DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE REFINO DO "Reb A"

Paula Moro (PIBIC/CNPq/Uem), Paula Gimenez Milani Fernandes (Doutoranda/CAPES/Uem), Heloisa Vialle Pereira, Antonio Sérgio Dacome, Silvio Claudio da Costa (Orientador), e-mail: paulla_moro@hotmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas/Maringá, PR.

Ciências Agrárias – Ciências e Tecnologia de Alimentos

Palavras-chave: *Stevia, adoçantes, purificação*

Resumo:

O objetivo deste projeto foi o desenvolvimento de tecnologia para obtenção e refino do adoçante natural rebaudiosídeo A em escala laboratorial a partir da variedade Stevia UEM-320 selecionada pelo NEPRON. O extrato clarificado de estévia (ECS) foi obtido a partir do extrato inicial de estévia (EIS) e apresentou rendimento médio de 40,81% em relação à folha seca de estévia. O tratamento de ECS em sistema de ultrafiltração (3000 Daltons) e resinas de troca iônica resultaram no extrato base de estévia (EBS) com rendimento médio de 11,49%. A partir do extrato base de estévia (EBS) foi obtido o extrato purificado de estévia (EPS) com teor de glicosídeos totais de 98,5%, tendo como glicosídeo majoritário o rebaudiosideo A (76%), e o rebaudiosido A puro.

Introdução

Stevia rebaudiana (Bert) Bertoni apresenta principalmente em suas folhas glicosídeos diterpênicos com alto poder adoçante. Dentre estes de destaca o esteviosídeo com poder de dulçor entre 250 a 300 vezes maior que o da sacarose. O esteviosídeo é o glicosídeo de maior concentração na maioria das folhas e extratos disponíveis comercialmente. É extraído e comercializado no Brasil desde 1988 sendo utilizado principalmente, em formulações de blendas de adoçantes não calóricos, ou seja, dificilmente é utilizado sem estar associado a outro composto com poder de reduzir ou mascarar o seu sabor residual e facilitar a sua dissolução e aplicação em bebidas e adoçantes liquido. A inserção do esteviosídeo no Brasil como insumo destinado a formulações de produtos dietéticos ocorreu a partir das pesquisas realizadas pela Universidade Estadual de Maringá (UEM),

pioneira em estudos com a estévia, que, por meio do Nepron desenvolveu na década de 80, métodos para o cultivo da planta, extração e purificação do esteviosídeo. Com o avanço das pesquisas outros glicosídeos começaram a se destacar, como o rebaudiosídeo A (rebA), que apresenta características organolépticas superiores ao esteviosideo, pois é 1,5 vezes mais doce, é mais hidrossolúvel e apresenta menor residual amargo, portanto, com perfil sensorial superior ao do esteviosídeo. Assim, novas perspectivas para o uso da estévia foram lançadas a partir da possibilidade do emprego de extratos com alto teor de rebaudiosídeo A. O Nepron executou no final da década de 90 projeto com o intuito de selecionar plantas de estévia com alto teor de rebaudiosídeo A a partir de populações selvagens no Brasil e Paraguai, resultando na obtenção de um clone denominado de Stevia UEM 320, o qual apresenta três vezes mais rebaudiosídeo A. A partir do clone selecionado foram estabelecidas culturas clonais e pesquisas tem sido desenvolvidas ou aperfeiçoadas desde então no Nepron com apoio da iniciativa privada e de órgãos de fomento no sentido de obter extratos com alto teor de rebaudiosideo A ou mesmo o rebaudiosideo A puro (FERNANDES, 2004; BUNHAK et al, 2004, DACOME et al 2005).

