

EVALUACIÓN DE LOS PROCESOS DE EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS ENDULZANTES DE LA HOJA DE STEVIA REBAUDIANA

Autores: Eliana Macia, Vanina Monesterolo.

Tutor: Mg. Luís A. Toselli.

Facultad Regional Villa María, Universidad Tecnológica Nacional, Grupo de Investigación en Simulación para Ingeniería Química, GISIQ, Av. Universidad 450, X5900HLR Villa María, Córdoba, Argentina, tel. 0353-4537500.

monesterolo_macia@yahoo.com.ar

Resumen

El extracto obtenido de la hoja de Stevia es una solución de coloración oscura que contiene los principios endulzantes junto con una serie de partículas que forman parte de su composición, como taninos y clorofila, que le confieren un color y un aroma no deseado para su uso como edulcorante de mesa o a nivel industrial.

La separación de los principios endulzantes de la hoja seca se realiza fácilmente por medio de una extracción con agua o alcohol. Posteriormente debe realizarse la purificación de la misma, existiendo varios métodos aplicables. Entre estos podemos mencionar, combinación de membranas filtrantes de distintos tamaños de poros, zeolitas modificadas con distintos iones metálicos, columnas de intercambio iónico, precipitación por medio de agentes externos, entre otros.

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión del estado del arte acerca de la purificación del extracto, a partir de la cual plantea la selección de los métodos de extracción y purificación que se adoptarán para el proyecto. Este proceso requiere una etapa de evaluación a cerca de las mejores condiciones de operación que permitan alcanzar una clarificación adecuada sin disminuir el rendimiento de la operación.

Actualmente se trabaja en la puesta a punto de la metodología para desarrollar los ensayos experimentales a partir de los cuales se obtendrá la información necesaria para el modelado y simulación del proceso.

Introducción

En las últimas décadas la sociedad ha ido cambiando sus hábitos alimenticios, reemplazando algunos alimentos ricos en grasas y carbohidratos por otros con menor contenido de los mismos. Debido a esta tendencia por parte de los consumidores, se han introducido en el mercado diferentes productos naturales y artificiales, los cuales poseen un sabor similar al de los azúcares, pero su aporte calórico es mucho menor y en algunos casos es nulo. Muchas de estas sustancias, al ser consumidas en exceso, son nocivas para la salud por lo cual han sido prohibidas en muchas partes del mundo y actualmente buscan ser reemplazadas por endulzantes naturales que no sean potencialmente peligrosos para su consumo.

La Stevia Rebaudiana es una planta que crece en el norte Argentino, en Paraguay y Brasil. Antiguamente los Guaraníes la utilizaban para endulzar sus alimentos, de ahí proviene su nombre vulgar *Kaá-heé* o hierba dulce. Esta planta contiene en sus hojas una serie de sustancias denominadas glucósidos, que se caracterizan por presentar un sabor que comparado con el del azúcar es entre 200 y 300 veces mayor.

Además de ser endulzantes, estos compuestos, presentan una serie de efectos beneficiosos para el organismo, debido a que pueden ser consumidos por personas diabéticas, ayudan a regular el azúcar en sangre, regulan la presión arterial, sirven para el cuidado facial, previenen el acné, reducen la acidez estomacal, previenen la aparición de caries, son estables a altas temperaturas y en un amplio rango de pH, no son cancerígenos, mutagénicos ni tienen efectos tóxicos, entre otros.

Los glucósidos presentes en la hoja, responsables del sabor dulce son Esteviosido, Rebaudiosidos A, B, C, D, E y dulcósidos A y B, siendo los más abundantes Esteviosido y Rebaudiosido A. Además poseen los mejores atributos sensoriales como endulzantes.

Estos compuestos poseen una estructura similar, cuya diferencia se encuentra en los radicales R1 y R2, como puede observarse en la Figura N° 1.

Este estudio se realiza en el contexto del proyecto final de la carrera de Ingeniería Química que realizan las autoras. El mismo está basado en el desarrollo de una planta industrial de producción de un edulcorante natural apto para diabéticos a partir de la hoja de Stevia.

