

Purificação do extrato aquoso de *Stevia rebaudiana* Bertoni através dos processos com zeólitas e membranas

Suzana Lemansky Rezende, Rosângela Bergamasco*, Nádia Regina Camargo Fernandes Machado, Cid Marcos Gonçalves Andrade, Rosa Maria Ribeiro e Hanna Urio

Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, Bloco D-90, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. e-mail: rosangela@deq.uem.br

RESUMO. Neste trabalho utilizaram-se os seguintes processos de purificação do extrato aquoso de *stevia* a 10%: adsorção com zeólita CaX modificada por troca iônica, separação por ultrafiltração tangencial com membranas cerâmicas e o processo acoplado, zeólitas e membrana. Os melhores resultados de clarificação foram obtidos com o processo acoplado, empregando-se adsorção em leitos de zeólita CaX por 12 horas seguido da ultrafiltração em membrana cerâmica de tamanho médio dos poros 0,05 μm e pressão transmembrana de 4 bar. A clarificação final, após 2,5 horas de filtragem chegou a 99,56%. Esses resultados mostram que o processo acoplado, zeólitas e membrana, é promissor na purificação do extrato bruto de *stevia*. Porém o rendimento dos adoçantes (esteviosídeo e rebaudiosídeo) foi superior quando se trabalhou com o processo isolado com membranas.

Palavras-chave: membrana, purificação, *Stevia* e zeólitas

ABSTRACT. Purification of the aqueous extract of *Stevia rebaudiana* Bertoni through zeolites and membrane processes. In this work the following processes of purification of the aqueous extract of *Stevia* 10% were used: the adsorption in modified CaX zeolites, the membrane separation process and the associated process, zeolites and membrane. The best result of purification was obtained with the associated process which lasted 12 hours of adsorption in the zeolites followed by an ultrafiltration, in a 0.05 μm membranes and a pressure of 4 bar. The final clarification after 2.5 hours of filtration was 99.56%. The results showed that the association of zeolites and membrane process is promising for the purification of crude extract of *stevia*. However, the performance of the sweeteners (stevioside and rebaudioside) was increased when the membranes isolated process was used.

Key words: membrane, purification, *Stevia*, zeolites

Introdução

A indústria de alimentos tem usado de maneira tradicional a sacarose como agente adoçante. Existe porém um aumento na demanda por outros adoçantes, dos quais existem diversas formas no mercado. Um segmento significativo de consumidores está interessado em adoçantes com valor nutritivo, que não sejam tóxicos e que tenham baixo valor calórico.

O cristal extraído das folhas de *stevia*, o esteviosídeo, é natural, não-calórico, e de consumo seguro, podendo ser usado sem restrição pelas pessoas que não podem consumir açúcar. O extrato cru, resultante da extração industrial, tem um sabor residual amargo e cor marrom escuro, assim, é essencial que se faça uma purificação para se obter um produto de qualidade comercial (Fuh e Chiang, 1990).

Entre os principais glicosídeos que se destacam na planta *stevia* está o esteviosídeo, seguido pelo rebaudiosídeo, em menor quantidade. O esteviosídeo possui um dulçor cerca de 10 a 300 vezes maior que o da sacarose, mas apresenta um forte sabor residual. O rebaudiosídeo A, que aparece como segundo maior componente edulcorante, apresenta um dulçor de 250 a 400 vezes o do açúcar e tem um sabor residual levemente amargo. Esses edulcorantes são estáveis ao calor e em uma ampla faixa de pH não são metabolizáveis, não são fermentáveis e são anticariogênicos, o que os tornam interessantes sob o ponto de vista alimentício (Goto e Clemente, 1998). Além disto, são naturais, o seu consumo é comprovadamente seguro e é o único adoçante de caloria zero encontrado pronto na natureza.

Alternativamente aos processos tradicionais de purificação do extrato de *stevia*, tais como íons

metálicos seguidos de deionização, purificação por eletrólise e com solventes voláteis, processos estes que apresentam restrições, como deixar resíduos nocivos à saúde e alto custo (Arashi, 1987), outros processos vêm sendo testados, visando à otimização dos resultados.

