



---

---

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**OPCION I.- TESIS**

**TRABAJO PROFESIONAL**

**“CRISTALIZACION DEL GLUCOSIDO DE ESTEVIOL  
(REBAUDIOSIDO A) COMO SUSTITUTO EDULCORANTE DE LA  
SACAROSA PARA LA MEJORA DE LA DTC Y MASA FORMADA”**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRA EN CIENCIAS  
EN INGENIERÍA QUÍMICA**

**PRESENTA:**

**IQ. Alejandra Guadalupe Preciado Vargas**

**DIRECTOR DE TESIS**

**Dr. Eusebio Bolaños Reynoso**

**CODIRECTOR DE TESIS**

**Dr. Kelvyn Baruc Sánchez Sánchez**

**ORIZABA, VER. MÉXICO**

**JUNIO 2020**





# EDUCACIÓN

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Orizaba

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Orizaba, Veracruz, 08/06/2020

Dependencia: **División de Estudios de Posgrado e Investigación**

Asunto: **Autorización de Impresión**

OPCION: I

**C. ALEJANDRA GUADALUPE PRECIADO VARGAS**

Candidato a Grado de Maestro en:

**CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA**

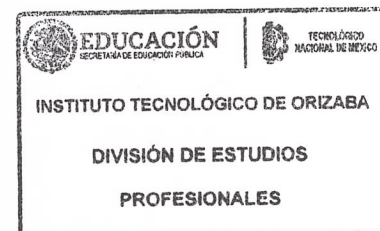
**P R E S E N T E . -**

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros de Enseñanza Técnica Superior, dependiente de la Dirección General de Institutos Tecnológicos de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su Trabajo Profesional titulado:

**"CRISTALIZACIÓN DE GLUCÓSIDO DE ESTEVIOL (REBAUDIÓSIDO A) COMOSUSTITUTO EDULCORANTE DE LA SACAROSA, PARA LA MEJORA DE LA DTC Y MASA FORMADA".**

Comunico a Usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

**A T E N T A M E N T E**  
Excelencia en Educación Tecnológica®  
CIENCIA - TÉCNICA - CULTURA®



*Delma Vargas Lopez*  
**LI. DELMA VARGAS LOPEZ**

**JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES**





"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Orizaba, Veracruz, Junio 02, de 2020

Asunto: Revisión de trabajo escrito

**C. MARIO LEONCIO ARRIOJA RODRÍGUEZ**  
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS  
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN  
**P R E S E N T E.-**

Los que suscriben, miembros del jurado, han realizado la revisión de la Tesis del (la) C.  
**ALEJANDRA GUADALUPE PRECIADO VARGAS**


La cual lleva el título de:


**CRISTALIZACIÓN DE GLUCÓSIDO DE ESTEVIOL (REBAUDIÓSIDO A) COMO  
SUSTITUTO EDULCORANTE DE LA SACAROSA, PARA LA MEJORA DE LA DTC Y  
MASA FORMADA**


Y concluyen que se acepta.


**A T E N T A M E N T E**  
Excelencia en Educación Tecnológica®  
CIENCIA - TÉCNICA - CULTURA®

PRESIDENTE:	DR. EUSEBIO BOLAÑOS REYNOSO
SECRETARIO:	DRA. LETICIA LÓPEZ ZAMORA
VOCAL:	DRA. ROSALÍA CERECERO ENRÍQUEZ
VOCAL SUP.:	DR. KELVYN BARUC SÁNCHEZ SÁNCHEZ

  
\_\_\_\_\_  
FIRMA

  
\_\_\_\_\_  
FIRMA

  
\_\_\_\_\_  
FIRMA

  
\_\_\_\_\_  
FIRMA

FTI-TI-013



## Declaración

Yo, Alejandra Guadalupe Preciado Vargas, certifico que esta tesis, que tiene una extensión de 97 cuartillas, ha sido escrita por mí y constituye el registro escrito del trabajo de tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Química bajo la asesoría y dirección de Dr. Eusebio Bolaños Reynoso y Dr. Kelvyn Baruc Sánchez Sánchez y no ha sido sometida en ningún otra institución previamente.

Fui admitido como estudiante de la maestría en Agosto de 2017 y mi trabajo de tesis fue liberado para su impresión en Junio de 2020.

También declaro que, al presentar esta tesis, el Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Orizaba tiene permiso para publicarla en formato electrónico bajo las regulaciones propias de la institución y que si existe algún acuerdo de confidencialidad de la información lo haré saber en forma escrita para que se omitan las secciones correspondientes.

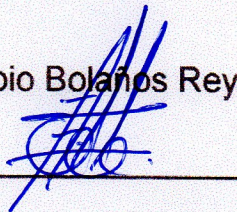
Fecha: Junio 2010 Firma: \_\_\_\_\_



Vo. Bo.

Asesor: Dr. Eusebio Bolaños Reynoso

Firma del asesor: \_\_\_\_\_





“2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria”

**OFICIO No. 173/JFE/MCIQ/2020**

**Asunto:** Carta de liberación de Plagio

**Dra. OFELIA LANDETA ESCAMILLA**  
**COORDINADOR DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS EN**  
**INGENIERÍA QUÍMICA**  
**PRESENTE**

Por este conducto me permito informarle que en base a los resultados obtenidos por el software institucional de la institución es posible afirmar que el porcentaje de plagio de la tesis es menor al máximo permitido por el Consejo Académico. La tesis analizada corresponde al C. **Alejandra Guadalupe Preciado Vargas** con número de control **M17011430**, perteneciente al programa de posgrado de **Maestría en Ciencias en Ingeniería Química** cuyo título de su tema de tesis es: **cristalización de glucósido de esteviol (rebaudiósido a) como sustituto edulcorante de la sacarosa, para la mejora de la DTC y masa formada** el cual está dirigido por el **Dr. Eusebio Bolaños Reynoso**.

En base a la descrito anteriormente, se establece la tesis como **LIBERADA DE PLAGIO**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo,

**A T E N T A M E N T E**  
**EXCELENCIA EN EDUCACION TECNOLOGICA®**  
**Ciencia-Técnica-Cultura®**

**Dr. Oscar Osvaldo Sandoval González**  
**Encargado Institucional para el Análisis de Plagio**

C.p.p. Coordinación académica  
C.p.p. Archivo

M00-PM-PLAGIO-F03



## RESUMEN

### **Cristalización del glucósido de esteviol (Rebaudiósido A) como sustituto edulcorante de la sacarosa para la mejora de la DTC y masa formada**

**Elaborado por:** Ing. Alejandra Guadalupe Preciado Vargas

**Dirigida por:** Dr. Eusebio Bolaños Reynoso

Dr. Kelvyn Baruc Sánchez Sánchez

En los últimos años el uso de edulcorantes en la dieta humana se ha incrementado, en donde la sacarosa es la principal fuente de endulzante al ser económica, pero tiene la desventaja de que ocasiona diversos problemas de salud cuando se ingiere en grandes cantidades, buscar alternativas empleando otros edulcorantes se ha convertido en un asunto de suma importancia pero proceso lento debido al alto costo en la extracción de estos. Por lo tanto se requiere de estudios acerca de nuevos edulcorantes preferentemente de origen natural que satisfagan la necesidad de los consumidores, tal es el caso de los glucósidos de esteviol provenientes de las hojas de la planta *Stevia Rebaudiana Bertoni*. El objetivo de este trabajo fue el de establecer las condiciones para la cristalización por lotes por enfriamiento del glucósido de esteviol (Rebaudiósido A) para el incremento de la DTC y masa formada, como un edulcorante sustituto de la sacarosa, para propiciar así su producción industrial, comercialización y competencia ante otros edulcorantes. Se llevó a cabo el desarrollo de instrumentos virtuales en LabVIEW 2017 para adecuar la infraestructura e interfaz gráfica del sistema de un cristizador por lotes a nivel planta piloto utilizando una tarjeta de adquisición marca Arduino y acondicionamiento de señales de la marca Arduino, se diseñaron pestañas para la obtención de datos de un refractómetro digital ATR-ST de la marca SCHMIDT HAENSCH y para el control de un baño térmico con recirculación programable modelo F34-MD marca JULABO. Así mismo se realizó un diseño experimental con una mezcla etanol-agua en proporciones de 55-45, 60-40, 65-35 y 70-30 teniendo como factor el % v/v saturadas con Rebaudiósido A en un cristizador por lotes de vidrio de borosilicato, con una agitación de 100 rpm y un tiempo de enfriamiento de 60 a 10 °C de 60 min, midiendo índice de refracción y Brix y realizando adquisición de imágenes en un microscopio Primo Star iLED modelo 37081. Se determinaron las zonas de concentración observando la aparición del primer núcleo visible para la cristalización de Rebaudiósido A mediante la adquisición de imágenes. Para la mezcla 65-35 % v/v etanol-agua presentó una curva de solubilidad, posteriormente se implementó un sistema de agitación por burbujeo al cristizador para minimizar la ruptura de las partículas, disminuyendo la frecuencia de la colisión partícula-partícula y partícula-agitador, para esto se utilizó una bomba de aire Elite 800 y manguera de 6 mm y otra de 9 mm de diámetro y una adaptación en forma de cruz, obteniendo una mayor distribución del tamaño del cristal. También se realizó la implementación de un perfil dinámico de enfriamiento y se plantearon balances de materia y energía para la cristalización del Rebaudiósido A lo que permitió graficar la temperatura en el baño de recirculación, el setpoint y la temperatura en el interior del cristizador en tiempo real, alcanzando un tiempo de enfriamiento de entre 3 y 4 h.

## ABSTRACT

### **Crystallization of steviol glycoside (Rebaudioside A) as a sweetening substitute of sucrose for the improvement of CSD and mass formed**

**By:** Ing. Alejandra Guadalupe Preciado Vargas  
**Advisor(s):** Dr. Eusebio Bolaños Reynoso  
Dr. Kelvyn Baruc Sánchez Sánchez

In recent years, the use of sweeteners in the human diet has increased, where sucrose is the main source of sweetener because it is inexpensive, but it has the disadvantage that it causes various health problems when ingested in large quantities, looking for alternatives. Using other sweeteners has become a matter of utmost importance but a slow process due to the high cost of extracting these. Therefore, studies are required on new sweeteners preferably of natural origin that satisfy the needs of consumers, such is the case of steviol glycosides from the leaves of the *Stevia Rebaudiana* Bertoni plant. The objective of this work was to establish the conditions for batch crystallization by cooling of the steviol glycoside (Rebaudioside A) for the increase of DTC and mass formed, as a substitute sweetener for sucrose, to promote its industrial production. , marketing and competition with other sweeteners. The development of virtual instruments was carried out in LabVIEW 2017 to adapt the infrastructure and graphical interface of the system of a batch crystallizer at pilot plant level using an Arduino brand acquisition card and Arduino brand signal conditioning, tabs were designed to Obtaining data from an ATR-ST digital refractometer of the SCHMIDT HAENSCH brand and for the control of a thermal bath with programmable recirculation model F34-MD brand JULABO. Likewise, an experimental design was carried out with an ethanol-water mixture in proportions of 55-45, 60-40, 65-35 and 70-30, having as a factor the% v / v saturated with Rebaudioside A in a batch glass crystallizer borosilicate, with a stirring of 100 rpm and a cooling time of 60 to 10 ° C of 60 min, measuring refractive index and Brix and performing image acquisition on a Primo Star iLED model 37081 microscope. Concentration zones were determined observing the appearance of the first visible nucleus for the crystallization of Rebaudioside A by means of image acquisition. For the 65-35% v / v ethanol-water mixture, it presented a solubility curve, subsequently a stirring system was implemented by bubbling the crystallizer to minimize the breakdown of the particles, reducing the frequency of particle-particle and particle collision. agitator, for this an Elite 800 air pump and a 6 mm hose and a 9 mm diameter hose and a cross-shaped adaptation were used, obtaining a greater distribution of the crystal size. The implementation of a dynamic cooling profile was also carried out and material and energy balances were proposed for the crystallization of Rebaudioside A, which allowed graphing the temperature in the recirculation bath, the setpoint and the temperature inside the crystallizer in real time , reaching a cooling time of between 3 and 4 h.

## ÍNDICE

Resumen

Abstract

	<b>Página</b>
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABLAS	ix
INTRODUCCIÓN	x
<b>CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS</b>	
1.1 Edulcorantes	2
1.1.1 Clasificación de los edulcorantes	2
1.1.2 Alcance	3
1.2 Estevia	3
1.2.1 Composición	6
1.2.2 Glucósidos de esteviol	7
1.2.3 Características del Rebaudiósido A	8
1.3 Cristalización	10
1.3.1 Modo de operación	11
1.4 Factores influyentes en la cristalización	12
1.4.1 Temperatura	12
1.4.2 Concentración	13
1.4.3 Presión	14
1.4.4 Agitación	14
1.5 Distribución del Tamaño del Cristal (DTC)	15
1.6 Saturación y sobresaturación	16
1.7 Nucleación	17
1.8 Curva de solubilidad	17
1.9 Sistema SCADA	19
1.9.1 Arquitectura de un sistema SCADA	20
1.10 Arduino	21



1.11 Instrumentación virtual	23
1.12 LabVIEW	25
1.12.1 Aplicaciones de LabVIEW	25
1.12.2 Panel frontal	26
1.13 Avances y antecedentes	27
<b>CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
2.1 Materiales	31
2.1.1 Rebaudiósido A	31
2.1.2 Cristalizador de vidrio	32
2.1.3 Baño de recirculación programable	33
2.1.4 Microscopio electrónico	34
2.1.5 Refractómetro ATR-ST	34
2.1.6 Tarjeta de adquisición de datos	35
2.2 Métodos	35
2.2.1 Actualización de software	35
2.2.2 Diseño de interfaz gráfica para la obtención de datos de un refractómetro	36
2.2.3 Diseño de interfaz gráfica para el control de un baño térmico con recirculación programable	38
2.2.4 Prueba de solventes	40
2.2.5 Determinación de las mezclas de alcohol acuosos variando %v/v	41
2.2.6 Prueba y selección del porcentaje óptimo para la mezcla de solventes (Etanol-Agua)	42
2.2.7 Obtención de la curva de solubilidad	42
2.2.8 Determinación de la zona de concentración (MSZW)	43
2.2.9 Diseño experimental	44
2.2.10 Adquisición de imágenes	44
2.2.11 Sistema de agitación	44
2.2.12 Distribución de tamaño de cristal (DTC)	45
2.2.13 Determinación de tamaño promedio de cristal	45
2.2.14 Análisis de varianza ANOVA, prueba de hipótesis	46

2.2.15 Análisis de varianza ANOVA, prueba de hipótesis	46
<b>CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
3.1 Actualización de software	48
3.2 Obtención de datos de un refractómetro ATR-ST	48
3.3 Interfaz para el control de un baño térmico con recirculación	50
3.4 Selección de solvente	52
3.5 Selección del porcentaje óptimo para la mezcla de solventes (Etanol-Agua)	53
3.6 Masa de Rebaudiósido A necesaria para la saturación de las mezclas	54
3.7 Identificación del rango óptimo de temperatura	54
3.8 Curva de solubilidad	55
3.9 Delimitación de las zonas de concentración (MSZW)	56
3.9.1 Ajustes y modelos matemáticos polinomiales de la curva de saturación y amplitud de la zona metaestable	60
3.9.1.1 Modelos matemáticos para el IR	60
3.9.1.2 Modelos matemáticos para el porcentaje de sólidos disueltos °Brix	60
3.10 Adquisición de imágenes para observar el primer núcleo visible	62
3.11 Tamaño y masa formada	65
3.12 Sistema de agitación por paleta plana	65
3.13 Sistema de agitación por burbujeo	67
3.14 DTC para ambos tipos de agitación	70
3.15 Obtención de perfiles dinámicos de temperatura y diseño de interfaz gráfica	73
3.16 Balances de materia y energía para la obtención de perfiles dinámicos de enfriamiento para la cristalización del sistema Rebaudiósido A – Agua - Etanol	76
3.16.1 Balance de energía	79

CONCLUSIONES	81
RECOMENDACIONES	83
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
ANEXOS	92

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1.1 Planta estevia: a) arbusto y hojas y b) flores (Pacífico <i>et al.</i> , 2019)	5
1.2 Estructura química del Rebaudiósido A (Prakash <i>et al.</i> , 2007)	9
1.3 Procesos de nucleación y las diferentes zonas de concentración (Sánchez <i>et al.</i> , 2015)	18
1.4 Estructura básica de un sistema de supervisión y mando (Penin, 2012)	21
1.5 Componentes de una placa Arduino	22
1.6 Sistema de adquisición de datos basado en una computadora (Mendiburu, 2010)	24
1.7 Panel frontal y diagrama de bloques (Lajara y Pelegri, 2018)	26
2.1 Estevia pura al 95%	31
2.2 Dimensionamiento del cristizador por lotes	32
2.3 Diseño de agitador de paletas planas	33
2.4 Dimensionamiento de la abrazadera	33
2.5 Muestras de Rebaudiósido A en diferentes solventes	40
2.6 Montaje del sistema de agitación por burbujeo	45
3.1 Diagrama del proceso para la obtención de datos de un refractómetro	49
3.2 Interfaz gráfica para la obtención de datos de un refractómetro	50
3.3 Diagrama del proceso para el control de un baño térmico	51
3.4 Interfaz gráfica para el control de un baño térmico con recirculación	52
3.5 Curva de solubilidad representada en sólidos disueltos (°Brix) para una mezcla de 100 ml de solvente	55
3.6 Curva de solubilidad representada en índice de refracción para una mezcla de 100 ml de solvente	56
3.7 Micrografías rebaudiósido A: a) solución limpia, b) solución con núcleos visibles y c) solución con mayor formación de núcleos	58

3.8 Representación de la zona metaestable determinada a partir del IR	59
3.9 Representación de la zona metaestable determinada a partir de °Brix	59
3.10 Diagrama de concentración (°Brix) vs temperatura de la zona metaestable	61
3.11 Diagrama de concentración (IR) vs temperatura de la zona metaestable	62
3.12 Micrografía a 56 °C	63
3.13 Micrografía a 46 °C	63
3.14 Micrografía a 36 °C	63
3.15 Micrografía a 26 °C	64
3.16 Micrografía a 17 °C	64
3.17 Micrografía a 7°C	64
3.18 Formación de cristales con morfología tipo aguja a temperatura de 45 °C	65
3.19 Micrografía con agitación por paleta plana	67
3.20 Micrografía con sistema de agitación por burbujeo	68
3.21 Gráfica de intervalos de tamaño de cristal de agitación por burbujeo	69
3.22 Comportamiento de concentraciones medidas en índice de refracción	69
3.23 Comportamiento de concentraciones medidas en ° Brix	70
3.24 Tamaño de cristal D(2,1) para agitación por paleta plana y burbujeo	71
3.25 Desviación estándar S(2,1) para agitación por paleta plana y burbujeo	71
3.26 Gráfica de superficie para la DTC de paleta plana	72
3.27 Gráfica de superficie para la DTC de burbujeo	72
3.28 Diagrama del proceso para almacenamiento de datos y obtención de perfiles dinámicos de enfriamiento	74
3.29 Selección de puertos COM para captura de datos	75
3.30 Interfaz gráfica para perfiles dinámicos de temperatura	75

## LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1.1 Taxonomía de la estevia (Esmat <i>et al.</i> , 2010)	6
1.2 Glucósidos dulces en las hojas de la estevia (Salvador <i>et al.</i> , 2014)	6
1.3 Propiedades físicas y sensoriales de glucósidos de esteviol	7
2.1 Descripción de funciones empleadas para la obtención de datos de un refractómetro	36
2.2 Descripción de funciones empleadas para el control de un baño térmico	38
2.3 Composición de la mezcla de solvente Etanol-Agua	41
3.1 Componentes del proceso de cristalización	52
3.2 Concentración de Rebaudiósido A en diferentes solventes	53
3.3 Lecturas promedio de IR en función de la mezcla de solventes	53
3.4 Lecturas promedio de °Brix en función de la mezcla de solventes	53
3.5 Lecturas promedio de densidad en función de la mezcla de solventes	54
3.6 Promedios finales de los puntos experimentales	56
3.7 Promedios de concentración para agitación por paleta plana	65
3.8 Análisis de varianza para el diseño experimental de agitación por paleta plana	66
3.9 Medias para el diseño experimental de agitación por paleta plana	66
3.10 Promedios de concentración para agitación por burbujeo	67
3.11 Análisis de varianza para el diseño experimental de agitación por burbujeo	67
3.12 Medias para el diseño experimental de agitación por burbujeo	67

## INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años a nivel mundial, el uso de edulcorantes naturales y artificiales en la dieta humana se ha incrementado, donde cabe destacar que la sacarosa (azúcar de caña) es la fuente principal de endulzante al ser económica, pero tiene la desventaja que al ingerirse en grandes cantidades ocasiona distintos problemas de salud, buscar alternativas empleando otros edulcorantes se ha convertido en un asunto de suma importancia pero de proceso lento debido al elevado costo en la extracción de éstos. Ante tal situación se requiere de estudios acerca de nuevos edulcorantes preferentemente de origen natural que satisfagan las necesidades de los consumidores, tal es el caso de los glucósidos de esteviol provenientes de las hojas de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni. Uno de los glucósidos que se encuentra en mayor proporción en la planta es el Rebaudiósido A, éste tiene un poder endulzante 3000 % mayor que el azúcar comercial, aporta cero calorías, tiene sabor agradable, se puede obtener con pureza superior al 97% y está aprobado por el comité Mixto de Expertos FAO/OMS en Aditivos Alimenticios (JECFA) como un edulcorante de consumo seguro. Sin embargo, en la actualidad, se obtiene un producto de tamaño pequeño que dificulta su comercialización y consumo, por lo que debido al costo elevado de producción, es necesario considerar una técnica de purificación que haga factible su producción a nivel industrial logrando así un producto competitivo en el mercado actual. Una de las técnicas comúnmente empleadas es la cristalización, que se define como un proceso de separación térmico para concentrar sustancias en un estado puro a partir de soluciones diluidas y tiene por objetivo obtener un producto que tenga una distribución del tamaño de cristal (DTC) específica y de alta pureza.

Por lo mencionado anteriormente se tiene como objetivo general analizar los efectos de las condiciones de operación, para la cristalización por lotes a nivel planta piloto del Glucósido de Esteviol (Rebaudiósido A), para incrementar el tamaño de cristal y masa formada como sustituto edulcorante de la sacarosa, generando así las

condiciones de operación factibles de implementarse para su producción industrial, comercialización y competencia contra otros edulcorantes.

Para cumplir dicho objetivo se establecieron cuatro objetivos específicos: primero se llevó a cabo el desarrollo de instrumentos virtuales en LabVIEW 2017 para adecuar la infraestructura e interfaz gráfica del sistema del cristalizador por lotes a nivel planta piloto utilizando una tarjeta de adquisición y condicionamiento de señales de la marca Arduino, posteriormente se determinaron las zonas de concentración de la curva de solubilidad para el Rebaudiósido A, incluyendo la línea de saturación, metaestable y lábil mediante un diseño experimental aplicado a la cristalización de Reb A - Alcohol etílico – Agua usando el método politérmico para identificar las regiones de concentración, que permitan identificar una ruta óptima de cristalización generando un aumento de la DTC y masa formada, se realizó la comparación de distintos solventes como acetona, cloroformo, alcohol etílico e isopropílico para asegurar la elección del solvente adecuado mediante la medición de Brix, tercero se analizó la hidrodinámica del cristalizador por lotes de vidrio de borosilicato implementando un sistema de agitación por burbujeo para evitar la ruptura de las partículas al disminuir la frecuencia de colisión partícula-partícula y partícula-agitador y se realizó un diseño experimental para comparar este método con una agitación por flecha de tipo propela y finalmente en el cuarto objetivo se implementaron perfiles dinámicos de enfriamiento efectuando balances de materia y energía para su obtención aplicados a la cristalización del Rebaudiósido A mediante el desarrollo de una interfaz en LabVIEW 2017 para el manejo de estos perfiles.

Ésta investigación se justifica por las características benéficas del Reb A (glucósido más apreciado y aceptado debido a su alto grado de dulzor, sabor agradable y aprobado por la JECFA), que no afecta los niveles de azúcar sanguíneo, lo que lo convierte en una alternativa endulzante de origen natural (estevia) para la elaboración de productos bajos en calorías, sin efectos colaterales a la salud y que satisfagan las necesidades del consumidor.



# **CAPÍTULO 1**

## **FUNDAMENTOS TEÓRICOS**

## CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### 1.1 Edulcorantes

Un edulcorante es una sustancia que proporciona a un sabor dulce a los alimentos, los hay de alto valor calórico, como es la sacarosa, y de bajo, como son los sustitutos del azúcar (Heising y Kuchler, 2012). Los edulcorantes tienen la característica de ser alimentos baratos que en ocasiones duplican o triplican el poder endulzante en comparación con un edulcorante natural más común como la sacarosa (azúcar de caña), además presentan múltiples beneficios como la disminución del poder energético contenido y mejoras en la salud tales como la disminución del riesgo de padecer enfermedades como diabetes mellitus y regulación de la insulina en la hiperglucemia, así como protección dental (Khalaf *et al.*, 2014).

#### 1.1.1 Clasificación de los edulcorantes

Los edulcorantes se pueden clasificar con respecto a su origen en artificiales y naturales. Los primeros son también llamados no nutritivos y presentan la cualidad de tener ningún aporte energético. Los segundos también son denominados nutritivos y por lo general tienen la característica de proporcionar energía en forma de calorías con sus excepciones como la estevia de nulo valor calórico. (Secretaría de Economía, 2016).