Se pretende analizar los distintos métodos existentes para la recuperación y purificación de los compuestos en mención, evaluando el estado del arte del tema, debido a que estas operaciones constituyen el corazón del proceso y determinarán el precio final que tendrá el producto.

Una vez seleccionado el proceso que se considere apropiado, en base al análisis de las ventajas y desventajas de los métodos expuestos, se pretende analizar como afectan sobre el sistema las diferentes variables de trabajo para la obtención del producto deseado.

En la actualidad, las autoras se encuentran trabajando en la implementación de las técnicas experimentales requeridas para la obtención de datos que permitan describir adecuadamente el comportamiento del sistema. Se prevé la obtención de los parámetros óptimos para el desarrollo del proceso a escala industrial.

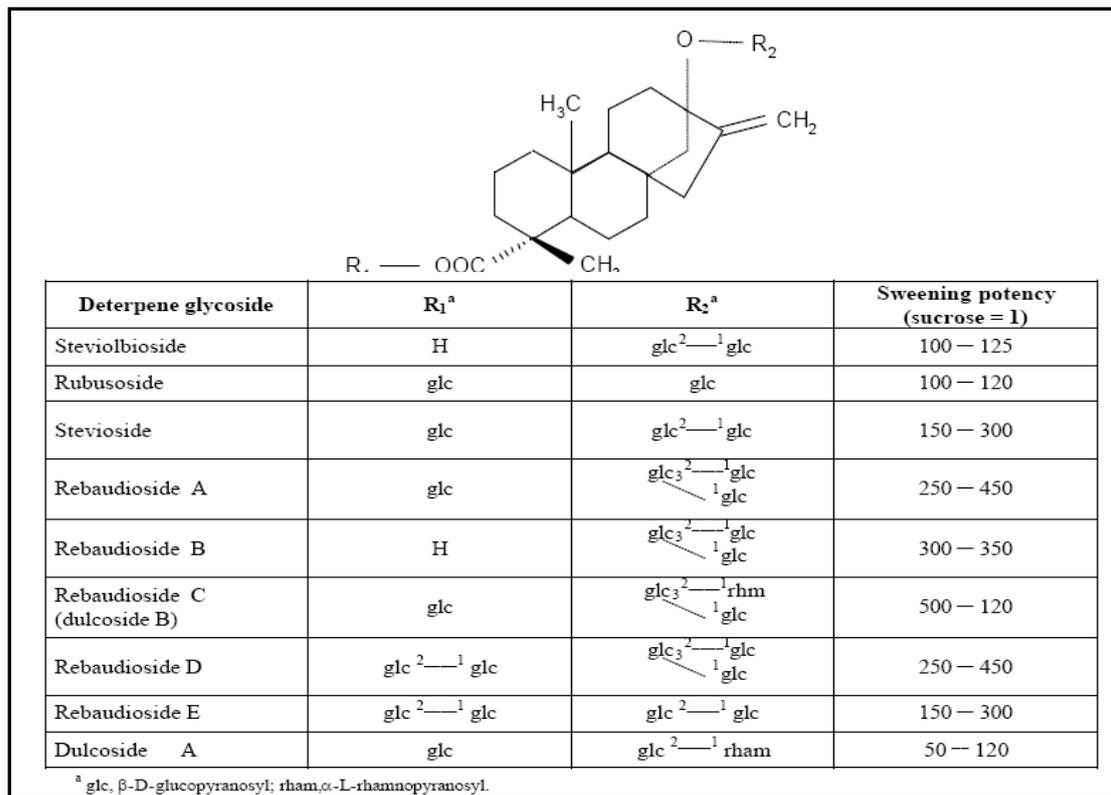


Fig. N° 1: Estructura de los principios activos de la Stevia Rebaudiana

Desarrollo: Propuesta Experimental

Para la extracción y purificación de los principios endulzantes de la hoja de Stevia, existen varios procesos aplicables a la industria, sin embargo en todos los casos el diagrama de flujo de proceso es el mismo (Kingham y Soejarto 1985). Este proceso se esquematiza en la figura N° 2.

