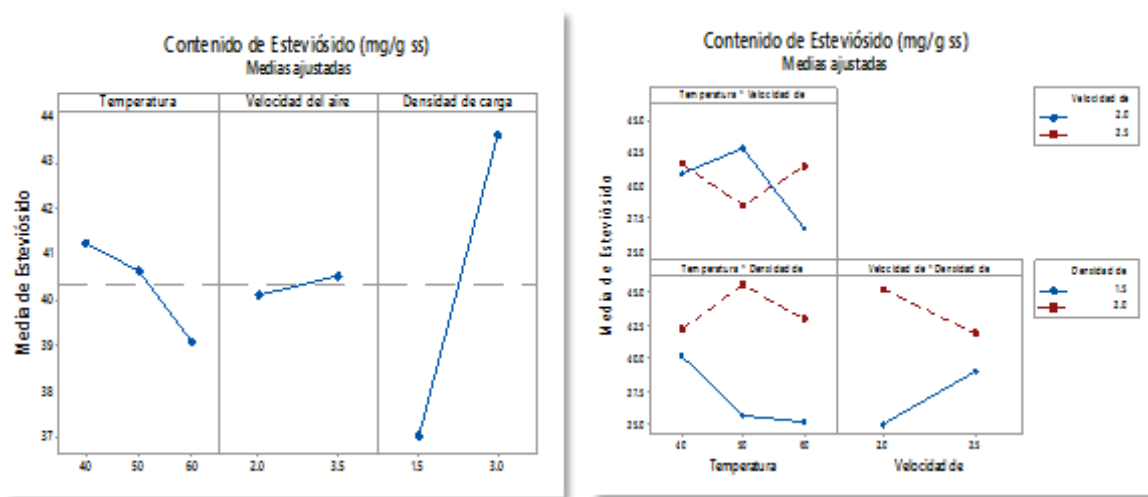
Las tres variables, temperatura, velocidad del aire y densidad de carga, así como sus interacciones, tienen un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre el contenido de  $E_V$  en LNE.

El Figura 36 muestra las medias de los efectos principales sobre el contenido de  $E_V$ , en donde a temperaturas de 40°C y 50 °C la concentración de  $E_V$  es más alta (40.40-65.50 mg g<sub>ss</sub><sup>-1</sup>) que a 60°C (31.66-53.71 mg g<sub>ss</sub><sup>-1</sup>). A mayor velocidad del aire y menor carga mayor contenido de  $E_V$ .



**Figura 36.** Efectos principales e interacciones para  $E_V$  (LNE)

En LE, existen incrementos en la concentración de  $E_V$  que van del 37 al 130% en todos los tratamientos de secado (30.67-51.85 mg g<sub>ss</sub><sup>-1</sup>) en comparación con los valores encontrados en la hoja fresca (22.45 mg g<sub>ss</sub><sup>-1</sup>).



**Figura 37.** Efectos principales e interacciones para  $E_V$  (LE)

De manera específica, el contenido de  $E_V$  alcanzó su mayor concentración con el tratamiento T6 ( $50^\circ\text{C}$ ,  $2 \text{ ms}^{-1}$  y  $3.0 \text{ kgm}^{-2}$ ).

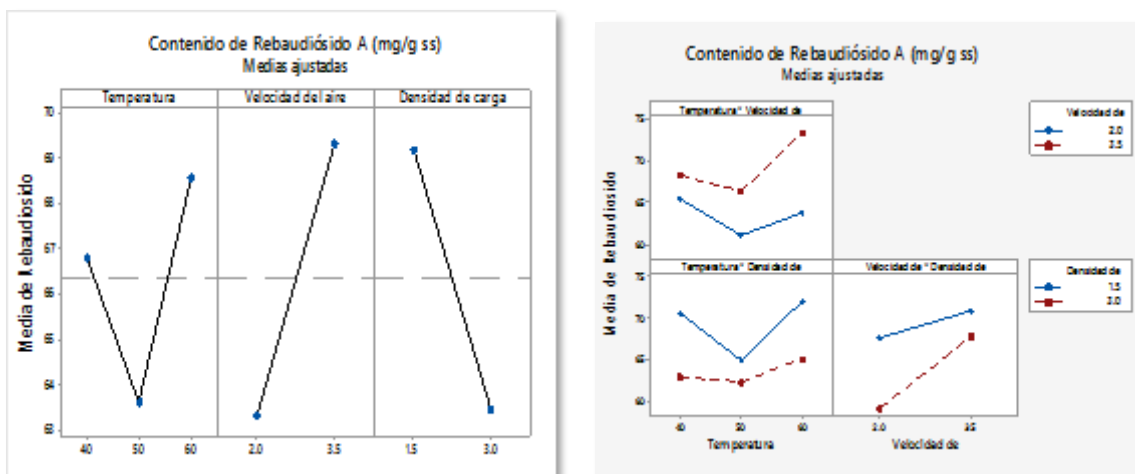
En los dos tipos de lecho, existe un incremento de concentración de  $E_V$  en todos los tratamientos de secado con respecto a la hoja fresca.