Los edulcorantes artificiales o sintéticos son compuestos elaborados por el ser humano, cuyo beneficio radica en que su contenido de energía fisiológica es nulo o despreciable, por lo que al agregarlos a una gran variedad de productos o alimentos, se disminuye de forma importante su contenido de calorías, sin perder el sabor dulce y aportan mayor poder endulzante con menor cantidad empleada en comparación con la sacarosa. Los más comúnmente utilizados son el aspartamo, la sacarina, el acesulfame K, la sucralosa, el ciclamato de sodio y en menor rango el alitamo, el glucin, el neotamo, etc. (Gil-Campos *et al.*, 2015).

Los edulcorantes naturales son obtenidos a partir de plantas o frutas, proveen sabor dulce y volumen cuando son agregados a los alimentos, además de conservar la frescura del producto. Proporcionan 4 cal/g y algunos tienen la cualidad de proveer un aporte energético bajo. Entre los más destacados se encuentra la sacarosa, la fructuosa, la miel de abeja, el jarabe de maíz, los azúcares alcoholes (sorbitol, xilitol, manitol), la dextrosa, la maltosa, el esteviol, entre otros más (Secretaría de Economía, 2016).

### **1.1.2 Alcance**

En México, existen dos problemas de salud pública que conducen a millones a limitar su consumo de azúcar: la obesidad y la diabetes. El 15.8% de la población nacional padece diabetes mellitus (la primera causa de muerte en este país), esto es, alrededor de 10.6 millones de individuos; en tanto que la obesidad afecta a cerca de 85 millones. Es decir, más de 80 millones de mexicanos tienen que cuidar sus niveles de glucosa en la sangre y/o de ingesta de calorías (Khan *et al.*, 2019). Por este hecho la importancia y popularidad en el uso de edulcorantes bajos en calorías se incrementa día con día y se refleja en diversos productos entre los que se pueden encontrar refrescos, aguas de sabor, cereales, gomas de mascar, edulcorantes de mesa e incluso en suplementos nutricionales y laxantes.

Actualmente el consumo de productos bajos en calorías tiene la misma importancia como la tiene el consumo de un alimento común, este tipo de alimentos se consumen cada vez más ya sea por seguir una dieta baja en calorías que no incluyan edulcorantes artificiales, por problemas de salud serios como la diabetes y enfermedades que se relacionen con el exceso de azúcar o por solo tener la posibilidad de ingerir calorías de forma inteligente (Bueno-Hernández *et al.*, 2019).

## **1.2 Estevia**

El naturalista suizo Moisés Santiago Bertoni fue el primero en describir la especie científicamente en Paraguay. Posteriormente, el químico paraguayo Ovidio Rebaudi

realizó en 1900 el primer análisis químico sobre ella. En ese análisis, descubrió un glucósido edulcorante capaz de endulzar más que el azúcar refinado, pero sin los efectos perjudiciales que éste produce en el organismo humano. Tras los primeros estudios sobre sus principios y características químicas, el científico consiguió aislar el "Estevióside" y el "Rebaudiósido" conocidos como principios activos (Well *et al.*, 2013). Las hojas de la planta sudamericana estevia de sabor dulce fueron utilizadas durante siglos por la población nativa de Paraguay y Brasil para endulzar las preparaciones de té de hierbas de sabor amargo.

La planta de estevia es una buena fuente de carbohidratos (61.93% peso seco), proteínas (11.41% peso seco), fibra cruda (15.52% peso seco) y minerales (K, 21.15; Ca, 17.7; Na, 14.93 y Mg, 3.26 mg/100 g de peso seco y Cu, 0.73; Mn, 2.89; Fe, 5.89 y Zn, 1.26 mg/100 g de peso seco). De igual manera aminoácidos esenciales se encuentran en cantidades superiores a los recomendados por la OAA (FAO por sus siglas en inglés) y la OMS para los adultos. Específicamente las hojas de la planta contienen de 10 a 20% de glucósidos de esteviol (Pacífico *et al.*, 2019).

Los arbustos de esta especie son perennes que alcanzan 65 a 80 cm y ya cultivados pueden llegar hasta 1.0 m de altura. Sus hojas, lanceoladas o elípticas y dentadas, son alternas, simples, de color verde oscuro brillante y superficie rugosa, a veces algo vellosas, de hasta 5 cm de largo por 2 cm de ancho. Sus tallos, pubescentes y rectos, sólo se ramifican después del primer ciclo vegetativo, con tendencia a inclinarse (ver Figura 1.1a). Las raíces son principalmente superficiales, aunque una sección engrosada se hunde a mayor profundidad; fibrosas, filiformes y perennes, son la única parte de la planta en la que no se presentan los glucósidos. Son plantas dioicas que a comienzos de primavera presentan flores pequeñas, tubulares y de color blanco, sin fragancia perceptible, en panículas corimboides formadas por pequeños capítulos axilares (ver Figura 1.1b) y tardan más de un mes en producir todas las flores. (Bueno-Hernández *et al.*, 2019).



a)



b)

Figura 1.1 Planta estevia: a) arbusto y hojas y b) flores (Pacífico *et al.*, 2019)

La estevia, de nombre científico *Stevia rebaudiana* Bertoni es una planta de la familia de las asteráceas, conocida como "hoja dulce"; es productora de glucósidos de tipo diterpenoide, los cuales son considerados DE 200 a 400 veces más dulce que la sacarosa, además de presentar otras propiedades terapéuticas (Giraldo *et al.*, 2005). La estevia reduce los niveles de glucosa en la sangre hasta en un 35% (Salvador *et al.*, 2014). Es nativa del nordeste paraguayo en la región de la Cordillera de Amambay, donde aún se encuentra en estado silvestre. Su cultivo se ha extendido hasta el nordeste y noroeste argentinos, Francia, España, Colombia, Bolivia, Perú, Chile, México, Estados Unidos, Canadá y donde actualmente los principales productores son: Japón, China Taiwán, Tailandia, Corea, el sur de Brasil,

Malasia y Paraguay. En la Tabla 1.1 se presenta su taxonomía (Esmat *et al.*, 2010; Well *et al.*, 2013).

Tabla 1.1 Taxonomía de la estevia (Esmat *et al.*, 2010)

Dominio	Eukaryota
Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
Superdivisión	Spermatophyta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteriade
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Subfamilia	Asteriodeae
Género	Stevia
Especie	S. Rebaudiana Bertoni

### 1.2.1 Composición

Específicamente los glucósidos de esteviol son el principio dulce de la estevia, éstos se encuentran en las hojas de la planta en porcentajes variables en función de la especie, las condiciones de crecimiento y las técnicas agronómicas, alcanzando hasta el 15% del peso seco total (ver Tabla 1.2). Contienen un dulzor que oscila entre 100 y 300 veces mayor que el de la sacarosa, mientras que el del rebaudiósido A es unas 50 a 250 veces superior al de la sacarosa (Salvador *et al.*, 2014).

Tabla 1.2 Glucósidos dulces en las hojas de la estevia (Salvador *et al.*, 2014)

Glucósidos	Contenido en % de las hojas en peso seco		
	Por Kinghorn y Soejarto., 1985.	Por Gardana <i>et al.</i> , 2003.	Por Goyal y Samsher., 2010.
Esteviósido	5-10	5.8 ± 1.3	9.1
Rebaudiósido A	2-4	1.8 ± 0.2	3.8
Rebaudiósido C	1-2	1.3 ± 0.4	0.6
Dulcósido	0.4-0.7	ND	0.3

### 1.2.2 Glucósidos de esteviol

Los glucósidos son sustancias no reductoras que se sintetizan (a través de hidrólisis ácida o enzimática) cuando un azúcar o glúcido (generalmente monosacáridos) se une, mediante su carbono anomérico reductor a un grupo alcohol propio o de otro compuesto que puede o no ser un azúcar. Por un lado, cuando el OH pertenece a un monosacárido se producen oligosacáridos que reciben el nombre genérico de O-glucósidos por estar enlazados mediante un átomo de oxígeno; a esta unión se le llama enlace glucosídico. Los glucósidos de esteviol tienen cero calorías y se pueden utilizar como sustituto de azúcar, además poseen propiedades funcionales y sensoriales superiores a las de muchos otros edulcorantes de alta intensidad (Badui, 2013). A continuación, en la Tabla 1.3 se muestran las propiedades físicas y sensoriales de los glucósidos de esteviol.

Tabla 1.3 Propiedades físicas y sensoriales de glucósidos de esteviol (Purkayastha y Markosyan, 2012; Well *et al.*, 2013)

Nombre	Fórmula	Temperatura de fusión (°C)	Peso molecular	Solubilidad en agua (%)	Dulzor relativo	Calidad del sabor
Esteviósido	C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>18</sub>	196-198	804.88	0.13	210	Amargo
Rebaudiósido A	C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>23</sub>	242-244	967.01	0.80	200 - 400	Ligeramente amargo
Rebaudiósido B	C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>18</sub>	193-195	804.88	0.10	150	Amargo
Rebaudiósido C	C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>22</sub>	215-217	951.01	0.21	30	Amargo
Rebaudiósido D	C <sub>50</sub> H <sub>80</sub> O <sub>28</sub>	248-249	1129.15	1.00	220	Como la sacarosa
Rebaudiósido E	C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>23</sub>	205-207	967.01	1.70	170	Como la sacarosa
Rebaudiósido F	C <sub>43</sub> H <sub>68</sub> O <sub>22</sub>	No definido	936.99	No definido	No definido	No definido
Dulcósido A	C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>17</sub>	193-195	788.87	0.58	30	Muy amargo
Rubusósido	C <sub>32</sub> H <sub>50</sub> O <sub>13</sub>	No definido	642.73	No definido	110	Muy amargo

El interés de los consumidores por los aditivos procedentes de fuentes naturales aumentó de forma constante a lo largo de los años, y por lo tanto también el de la industria alimentaria. El 2 de diciembre de 2011, la Unión Europea publicó una regulación permitiendo la venta y uso de los glucósidos de esteviol, como nuevos edulcorantes de origen natural. Durante el transcurso de su aprobación se generó interés en el mercado, lo que ofreció un gran número de usos potenciales para estos glucósidos, por ejemplo, en bebidas aromatizadas, helados, productos que contienen cacao o chocolate y cereales para el desayuno (Heising y KÜchle, 2012).

### **1.2.3 Características del Rebaudiósido A**

El Rebaudiósido A es uno de los glucósidos de esteviol más apreciado debido a sus atributos sensoriales en comparación con los cuatro principales glucósidos de la planta estevia, por ello es funcional en una amplia gama de bebidas y alimentos, además de ser adecuado para la mezcla con otros edulcorantes no calóricos o de carbohidratos al grado de ser comercializados. Se obtiene extrayendo los glucósidos de esteviol de las hojas con agua y el extracto se seca. En la segunda etapa, al extracto se le da una mayor purificación por disolución en alcohol acuoso a partir del cual, en condiciones apropiadas, cristaliza selectivamente a alta pureza (97% Rebaudiósido A con 3% de otros glucósidos). Tradicionalmente se ha utilizado metanol, pero el etanol tiene la ventaja de aumentar selectivamente el contenido de Rebaudiósido A. Por último, el producto cristalizado se filtra y se seca (Gutierrez, 2015).

El Rebaudiósido A ha sido aprobado para su uso como edulcorante en una serie de países, incluyendo Japón, China, Brasil, Corea del Sur, Argentina, Paraguay, Rusia, Indonesia, México (desde 2005), Senegal (desde 2006), Tailandia e Israel (EFSA, 2010). Sus propiedades únicas proporcionarán a la tecnología de los alimentos con otra herramienta para producir alimentos y bebidas innovadoras de gran sabor y sin las calorías del azúcar con el fin de satisfacer la demanda de los consumidores. Como un polvo seco, el Rebaudiósido A es estable durante al menos dos años a



temperatura ambiente y en condiciones de humedad controlada. En solución, es más estable entre los valores de pH 4-8 y menos estable por debajo de pH 2. Su estabilidad disminuye con el aumento de la temperatura (Prakash *et al.*, 2007). Además, endulza de 200-400 veces más que el azúcar, es natural, no contiene calorías, posee de un sabor dulce, sin significantes características de sabor indeseables. Por lo que, es compatible con sabores que contienen aldehídos, y es estable en una amplia variedad de alimentos, bebidas de ingesta diaria (JECFA, 2007). La JECFA estableció una IDA (Ingesta Diaria Aceptada) para los glucósidos de esteviol (expresados como equivalentes de esteviol) de 4 mg/kg de peso corporal/día, que es proporcional a una IDA para el Rebaudiósido A de 12.15 mg/kg de peso corporal/día. También, los resultados de las pruebas toxicológicas indicaron que los glucósidos de esteviol no son genotóxicos, cancerígenos, ni está asociado a ninguna toxicidad reproductiva/desarrollo. En la Figura 1.2 se puede apreciar su estructura molecular.

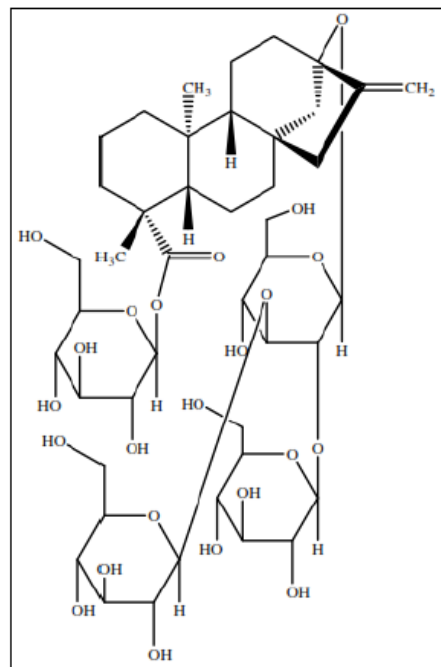


Figura 1.2 Estructura química del Rebaudiósido A (Prakash *et al.*, 2007)

### 1.3 Cristalización

La cristalización es una operación unitaria que consiste en purificar compuestos químicos orgánicos e inorgánicos mediante la separación sólido-líquido, es decir, es la formación de partículas a partir de una fase homogénea (Salman *et al.*, 2019). Dicho de otro modo, es la conversión de una o algunas sustancias de un estado sólido amorfo, líquido o gas al estado cristalino (Borouni *et al.*, 2018). En donde un componente de una solución sobresaturada es transferido a una fase sólida en forma de cristales que precipitan, generando la presencia de una fase dispersa y una fase continua que a su vez dan lugar a la presencia de fenómenos fisicoquímicos como la nucleación, crecimiento, atrición y muerte de los cristales (Velázquez, 2010).

El potencial impulsor para que suceda la nucleación y/o el crecimiento del cristal es la sobresaturación, la cual es función de la temperatura. Una fase líquida debe estar sobresaturada para que los cristales puedan ser formados o exista su crecimiento. La sobresaturación puede ser alcanzada por diferentes formas, como se describe a continuación (Borouni *et al.*, 2018).

- Cristalización por enfriamiento: por enfriamiento de una solución.
- Cristalización por evaporación: por evaporación de solventes.
- Cristalización con agente de desplazamiento: por adición de otra sustancia.
- Cristalización por congelamiento: por reacción química.

La cristalización por enfriamiento se emplea cuando la solubilidad de la sustancia se incrementa con la temperatura, por lo que, esta operación es ampliamente usada en la industria para producir sólidos cristalinos con una alta pureza a un costo relativamente bajo en comparación a otras operaciones de separación purificación. Además, facilita el transporte (Velázquez, 2010).

### 1.3.1. Modo de operación

La cristalización puede clasificarse dependiendo del modo de operación, (alimentación continua o por lotes), por el tipo de generación de la sobresaturación (por enfriamiento, evaporación, desplazamiento salino, reacción química) y por las propiedades de las fases involucradas (cristalización de soluciones y a partir de una masa fundida) (Salman *et al.*, 2019).

En el modo de operación continua las etapas de carga, transformación y descarga se realizan simultáneamente. La limpieza del aparato se efectúa cada cierto tiempo, dependiendo de la naturaleza de transformación y de las materias a tratar, para esto debe pararse la producción. Las operaciones continuas se desarrollan en régimen estacionario, de modo que las variables intensivas características de la operación pueden variar en cada punto del sistema, pero las que se dan en cada punto no varían con el tiempo (Gonzalez *et al.*, 2013).

El modo de operación por lotes (batch) es uno de los procesos más comunmente usados para la separación y purificación en la producción de finos y químicos especiales, alimentos y productos farmacéuticos o cuando son requeridos pequeños volúmenes de producto con ciertas propiedades específicas (elevada viscosidad, toxicidad, peligro) o requisitos (estándares de higiene). La primera etapa es obtener la sobresaturación, después, la formación de núcleos ocurre y finalmente el consecuente crecimiento de esos núcleos para generar cristales de mayor tamaño destacando que el producto es retirado del cristalizador sólo al final de la corrida cuando la sobresaturación relativa se ha agotado. Además, los cristalizadores por lotes son más económicos y fáciles de desarrollar con respecto a los continuos, y es capaz de generar productos con una distribución de tamaño de cristal (DTC) más estrecha que los cristalizadores continuos debido a la ausencia de la distribución del tiempo de residencia asociado con la eliminación del producto. Sin embargo, en este proceso es difícil de controlar la calidad del producto, que está determinada en gran medida por la fase inicial del lote en el que se forma la

población inicial de las partículas en el cristalizador o añadido en la siembra (Kalbasenka, 2009).

La cristalización evaporativa es útil cuando la solubilidad aumenta ligeramente, permanece casi constante o disminuye con la temperatura. La solución insaturada se introduce en el cristalizador y se calienta hasta el punto de ebullición de manera que el disolvente se evapora. Debido a que el punto de ebullición de la solución es una función de la presión, la ebullición se lleva a cabo en la superficie del líquido, lo que conduce a altos niveles de sobresaturación. A una velocidad constante de evaporación, la sobresaturación en el comienzo de la operación es desfavorablemente alta y es baja hacia el final (Beckmann, 2013).

Finalmente, en la cristalización a vacío, la solución es evaporada y enfriada simultáneamente por disminución de la presión y temperatura. El vacío es frecuentemente creado y mantenido por compresores de chorro de vapor en un máximo de seis pasos (Saengchan *et al.*, 2011).

## **1.4 Factores influyentes en la cristalización**

### **1.4.1 Temperatura**

Este parámetro afecta fuertemente la solubilidad de la mayoría de las sustancias, debido a que, en la mayoría de los compuestos iónicos la solubilidad de la sustancia sólida aumenta con la temperatura. Sin embargo, si no se lleva a cabo un buen seguimiento y control sobre este parámetro, la DTC no será uniforme, ya que, si se produce una evaporación o enfriamiento excesivos, no se obtendrá el tamaño y pureza de cristal deseados debido a choques térmicos que generan nucleación (Bolaños, 2000).

### 1.4.2 Concentración

En el proceso de cristalización es necesario conocer como varía la concentración con respecto al tiempo, para ello se emplean diferentes métodos de medición dependiendo en qué términos se desea obtener la concentración, en la industria azucarera la más utilizada es la medición en términos de Brix, que es el porcentaje en peso de materia sólida, o sólidos totales, disueltos en un líquido (Audilakshmi, *et al.*, 2010). La relación que expresan °Brix está dada por la fórmula:

$$\text{Brix} = \frac{\text{g de azúcar}}{\text{g de solución}} \times 100 \quad . \quad (1.1)$$

La densidad ( $\rho$ ) es otra medida para determinar la cantidad de masa ( $m$ ) contenida en un determinado volumen ( $v$ ). Por lo que, existen dos tipos de densidades, la densidad absoluta o real que mide la masa por unidad de volumen. Se calcula con la fórmula siguiente (Velázquez, *et al.*, 2010):

$$\rho = \frac{m}{v} \quad (1.2)$$

Por otro lado, también existe la densidad relativa que compara la densidad de una sustancia con la densidad de otra que se toma como referencia; ambas densidades se expresan en las mismas unidades y en iguales condiciones de temperatura y presión. La densidad relativa es adimensional y se calcula con la siguiente fórmula (Velázquez, *et al.*, 2010):

$$\rho_{\text{relativa}} = \frac{\rho_{\text{absoluta}}}{\rho_{\text{preferencia}}} \quad (1.3)$$

### 1.4.3 Presión

En la cristalización puede hacerse uso de dos sistemas de presión: de vapor y de vacío. El buen manejo de ambas presiones dará como resultado una DTC deseada, debido a que influyen en el proceso de vaporización porque están directamente relacionadas con la temperatura que posee el sistema, el adecuado control de las presiones permitirá que la solución tenga un adecuado seguimiento de la temperatura influyendo con esto en el agotamiento de la solución (Gonzalez *et al.*, 2013., Bolaños, 2000).

### 1.4.4 Agitación

La agitación debe permitir una buena homogeneidad de la suspensión; sin embargo, si la velocidad de agitación es muy elevada puede provocar la abrasión y la ruptura de los cristales con la subsecuente modificación de la DTC. Por el contrario, si la agitación no es suficiente, se favorecen los fenómenos de aglomeración y de formación de depósito en el fondo del cristalizador (Sánchez, 2013; Bolaños *et al.*, 2014).

Los tres tipos principales de agitadores son, de hélice, de paletas, y de turbina.

Un agitador de hélice, es un agitador de flujo axial, que opera con velocidad elevada y se emplea para líquidos pocos viscosos. Los agitadores de hélice más pequeños, giran a toda la velocidad del motor, unas 1150 ó 1750 rpm; los mayores giran de 400 a 800 rpm. Las corrientes de flujo, que parten del agitador, se mueven a través del líquido en una dirección determinada hasta que son desviadas por el fondo o las paredes del tanque (Sanapala *et al.*, 2018)

Un agitador de paleta gira sobre un eje vertical. Las paletas giran a velocidades bajas o moderadas en el centro del tanque, impulsando al líquido radial y

tangencialmente, sin que exista movimiento vertical respecto del agitador, a menos que las paletas estén inclinadas. Las corrientes de líquido que se originan se dirigen hacia la pared del tanque y después siguen hacia arriba o hacia abajo. Las paletas también pueden adaptarse a la forma del fondo del tanque, de tal manera que en su movimiento rascan la superficie o pasan sobre ella con una holgura muy pequeña (Hongbin *et al.*, 2019).

Los agitadores de turbina se asemejan a agitadores de múltiples y cortas paletas, que giran con velocidades elevadas sobre un eje que va montado centralmente dentro del tanque. Las paletas pueden ser rectas o curvas, inclinadas o verticales. El rodete puede ser abierto, semicerrado o cerrado. El diámetro del rodete es menor que en el caso de agitadores de paletas, siendo del orden del 30 al 50% del diámetro del tanque. Estos agitadores son eficaces para un amplio intervalo de viscosidades; en líquidos poco viscosos, producen corrientes intensas, que se extienden por todo el tanque y destruyen las masas de líquido estancado. En las proximidades del rodete existe una zona de corrientes rápidas, de alta turbulencia e intensos esfuerzos cortantes (Hongbin *et al.*, 2019).

### **1.5 Distribución del Tamaño del Cristal (DTC)**

La DTC es una propiedad que caracteriza el tamaño de la población de cristales bajo estudio. Es el aspecto más importante a analizar porque si existe una buena DTC se puede conseguir un producto con mayor calidad, en cuanto a pureza, tamaño de cristal y rendimiento (Velázquez, 2010). Para lograr una DTC específica es importante controlar la sobresaturación (en la primera zona metaestable), ya que es el prerrequisito para la nucleación y el crecimiento del producto cristalino. Esto puede lograrse a través de cambios programados en la temperatura de enfriamiento, presión de vacío, velocidad de agitación y sembrado de cristales, entre otros. (Bolaños, *et al.*, 2018). Únicamente, a nivel industrial los cristales obtenidos se agrupan raramente en un tamaño específico (cristales monodispersos), y es más

común encontrar cristales de tipo polidispersos, que ocupan un rango de tamaños. (González, *et al.*, 2013)

### **1.6 Saturación y sobresaturación**

La sobresaturación es la diferencia de concentración entre la solución sobresaturada en la que el cristal está creciendo y la de la solución en equilibrio con el cristal, donde las dos fases están aproximadamente a la misma temperatura (Warren *et al.*, 2007). Pueden utilizarse tres métodos distintos para producir la sobresaturación como lo es la disminución de la temperatura o enfriamiento, evaporación y/o influencia de un tercer componente en dos fases involucradas: líquida y sólida (Wu *et al.*, 2012).

La sobresaturación es cuando una solución contiene más soluto disuelto que el definido por la condición de saturación. Para que cualquier proceso de cristalización tenga lugar se requiere que la solución posea un estado de sobresaturación, siendo ésta utilizada como potencial impulsor de la concentración para que suceda la nucleación y/o el crecimiento del cristal de forma que no tendrá lugar la ocurrencia de ninguno de los dos fenómenos anteriores en una solución saturada o insaturada. La principal fuerza impulsora se define como la diferencia en el potencial químico de la sustancia de cristalización en los estados sólido y disuelto (Kadam *et al.*, 2012; Beckmann, 2013).

El proceso de cristalización por enfriamiento es la técnica común más empleada para generar la sobresaturación porque su operación y control es simple, además se usa cuando la solubilidad de la sustancia a ser cristalizada aumenta considerablemente con la temperatura. Para este método la solución saturada es alimentada dentro del cristalizador y enfriada (la temperatura inicial es reducida gradualmente hacia una temperatura final) ya sea a través de una chaqueta externa o un refrigerador en el interior del cristalizador.



Como la velocidad de nucleación y crecimiento depende de la sobresaturación la cual es función de la temperatura, el control de los productos cristalinos es usualmente llevado a cabo mediante la manipulación de la temperatura de la solución mediante la aplicación de diversas rutas programadas o perfiles de enfriamiento calculados usualmente mediante optimización, que aumenten la calidad o maximicen la cantidad de producto al final del proceso (Saengchan *et al.*, 2011; Beckmann, 2013).