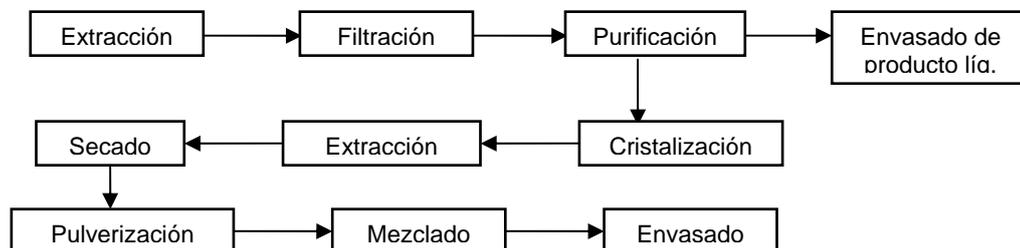


Fig. N° 2 "Diagrama de flujo general del proceso de producción de Stevia

Previo al proceso de industrialización, debe considerarse el tratamiento de la materia prima. La misma debe ser secada en el lugar de origen, debido a que este proceso debe realizarse antes de las veinticuatro horas de la recolección.

Extracción de los principios edulcorantes:

En Algunos procesos previamente remueven la grasa de la hoja por medio de un solvente como cloroformo o hexano y se realiza la eliminación preliminar de aceites esenciales, clorofila y otras partículas apolares. (Tanaka et al; Kinghorn et al., 1982).

a) Extracción por medio de Solventes Orgánicos:

Cualquiera sea el solvente usado la operación se realiza en forma similar. Por otra parte existen en la literatura, para cada tipo de solvente, estudios experimentales sobre temperatura óptima de la extracción, con el fin de optimizar los resultados del proceso y asegurar la calidad del producto obtenido. La operación adoptada en esta etapa depende del solvente que se utiliza. En algunas plantas se usan alcoholes como el metanol, el cual posteriormente es removido del producto final. Se presume que el uso de tal compuesto aumenta la eficacia de la extracción y la separación de los esteviósidos.

Sin embargo el uso de esta en la operación, parece ser la razón por la cual la FDA (Food and Drug Administration) no califica a los extractos de Stevia como productos naturales y seguros.

Los métodos aplicables si se usan esta clase de solventes son:

- *Maceración*: consiste en remojar la materia prima, debidamente fragmentada, hasta que el solvente penetre en la primera estructura celular ablandando y disolviendo las partes solubles. El recipiente a utilizar debe ser hermético y resistir la acción de los solventes utilizados. Se colocan el material y solvente, dejándoselos reposar tapados durante un período de 2 a 14 días con agitación esporádica. Posteriormente se filtra el solvente que contiene los compuestos de interés, y se prensa el residuo sólido. En el caso de que la extracción no haya sido completa se repite la operación.
- *Lixiviación (percolación)*: es uno de los procesos más difundidos pudiendo utilizarse para solventes orgánicos e inorgánicos en frío para preservar los compuestos termolábiles que pudiera contener el material. Se coloca la hoja fragmentada, en una especie de embudo y se hace pasar el solvente adecuado a través del mismo. Para realizar esta operación deben tenerse en cuenta una serie de precauciones, el material sólido debe estar debidamente compactado para que el eluyente pueda atravesarlo con una lentitud adecuada, que permita el tiempo de contacto requerido entre los solutos y el solvente.
- *Extracción Soxhlet*. Consta de un balón en donde se hace bullir el solvente apropiado y sus vapores se condensan encima de la muestra, según el procedimiento clásico. Esta operación se repite sucesivamente, con lo cual la solución contenida en el balón evaporador se va enriqueciendo con los principios aislados. Este método no es apto para trabajar con sustancias termolábiles.

b) Extracción por Solventes Acuosa:

Procesos más modernos utilizan agua como solvente para la obtención de los principios activos de la hoja, esto permite cumplir con las especificaciones de producto natural requerida para su comercialización. En el caso de la aplicación industrial de extracción a partir de agua hirviendo se puede lograr entre un 93 y un 98 % de efectividad en la etapa, logrando obtener cristales de stevia con hasta un 96% de pureza.

