

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE MESTRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**CLARIFICAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE *STEVIA REBAUDIANA* BERTONI
ATRAVÉS DE ADSORÇÃO EM ZEÓLITAS MODIFICADAS**

Élida de Paula Moraes

Eng^a Química, UEM, 1997

Orientadora: Prof^a. Nádia Regina C. Fernandes Machado, D. Sc.

Dissertação de Mestrado submetida à
Universidade Estadual de Maringá, como parte
dos requisitos necessários à obtenção do Grau
de Mestre em Engenharia Química, área de
Catálise.

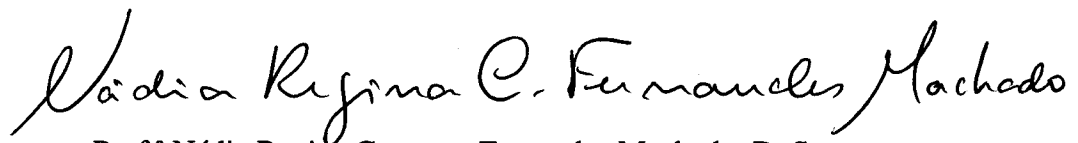
Maringá – PR. – Brasil

Março de 2000.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE MESTRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Esta é a versão final da dissertação de Mestrado apresentada por Élide de Paula Moraes perante a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia Química em 16 de março de 2000.

COMISSÃO JULGADORA



Prof.^a Nádya Regina Camargo Fernandes Machado, D. Sc.

Orientadora



Prof.^a Ângela Maria Moraes, D. Eng.

Membro



Prof. Pedro Augusto Arroyo, D. Sc.

Membro

MORAES, ÉLIDA DE PAULA

Clarificação do extrato aquoso de *Stevia rebaudiana* Bertoni através de adsorção em zeólitas modificadas [Paraná] 2000.

XIV, 91 p. 29,7 cm (PEQ/UEM, M. Sc., Engenharia Química, 2000)

Dissertação - Universidade Estadual de Maringá – PEQ

1. Clarificação do extrato de *Stevia rebaudiana* Bertoni 2. Zeólita modificada 3. Troca Iônica
4. Adsorção seletiva

I. PEQ/UEM II. Título (série)

DEDICATÓRIA

Aos meu pais, Eliza e Iliazar
com amor e gratidão.

Ao Fábio com amor,
pela paciência e compreensão.

Élida

AGRADECIMENTOS

À Deus.

À Professora Dra. Nádia Regina Camargo Fernandes Machado, por sua orientação, amizade, confiança e compreensão durante o desenvolvimento do nosso trabalho.

Ao meu amigo Airton pelo auxílio nos momentos em que precisei.

Aos meus amigos especiais e necessários: Larissa, Ana Luísa, Andréa (mesmo de longe), Jean (também longe).

À Helena Meneguetti Hizo, diretora da Steviafarma Industrial S.A., pela colaboração.

À Clarice do DEQ, pela ajuda nas análises Espectrofotometria de Absorção Atômica e de Área Superficial.

Ao Valmir, pela grande auxílio dado no Laboratório de Catálise.

À minha querida família, meus pais Eliza e Iliazar, meus irmãos Hélio e Eli, que sempre apoiaram e me ensinaram a nunca perder o humor nas etapas mais difíceis da vida.

Ao Fábio, que possui uma parte muito especial no meu coração; pela compreensão, carinho, paciência e principalmente pelo apoio.

À CAPES pela concessão da bolsa.

CLARIFICAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE *STEVIA REBAUDIANA* BERTONI ATRAVÉS DE ADSORÇÃO EM ZEÓLITAS MODIFICADAS

AUTORA: ÉLIDA DE PAULA MORAES

ORIENTADORA: Profª. D. Sc. NÁDIA REGINA CAMARGO FERNANDES MACHADO

Dissertação de Mestrado; Programa de Pós- Graduação em Engenharia Química; Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790, BL E46-09; CEP 87020-900 Maringá - Paraná, Brasil, defendida em 16 de março de 2000. 91 p.

RESUMO

Os glicosídeos, esteviosídeo, rebaudiosídeo A, B, C, D, E e dulcosídeos A e B, que são extraídos das folhas da planta nativa denominada *Stevia rebaudiana* Bertoni ou simplesmente Stévia, são usados como edulcorantes. Uma das etapas do processos de extração desses glicosídeos é a clarificação do extrato de Stévia. A clarificação é uma etapa muito importante pois traduz a qualidade visual do produto, por isso existem muitos trabalhos publicados e pesquisas em andamento nessa área. Os processos convencionais de clarificação apresentam algumas desvantagens: deixam resíduos nocivos à saúde, possuem um custo bastante alto de implantação e de uso, possuem tecnologia operacional que consome reagentes e mão-de-obra especializada, o que faz com que se tenha um custo elevado. Por isso uma tecnologia simples e que não deixa resíduos tóxicos no produto final é interessante, além de necessária. No presente trabalho, foram feitas trocas com íons de cálcio e bário nas zeólitas NaX e NaA. O extrato aquoso de Stévia foi então colocado em contato com as zeólitas modificadas obtidas na troca CaX, BaX, CaA e BaA; depois foi analisado o efeito desse contato. Os resultados mostraram que o extrato que ficou em contato com a zeólita CaX foi o que obteve maior descoloração e não teve as características iniciais alteradas, em termos de concentração de glicosídeos e sabor. Com testes feitos em batelada à temperatura ambiente, o contato extrato aquoso de

Stévia/Zeólita CaX, proporcionou uma descoloração entre 70-80%. Além disso houve uma queda aproximada de 10% em CHT, o que não é uma variação significativa e de 30% em Brix,. Foram feitos testes variando a massa de zeólita, para com isso obter a massa ideal para o processo. Com a temperatura também foi feito teste semelhante, onde foi fixada a massa de zeólita e a concentração do extrato, a fim de determinar qual a temperatura ideal de processo. Com os testes foi possível observar que a agitação é fundamental, pois diminui o tempo de processo. Os testes mostraram ser possível a regeneração da zeólita, sendo possível sua utilização por mais de uma vez no processo; e com essa zeólita foi possível alcançar uma descoloração entre 65-70%. A partir dos resultados obtidos em testes bateladas, foi montado um módulo, com leito fixo de zeólita CaX onde foi passado o extrato aquoso de Stévia em fluxo ascendente. A vazão controlada para que o tempo de contato fosse o suficiente. Na clarificação do extrato aquoso de Stévia, o processo com zeólitas se mostra vantajoso pois: tem baixo custo, não deixa resíduos nocivos à saúde, a tecnologia operacional é de fácil entendimento e aplicação e não representa nenhum risco ao meio ambiente.

**CLARIFICATION OF THE AQUEOUS EXTRACT OF *STEVIA REBAUDIANA*
BERTONI BY ADSORPTION IN MODIFIED ZEOLITES**

AUTHOR: ÉLIDA DE PAULA MORAES

**SUPERVISOR: Prof.^o. D. Sc. NÁDIA REGINA CAMARGO FERNANDES
MACHADO**

Master Thesis; Chemical Engineering Graduate Program; State University of Maringá;
Av. Colombo, 5790, BL E46-09; CEP 87020-900 – Maringá - Paraná, Brazil, presented on
16th March 2000. 91 p.

ABSTRACT

The glycosydes, stevioside, rebaudioside *A*, *B*, *C*, *D*, *E* and dulcosides *A* and *B*, wich are extracted of the dry leaves of the native plant denominated *Stevia rebaudiana* Bertoni or simply Stevia, are used as sweeteners. One of the process stages of extraction of those glycosides is the clarification of the aqueous extract of Stevia. The clarification is a very important stage because the visual quality of the product depends on it, for that reason there are many published works and research in progress in that area. The conventional processes of clarification has some disadvantages: it leaves toxic residues to the health, it has a high cost of implantation and maintenance, and the operational technology consumes reagentes and specialized labor which elevates cost. For this reason a simple technology that does not result in toxic residues in the final product is interesting and necessary. In the present work ionic exchanges were made with ions of calcium and barium in zeolites NaX and NaA. The effect of the contact of aqueous extract of dry leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves with the CaX BaX, CaA and BaA was evaluated. The extract of Stevia that was in contact with the zeolite CaX showed the largest clarification and did not present alterations of its initial of characteristics, in terms of concentration of glycosydes and flavour. In batch tests at ambient temperature, the contact of Stevia aqueous extract and CaX zeolite provided a clarification between 70-80%, resulting in a decrease of

approximately 10% CHT, the variation are not significant and of 30% Brix. Tests were made varying the zeolite mass, to obtain the ideal mass of zeolite for the process. Similar tests were performed to evaluated the temperature effect in which the zeolite mass and the concentration of the extract were maintained constant. It was also observed that agitation is fundamental, because it decreases the process time. It was verified that the zeolite can be regenerated, allowing its use for than once; and with the regenerated zeolite, it was possible to obtain a clarification between 65-70%. After the performance on these batch tests, an experimental module consisting of a fixed bed of zeolite CaX was built. The Stevia aqueous extract was passed upwards and flow rate was controled to promote adequate contact. In the clarification of the Stevia aqueous extract, the process with zeolites has proven to be advantageous because: it has low cost (zeolite), it doesn't leave residues that can be toxic, the operational technology is of easy understanding and application and in addition, is not associated to risks to the environment.