### **1.7 Nucleación**

La nucleación es la acumulación de átomos, moléculas o iones, formando así estructuras que son capaces de crecer (Tiscar, 2013). Siendo la nucleación homogénea o primaria el resultado de fluctuaciones rápidas y localizadas a escala molecular en una fase homogénea. Las partículas o moléculas del soluto entran en contacto y forman aglomeraciones; algunas de éstas adicionan más moléculas de soluto y comienzan a crecer, mientras que otras se desprenden y vuelven a su situación de moléculas individuales. El crecimiento de las aglomeraciones las transforma en cristales que continúan absorbiendo moléculas de soluto de la solución. Por otro lado, la nucleación secundaria o de contacto, es el método de nucleación más efectivo y se presenta cuando los cristales chocan entre sí, con las aspas del agitador, o con las paredes de la tubería o del recipiente de proceso, lo cual genera cristales pequeños de DTC variable. Esta nucleación depende de la intensidad de la agitación, pues se presenta a sobresaturación baja (Geankoplis, 2003).

### **1.8 Curva de solubilidad**

Es la curva que describe la dependencia de la solubilidad límite del soluto en el solvente con la temperatura. A partir de esta es posible determinar la concentración del soluto en el solvente cuando se alcance el equilibrio. Describe el balance entre

el soluto y el solvente, además de representar las condiciones bajo la cuales los cristales del soluto y la solución coexisten en un equilibrio termodinámico. La curva de solubilidad para un sistema dado es definible y representa el punto de saturación máximo que el sistema puede tolerar, además la curva define el modo de cristalización y las condiciones de sobresaturación. En esta curva se conocen las diferentes regiones o estados de saturación del sistema. Si se ubica la temperatura en el eje de las abscisas, cualquier combinación de temperatura-concentración ubicada por debajo de la línea de saturación, indica que la solución se encuentra insaturada, mientras que hacia arriba de la línea, la solución se encuentra sobresaturada. La sobresaturación varía dependiendo de las diferentes zonas de concentración (intermedia, metaestable y lábil) que pueden ocurrir durante el enfriamiento de una solución. Estas zonas están limitadas por la línea de equilibrio y las de nucleación, como se puede apreciar en la Figura 1.3 (Sánchez, 2018., Sánchez *et al.*, 2015).

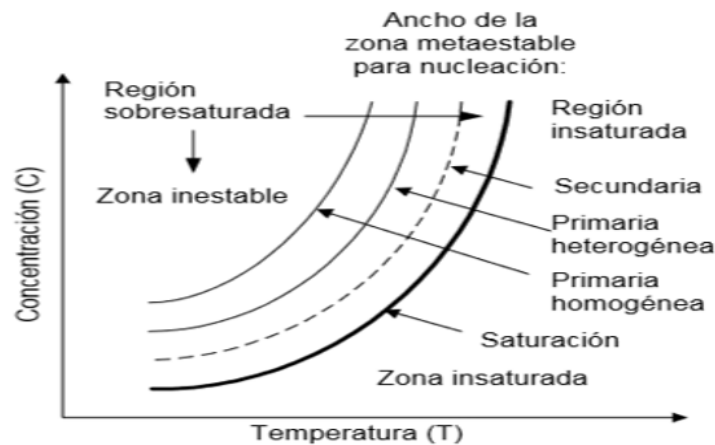


Figura 1.3 Procesos de nucleación y las diferentes zonas de concentración (Sánchez *et al.*, 2015)

Descripción de cada una de las zonas de concentración:

- Zona inestable: no existe formación ni crecimiento de cristales.
- Zona primaria homogénea: próxima a la saturación, corresponde a la zona en la cual la nucleación homogénea y heterogénea no ocurrirá inmediatamente, pero sí el crecimiento de cristales y la zona insaturada

correspondiente a la región en donde no hay formación ni crecimiento de cristales. Es decir, aquí los cristales existentes crecen, pero no se pueden formar nuevos.

- Zona primaria heterogénea: puede existir la formación de nuevos cristales, pero solo en presencia de los ya existentes.
- Zona secundaria: es una región inestable donde ocurre la nucleación espontánea homogénea y heterogénea en una fase sólida donde puede existir la formación de nuevos cristales aún en ausencia de los mismos (Sánchez, 2018).

## **1.9 Sistema SCADA**

El software SCADA es una aplicación informática especialmente diseñada para funcionar sobre ordenadores para el control de procesos, proporcionando comunicación con los dispositivos de campo (controladores autónomos, autómatas programables, etc.) y controlando el proceso de forma automática desde la pantalla del ordenador. Además, provee de toda la información que se genera durante el proceso.

En este tipo de sistemas se suele disponer de un ordenador, que efectúa tareas de supervisión y gestión de alarmas, así como tratamiento de datos y control de procesos (Penin, 2012).

Normalmente se ejecuta en línea con el proceso, y están diseñados para dar al operador la posibilidad de supervisar y controlar dichos procesos. Para desarrollar una aplicación SCADA, se pueden utilizar programas específicos que proporcionan los distintos fabricantes para sus productos. Así, por ejemplo, se utiliza WinCC o Protool para desarrollar SCADA con determinados productos de Siemens. También se puede utilizar un lenguaje de programación, como Visual Basic, o, LabVIEW de National Instruments, Inc.

Un paquete SCADA debe estar en disposición de ofrecer las siguientes prestaciones: posibilidad de crear paneles de alarma, generación de históricos de señal de planta, ejecución de programas que modifican la ley de control y posibilidad de programación numérica. De igual manera, los requisitos para que su instalación sea perfectamente aprovechada son los siguientes (Rodríguez, 2007):

- Arquitectura abierta que permita combinaciones con aplicaciones estándar y usuario, que permitan a los integradores crear soluciones de mando y supervisión optimizadas.
- Sencillez de instalación, sin exigencias de hardware elevadas, fáciles de utilizar y con interfaces amigables con el usuario.
- Permitir la integración con las herramientas ofimáticas y de producción.
- Fácilmente configurable y escalable, debe ser capaz de crecer o adaptarse según las necesidades cambiantes de la empresa.
- Ser independiente del sector y la tecnología.
- Funciones de mando y supervisión integradas.
- Comunicaciones flexibles para poder comunicarse con total facilidad y de forma transparente al usuario con el equipo de planta y con el resto de la empresa (redes locales y de gestión).

### **1.9.1 Arquitectura de un sistema SCADA**

Las primeras incursiones en el campo de la automatización localizaban todo el control en la computadora y tendían progresivamente a la distribución del control en planta. De esta manera, el sistema queda dividido en tres bloques principales:

- Software de adquisición de datos y control (SCADA)
- Sistemas de adquisición y mando (sensores y actuadores)
- Sistema de interconexión (comunicaciones)

En la Figura 1.4 se observa que el sistema de proceso capta el estado del sistema a través de los elementos sensores e informa al usuario a través de las herramientas de automatización. Basándose en los comandos ejecutados por el usuario, el sistema de proceso inicia las acciones pertinentes para mantener el control del sistema a través de los elementos actuadores.

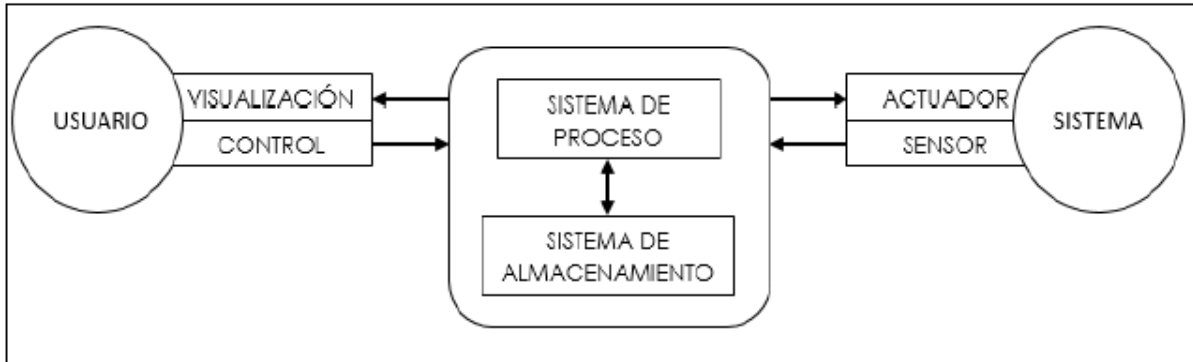


Figura 1.4 Estructura básica de un sistema de supervisión y mando (Penin, 2012)

La estructura funcional de un sistema de visualización y adquisición de datos obedece generalmente a la estructura Maestro-Escavo. La estación central (el maestro) se comunica con el resto de estaciones (esclavos) requiriendo de éstas una serie de acciones o datos.

La transmisión de los datos entre el sistema de proceso y los elementos de campo (sensores y actuadores) se lleva a cabo mediante los denominados buses de campo. La tendencia actual es englobar los sistemas de comunicación en una base común. Toda la información generada durante la ejecución de las tareas de supervisión y control se almacena para disponer de los datos posteriormente (Rodríguez, 2007; Pérez, 2015).

### 1.10 Arduino

Es una placa de hardware libre que incorpora un microcontrolador reprogramable y una serie de pines-hembra (los cuales están unidos internamente a las pastillas de

E/S del microcontrolador) que permiten conectar de forma muy sencilla y cómoda diferentes sensores y actuadores como se ilustra en la Figura 1.5.

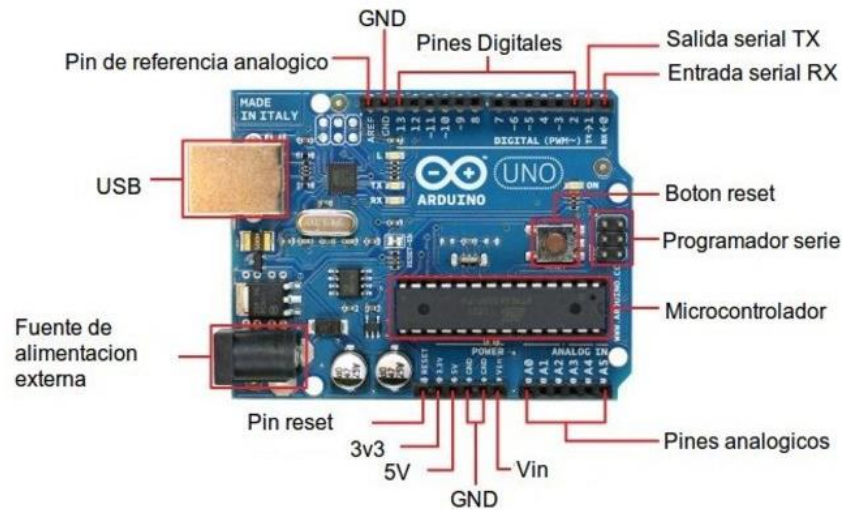


Figura 1.5 Componentes de una placa Arduino

Las placas hardware hacen referencia a un PCB (*printed circuit board*, o sea placa de circuito impreso). Las PCBs son superficies fabricadas de un material no conductor (normalmente resinas de fibra de vidrio reforzada, cerámica o plástica) sobre las cuales aparecen laminadas (pegadas) pistas de material conductor (normalmente cobre).

Las PCBs se utilizan para conectar eléctricamente, a través de los caminos conductores, diferentes componentes electrónicos soldados a ella. Una PCB es la forma más compacta y estable de construir un circuito electrónico.

Así pues, la placa Arduino no es más que una PCB que implementa un determinado diseño de circuitería interna.

Cuando se habla de placa Arduino debe especificarse al modelo concreto, ya que existen varias placas Arduino oficiales, cada uno con diferentes características (como el tamaño físico, el número de pines-hembra ofrecidos, el modelo del

microcontrolador incorporado y como consecuencia, entre otras cosas, la cantidad de memoria utilizable).

Los proyectos Arduino pueden ser autónomos o no, en el primer caso, una vez programado su microcontrolador, la placa no necesita estar conectada a ningún computador y puede funcionar autónomamente si dispone de alguna fuente de alimentación (Torrente, 2013).

### **1.11 Instrumentación virtual**

La instrumentación virtual implica adquisición de señales, el procesamiento, análisis, almacenamiento, distribución y despliegue de los datos e información relacionados con la medición de una o varias señales, interfaz hombre-máquina, visualización, monitoreo y supervisión remota del proceso, la comunicación con otros equipos, etcétera. Un instrumento virtual puede mostrar en pantalla dos tipos de elementos gráficos:

- Elementos Indicadores: Son elementos de salida que permiten mostrar información al usuario, por ejemplo, el valor de una medida. Algunos ejemplos de indicadores son: gráficas, indicadores de aguja, LED, etcétera.
- Elementos de Control: Los cuales aceptan la entrada del usuario, permitiendo gobernar el comportamiento del programa y/o del sistema. Algunos ejemplos de controles son: interruptores, pulsadores, cajas de entrada de texto, etcétera.

La Figura 1.6 muestra un sistema de adquisición de datos que consiste en captar una señal física y llevarla a una computadora, es decir, tomar un conjunto de variables mensurables en forma física y convertirlas en tensiones eléctricas, de tal manera que se puedan utilizar o puedan ser leídas en la computadora. Cabe destacar que las señales pueden ser originadas a partir de la medición directa de cantidades eléctricas (voltajes de corriente directa y alterna, frecuencia o

resistencia) o a partir de transductores (termopares o sensores de presión). De la misma manera que se toma una señal eléctrica y se transforma en una digital dentro del ordenador, se puede tomar una señal digital o binaria y convertirla en una eléctrica, de esta manera la computadora puede enviar señales hacia dispositivos actuadores. La señal física pasa por una serie de etapas para poder ser leída por la computadora (Tarot-Gálvez, 2004; Mendiburu, 2010).



Figura 1.6 Sistema de adquisición de datos basado en una computadora (Mendiburu, 2010)

Por lo general las señales eléctricas de campo vienen contaminadas de ruido, armónicos, caídas de voltaje o corriente, y otros fenómenos que distorsionan la señal. El acondicionamiento de señal es opcional, porque dependiendo de cada señal y/o aplicación, se puede o no requerir amplificación, atenuación, filtraje, aislamiento, etc. de cada señal. Si la señal está en el rango de los  $\pm 5$  V dc y no se requiere de aislamiento o filtraje, la misma puede ser conectada directamente a la tarjeta de adquisición de datos.

En esta etapa de acondicionamiento es posible encontrar otras subetapas como amplificación, aislamiento, multiplexado, filtrado, excitación y linealización, aunque no todas están siempre presentes (Mendiburu, 2010; Lajara y Pelegrí, 2018).



## 1.12 LabVIEW

LabVIEW (*Laboratory Virtual Instrument Engineering Workbench*) es una herramienta gráfica para pruebas, control y diseño mediante la programación gráfica. El lenguaje de programación es de tipo G, donde la G simboliza que es lenguaje Gráfico. Los programas desarrollados con LabVIEW se llaman Instrumentos Virtuales, o VI's, y su origen provenía del control de instrumentos, aunque hoy en día se ha expandido ampliamente al control de todo tipo de electrónica (instrumentación electrónica).

LabVIEW consigue combinarse con todo tipo de software y hardware, tanto del propio fabricante como tarjetas de adquisición de datos, visión, instrumentos y hardware de otros fabricantes como Arduino (Lajara y Pelegri, 2018).

### 1.12.1 Aplicaciones de LabVIEW

LabVIEW tiene su mayor aplicación en sistemas de medición, como monitoreo de procesos y aplicaciones de control, procesamiento digital de señales, procesamiento en tiempo real de aplicaciones biomédicas, manipulación de imágenes y audio, automatización, diseño de filtros digitales, generación de señales, entre otras, etc (Mihura, 2001).

Principalmente usado para desarrollar tareas como:

- Adquisición de datos y análisis matemático.
- Comunicación y control de instrumentos de cualquier fabricante.
- Automatización industrial.
- Diseño de controladores: simulación, prototipos.
- Diseño de microchips.
- Control y supervisión de procesos.
- Visión artificial y control de movimiento.

- Robótica.
- Domótica y redes de sensores inalámbricos.
- En 2008 el programa fue utilizado para controlar el LHC, el acelerador de partículas más grande construido hasta la fecha en Ginebra.

### 1.12.2 Panel frontal

Es utilizado para interactuar con el usuario cuando el programa está siendo ejecutado. Los usuarios pueden controlar el programa, cambiar entradas, y ver datos actualizados en tiempo real. Cabe recalcar que los controles son usados como entradas, ajustando controles de deslizamiento para colocar un valor de alarma, encendiendo o apagando un interruptor, o parando un programa. Los indicadores son usados como salidas. Termómetros, luces, y otros indicadores indican valores del programa. Esto puede incluir datos, estados de programa y otra información. En la Figura 1.7 se puede observar que cada control o indicador del panel frontal tiene una terminal correspondiente en el diagrama de bloques.

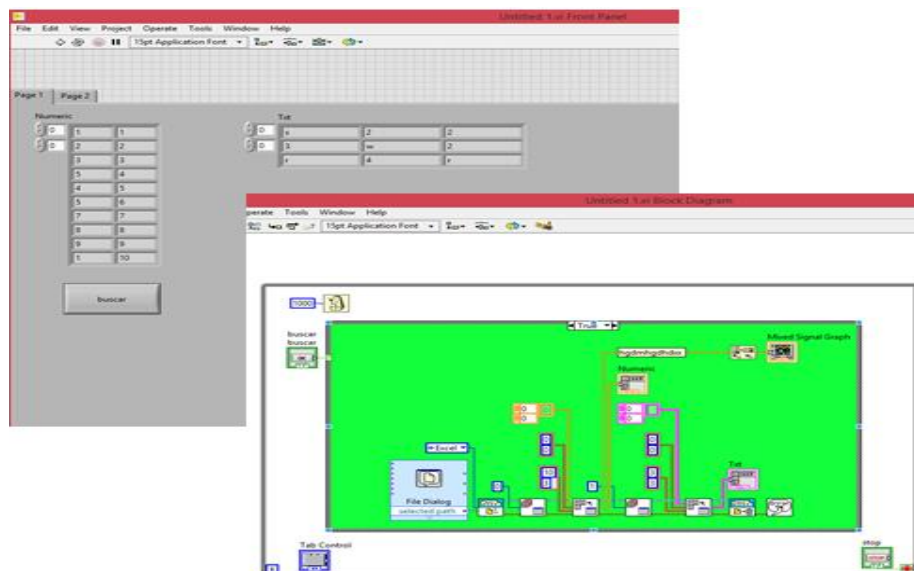


Figura 1.7 Panel frontal y diagrama de bloques (Lajara y Pelegri, 2018)

Cuando un VI se ejecuta, los valores de los controles fluyen a través del diagrama de bloques, en donde estos son usados en las funciones del diagrama, y los resultados son pasados a otras funciones o indicadores (Lajara y Pelegri, 2018).

### **1.13 Avances y antecedentes**

Gasmalla *et al.*, (2014), estudiaron los efectos de las condiciones de ultrasonido sobre la eficacia de la extracción y el rendimiento total de Rebaudiósido A. Demostraron que, en comparación con los métodos clásicos como la maceración y extracción de calor, la utilización de extracción asistida por ultrasonido es un medio mucho más simple y más eficaz para obtener de manera eficiente las especies de plantas extractivas.

Schorsch *et al.*, (2014), desarrollaron una configuración para adquisición de imágenes y un procedimiento para procesarlas permitiendo que las mediciones caracterizaran el tamaño y la forma de los cristales durante su crecimiento. La configuración pudo realizar mediciones en línea y proporcionar análisis de datos de las partículas y demostraron el potencial para la monitorización a largo plazo de la cristalización.

Ochsenbein *et al.*, (2015), analizaron la dispersión de la velocidad de crecimiento de las agujas de ácido L-glutámico en dirección longitudinal mediante la medición del tamaño de partícula instantáneo y la distribución de la forma en el cristizador a lo largo del tiempo siguiendo la morfología de la partícula en cristales individuales y demostraron que el espacio contenido entre las partículas está sujeto a cambios a lo largo del tiempo.

Chranioti *et al.*, (2016), encapsularon los glucósidos de esteviol (SGs) por secado por aspersión, liofilización y secado en horno de vacío con el fin de minimizar el sabor amargo de los SGs, además de mejorar sus propiedades. El secado por

aspersión de productos SGs presenta las mejores características fisicoquímicas y organolépticas.

Martins *et al.*, (2016), demostraron que la extracción exhaustiva de hojas de *Stevia Rebaudiana Bertoni* por maceración dinámica da mejores resultados con etanol al 70 % que la mezcla de agua y etanol al 90%. Utilizaron un solvente agro-renovable combinado con condiciones de proceso que conducen a un bajo consumo de solvente, tiempo y energía con rendimientos adecuados.

Rumelhard *et al.*, (2016), estudiaron y evaluaron la seguridad del Rebaudiósido A, producido fermentativamente por *Yarrowia lipolytica* codificando la vía metabólica de *Stevia rebaudiana* (Reb A fermentativo). A partir del estudio de toxicidad, los Niveles de Efectos Adversos No Observados (NOAEL) podrían ser derivados de por lo menos 2000 mg/kg de peso corporal/día o al menos 660 mg de esteviol equivalentes/kg de peso corporal/día, lo cual fue la dosis más alta probada. Los resultados de los estudios de toxicidad apoyaron la seguridad del Reb A fermentativo producido a partir de *Y. lipolytica*.

Martins *et al.*, (2017), observaron que el etanol es uno de los mejores disolventes para la extracción de glucósidos de hojas de *Stevia Rebaudiana Bertoni* de acuerdo con la turbolisis a temperatura ambiente, obtuvieron altos rendimientos de extracción de glucósidos mediante bajas relaciones de disolvente a fármaco en turboextracción, bajo velocidades de corte y tiempos más cortos. Los rendimientos de Esteviósido y Rebaudiósido A fueron superiores a los encontrados usando técnicas y solventes distintos.

Galicia (2017), obtuvo un crecimiento del Rebaudiósido A del 85 % en el tamaño de partícula contra el comprado de forma comercial en forma de polvo obtenido por secado, así como morfologías en forma de agujas que presentaron crecimiento longitudinal de 37  $\mu\text{m}$ .

Uhler y Yang (2018), realizaron un análisis de las hojas de té dulce mediante cromatografía líquida de alto rendimiento junto con un espectrómetro de masas (LC-MS) e informamos por primera vez que el rebaudiósido A, uno de los principales glucósidos de esteviol en *Stevia rebaudiana* Bertoni, se detectó en *Rubus suavissimis*, junto con algunos otros isómeros de esteviósido o rebaudiósido B. Este hallazgo tiene implicaciones potenciales en el fitomejoramiento selectivo, un esfuerzo ya en marcha en un intento por aumentar la abundancia de glucósidos de esteviol deseables, como el rebaudiósido D y M, cuyas concentraciones son muy bajas en las plantas de stevia actuales.

Paniagua-Vega *et al.*, (2019) describieron una estrategia para la cuantificación de Reb A en edulcorantes comerciales utilizando resonancia magnética nuclear cuantitativa <sup>1</sup>H (qHNMR) con un método estándar externo que aplica la determinación de la concentración basada en la longitud del pulso (ERETIC2). El método qHNMR desarrollado satisface notablemente los parámetros de validación, como la linealidad, precisión, exactitud, reproducibilidad, robustez, límite de detección y límite de cuantificación (LOQ).

Díaz-Gutiérrez, *et al.*, (2020) evaluaron el efecto de la fertilización organo-mineral (abono de aves compostado mezclado con fertilizante inorgánico) sobre los glucósidos de esteviol y la producción de biomasa de dos cultivos comerciales de *Stevia* cv. Morita II en condiciones de invernadero en dos ubicaciones diferentes (a 2569 y 1487 m.s.n.m.).

## **CAPÍTULO 2**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

## CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Materiales

#### 2.1.1 Rebaudiósido A

El soluto empleado fue Rebaudiósido A, disponible de manera comercial en México con pureza del 95% distribuido a través de la empresa Stevia Bonda, no presenta olor desagradable, fácilmente soluble en agua, de sabor dulce característico de los glucósidos extraídos de las hojas de estevia. Se emplea como endulzante en productos de panadería, lácteos, bebidas, repostería, confitería, etcétera. Tiene un contenido energético de 0 kcal, proteínas, grasas, fibra dietética, colesterol y sodio de 0 g por un tamaño de porción de 1 g. En la Figura 2.1 se muestra la materia prima utilizada.



Figura 2.1 Estevia pura al 95%

### 2.1.2 Cristalizador de vidrio

Se utilizó un cristalizador por lotes de acuerdo con los requerimientos para el proceso de cristalización del Rebaudiósido A con un volumen efectivo de 1000 mL, de trabajo requerido de 80% (800 mL) y la capacidad de enfriamiento y/o calentamiento. El equipo se conforma de dos cilindros concéntricos de vidrio, en el primero ocurre la cristalización, el segundo funge como doble pared para la circulación de agua mediante dos entradas, una colocada en la parte inferior y otra en la parte superior con el fin de distribuir homogéneamente el agua evitando pérdidas considerables de calor que afecten bruscamente la temperatura interna del reactor. Para el sellado se tiene una tapa con tres bocas, sujeta al cuerpo del equipo mediante una abrazadera tipo anillo con muesca de acero inoxidable con un empaque que evita el contacto superficial vidrio-metal. La Figura 2.2 muestra el dimensionamiento del cuerpo principal, tapa y distribución de las bocas en una vista frontal.



Figura 2.2 Dimensionamiento del cristalizador por lotes

En la Figura 2.3 se muestra el dimensionamiento del agitador, éste incluye cuatro álabes de configuración tipo paleta plana para homogeneizar la parte superior de la solución, con una flecha de 10 mm de diámetro acondicionada en la punta inferior a 6 mm para la entrada de los cabezales.