En el caso de utilizar agua como disolvente, la operación puede llevarse a cabo a través de los siguientes métodos:

- *Infusión*: se logra por el agregado de agua a la temperatura adecuada a las hojas. Éste método es beneficioso debido a que las mismas no corren peligro de que sus componentes se desnaturalicen. En algunos casos se utiliza una corriente de reflujo la cual permite un mayor tiempo de contacto entre el material expuesto y el solvente.
- *Destilación por arrastre de Vapor*: En el segundo método los principios activos pueden ser arrastrados por vapor, en una columna de destilación, en tres etapas. Para el reconocimiento de la cantidad de extracto obtenido se suelen utilizar reacciones químicas que permiten identificar que los principios activos en las hojas han desaparecido. Luego de la extracción el solvente es eliminado en un evaporador rotatorio a temperaturas de entre 30 y 40 °C para proteger los compuestos termolábiles. El residuo gomoso remanente (extracto seco) es pesado y procesado de diferentes maneras, de acuerdo al metabolito que se desea obtener.

c) Extracción por Fluidos Supercríticos:

En éste se aprovecha el poder disolvente a temperaturas y presiones por encima de sus valores críticos. Esta operación está siendo ampliamente utilizada a nivel industrial.

Un fluido supercrítico es cualquier fluido a una temperatura superior a la crítica, mostrando propiedades intermedias entre un líquido y un gas; éstas propiedades incrementan su poder como solvente y le proporcionan una penetración mayor en el material. Presenta una mayor capacidad frente a los líquidos para penetrar en los micro-poros de la estructura sólida.

Generalmente, leves cambios de la temperatura y la presión en la zona crítica provocan grandes cambios en la densidad y el poder solvente del mismo.

El extracto obtenido es una solución con un contenido de partículas coloidales con un color marrón oscuro, contiene todos los principios activos, pigmentos de la hoja, polisacáridos solubles y otras impurezas.

Filtración

El extracto obtenido pasa por un proceso de filtración donde se retienen las partículas en suspensión, en éste proceso se puede hacer uso de dos o más filtros o membranas.

Purificación

Al igual que para la etapa anterior, se realizó una recopilación bibliográfica sobre todo en revistas nacionales e internacionales de corriente principal, en donde se encontraron 3 opciones para llevar a cabo la etapa de purificación, las cuales se detallan a continuación:

- Combinación de membranas filtrantes:

Este método consta de la purificación por combinación de membranas filtrantes de distinto tamaño. (Fuh and Chiang, 1990) Ésta consistente en el pasaje del extracto por membranas sucesivas de distinto tamaño. Inicialmente se realiza un filtrado con membranas que van desde 20 a 1 micra, luego la solución pasa por un filtro de carbón activado y finalmente se somete a un proceso de ultrafiltración, diafiltración y nanofiltración en ese orden. Los filtros retienen pigmentos y sustancia de alto peso molecular de hasta 150 Daltons, con un rendimiento del 20% en concentrado donde están presentes los glucósidos de interés.

- Adsorción con zeolitas modificadas:

Consiste en la clarificación del extracto por pasaje del mismo por una columna de zeolitas, previamente modificadas. Ésta se logra intercambiando los iones sodio por iones calcio (Moraes and Fernández Machado, 2002), bario (Moraes, 2000) o magnesio (Kotaro and Tokuo, 1987) usando siempre cloruro como anión para facilitar su eliminación. En el caso del Bario provoca un sabor salado indeseable en el edulcorante. También introdujeron amonio cuaternario en la resina convencional utilizada (Shi, 2002), y se observó que el mecanismo de adsorción y decoloración se basa en interacciones hidrofóbicas, pero la decoloración, depende de las interacciones hidrofóbicas y del intercambio iónico.