Periche *et al.* (2013), reportan un decremento en la concentración de  $E_V$  respecto a la hoja fresca, valores que difieren a los reportados en este trabajo de experimentación, el cual presenta un comportamiento inverso.

### **Rebaudiósido A ( $R_A$ )**

En lecho no empacado (LNE), el contenido de  $R_A$ , presenta un decremento de concentración de todos los tratamientos de secado ( $56.70\text{-}75.66 \text{ mg g}_{\text{ss}}^{-1}$ ), en comparación con el valor de hoja fresca ( $154.69 \text{ mg g}_{\text{ss}}^{-1}$ ).

El comportamiento del  $R_A$ , en los diversos tratamientos de secado, es inverso al del  $E_V$ , al presentar un decremento en su concentración, respecto a la hoja fresca.



**Figura 38.** Efectos principales e interacciones para  $R_A$  (LNE)

Las tres variables, temperatura, velocidad del aire y densidad de carga, así como sus interacciones, tienen un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre el contenido de  $R_A$  en LNE.

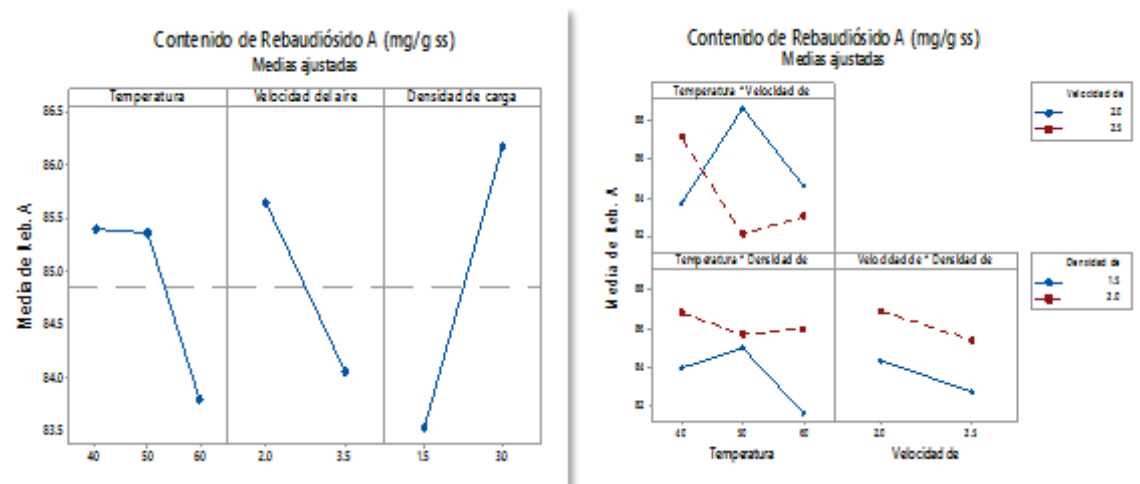
La Figura 37 muestra las medias de los efectos principales sobre el contenido de  $R_A$ , en donde la temperatura no muestra un comportamiento lineal, dado que la concentración de  $E_V$  es más alta a  $60^\circ\text{C}$  y más baja a  $50^\circ\text{C}$ . Para las variables velocidad del aire y densidad de carga, se observa que a mayor velocidad del aire mayor contenido de  $R_A$  y a menor carga mayor contenido de  $R_A$ .

Cabe hacer notar que aunque las tres variables tienen un papel significativo en la concentración de glucósidos de esteviol, la temperatura presenta el efecto más significativo ( $p < 0.05$ ), dado que su incremento o decremento varía de acuerdo al nivel de temperatura utilizado; la velocidad del aire y densidad de carga conservan los mismos efectos en ambos glucósidos de esteviol.