Figura 2.3 Diseño de agitador de paletas planas

En la Figura 2.4 se muestra el esquema de la abrazadera tipo anillo con vista superior que está acoplada para la sujeción de la tapa al cuerpo del cristalizador, la cual se sostiene del cuello del cuerpo principal al labio superior de la tapa a través de cuatro pestañas que brindan un efecto “mordaza” en conjunto con el empaque.



Figura 2.4 Dimensionamiento de la abrazadera

### **2.1.3 Baño de recirculación programable**

El baño de recirculación programable con calefacción y refrigeración de líquidos en el tanque (termostático) modelo F34-MD de la marca JULABO se caracteriza por

ser de funcionamiento silencioso, cuenta con un control activo de refrigeración (ACC) donde el compresor de refrigeración se activa para todo el rango de temperaturas, parrilla de ventilación extraíble para una conveniente limpieza y mantener el rendimiento de refrigeración, desconexión automática en caso de perturbación y es controlado con la computadora a través de un puerto de comunicación en línea RS-232C. El rango de temperatura de trabajo es de -30 a 150 °C con una estabilidad de temperatura de  $\pm 0.01$  °C, el medio refrigerante es el R134a, tiene un flujo de la bomba 15 L/min y un volumen utilizable del baño de 14 a 20 L.

#### **2.1.4 Microscopio electrónico**

El microscopio óptico profesional Primo Star iLED modelo 37081, tiene un diseño compacto. Cuenta con un módulo de iluminación de lámpara halógena, iluminación LED, indicadores de la intensidad luminosa en azul, platina de desplazamientos en cruz 75x30 para el manejo desde la derecha/izquierda con sujetaobjetos, cuatro objetivos de un alto poder resolutivo con óptica corregida a infinito del tipo “Plan-ACHROMAT” con aumentos de 4x, 10x, 40x 100x/Oil (aplicaciones con aceite de inmersión) para campo claro, oscuro y contraste de fases en luz transmitida.

Está provisto con una cámara digital de microscopio modelo AxioCam ERc-5s de marca Zeiss que tiene un sensor Micron MT9P031 de 5 Mp tipo CMOS, conectividad USB y HDMI, sensibilidad espectral entre 400 y 700 nm y utiliza el programa AxionVision SP2 que es el software estándar disponible para la adquisición, análisis, procesamiento y archivo de imágenes.

#### **2.1.5 Refractómetro ATR-ST**

El refractómetro automático de ángulo crítico modelo ATR-ST de la marca SCHMIDT HAENSCH mide el índice de refracción (IR) de medios líquidos independientemente de la opacidad, viscosidad y color. El instrumento consiste en un cabezal de medición colocado en la parte superior y una interfaz de usuario en

la superficie frontal, en la configuración estándar muestra los resultados de índice de refracción, porcentaje de sustancia seca (°Brix y %glucosa), temperatura y densidad.

El volumen de muestra es de 0.5 mL, con rango de medición del IR de 1.3320 a 1.5320 con una exactitud de 0.0001, el rango de medición de los Brix y glucosa va de 0 a 95% con una exactitud de 0.05 % y con una temperatura operacional de 10 a 40 °C, tiene un prisma de cristal de zafiro sintético resistente a los arañazos, el compartimiento de la muestra es de acero inoxidable y su recubrimiento de vitron.

### **2.1.6 Tarjeta de adquisición de datos**

La tarjeta de adquisición, modelo Nano de tipo Arduino es una placa con un microcontrolador ATmega328, funciona con un cable USB Mini-B que permite programar el microcontrolador desde cualquier computadora y hacer pruebas de comunicación con el chip. Este tipo de tarjeta es ampliamente utilizada para proyectos electrónicos de adquisición y generación de señales y automatización de procesos. Cuenta con un diseño electrónico internacionalmente aprobado y de libre distribución. Se alimenta con una fuente externa no regulada de 6-20 V o con una fuente externa regulada de 5V, tiene 14 puertos digitales de entrada/salida, 8 puertos analógicos, memoria de 16 KB, 1 KB de SRAM y 512 bytes de EPRO, corriente máxima por cada PIN de E/S de 40 mA y frecuencia de reloj de 16 MHz.

## **2.2 Métodos**

### **2.2.1 Actualización de software**

La finalidad de la actualización del software LabVIEW a la versión 2017 es para tener una serie de extensas mejoras dentro del software de monitoreo y control, como lo son nuevas funciones localizadas dentro de las paletas de diseño, un

aspecto visual más agradable para representar nuevos equipos tipo industrial con la opción de poder modificarlos, entre otras.

Uno de los avances más importantes del procesamiento de datos, es que dentro de la ejecución del panel frontal que controla el proceso de cristalización, donde se hará una reducción en uso de los recursos físicos (hardware) utilizados dentro de la computadora, dando así una mejora del rendimiento del procesador, por lo tanto se evitarán errores en el momento de la ejecución de los instrumentos de control para el monitoreo de proceso de cristalización.

### 2.2.2 Diseño de interfaz gráfica para la obtención de datos de un refractómetro

Para la obtención de datos mediante los puertos COM se debe tener instalada la paquetería de controladores NI-VISA así como también los controladores del cable RS-232. En la Tabla 2.1 se describen cada una de las funciones utilizadas.

Tabla 2.1 Descripción de funciones empleadas para la obtención de datos de un refractómetro


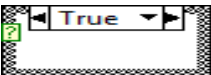
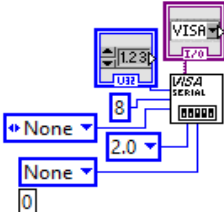

Cantidad	Funciones empleadas	Descripción
2		Estructura While Loop.
1		Case Estructure.
1		Visa Resource Name. Inicia la comunicación del puerto serie especificado.
1		Indicador booleano. Indica si los datos se están recibiendo correctamente.

Tabla 2.1 Descripción de funciones empleadas para la obtención de datos de un refractómetro (continuación)

1		Indicador numérico. Indica el número de bits de entrada.
1		VISA Read. Lee el número especificado de bytes del dispositivo o interfaz.
3		Fract/Exp To Number: Interpreta los caracteres 0 a 9, mas, menos, e, E y punto decimal (generalmente punto) en una cadena que comienza en el desplazamiento como un número flotante.
3		Build Array: Concatena matrices múltiples o agrega elementos una matriz n-dimensional.
1		Write To Measurement File. Almacena los datos recibidos creando un archivo .tdm el cual genera un documento en Excel.
1		String subset Selecciona los datos de una cadena de texto.
1		String. Indica los datos que se están guardando.
3		Indicador numérico.
1		Indicador booleano. Detiene el proceso.
1		Visa close
1		Simple Error Handler.vi. Indica si se generó un error en el código
1		Delay Time: Configura el tiempo de con el que se reinicia un ciclo.
1		Waveform Charts: grafica los datos obtenidos.

### 2.2.3 Diseño de interfaz gráfica para el control de un baño térmico con recirculación programable

Para la interfaz del baño térmico se sigue lo discutido en la sección 2.2.2, además de la paquetería de funciones de la marca JULABO. En la Tabla 2.2 se describen cada una de las funciones empleadas.

Tabla 2.2 Descripción de funciones empleados para el control de un baño térmico

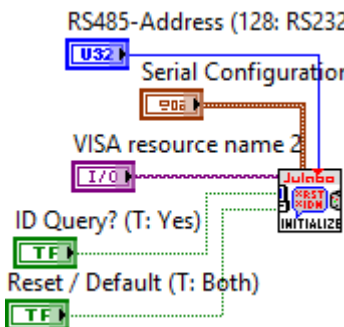
















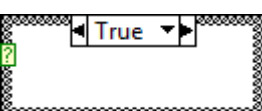

Cantidad	Funciones empleadas	Descripción
1		Julabo Device Driver.lvlib:initialize.vi. Establece la comunicación con el equipo y opcionalmente realiza una consulta de indicación o restablecimiento. También coloca el equipo en un estado predeterminado si es necesario para otras operaciones.
1		Julabo Device Driver.lvlib:StarStop Device.vi. Inicia el proceso si es verdadero (True) y lo detiene si es falso (false).
1		Julabo Device Driver.lvlib:Set Setpoint.vi Envía el setpoint al que se desea trabajar.
1		Julabo Device Driver.lvlib:Error Handler.vi. Comprueba si el error en los clústers de error es un error específico del dispositivo y verifica si el dispositivo tiene una alarma o advertencia.
1		Julabo Device Driver.lvlib: Get Setpoint. Devuelve el valor real del setpoint seleccionado.
1		Julabo Device Driver.lvlib:GetInternaltemp.vi. Devuelve el valor de la temperatura real medida por el sensor del baño interno.

Tabla 2.2 Descripción de funciones empleados para el control de un baño térmico (continuación)

1		Julabo Device Driver.lvlib:Get Capacity.vi. Devuelve el mensaje con la capacidad de enfriamiento y calefacción actual.
1		Julabo Device Driver.lvlib:Close.vi. Realiza una consulta de error del instrumento antes de terminar la conexión del software al instrumento.
1		Simple Error Handler.vi Indica si ocurre un error.
2		Not Equal?. Devuelve un valor verdadero si x no es igual a y. De lo contrario, esta función devuelve falso.
2		Control numérico.
2		Indicador numérico.
1		Control booleano.
1		Bundle. Ensambla un clúster de elementos individuales.
1		Error out. Muestra el error generado en el proceso.
1		Waveform Charts. Grafica los datos obtenidos.
1		Wait Until Next ms Multiple. Espera hasta que el valor del temporizador de milisegundos se convierta en un múltiplo de milisegundos especificado.
2		Case Estructure.
1		While Loop.

### 2.2.4 Prueba de solventes

Debido a que al cristalizar las soluciones acuosas de Rebaudiósido A no hubo un crecimiento significativo de los cristales atribuido a la baja solubilidad del solvente, en este trabajo se presenta el estudio de cuatro solventes para determinar la solubilidad y compatibilidad del soluto en el solvente encontrando condiciones que favorecieran la cristalización, esto en base a lo reportado por Alves *et al.*, (2007) donde menciona que la glucosa mostró una solubilidad considerablemente alta en agua, por lo que estudiar mezclas que contengan dos o más solventes es viable para el proceso de cristalización y en las mezclas con alcoholes se obtuvieron solubilidades más altas. En este caso se buscó un solvente que permitiera aumentar la solubilidad del Rebaudiósido A a temperaturas menores de 60 °C.

Para la prueba de solventes se midieron 10 ml de cuatro solventes con una réplica (alcohol isopropílico, cloroformo, acetona y etanol) y se depositaron en tubos de ensaye, después se pesó 1 g de Reb A y se agregó a cada muestra, agitándose a temperatura ambiente (20 °C) hasta llegar a un punto de saturación, que es cuando el solvente ya no puede diluir mayor cantidad de soluto en cada una medido en °Brix, después se determinó que solvente contenía la mayor cantidad de soluto disuelto mediante los Brix, dado que la concentración es un factor crucial en el proceso de cristalización. En la Figura 2.5 se muestran las pruebas con los distintos solventes.



Figura 2.5 Muestras de Rebaudiósido A en diferentes solventes



### 2.2.5 Determinación de las mezclas de alcohol acuosos variando % v/v

De acuerdo con los datos experimentales obtenidos por Galicia (2017), las mezclas (Alcohol Etílico-Agua) para 100 ml de solvente, solo aquellas que presentaron altas concentraciones en Brix (superiores a los 50 Brix), densidad e IR, fueron la de 60-40 y 70-30%. Por lo que, a partir de los datos generados por Galicia (2017), se sintetizó la Tabla 2.3 de proporciones para una cantidad de solvente de 100 ml de Rebaudiósido A como materia prima para validación.

Tabla 2.3 Composición de la mezcla de solvente Etanol-Agua

<b>Etanol-Agua (%v/v)</b>	<b>Reb A (g)</b>
55-45	50
60-40	50
65-35	50
70-30	50

Por tanto, se optó por realizar un diseño experimental con dos factores, el primero para las proporciones de mezcla (etanol-agua) en proporciones de 55-45, 60-40, 65-35 y 70-30% v/v, que fueron las proporciones seleccionadas y el segundo para la temperatura con niveles de 10, 20, 30, 40, 50 y 60 °C, para evitar intervalos largos y dos variables de respuesta: índice de refracción y °Brix, el diseño se realizó por duplicado para contar con suficientes grados de libertad durante el análisis estadístico, para de esa forma poder conocer con mayor precisión el porcentaje adecuado, aumentando la concentración de saturación en la mezcla de solventes, que permita incrementar el rendimiento de la cristalización del Rebaudiósido A al 95%.

### **2.2.6 Prueba y selección del porcentaje óptimo para la mezcla de solventes (Etanol-Agua)**

Se midieron los porcentajes de etanol y agua establecidos en la Tabla 2.3 para 100 ml de mezcla, posteriormente se depositó la cantidad de cada solvente medida en matraces erlenmeyer de 250 ml y se agregó de 10 g en 10 g de Rebaudiósido A hasta alcanzar soluciones saturadas con precipitados de acuerdo a la cantidad de soluto calculada anteriormente, a diferentes temperaturas (10, 20, 30, 40, 50 y 60°C) para cada porcentaje. Se determinó el grado de concentración referido al Índice de Refracción, seleccionando el porcentaje de la mezcla que presentó mayor valor de concentración, con el fin de favorecer el proceso de cristalización.

Para la determinación de la cantidad necesaria de Rebaudiósido A para saturar las mezclas de etanol acuoso se pesaron de 10 g en 10 g de Rebaudiósido A de acuerdo a lo determinado en la Tabla 2.3, los cuales se agregaron poco a poco a cada mezcla (etanol-agua) la cual se encontraba a una temperatura de saturación específica, esto con el fin de conocer la cantidad necesaria para saturar dicha mezcla.

De acuerdo a lo experimentado por Galicia (2017), se determinó que el rango de temperatura para la cristalización del Rebaudiósido A al 95% es de 60 a 10 ° C. Debido a la pendiente de la curva, la solubilidad cambia considerablemente con respecto a la temperatura. Este rango de temperatura se corroboró con los datos obtenidos de Índice de Refracción vs temperatura identificando el rango óptimo.

### **2.2.7 Obtención de la curva de solubilidad**

Dicha técnica consistió en preparar una mezcla de 100 ml de Reb A- Etanol- Agua y llevar dicha solución a diferentes temperaturas de saturación constante mediante el uso de una parrilla eléctrica con agitación magnética.

Ya alcanzada la temperatura deseada se le agregó a la mezcla cuidadosamente de 10 g en 10 g de Rebaudiósido A, con una agitación constante de 100 rpm, empleando una parrilla electromagnética por un lapso de 60 min hasta obtener la máxima solubilidad alcanzada.

Posteriormente, se tomó una alícuota de 2 ml, se filtró con papel filtro con tamaño de poro de 6  $\mu\text{m}$  que no deja pasar las partículas de estevia, y se tomaron aproximadamente 3 gotas de dicha solución filtrada para medir el IR, °Brix y densidad en el refractómetro automático marca SCHMIDT HAENSCH modelo ATR-ST. Este mismo procedimiento se realizó para cada temperatura de saturación hasta obtener todos los puntos de concentración para cada temperatura, realizando para cada experimentación una segunda replica, con el fin de validar datos.

### **2.2.8 Determinación de la zona de concentración (MSZW)**

Para obtener los puntos experimentales del límite de la zona metaestable (límite de la zona de nucleación y crecimiento), previamente se ajustó el baño termostático a la temperatura de saturación requerida (60, 50, 40, 30, 20, y 10°C), posteriormente de acuerdo a los resultados obtenidos de la sección 2.2.7 se preparó una solución saturada de 65 etanol-35 agua % v/v con un valor de índice de refracción similar o igual al obtenido en la curva de saturación para una mezcla de solvente de 300 ml y con 150 g de materia prima que se van agregando de 10 en 10 g conforme se agita constantemente la mezcla hasta alcanzar una temperatura de 60°C, y posteriormente se vació la mezcla al cristalizador para dar inicio a la corrida experimental, con una velocidad de agitación de 100 rpm.

Por consiguiente, la identificación del límite de la primera zona metaestable se obtuvo detectando en las micrografías el primer núcleo visible, proporcionando la temperatura y el índice de refracción en donde se ubica el límite de la zona de crecimiento.

### **2.2.9 Diseño experimental**

Para analizar el efecto de enfriamiento en la amplitud de la zona metaestable, se eligió un diseño unifactorial, debido a que ya se contaba con dos factores fijos, los cuales son: la velocidad de agitación de 100 rpm y el tiempo de enfriamiento de 60 min, previamente experimentados en la tesis de Galicia (2017).

Por lo que, se utilizó un diseño experimental con factor de temperatura en un rango de 60 a 10 °C con 5 intervalos (60, 47.5, 35, 22.5 y 10 °C) y dos variables de respuesta: Índice de refracción y Brix (concentración) con 5 réplicas para cada temperatura, generando un total de 25 datos.

### **2.2.10 Adquisición de imágenes**

Para analizar y cuantificar la amplitud de la zona metaestable (límite de la zona de nucleación), se tomaron micrografías de los cristales nucleados en la solución sin filtrar mediante una pipeta destapando el orificio de muestreo, tomando la muestra del fondo de la solución de 2 ml y volviéndolo a cubrir inmediatamente (a partir de una temperatura de saturación y por cada grado de enfriamiento).

### **2.2.11 Sistema de agitación**

Para esto se utilizó el sistema de agitación de propela descrito anteriormente por (Galicia, 2017), así mismo se diseñó un sistema de agitación por burbujeo con manguera especial para peceras y un conector cruz de plástico para poder adherir la manguera para lograr una distribución uniforme del aire en todo el cristizador con ayuda de una bomba de aire. El sistema está conformado por una bomba de aire Elite 800 y 1 m de manguera de 4-6 mm de diámetro y una adaptación en forma de cruz y 4 segmentos de manguera con un tamaño de 3 cm de largo en cada lado, mostrado en la Figura 2.6 así mismo se hizo la adaptación de una manguera de diferente diámetro (9 mm) para realizar un burbujeo bien distribuido en todo el

cristalizador utilizando oxígeno como gas inerte. Para la implementación de este sistema se tomó en cuenta la mezcla de 65-35% v/v etanol-agua.



Figura 2.6 Montaje del sistema de agitación por burbujeo

### **2.2.12 Distribución de tamaño de cristal (DTC)**

Se implementó una técnica experimental que consistió en preparar una mezcla (65-35) saturada de Rebaudiósido A al 95%, considerando una mezcla de 300 ml de solvente y llevar dicha solución a diferentes temperaturas de saturación constante mediante el uso de una parrilla magnética.

### **2.2.13 Determinación de tamaño promedio de cristal**

Para cuantificar la DTC se tomó en cuenta la medida de la longitud  $D(2,1)$  se tomaron micrografías de los cristales situados en el seno de la solución y se analizaron mediante la técnica de medición de cristales descrita por Sánchez (2018), que se basa en la conversión de pixeles a micras. Se realizó un diseño experimental con factor de tiempo cada 4 minutos comenzando en 0 y finalizando en 200 minutos, realizando una réplica para cada tipo de agitación utilizada que en este caso fue paleta plana y burbujeo. Se destaca que se hizo una modificación de

dicha técnica descrita por Ramos y Valdés (2016) que consistió en calibrar y actualizar el factor de conversión del objetivo 10x (1 pixel = 0.432364615).

#### **2.2.14 Determinación de masa formada de cristal**

La medición de la masa de cristal formada se basó en la técnica de peso seco. Para cada cristalización se recolectaron 20 mL de solución cristalizada (licor madre + cristales) en tubos que previamente se pesaron vacíos en una balanza analítica y se introdujeron a una centrífuga por 5 min a 3000 rpm, este procedimiento se repitió de dos a tres veces por muestra con el fin de separar la mayor cantidad de solvente. Posteriormente las muestras centrifugadas se sometieron a calentamiento en una estufa a 80 °C por 6 h para evaporar el solvente residual y obtener una muestra seca (cristales secos). Durante el secado fue necesario mover cada hora la muestra en los tubos, favoreciendo el contacto de aire caliente con la muestra húmeda y evitando que los cristales se apelmacen.

#### **2.2.15 Análisis de varianza ANOVA, prueba de hipótesis**

Siguiendo con el diseño de experimentos establecido se desea comprobar la siguiente hipótesis: efecto que tiene la temperatura con respecto a la concentración.

Hipótesis nula: La temperaturas afectan por igual la concentración:

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 \quad (2.1)$$

Hipótesis alterna: Al menos una temperatura afecta de forma diferente la concentración:

$$H_1 = \mu_i \neq \mu_j \quad \text{Al menos para una } i \neq j \quad (2.2)$$

## **CAPÍTULO 3**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Actualización del software

La actualización del software a LabVIEW 2017 hace posible tener una serie de mejoras ya que esta nueva versión del programa cuenta con una gama de nuevas funciones que están localizadas dentro de las paletas de diseño, brindando como resultado la acción de permitir tener un mejor aspecto visual así como también una programación más rápido con acceso directo *Quick Drop* y túneles de *Ciclo For* mejorados.

Simplifica los diagramas de bloques con cables de canal para conectar código que se ejecuta en paralelo con un solo cable a la PC de escritorio y sistemas en tiempo real. Depura errores rápidamente con enlaces embebidos en mensajes de error. Una de las mejoras más visibles que ofrece esta actualización se encuentra dentro de la ejecución de los programas desarrollados por el usuario dentro de la plataforma de programación gráfica LabVIEW ya que mejora la velocidad en el procesamiento de datos. Garantiza las técnicas de programación adecuadas con análisis de código dinámico, métricas de cobertura de código y de pruebas de unidades.

### 3.2 Obtención de datos de refractómetro ATR-ST

En la Figura 3.1 se muestra el esquema final. El proceso inicia con la identificación del puerto COM, posteriormente se reconoce el tipo de datos y el número de bits que se van a utilizar, todos los datos se mostraran en un cuadro de texto, si la cadena de datos es la indicada se extraerán de manera individual y se mostraran en un indicador numérico, los datos pertenecientes al IR se grafican contra el tiempo. Las tres cadenas serán concatenadas y después serán almacenadas en una hoja de Excel. En el ciclo interno se colocó un contador que va desde 0 hasta



6. Cuando se detiene el proceso se cierra el evento y se comprueba que no tenga errores.

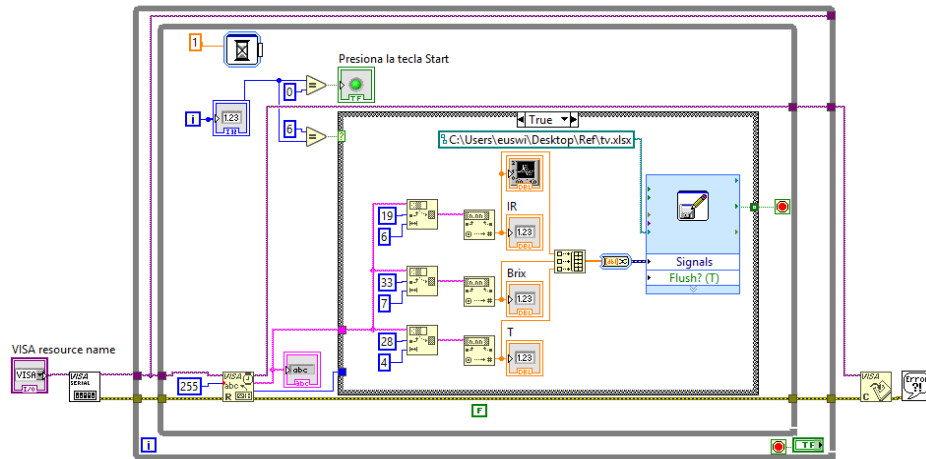


Figura 3.1 Diagrama del proceso para la obtención de datos de un refractómetro

En la Figura 3.2 se observa la interfaz gráfica para la obtención de datos del refractómetro ATR-ST. Para iniciar el proceso se tiene que seleccionar el puerto COM que se está utilizando, si se conectó correctamente, la comunicación entre el equipo y la computadora será estable y se generará un icono verde en el puerto conectado. El proceso se detiene con el botón Stop. Para iniciar con la captura de datos se tiene que presionar la tecla Start del equipo, para que esto se realice de manera correcta el contador numérico tiene que estar en 0 y el indicador denominado “presione la tecla Start” tiene que estar en verde. Los datos del equipo se muestran en el recuadro denominado datos generales, aquí se muestra el método que se está utilizando, el nombre de la empresa, el número de serie del equipo, la hora y la fecha. En el recuadro IR se muestra el índice de refracción, en el recuadro T se indica la temperatura y en el recuadro Brix se muestran los grados Brix. En la gráfica se representan los grados Brix contra el tiempo.