ÍNDICE DO TEXTO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
ÍNDICE DE TABELA.....	xiv
LISTA DE SÍMBOLOS.....	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Adoçantes.....	3
2.1.1. Adoçantes calóricos e não calóricos	3
2.1.1.1. Adoçantes naturais calóricos (nutritivos).....	3
A) Sacarose	4
B) Glicose	7
C) Frutose.....	8
D) Galactose.....	9
E) Xilose	9
F) Maltose	9
G) Lactose.....	9
H) Poliálcoois.....	10
2.1.1.2. Adoçantes naturais não calóricos.....	11
A) Glicirrizina.....	12
B) Osladina	13
C) Monelina	13
D) Miraculina.....	14
E) Taumatina (Talina ®).....	14
F) Filodulcina	15
G) Oximas.....	15
H) Mogrosídeo	15
I) Hernandulcina	16
J) Rubusosídeo	16
K) Mabinlina.....	16
L) Curculina	16
M) Pentadina.....	17
N) Esteviosídeo e Rebaudiosídeos	17
2.2. História da Stevia rebaudiana Bertoni.....	17
2.2.1. Aspectos botânicos da Stevia rebaudiana Bertoni	19
2.2.2. Aspectos químicos dos glicosídeos da Stevia rebaudiana Bertoni.	20
2.2.3. O poder edulcorante da Stévia e do esteviosídeo.....	21
2.2.4. Características toxicológicas da Stevia rebaudiana Bertoni	22

2.3. Glicosídeos da Stevia rebaudiana Bertoni	23
2.3.1. Aplicações e uso dos princípios ativos da Stevia rebaudiana Bertoni.....	25
2.3.2. Processos de extração dos glicosídeos da Stevia rebaudiana Bertoni.....	27
2.3.3. Clarificação do extrato aquoso de Stevia rebaudiana Bertoni	28
2.3.4. Vantagens e desvantagens dos diferentes processos convencionais de clarificação do extrato de Stevia rebaudiana Bertoni.....	31
2.4. As zeólitas.....	32
2.4.1. Histórico das zeólitas	32
2.4.2. A estrutura das zeólitas	32
2.4.3. Cátions de compensação das zeólitas	35
2.4.4. Relação sílica/alumina (SAR) na zeólita	36
2.4.5. Troca iônica.....	37
2.4.6. Aplicação das zeólitas.....	38
2.5. Zeólita como adsorvente	38
2.5.2. Adsorção em zeólita.....	39
2.5.3. Utilização de zeólita no tratamento do extrato aquoso de Stevia.	40
3. MATERIAIS E MÉTODOS	42
3.1. Zeólitas de partida.....	42
3.1.1. Espectrofotometria de absorção atômica	42
3.1.2. Medida de área superficial específica total.....	42
3.1.3. Troca iônica do sódio pelo cálcio e pelo bário.	43
3.2. Stevia Rebaudiana Bertoni.....	44
3.2.1. Preparo do extrato aquoso de folhas secas de Stevia rebaudiana Bertoni	44
3.2.2. Método Fenol- Sulfúrico para carboidratos totais	45
3.2.3. Método dos sólidos solúveis totais	46
3.2.4. Método de cálculo da clarificação do extrato de Stevia rebaudiana Bertoni....	46
3.2.5. Identificação de açúcares por cromatografia em papel.....	49
3.2.6. Análise sensorial.....	50
3.2.6.1. Seleção dos provadores pelo Método de Ordenação	50
3.2.6.2. Análise sensorial pelo Método de Comparação Pareada.	53
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.1 Caracterização das zeólitas	54
4.1.1. Determinação da razão silício/alumínio.....	54
4.1.2. Área superficial específica das zeólitas	54
4.2. Teste de afinidade com os glicosídeos da Stevia rebaudiana Bertoni.	55
4.3. Teste com zeólitas modificadas em contato com extrato aquoso de Stevia rebaudiana Bertoni.....	56
4.4. Análise da eficiência da troca iônica.....	57
4.5. Efeito da variação da massa de zeólita.....	59
4.6. Efeito do tamanho das partículas de zeólita na porcentagem de clarificação.....	60

4.7. Teste com zeólita CaX granulada com variação de temperatura.....	61
4.8. Efeito do tempo de contato	62
4.9. Regeneração das zeólitas	62
4.10. Processo contínuo de clarificação.....	63
4.11. Resultado da análise sensorial.....	67
4.11.1. Seleção dos provadores.....	67
4.11.2. Análise sensorial do extrato de Stévia tratado com zeólita.....	70
CONCLUSÕES	72
AGRADECIMENTOS	74
REFERÊNCIAS.....	75
ANEXOS	88
Anexo 1.....	88
Anexo 2.....	89
Apêndice 1	90
Equação CHT.....	90

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Sacarose (baseado em CÂNDIDO e CAMPOS, 1996). 5
- Figura 2. Estruturas atribuídas à molécula de glicose em solução aquosa (adaptada de FERRIER e COLLINS, 1972). 7
- Figura 3. Estruturas atribuídas à molécula de frutose em solução aquosa (baseada em FERRIER e COLLINS, 1972). 8
- Figura 4. Sorbitol (baseado em CÂNDIDO e CAMPOS, 1996). 10
- Figura 5. Xilitol (baseado em CÂNDIDO e CAMPOS, 1996). 11
- Figura 6. Filodulcina (baseado em CÂNDIDO e CAMPOS, 1996). 15
- Figura 7. Estrutura dos glicosídeos da *Stevia rebaudiana* Bertoni (adaptada de CÂNDIDO e CAMPOS, 1996) 24
- Figura 8. Unidades de construção secundária das zeólitas, SBU (BRECK, 1974). 33
- Figura 9. Estrutura da zeólita X (CIOLA, 1981). 34
- Figura 10. Estrutura da zeólita A (CIOLA, 1981). 35
- Figura 11. Representação gráfica da lei de Beer (baseada em WILLARD et al., 1974). 46
- Figura 12. Absorbância *versus* concentração do extrato de Stévia, em 420nm e 670 nm. 47
- Figura 13. Absorbância *versus* concentração em 420 nm. 47
- Figura 14. Absorbância *versus* concentração em 670 nm. 48
- Figura 15. Ficha utilizada na seleção dos provadores (Teste de ordenação). 51
- Figura 16. Ficha utilizada na análise sensorial do extrato de Stévia (Teste de Comparação Pareada). 53
- Figura 17. Clarificação variando a massa de zeólita (teste batelada), com agitação a 303 K por 1 hora. 59
- Figura 18 Tempo de clarificação (teste batelada), teste em banho termostático com agitação. 62
- Figura 19. Módulo experimental utilizado no processo contínuo. 64
- Figura 20. Processo contínuo de clarificação, à pressão e temperatura ambiente, vazão = 1,0 mL/min, t = 2 h 30 min. 64
- Figura 21. Processo contínuo de clarificação, a pressão e temperatura ambiente vazão = 1,25 mL/min, t = 11 h. 65
- Figura 22. Processo contínuo de clarificação, a pressão e temperatura ambiente vazão = 1,0 mL/min, t = 20 h. 66

ÍNDICE DE TABELA

Tabela 1. Dulçor relativo dos açúcares (baseado em DOSSIÊ TÉCNICO, 1984).	4
Tabela 2. Edulcorantes naturais não calóricos (baseado em CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).	11
Tabela 3. Aplicações industriais das zeólitas como adsorvente (baseado em RIBEIRO et al., 1984).	40
Tabela 4. Composição das zeólitas NaX e NaA.	54
Tabela 5. Área superficial específica da zeólita NaX e BaX.	55
Tabela 6. Área superficial específica das zeólitas NaX e CaX.	55
Tabela 7. Resultado do contato zeólita/extrato aquoso de Stévia, testes em batelada, a temperatura ambiente com tempo de contato de 24 horas.	57
Tabela 8. Percentagem de Troca Iônica, zeólita BaX em pó.	58
Tabela 9. Percentagem de troca iônica, zeólita CaX granulada e em pó.	58
Tabela 10. Percentagem de troca iônica nas etapas da troca consecutiva, zeólita CaX grãos.	58
Tabela 11. Influência da agitação, no processo de clarificação .	60
Tabela 12. Teste com zeólita CaX granulada e em pó, tempo de contato de 24 horas, à temperatura e pressão ambiente.	61
Tabela 13. Variação da temperatura de operação, à pressão ambiente, com agitação em banho termostático.	61
Tabela 14. Resultado do teste de reutilização da zeólita CaX, único ciclo.	63
Tabela 15. Tabela de resultados da seleção de provedores.	68
Tabela 16. Tabela de resultado da análise sensorial do extrato de Stévia.	71

LISTA DE SÍMBOLOS

A_x	Absorbância no comprimento de onda “x”
AS	Soma das Amplitudes
Brix	Percentual de sólidos solúveis, em solução
CHT	Teor de Carboidratos Totais
ED	Equivalente em dextrose (glicose livre)
IDA	Ingestão Diária Aceitável
PST	Percentagem de Sódio trocado
R	Razão silício/ alumínio da zeólita
Rf	Relação entre a distância percorrida pelo composto e a distância percorrida pelo solvente.
SD	Soma dos Desvios

1. INTRODUÇÃO

No mercado atual o elevado padrão da sociedade tecnológica tem mudado o conceito de saúde e a introdução de novos produtos químicos tem modificado os hábitos alimentares do homem, que cada vez mais está interessado em um modo de vida saudável (KINGHORN et al., 1995). Por simples problemas estéticos ou de saúde, o homem está substituindo o conhecido e consagrado açúcar (sacarose) por produtos conhecidos como edulcorantes, compostos com sabor semelhante ao da sacarose, porém de baixo ou nenhum valor calórico (ANGELUCCI, 1989).

Dentre os edulcorantes, temos os glicosídeos adoçantes que são extraídos das folhas da planta nativa denominada *Stevia rebaudiana* Bertoni ou simplesmente Stévia. Esses glicosídeos são: esteviosídeo, rebaudiosídeo A, B, C, D, E e dulcosídeos A e B. A vantagem desses glicosídeos é que são: edulcorantes naturais; não calóricos; não-metabolizáveis; não-fermentáveis; anti-cariogênicos e anti-placas. Além disso são estáveis a uma ampla faixa de pH e ao calor, o que os torna industrialmente interessantes (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

No processos de extração dos glicosídeos da Stévia, a clarificação é uma etapa muito importante pois traduz a qualidade visual do produto a ser utilizado em indústria alimentícia.

Existem muitos trabalhos publicados, desde revisões até patentes, que incluem: métodos analíticos, métodos de purificação, avaliação sensorial e principalmente sobre os aspectos toxicológicos, onde todos atestam a segurança do extrato de Stévia e seus glicosídeos adoçantes para o consumo humano. No entanto, existem poucos artigos onde zeólitas foram usadas no processo com Stévia.