El extracto de stevia circula por el lecho de zeolitas modificadas en forma ascendente quedando retenidos los pigmentos por adsorción en la superficie de la zeolita, lográndose una decoloración de hasta 90 % pero con retención de edulcorantes. Posteriormente se demostró a través de la experimentación que la mejor relación decoloración-retención se lograba utilizando un extracto con 7% de edulcorante.

- Resinas de Intercambio Iónico:

Este método se basa en una extracción acuosa de las hojas a temperatura controlada seguida del pasaje del líquido de extracción a través de una resina (Res.1) que retiene selectivamente los principios edulcorantes que posteriormente se recuperan por elusión de la columna con una mezcla hidroalcohólica, completándose la purificación por pasajes sucesivos a través de una resina de intercambio catiónico (Res.2), una resina de intercambio aniónica (Res.3) y una columna de carbón activado granulada, obteniéndose un extracto incoloro. (Alvarez, 1984). También se realizaron pruebas utilizando etanos tales como metanol, etanol y dioxano para la etapa de extracción obteniendo jarabes altamente coloreados, de los cuales no se logró precipitar el esteviósido por adición de alcohol ni cristalizarlo por evaporación.

El rendimiento de proceso es de 5% sobre la base de las hojas secas.

Precipitación

Algunos métodos utilizan sustancias que al ser agregadas a la solución, hacen que los compuestos deseados precipiten. Esto tiene la desventaja de contaminar el producto, porque estas sustancias no pueden ser eliminadas completamente.

En estos casos, el flujo continúa en un tanque clarificador (floculación/coagulación), en el que se separan los componentes endulzantes del resto de la mezcla. El uso de sustancias como la cal o sulfato de aluminio, carbonato de calcio u otras sales básicas de calcio provocan la precipitación de los componentes endulzantes en el fondo del tanque.

Cristalización –Secado

Si se desea obtener el edulcorante en polvo, se evapora la solución para lograr la cristalización. Esta operación se realiza con el fin de obtener una sustancia sobresaturada y fomentar la formación de los cristales. El producto obtenido posee una humedad del 20%. Posteriormente se continúa con el proceso de secado, utilizando una corriente de aire caliente (80 °C, aproximadamente), en donde se reduce la humedad hasta alcanzar un 2%.

Por último en el caso de que el producto final lo requiera, se lo pasa por un molino, cuyo fin es pulverizar los cristales. Algunas marcas producen stevia mezclada con otros edulcorantes, como con lactosa, maltodextrina o dextrosa, por lo que la se utiliza una mezcladora para alcanzar las condiciones requeridas por el consumidor.

Comparación entre los distintos procesos y selección del proceso a implementar.

En base a lo expuesto anteriormente se realiza una síntesis de los métodos que se adoptarán para el desarrollo del proyecto de planta citado anteriormente, haciendo énfasis en las principales etapas del proceso.

- Tratamiento de la materia prima:

El proceso de secado de la hoja debe realizarse antes de las 24 hs, de su recolección. Esto hace que sea necesario adquirir la hoja seca, debido a que si el proceso comienza con el tratamiento de la hoja verde cruda, se limita la distancia posible para la instalación de la planta. Por esta razón, se parte de hoja seca lo que hace posible la ubicación en zonas alejadas del lugar de cultivo.

- Fragmentación:

La etapa inicial consta de un proceso de reducción de tamaño, lo cual permite aumentar la superficie de contacto durante la extracción posterior. Para tal fin se utilizará un molino de cuchillas, debido a que este genera una menor cantidad de polvo (tamaño de partícula menor a 0.6 mm).

- Extracción:

Se cree que la etapa de extracción es más eficaz si se la realiza con solventes orgánicos, sin embargo estos no son considerados seguros y requieren procesos posteriores de separación, aumentando los costos de producción. Por otra parte se pretende obtener un producto que cumpla con los estándares nacionales e internacionales necesarios para ser considerado como natural.