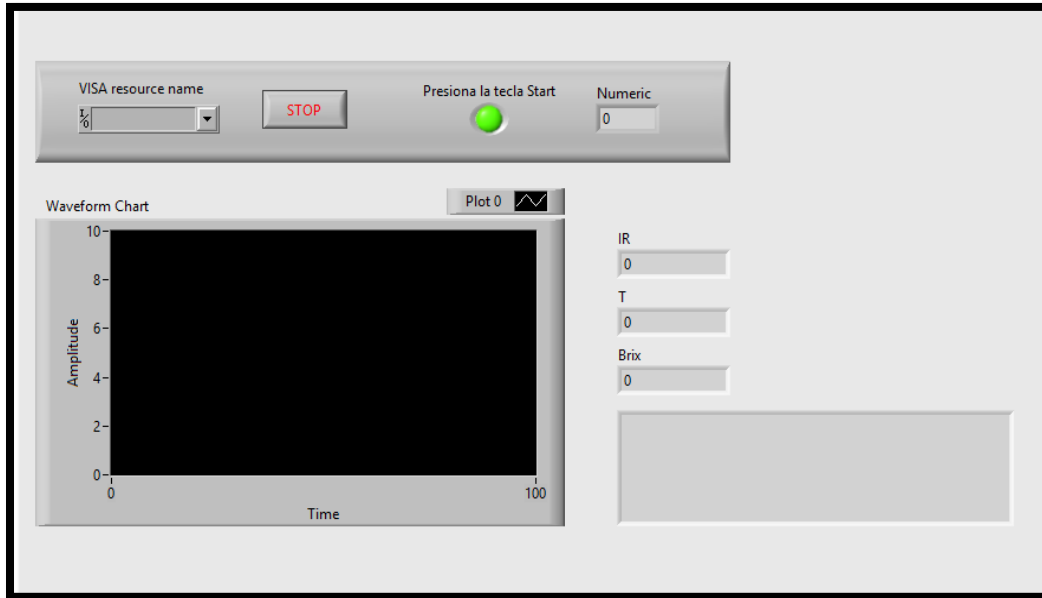


Figura 3.2 Interfaz gráfica para la obtención de datos de un refractómetro

### 3.3 Interfaz para el control de un baño térmico con recirculación

En la Figura 3.3 se muestra el código final. El proceso inicia reconociendo el puerto COM que se está utilizando así como también la configuración del serial, posteriormente se tiene un ciclo que recibe datos booleanos los cuales controlan el encendido y apagado del equipo, después de que el equipo enciende se tiene otro ciclo que mediante datos booleanos permite ejecutar el punto de ajuste al que se desea trabajar, se verifican los errores generados y se muestran para comprobar si el operador los puede corregir o es un error de estabilidad. Se obtiene el *setpoint*, se envía a un indicador numérico y se gráfica. Se obtiene la temperatura interna, se envía a un indicador numérico y se gráfica. Se obtiene la intensidad con la que trabaja el equipo y se gráfica, finalmente se cierra el evento y se comprueba que no tenga errores. El tiempo para la toma de datos se puede establecer de manera manual.

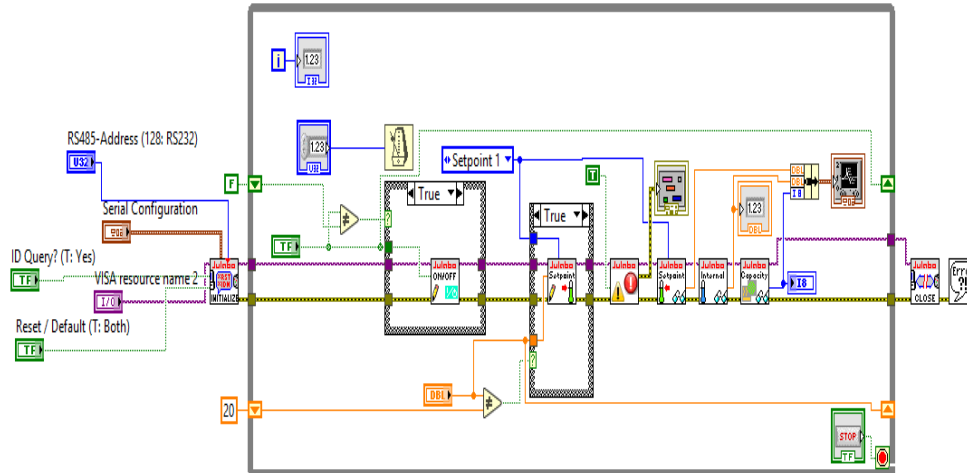


Figura 3.3 Diagrama del proceso para el control de un baño térmico

En la Figura 3.4 se observa el panel frontal para el control de un baño térmico con recirculación. El proceso inicia seleccionando el puerto COM que se está empleando para generar comunicación. La configuración del serial no se modifica a menos que se utilice en un equipo con diferente configuración del puerto serie.

Para iniciar una corrida experimental el botón de *ID Query* debe estar posicionado en la indicación No, el botón *Reset/Default* debe estar posicionado en la indicación Default, si cambia alguno de los dos, la comunicación con el equipo se interrumpirá y no se podrán enviar ni recibir señales. El control numérico denominado *Setpoint* controla la temperatura a la que el equipo va a trabajar. En el indicador numérico denominado *InternalTemp* muestra la temperatura del fluido. El botón denominado *AJUS* enciende y apaga el equipo. El indicador numérico denominado *Power* indica la intensidad a la que está trabajando el equipo. El botón *Stop* detiene todo el proceso. En la gráfica se representa el comportamiento del *Setpoint* (color blanco), la temperatura interna (color rojo), y la intensidad del poder con la que está trabajando el equipo (color verde). Si se genera un error en la comunicación, este se representará en el recuadro denominado *device error out*. Si se desea reducir o aumentar el tiempo de lectura de datos se cambia con el controlador denominado

*Read cycle*. En la Tabla 3.1 se muestran los componentes del sistema de cristalización.



Figura 3.4 Interfaz gráfica para el control de un baño térmico con recirculación

Tabla 3.1 Componentes del proceso de cristalización

Número	Componente
1	Cristalizador de vidrio
2	Placa Arduino
3	Fuente conmutada
4	Motor
5	Baño térmico con recirculación programable
6	Computadora central del proceso
7	Refractómetro
8	LUMiReader
9	Termopar 1
10	Termopar 2

### 3.4 Selección de solvente

Se midió la concentración de Rebaudiósido A en diferentes solventes (alcohol isopropílico, cloroformo, acetona y etanol) para encontrar el ideal para la mezcla con agua y el etanol fue el que arrojó una concentración mayor. En la Tabla 3.2 se muestran los resultados.

Tabla 3.2 Concentración de Rebaudiósido A en diferentes solventes

<b>Solvente</b>	<b>Concentración (° Brix)</b>
Alcohol isopropílico	13.63
Cloroformo	3.21
Acetona	2.10
Etanol	31.31

### 3.5 Selección del porcentaje óptimo para la mezcla de solventes (Etanol-agua)

Para este experimento se probaron cuatro porcentajes de una mezcla para 100 ml de solvente (etanol-agua) de 55-45, 60-40, 65-35 y 70-30 % v/v de acuerdo con lo establecido en la Sección 2.2.5. A continuación se muestra en las Tablas 3.3, 3.4 y 3.4 se muestran los resultados promedio de las dos réplicas de índice de refracción, porcentaje de sólidos disueltos (°Brix) y densidad (g/cm<sup>3</sup>) para cada porcentaje de solvente probado, obtenidos a partir de los experimentos realizados para cada temperatura de saturación (60, 50, 40, 30, 20 y 10°C) agregando 50 g de soluto.

Tabla 3.3 Lecturas promedio de IR en función de la mezcla de solventes

<b>T°C</b>	<b>55-45 % v/v</b>	<b>60-40 % v/v</b>	<b>65-35 % v/v</b>	<b>70-30 % v/v</b>
<b>60</b>	1.4187	1.4199	1.4231	1.4185
<b>50</b>	1.4107	1.4131	1.4158	1.4102
<b>40</b>	1.4081	1.3994	1.4103	1.4073
<b>30</b>	1.3953	1.3905	1.4013	1.3901
<b>20</b>	1.394	1.3819	1.3823	1.3812
<b>10</b>	1.3829	1.3712	1.3732	1.3711

Tabla 3. Lecturas promedio de °Brix en función de la mezcla de solventes

<b>T°C</b>	<b>55-45 % v/v</b>	<b>60-40 % v/v</b>	<b>65-35 % v/v</b>	<b>70-30 % v/v</b>
<b>60</b>	49.85	50.34	51.82	49.5
<b>50</b>	46	47.26	48.17	46.2
<b>40</b>	44.5	45.12	45.52	44.14
<b>30</b>	37.9	37	37.13	36.89
<b>20</b>	26.2	28.4	30.95	26.32
<b>10</b>	24.37	24.9	25.72	24.2

Tabla 3.5 Lecturas promedio de densidad en función de la mezcla de solventes

T°C	55-45 % v/v	60-40 % v/v	65-35 % v/v	70-30 % v/v
60	0.9940	0.9950	0.9953	0.9949
50	0.9942	0.9955	0.9958	0.9952
40	0.9973	0.9985	0.9990	0.9980
30	1.0002	1.0005	1.0007	1.0003
20	1.0010	1.0010	1.0015	1.0010
10	1.0017	1.0019	1.0020	1.0018

Como se puede observar en las Tablas 3.3 y 3.4 los valores de concentración altos que favorecen más el proceso de cristalización del Rebaudiósido A. son los generados a partir del porcentaje de 65 etanol-35 agua para 100 ml de solvente. Por lo que se seleccionó el porcentaje de 65-35 para hacer la curva de solubilidad.

### 3.6 Masa de Rebaudiósido A necesaria para la saturación de las mezclas

Para saturar 100 ml de la mezcla de solventes se requirieron de 50 g de materia prima (65 etanol – 35 agua %v/v). Por lo que, para 300 ml de mezcla de solventes se necesitaron 150 g de Rebaudiósido A al 95 % puro.

### 3.7 Identificación del rango óptimo de temperatura

Los experimentos se realizaron para un rango de temperatura entre 60 a 10 °C, ya que de acuerdo a Galicia, (2017) este es el rango de cristalización para el Rebaudiosido A al 95 %. Este rango de temperatura se comprobó al realizar las corridas experimentales (curva de solubilidad) y se corroboró con los datos obtenidos de índice de refracción vs temperatura, porque debido a la pendiente de la curva, el rango óptimo de cristalización para el Rebaudiosido A es entre 60 y 10°C, mencionando que la solubilidad cambia considerablemente con respecto a la temperatura.

### 3.8 Curva de solubilidad

A continuación, se muestra la comparación en las Figuras 3.5 y 3.6 de las curvas de solubilidad obtenidas para cada mezcla en IR y °Brix. Sin embargo, se confirmó que la curva que mayor concentración presentó favoreciendo el proceso de cristalización es aquella que tiene más porcentaje de alcohol y menos porcentaje de agua, es decir el porcentaje de 65 etanol - 35 agua para 100 ml de mezcla de solvente, pese a parecer que los °Brix y el índice de refracción parecen comportarse de manera distinta, en ambos casos la mejor mezcla es la misma, con estos resultados se logra puntualizar aún más en el porcentaje correcto.

Para este experimento, se disolvieron 50 g de materia prima en la mezcla de solvente, para alcanzar el equilibrio o solubilidad límite.

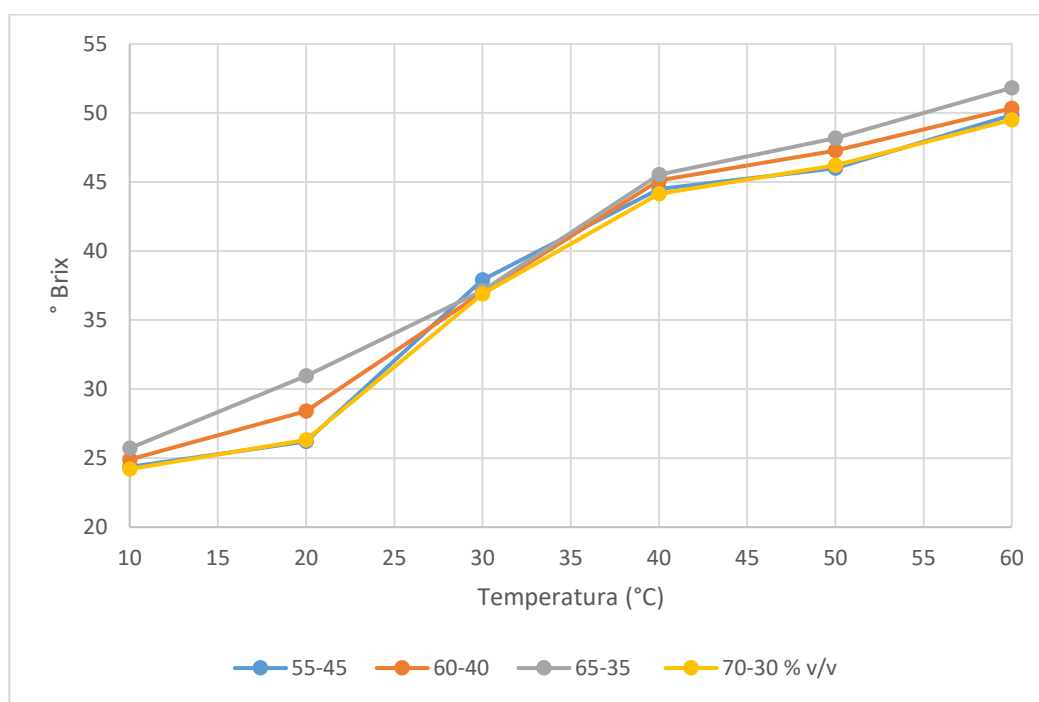


Figura 3.5 Curva de solubilidad representada en sólidos disueltos (°Brix) para una mezcla de 100 ml de solvente

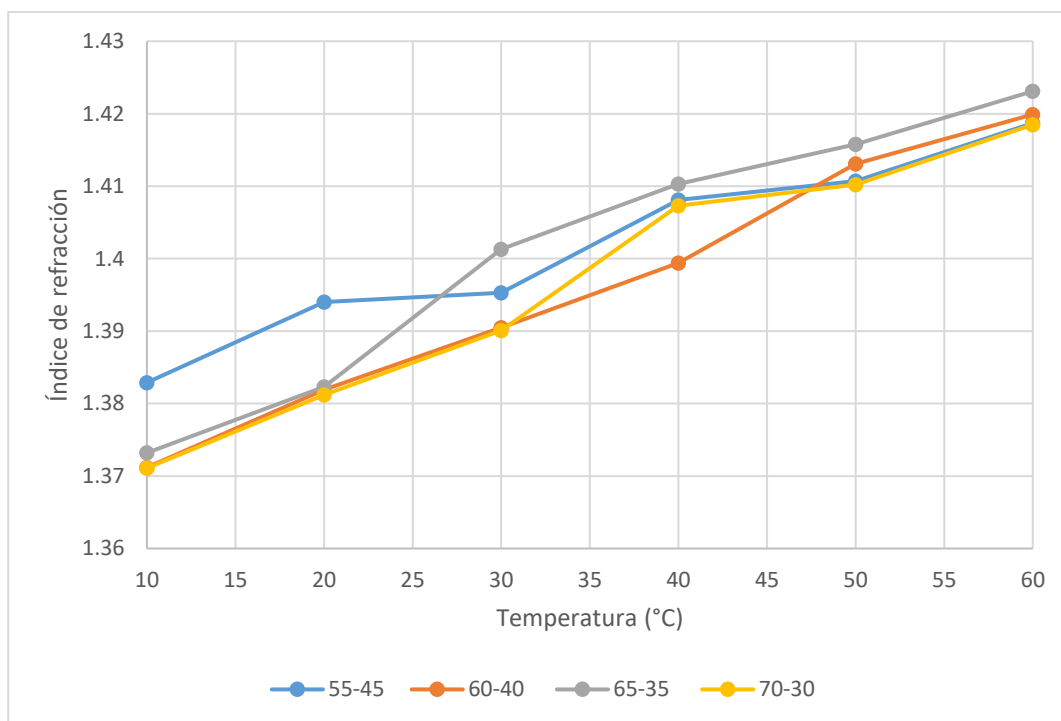


Figura 3.6 Curva de solubilidad representada en índice de refracción para una mezcla de 100 ml de solvente

### 3.9 Delimitación de la zona de concentración (MSZW)

Se muestran en la Tabla 3.5 los resultados promedio de las dos réplicas de los puntos experimentales de los primeros núcleos visibles que delimitan la zona metaestable de la mezcla 65 etanol - 35 agua % v/v para 300 ml de solvente, y 150 g de soluto, ubicados para la zona metaestable en °Brix e índice de refracción, obtenidos para cada temperatura de saturación en un rango de 60 a 10 °C, los resultados no son idénticos con respecto a las Tablas 3.2 y 3.3 debido a las temperaturas medidas. Así mismo en dichas tablas es inferior el valor de °Brix e IR para 60 °C puesto que la máxima solubilidad comienza a disminuir.



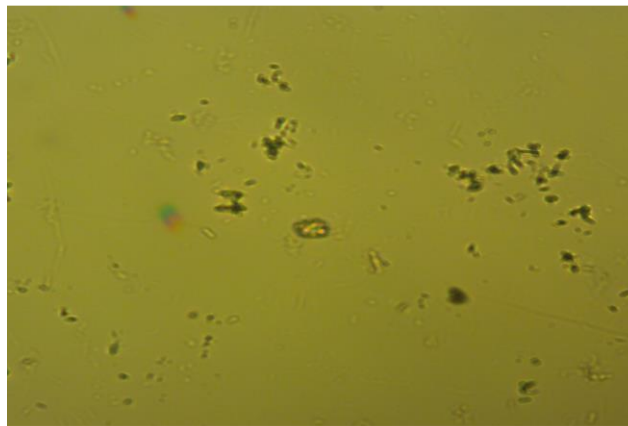
Tabla 3.6 Promedios finales de los puntos experimentales

Temperatura °C	IR	Brix
56	1.4298	52.94
46	1.4240	49.96
36	1.4177	47.82
26	1.4068	38.97
17	1.3900	32.25
7	1.3802	27.02

Para llegar al primer núcleo visible de la zona metaestable se requirió disminuir la temperatura de 7 ° C para alguno de los casos y poder delimitar dicha zona y observar núcleos visibles En la Figura 3.7 se observa a) solución limpia (60 °C), b) solución con núcleos visibles (36 °C) y c) solución con mayor formación de núcleos (7 °C). En la micrografía a 60 °C la solución se muestra totalmente limpia ya que se tiene el Rebaudiósido A completamente disuelto y está por comenzar el proceso de disminución de temperatura y conforme se comienza el enfriamiento se da la formación de los cristales, lo anterior explica la diferencia entre ambas temperaturas. Las Figuras 3.8 y 3.9 muestran la zona metaestable a partir de un diagrama de temperatura vs concentración, representada en índice de refracción y °Brix.



a)



b)



c)

Figura 3.7 Micrografías rebaudiósido A: a) solución limpia, b) solución con núcleos visibles y c) solución con mayor formación de núcleos

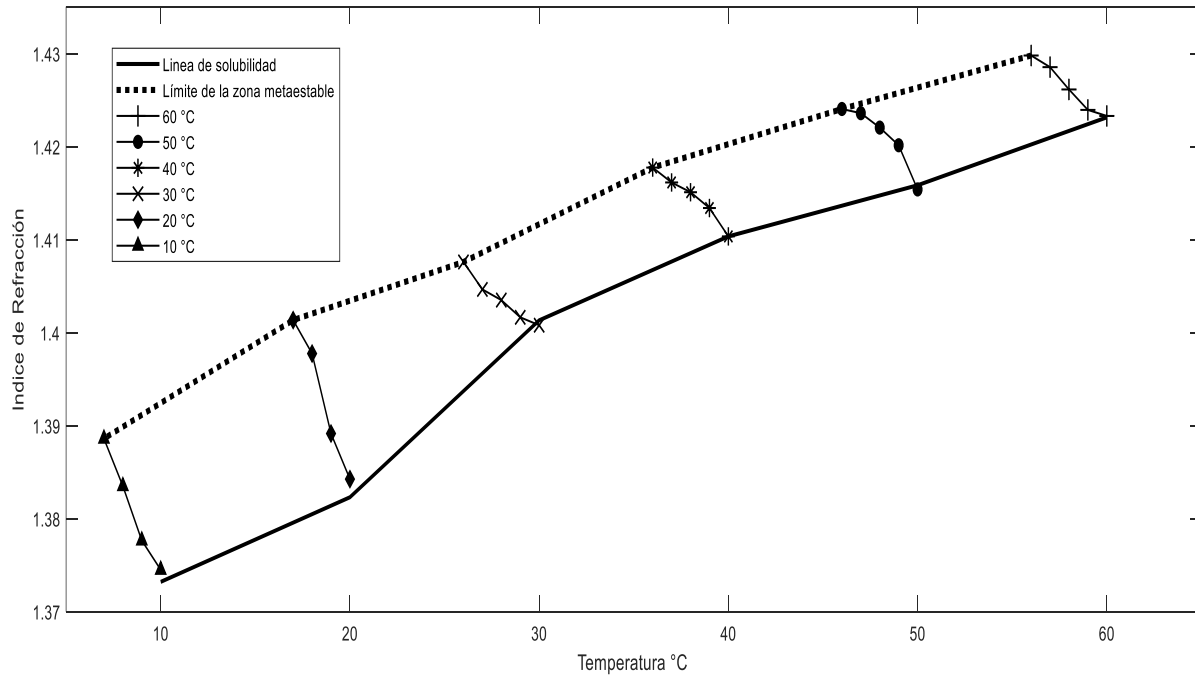


Figura 3.8 Representación de la zona metaestable determinada a partir del IR

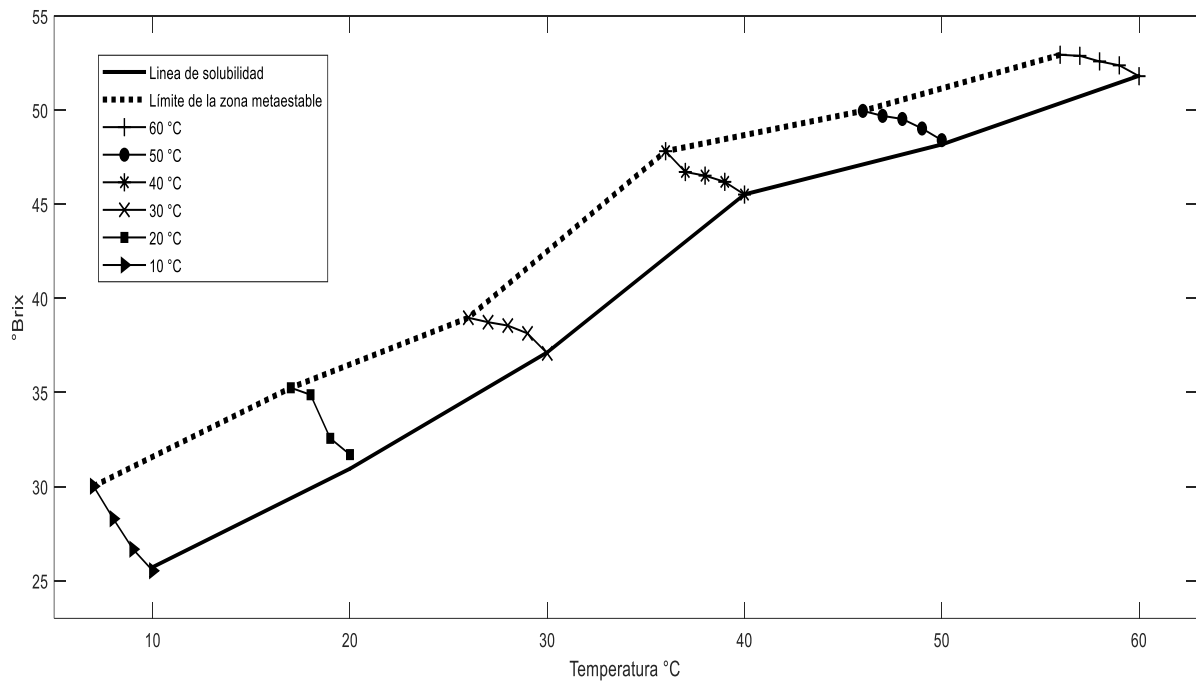


Figura 3.9 Representación de la zona metaestable determinada a partir de Brix

No existen investigaciones similares con Rebaudiósido A, sin embargo de acuerdo a lo reportado por Sánchez *et al.*, (2020) que realizaron una investigación similar con azúcar de caña, se observó que conforme disminuía la temperatura, se alcanzaba así el equilibrio termodinámico y generando cristalización. Así mismo aumentó considerablemente la DTC conforme la temperatura disminuía y esto se atribuyó a la falta de cristales en las micrografías.

### **3.9.1 Ajustes y modelos matemáticos polinomiales de la curva de saturación y amplitud de la zona metaestable**

Para la curva de saturación y el límite de la zona metaestable de la mezcla Rebaudiósido A-etanol-agua, los modelos que se ajustaron en MatLab a dichos datos experimentales de concentración (Índice de Refracción y Brix), fueron de primer orden con un índice de correlación cercano a la unidad los cuales resultaron ser satisfactorios.

#### **3.9.1.1 Modelos matemáticos para el IR**

Índice de Refracción de saturación con  $R^2 = 0.9866$ .

$$IR_{\text{saturación}} = 0.0012 * T + 1.3595 \quad (3.1)$$

Índice de Refracción del límite de la zona metaestable (línea intermedia) con  $R^2 = 0.997$ .

$$IR_{\text{línea intermedia}} = 0.0014 * T + 1.3796 \quad (3.2)$$

#### **3.9.1.2 Modelos matemáticos para el porcentaje de sólidos disueltos °Brix**

Porcentaje de sólidos disueltos de saturación con  $R^2 = 0.9937$ .

$$°Brix_{\text{saturación}} = - 0.0191 * T^2 + 0.1255 * T + 22.682 \quad (3.3)$$

Porcentaje de sólidos disueltos del límite de la zona metaestable (línea intermedia) con  $R^2 = 0.9875$ .

$$^{\circ}\text{Brix}_{\text{línea intermedia}} = -0.019 \cdot T^2 + 0.1265 \cdot T + 28.332 \quad (3.4)$$

En las Figuras 3.10 y 3.11, se muestran ambos diagramas de temperatura vs concentración ( $^{\circ}\text{Brix}$  e IR), obtenido a partir de los modelos (Ec. 3.1, 3.2, 3.3 y 3.4) provenientes del ajuste de los datos experimentados. Y representa la limitada amplitud de la zona metaestable, es decir el límite de la zona donde inicia la nucleación y crecimiento de cristales para la mezcla de Rebaudiósido A – etanol – agua, la cual está proporcionada por la línea de saturación y la línea intermedia.