A idéia da utilização de zeólitas no processo com Stévia surgiu do conhecimento da utilização de zeólita na separação de outros glicosídeos com sucesso. Acreditava-se que a zeólita teria afinidade com os glicosídeos da Stévia, ou com pelo menos um deles especificamente. Poderia também ocorrer que os compostos responsáveis pela coloração tivessem preferência na adsorção e assim separar os glicosídeos da cor indesejada.

No presente trabalho, foram feitas trocas iônicas com íons de cálcio e bário nas zeólitas NaX e NaA. O extrato aquoso de Stévia foi então colocado em contato com as zeólitas modificadas obtidas na troca CaX, BaX, CaA e BaA; e avaliou-se a influência desse contato na clarificação do extrato aquoso de Stévia, por adsorção dos compostos coloridos.

Através de experimentos foi possível observar que o extrato de Stévia que ficou em contato com a zeólita CaX foi o que obteve maior descoloração e não teve as características iniciais alteradas.

Foram feitos testes variando a massa de zeólita, a temperatura e a concentração do extrato. Foi ainda analisada a influência da agitação, bem como da reutilização da zeólita no processo.

Na clarificação do extrato aquoso de Stévia, o processo com zeólitas se mostra vantajoso pois: a zeólita pode ser reutilizada, tem baixo custo, não deixa resíduos nocivos à saúde, possui tecnologia operacional de fácil entendimento e aplicação e não representa nenhum risco ao meio ambiente.

O elevado potencial econômico dos glicosídeos extraídos da Stévia, torna importante procurar soluções para o problema de extração. Com o interesse cada vez maior por produtos naturais os dos glicosídeos da Stévia têm sua importância cada vez mais acentuada.

Associar a um produto natural uma técnica de clarificação não agressiva, torna o processo zeolítico especialmente atraente.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Adoçantes

A raça humana estabelece uma íntima relação do dulçor com o prazer e a segurança. Como resultado, o alto consumo têm sido atribuídos para substâncias que exibem o sabor doce. O mel e as frutas têm sido apreciados através da história por suas propriedades adocicadas; o açúcar tem sido refinado desde quatro séculos antes de Cristo e era considerado como uma fina e rara iguaria. Hoje em dia, o açúcar é aceito como uma substância comum.

O desejo do homem por coisas doces é geralmente satisfeito pelas bebidas, confeitaria e outros alimentos, de um modo geral, adoçados com adoçantes calóricos ou não calóricos.

2.1.1. Adoçantes calóricos e não calóricos

2.1.1.1. Adoçantes naturais calóricos (nutritivos)

Os adoçantes considerados calóricos são aqueles mais comumente utilizados pelo homem que, além de serem bastante doces, são ainda nutritivos. Na sua maioria, administram, quando ingeridos, em torno de 4,0 kcal/g. São denominados genericamente de "açúcares", sendo a sacarose o parâmetro básico de comparação. A Tabela 1 relaciona os principais adoçantes calóricos e os seus poderes edulcorantes.

A galactose, xilose, glicose e frutose são monossacarídeos, enquanto a lactose, maltose e sacarose, são dissacarídeos, já o sorbitol, xilitol, manitol são poliálcoois derivados dos respectivos açúcares.

Tabela 1. Dulçor relativo dos açúcares (baseado em DOSSIÊ TÉCNICO, 1984).

Substância	Ocorrência natural	Dulçor
Lactose	Leite	0,16
Galactose	Não é encontrada livre na natureza. A partir de resíduos de vários polissacarídeos.	0,32
Maltose	Sintetizado a partir do amido.	0,32
Xilose	Não é encontrada livre na natureza. Existente na madeira, palha, casca de cereais, sabugo de milho.	0,40
Sorbitol	Frutas, algas vermelhas.	0,54
Manitol	Frutas, vegetais.	0,57
Açúcar de milho	A partir do amido milho.	0,73
Glicose (dextrose)	Frutas, mel.	0,74
Sacarose	Cana-de-açúcar, beterraba.	1,00
Xilitol	Madeiras, frutas, cogumelos, fermentação.	1,00
Açúcar invertido (glicose + frutose)	Sintetizado a partir da sacarose.	1,30
Xarope de milho rico em frutose	Obtido a partir do xarope de milho (ED= 70).	1,40
Frutose (levulose)	Frutas, mel.	1,70

Foi atribuído um valor de 1,0 gust (1,0 gust = sabor doce de uma solução de sacarose a 1,0 %) ao dulçor da sacarose. A avaliação foi feita estatisticamente através de painéis de degustação com degustadores treinados.

A) Sacarose

A sacarose (Figura 1) é o adoçante mais consumido pelo ser humano. A palavra "açúcar" é derivada do sânscrito *Karkara*, que significa areia ou cascalho, e mais diretamente do árabe *sukkar*. A sacarose é encontrada em plantas verdes, onde é um dos principais produtos da fotossíntese e é o agente principal na translocação dos carbonos fixados no processo fotossintético para o resto da planta. O bôrd (Acer Saccharinum - árvore canadense - Maple tree - que produz uma seiva açucarada), algumas palmeiras e o

sôrgo sacarínico contêm quantidades apreciáveis de sacarose, não esquecendo do mel de abelhas que contém boa quantidade de sacarose, mas não são importantes comercialmente. A cana da açúcar (60 %) e a beterraba (40 %) são as maiores fontes industriais do açúcar em nível mundial.

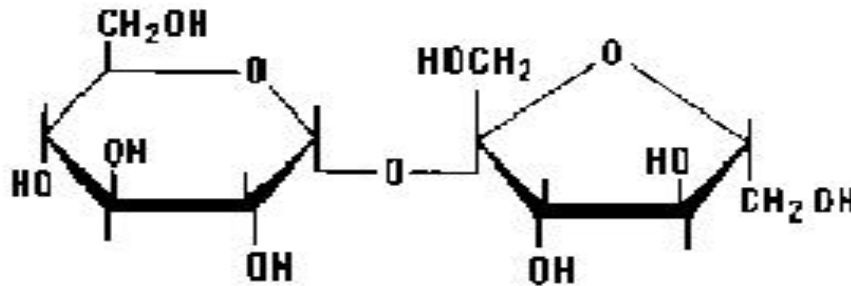


Figura 1. Sacarose (baseado em CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

A sacarose é um dissacarídeo não redutor (β -D-frutofuranosil- α -D-glucopiranosídeo). Possui uma rotação óptica positiva $[\alpha]_D = + 66,5^\circ$ e pode ser prontamente hidrolisada. A mistura resultante de glicose e frutose tem uma rotação óptica negativa e é conhecida como "açúcar invertido", que é ligeiramente mais doce do que a sacarose. A sacarose é fermentável, mas é resistente à decomposição microbiana quando em concentrações elevadas (65 % ou mais) (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

Breve histórico do açúcar de cana

A cana de açúcar (*Saccharum officinarum*) é uma gramínea gigante semelhante ao bambu crescendo a uma altura de 4 a 5 metros, necessita de um solo úmido e clima tropical ensolarado. Contém em torno de 13 % de sacarose. A planta é originária do Pacífico Sul, provavelmente da Nova Guiné, e foi transportada do norte para o Sudoeste da África e Índia. O açúcar foi claramente mencionado pela primeira vez no Oeste da Índia em 325 a.C. por Nearchus, um oficial do exército invasor de Alexandre. O cultivo da cana-de-açúcar e o seu refinamento difundiu-se pela China em torno dos anos 100 a.C., de forma que já era uma indústria próspera na época de Marco Polo (1254-1324). Não atingiu o Mediterrâneo senão relativamente tarde, provavelmente em consequência da conquista árabe em 635 d.C.

O açúcar foi introduzido na Europa no século XIII pelos mercadores venezianos. Os portugueses iniciaram o cultivo da cana-de-açúcar na Ilha da Madeira e em seguida, na costa oeste da África e no Brasil no século XVI. Os espanhóis introduziram a cana-de-açúcar nas Ilhas Canárias de onde Colombo trouxe a mesma para o Caribe. As plantações de cana no Novo Mundo eram muito dependentes do comércio de escravos, em razão da necessidade de trabalho pesado no cultivo e colheita da cana-de-açúcar (AYKROYD, 1967 e PANGBORN, 1974). Hoje o Brasil é um dos maiores produtores mundiais de açúcar-de-cana.

A beterraba, *Beta vulgaris*, que contém aproximadamente 16% de sacarose é a segunda fonte principal deste açúcar. Foi reconhecida como um vegetal adocicado durante a idade média. Em 1744, Andreas Marggraf, um químico Alemão, demonstrou a identidade entre o açúcar-de-beterraba e o açúcar-de-cana. Métodos práticos para a extração do açúcar-de-beterraba foram desenvolvidos. O cultivo e processamento do açúcar-de-beterraba têm se tornado uma atividade agrícola importante na maioria dos países europeus, particularmente na Rússia, Alemanha, Reino Unido e Itália (NEWBRAN, 1985).

A sacarose, como edulcorante e como fonte de energia, pode ser ingerida sem restrições, tendo uma Ingestão Diária Aceitável acima de 25 g/kg/dia. O consumo médio populacional é de 73 g/dia, correspondendo em torno de 14 % da ingestão calórica (GLINSMANN et al., 1986). No entanto, a sacarose metabolicamente se converte em glicose e frutose, existindo restrições de uso especialmente para os diabéticos.

Açúcar de milho, açúcar invertido, xarope de milho rico em frutose.

O açúcar de milho é produzido por um processo de conversão química, ou enzimática, do amido de milho em dextrose (glicose) e é classificado de acordo com a sua equivalência (teor) em dextrose (ED). Este processo é altamente desenvolvido nos Estados Unidos e Canadá, substituindo boa parte do açúcar-de-cana ou beterraba.

O xarope de milho rico em frutose é preparado pela conversão enzimática do açúcar de milho (ED = 70) transformando a glicose (dextrose) em frutose (levulose) com uma glicose isomerase.

