

RESULTADOS EXPERIMENTALES DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE COMPUESTOS ENDULZANTES DE LA HOJA DE STEVIA REBAUDIANA

Autores: Vanina Monesterolo, Eliana Macia.

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

Se plantea como objetivo de éste trabajo determinar experimentalmente las condiciones de operación para lograr una adecuada extracción de los compuestos endulzantes de la hoja de stevia rebaudiana, recuperando la mayor cantidad posible de esteviosidos para su posterior purificación.

La extracción se lleva a cabo por medio de un solvente acuoso y se analizan las variables de dicha operación. La purificación se realiza en una columna rellena con zeolitas (aluminio-silicatos) los cuales son previamente tratados para modificar su estructura. Finalmente, la solución obtenida debe someterse a un proceso de ultrafiltración.

Las zeolitas una vez utilizadas deben ser regeneradas y resulta necesario considerar la influencia que esto presenta en la duración de la etapa, así como las pérdidas que implica la retención de sustancias endulzantes en las mismas.

El análisis de los resultados obtenidos de la etapa de extracción permitió optimizar las condiciones de este proceso, mientras que en la purificación se evalúa la reducción de impurezas alcanzada en la solución, lo cual ha permitido mejorar considerablemente el sabor del extracto.

Los ensayos experimentales han servido como base para obtención de datos reales que han sido utilizados para adopción y/o diseño de los equipos requeridos para ambas operaciones, brindando información necesaria para el proyecto final de carrera, que actualmente desarrollan las autoras.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años ha tenido especial importancia el uso de edulcorantes sintéticos en reemplazo de la sacarosa, ya sea por problemas de salud o por una tendencia al cuidado del cuerpo en donde se ha buscado sustituir los productos cotidianos por sus equivalentes bajos en grasa o con menor cantidad calorías.

Esta tendencia ha ido desplazando el consumo de azúcares calóricos por productos conocidos como endulzantes no calóricos. Éstos tienen un sabor similar al de la sacarosa, pero con bajo nivel energético. Existen distintas alternativas de edulcorantes, estos pueden ser artificiales o naturales. Dentro de los compuestos existentes en la naturaleza se encuentran los presentes en una planta nativa de Uruguay conocida como Stevia Rebaudiana Bertoni. La Stevia contiene en sus hojas una clase de carbohidratos llamados glucósidos diterpénicos. Se caracterizan por ser entre 200 y 300 veces más dulces que el azúcar común. Estos componentes pueden ser extraídos y usados como endulzantes alternativos, constituyendo una opción beneficiosa para las personas diabéticas y para aquellas que deben reducir la cantidad de azúcar en su dieta, (Midmore and Rank, 2002).

La Stevia no aporta cantidades considerables de calorías y tiene efectos beneficiosos en la absorción de la grasa y la regulación de la presión arterial. Contiene carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales. Posee actividad antibiótica, especialmente contra las bacterias Escherichia Coli y Stafilococos Aureus.

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, Kinghorn and Soejarto, 1985).

La hoja posee varios compuestos endulzantes tales como: steviosido, rebaudiosidos A, B, C, D, E y dulcosidos A y B. El contenido de steviosidos varía entre un 5 y 10%, el de rebaudiosido A entre 2 y 4%, el contenido de rebaudiosido C es del 1 al 2% y los demás están presentes en concentraciones más pequeñas. En la fig. Nº 1 se observa la estructura de estos compuestos junto con los valores endulzantes de cada uno.

La separación de los principios activos de la hoja seca se realiza fácilmente por medio de una extracción con agua o alcohol. Posteriormente debe efectuarse 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. (Soto y Del Val, 2002), (Moraes et al), (Moraes and Machado, 2000)