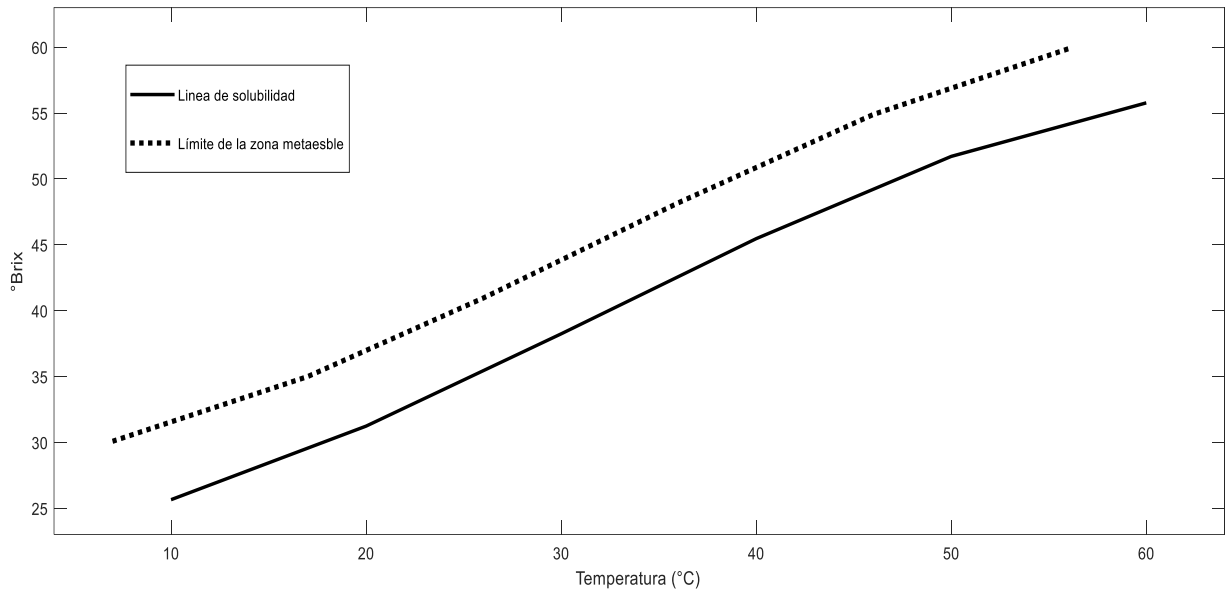


Figura 3.10 Diagrama de concentración ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) vs temperatura de la zona metaestable

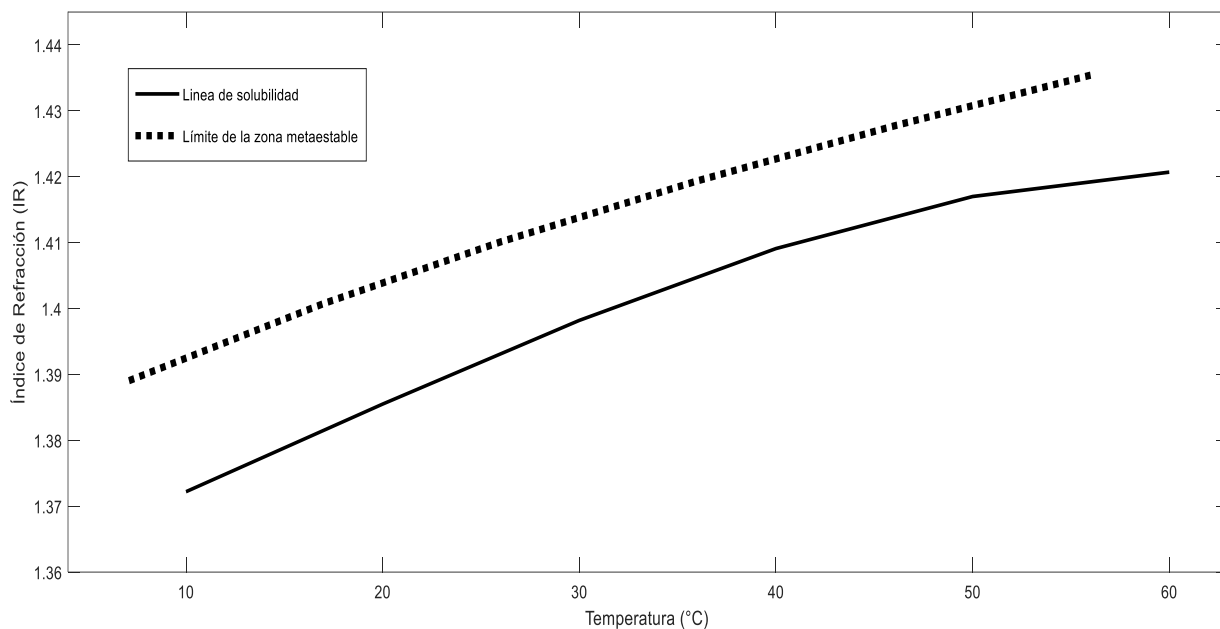


Figura 3.11 Diagrama de concentración (IR) vs temperatura de la zona metaestable

### 3.10 Adquisición de imágenes para observar el primer núcleo visible

La nucleación se presenta de forma dispersa a las temperaturas de 56 °C, 46 °C, 36 °C, 26 °C, 17 °C y 7 °C como se observa en las Figuras 3.12, 3.13, 3.14, 3.15, 3.16 y 3.17. A los 56 °C no se observa la formación de núcleos puesto que la experimentación al comenzar a los 60 °C con una disminución de la temperatura no presenta cristales de gran tamaño de manera inmediata, a los 46°C se observa un comportamiento similar y ya a los 36 °C se observan núcleos mayores, a los 26 °C no se observan con nitidez los cristales, sin embargo, a los 17 °C logran observarse nuevamente y esta vez en mayor cantidad, a 7 °C se aprecian menos cristales pero arrojan mayor tamaño. En cambio, a temperaturas menores de 55 °C, 45 °C, 35 °C, 25 °C, 16 °C y 6 °C, se presenta la aparición de cristales en forma de aguja bajando la temperatura hasta 0°C. (Figura 3.19).



Figura 3.12 Micrografía a 56 °C



Figura 3.13 Micrografía a 46 °C

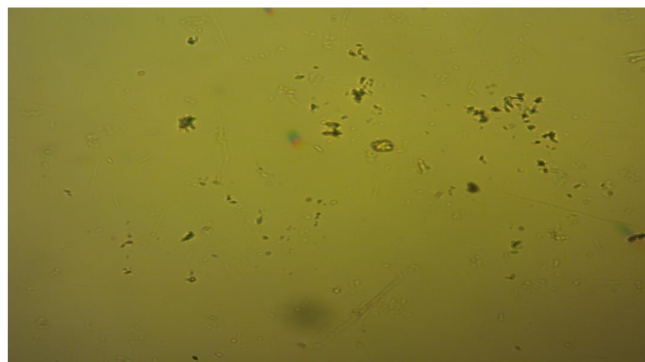


Figura 3.14 Micrografía a 36 °C

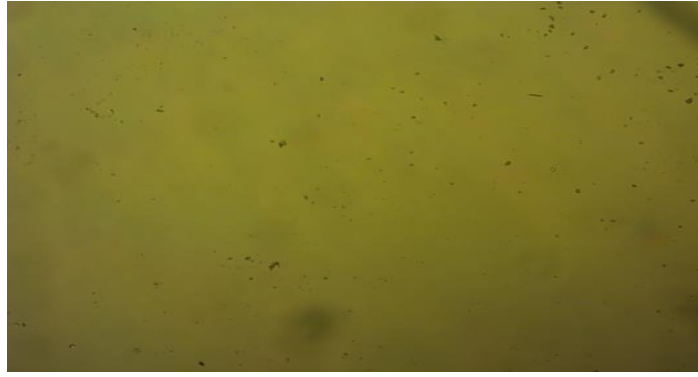


Figura 3.15 Micrografía a 26 °C

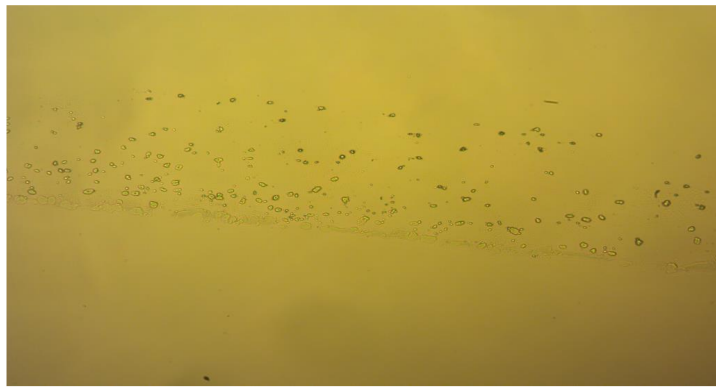


Figura 3.16 Micrografía a 17 °C

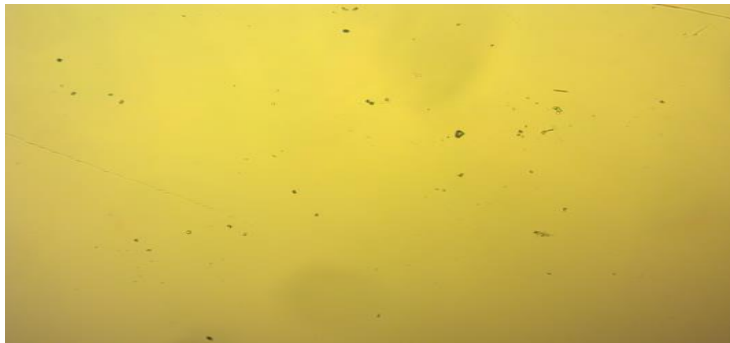


Figura 3.17 Micrografía a 7 °C



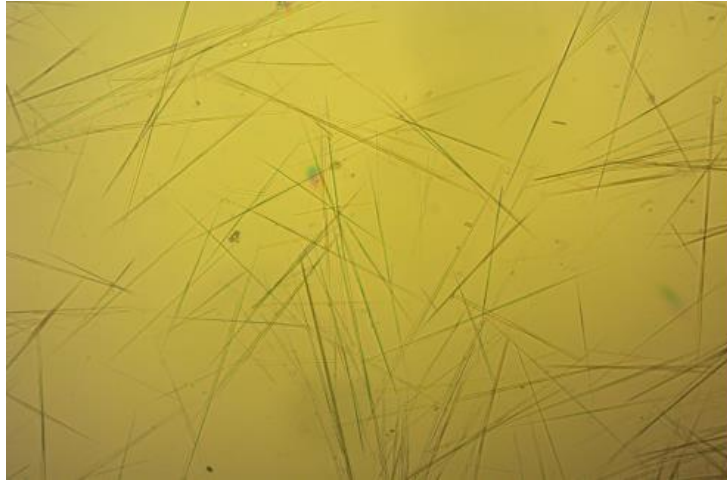


Figura 3.18 Formación de cristales con morfología tipo aguja a temperatura de 0 °C

### 3.11 Tamaño y masa formada

El cálculo del tamaño medio de los cristales se llevó a cabo mediante la toma de micrografías a las muestras extraídas de las corridas en el minuto 60 (tiempo final de lote), empleando el software Vision Assistant de National Instruments 2014. Fue necesario medir y calcular la distribución longitud  $D(2,1)$ , es decir, para soluciones de Reb A en mezclas de alcohol etílico-agua, una distribución en función de la longitud representa apropiadamente el tamaño del cristal. Respecto a la masa de cristal formada, se obtuvo un 65% de soluto recuperado en promedio para la mezcla 65-35%, esto debido a las pérdidas de soluto que se dan en cada muestreo, representa un 14% más que lo obtenido por Galicia (2017).

### 3.12 Sistema de agitación por paleta plana

Se evaluó, si las velocidades para realizar agitación por paleta plana afectan el sistema de agitación. En la Tabla 3.7 se muestran los resultados obtenidos por este tipo de agitación, los cuales varían debido a la sedimentación de partículas existente. En las Tablas 3.8 y 3.9 no existieron diferencias significativas en el tamaño del cristal. El valor presentado de  $p= 0.987$  es mayor que el valor de significancia de  $\alpha =0.05$  por tanto se acepta la hipótesis nula y se rechaza la

hipótesis alterna de que todas las medias son significativamente diferentes no afectando los tamaños de cristales. En la Figura 3.19 se muestra una micrografía con este tipo de agitación, en donde se rompen los cristales debido al movimiento de la paleta, lo cual puede apreciarse en la imagen ya que no se observa una uniformidad en el tamaño de los cristales, lo que ocasiona una disminución del tamaño promedio.

Tabla 3.7 Promedios de concentración para agitación por paleta plana

Temperatura	IR	° Brix
60	1.4069	47.22
50	1.4188	49.55
40	1.4155	49.15
30	1.4275	48.12
20	1.4207	51.11
10	1.4288	49.38

Tabla 3.8 Análisis de varianza para el diseño experimental de agitación por paleta plana

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Velocidades	1	0.000066	0.000066	0.00	0.987
Error	2	0.389528	0.194764		
Total	3	0.389593			

Tabla 3.9 Medias para el diseño experimental de agitación por paleta plana

Velocidades	N	Media	Desv. Est.	IC de 95%
80 rpm	2	75.543	0.156	(74.2,76.885)
100 rpm	2	75.551	0.604	(74.208, 76.8)

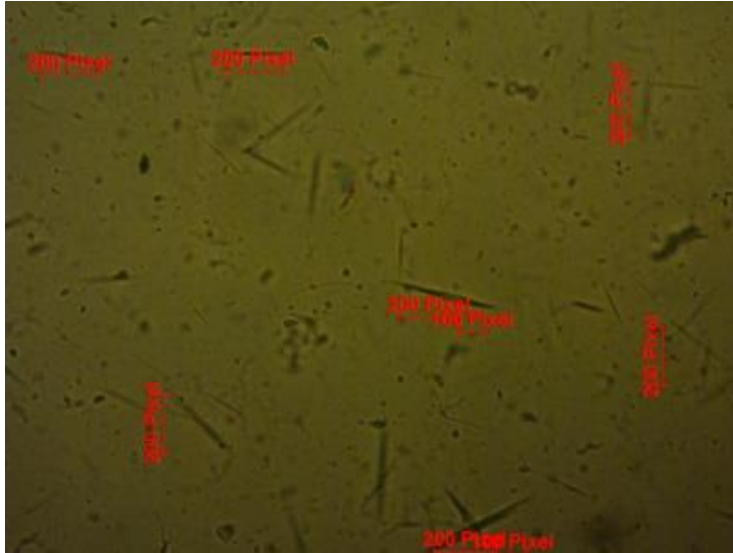


Figura 3.19 Micrografía con agitación por paleta plana

### 3.13 Sistema de agitación por burbujeo

Se evaluó si las velocidades para realizar agitación por burbujeo afectan el sistema de agitación. En la Tabla 3.10 se muestran los resultados obtenidos por este tipo de agitación. En las Tablas 3.11 y 3.12 no existieron diferencias significativas en el tamaño del cristal. La variación en los datos se debió a lo inconsistente de la agitación que pese a suministrar el flujo de aire constante, no se podía controlar el taponamiento de la manguera. El valor presentado de  $p = 0.981$  es mayor que el valor de significancia de  $\alpha = 0.05$  por tanto se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna de que todas medias son significativamente diferentes, y el sistema de agitación no afecta los tamaños de cristales. Muestra los intervalos de tamaños de cristales y no varían dependiendo de la velocidad a la que trabaja este sistema de agitación (ver la Figura 3.21). En la Figura 3.20 se muestra una micrografía con este tipo de agitación, la cual presentó un comportamiento ligeramente mejor con respecto a la agitación por paleta plana, aunque no el esperado, se observa que no existe rompimiento de los cristales, lo que nos permite tener un comportamiento más uniforme. Para graficar estos resultados se utilizó Minitab 17.

Tabla 3.10 Promedios de concentración para agitación por burbujeo

Temperatura	IR	° Brix
60	1.4104	45.07
50	1.4288	54.05
40	1.4175	48.81
30	1.4155	45.77
20	1.4238	51.75
10	1.4108	46.03

Tabla 3.11 Análisis de varianza para el diseño experimental de agitación por burbujeo

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Velocidades	1	0.00144	0.00144	0.00	0.981
Error	2	4.04962	2.02481		
Total	3	4.05105			

Tabla 3.12 Medias para el diseño experimental de agitación por burbujeo

Velocidades	N	Media	Desv. Est.	IC de 95%
0	2	81.371	0.675	(77.042, 85.7)
1	2	81.33	1.90	(77.00, 85.66)

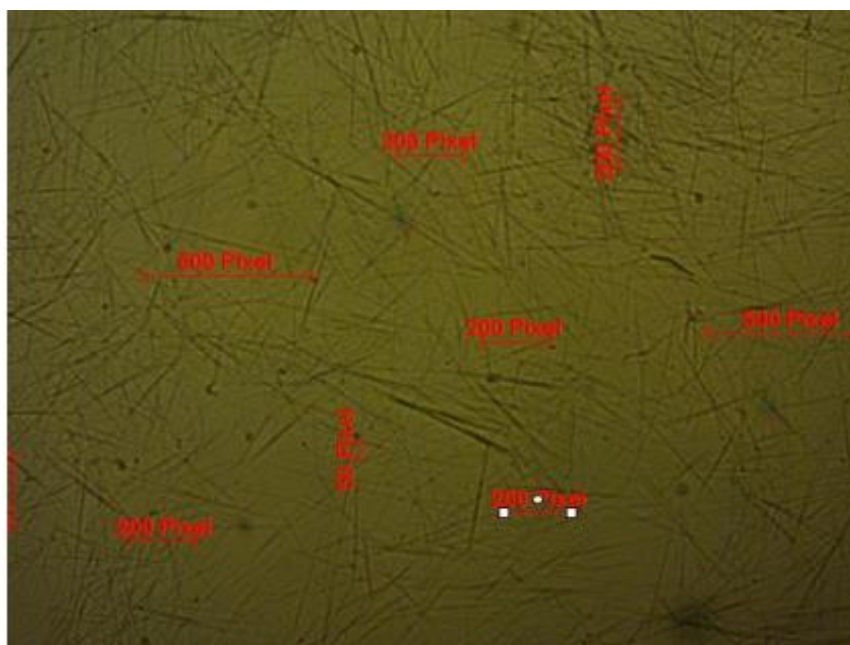


Figura 3.20 Micrografía con sistema de agitación por burbujeo

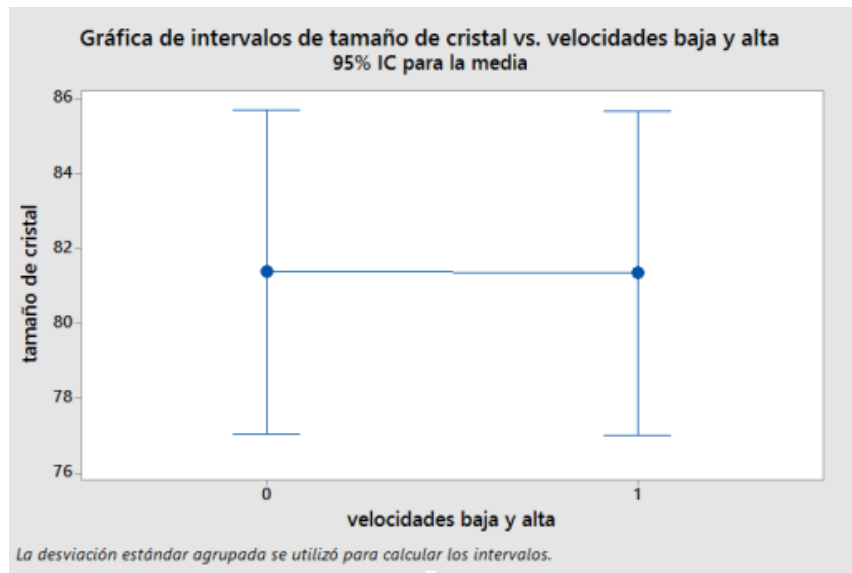


Figura 3.21 Gráfica de intervalos de tamaño de cristal de agitación por burbujeo

En las Figuras 3.22 y 3.23 se muestran las gráficas del comportamiento de la concentración medida en índice de refracción y ° Brix para ambos tipos de agitación, en donde la agitación mediante burbujeo muestra picos de concentración más altos pese a que ambos tipos de agitaciones muestran comportamientos con altibajos.

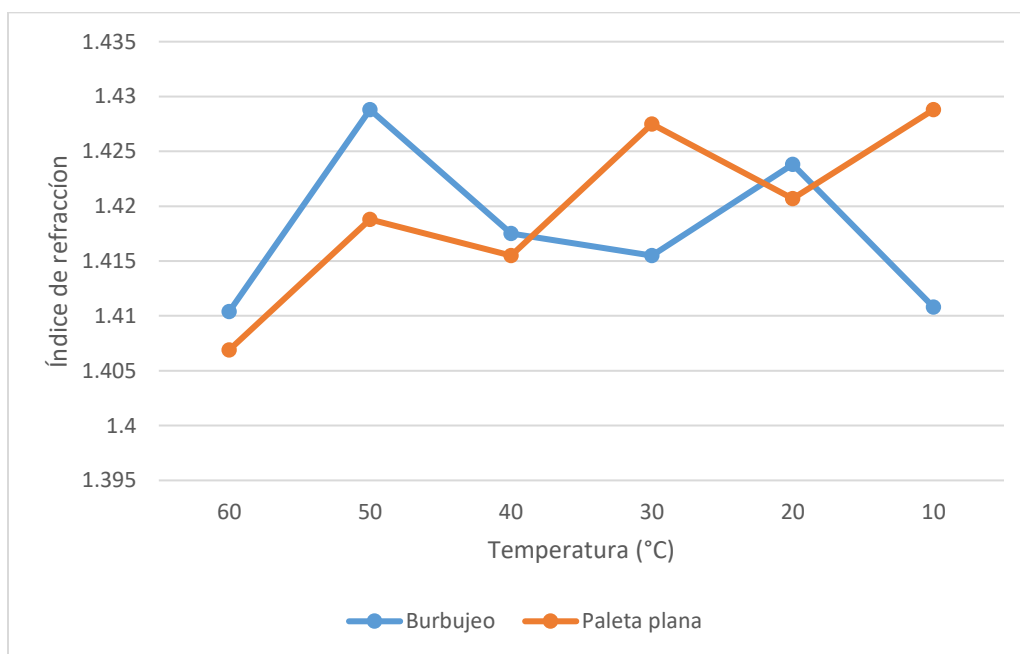


Figura 3.22 Comportamiento de concentraciones medidas en índice de refracción

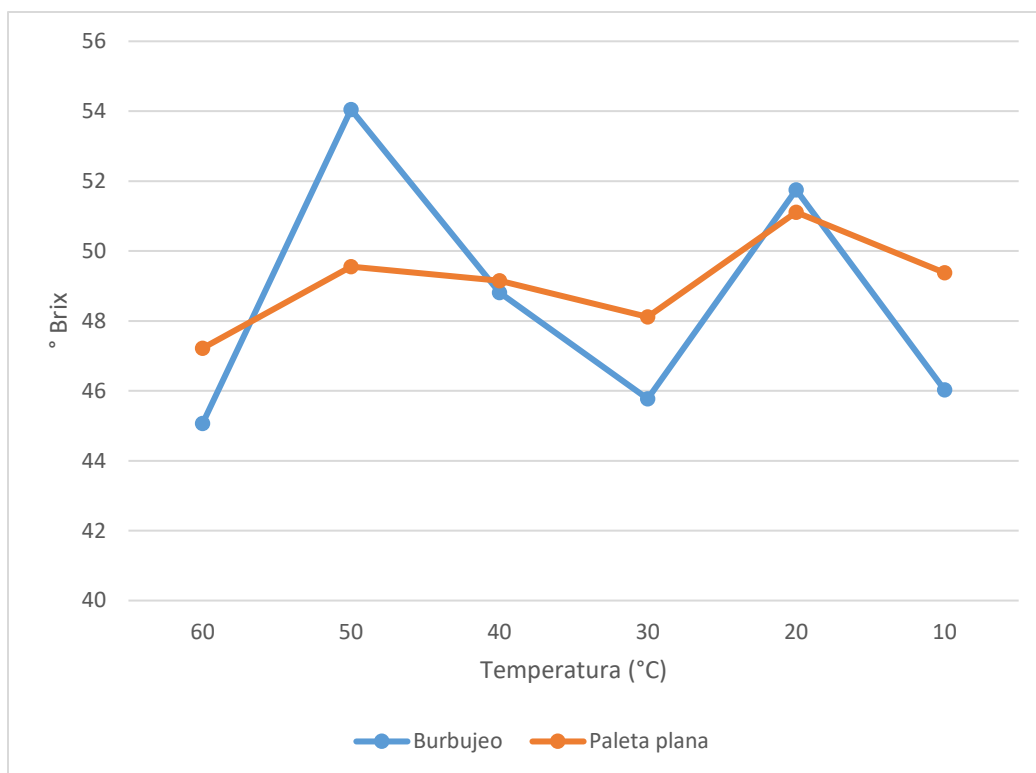


Figura 3.23 Comportamiento de concentraciones medidas en °Brix

### 3.14 DTC para ambos tipos de agitación

Para medir el tamaño medio de los cristales se midió cada cristal en pixeles empleando el software Vision Assistant de National Instruments midiendo la distribución de longitud  $D(2,1)$  dado que los cristales presentan forma de aguja, se alcanzó un máximo de  $12\ \mu$  para paleta plana y  $13.5\ \mu$  para burbujeo, representando un 12.5% más. Se utilizó el objetivo 10x del microscopio electrónico. En el anexo A se muestra el código en Julia para generar las gráficas y el análisis de estos datos. En la Figura 3.24 se muestran los datos en micras para ambos tipos de agitación en donde se puede ver que el burbujeo arroja cristales con mayor tamaño. En la Figura 3.25 se muestran los datos de desviación estándar que en contraste con la gráfica anterior se muestra una mayor dispersión para los datos de burbujeo, esto puede deberse a que las burbujas son demasiado grandes para el tamaño de los cristales

por lo que se recomienda hacer un análisis posterior del flujo de aire considerando el tamaño y número de burbujas dentro del sistema.