Uma alternativa viável seria a combinação de processos que tenham sido comprovadamente eficientes na purificação da *stevia*, como as zeólitas e os processos por membranas.

O processo com zeólitas tem sido usado com êxito na purificação do extrato de *stevia*, por apresentar como principal vantagem o baixo custo, não deixar resíduos que podem ser nocivos à saúde e possuir tecnologia operacional de fácil entendimento e aplicação. Moraes (2000) constatou que a zeólita CaX, além de clarificar o extrato de *stevia* melhorou também o sabor.

O processo de purificação com membranas tem sido ultimamente utilizado pelo fato de reduzir substancialmente os níveis de impurezas (pigmentos foliares complexos) presentes no extrato de *stevia*. Moreschi (1999) utilizou com sucesso o processo de membranas na purificação do extrato de *stevia*. Os melhores resultados de pureza e retirada efetiva de turbidez foram obtidos com a membrana de 30000 Daltons, a 0,69 bar, enquanto que a melhor remoção de cor foi obtida com a membrana de 10000 Daltons a 0,55 bar.

O objetivo geral desta pesquisa foi, portanto, avaliar os processos alternativos de purificação do extrato de *stevia* utilizando-se os processos com zeólitas, os de filtração com membranas e em uma terceira etapa, a combinação destes, acoplando os processos zeólitas-membranas.

Material e métodos

Preparo do extrato aquoso de *stevia* 10%

No preparo do extrato aquoso de *stevia* (10%), foram utilizadas folhas de *stevia in natura*, fornecidas pela indústria Steviafarma. A extração dos princípios adoçantes das folhas secas de *stevia* foi feita com água fria por duas horas e em seguida foi realizada uma filtração a vácuo, conforme técnica utilizada na Steviafarma.

Processo de purificação com zeólita

No processo com zeólitas, foram utilizados leitos de 40 g de adsorvente (zeólita CaX, grânulos de 2 mm), para clarificar as soluções de extrato aquoso de *stevia* 10% (Figura 1).

O extrato bruto de *stevia* era introduzido no leito de zeólita de forma ascendente com o auxílio de uma bomba peristáltica, cuja vazão foi fixada em 2 mL/min. pois de acordo com Moraes (2000), observa-se que

acima desta ocorre um decréscimo na porcentagem de clarificação.

A coluna do módulo de adsorção é de vidro e o leito constituído de esferas de vidro, com a mesma granulometria dos grãos de zeólitas, no topo e no fundo. As zeólitas ficavam na região central da coluna, sendo que a sua altura era de 14 cm. A coluna mede no total 28 cm, com um diâmetro interno de 1,5 cm.

No processo de purificação do extrato de *stevia* com zeólitas, os ensaios foram realizados com duração de 2 horas, sendo as amostras coletadas em períodos de 5 minutos.

No processo acoplado, o extrato de *stevia* foi submetido a um pré-tratamento com zeólitas antes da passar pelo processo de purificação por membranas. Esse pré-tratamento consistiu em um ensaio com 12 horas de duração, na coluna de adsorção. A Figura 1 mostra um esquema simplificado do processo.

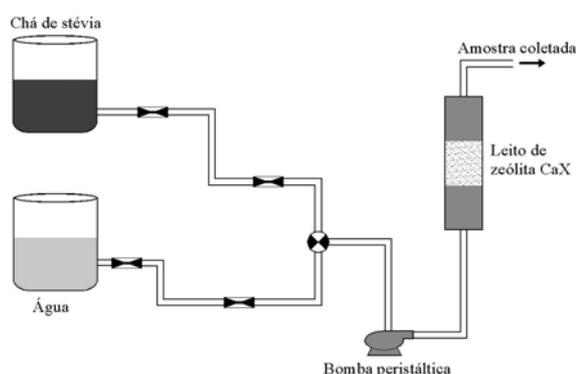


Figura 1. Esquema simplificado da purificação do extrato de *stevia* utilizando-se zeólitas.