O açúcar invertido é preparado a partir da sacarose por hidrólise ácida ou enzimática produzindo um xarope contendo 50% de glicose e 50% de frutose, embora mais doce do que a sacarose, torna-se mais caro e portanto é utilizado somente em casos econômica e tecnologicamente viáveis (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

B) Glicose

A glicose (Figura 2) é a principal fonte energética do metabolismo celular e compõe elementos estruturais e reserva energética das células de todos os organismos vivos especialmente dos vegetais em cuja fotossíntese a glicose é o grande repositório da energia e átomos de carbono capturados.

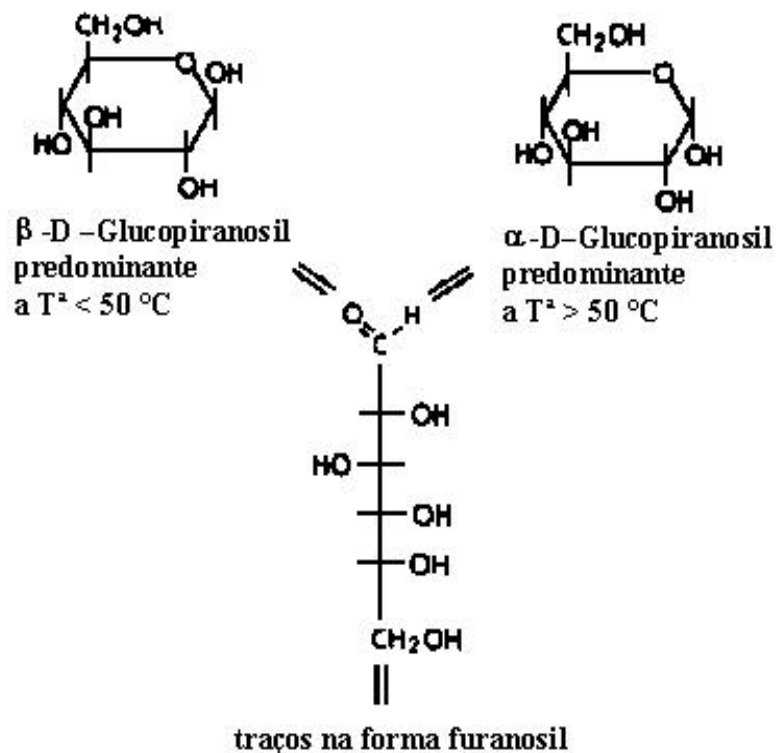


Figura 2. Estruturas atribuídas à molécula de glicose em solução aquosa (adaptada de FERRIER e COLLINS, 1972).

Quimicamente, a glicose é um monossacarídeo do tipo aldose (FERRIER e COLLINS, 1972), e é encontrada em seu estado livre principalmente nas frutas e no mel. As grandes fontes industriais de glicose são o açúcar (sacarose) que por hidrólise fornece glicose e frutose livres, e o amido (de milho, batata, mandioca, etc.), polímero de glicose do tipo α (apresentam ligações do tipo α -glicosídica) que por hidrólise ácida ou enzimática produz somente glicose livre (dextrose). Outra grande fonte de glicose é a celulose, encontrada em maior quantidade na madeira, algodão e de fonte microbiana. É um polímero do tipo β (apresentam ligações β -glicosídicas) de difícil hidrólise mas que também pode ser usado industrialmente como fonte de glicose.

A glicose pode ser ingerida sem qualquer restrição por pessoas normais, apresentando uma Ingestão Diária Aceitável (IDA) acima de 25 g/kg/dia (BOYD, 1977a), especialmente quando ingerida com outro tipo de alimento. Entretanto, a glicose é metabolicamente insulino dependente, isto é, pessoas que têm deficiência insulínica (diabéticos) têm a IDA para a glicose bastante reduzida. O consumo médio populacional da glicose, nos Estados Unidos, principalmente na forma de xarope de milho é de 12 g/dia.

C) Frutose

A frutose (Figura 3), também conhecida como levulose, é um monossacarídeo do tipo cetose (FERRIER E COLLINS, 1972), encontrado em seu estado livre, nas frutas e no mel. Na forma oligomérica, a frutose é encontrada no açúcar de cana que, ligada por ligação glicosídica α -1-2 com a glicose forma a sacarose (fonte mais importante). Na forma polimérica, encontra-se em frutanas do tipo inulina, onde as moléculas de frutose estão ligadas por ligações glicosídicas β -1-2. A inulina é abundante nas raízes de dália (*Dahlia bipinnata*), ou de chicória (*Cichorium itybus*).

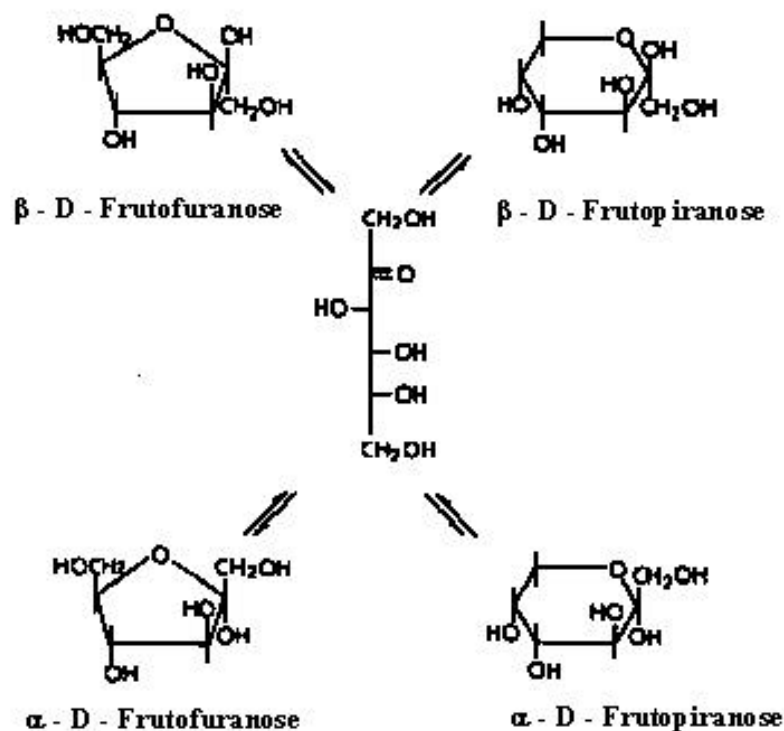


Figura 3. Estruturas atribuídas à molécula de frutose em solução aquosa (baseada em FERRIER e COLLINS, 1972).

A frutose pode também ser ingerida sem restrições. Apresenta uma Ingestão Diária Aceitável semelhante à glicose (25,0 g/kg/dia - BOYD, 1977 b), inclusive por diabéticos, pois a frutose tem um metabolismo insulino independente. Algumas pessoas tem também restrições quanto ao uso de frutose como as que tem deficiência metabólica ao nível da frutoquinase. Estas pessoas apresentam frutosemia e portanto devem ter a ingestão de frutose restringida. O Consumo médio populacional de frutose total, principalmente proveniente do açúcar-de-cana é de 31 g/dia.

D) Galactose

A D-Galactose é também conhecida como cerebrose ou açúcar do cérebro. Não é encontrada na forma livre, mas como resíduos de vários polissacarídeos. É encontrada junto com a glicose em cerebrosídeos, um lipídio composto. Em pectinas é encontrada oxidada, na forma de ácido galacturônico. Faz parte também da lactose, um dissacarídeo (BOBBIO e BOBBIO,1995 a).

E) Xilose

A D-Xilose é uma pentose, não é encontrada livre na natureza, mas largamente distribuída em polissacarídeos (as xilanas) existentes na madeira, palha, casca de cereais, sabugo de milho, de onde é obtida facilmente por hidrólise ácida (BOBBIO e BOBBIO,1995 a).

F) Maltose

A D- Maltose, também conhecida como açúcar do malte ou maltobiose, é o elemento básico da estrutura do amido, de onde pode ser facilmente obtida por hidrólise ácida ou enzimática. É também produzida por fermentação na fabricação de cervejas (BOBBIO e BOBBIO,1995 a).

G) Lactose

A lactose ou lactobiose é o açúcar predominante no leite. É bastante usada industrialmente como um excelente suporte e estabilizante de vários aromas e produtos farmacêuticos. Devido à sua baixa higroscopicidade, a lactose confere estabilidade à

coberturas açucaradas A lactose é empregada na indústria de panificação (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

H) Poliálcoois

Os principais poliálcoois utilizados como adoçantes, substitutos do açúcar são o sorbitol e o xilitol.

H.1) Sorbitol (D-Glucitol)

O sorbitol (Figura 4) existe no estado livre em cerejas, ameixas, pêras, maçãs, em diversas sementes e em algas marinhas. Não existem polímeros biológicos de sorbitol. É preparado industrialmente a partir da glicose por hidrogenação sob alta pressão ou por redução eletrolítica (FERRIER e COLLINS, 1972). É moderadamente doce e relativamente barato. Comercialmente é vendido como adoçante em solução aquosa, em razão das suas propriedades higroscópicas.

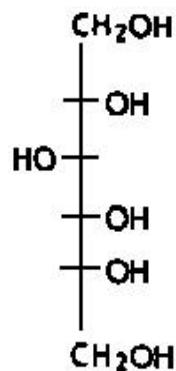


Figura 4. Sorbitol (baseado em CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

O sorbitol é lentamente absorvido pelo intestino delgado, por mecanismo de transporte passivo e é convertido em glicogênio no fígado através da formação intermediária de frutose. É, pois, insulino independente (LAUWERS et al., 1985; NEWBRAN, 1985).

Da mesma forma que os carboidratos, 1 g de sorbitol fornece 4 calorias, no entanto apenas cerca de 70 % do sorbitol ingerido oralmente é absorvido (LAUWERS et al., 1985). O sorbitol causa distúrbios gástricos em doses elevadas (50-55 g ingeridos de uma só vez provocam diarreia) conforme EEC REPORT FOR FOOD ON SWEETNERS, (1984).

H.2) Xilitol

O xilitol (Figura 5) é um álcool pentose encontrado naturalmente em uma grande variedade de frutas e vegetais (framboesa, morangos, ameixas, alface, couve-flor, cogumelos, castanhas, madeira - WASHÜTTL et al., 1973), sendo obtido industrialmente a partir da redução da xilose por hidrogenação catalítica ou eletrolítica.