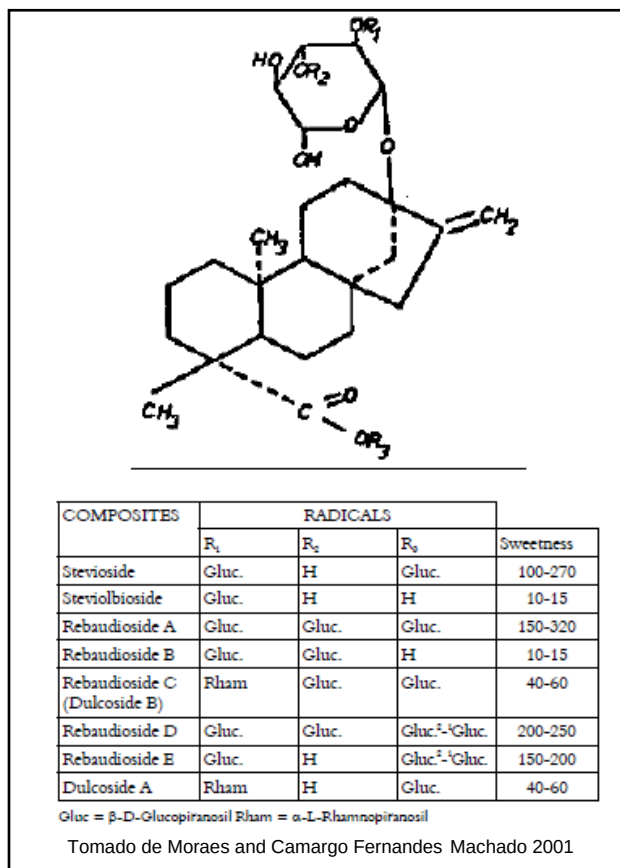


Fig. 1: Estructura general de los glucósidos

En determinados procesos se quitan previamente las grasas de la hoja para obtener un extracto mas puro, esto se logra lavando la hoja con solventes, tales como cloroformo o hexano, junto con una eliminación preliminar de aceites esenciales, clorofila y otros principios apolares (Kingham et al , 1982). Esto no es recomendable debido a que estos solventes contaminan el producto haciendo que pierda su condición de naturalidad.

El extracto debe ser clarificado antes de ser comercializado, de modo que sea totalmente límpido. En trabajos anteriores se realizó un análisis sobre los distintos métodos de extracción y purificación que existen en la literatura científica, definiéndose los procesos más convenientes a utilizar en el desarrollo del proyecto final (Macia y Monesterolo, 2008).

En base a esto se determinó que la extracción se realizara mediante la maceración de la materia prima con una solución acuosa. Posteriormente la etapa de purificación consta de una combinación de operaciones, inicialmente la solución pasará por una columna de adsorción rellena con zeolitas modificadas y por último será tratada por ultrafiltración.

Estos procesos son seguros, no contaminan el producto y se pierde la menor cantidad de endulzantes alcanzándose una purificación del 37% en la etapa de adsorción y luego de la ultrafiltración un 99.5 % de pureza. (Lemansky Rezende et al, 2004)

En el presente trabajo se realizaron los estudios experimentales para la obtención de datos que permitan encontrar los mejores parámetros de operación para posteriormente extrapolarlos al proceso real.

Se desarrollaron las etapas de extracción y purificación por medio de la adsorción con zeolitas modificadas, para esto se utilizando zeolitas convencionales tratadas con una solución de Cl₂Ca para lograr la sustitución de los iones Na⁺ de las mismas por iones Ca⁺⁺. (Moraes and Camargo Fernandes Machado, 2001). La adsorción se realizó en una columna de vidrio utilizando las zeolitas como adsorbente, analizándose las variables a tener en cuenta para la adopción y/o diseño de equipos a futuro.

DESARROLLO

Inicialmente se realizó el tratamiento de las zeolitas, estas son usadas como adsorbentes para clarificar el extracto de stevia. Los iones sodio son intercambiados por iones calcio. El intercambio iónico se realiza usando siempre cloruro como anión para facilitar su eliminación.

La relación en el cálculo del balance de masa de sales es: Ca+2/Na+ equivalente/equivalente, se usan partículas granulares de 1 y 4 mm.

Se preparó una solución de CaCl_2 al 20% ($^w/w$), la zeolitas fueron impregnadas y removidas durante un período de 1 hr a una temperatura de 75° C. El ajuste del pH se hizo con una solución de ClH 6% ($^w/w$), quedando la solución con un pH comprendido entre valores de 5 y 6. Posteriormente se lavaron en tres etapas, inicialmente se realizó un primer lavado con la misma solución de partida y luego se realizaron otros dos con agua destilada. Por último se secaron durante 24 hr a una temperatura de 125° C. Esta metodología fue presentada en la literatura científica (Silva and Machado, 1994).