En LE, la concentración de  $R_A$ , presenta un incremento en todos los tratamientos de secado ( $77.42$ - $92.94 \text{ mg g}_{\text{ss}}^{-1}$ ) en comparación con los valores de hoja fresca ( $61.23 \text{ mg g}_{\text{ss}}^{-1}$ ), mismos que van desde 37 hasta 130%. El contenido de  $R_A$  alcanzó su mayor concentración con el tratamiento T5 ( $50^\circ\text{C}$ ,  $2 \text{ ms}^{-1}$ ,  $1.5 \text{ kgm}^{-2}$ ).



Para ambos glucósidos, las tres variables implicadas en el secado, temperatura, velocidad del aire y densidad de carga, así como sus interacciones, presentan un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre su concentración en LE (Figura 37 y 39).



**Figura 39.** Efectos principales e interacciones para RA (LE)

El incremento en concentración de  $E_V$  en LE y LNE, así como de  $R_A$  en LE, se podría explicar por la presencia de precursores de glucósidos de esteviol que reaccionan durante el calentamiento de la hoja de estevia, para formar los edulcorantes (Lemus-Mondaca *et al.* 2015).

## Capítulo 5. Conclusiones

Las tres variables evaluadas tuvieron un efecto significativo en el tiempo de secado. El orden de significancia fue la temperatura, la densidad de carga y la velocidad de aire en lecho empacado (LE) y lecho no empacado (LNE). La densidad de carga tiene un mayor efecto en LE que en LNE.

Los cambios de color ( $\Delta E$ ) de la hoja deshidratada con relación a la hoja fresca es afectada por la temperatura de secado en LNE; a menor temperatura mayor cambio de color. En LE el  $\Delta E$  es similar para todas las condiciones estudiadas. La temperatura es la variable significativa en el contenido de  $F_T$ ,  $F_L$  y  $C_A$  en el secado de hojas de estevia en LNE, a menor temperatura mayor es la concentración de antioxidantes. En LE, todos los tratamientos de secado presentan un incremento en el contenido de antioxidantes, siendo la densidad de carga y sus interacciones las variables con efecto significativo.

Todos los tratamientos de secado disminuyen el contenido de rebaudiósido A ( $R_A$ ), la pérdida es menor en LE que en LNE. La densidad de carga fue significativa en LE, a mayor densidad de carga menor pérdida de  $R_A$ . En LNE las tres variables fueron significativas. Las variables estudiadas tuvieron efectos inversos en LE con relación a LNE.

El deshidratado incrementa la concentración de esteviósido ( $E_V$ ). En LNE a menor temperatura, mayor velocidad del aire y menor densidad de carga, mayor concentración de  $E_V$ . En LE, la densidad de carga es significativa, a mayor densidad de carga mayor concentración de  $E_V$ .

Los tratamientos de secado realizados en LNE, son afectados por la temperatura, dado que existe una mayor superficie de transferencia de masa y energía durante el proceso de secado, condición que no se cumple en LE, al encontrarse menos expuestos a las condiciones de secado aplicadas.

Las condiciones de secado adecuadas para la conservación de las propiedades fisicoquímicas de la hoja de estevia son en LE a  $50^\circ\text{C}$ ,  $2 \text{ ms}^{-1}$  y  $1.5 \text{ kgm}^{-2}$ .

## Recomendaciones

Altas transferencias de calor en un secador de lecho fluidizado permiten llevar a cabo un proceso de secado rápido y relativamente económico en comparación con otros tipos de secado convectivo, situación que hace necesario un estudio para evaluar el gasto energético real empleado durante el proceso de secado y en su caso, proponer algunos cambios y/o mejoras en el equipo de secado, con la finalidad para eficientarlo.

El presente trabajo, propone la evaluación y cuantificación de algunos componentes de la hoja de estevia como indicadores de calidad, sin embargo resulta importante promover indicadores más precisos y que tomen en cuenta parámetros tales como variedad, lugar y condiciones de cultivo, entre las más importantes.

## **Bibliografía**

### **Artículos científicos**

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28, 25-30.

Brandle J.F. and Telmer P.G.(2007). Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry* 68:1855-1863.

Dwivedy S., Rayaguru K., Sahoo G.R. (2012). Effect of drying methods on quality characteristics of medicinal indian borage (*Coleus aromaticus*) leaves. *Journal Food Process Technology* 3:11.