Atualmente há trabalho de obtenção de xilitol por fermentação de hidrolisados de biomassa (SILVÉRIO, 1999).

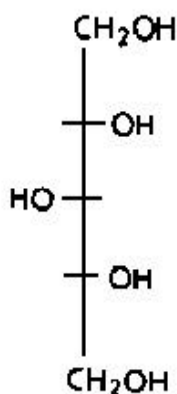


Figura 5. Xilitol (baseado em CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

Tem um dulçor semelhante ao da sacarose e deixa um efeito refrescante na boca. A ingestão de 1 g de xilitol administra 4 kcal da mesma maneira que outros carboidratos. Por ter um metabolismo insulino independente, tem sido proposto como um possível substituto do açúcar para os diabéticos, apesar de que, em dosagens elevadas pode causar diarreia no homem (50 g/dia - conforme EEC REPORT FOR FOOD AND SWEETNERS, 1984).

2.1.1.2. Adoçantes naturais não calóricos

Entende-se por adoçante não calórico aquela substância que quando é ingerida, não é metabolizada portanto não administra calorias, ou tem ingestão tão pequena que o teor calórico adquirido pelo seu metabolismo pode ser negligenciado. Diversas são as substâncias deste tipo. A Tabela 2 mostra uma relação destes edulcorantes e os seus índices de dulçor relativos à sacarose (Sacarose = 1,0 gust).

Tabela 2. Edulcorantes naturais não calóricos (baseado em CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

Substâncias	Planta	Dulçor (Sacarose = 1)
Glicirrizina	raízes da <i>Glicirriza glabra</i>	100
Esteviosídeo	folhas secas da <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	300
Rebaudiosideo-A	folhas secas da <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	450
Rebaudiosideo-C	folhas secas da <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	120
Filodulcina (Hernandulcina)	folhas secas da <i>Hydrangea macrophylla</i> Seringe	800
Taumatina (Talina ®)	fruta do Sudão, a <i>Taumatococcus danielli</i> , também conhecida como Katenfe.	3.500
Monelina	fruta semelhante a um cacho de uva da planta <i>Dioscoreofilum cumminsii</i> Diels	2.000
Miraculina	fruta denominada <i>Richardela dulcifea</i>	400.000
Osladina	rizomas de um tipo de samambaia denominada <i>Polipodium vulgare</i> L.	3.000
Oximas	óleo essencial de <i>Perilla namkemensis</i> Deone	2.000
Mogrosídeo	polpas fibrosas e na casca da fruta seca Lo Han (<i>Momordica grosvenorii</i> Swingle ou <i>Thladiantha grosvenori</i> ou <i>siraitia grosvenorii</i>)	400
Hernandulcina	erva <i>Lippia dulcis</i> Trev	1.000
Rubusosídeo	folhas da planta <i>Rubus suavissimus</i> S. Lee	114
Mabilina	frutos da planta <i>Capparis masaikai</i>	375
Curculina	frutos da planta <i>Curculigo latefolia</i>	20.000
Pentadina	proteína extraída do vegetal <i>Pentadiplandra brazzeana</i> Baillon	500

A) Glicirrizina

O Alcaçuz, muito conhecido e largamente utilizado, é obtido das raízes da *Glicirriza glabra* (alcaçuz), um pequeno arbusto que cresce na Europa, na Ásia Central e no Sul da América do Sul. No Brasil, o alcaçuz é planta comum no Estado de Minas Gerais e Norte de São Paulo. As raízes contêm de 6 a 15 % de glicirrizina.

O ácido glicirrizínico existe nas raízes do alcaçuz na forma de sais de cálcio e potássio e em associação com outros componentes.

Extratos contendo glicirrizina são utilizados para flavorizar e adoçar fumo para cachimbo, gomas de mascar, pílulas refrescantes bucais e na confecção de confeitos. O glicirrizinato de amônia é a forma utilizada comercialmente. A glicirrizina amoniacal foi reconhecida pelo FDA como sendo segura para utilização como flavorizante e adoçante, com doçura 50-100 vezes maior do que a sacarose (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

B) Osladina

O intenso gosto doce dos rizomas de um tipo de samambaia denominada *Polipodium vulgare* L. tem atraído a atenção de muitos químicos e farmacologistas. A osladina compreende apenas 0,03 % do peso seco dos rizomas dessa planta, sua estrutura química tem sido revelada como um diglicosídeo de um novo tipo de saponina esteroidal. Sua configuração química foi determinada por JIZBA et al. (1971 a,b) como sendo a neo-hesperidose, 2-O-L-rhamnopiranosil- β -D-gluco-piranoose.

C) Monelina

INGLETT (1974) relata suas descobertas sobre uma planta tropical, originária da África, que apresentava um intenso dulçor. A fruta dessa árvore era chamada pelos nativos de morango da serenidade, a fruta era semelhante a um cacho de uva. A planta foi identificada como sendo a *Dioscoreofilum cumminsii* Diels (INGLETT e MAY, 1969).

Pesquisas realizadas no Centro Monell de Química Sensorial na Filadélfia -USA e nos Laboratórios de Pesquisa da Unilever nos Países Baixos (Holanda), trabalhando independentemente, confirmaram a natureza protéica do edulcorante isolado dos morangos da serenidade (MORRIS e CAGAN, 1972; VAN DER WEL et al., 1975). A mais relevante observação a respeito da composição dos aminoácidos dessa proteína foi a completa ausência de histidina. A monelina é composta por duas cadeias polipeptídicas diferentes, tendo um peso molecular de 11.000 e um poder edulcorante de 1500 a 2000 vezes maior do que a sacarose.

D) Miraculina

Estudos de uma estranha propriedade da fruta milagrosa, *Richardela dulcifea*, denominada antigamente como *Sinsepalum dulcificum* têm agregado importantes informações novas à percepção humana do paladar doce. Estas frutas possuem a capacidade de modificar o gosto de substâncias azedas, como o ácido cítrico do limão, morango, etc. em substâncias com gosto intensamente doce. As frutas eram mascaradas pelos Africanos do Oeste para modificar o gosto azedo de alguns alimentos.

O princípio modificador do gosto doce da fruta milagrosa foi independentemente isolada por dois grupos de pesquisadores: KURIHARA e BLEIDER (1968) e MAZUR (1974). Os primeiros separaram o princípio doce da polpa da fruta com tampão carbonato com pH 10,5. A destruição do princípio ativo pela tripsina e digestão com pronase, sugeriu uma característica protéica. A proteína modificadora do paladar foi também isolada da polpa da fruta com compostos altamente básicos como a salmina e espermina por BROUWER et al. (1968) que também a identificaram como sendo uma glicoproteína que denominaram de Miraculina. Tem um peso molecular entre 42.000 e 44.000, sendo que apresenta um gosto próprio, não doce, na ausência de substâncias azedas.

E) Taumatina (Talina ®)

INGLETT e MAY (1968) em estudos sistemáticos de substâncias naturais modificadoras do gosto doce descreveram outra planta africana contendo um intenso dulçor, a milagrosa fruta do Sudão, a *Taumatococcus danielli*, também conhecida como Katenfe.

O material mucilaginoso em torno da arila e da base das sementes é intensamente doce e produz dulçor em outros tipos de alimentos. Essa mucilagem rende duas proteínas doces: as Taumatina I e II (VAN DER WEL et al., 1975).

Os adoçantes purificados do Katenfe (Taumatina) são de 1300 a 3500 vezes mais doces do que a sacarose. Em 1993, a empresa International Additives fechou negócio com a subsidiária Tate & Lyle, United Molasses, adquirindo os direitos sobre a Talina ®. Em adição ao poder edulcorante da Talina ®, ela também tem utilidade como potencializador de paladar. Desta forma grandes encomendas de Talina ® têm sido feita por companhias japonesas, que a estão usando na manufatura de produtos alimentícios (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

F) Filodulcina

Um chá muito doce denominado amacha, é servido no Hanamatsuri, festival das flores em comemoração ao nascimento de Buda na Índia. O amacha é preparado das folhas secas da *Hydrangea macrophylla* Seringe variedade *Thunbergii* Makino. O princípio edulcorante, a filodulcina foi isolada e sua configuração absoluta sobre o centro assimétrico C3 (vide Figura 6) foi determinada pela identificação do ácido D-málico proveniente da filodulcina ozonizada.

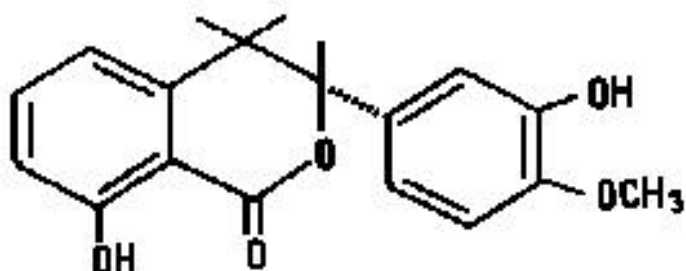


Figura 6. Filodulcina (baseado em CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

G) Oximas

O perilartine (ou antioxima do perilaldeído) é uma aldoxima (oxima de aldeído monoterpênico) natural encontrada no óleo essencial de *Perilla namkemensis* Deone. Foi isolada e identificada pela primeira vez em 1920 sendo atualmente obtida eficientemente a partir do limoneno. Tem aplicação limitada devido ao aroma, gosto amargo, sabor estranho e baixa solubilidade. No Japão é utilizado como substituto de xarope de bordo ou alçacuz como adoçante de tabaco (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

H) Mogrosídeo

Os edulcorantes naturais mogrosídeos IV e V são encontrados nas polpas fibrosas e na casca da fruta seca Lo Han (*Momordica grosvenorii* Swingle ou *Thladiantha grosvenorii* ou *siraitia grosvenorii*), produzidos na China. Na medicina popular chinesa, tanto a fruta como seu extrato são utilizados como remédio para gripes, garganta inflamada e indisposição gastrointestinal. Preparações medicinais chinesas com Lo Han são

comercializadas na China e outros países, incluindo os Estados Unidos (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