Para la obtención del extracto acuoso se usaron hojas enteras con pedúnculos de la planta. El macerado de las mismas en agua se hizo colocando una proporción de 1 parte de hojas en 9 partes de agua. En la bibliografía analizada existe múltiples combinaciones de tiempo de macerado y temperatura, por lo que se hicieron dos ensayos, el primero se llevó a cabo por un período de 2 hs con agitación continua en un baño termostático a 50° C, mientras que el segundo tuvo un período de maceración de 8 hs a temperatura ambiente 20° C y sin agitación, Esto se observa en la figura N° 2. Posteriormente ambas muestras fueron filtradas utilizando un papel de filtro por medio de vacío.



Fig. N° 2: Extracción de los principios endulzantes de la planta

La columna se construyó a partir de un tubo de vidrio cuyo diámetro interno es de 2,5 cm, la altura de relleno de zeolitas modificadas fue de 26,5 cm. La masa de zeolitas fue de 95,5 gr. y el diámetro del pellet varió entre 1 y 3 mm. En la figura N° 3 se puede observar la columna rellena de zeolitas.



Fig. N° 3: Columna de adsorción

Esta última se conectó a una bomba que impulsó un caudal de extracto a 6.6 ml/min. El equipo operó durante 2 horas. Sobre el extracto inicial obtenido de ambas muestras se determinó el nivel de turbidez y el índice de refracción utilizando un refractómetro Arcono (0-90) °Brix y un turbidímetro HANNA LP 2000. Sobre el producto obtenido luego de la purificación se realizaron las mismas determinaciones.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

El macerado obtenido tiene igual proporción en volumen de líquido y sólido esto le confiere una consistencia a la mezcla que hace dificultosa su agitación.

El extracto obtenido luego de la filtración posee un determinado porcentaje de polvo en suspensión que atravesó la malla del filtro utilizado obligando a pasar el producto posteriormente por una centrifuga.

El flujo de extracto alimentado a la columna tuvo una variación respecto del valor inicial y por un intervalo de tiempo reducido debido a que la bomba utilizada era de una capacidad muy superior a la requerido obligando al equipo a trabajar en su condición mínima y dificultando las operaciones de calibración. Aun así se observó la clarificación inicial de extracto. En la figura N° 4 se observan los resultados obtenidos luego de la clarificación.

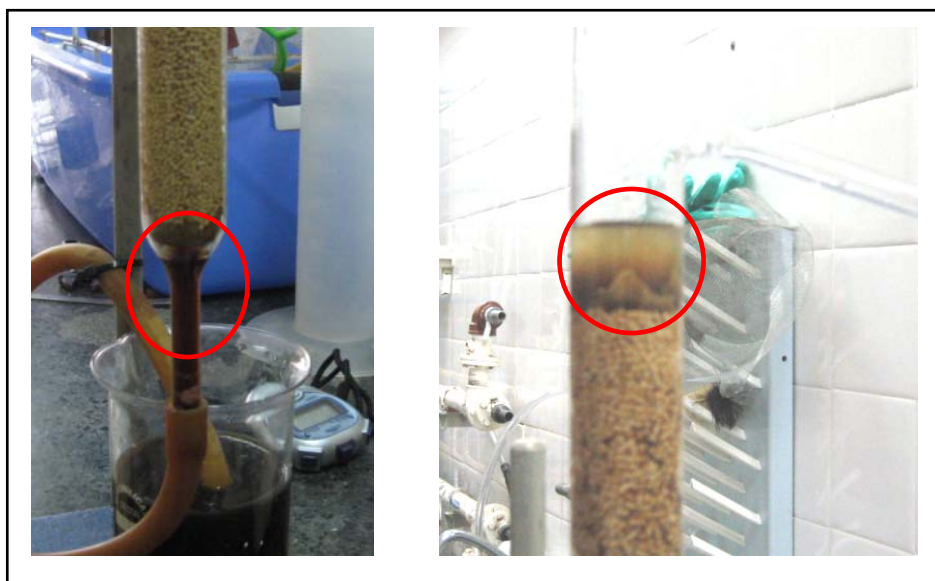


Fig. N° 4: Purificación del extracto de Stevia

Las determinaciones de turbidez dieron como resultado:

Sobre el extracto obtenido de la maceración durante 2 horas el valor hallado fue de 492 unidades de turbidez.