Chan, P., Linson, B., Chen, Y., Liu, J., Hsieh, M., Cheng, J. (2000). A double blind placebo- controlled study of the effectiveness and tolerability of oral stevioside in human hypertension. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 50, 215–220.

Chen, J., Jeppesen, P., Abudula, R., Dyrskog, S., Colombo, M., Hermansen, K. (2006). Stevioside does not cause increased basal insulin secretion or b-cell desensitization as does the sulphonylurea, glibenclamide: Studies in vitro. *Life Science*, 78, 1748–1753.

Chua K.J. and Chou S.K. (2003). Low-cost drying methods for developing countries. Review. *Trends in Food Science & Technology* 14 (2003) 519-528.

Geldart, D. (1973). Types of gas fluidization. *Powder Technology*, 7, 285-292.

Ghanta, S., Banerjee, A., Poddar, A., Chattopadhyay, S. (2007). Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of *Stevia rebaudiana* Bertoni, a natural sweetener. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 55, 10962–10967.

Goyal., S., Samsher, K., Goyal., R.K. (2010). *Stevia (Stevia rebaudiana)* a bio-sweetner: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 61(1), 1-10.

Granato D. y Masson M.L. (2010). Instrumental color and sensory acceptance of soy-based emulsions: a response Surface approach. *Ciencia y tecnología de los alimentos*, Campinas, 30 (4): 1090-1096.

Ivanova *et al.* (2010). Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 75 (1) 45-59.

Jayaraman, S., Manoharan, M., Illanchezian, S. (2008). In-vitro antimicrobial and antitumor activities of *Stevia rebaudiana* (Asteraceae) leaf extracts. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7, 1143–1149.

Julkunen-Tiito, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of Northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33: 213-217.

Kochikyan, V., Markosyan, A., Abelyan, L., Balayan, A., Abelyan, V. (2006). Combined enzymatic modification of stevioside and rebaudioside A. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 42, 31–37.

Kumar, C., Karim, M. a. & Joardder, M.U.H. (2014). Intermittent drying of food products: A critical review. *Journal of Food Engineering*, 121(November 2015), pp.48–57. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877413004275>.

Lemus-Mondaca, R. *et al.* (2012<sup>a</sup>). *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*, 132(3), pp.1121–1132. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814611017559>.

Martínez Cruz M. (2015). *Stevia rebaudiana* Bertoni. A review. *Cultivos Tropicales* Vol. 36. No. Especial, pp.5-15.

Miranda Medrano J.A. (2014). <https://www.youtube.com/watch?v=SQ719OHZNBk>

Misra, H.; Soni, M.; Silawat, N.; Mehta, D.; Mehta, B. K. y Jain, D. C. (2011). “Antidiabetic activity of mediumpolar extract from the leaves of *Stevia rebaudiana* Bert. (Bertoni) on alloxan-induced diabetic rats”. *Journal of Pharmacy & Bioallied*

Sciences, vol. 3, no. 2, abril de 2011, pp. 242-248, ISSN 0975-7406, DOI 10.4103/0975-7406.80779.

Oro T., Ogliari P.J., Amboni C.R.D.M., Barrera-Arellano D., Block J.M. (2008). Evaluación de la calidad durante el almacenamiento de nueces Pecan (*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch) acondicionadas en diferentes envases. *Grasas y aceites* 59 (2) Abril-Junio 132-138.

Periche, A. *et al.* (2015). Influence of drying method on steviol glycosides and antioxidants in *Stevia rebaudiana* leaves. Institut of Food Engineering for Development, Food Technology Departament University Politécnica of Valencia. *Food Chemistry* 172 pp. 1-6.

Peterson, G.L. (1979). Review of the Folin protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Randall. *Analytical biochemistry*, 100: 201-220.

Rocha *et al.* (2011). Influence of drying process on the quality of medicinal plants: A review. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5 (33), pp. 7076-7084.

Rudra S.G., Singh H., Bau S., Shivhare U.S. (2008). Enthalpy entropy compensation during thermal degradation of chlorophyll in mint and coriander puree. *Journal of Food Engineering* 86, 379-387.

Sharma N., Kaushal N., Chawla A., Mohan M., Sethi A., Sharma Y. (2006). *Stevia rebaudiana*. A review. *Agrobios Newslett.* 5:46-48

Shukla Shruti, Mehta Archana, Mehta Pradeep, Bajpai Vivek K. (2012). Antioxidant ability and total phenolic content of aqueous leaf extracts of *Stevia rebaudiana* Bert. *Experimental and Toxicology Pathology* 64, 807-811.