Processo de purificação por membranas

Foi realizado um estudo da influência da filtração com membranas no processo de purificação, tanto do extrato cru de *stevia* quanto do extrato pré-purificado pelo processo com zeólitas. Foi utilizado o módulo de ultrafiltração tangencial “NETZSCH” com uma membrana cerâmica de tamanho médio dos poros 0,05 μm (Figura 2). Na entrada e na saída do cartucho de ultrafiltração foram acoplados 2 manômetros. O volume inicial de extrato cru de *stevia* no tanque de alimentação foi de 9 litros. Durante o processo de ultrafiltração as amostras foram coletadas em tempos regulares para a determinação do fluxo e clarificação, não havendo recirculação do extrato. O sistema foi mantido em temperatura constante de 25C por meio de um banho de refrigeração. Nesse módulo, foram avaliados os efeitos de diferentes pressões transmembrana (PT: 2, 4 e 6 bar) no processo de purificação.

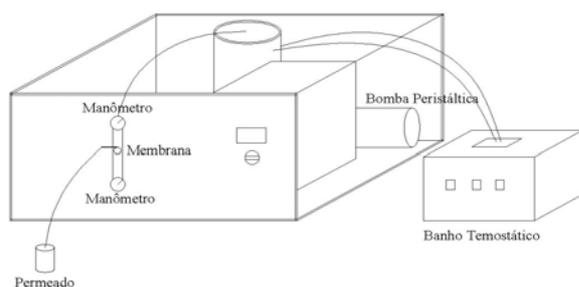


Figura 2. Esquema simplificado do sistema de ultrafiltração.

Com o objetivo de avaliar o comportamento do fluxo permeado do extrato de *stevia*, este foi medido através da massa permeada, utilizando-se uma balança digital, conforme equação 1:

$$J_v = m_p / t A_m \quad (1)$$

J_v – fluxo permeado, Kg/(m².h)
 m_p – massa de permeado, Kg
 t – tempo, h
 A_m – área de membrana filtrante, m²

A limpeza das membranas de ultrafiltração foi realizada antes e depois do processo de purificação do extrato aquoso de *stevia*, seguindo a metodologia do fabricante.

Caracterização das amostras dos processos de purificação: Zeólita, Membrana e Acoplado (zeólita-membrana)

A cromatografia líquida de alta eficiência foi utilizada para quantificar a concentração dos açúcares esteviosídeo e rebaudiosídeo presentes em maior quantidade nas amostras do extrato aquoso de *stevia* bruto e após os processos de purificação. O equipamento utilizado foi um Cromatógrafo Líquido Modelo CG-480C. A fase móvel utilizada foi uma solução de acetonitrila/água 80:20 (v/v), que arrastou as amostras ao longo da Coluna NH₂ Brownlee 22 cm com uma vazão de 1,5 mL/min. à temperatura ambiente e pressão de 80 atm. A leitura foi feita a 210 nm, utilizando-se um detector UV. Por meio desses resultados, que foram obtidos a partir de 20 minutos de operação, quando o sistema apresentou maior estabilidade para os teores de açúcares, foi calculado o rendimento de açúcares obtido durante o processo de purificação. O rendimento foi calculado com base no extrato bruto inicial.

Para o cálculo da clarificação do extrato, após a purificação por zeólitas e membrana, foi feita a análise por espectrofotometria utilizando-se uma correlação entre absorvância e clarificação (Fuh e Chiang 1990). Os pigmentos na solução foram analisados por medidas de absorvância em Espectrofotômetro Shimadzu (UV — 1230) nos comprimentos de ondas

420 nm (cor) e 670 nm (turbidez). A percentagem de clarificação foi calculada pela equação 2.

$$\% \text{ clarificação} = \left[1 - \frac{A_{420} \text{ (ou } A_{670}) \text{ depois}}{A_{420} \text{ (ou } A_{670}) \text{ antes}} \right] \times 100 \quad (2)$$

em que:

A_{420} e A_{670} - absorvância da amostra, nos respectivos comprimentos de onda 420nm (cor) e 670 nm (turbidez), antes e após purificação.