Sobre la muestra de macerado de 8 horas se obtuvo como resultado 350 unidades de turbidez.

También se realizó la determinación de índice de refracción de cada una de las muestras obteniéndose 3.8 ° Brix en el extracto de 2 horas y 3.2 ° Brix en el extracto de 8 horas.

En cuanto al producto obtenido luego del proceso de clarificación el resultado obtenido fue 168 unidades de turbidez y 2 ° Brix.

A partir de las pruebas organolépticas realizadas se observó que el extracto mantenía su sabor dulce, con una menor intensidad que el extracto inicial y una disminución importante del sabor y aroma herbáceo característico del extracto inicial.

El color observado en el clarificado posee menor tonalidad rojiza y preponderando la coloración verdosa la cual debe ser eliminada en una etapa posterior de ultrafiltración que no se pudo reproducir en este ensayo experimental.

Una vez terminado el proceso de adsorción se realizó el lavado de las zeolitas con agua desmineralizada pudiendo observar una coloración diferente respecto de la inicial, lo cual permite relacionarlo con una adsorción de sustancias colorantes. Estos se observa en la figura N° 5.

Se comprobó la necesidad de realizar nuevas pruebas operando el equipo con distintos regímenes de flujo, manteniendo estos constantes durante todo el proceso y modificando las condiciones de la columna.



Fig. Nº 5: Zeolitas antes y después de la adsorción

CONCLUSIONES

A partir del estudio realizado se puede concluir lo siguiente:

- A partir de los valores obtenidos sobre el índice de turbidez en muestras realizadas a los extractos de alimentación se concluye que los mejores resultados se obtiene cuando se realiza la maceración a una temperatura de 50 °C, con agitación y durante cortos períodos de tiempo.
- De acuerdo a los valores hallados en los índices de turbidez del extracto y el clarificado se concluye que hay una disminución en los sólidos disueltos, confirmando esto al observar cambio en la coloración del absorbente utilizado.
- A partir de las pruebas organolépticas se comprobó que existe perdida de sustancias edulcorantes posterior a la clarificación.
- Esta experiencia permite también tomar conclusiones que serán de importancia para el proyecto de grado de las autores como es el caso de la selección del método a utilizar para agitar el macerado y el método elegido para separa los sólidos del extracto que asegure la no existencia de sólidos en suspensión.

REFERENCIAS

- Élida de Paula Moraes and Nádia Regina Camargo Fernandes Machado, *Clarification of Stevia rebaudiana (Bert.) Bertonii 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 industiy (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 Bertonii Through Adsorption in Modified Zeolites". VI Seminar on Enzymatic Hydrolysis of Biomass, Proceeding of VI SHEB, Maringá (2000).
- Moraes, E.P., "Clarificação do Extrato de Stévia Rebaudiana Bertonii Através de Adsorção em Zeólita Modificada". Master's thesis in Chemical Engineering, State University of Maringá (2000).
- 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)
- Silva, C. F.; Machado, N.R.C.F. *Estudo da troca iônica em zeólita Y*. Revista Unimar, Maringá, v. 16, n. 3, p.463-479, 1994.
- Soto, Alicia Ester y Del Val, Susana: *Extracción de los Principios edulcorantes de la Stevia Rebaudiana*, Revista de Ciencias Agrarias y Tecnología de los Alimentos Vol. 20 – 2002.
- Lemansky Rezende, Susana, Bergamasco Rosangela, Camaro Fernandez Machado, Gonçalves Andrade Ribeiro y Urio: *Purificação do extrato acuoso de Stevia Rebaudiana Bertonii através dos processos com zeólitas e membranas*. Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo, 5790, Bloco D-90, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. 2004

- Eliana Macia, Vanina Monesterolo.(2008), *Evaluación de Los procesos de Extracción y Purificación de Los compuestos endulzantes de la hoja de Stevia Rebaudiana*, Facultad Regional Villa María, Universidad Tecnológica Nacional, Grupo de Investigación en Simulación para Ingeniería Química, GISIQ.