Singleton, V.L. and Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.

Sledz M., Nowacka M., Wiktor A., Witrowa-Rajchert D. (2013). Selected chemical and physico-chemical properties of microwave-convective dried herbs. *Food and bioproducts processing* 91, 421-428.

Yusof Y.A., Ali M.A., Chin N.L., Ibrahim M.N., Basra S.M.A. (2014). Drying kinetics and color analysis of Moringa oleífera leaves. Agriculture and Agricultural Science Procedia 2:394-400.

Zhu, H., Wang, Y., Liu, Y., Xia, Y., Tang, T. (2010). Analysis of flavonoids in Portulaca oleracea L. by UV-Vis spectrophotometry with comparative study of different extraction technologies. Food Analytical Methods, 3 (2), 90-97.

### **Libros y Tesis**

Calva R. (2007). Comparación de eficiencia energética entre sistemas de secado horizontal y vertical. Tesis de maestría. IPN.

García, F. (2014). Evaluación de los efectos del proceso de secado sobre la calidad de la Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) y la Hierbabuena (Mentha spicata). Universidad de Colombia.

Ferreira Maria do Carmo and Lima Brito Renata de Aquino (2011). Chapter 3. Fluidization of Low-Sphericity Particles. Transport Phenomena in Particulate Systems.

Geankoplis, C. (2006). Procesos de transporte y principios de procesos de separación. Compañía Editorial Continental. Cuarta Edición.

Hirschler R. (2012). Color in food. Technological and Psychophysical Aspect. Chapter 10. Whiteness, Yellowness and Browning in Food Colorimetry. A critical review.

Houghton, P. and Mukherjee P.K. (2009). Evaluation of herbal medicinal products. Perspectives in quality, safety and efficacy. Editorial Pharmaceutical Press.

Kunni D. y Levenspiel O. (1991). Fluidization Engineering. Second Edition. Butterworth-Heinemann.

Méndez Camelo G.A. (2013). Caracterización química y colorimétrica de cultivares de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) Tesis de maestría. IPN. Departamento de biotecnología.

N.N. Mohsenin, (1970). Physical properties of plant and animal materials. New York: Gordon and Breach Science Publishers.

Nonhebel C. (1979). El secado de sólido en la industria química. Editorial Reverté.

Rodríguez Cortina J. (2013). Contribución al estudio de la intensificación del proceso de secado de tomillo (*Thymus vulgaris* L.): Aplicación de ultrasonidos de potencia y secado intermitente. Tesis Doctoral. Valencia.

Kinghorn Douglas A. (2002). Stevia. The genus Stevia. Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy. University of Illinois at Chicago. USA.

Okos Martin R., Narsimhan Ganesan, Singh Rakesh K., Weitnauer A.C. (1992). Food Dehydration. Handbook of Food Engineering.

Vaquiرو Herrera H.A. (2009). Contribución al estudio y optimización del secado intermitente: aplicación al secado de mango (*Manguifera indica* L. var. Tommy Atkins). Tesis doctoral. Valencia.

### **Manuales y normas**

AOAC Official Methods of Analysis (Vol. I). Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs. 15th edition, (1990). Edited by Kenneth Helrich.



# Anexos

## Anexo A

### Análisis estadísticos (ANOVA)

#### 1) Tiempos de secado

#### Regresión factorial general: Tiempo secado vs. Temperatura, Vel. Aire, Densidad de carga

##### Análisis de Varianza (LE)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	11	43800.5	3981.9	61.22	0.000
Lineal	4	42242.5	10560.6	162.37	0.000
Temperatura	2	39925.1	19962.5	306.92	0.000
Vel. Aire	1	532.0	532.0	8.18	0.014
Densidad de carga	1	1785.4	1785.4	27.45	0.000
Interacciones de 2 términos	5	1522.9	304.6	4.68	0.013
Temperatura*Vel. Aire	2	293.6	146.8	2.26	0.147
Temperatura*Densidad de carga	2	1112.2	556.1	8.55	0.005
Vel. Aire*Densidad de carga	1	117.0	117.0	1.80	0.205
Interacciones de 3 términos	2	35.1	17.5	0.27	0.768
Temperatura*Vel. Aire*D.carga	2	35.1	17.5	0.27	0.768
Error	12	780.5	65.0		
Total	23	44581.0			