I) Hernandulcina

A hernandulcina foi isolada em pequena proporção da erva *Lippia dulcis* Trev., coletada no México. O nome foi dado em homenagem a Francisco Hernández, autor da monografia intitulada “História Natural da Nova Espanha”, escrita em 1570 e 1576, que relatou que a hernandulcina era conhecida e utilizada pelos astecas devido à sua doçura (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

J) Rubusosídeo

É responsável pela doçura das folhas da planta *Rubus suavissimus* S. Lee (Rosaceae), natural das regiões sul da República da China, onde é consumido como um chá chamado “Tiancha” (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

K) Mabinlina

Capparis masaikai é uma planta que cresce em Yunnan, na China, que apresenta frutos do tamanho de uma bola de tênis. As sementes dos frutos maduros são utilizados com finalidades terapêuticas e têm um princípio ativo de gosto doce conhecido como Mabinlina (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

L) Curculina

Curculigo latefolia é uma planta originária da Malásia que apresenta frutos de cerca de 1g junto à raiz. A polpa da fruta é doce. A ingestão de água ou chá após mascar a polpa origina gosto doce. Substâncias ácidas como ácido cítrico ou ascórbico induzem doçura ainda intensa, à semelhança da miraculina. Os nativos ingerem o fruto para conferir gosto doce a alimentos ácidos. O princípio ativo denomina-se curculina (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

M) Pentadina

É uma proteína extraída do vegetal *Pentadiplandra brazzeana* Baillon, encontrado na África (Gabão). O fruto é vermelho e tem cerca de 5 cm de diâmetro. Sob um fino epicarpo encontra-se a polpa vermelha doce e de uma a cinco sementes riniformes (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

N) Esteviosídeo e Rebaudiosídeos

O esteviosídeo e os rebaudiosídeos são glicosídeos diterpênicos encontrados nas folhas da *Stevia rebaudiana* Bertoni. Uma descrição detalhada da planta e dos seus glicosídeos é feita a seguir.

2.2. História da *Stevia rebaudiana* Bertoni

Na época da colonização da América do Sul pelos espanhóis e portugueses, nas imediações do Trópico de Capricórnio, compreendendo todo o território Paraguai e regiões limítrofes do Brasil, Argentina e Bolívia, habitavam com predominância, os índios nativos Tupi-guaranis.

Os Tupi-guaranis utilizavam e utilizam as folhas de uma pequena planta que denominaram Kaá-Hê-ê, que em guarani, significa erva doce. Eles a conheciam também, pelos diversos nomes de Caá-jhe-hê, Ca-á-yupê (doce), Azucá-caá (erva de açúcar) e Eira-Caá (erva de mel). Esta planta, pelas propriedades extremamente doces de suas folhas, era utilizada para adoçar diversas preparações medicinais dos indígenas.

As primeiras notícias do Kaá-Hê-ê para o mundo civilizado foram dadas através de relatos contidos em documentos informativos, enviados pelos conquistadores à Espanha. Cópias desses relatos se conservam no Arquivo Nacional de La Asuncion. Tais documentos davam notícia de que a planta era conhecida dos indígenas desde tempos remotos e que eles a usavam para edulcorar bebidas medicamentosas e especialmente para adoçar o mate cozido.

Somente em 1887 foi que, pela primeira vez, o Kaá-Hê-ê teve uma abordagem científica dada pelo Naturalista Moisés S. Bertoni, suíço de nascimento e radicado no Paraguai, que a descobriu durante suas excursões de estudos pelas extensas florestas do Paraguai Oriental. As plantas, nessa época, eram raras e Bertoni não conseguiu encontrar

nenhum espécime durante as suas explorações. Em 1898, em Asuncion, através de um agente aduaneiro, Bertoni recebeu algumas amostras de folhas de Kaá-Hê-ê, enviadas por um ervateiro do Norte. Infelizmente a amostra era muito reduzida e estava bastante fragmentada, impossibilitando efetuar estudos mais detalhados. Entretanto, no seu laboratório na *Escuela de Agricultura de La Asuncion del Paraguai*, Bertoni, a partir dessa amostra, com alguns fragmentos de inflorescência, determinou que a planta tinha certas afinidades com os gêneros *Stevia* ou *Eupatoriun* (BERTONI,1901).

Bertoni enviou parte da sua amostra para análise química ao Dr. Ovidio Rebaudi, químico paraguaio dedicado aos estudos de produtos naturais, que realizou os primeiros ensaios químicos sobre a planta, publicando-os em 1900 na revista Química e Farmácia de Buenos Aires. Em 1899 Bertoni publicou um artigo sobre sua planta, denominando-a *Eupatoriun Rebaudianun* sp., dedicando-a, como merecida homenagem, ao ilustre químico.

Por fim, o Reverendo Padre Lorenzo A. Estigarribia, pároco da vila de São Pedro, remeteu a Bertoni uma planta viva. Esta planta floresceu em 1904 e permitiu um estudo botânico completo. Bertoni comprovou então, que efetivamente se tratava de uma *Eupatoriae* porém do gênero *Stevia* e como tal ele publicou um artigo sobre a planta em 1905, com minuciosa descrição em Latim, denominando-a *Stevia rebaudiana*, mais tarde a Sociedade Botânica, em homenagem a Bertoni, denominou-a *Stevia rebaudiana* Bertoni (BERTONI,1905).

No começo do século, também no Brasil, a *Stevia rebaudiana* teve destaque científico e tecnológico. A planta tinha ampla distribuição nativa no nosso território e já atraía o interesse dos pesquisadores e agricultores. O texto abaixo revela tal interesse.

CA_-EHÉ = *Stevia collina* Gardn. (*S. Rystfolia* Gardn., *S. pállida* M.), da família das compostas. Subarbustos erecto de 1 m de altura; caule pardo, pubescente e folioso até o ápice; folhas oppostas, subsésseis, ovado-oblongas, obtusas, cuneiformes na base, 3 nervadas membranosas, tomentosas na página inferior, até 6 cm de comprimento; flores pállidas com escamas pardo-esverdeadas, agudas e pubescentes, reunidas em capítulos corymbiformes de 4-5 e estes dispostos em panículas frouxas; fructo achenio pequeno e com ângulos pilosos. - É planta saccharina e estomachica, recomendada como edulcorante; encerra a glucoside glycyrrhizina, que é o seu princípio activo, porém acha-se combinado com soda e uma resina aromática amarga, de cor amarelo-ambar, cuja densidade é de 1,070. Tem-se aconselhado repetidas vezes a cultura desta planta, como

succedanea da Glycyrrhiza glaba L. (Alcaçuz verdadeiro), para a exploração industrial da glycyrrhizina, mas não consta que alguém haja abraçado a idéia. - Há a variedade Rebaudina (Eupatoriun rebaudianum, S. Rebaudiana Bert.). - É planta campestre, sendo a espécie typo freqüente em Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso e a variedade apenas neste último Estado.

Esta é a descrição textual, do grande botânico brasileiro CORRÊA (1926), no primeiro volume do seu Dicionário das Plantas úteis do Brasil, editado em 1926 e cuja extraordinária obra teve seu início em São Paulo em 1906. Esta talvez seja, pois, a primeira descrição detalhada da Stévia feita no Brasil.

Como Pio Correia observou, a *Stevia rebaudiana*, no Brasil, ocupava uma vasta área nativa, talvez uma área maior do que no próprio Paraguai. Hoje sabemos que a planta é encontrada nativa também no Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

Contam os nossos pais e avós, que na divisa de São Paulo com Minas Gerais e com o Mato Grosso (regiões que na época eram grandes produtoras de café), durante a revolução de 1932, houve um grande racionamento de açúcar e que, muitas vezes, as famílias utilizavam para adoçar alimentos e bebidas, uma pequena planta que os fazendeiros de café denominavam praga do picão doce. Essa planta que nascia entre os cafeeiros, hoje se sabe, era a *Stevia rebaudiana* Bertoni. Tem-se notícia, que os gaúchos do Rio Grande, também adotaram o hábito do Tereré, isto é, adoçavam e adoçam ainda hoje o mate, com folhas moídas de Stévia.

2.2.1. Aspectos botânicos da *Stevia rebaudiana* Bertoni

O gênero *Stevia* pertence à família Compositae (Asteraceae) classe Eupatoriae. Está presente em todo o mundo, porém é originária do Novo Mundo, com uma distribuição que vai do sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina onde o clima é tropical.

Membros desse gênero compreendem ervas e arbustos encontrados freqüentemente a uma altitude de 300 à 500 metros em relação ao nível do mar. Embora sejam normalmente encontradas em terras montanhosas semi-áridas, existem espécies que habitam pastagens, montanhas arborizadas, caatingas e florestas coníferas (SOEJARTO et al., 1983).

O gênero *Stevia* está presente em todo o mundo, principalmente nas Américas e especialmente na América do Sul, cujo clima tropical favorece o seu desenvolvimento. No

Brasil são mencionadas 14 espécies e foram identificadas, pela Universidade de Santa Maria (Rio Grande do Sul), quatro espécies nativas: *Stevia involucrata*, *Stevia cinerascens*, *Stevia veronicae* e *Stevia satucifolia*, além da *Stevia rebaudiana*. Somente a *Stevia rebaudiana* e uma outra espécie denominada *Stevia aristata* apresentam princípios adoçantes (PAGLIOSA,1981).

A *Stevia rebaudiana* Bertoni é a espécie mais conhecida, é um arbusto nativo das terras altas da serra do Amambai no nordeste do Paraguai e no sudeste do Brasil que apresenta as seguintes características botânicas:

“*Stevia rebaudiana* Bertoni, da família das Compositae. Subarbusto ereto de 1 metro de altura; caule pardo, pubescente e folioso até o ápice; folhas opostas, subcésseis, ovado oblongas, obtusas, cuniformes na base, 3 nervadas membranas, tormentosas na parte inferior, até 6 cm de comprimento; 7-15 mm de largura; flores pálidas com escamas pardo esverdeadas, agudas e pubescentes frouxas; fruto aquênio pequeno e com ângulos pilosos.” (CORRÊA, 1926).