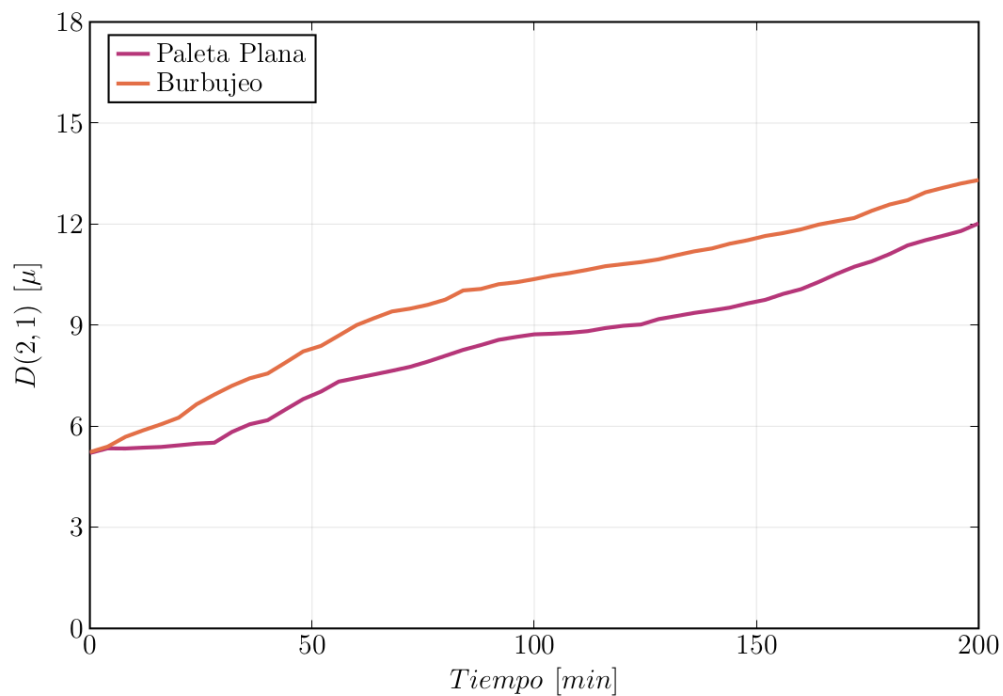


Figura 3.24 Tamaño de cristal  $D(2,1)$  para agitación por paleta plana y burbujeo

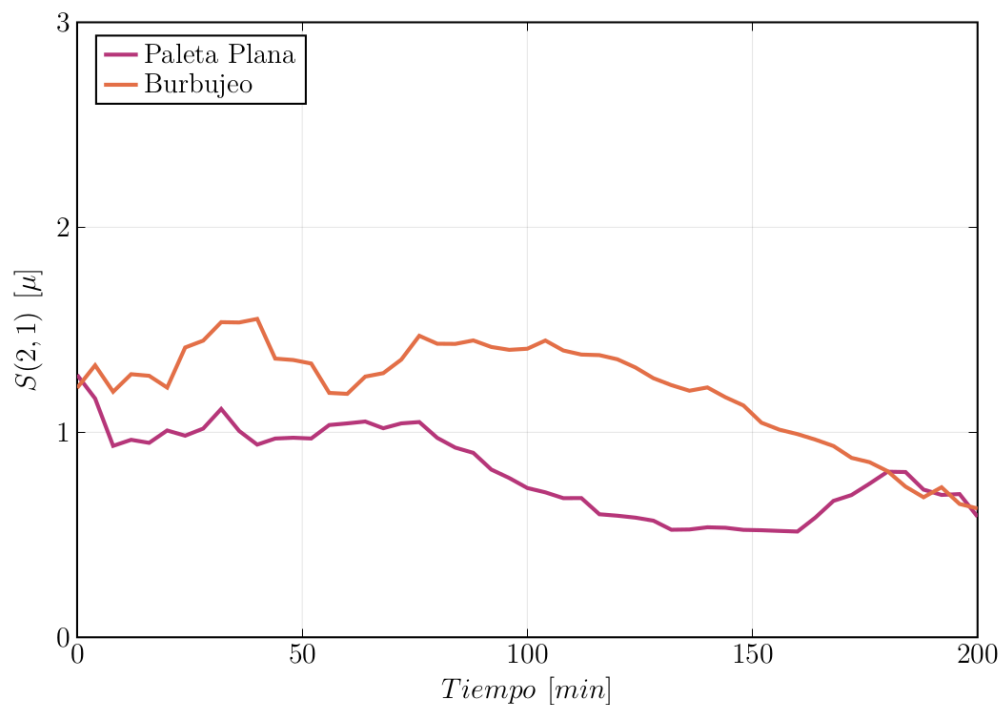


Figura 3.25 Desviación estándar  $S(2,1)$  para agitación por paleta plana y burbujeo

En las Figuras 3.26 y 3.27 se muestran las gráficas de superficie para ambos tipos de agitación, en la referente a la agitación por paleta plana se observa que la curva es irregular, sube y baja el porcentaje de longitud de manera aleatoria, mientras que en la de burbujeo la altura es uniforme, esto se atribuye a las diferencias en los tipos de agitación, ya que las paletas tienden a alterar el tamaño del cristal.

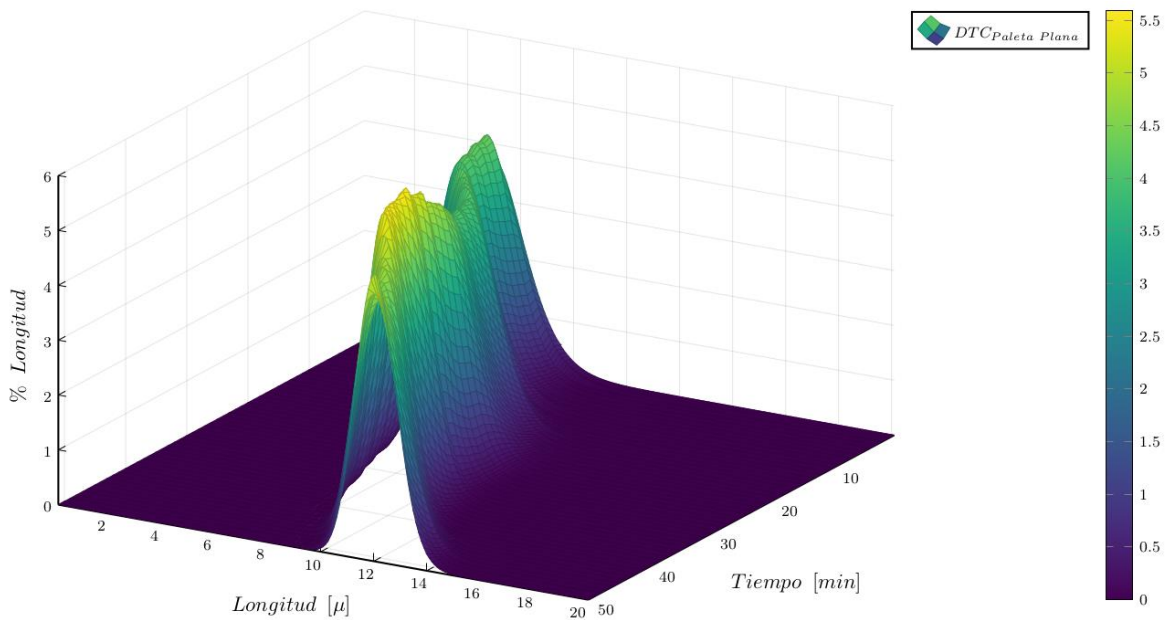


Figura 3.26 Gráfica de superficie para la DTC de paleta plana

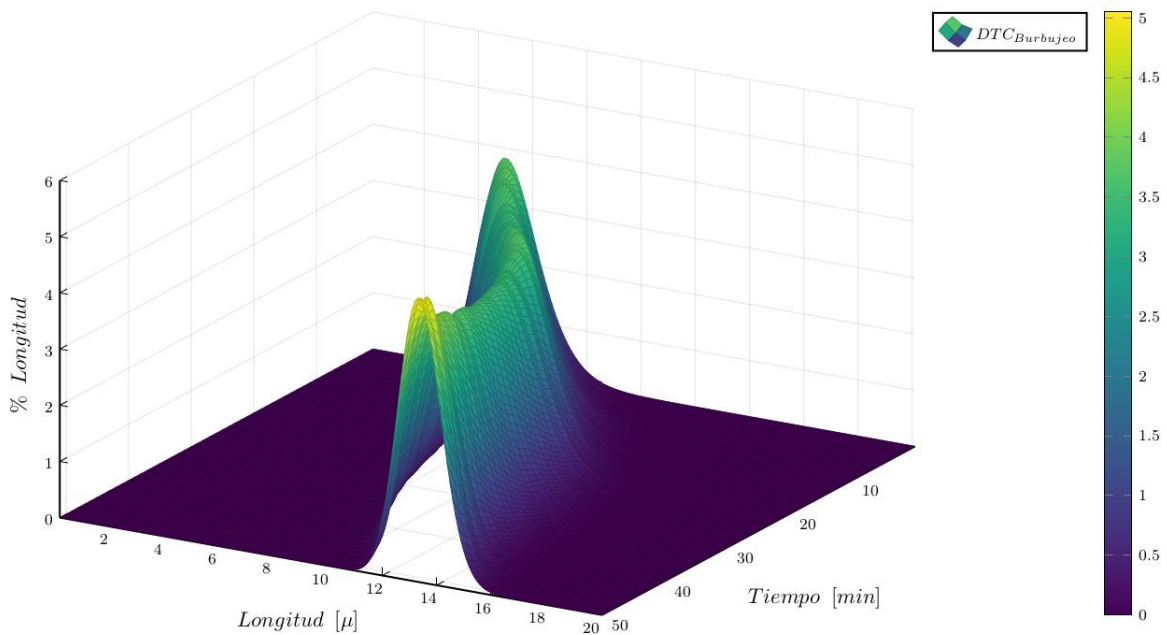


Figura 3.27 Gráfica de superficie para la DTC de burbujeo



### 3.15 Obtención de perfiles dinámicos de temperatura y diseño de interfaz grafica

Para la obtención de los perfiles dinámicos de temperatura se realizarón 4 corridas experimentales para las cuales se prepara una solución saturada de estevia a 60°C. Por medio de un perfil de enfriamiento natural con cambios escalón de -10°C en la temperatura de la chaqueta. Así, la temperatura interior del cristalizador alcanza los 60°C, 50°C, 40°C, respectivamente hasta llegar a 10°. La velocidad de agitación se especifica al inicio de cada corrida (100rpm) y se mantiene constante durante todo el proceso. Lo anterior se realizará para obtener los rangos de tiempo durante cada cambio escalón dentro del proceso y a su vez obtener el tiempo que tarda el proceso bajar de una temperatura de 60°C a 10°C para posteriormente diseñar la interfaz gráfica en LabVIEW.

Para la obtención de datos mediante los puertos COM se debe tener instalada la paquetería de datos NI-VISA, los controladores del cable RS-232 y la paquetería de funciones de la marca JULABO. En la Figura 3.28 se muestra el código final. El proceso inicia con un ciclo que recibe datos boléanos los cuales dan paso al *Case Estructure* en el cual se ingresa la ruta donde serán almacenados los datos, posteriormente se tiene un ciclo que permite obtener los datos que serán almacenados, iniciando por la fecha y hora, posteriormente el tiempo transcurrido, *setpoint* y temperatura interna, son enviados mediante un indicador numérico y se gráfica. Para la obtención del tiempo transcurrido se inicia en conjunto con el almacenamiento de datos mediante un *Flat Sequence*, pasa a un ciclo *While Loop* donde inicia el conteo del tiempo, el cual se toma en segundos. Iniciando desde un indicador booleano>> conteo del tiempo>> para finalmente mostrarlo mediante un indicador numérico.

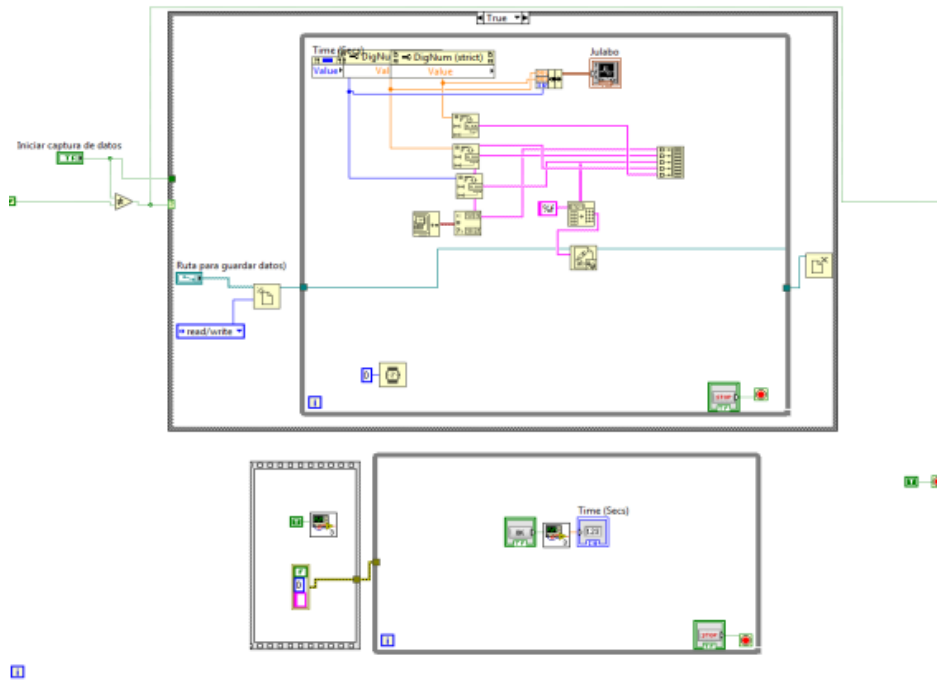


Figura 3.28 Diagrama del proceso para almacenamiento de datos y obtención de perfiles dinámicos de enfriamiento

En la Figura 3.29 se puede observar cada uno de los componentes del panel de control de la interfaz gráfica para la obtención de perfiles dinámicos de temperatura en el instrumento virtual realizado en LabVIEW. El proceso se inicia seleccionando los puertos COM y realizando pruebas de comunicación (tanto del baño de recirculación (JULABO) como de los termopares el cual registra la temperatura dentro del cristalizador), los cuales se seleccionan en la pestaña de PROCESO. El puerto COM de Arduino ayudará a capturar la temperatura dentro del cristalizador, mientras que el puerto COM de JULABO ayudará a registrar la temperatura del agua de recirculación (la que pasa por la chaqueta del cristalizador) y se obtendrá la diferencia de temperatura entre ambas que debe ser lo menos posible o no existir diferencia alguna.

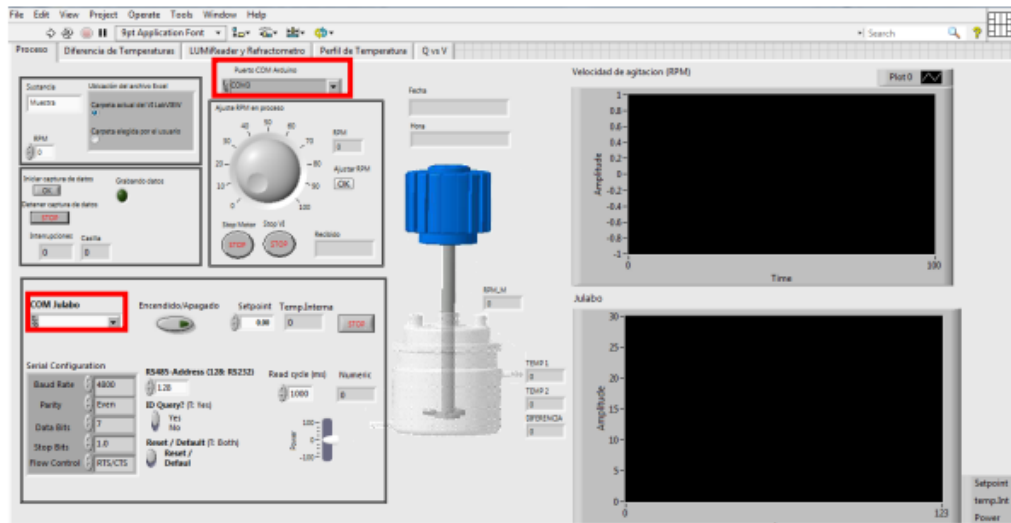
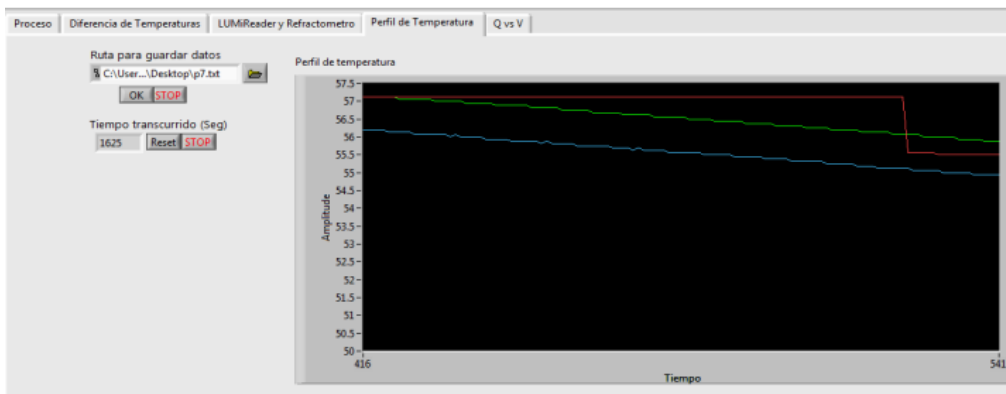


Figura 3.29 Selección de puertos COM para captura de datos

En la pestaña que muestra los perfiles de temperatura en la parte superior se colocó un *path* que permite ingresar la dirección del archivo de texto (.txt) en donde se desean registrar los datos, el proceso se inicia con el botón *OK* y para detenerlo el botón *stop*, en la parte superior se puso un contador el cual registra el tiempo transcurrido desde que inició el proceso este se muestra en segundos, cuenta con un botón de *reset* para reiniciar el conteo y uno de *stop* para detenerlo.

En la Figura 3.30 el gráfico que se muestra de lado derecho registra las temperaturas que son el Setpoint (Blanco), Temperatura del baño de recirculación (interior de la chaqueta del cristalizador) (Rojo), Temperatura dentro del cristalizador (Verde 1 punto y Azul punto contrario).



3.30 Interfaz gráfica para perfiles dinámicos de temperatura

### 3.16 Balances de materia y energía para la obtención de perfiles dinámicos de enfriamiento para la cristalización del sistema Rebaudiósido A – Agua – Etanol.

Se plantean los balances de materia y energía para complementar la descripción del proceso de cristalización. El balance de masa para el soluto en la fase continua está dado por:

$$\frac{d(V_c C)}{dt} = -\sum \varepsilon_k Q_k C_k - R$$

Dónde  $V_c$  es el volumen libre de sólidos o fase continua,  $V$  es el volumen total de la solución,  $C$  es la concentración del soluto,  $\varepsilon$  es la fracción libre de sólidos,  $(V_c/V)$ ,  $Q$  es la velocidad de flujo volumétrico, el subíndice  $k$  indica la corriente y  $R$  es la velocidad global de transferencia de masa del soluto e la solución hacia los cristales.

Partiendo del balance de masa para el soluto en la fase continua está dado por:

$$\frac{d(V_c C)}{dt} = -\sum \varepsilon_k Q_k C_k - R \quad (3.1)$$

Sustituyendo  $\varepsilon$  (fracción libre de sólidos  $(V_c/V)$ ), la ecuación anterior se suscribe:

$$\frac{d(\varepsilon V C)}{dt} = -\sum \varepsilon_k Q_k C_k - R \quad (3.2)$$

Debido a que tenemos un cristalizador tipo batch (por lotes) en donde no existen flujos entrando y saliendo del sistema la ecuación anterior se reduce a:

$$\frac{d(\varepsilon V C)}{dt} = -R \quad (3.3)$$

Para analizar el término que queda del lado derecho de la ecuación  $R$  (transferencia de soluto de la solución de cristales) se considera el balance de población realizado en Bolaños (2000), en donde se obtuvo:

$$\frac{\partial(nV)}{\partial t} + V \frac{\partial(Gn)}{\partial L} = VB^0 \delta(L - L_0) + V(B_e + B_c + B_a - D(L)) \quad (3.4)$$

De donde:

$$\alpha(L) = B_e + B_c + B_a - D(L)$$

Multiplicando las ecuaciones anteriores por L (j = 1, 2, ...) e integrando sobre las "L"

$$\int_0^{\infty} \frac{\partial(nV)}{\partial t} L^j dL + V \int_0^{\infty} \frac{\partial(Gn)}{\partial L} L^j dL = V \int_0^{\infty} B^0 \delta(L - L_0) L^j dL + V \int_0^{\infty} \alpha(L) L^j dL \quad (3.5)$$

Teniendo en cuenta las siguientes consideraciones:

$$u_j = \int_0^{\infty} n L^j dL \quad (3.6)$$

$$B^0 \delta(L - L_0) = B^0 \quad (3.7)$$

Sustituyendo lo anterior en la última ecuación se tiene:

$$\frac{d(Vu_j)}{dt} L^j dL + V \int_0^{\infty} \frac{\partial(Gn)}{\partial L} L^j dL = V \int_0^{\infty} B^0 \delta(L - L_0) L^j dL + V \int_0^{\infty} \alpha(L) L^j dL \quad (3.8)$$

En donde  $\mu_j$  es el j<sup>th</sup> momento de la distribución. Utilizando integración por partes para el segundo término de la ecuación anterior:

$$\int_0^{\infty} \frac{\partial(Gn)}{\partial L} L^j dL = -j \int_0^{\infty} Gn L^{j-1} dL \quad (3.9)$$

Para el tercer término de la ecuación donde  $B^0$  es igual a cero para cualquier valor diferente a  $L_0$  tenemos:

$$\int_0^{\infty} B^0 L^j dL = B^0 L_0^j \quad (3.10)$$

Sustituyendo los 2 términos en la ecuación principal se tiene:

$$\frac{d(Vu_j)}{dt} + Vj \int_0^{\infty} Gn L^{j-1} dL = VB^0 L_0^j + V \int_0^{\infty} \alpha(L) L^j dL \quad (3.11)$$

Se sabe que:

$$\frac{M_c}{V} = \rho_c K_v \mu_3 \quad (3.12)$$

Donde  $M_c/V$  es la masa de los cristales por volumen total (solución), donde  $\rho_c$  es la densidad de cristal,  $K_v$  es el factor de forma del cristal y  $\mu_3$  es el momento 3. Suponiendo que  $\rho_c$  y  $K_v$  son constantes y  $M_c$  es la masa de los cristales en el cristizador, la ecuación con j = 3 produce:

$$\frac{dM_c}{dt} = \rho_c K_v V [3 \int_0^{\infty} Gn L^2 dL + B^0 L_0^3 + \int_0^{\infty} \alpha(L) L^3 dL] \quad (3.13)$$

Los dos primeros términos de la ecuación están relacionados con la transferencia de masa del soluto de la solución de cristales, el tercero es la producción-reducción de los cristales debida a dos factores (abrasión, rompimiento, aglomeración, disolución de los cristales, etc.) Por lo tanto, los dos primeros términos corresponden a la definición de R:

$$R = \rho_c K_v V [3 \int_0^\infty G n L^2 dL + B^0 L_0^3] \quad (3.14)$$

Finalmente, sustituyendo la ecuación anterior el balance de masa es:

$$\frac{d(\varepsilon V C)}{dt} = -\rho_c K_v h [3 \int_0^\infty G n L^2 dL + B^0 L_0^3] \quad (3.15)$$

Estableciéndose como condición inicial lo siguiente:

$$C(t) = C_0 \text{ a } t = 0$$

Para obtener la concentración del soluto por masa de solvente base, se efectúa el siguiente procedimiento:

$$h \frac{1}{V} \frac{d(\varepsilon V C)}{dt} = -\rho_c K_v h [3 \int_0^\infty G n L^2 dL + B^0 L_0^3] \frac{1}{V} h \quad (3.16)$$

En donde V es el volumen de la solución y h es un factor de conversión:

$$h = \frac{\text{volumen de la solución}}{\text{masa del solvente}}$$

Obteniéndose:

$$\frac{d(C)}{dt} = -\rho_c K_v h [3 \int_0^\infty G n L^2 dL + B^0 L_0^3] \quad (3.17)$$

En donde:

$$C = \frac{\text{masa de soluto}}{\text{masa de solvente}} = \varepsilon C h$$

Teniendo como condición inicial:

$$C(t) = C_0 \text{ a } t = 0$$

### 3.16.1 Balance de energía

El balance de energía para el interior del cristizador está dado por:

$$\frac{d}{dt}(U + KE + PE) = -\sum \rho_k Q_k (U_k + KE_k + PE_k) - H_{ext} + W \quad (3.18)$$

Donde  $U$  es la energía interna,  $KE$  y  $PE$  son las energías cinéticas y potencial, respectivamente.,  $\rho_k$  y  $Q_k$  son el flujo volumétrico y la densidad de la  $k$  corriente, respectivamente,  $H_{ext}$  es el calor removido (incorporando efectos del sistema de enfriamiento, entradas de energía debido al mezclado y perdidas a los alrededores).,  $W$  es la velocidad neta de trabajo desempeñado por el fluido de transporte sobre el sistema.