Resultados e discussão

Nas Figuras 3 e 4 estão apresentados os valores do fluxo de permeado nos ensaios realizados no módulo de filtração tangencial com os extratos de *stevia* bruto e pré-purificado pelo processo com zeólitas, respectivamente.

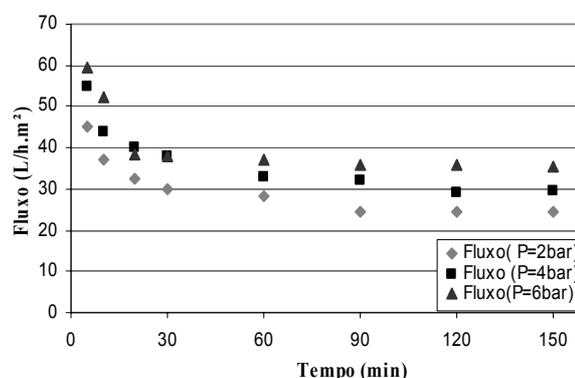


Figura 3. Fluxo de permeado de extrato bruto em função do tempo, nas pressões de 2, 4 e 6 bar.

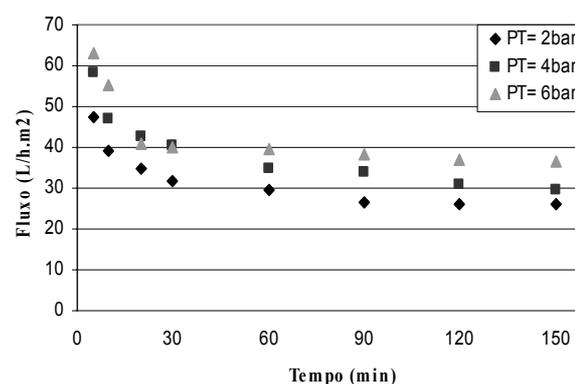


Figura 4. Fluxo de extrato pré-purificado em função do tempo, nas pressões de 2, 4 e 6 bar.

Nas Figuras 3 e 4, observa-se um decaimento do fluxo de permeado com o tempo de operação, sendo que o fluxo de permeado inicial e final do ensaio realizado com o processo acoplado permaneceu superior ao processo de membranas. Isso provavelmente foi devido à grande parte das

impurezas presentes no extrato de *stevia* ter sido retida durante o processo com zeólitas.

Na Figura 5 está apresentada a permeabilidade da membrana em função da pressão.

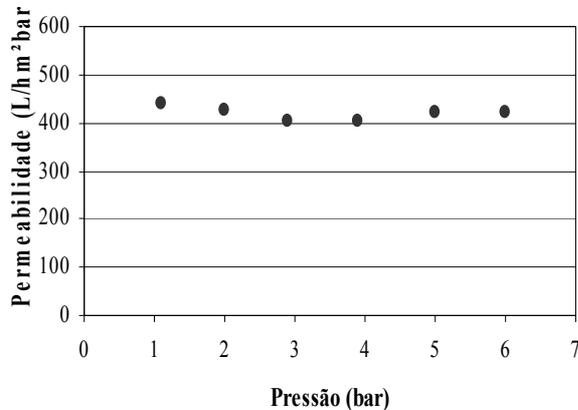


Figura 5. Permeabilidade da membrana usando-se água deionizada.

Observa-se, na Figura 5, que os valores de permeabilidade da membrana apresentaram uma média de 400 L/m².bar. Constatou-se com esse parâmetro que após cada lavagem realizada no módulo de filtração o fluxo permeado retornava ao seu valor inicial.