##### Análisis de Varianza (LNE)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	11	46544.3	4231.3	22.44	0.000
Lineal	4	45832.9	11458.2	60.76	0.000
Temperatura	2	43687.6	21843.8	115.83	0.000
Vel. Aire	1	912.7	912.7	4.84	0.048
Densidad de carga	1	1232.7	1232.7	6.54	0.025
Interacciones de 2 términos	5	705.2	141.0	0.75	0.603
Temperatura*Vel. Aire	2	592.6	296.3	1.57	0.248
Temperatura*Densidad de carga	2	58.6	29.3	0.16	0.858
Vel. Aire*Densidad de carga	1	54.0	54.0	0.29	0.602
Interacciones de 3 términos	2	6.2	3.1	0.02	0.984
Temperatura*Vel. Aire*D.Carga	2	6.2	3.1	0.02	0.984
Error	12	2263.0	188.6		
Total	23	48807.3			

## 2) Fenoles totales

### Análisis de Varianza (LNE)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	11	4170.17	379.11	4.21	0.010
Lineal	4	2327.22	581.80	6.46	0.005
TEMPERATURA	2	2245.42	1122.71	12.46	0.001
VEL. AIRE	1	80.62	80.62	0.89	0.363
CARGA	1	1.18	1.18	0.01	0.911
Interacciones de 2 términos	5	1015.91	203.18	2.26	0.115
TEMPERATURA*VEL. AIRE	2	18.72	9.36	0.10	0.902
TEMPERATURA*CARGA	2	560.91	280.45	3.11	0.081
VEL. AIRE*CARGA	1	436.28	436.28	4.84	0.048
Interacciones de 3 términos	2	827.05	413.52	4.59	0.033
TEMPERATURA*VEL. AIRE*CARGA	2	827.05	413.52	4.59	0.033
Error	12	1081.10	90.09		
Total	23	5251.27			

### Análisis de Varianza (LE)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	11	1542.36	140.214	0.63	0.772
Lineal	4	410.35	102.587	0.46	0.762
Temperatura	2	322.33	161.163	0.73	0.504
Velocidad del aire	1	59.39	59.390	0.27	0.614
Densidad de carga	1	28.63	28.634	0.13	0.726
Interacciones de 2 términos	5	1039.77	207.954	0.94	0.491
Temperatura*Velocidad del aire	2	99.97	49.983	0.23	0.801
Temperatura*Densidad de carga	2	939.38	469.692	2.12	0.163
Velocidad del aire*D.carga	1	0.42	0.422	0.00	0.966
Interacciones de 3 términos	2	92.23	46.117	0.21	0.815
Temperatura*Vel.aire*D. carga	2	92.23	46.117	0.21	0.815
Error	12	2660.86	221.738		
Total	23	4203.22			

## 3) Flavonoides

### Análisis de Varianza (LNE)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	11	220630	20057	3.57	0.019
Lineal	4	201206	50301	8.94	0.001
TEMPERATURA	2	200206	100103	17.79	0.000
VEL. AIRE	1	751	751	0.13	0.721
CARGA	1	249	249	0.04	0.837
Interacciones de 2 términos	5	13510	2702	0.48	0.784
TEMPERATURA*VEL. AIRE	2	6168	3084	0.55	0.592
TEMPERATURA*CARGA	2	3327	1663	0.30	0.749
VEL. AIRE*CARGA	1	4015	4015	0.71	0.415
Interacciones de 3 términos	2	5913	2957	0.53	0.604
TEMPERATURA*VEL. AIRE*CARGA	2	5913	2957	0.53	0.604
Error	12	67505	5625		
Total	23	288135			

**Análisis de Varianza (LE)**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	11	45298	4118.0	0.34	0.959
Lineal	4	19035	4758.6	0.39	0.811
Temperatura	2	3119	1559.3	0.13	0.881
Velocidad del aire	1	307	307.4	0.03	0.876
Densidad de carga	1	15608	15608.5	1.28	0.279
Interacciones de 2 términos	5	16751	3350.2	0.28	0.918
Temperatura*Velocidad del aire	2	8514	4257.1	0.35	0.712
Temperatura*Densidad de carga	2	2060	1029.8	0.08	0.919
Velocidad del aire*D.carga	1	6177	6177.0	0.51	0.490
Interacciones de 3 términos	2	9512	4756.1	0.39	0.685
Temperatura*Vel.aire*D.carga	2	9512	4756.1	0.39	0.685
Error	12	146004	12167.0		
Total	23	191301			