Partiendo del balance de energía para el interior del cristizador, la entalpía es definida como:

$$H = U + PV \quad (3.19)$$

En donde  $P$  es la presión y  $V$  es el volumen. En una base por unidad de masa, la entalpía específica se escribe:

$$H^* = U^* + \frac{P}{\rho} \quad (3.20)$$

Una expresión para el trabajo  $W$  está dada por:

$$W = \sum Q_k P_k \quad (3.21)$$

## **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**



## CONCLUSIONES

- El porcentaje que presentó mayor concentración en índice de refracción y °Brix en la curva de solubilidad fue el de 65 etanol- 35 agua % v/v para una mezcla de 100 ml de solvente. Y el rango de temperatura para la cristalización del Rebaudiósido A al 95% es de 60 °C a 10 °C.
- La concentración representada en índice de refracción y °Brix disminuye conforme se enfría la solución. En cuanto a la zona metaestable, el valor superior e inferior del límite encontrado de ésta es de 56 °C y 7 °C con concentraciones de 1.4298 y 1.3886 en índice de refracción y 52.94 y 30.02 en °Brix. La diferencia de concentración entre ambos valores fue de 0.0412 IR y 22.92 °Brix, lo que indicó que la zona de crecimiento fue de amplitud media.
- En cuanto a los modelos matemáticos, estos fueron de tercer orden y con un índice de correlación ( $R^2$ ) cercana a la unidad, por tanto son satisfactorios.
- Se evaluó si las velocidades para realizar agitación por paleta plana afectan el sistema de agitación. No existieron diferencias significativas en el tamaño del cristal. El valor presentado de  $p= 0.351$  es mayor que el valor de significancia de  $\alpha =0.05$  por tanto se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna de que todas las medias son significativamente diferentes no afectando los tamaños de cristales.
- Se evaluó si las velocidades para realizar agitación por burbujeo afectan el sistema de agitación. No existieron diferencias significativas en el tamaño del cristal. El valor presentado de  $p= 0.981$  es mayor que el valor de significancia de  $\alpha =0.05$  por tanto se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna de que todas medias son significativamente diferentes, y el sistema de agitación no afecta los tamaños de cristales.

- La agitación por burbujeo presenta una mayor distribución de cristal que la agitación por paleta plana por un 12.5%, así como un comportamiento más uniforme en las gráficas de superficie.
- Se obtuvo un 65% de soluto recuperado, lo que representa un 14% que lo reportado anteriormente.

### **RECOMENDACIONES**

Realizar una pestaña en el instrumento virtual de LabVIEW para controlar el microscopio desde ahí y no desde un software independiente.

Realizar corridas experimentales con mezclas de Etanol-Agua más precisas alrededor del punto considerado como mejor en esta tesis.

Variar la velocidad del burbujeo en distintos niveles para obtener datos más precisos para un análisis posterior del flujo de aire.

Optimizar los perfiles de enfriamiento para relacionar los balances de materia y energía propuestos con los datos experimentales.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Alves, A. L, e Silva, A. J. B y Giuliatti, M. 2007. Solubility of D-Glucose in water and ethanol/water mixtures. *J. Chem. Eng. Data.* **52**: 2166-2170
2. Audilakshmi, S., Mall, A. K., Swarnalatha, M, y Seetharama, N. 2010. Inheritance of sugar concentration in stalk (brix) sucrose content, stalk and juice yield in sorghum. *Biomass and bioenergy.* **34**: 813-820.
3. Badui, D. S. 2013. *Química de los alimentos. Quinta edición.* PEARSON EDUCACIÓN. México.
4. Beckmann, W. 2013. *Crystallization: Basic concepts and industrial applications.* WILEY-VCH. Germany.
5. Bolaños, R. E. 2000. *Control y optimización de las condiciones de operación de cristalizadores batch por enfriamiento. Tesis de Doctorado en Ciencias en Ingeniería Química. I.T. de Celaya. México.*
6. Bolaños Reynoso E., Sánchez Sánchez K. B., Urrea García G. R., Ricardez Sandoval L. 2014. Dynamic Modeling and Optimization of Batch Crystallization of Sugar Cane under Uncertainty, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, **(53)** 13180-13194.
7. Bolaños Reynoso E., Sánchez Sánchez K. B., López Zamora L., Ricardez Sandoval L. 2018. A study on empirical and mechanistic approaches for modeling cane sugar crystallization, *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, **(17)** 389-406.
8. Borouni, M., Niroumand, B. y Maleki Ali. 2018. A study of cristallization of amorphous nano silica particles by mechanical activation at the precense of pure aluminum. *Journal of Solid State Chemistry.* **263**:208-215
9. Bueno-Hernández, N., Vázquez-Frías, R., Abreu, A. T., Almeda-Valdés, P., Barajas-Nava, L. A., Carmona-Sánchez, R. I., Chávez-Sáenz, J., Consuelo-Sánchez, A., Espinosa-Flores, A. J., Hernández-Rosiles, V., Hernández-Vez, G., Icaza-Chávez, M. E., Noble-Lugo, A., Romo-Romo, A., Ruiz-Margaín, A.,

Valdovinos-Díaz, M. A. y Zárata-Mondragón, F. E. 2019. Review of the scientific evidence and technical opinión on noncalorics sweetener consumption in gastrointestinal diseases. *Revista de Gastroenterología de México*. **84**: 492-510

10. Chranioti, C., S. Chanioti y C. Tzia. 2016. Comparison of spray, freeze and oven drying as a means of reducing bitter aftertaste of steviol glycosides (derived from *Stevia rebaudiana* Bertoni plant) - Evaluation of the final products. *Food Chemistry*. **190**: 1151-1158.

11. Díaz-Gutiérrez, C., Hurtado, A., Ortíz, A., Poschenrieder, C., Arroyave, C. y Peláez, C. 2020. Increase in steviol glycosides production from *Stevia Rebaudiana Bertoni* under organo-mineral fertilization. *Industrial Crops and Products*. **147**: 112-220

12. EFSA (European Food Safety Authority) y EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). 2010. Scientific Opinion on the safety of steviol glycosides for the proposed uses as a food additive. *EFSA Journal*. **8(4)**:1537.

13. Esmat, A. A. A., Azza, A. A. A. y Ferial, A. S. M. 2010. Physico-chemical assessment of natural sweeteners steviosides produced from *Stevia rebaudiana bertoni* plant. *African Journal of Food Science*. **4(5)**: 269- 281.

14. Galicia, C. L. S., 2017. Análisis de efectos en la cristalización del Glucósido de Esteviol (Rebaudiósido A) para la maximización del tamaño D (2,1) y masa formada como sustituto edulcorante de la sacarosa. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba, Ver., México.

15. García Mario. Sistema de monitoreo y control remoto utilizando la herramienta gráfica Labview para tanques de almacenamiento de combustible.2010.

16. Gasmalla, M. A. A., Yang, R., A., Musa, X., Hua y Ye, F. 2014. Influence of sonication process parameters to the state of liquid concentration of extracted rebaudioside A from *Stevia (Stevia rebaudiana bertoni)* leaves. *Arabian Journal of Chemistry*. **10**: 726-731

17. Gardana, C., Simonetti, P., Canzi, E., Zanchi, R y Pietta, P. 2003. Metabolism of stevioside A from *Stevia rebaudiana* extracts by human microflora. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(22): 6618-6622.
18. Geankoplis, C. J. 2003. *Transport processes and Separation Process Principles*. Cuarta edición. Pearson.
19. Gil-Campos, M., San José, M. A y Díaz J. J. 2015. Use of sugars and sweeteners in children's diets. Recommendations of the Nutrition Comitee of the Spanish Paedriatic Association. *Anales de Pediatría*. 83(5):353.
20. Giraldo E., C., Marín P., L., & Habeych N., D. 2005. Obtención de Edulcorantes de *Stevia Rebaudiana* Bertoni. Vol. 36, No. Especial. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*.
21. Gonzalez, J. E., Leducq, D., Arellano, M. y Alvarez, G. 2013. Modelo de un proceso de cristalización continua de un sorbete por medio de la metodología de momentos. *Revista Internacional de Métodos Numéricos para Cálculo y Diseño en Ingeniería*. 29(4):215-224.
22. Goyal, S., y Samsher, R. 2010. *Stevia (Stevia rebaudiana) a biosweetener: a review*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 61:1-10.
23. Gutierrez, A. 2015. *Bioquímica, farmacología y toxicología de Stevia Rebaudiana Bertoni*. Tesis de licenciatura. Facultad de Farmacia Universidad Complutense. Madrid, España.
24. Heising, F. y Küchler, T. 2012. Analysis of sweeteners. *Food Testing News*. Eurofins. No. 39. Alemania.
25. Hongbin, Z., Xuening, F., Baolian, Z., Shuxing, Z., Guangmin, L. y Lingyun, C. 2019. Controlling the size of fragrance microcapsules using designed agitator paddles: Experiment and CFD simulation. *Particuology*. 41: 38-45
26. JEFCA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), 2007. Steviol glycosides. In: *Combined Compendium of Food Additive Specifications*. Rome.

27. Kadam, S. S., Kulkarni, A. S., Coloma, R. R., Stankiewicz, I. A., ter-Horst, H. J. y Kramer, J. M. H. 2012. A new view on the metastable zone width during cooling crystallization. *Che. Eng. Sci.* **72**:10-19.
28. Kalbasenka, A. N. 2009. Model-based control of industrial batch crystallizers: experiments on enhanced controllability by seeding actuation. Tesis doctoral. Mechanical, Maritime and Materials Engineering. Delft, Países Bajos.
29. Khalaf, H. K., Raheem, N. R., Shaker, H. I. y Abid, S. E. 2014. Qualitative and quantitative determination of artificial sweetener saccharin sodium by FTIR spectroscopy. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry.* **3(3)**: 617-625.
30. Khan, A. T., Ayoub, S., Sievenpiper, J. L. y Comelli, E. M. 2019. Non-nutritive sweeteners and their effects on human health and the gut microbiome. *Reference Module in Biomedical Sciences.* **29**: 455-467
31. Kinghorn, A y Soejarto, D. 1985. Current status of stevioside as sweetening agent for human use. London, UK: Academic Press. **1**: 1-52
32. Lajara, V. J. R. y Pelegrí, S. J. 2018. LabVIEW entorno gráfico de programación. Tercera edición. Alfaomega-Marcombo. España.
33. Martins, P. M., Thorat, B. N., Lanchote, A. D. y Freitas, L. A. P. 2016. Green extraction of glycosides from *Stevia rebaudiana* (Bert.) with low solvent consumption: A desirability approach. *Resource-Efficient Technologies.* **2**: 247-253.
34. Martins, P. M., Lanchote, A. D., Thorat, B. N. y Freitas, L. A. P. 2017. Turbo-extraction of glycosides from *Stevia rebaudiana* using a fractional factorial design. *Brazilian Journal of Pharmacognosy.* **27**: 510-518.
35. Mendiburu, D. H. A. 2010. Instrumentación virtual industrial. INDECOPI. Perú.
36. Mihura, B. 2001. LabVIEW for data acquisition. Pearson Education.
37. Ochsenbein, D. R., Schorsch, S., Salvatori, F., Vetter, T., Morari, M. y Mazzotti, M. 2015. Modeling the facet growth rate dispersion of  $\beta$ L-glutamic acid combining



single crystal experiments with nD particle size distribution data. *Chemical Engineering Science*. **133**: 30-43

38. Pacifico, S., Piccolella, S., Nocera, P., Tranquillo, E., Poggetto, F. y Catauro, M. 2019. New insights into phenol and polyphenol composition of *Stevia rebaudiana* leaves. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **163**:45-57.

39. Paniagua-Vega, D., Cavazos-Rocha, N., Huerta-Heredia, A. A., Parra-Naranjo, A., Rivas-Galindo, V. M., Waksman, N. y Saucedo, A. L. 2019. A validated NMR method for the quantitative determination of rebaudioside A in comercial sweeteners. *Journal of Food Composition and Analysis*. **79**:134-142.

40. Penin, A. R. 2012. *Sistemas SCADA*. Tercera edición. Marcombo.

41. Pérez, L. E. 2015. *Los sistemas SCADA en la automatización industrial*. Tecnología en Marcha. **28**:4.

42. Prakash, I., Clos, J. y DuBois, G. E. 2007. Unpublished results. The CocaCola Company, Atlanta, GA, USA

43. Purkayastha, S. y Markosyan, A. Granulation of a stevia sweetener. USA. WO2011059954A1 (CA2780561A1, EP2498625A1, EP2498625A4, US20120282389, WO2011059954A1). 19 Sep 2012. PCT/US2010/055960. 9 Nov 2010.

44. Ramos, C. J. D. y Valdés, R. C. A. 2016. Estudio para la estandarización de técnicas de medición de tamaño de cristal DTC mediante micrografías. Instituto Tecnológico de Orizaba. Residencia Profesional. Orizaba, México.

45. Rodríguez, P. A. 2007. *Sistemas SCADA*. Segunda edición. Marcombo. México.

46. Rumelhard, M., Hosako, H., Eurlings. I. M., Westerink, W. M., Staska, L. M. y Van de Wiel, J. A. 2016. Safety evaluation of rebaudioside A produced by fermentation. *Food and Chemical Toxicology*. **89**:73-84

47. Saengchan, A., Kittisupakorn, P., Paengjuntuek, W. y Arpornwichanop, A. 2011. Improvement of batch crystallization control under uncertain kinetic parameters by model predictive control. *Journal of Ind. and Eng. Chem.* **17(3)**:430-438.
48. Salman, S. M., Salama, S. N. y Mahdy, E. A. 2019. Crystallization characteristics and properties of lithium germanosilicate glass-ceramics doped with some rare earth oxides. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio.* **58(3)**:94-102.
49. Salvador Reyes, R., Sotelo-Herrera, M., y Paucar Menacho, L. 2014. Artículo. Estudio de la Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante natural y su uso en beneficio de la salud. Artículo de Revisión. *Scientia Agropecuaria.* **5**:157-163.
50. Sanapala, V. S., Ritwik, D, y Ravisankar, A. 2018. Numerical investigation of jet agitation in a nuclear liquid waste storage tank. *Progress in Nuclear Energy.* **109**:204-213.
51. Sánchez-Sánchez, K. B., Bolaños-Reynoso, E., Galicia-Contreras, L. S., Li, J. y Quintana-Hernández, P. A. 2015. Effects of agitation rate in the metastable zone width in sugar cane batch crystallization. *Encuentro Nacional de la AMIDIQ.* 3202-3207. ISBN 978-607-95593-3-5.
52. Sánchez-Sánchez, K.B., Bolaños-Reynoso, E., Méndez-Contreras, J. M. y Cerecero-Enríquez, R. 2020. Effects of agitation rates over metastable zone width (MSZW) of concentration for cane sugar crystallization, *Revista Mexicana de Ingeniería Química.* **19**: 507-520.
53. Sánchez, K. B. 2018. Optimización de condiciones de operación para la cristalización por lotes de azúcar de caña mediante la implementación de trayectorias programadas en MSZW y procesamiento de imágenes. Tesis de Doctorado. Instituto Tecnológico de Orizaba, Ver., México.
54. Schorsch, S., Ochsenbein, D. R., Vetter, T., Morari, M. y Mazzotti Marco. 2014. High accuracy online measurement of multidimensional particle size distributions during crystallization. *Chemical Engineering Science.* **105**: 155-168.

55. Secretaría de Economía. 2016. Análisis de la situación económica, tecnológica y de política comercial del sector edulcorantes en México.
56. Tarot-Gálvez, M. E. L. 2004. Planteamiento del uso de instrumentación virtual para adquisición de datos. Universidad de San Carlos de Guatemala. Escuela de Ingeniería Mecánica Eléctrica. Tesis de licenciatura. Guatemala, Guatemala.
57. Tiscar Cervera, J. 2013. Tesis de maestría. Modelizado y simulacion de un cristalizador continuo industrial. Valencia, España.
58. Torrente Artero Óscar. 2013. Arduino Curso práctico de formación. Alfaomega.
59. Uhler, B. y Yang, Z. 2018. Rebaudioside A and other unreported steviol glycoside isomers found in the sweet tea (*Rubus suavissimis*) leaf. *Phytochemistry Letters*. **28**:93-97
60. Velázquez, C. O., Bolaños, R. E., López, Z. L. y Álvarez, R. J. 2010. Experimental evaluation of the concentration zone widths in cane sugar crystallization using data and image acquisition. World Congress on Engineering by International Association of Engineers. London, U.K., 30 June-2 July, 2010.
61. Warren L., M., Smith, J. C., & Harriot, P. 2007. Operaciones unitarias en ingeniería química. En M. Warren L., J. C. Smith, & P. Harriot, Operaciones unitarias en ingeniería química (págs. 971, 979 y 981). México, D.F: Mc Graw Hill Interamerican
- Well, C., Frank, O. y Hofmann, T. 2013. Quantitation of sweet Steviol Glycosides by means of a HILIC-MS/MS-SIDA approach. **61**:11312-11320.
62. Well, C., Frank, O. y Hofmann, T. 2013. Quantitation of sweet Steviol Glycosides by means of a HILIC-MS/MS-SIDA approach. **61**:11312-11320.
63. Wu, S., Feng, F., Zhou, L. y Gong, J. 2012. Experimental determination of the solid–liquid equilibrium, metastable zone, and nucleation parameters of the flunixin meglumine–ethanol system. *Journal of Crystal Growth*. **354**:164-168.

## **ANEXOS**

## ANEXO A CÓDIGO (JULIA V1.4.2) PARA LA CONSTRUCCIÓN DE LOS GRÁFICOS DE SUPERFICIE DE LA DTC

A continuación se presenta el código desarrollado en el lenguaje de programación Julia con el que se generaron las gráficas y análisis referentes a la DTC.

```
# Experimental Analysis

using Plots, CSV, LaTeXStrings, StatsPlots, Distributions
pgfplotsx()
default(size = (700, 500))

# Load "Experimental" values
PXDatabaseA = CSV.read("databaseAgitador.csv", header=true);
PXDatabaseB = CSV.read("databaseBurbujeo.csv", header=true);

# Experimental Data from Alejandra
using Plots, CSV, LaTeXStrings, StatsPlots, Distributions
pgfplotsx()
default(size = (700, 500))

# Load "Experimental" values
PXDatabaseA = CSV.read("databaseAgitador.csv", header=true);
PXDatabaseB = CSV.read("databaseBurbujeo.csv", header=true);

# Pixels to DTC Agitación & Burbujeo
r,c = size(PXDatabaseA)

D21a = []
S21a = []
D21b = []
S21b = []

for i=1:5:r
    DTCa = px2dtc(PXDatabaseA[:,2][Int(i):Int(i+4)]; factor = 1.07479)
    DTCb = px2dtc(PXDatabaseB[:,2][Int(i):Int(i+4)]; factor = 1.07479)
    push!(D21a, DTCa[2,1])
    push!(S21a, DTCa[2,2])
    push!(D21b, DTCb[2,1])
    push!(S21b, DTCb[2,2])
end

# Plots for D21
time = 0:4:200

plotD21 = plot(time, D21a,
```

```
framestyle = :box,
xlims = (0,200),
ylims = (0,18),
ylabel = L"D(2,1)\hspace{2mm}[\mu]",
xlabel = L"Tiempo\hspace{2mm}[min]",
label = "Paleta Plana",
xtickfont = font(14),
ytickfont = font(14),
guidefont = font(14),
color = :magma,
lw = 2)

plot!(time, D21b,
lw = 2,
label = "Burbujeo",
legendfontsize = 14,
legend = :topleft)

savefig(plotD21, "D21.png")
savefig(plotD21, "D21.svg")

plot(plotD21)

# Plots for S21
time = 0:4:200

plotS21 = plot(time, S21a,
framestyle = :box,
xlims = (0,200),
ylims = (0,3),
ylabel = L"S(2,1)\hspace{2mm}[\mu]",
xlabel = L"Tiempo\hspace{2mm}[min]",
label = "Paleta Plana",
xtickfont = font(14),
ytickfont = font(14),
guidefont = font(14),
color = :magma,
lw = 2)

plot!(time, S21b,
lw = 2,
label = "Burbujeo",
legendfontsize = 14,
legend = :topleft)

savefig(plotS21, "S21.png")
savefig(plotS21, "S21.svg")

plot(plotS21)
```

```

# Plot DTC in Log-norm for Paleta Plana

global  $\mu$ a = zeros(length(D21a))
global  $\sigma$ a = zeros(length(S21a))

# Agitación
for i = 1:length(D21a)
    global  $\mu$ a,  $\sigma$ a
    # Solve for lognorm parameters
    global x0 = 1 # Initial value for D43
    global y0 = 0.1 # Initial value for S43
    global e = 1.0 # Error
    while e > 0.0001
        global x0, y0, e
        df1x = exp(x0 + 0.5 * y0^2)
        df1y = y0 * exp(x0 + 0.5 * y0^2)
        df2x = 2.0 * exp(2 * x0 + y0^2) * (exp(y0^2) - 1.0)
        df2y =
            2 * y0 * exp(2 * x0 + y0^2) * (exp(y0^2) - 1) +
            2 * exp(2.0 * x0 + y0^2) * y0 * exp(y0^2)
        f1 = exp(x0 + 0.5 * y0^2) - D21a[i]
        f2 = (exp(2 * x0 + y0^2)) * (exp(y0^2) - 1.0) - S21a[i]
        A = [df1x df1y; df2x df2y]
        b = [-f1; -f2]
        hj = A \ b
        x1 = x0 + hj[1]
        y1 = y0 + hj[2]
        e = ((x1 - x0)^2 + (y1 - y0)^2)^0.5
        x0 = x1
        y0 = y1
    end
     $\mu$ a[i] = x0
     $\sigma$ a[i] = y0
end

longLim = 0:0.1:20

# Compute lognorm
CSDa = zeros(length( $\mu$ a), length(longLim))
j = 1
for i = 1:length( $\mu$ a)
    density = pdf(LogNormal( $\mu$ a[i],  $\sigma$ a[i]), 0:0.1:20)
    CSDa[j, :] = 100 * density ./ sum(density)
    global j += 1
end

# Plot surface
CSD_Plota = surface(CSDa, fillcolor=:viridis,
    xflip = false,
    yflip = true,

```

```

fillalpha = 1.0,
xlabel = L"Longitud\hspace{2mm}[\mu]",
ylabel = L"Tiempo\hspace{2mm}[min]",
zlabel = L"%\hspace{2mm}Longitud",
label = L"DTC_{Paleta\hspace{1mm}Plana}",
xticks = (range(0, 200, length = 11),
  string.(Int64.(range(0, 20, length = 11)))),
yticks = range(0, 50, length = 6),
zlims = (0,6)

display(CSD_Plota)
savefig(CSD_Plota, "CSDa.png")

# Plot DTC in Log-norm for Burbujeo

global μb = zeros(length(D21b))
global σb = zeros(length(S21b))

# Agitación
for i = 1:length(D21b)
  global μb, σb
  # Solve for lognorm parameters
  global x0 = 1 # Initial value for D43
  global y0 = 0.1 # Initial value for S43
  global e = 1.0 # Error
  while e > 0.0001
    global x0, y0, e
    df1x = exp(x0 + 0.5 * y0^2)
    df1y = y0 * exp(x0 + 0.5 * y0^2)
    df2x = 2.0 * exp(2 * x0 + y0^2) * (exp(y0^2) - 1.0)
    df2y =
      2 * y0 * exp(2 * x0 + y0^2) * (exp(y0^2) - 1) +
      2 * exp(2.0 * x0 + y0^2) * y0 * exp(y0^2)
    f1 = exp(x0 + 0.5 * y0^2) - D21b[i]
    f2 = (exp(2 * x0 + y0^2)) * (exp(y0^2) - 1.0) - S21b[i]
    A = [df1x df1y; df2x df2y]
    b = [-f1; -f2]
    hj = A \ b
    x1 = x0 + hj[1]
    y1 = y0 + hj[2]
    e = ((x1 - x0)^2 + (y1 - y0)^2)^0.5
    x0 = x1
    y0 = y1
  end
  μb[i] = x0
  σb[i] = y0
end

longLim = 0:0.1:20

# Compute lognorm

```



```
CSDb = zeros(length(μb), length(longLim))
j = 1
for i = 1:length(μb)
    density = pdf(LogNormal.(μb[i], σb[i]), 0:0.1:20)
    CSDb[j, :] = 100 * density ./ sum(density)
    global j += 1
end

# Plot surface
CSD_Plotb = surface(CSDb, fillcolor=:viridis,
    xflip = false,
    yflip = true,
    fillalpha = 1.0,
    xlabel = L"Longitud\hspace{2mm}[\mu]",
    ylabel = L"Tiempo\hspace{2mm}[min]",
    zlabel = L"%\hspace{2mm}Longitud",
    label = L"DTC_{Burbujeo}",
    xticks = (range(0, 200, length = 11),
        string.(Int64.(range(0, 20, length = 11)))),
    yticks = range(0, 50, length = 6),
    zlims = (0,6))

display(CSD_Plotb)
savefig(CSD_Plotb, "CSDb.png")
```