Nas Figuras 6 e 7 estão apresentados os resultados da clarificação do extrato bruto e pré-purificado de *stevia* através do processo de ultrafiltração (PT: 2, 4 e 6 bar).

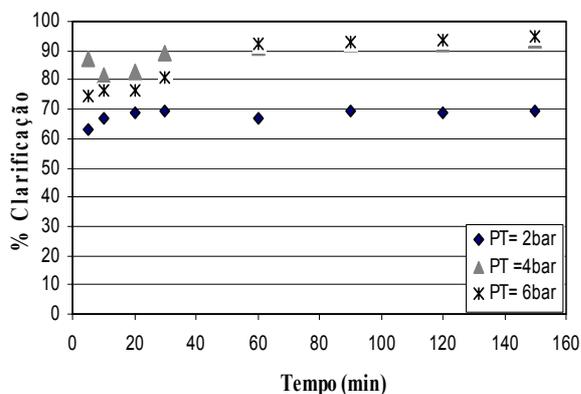


Figura 6. Clarificação em termos de cor do extrato bruto de *stevia*, nas pressões de 2, 4 e 6 bar.

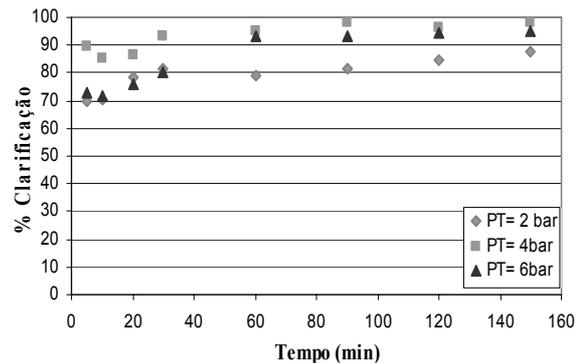


Figura 7. Clarificação em termos de turbidez do extrato bruto de *stevia* nas pressões de 2, 4 e 6 bar.

Pode-se verificar na Figura 6, para a PT de 2 bar, que a clarificação inicial para o extrato bruto foi de 63%, e após 150 minutos de teste chegou a 69,74%, indicando, portanto, uma melhora nos resultados de clarificação com o tempo, sugerindo que o material retido esteja funcionando como um filtro. Nas Figuras 6 e 7, verifica-se que houve uma melhora significativa na clarificação quando se utilizaram as PTs de 4 e 6 bar, apresentando uma clarificação após 150 minutos de 93,6% e 95,02% respectivamente para o extrato bruto. O aumento da pressão resulta em uma maior compactação da camada de gel, ocasionando um menor tamanho médio dos poros superficial desta, auxiliando, assim, na remoção da cor (Moreschi, 1999). Entretanto, pode-se constatar que a partir da PT de 4 bar a clarificação do extrato de *stevia* foi praticamente constante.

Nas Figuras 8 e 9 são apresentados os valores de clarificação quando foi utilizado o processo acoplado. A redução progressiva da cor e turbidez observada nas pressões de 2, 4 e 6 bar utilizadas (Figuras 6 a 9) pode ser atribuída: a) à formação da camada gel na superfície da membrana, que cresce com o tempo de operação e passa a se constituir em uma verdadeira membrana dinâmica; b) à colmatção, que é o bloqueamento parcial ou total dos poros da membrana, reduzindo de forma efetiva seus diâmetros hidráulicos com conseqüente aumento no poder de retenção de partículas. A ocorrência desses dois fenômenos parece ter contribuído para a redução no fluxo permeado que se verificou durante os ensaios.

No processo com zeólitas, após 12 horas de fluxo observou-se que a clarificação final foi de 37%. A percentagem de clarificação do extrato de *stevia* foi superior no processo acoplado zeólita-membrana quando comparada com o processo de filtração com membranas. Pode-se constatar que quando trabalhou-se com o processo acoplado zeólita-membrana a PT de 4 bar, obteve-se, para as primeiras amostras de permeado, a clarificação de 92% contra 82% com o processo de membrana isolado e após 2,5 horas de

filtração foi de 99,56% contra 92,54% do processo isolado .