**4) Capacidad antioxidante**

**Análisis de Varianza (LNE)**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	11	2232.43	202.95	2.03	0.119
Lineal	4	1812.45	453.11	4.54	0.018
TEMPERATURA	2	1661.40	830.70	8.33	0.005
VEL. AIRE	1	74.33	74.33	0.75	0.405
CARGA	1	76.72	76.72	0.77	0.398
Interacciones de 2 términos	5	334.54	66.91	0.67	0.653
TEMPERATURA*VEL. AIRE	2	206.25	103.12	1.03	0.385
TEMPERATURA*CARGA	2	99.75	49.88	0.50	0.619
VEL. AIRE*CARGA	1	28.54	28.54	0.29	0.602
Interacciones de 3 términos	2	85.44	42.72	0.43	0.661
TEMPERATURA*VEL. AIRE*CARGA	2	85.44	42.72	0.43	0.661
Error	12	1196.98	99.75		
Total	23	3429.41			

**Análisis de Varianza (LE)**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	16	41.537	2.5961	2.28	0.012
Lineal	4	23.158	5.7895	5.09	0.001
Temperatura	2	3.359	1.6797	1.48	0.237
Velocidad del aire	1	1.988	1.9881	1.75	0.191
Densidad de carga	1	17.811	17.8106	15.67	0.000
Interacciones de 2 términos	5	8.853	1.7706	1.56	0.187
Temperatura*V. aire	2	2.347	1.1735	1.03	0.363
Temperatura*Densidad de carga	2	6.506	3.2529	2.86	0.066
Velocidad del aire*D.carga	1	0.000	0.0000	0.00	0.995
Interacciones de 3 términos	2	7.266	3.6332	3.20	0.049
Temperatura*Vel.aire*D. carga	2	7.266	3.6332	3.20	0.49
Error	55	62.512	1.1366		
Total	71	104.049			

## 5) Rebaudiósido A

### Análisis de Varianza (LNE)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	11	1233.48	112.134	84.83	0.0
Lineal	4	767.06	191.764	145.07	0.0
Temperatura	2	149.83	74.915	56.67	0.0
Velocidad del aire	1	321.39	321.386	243.13	0.0
Densidad de carga	1	295.84	295.841	223.81	0.0
Interacciones de 2 términos	5	179.97	35.993	27.23	0.0
Temperatura*Velocidad del aire	2	72.87	36.436	27.56	0.0
Temperatura*Densidad de carga	2	43.17	21.585	16.33	0.0
Velocidad del aire*D de carga	1	63.92	63.924	48.36	0.0
Interacciones de 3 términos	2	286.45	143.227	108.35	0.0
Temp.*Velocidad del aire*D.carga	2	286.45	143.227	108.35	0.0
Error	24	31.72	1.322		
Total	35	1265.20			

### Análisis de Varianza (LE)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	11	1227.26	111.569	6.03	0.000
Lineal	4	210.26	52.564	2.84	0.032
Temperatura	2	40.26	20.129	1.09	0.343
Velocidad del aire	1	44.94	44.942	2.43	0.124
Densidad de carga	1	125.06	125.056	6.76	0.012
Interacciones de 2 términos	5	344.28	68.855	3.72	0.005
Temperatura*Velocidad del aire	2	303.04	151.521	8.19	0.001
Temperatura*Densidad de carga	2	41.15	20.574	1.11	0.335
Velocidad del aire*Densidad de carga	1	0.09	0.088	0.00	0.945
Interacciones de 3 términos	2	672.73	336.365	18.19	0.000
Temperatura*Vel aire*D.carga	2	672.73	336.365	18.19	0.000
Error	60	18.490			
Total	71	1109.43			

## 6) Esteviósido

### Análisis de Varianza (LNE)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor P
Temperatura	2	404.44	202.218	213.54	0.00
Velocidad del aire	1	182.90	182.901	193.14	0.00
Densidad de carga	1	172.38	172.383	182.03	0.00
Interacciones de 2 términos	5	877.50	175.500	185.32	
Temperatura*Velocidad del aire	2	291.89	145.947	154.12	
Temperatura*Densidad de carga	2	87.28	43.641	46.08	
Velocidad del aire*D. de carga	1	498.32	498.323	526.22	
Interacciones de 3 términos	2	893.70	446.849	471.86	
Temperatura*Vel. aire*D.carga	2	893.70	446.849	471.86	
Error	24	22.73	0.947		
Total	35	2553.65			

