



## CLARIFICAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE *STEVIA REBAUDIANA* (BERT.) BERTONI, UTILIZANDO POLÍMERO NATURAL EXTRAÍDO DA *MORINGA OLEIFERA*

Mariane Fernandes Maioral<sup>1</sup>, Paula Gimenez Milan<sup>2</sup>, Heloísa Vialle Pereira<sup>3</sup>, Paula Moro<sup>4</sup>, Antonio Sérgio Dacome<sup>5</sup>, Silvio Claudio da Costa<sup>6</sup>.

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi a clarificação do extrato aquoso de *Stevia rebaudiana* usando polímeros naturais extraídos da *Moringa oleifera* usada portanto como floculante natural. Os polieletrólitos da *Moringa oleifera* foram extraídos a partir de solução salina e água, e a seguir purificados por diálise e deslipidificação com acetona. Avaliou-se a percentagem de despigmentação, velocidade de decantação e teor de adoçantes nas amostras analisadas. O extrato clarificado foi obtido de ensaios de decantação em um *Jar Test*. A clarificação do chá foi nitidamente observada, sendo que o polímero obtido a partir de solução salina apresentou melhores resultados de despigmentação. O teor final de adoçantes não foi comprometido.

**PALAVRAS-CHAVE:** Clarificação; *Stevia rebaudiana*; *Moringa oleifera*.

### 1 INTRODUÇÃO

O extrato concentrado da planta *Stevia rebaudiana* possui edulcorantes naturais e não calóricos que podem ser consumidos por qualquer indivíduo (CARVALHO, 2013). Os principais consumidores são diabéticos, indivíduos acima do peso ou obesos. Podem ser citados cinco principais glicosídeos presentes nas folhas da *Stevia rebaudiana* Bertoni, sendo eles, esteviosídeo, rebaudiosídeo A, rebaudiosídeo C, dulcosídeo, e esteviolbiosídeo (DACOME et al., 2005).

A clarificação é uma etapa essencial no processo de extração dos glicosídeos da *Stevia rebaudiana*, pois é neste processo que a qualidade visual do produto é atingida. A clarificação de extratos de estevia utiliza o processo de decantação para reduzir o sabor amargo predominante e a coloração escura (BUNHAK et al., 2004). As impurezas encontradas no extrato são principalmente compostas por pigmentos orgânicos e sais inorgânicos.

O objetivo do presente estudo foi à realização da clarificação do extrato aquoso da *Stevia rebaudiana* utilizando polímeros naturais obtidos da *Moringa oleifera* na etapa de floculação.

### 2 MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 EXTRAÇÃO DO COMPONENTE ATIVO DA SEMENTE DE *MORINGA OLEIFERA*

A semente foi triturada, de forma a obter-se um material homogêneo. Duas formas de extração foram feitas obtendo-se assim dois polímeros diferentes (A e B). Misturou-se 10g de semente triturada com 1L de solução 1M de NaCl. A suspensão foi agitada por 10 minutos a uma velocidade baixa com agitador magnético, e a seguir, foi filtrada. Para purificação do princípio ativo fez-se uma diálise do filtrado por 24 horas, obtendo-se assim um precipitado branco. Esse precipitado foi separado a partir de centrifugação e então lavado com água deionizada duas vezes. A deslipidificação foi feita usando-se acetona. Para isso 500 mL de acetona foi adicionado ao precipitado obtido e o mesmo foi separado por filtração.

O segundo procedimento de extração foi feito com água deionizada. Uma quantidade de 10g de semente foi triturada com 1L de água deionizada. A suspensão foi agitada por 10 minutos utilizando um agitador magnético e a seguir, filtrada. O filtrado foi submetido a uma diálise por 24 horas, e novamente submetido a uma filtração. Por fim, o material resultante foi lavado com acetona para sua deslipidificação e filtrado, obtendo-se assim o polieletrólito.

Todas as análises dos componentes ativos foram realizadas no Núcleo de Estudos em Produtos Naturais (NEPRON), na Universidade Estadual de Maringá. Os teores de proteínas solúveis foram determinados por meio do método Bradford (BRADFORD, 1976) e os carboidratos totais foram quantificados pelo método fenól-sulfúrico de Dubois (DUBOIS et al., 1956).

<sup>1</sup>Mestranda do Curso de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá. Bolsista CAPES. marianeuem@gmail.com.