2.2.2. Aspectos químicos dos glicosídeos da *Stevia rebaudiana* Bertoni.

A grande divulgação mundial promovida em torno da Stévia, atraiu a atenção dos pesquisadores para estudar a natureza química de tão poderoso edulcorante natural.

Desde os primeiros estudos químicos feitos por REBAUDI (1900), estudos sistemáticos vêm sendo realizados em todo o mundo com a finalidade de um aproveitamento racional das propriedades edulcorantes e medicinais da *Stevia rebaudiana* Bertoni assim como, na determinação da natureza e estrutura químicas do adoçante.

O princípio edulcorante, um glicosídeo, foi isolado pela primeira vez, por RASENACH (1908), na forma cristalina. Ele obteve um extrato alcoólico das folhas, precipitou este extrato com éter e o produto foi cristalizado em metanol.

O isolamento do glicosídeo foi também descrito, independentemente, por DIETERICH (1909), que obteve duas formas do mesmo, denominando-as Eupatorina e Rebaudina.

Em 1924, pela decisão da Union Internationale de Chimie em Copenhague, o nome de esteviosídeo foi atribuído ao princípio adoçante (BRIDEL e LAVIEILLE,1931 a).

Os trabalhos conclusivos sobre o isolamento do esteviosídeo, foram conduzidos por Bridel e Lavieille, que de posse do esteviosídeo purificado (BRIDEL e LAVIEILLE, 1931 a,b), fizeram um elegante e detalhado exame da *Stevia rebaudiana*. Eles mostraram que a extração das folhas secas com etanol a 343K produz esteviosídeo (60 g esteviosídeo/ 1kg de folhas) como um pó branco e muito leve, consistindo de microcristais alongados.

No final da década de 50 e início da década de 60, partindo dos trabalhos realizados por BRIDEL e LAVIEILLE (1931 b) e THOMAS (1937), uma equipe de químicos do National Institute of Health em Bethesda, nos Estados Unidos, inicialmente liderada por Hewitt G. Fletcher (WOOD et al., 1955; WOOD e FLETCHER, 1955; VIS e FLETCHER, 1956) e posteriormente por Erich Mosettig (MOSETTIG e NES, 1955; DOLDER et al., 1960; MOSETTIG et al., 1961, DJERASSI et al., 1961; WATERS et al., 1962; MOSETTIG et al., 1963) e juntamente com o excelente trabalho de ARYA (1962) no Instituto de Química Orgânica de Stocholm, conseguiram elucidar completamente a estrutura do esteviosídeo.

2.2.3. O poder edulcorante da Stévia e do esteviosídeo

Desde as primeiras experiências com a Stévia já se determinava um poder edulcorante bastante intenso "*unas pocas hojas del Kaá-Hê-ê bastan para endulzar una fuerte taza de té ó de café...*" (BERTONI,1900). Em 1913, baseado numa análise de um Laboratório de Hamburgo, Bertoni anunciou o poder edulcorante da substância doce extraída das folhas da Stévia, como sendo mais ou menos cento e oitenta vezes mais doce do que o açúcar de cana.

Em 1931, após o isolamento e identificação do esteviosídeo, componente principal do princípio edulcorante da Stévia, BRIDEL e LAVIEILLE (1931 b) anunciaram um poder edulcorante deste composto como sendo 300 vezes maior do que o da sacarose. Em 1959, LAWRENCE e FERGUNSON (1959) publicaram dados obtidos sobre o poder edulcorante do esteviosídeo, que ficou estabelecido em cerca de 280 a 300 vezes o poder edulcorante da sacarose em seu limiar de dulçor.

2.2.4. Características toxicológicas da *Stevia rebaudiana* Bertoni

Já nos primórdios dos estudos de utilização da *Stevia* como fonte de adoçantes para uso populacional, houve preocupação com as suas características toxicológicas e farmacológicas.

REBAUDI em 1900, em seus estudos químicos sobre a planta, isolou dois extratos: um princípio extremamente doce e outro amargo, com características de aperitivo digestivo.

KORBERT em 1915, extraiu duas substâncias da folhas da *Stevia*: uma ácida e outra neutra, que considerou como sendo saponinas. A saponina ácida não era doce e possuía propriedades hemolíticas. Em doses de 1:500, esta substância hemolisava completamente os glóbulos sanguíneos. A saponina neutra, ele considerou como sendo a eupatorina de DIETERICH (1909), possuindo a característica doce daquele princípio. Suas propriedades hemolíticas, segundo Korbert, eram igualmente claras.

Após os trabalhos de BRIDEL e LAVIEILLE em 1931(b), que isolaram quimicamente o esteviosídeo, POMARET e LAVIEILLE também em 1931, estudaram algumas propriedades fisiológicas do princípio purificado.

O efeito hemolítico definido por KORBERT (1915), foi o primeiro dos experimentos. Estes experimentos analisaram este efeito através de suspensões de glóbulos vermelhos, aos quais adicionaram esteviosídeo puro nas proporções de 1:200 e 1:500 não encontrando nenhuma hemólise. Malgrado as informações de KORBERT (1915), as características moleculares, as reações de coloração e as propriedades fisiológicas do esteviosídeo não permitiam enquadrá-lo como uma saponina. Atribuíram, então, as observações de KORBERT (1915), a prováveis impurezas provenientes da planta, existentes nas amostras por ele testadas.

POMARET e LAVIEILLE (1931), estudaram também os aspectos toxicológicos do esteviosídeo. Injeções subcutâneas em cobaias, em doses de 60 mg a 1250 mg por kg de peso em suspensão oleosa não gerou nenhuma reação primária ou secundária e não houve emagrecimento ou qualquer tipo de manifestação tóxica posterior.

Doses de 70 mg até 400 mg por via intravenosa, na veia marginal da orelha de coelhos não surtiram nenhum efeito, mesmo que repetidas as doses 24 horas depois. Os autores não injetaram maiores quantidades por essa via devido à limitada solubilidade em água do esteviosídeo puro. Administraram então aos mesmos animais, via intraperitoneal, quantidades crescentes do composto, durante 15 dias, até que os animais tivessem recebido

um total de 2.200 mg. A única alteração observada foi um emagrecimento transitório. Dois meses após o experimento, os animais foram sacrificados, apresentando completa integridade orgânica.

Os autores experimentaram ainda, por via oral, o efeito do esteviosídeo em galos. Administraram pílulas de 2 gramas em intervalos de mais ou menos 12 horas a um animal de 1.630 g, que se mostrou indiferente àquela ingestão, não apresentando nenhuma alteração.

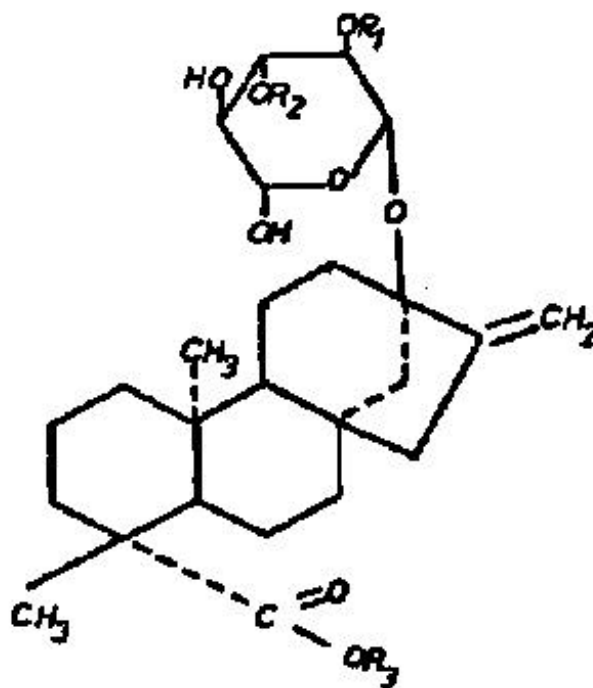
POMARET e LAVIEILLE em 1931, investigaram também o processo de absorção do esteviosídeo pelo organismo dos animais. Determinaram então, que após injeção subcutânea, há uma eliminação, pelas vias urinárias, de cerca de 50 % do esteviosídeo injetado, na sua forma intacta, em 24 horas.

O exame do excremento de galos que receberam, via oral, 4 g de esteviosídeo, mostrou que cerca de 25 a 30 % passa pelo trato gastrointestinal sem sofrer alterações.

Portanto, os experimentos de POMARET e LAVIEILLE em 1931 demonstraram, para a época, que o esteviosídeo apresentava baixo nível de toxicidade aguda.

2.3. Glicosídeos da *Stevia rebaudiana* Bertoni

Dentre os edulcorantes, temos os glicosídeos que são extraídos das folhas secas da planta nativa denominada *Stevia rebaudiana* Bertoni ou simplesmente Stévia. A folha possui vários glicosídeos adoçantes como: esteviosídeo, rebaudiosídeo A, B, C, D, E e dulcosídeos A e B. Suas estruturas encontram-se na Figura 7. Os presentes em maior quantidade são: esteviosídeo 5-10%, rebaudiosídeo A 2- 4%, rebaudiosídeo C 1- 2%, os demais estão presentes em concentrações menores e variáveis dependendo do método de extração utilizado. O rebaudiosídeo A é o que apresenta melhores características de sabor e juntamente com o rebaudiosídeo D, maior doçura. O esteviosídeo e o rebaudiosídeo E apresentam o mesmo poder adoçante, 30% menor que o rebaudiosídeo A. Os demais glicosídeos são de menor doçura.