**Análisis de Varianza (LE)**

Fuente	GL	SC Ajust	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	11	1571.18	142.834	2.00	0.044
Lineal	4	838.06	209.515	2.94	0.028
Temperatura	2	60.04	30.021	0.42	0.658
Velocidad del aire	1	2.84	2.839	0.04	0.842
Densidad de carga	1	775.18	775.178	10.87	0.002
Interacciones de 2 términos	5	711.17	142.235	2.00	0.092
Temperatura*Velocidad del aire	2	254.24	127.121	1.78	0.177
Temperatura*Densidad de carga	2	204.85	102.424	1.44	0.246
Velocidad del aire*D.carga	1	252.08	252.085	3.54	0.065
Interacciones de 3 términos	2	21.94	10.971	0.15	0.858
Temperatura*Vel.aire*D. carga	2	21.94	10.971	0.15	0.858
Error	60	4277.03	71.284		
Total	71	5848.20			

## Anexo B

**Tabla B1.** Concentraciones de ácido gálico para la elaboración de la curva de calibración de fenoles totales.

Concentración	Ácido Gálico (mL)	Agua destilada (mL)
0.4	2.00	0.00
0.36	1.80	0.20
0.30	1.50	0.50
0.24	1.20	0.80
0.18	0.90	1.10
0.12	0.60	1.40
0.06	0.30	1.70
0.0	0.00	2.00

**Tabla B2.** Concentraciones de quercentina para la elaboración de la curva de calibración de flavonoides.

Concentración	Quercetina (mL)	Agua destilada (mL)
0	0	5
0.02	1	4
0.04	2	3
0.06	3	2
0.08	4	1
0.1	5	0

**Tabla B3.** Concentraciones de ácido ascórbico para la elaboración de la curva de calibración de actividad antioxidante.













<b>Concentración</b>	<b>Ácido Ascórbico (mL)</b>	<b>Metanol 80% (mL)</b>
<b>0.25</b>	2.00	0
<b>0.21</b>	1.68	0.32
<b>0.17</b>	1.36	0.64
<b>0.125</b>	1.00	1.00
<b>0.09</b>	0.72	1.28
<b>0.05</b>	0.40	1.60
<b>0.00</b>	0.00	2.00

**Tabla B4.** Concentraciones de Rebaudiósido A y Esteviósido para la elaboración de la curva de calibración de glucósidos de esteviol.

<b>Concentración</b>	<b>Reb A/Est. (mL)</b>	<b>35 %Acetonitrilo/H<sub>2</sub>O 65%</b>
<b>0.9</b>	2.00	0
<b>0.5</b>	1.11	0.89
<b>0.3</b>	0.66	1.34
<b>0.09</b>	0.20	1.80
<b>0.05</b>	0.11	1.89
<b>0.03</b>	0.06	1.94

## Anexo C

### Medición de color en hojas deshidratadas de estevia

			
40°C, 2.0 ms <sup>-1</sup> , 1.5 kgm <sup>-2</sup>	40°C, 2.0 ms <sup>-1</sup> , 3.0 kgm <sup>-2</sup>	40°C, 3.5 ms <sup>-1</sup> , 1.5 kgm <sup>-2</sup>	40°C, 3.5 ms <sup>-1</sup> , 3.0 kgm <sup>-2</sup>
			
50°C, 2.0 ms <sup>-1</sup> , 1.5 kgm <sup>-2</sup>	50°C, 2.0 ms <sup>-1</sup> , 3.0 kgm <sup>-2</sup>	50°C, 3.5 ms <sup>-1</sup> , 1.5 kgm <sup>-2</sup>	50°C, 3.5 ms <sup>-1</sup> , 3.0 kgm <sup>-2</sup>
			
60°C, 2.0 ms <sup>-1</sup> , 1.5 kgm <sup>-2</sup>	60°C, 2.0 ms <sup>-1</sup> , 3.0 kgm <sup>-2</sup>	60°C, 3.5 ms <sup>-1</sup> , 1.5 kgm <sup>-2</sup>	60°C, 3.5 ms <sup>-1</sup> , 3.0 kgm <sup>-2</sup>