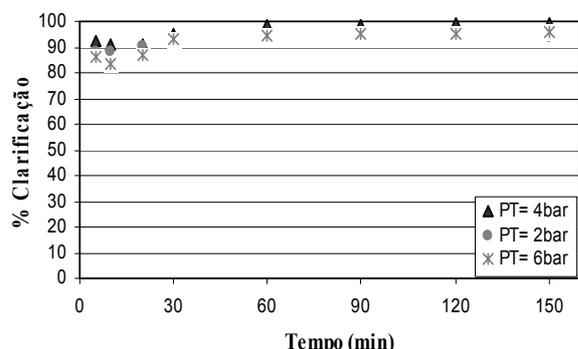


Figura 8. Clarificação em termos de cor do extrato pré-purificado da *stevia* nas pressões de 2, 4 e 6 bar (processo acoplado).

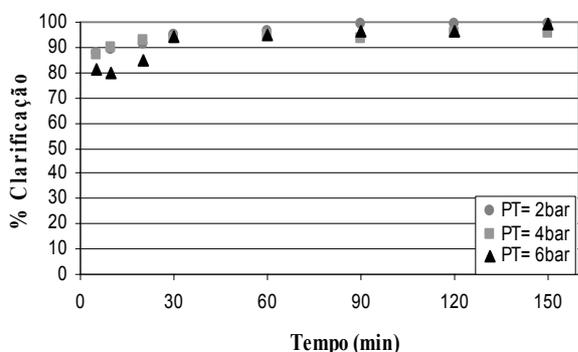


Figura 9. Clarificação em termos de turbidez do extrato pré-purificado da *stevia* nas pressões de 2, 4 e 6 bar (processo acoplado).

Nas Figuras 10 e 11 estão apresentadas as concentrações dos adoçantes (esteviosídeo e rebaudiosídeo) no permeado do extrato bruto (processo com membrana) e extrato pré-purificado (processo acoplado).

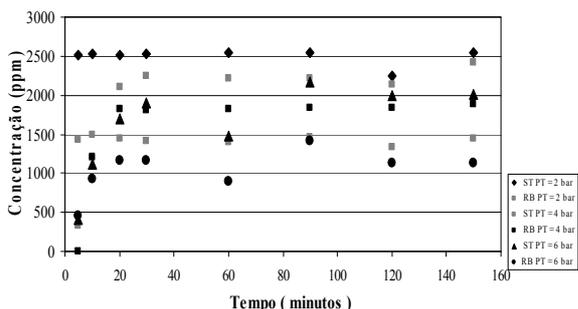


Figura 10. Concentração (ppm) de adoçantes nas amostras de permeado a partir do extrato bruto de *stevia* pré-purificado.

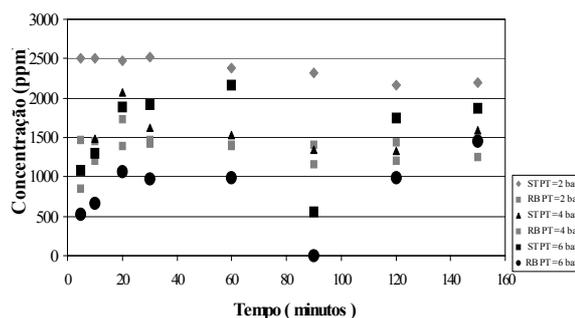


Figura 11. Concentração (ppm) de adoçantes do extrato de *stevia* obtido pelo processo acoplado de clarificação.

Observa-se, nos dois processos estudados (Figuras 10 e 11), que a quantidade de esteviosídeo permaneceu superior à de rebaudiosídeo. Esse resultado já era esperado, uma vez que o teor de esteviosídeo nas folhas de *stevia* é superior ao de rebaudiosídeo (Igoshi e Kato, 1976).