## 2.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE *STEVIA REBAUDIANA*

Foram realizadas dois tipos de extrações dos adoçantes: a frio e a quente. Nas duas extrações usou-se 850g de folhas trituradas de *Stevia rebaudiana* UEM-320 e 7L de água destilada. O processo de extração deu-se por percolação. No caso da extração a quente, esperou-se iniciar fervura e aguardou-se 30min para uma extração mais eficaz. Após esse período o sistema folhas de estévia e água permaneceram em contato por mais 30 minutos. O procedimento foi feito por duas vezes para garantir uma melhor extração dos adoçantes.

## 3 TESTE DE CLARIFICAÇÃO

### 3.1 CURVA DE PH

Para determinação do ponto de menor estabilidade do extrato aquoso de Stevia, fez-se uma curva de pH para os dois extratos obtidos ( a frio e a quente). Para tal, foi traçada uma curva de uma solução 20% de  $\text{Ca(OH)}_2$ , com pH variando de 5 a 13.

### 3.2 TESTE DE COAGULAÇÃO E FLOCULAÇÃO

Um sistema Jar Teste foi utilizado para avaliar a coagulação/floculação. O  $\text{Ca(OH)}_2$  foi adicionado ao chá (300ml de extrato) para ajuste de pH (9,3) e para promover a desestabilização das partículas. O chá com  $\text{Ca(OH)}_2$  foi agitado a 150 rpm por 1 minuto. Em seguida, os componentes ativos (A e B) da moringa foram adicionados e a velocidade de mistura foi reduzida para 30 rpm durante 30 min. O extrato clarificado foi obtido por meio da decantação de 30 minutos. Após os tratamentos com os polímeros e posterior decantação, as amostras clarificadas foram analisadas a 420 e 670 nm para análise de cor e turbidez respectivamente.

### 3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida de teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) e tratados com o software SAS (Statistical Analysis System) (2006) versão 9.1.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A extração do polieletrólito com sal apresentou um rendimento de extração de 3%, enquanto o método de extração com água apresentou rendimento de 40%.

O processo de purificação dos polímeros obtidos resultou em um aumento considerável dos princípios ativo de ambos. Os resultados dos experimentos realizados com os polímeros A e B estão representados na Tabela 1. Esses resultados estão de acordo com os estudos descritos por OKUDA, 1999. Devido a deslipidificação feita com acetona, nenhum dos polímeros apresentou lipídeos em sua composição.

Os resultados da clarificação do extrato de estévia a frio com hidróxido de cálcio indicaram que o valor máximo de absorbância foi obtido com o pH 10, para os dois comprimentos de onda analisados (420 e 670 nm). Esse valor de pH caracteriza o ponto isoelétrico do coágulo, ou seja, o ponto de instabilidade máxima das partículas. Isso foi comprovado pelos elevados valores de absorbância nos dois comprimentos de onda utilizados e por isso os polímeros naturais foram adicionados nesse momento da análise. O hidróxido de cálcio apenas desestabilizou a solução para uma melhor eficácia da posterior floculação.

**Tabela 1.** Análise físico-química de carboidratos totais e proteínas dos polímeros da Moringa oleífera extraídos com água e solução salina

Análise (%)	Extração com Água	Extração com salina
Carboidratos Totais	8,50 ± 0,01	4,20 ± 0,02
Proteínas	90,09 ± 0,01	10,80 ± 0,02
Polieletrólito orgânico	0,00 ± 0,01	85,00 ± 0,05
Outros	0,60 ± 0,04	0,00 ± 0,01