Materiais e métodos

Obtenção do rebaudiosideo a partir de Clones de Elite de Estévia

O extrato de estévia purificado (EPS) foi obtido em escala laboratorial seguindo estratégia cujo fluxograma contempla as seguintes operações unitárias: extração aquosa, clarificação, descoloração/purificação e purificação Na extração aquosa foram utilizadas folhas secas e moídas do clone Stevia UEM-320. Amostras de 200 g de folhas foram transferidas para um extrator em aço inox com capacidade de 3,5 litros. Foi adicionado ao extrator 1,5 litros de água destilada e deionizada (70 ºC). A relação folha/líquido de extração foi de 1:10 (massa:volume). Após 30 minutos realizou-se a filtração em filtro de tecido. O rendimento da extração foi estimado por meio de medidas do grau Brix do filtrado. O processo foi repetido três vezes. Os filtrados foram reunidos e clarificados. A torta (bagaço) foi prensada e seca em estufa de circulação de ar até peso constante e a sua massa determinada. O rendimento do extrato inicial (EIS) foi estimado por meio de medidas de grau Brix. O teor de glicosídeos foi determinado por meio de cromatografia liquida de alta eficiência (DACOME et al 2005) Na etapa de clarificação o EIS, o extrato aquoso total obtido da mistura de três extrações e do liquido resultante da prensagem foi tratado com hidróxido de cálcio e filtrado.O liquido clarificado foi separado por decantação do material precipitado e seco em atomizador de bancada,

resultando no extrato clarificado de estévia (ECS). Na etapa de descoloração o ECS foi ultrafiltrado (3000 Daltons) e tratado em resinas de troca iônica, gerando o extrato base de estévia (EBS). Na etapa final o extrato base (EBS) foi purificado por meio de resinas de adsorção e cristalização em etanol, gerando respectivamente EBP e o rebaudiosideo A puro

Resultados e Discussão

Foram realizados seis ciclos de extração, vide tabela 01, na qual são apresentados os valores de rendimento para os diferentes extratos: Extrato inicial de estévia (EIS), extrato clarificado de estévia (ECS), extrato base de estévia (EBS) e extrato purificado de estévia (EPS), respectivamente com rendimento de 39,16%, 40,81%. 11,49% e 7,20% em relação à massa seca da folha de estévia. O teor de glicosídeos totais e rebaudiosideo A foram determiandos para ECS, EBS e EPS. A análise do teor de glicosídeos totais mostra que o teor de glicosídeos totais aumentou na média de 31%para 74,83% na etapa de descoloração/purificação, e de 74,83 para 97,43 na etapa final de purificação. Embora o EPS tenha apresentado alto teor de pureza (97,43%), o teor médio de rebaudiosideo A foi 74,65%. O rebaudiosideo A com 100% de pureza foi facilmente cristalizado a partir de soluções etanólicas do extrato base de estévia (EBS). Solução etanólica a 10% de EBS (massa/volume) com teor de glicosídeos totais não inferior a 60%, foi tratada sob refluxo por 30 minutos e a seguir mantida em repouso por 24 horas sob temperatura ambiente até completa cristalização. O cristalizado ou precipitado foi separado por filtração em papel, seco em estufa e mantido em dessecador para posterior análise.

Tabela 1 Dados dos 6 ciclos de extração realizado com a Stevia UEM 320 em escala laboratorial

Ciclo	EIS (g)	ECS (g)	EBS(g)	EPS (g)
01	39,5	40,10	11,6	7,30
02	40,3	41,30	10,75	6,75
03	37,0	38,90	9,90	6,10
04	38,6	40,10	12,10	7,40
05	39,5	41,80	11,80	7,60
06	40,1	42,65	12,80	8,10
Média	39,16	40,81	11,49	7,20

Conclusões

Conclui-se que a metodologia empregada, permitiu a obtenção de EPS sem o uso de solventes orgânicos com alto teor de glicosídeos totais e que EBS pode ser facilmente cristalizado em etanol gerando rebaudiosideo A puro..

Agradecimentos

Agradeço a todos que participaram direta e indiretamente deste estudo.

Referências

BUNHAK, E. J.; MENDES, E. S.; PEREIRA, N. C.; COSTA, S. C. Avaliação do efeito do polieletrólito aniônico na clarificação do extrato aquoso de Stevia rebaudiana. **Ciencia e Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 24, n.4, p. 587-590, 2004.

DACOME, A. S.; SILVA, C. C.; COSTA, C. E. M.; FONTANA, J. D.; ADELMANN, J.; COSTA, S. C. Sweet diterpenic glycosides balance of a new cultivar of Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni: Isolation and quantitative distribution by chomatographic, spectroscopic, and eletrophoretic methods. **Process Biochemistry**, v.40, p. 3587-3594, 2005

FERNANDES, L. M. **Processos de clarificação de edulcorantes de stevia – estudo de caso projeto Stevia/UEM.** 2004. Tese (doutorado)- Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2004.