El uso de agua en la extracción permite una separación posterior de la misma relativamente fácil, no ocasionando alteraciones sobre el producto, que podrá ser comercializado como se pretende.

Este proceso se realizará por medio de una infusión, debido a que este, es el más económico y al agregarse el agua a la temperatura necesaria no se tendrán problemas de desnaturalización de compuestos lábiles. La desventaja de utilizar este método es el tiempo requerido para que se realice la transferencia de masa deseada.

Una vez realizada la extracción se pasa la solución por un filtro que permite eliminar todas las sustancias sólidas que posean un tamaño apreciable.

- Purificación:

La selección del proceso para esta etapa se realizó teniendo en cuenta las siguientes características de los procesos:

- La separación por membranas debido a que es un método que se lleva a cabo de forma continua, tiene poco consumo de energía, su diseño se facilita a gran escala, no se requieren aditivos, puede ser fácilmente ampliado y no requiere el agregado de sustancias químicas que puedan dejar residuos. Tienen las desventajas de poseer elevados costos de tecnología e insumos.

- La purificación con zeolitas modificadas es ventajosa porque tiene un bajo costo, no deja residuos indeseables en el producto, su tecnología es de fácil aplicación y no representa un riesgo ambiental. Como desventaja del método se puede mencionar que el rendimiento en edulcorante disminuye ya que en el proceso de decoloración se retienen 5% de los edulcorantes en el adsorbente.

Frente a estas ventajas y desventajas se ha seleccionado para la purificación el método de extracción por zeolitas. Éste posee ventajas comparables con el proceso de membranas filtrantes de distinto tamaño, pero con menor costo de tecnologías e insumos. Respecto de la desventaja del proceso relacionada con las pérdidas del 5% de edulcorante se buscará por experimentación la mejor relación decoloración-rendimiento en glucósido, modificando las variables que intervienen en el proceso.

- Cristalización, Secado y Envasado:

La solución purificada se envía a un tanque en donde se separa el producto en dos fracciones, las cuales serán tratadas para obtener distintos productos finales.

La primera fracción se concentra adecuadamente para ser comercializada como producto líquido.

La segunda fracción se concentra para saturar la solución, logrando de esta forma la precipitación de los cristales de stevia. Posteriormente se realiza un secado, por medio de una corriente de aire caliente para alcanzar una humedad final del 2% de agua.

Una vez obtenido el material seco, se pulveriza para obtener cristales homogéneos de los cuáles una fracción de estos es mezclada con maltodextrina. Esto permitirá reducir los costos del producto final, para lograr un producto de consumo masivo.

El resto de los cristales serán directamente envasados, siendo un producto de un costo superior, destinado a personas que no pueden consumir edulcorantes calóricos.

Una vez seleccionado el proceso a implementar se comenzará con la etapa experimental para la obtención de los datos requeridos para la implementación de modelos matemáticos capaces de reproducir el sistema real. Esta fase aún se encuentra en desarrollo, por lo que queda pendiente el análisis numérico de las distintas variables de operación y por ende la factibilidad de reproducir el comportamiento del sistema por medio de la simulación de procesos.

CONCLUSIONES

En base al análisis realizado sobre los distintos métodos aplicables al proceso se estableció que:

- La materia prima se adquiere seca, debido a que este proceso debe realizarse antes de las veinticuatro horas posteriores a su recolección. Esto hace posible la ubicación de la planta en zonas alejadas del lugar de cultivo.
- Para la reducción de tamaño la mejor opción es la implementación de un molino de cuchillas, debido a que este genera una menor cantidad de polvo.
- La etapa de extracción se realizará por medio de solventes acuosos debido a su mayor seguridad y a que es fácil de eliminar posteriormente sin ocasionar alteraciones en el producto final. Este proceso se realizará por medio de una infusión, debido a que es más económico y se asegura que no se tendrán problemas de desnaturalización de compuestos deseados. La desventaja de utilizar este método es el tiempo requerido para que se realice la transferencia de masa deseada.
- Frente a las alternativas disponibles para la operación de purificación, se ha seleccionado para el proceso en consideración, la extracción con zeolitas debido a sus ventajas, comparables con el proceso de extracción con membranas filtrantes de distinto tamaño, pero con menor costo de tecnologías e insumos. Para la misma se empleará una columna de lecho fijo, rellena con el adsorbente, el cual debe ser tratado inicialmente con CaCl_2 , para su modificación.
- Se pretende obtener diferentes productos finales, uno de consumo masivo, lo cual se logra disminuyendo la concentración de los esteviosidos por medio del agregado de maltodextrinas. El segundo se destinará a personas que no puedan consumir edulcorantes calóricos o de mayor poder adquisitivo, comercializándose en este caso como extracto líquido o como cristales de stevia de alta pureza.

BIBLIOGRAFÍA

- Alicia Ester Soto y Susana Del Val, EXTRACCIÓN DE LOS PRINCIPIOS EDULCORANTES DE LA STEVIA REBAUDIANA, Revista de Ciencias Agrarias y Tecnología de los Alimentos Vol. 20 – 2002.
- Élide de Paula Moraes and Nádia Regina Camargo Fernandes Machado, Clarification of Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni extract by adsorption in modified zeolites, Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil.
- MIDMORE David, RANK Andrew. "A new rural industry (Stevia) to replace imported chemical sweeteners." Rural Industries Research and Development Corporation. Agosto 2002.
- Moraes, E.P. and Machado, N.R.C.F., "Purification of the Extract of Stevia rebaudiana Bertoni Through Adsorption in Modified Zeolites". VI Seminar on Enzymatic Hydrolysis of Biomass, Proceeding of VI SHEB, Maringá (2000).
- KOTARO, K.; TOKUO, O. "Extraction and Purification of Sweetener Component from Dry Leaf of Stevia". Japan Kokai Pat. Appl. 61008020 (Cl. A23L1/22), 3p., Japón 1987
- Shi, R.; Xu, M.; Shi, Z.; Fan, Y.; Guo, X.; Liu, Y.; Wang, C.; He, B., "Synthesis of Bifunctional Polymeric Adsorbent and Its Application in Purification of Stevia Glycosides". Reactive and Functional Polymers, 50, 107-116 (2002).
- Kodaka, K., "Purification of Sugar Solution from Stevia Dry Leaves", Japan. Kokai Pat. Appl. 76/27,34 (Cl. A23L1/22), 3pp, (1977).
- Moraes, E.P., "Clarificação do Extrato de Stevia Rebaudiana Bertoni Através de Adsorção em Zeolita Modificada". Master's thesis in Chemical Engineering, State University of Maringá (2000).
- <http://www.nutrinfo.com.ar/pagina/info/stevia.html>
- Alvarez, M., 1984, "Stevia rebaudiana Bert. (Bertoni), Estado Atual do Conhecimento" personal.
- Fuh, W. and Chiang, B., 1990, "Purification of Steviosides by Membranes and Ion Exchange Processes" Journal of Food Science, vol.55, n. 5, pp.1454-1457.
- Kinghorn, AD & Soejarto, DD (1985): Current status of Stevioside as a sweetener agent for human use. Economic and medical plant research (Hrsg Wagner et al) Vol 1, Academic press; London-New York, 1-52 (zitiert in Handro & Ferreira 1989)
- Tanaka, O. (1982): Steviol glycosides: New natural sweeteners. Trends Anal Chem (1); 246-248 (zitiert in Handro & Ferreira 1989)
- Fuh, WS. & Chiang, BH. (1990): Purification of Steviosides by Membrane and Ion Exchange Processes; Journal of Food Science 55 (5), 1454-1457
- Kinghorn, A. D., Nanayakkara, N. P. D., Soejarto, D. D., Medon, P. J. and Kamath, S. 1982. Potential sweetening agents of plant origin. I. Purification of Stevia rebaudiana sweet constituents by droplet counter-current chromatography. J. Chromatogr. 237: 478-483.