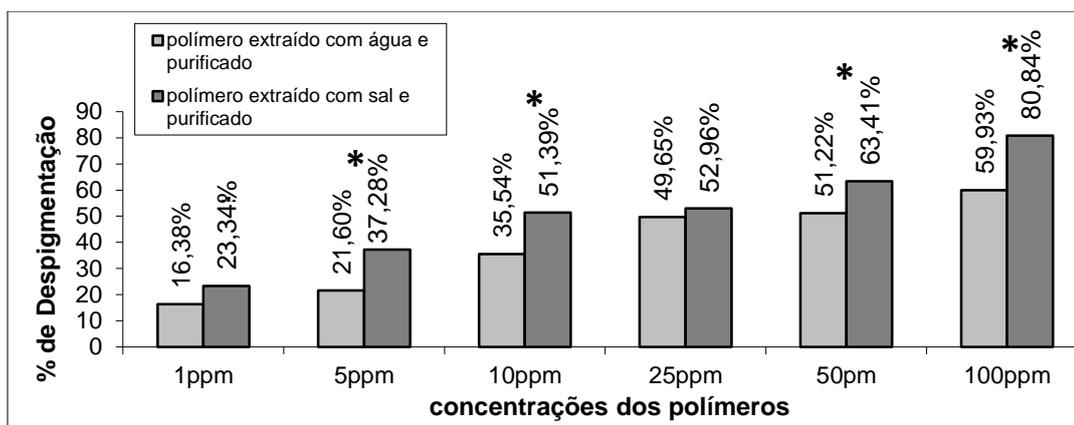
Fonte: O Autor

Para otimizar a extração dos glicosídeos, o processo foi realizado à quente. O brix obtido no extrato obtido a quente foi 5, portanto maior que o da extração a frio (brix 10). Os resultados mostraram que o ponto de instabilidade máxima para o extrato obtido a quente é atingido em um pH menor que para o extrato obtido a frio,



quantidades inferiores de hidróxido de cálcio são necessárias para coagulação do extrato de estévia, assegurando ainda mais a qualidade do produto final. O extrato bruto de *Stevia rebaudiana* obtido por extração a quente, foi tratado com os polímeros naturais extraídos da *Moringa oleifera*. O polímero extraído com solução salina forneceu uma maior porcentagem de despigmentação observada principalmente a 670 nm. Isso foi verificado em trabalhos usando esse polieletrólito natural no tratamento de água. OKUDA, 1999 cita que a extração do polímero com sal melhora a eficiência do tratamento. O aumento da concentração dos polímeros foi diretamente proporcional a despigmentação. Concentrações menores de polímero obtido com solução salina fornecem melhores resultados se comparados com concentrações maiores do polímero extraído com água.

O valor de despigmentação encontrado utilizando o polieletrólito da *Moringa oleifera* extraído com sal no comprimento de onda de 670nm foi mostrado na figura 1. A 63,51% a 50ppm e 80,84% a 100ppm a remoção da turbidez foi bastante eficiente. O chá de estévia não clarificado (não tratado com os polímeros) apresentou um teor de adoçantes de 11,77%. Enquanto que os chás tratados não sofreram redução considerável de adoçantes.



(\*) indicam diferenças significativas a nível de 5% pela análise de variância a cada.

**Figura 1** - % de despigmentação à 670nm do extrato aquoso de *Stevia* utilizando polímeros naturais extraídos da *Moringa oleifera*.

## 5 CONCLUSÃO

A extração do chá das folhas de *Stevia rebaudiana* a frio proporcionou a desestabilização das partículas em um pH superior que a extração a quente, sendo assim este apresentou melhores resultados na aplicação dos polímeros naturais da *Moringa oleifera*. Em relação à extração do polieletrólito o processo foi mais eficiente na extração com água. Os polímeros extraídos (A e B) são diferentes, sendo que o primeiro tem como componente ativo a proteína. No entanto, a clarificação do extrato de estévia foi mais eficiente com o polímero B. A clarificação usando os polímeros naturais foi bastante eficaz, e não alterou significativamente a porcentagem de adoçantes do extrato original, sendo possível manter, portanto as características naturais dos adoçantes de estévia. Apresentar as principais conclusões, destacando o progresso e as aplicações que a pesquisa propicia. Enfatizar as limitações que persistem, apresentando, sempre que apropriado, sugestões para trabalhos futuros.

## REFERÊNCIAS

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p. 248-254, 1976.

CARVALHO, A.C.G.; OLIVEIRA, R.C.G.; NAVACCHI, M.F.P.; COSTA, C.E. M.; MANTOVANI, D.; DACOME, A.S.; SEIXAS, F.A.V.; COSTA, S. Evolution of the potencial use of rebaudioside-A as sweetener for diet jam. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 3, p. 555–560, 2013.

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*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.4, Campinas, 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 chromatographic, spectroscopic, and eletrophoretic methods. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 3587–3594, 2005.

DUBOIS M., GILLES K.A., HAMILTON J.K., REBERS P.A, SMITH F. Colorimetric method for determination of sugar related substances. **Analytical Chemistry**, v.58, p. 350-356, 1956.

OKUDA, T.; BAES, A.U.; NISHIJIMA, W.; OKADA, M. Improvement of Extraction Method of Coagulation Active Components from *Moringa Oleifera* Seed, **Water Resources**, v. 33, n. 15, p. 3373-3378, 1999.