Analisando-se os dados de concentração, foi calculado o rendimento (Tabela 1) para os processos com membranas e acoplado (zeólitas e membranas) e conclui-se que houve maior perda de adoçantes quando utilizou-se o processo acoplado. No processo de pré-purificado com zeólitas foi encontrado um rendimento médio de 84% de esteviosídeo e 86% rebaudiosídeo.

Podemos concluir então que as zeólitas auxiliam no processo de clarificação do extrato de *stevia*, mas retêm também os adoçantes juntamente com as impurezas, diminuindo assim o rendimento final do processo.

Os melhores resultados de rendimento de adoçantes foram encontrados na pressão transmembrana de 2 bar nos dois processos estudados (membrana e acoplado). Para o rebaudiosídeo, o rendimento se manteve inalterado nos dois processos enquanto que para o rebaudiosídeo foi constatado um aumento para o processo acoplado.

Tabela 1. Rendimento médio dos processos membranas e acoplado (zeólita e membrana).

Processos	Rendimento (%) Adoçantes	Pressão transmembrana (bar)		
		2	4	6
Membrana	Esteviosídeo	97,13	82,84	50,26
	Rebaudiosídeo	94,74	93,06	50,51
Acoplado (zeólitas-membranas)	Esteviosídeo	89,85	62,26	56,37
	Rebaudiosídeo	94,71	68,96	49,39

A pureza dos adoçantes alcançada neste trabalho foi superior aos rendimentos encontrados por Fuh e Chiang (1990), que obtiveram valor de pureza (rendimento de adoçantes) após a diafiltração de 46,5%, trabalhando com uma membrana tubular de ponto de corte 25000 Daltons a 123 Psi.

Conclusão

O processo de purificação do extrato de stevia por meio da filtração tangencial com membranas cerâmicas mostrou-se altamente eficiente. A percentagem de clarificação foi de 99% no processo acoplado zeólita-membrana e 95% para o processo isolado de filtração com membranas.

O fluxo de permeado inicial e final do processo acoplado permaneceu superior ao processo de membranas, pois as zeólitas retiveram grande parte das impurezas presentes no extrato de stevia (37% de clarificação).

A partir da PT de 4 bar a clarificação do extrato de stevia foi praticamente constante nos processos estudados (membrana e acoplado zeólita-membrana).

O rendimento dos adoçantes (esteviosídeo e rebaudiosídeo) foi superior quando se trabalhou com o processo isolado com membranas, provavelmente pelo fato de que as zeólitas tenham retido os açúcares juntamente com as impurezas presentes no extrato de stevia.

Assim, o processo de membrana e o processo acoplado zeólita-membrana apresentam-se como alternativa simples e eficiente de tratamento do extrato de stevia por não deixarem nenhum resíduo

nocivo à saúde e ao meio ambiente, o que comumente acontece com os processos convencionais.

Referências

- ARASHI, H. Processo de obtenção e fabricação de steviosídeo (Arashi Agro Desenvolvimento Ltda.). Pedido PI BR 8700543 (Cl. C13D1/14), 1987.
- FUH, W. S.; CHIANG, B. H. Purification of stevioside by Membrane and Ion Exchange Processes. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 55, n. 5, p. 1454–1457, 1990.
- GOTO, A.; CLEMENTE, E. Influência do Rebaudiosídeo A na solubilidade e no sabor do Esteviosídeo. *Cien. Technol. Aliment.*, Campinas, v. 18, n.1, p.3-6, 1998.
- IGOSHI, M.; KATO, H. *Purification of steviosides*. Tokyo: Kohon, 1976.
- MORAES, E. P. *Clarificação do extrato aquoso de Stevia rebaudiana Bertoni através de adsorção em zeólitas modificadas*. 2000. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2000.
- MORESCHI, S. R. M. *Purificação e concentração do extrato aquoso de Stevia rebaudiana Bertoni através de membranas microporosas*. 1999. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 1999.

Received on March 15, 2004.

Accepted on June 15, 2004.