COMPOSTOS	RADICAIS			Grau de Dulçor
	R ₁	R ₂	R ₃	
Esteviosídeo	Gluc.	H	Gluc.	100-270
Esteviolbiosídeo	Gluc.	H	H	10-15
Rebaudiosídeo A	Gluc.	Gluc.	Gluc.	150-320
Rebaudiosídeo B	Gluc.	Gluc.	H	10-15
Rebaudiosídeo C (Dulcosídeo B)	Rham	Gluc.	Gluc.	40-60
Rebaudiosídeo D	Gluc.	Gluc.	Gluc. ² - ¹ Gluc.	200-250
Rebaudiosídeo E	Gluc.	H	Gluc. ² - ¹ Gluc.	150-200
Dulcosídeo A	Rham	H	Gluc.	40-60

Gluc = β-D-Glucopiranosil

Rham = α-L-Rhamnopiranosil

Figura 7. Estrutura dos glicosídeos da *Stevia rebaudiana* Bertoni (adaptada de CÂNDIDO e CAMPOS, 1996)

Esses glicosídeos são edulcorantes de origem natural, estável a ampla faixa de pH e ao calor, o que os torna industrialmente interessantes. Possuem também outras vantagens, são: não calórico, não metabolizável, não fermentável, anti-cariogênico e anti-placa.

Devido a essas vantagens existem muitos artigos científicos publicados sobre *Stevia rebaudiana* e seus glicosídeos adoçantes. Desde revisões até patentes, que incluem: métodos analíticos, métodos de purificação, avaliação sensorial e principalmente sobre os aspectos toxicológicos, onde todos atestam a segurança do extrato de Stévia e seus glicosídeos adoçantes para o consumo humano. O glicosídeo presente em maior quantidade na folha de Stévia, o esteviosídeo, é utilizado como edulcorante alimentício em muitos países do mundo. No Japão é utilizado desde 1970 como agente edulcorante e em bebidas, dominando hoje cerca de 41% deste mercado, com um consumo acima de 85 toneladas anuais. Foi aprovado no Brasil em meados de 1987 como agente flavorizante e edulcorante em várias classes de alimentos e nos Estados Unidos em 1995 para ser utilizado como ingrediente para suplemento dietético (CÂNDIDO E CAMPOS, 1996).

2.3.1. Aplicações e uso dos princípios ativos da *Stevia rebaudiana* Bertoni

O grande universo de aplicações dos princípios ativos da Stévia encontra-se no campo dos alimentos, como edulcorantes não calóricos; mas é também aplicado em quantidade considerável em medicamentos, com a mesma finalidade. Em geral, porém, não é prático adoçar os alimentos diretamente com os adoçantes puros, exceto em alguns casos.

Muitos alimentos já estão sendo adoçados com os produtos da Stévia, principalmente no Japão (FUJITA e EDAHIRO, 1979), onde suas propriedades bromatológicas têm sido muito estudadas (SAKAGUSHI e KAN, 1982). Estas propriedades demonstram que o uso destes adoçantes melhora a qualidade dos alimentos, é de uso seguro, diminui os custos, etc, o que os torna de utilização economicamente viável, mesmo havendo problemas técnicos de aplicação (FUJITA e EDAHIRO, 1979).

As aplicações dos glicosídeos da Stévia em alimentos são muitas, valendo citar algumas. Em bebidas, por exemplo, em refrigerantes, o esteviosídeo obtém bons resultados, embora alguns problemas técnicos devam ser observados. A solubilidade em água do esteviosídeo é bastante baixa, cerca de 2% a 30°C e 0,12% a 20°C, conforme SAZAKI (1983). ANGELUCCI (1979) determinou uma gama de solubilidades em água variando temperaturas desde 1°C à 61°C obtendo 0,441 g/L a 1°C, 0,81 g/L a 28°C e 12,06 g/L a 61°C. Em meio ácido a solubilidade mostrada por ANGELUCCI (1979) foi um pouco menor, em torno de 0,6 g/L a 28°C, sendo aproximadamente a mesma tanto para soluções contendo ácido cítrico ou ácido fosfórico.

ANGELUCCI (1979) mostrou também que a estabilidade do esteviosídeo em água é bastante alta. Somente após 113 horas de aquecimento a 97°C houve início de hidrólise. Em meio ácido, contendo ácido cítrico (3 g/L) o tempo para início de hidrólise foi de 18 horas. Para soluções contendo ácido fosfórico (0,72 g/L) foi de 9 horas. FUJITA e EDAHIRO (1979) experimentaram aquecer soluções de esteviosídeo em uma gama de pHs variando de 3 a 10 durante 1 hora sob fervura. Somente em pH = 10 houve hidrólise sensível (47%). Em outros pHs não houve praticamente alteração, mostrando que o esteviosídeo é mais sensível à hidrólise alcalina.

Resultados semelhantes aos acima citados foram encontrados, também por CHANG e COOK (1983) em estudos da estabilidade do esteviosídeo e rebaudiosídeo A em bebidas carbonatadas. Estes autores verificaram, entre outros dados, que as bebidas contendo esses adoçantes, estocadas durante vários meses a baixa temperatura não sofrem qualquer alteração. A exposição à luz do sol não afeta o esteviosídeo, porém produz a perda de cerca de 20% do rebaudiosídeo A. Nessas experiências não há relato de sabores estranhos ou paladar desagradável. Estes dados são extensivos aos refrigerantes carbonatados, a diversos sucos, a sorvetes, iogurtes e outros alimentos líquidos. São válidos também para alimentos sólidos não fermentados ou pós-fermentados como picles salgados, pasta de feijão e molho de soja (FUJITA e EDAHIRO, 1979; MORITA, 1978) ou peixes processados e outras comidas japonesas, além de balas, goma de mascar, bolos, biscoitos, bolachas, etc. (SAITSUGA, 1982). Aplicação importante dos adoçantes da *Stévia* está na constituição de adoçantes dietéticos ou semi-dietéticos. Devido à alta capacidade adoçante dos derivados da *Stévia*, basta uma pequena adição dos mesmos ao alimento para que o tenhamos adoçado. Mesmo que haja decomposição e absorção no organismo, a quantidade de calorias ingeridas pode ser desprezada. Assim, alguns produtos são elaborados, como uma mistura de sacarose e esteviosídeo produzindo um pó adoçante higroscópico com baixo teor de calorias (DOWA, 1982; MARUTOKU, 1982). Há ainda utilizações em gotas adoçantes, comprimidos com dose pré-determinada dos adoçantes puros ou em mistura, pós em embalagem com doses próprias, cápsulas oleaginosas dietéticas (NISSHIN, 1982), etc.

Outras aplicações podem ser observadas para os princípios ativos da *Stévia* além de sua função adoçante. Extratos de *Stévia* contendo esteviosídeo e rebaudiosídeo foram utilizados como estimuladores do crescimento de plantas em dose em torno de 500 ppm aplicados nas raízes de arroz. O crescimento foi de 43% em relação ao controle (MORITA, 1982 a,b). Quando foram usados o esteviolbiosídeo, o esteviosídeo, o rebaudiosídeo B e C

e o dulcosídeo A misturados com metais alcalinos, houve também estímulo de crescimento em várias outras plantas. Estímulo este similar ao produzido por giberilinas, com exceção dos efeitos colaterais desfavoráveis como amarelamento e inibição do crescimento das raízes.

IWAMURA et al. (1979) também utilizaram os glicosídeos diterpênicos da *Stevia rebaudiana*, inclusive o esteviol, como estimuladores de crescimento de plantas. Assim, 500 ppm dos sais de Na dos diversos glucosídeos e do esteviol estimulou o crescimento de plantas de arroz em 42,5% em relação ao controle, valores coincidentes com os obtidos pela MORITA (1982 a,b).

MIYAMOTO (1983) utilizou o esteviolbiosídeo, ou os seus sais, sobre árvores frutíferas, através de pulverizações contendo 500 ppm do glicosídeo e obteve como resultado frutas mais doces e com menor teor de acidez. MORITA (1977) utilizou, ainda, extrato aquoso purificado de folhas de Stévia para melhorar o aroma e o sabor do tabaco.

Extrato de Stévia (5 ppm) contendo esteviosídeo, rebaudiosídeo e esteviolbiosídeo foi utilizado por MORITA (1982 c) para promover a ativação e produção de α -amilase no malte de cevada, milho, trigo ou outros cereais. O acréscimo da atividade α -amilásica foi semelhante ao produzido pelo tratamento do malte com giberilina A₃.

2.3.2. Processos de extração dos glicosídeos da *Stevia rebaudiana* Bertoni.

Todos os processos apresentados na literatura seguem aproximadamente a mesma metodologia. Numa primeira fase, é feita uma extração das folhas de Stévia com água ou álcoois (etanol ou metanol) a quente, por infusão ou percolação, obtendo-se um nível máximo de extração em torno de 50% do peso seco da folha, na forma de uma solução carregada de partículas coloidais de cor marrom escuro, contendo todos os princípios ativos, pigmentos foliares, polissacarídeos solúveis e outras impurezas. Alguns processos fazem o desengorduramento prévio das folhas com solventes apolares como clorofórmio ou hexano (TANAKA et al. 1977; MASUYAMA, 1980; KINGHORN et al., 1982) para a eliminação preliminar de óleos essenciais, lipídios, clorofila e outros compostos apolares.

2.3.3. Clarificação do extrato aquoso de *Stevia rebaudiana* Bertoni

A segunda fase, na grande maioria dos casos, reside na clarificação do extrato, isto é, na remoção do máximo de impurezas, tornando o mesmo um xarope claro, contendo praticamente o conteúdo integral dos princípios adoçantes.

Pode-se classificar os métodos para a execução desta operação em seis grupos.

O primeiro grupo de processos utiliza $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaO , CaCO_3 ou sais de Al, Fe e Mg (ISHIZONE, 1979, KIKUCHI e SAWAGUCHI, 1977; KOKAI et al., 1979; FUJI FOODS, 1982; TAMA, 1982; YAMADA e KAJIMA, 1980; TOYO SEITO, 1980; SEKISUI, 1983; LI et al., 1984; ZHOU et al., 1984; GIOVANETTO, 1989) como agentes precipitantes das impurezas do extrato seguido de deionização através de resinas trocadoras de íons de natureza catiônica e aniônica, como poliamidas (KIKUCHI e SAWAGUCHI, 1977; FUJI FOODS, 1982), amberlite XAD, duolite ES-861; diaion HP (KOBOMURA et al., 1976; TAMA, 1982), Dow 50w/Domex WGR (GIOVANETTO, 1989) resinas não polares (TOYO SEITO, 1980), amberlite IR-120 (H+) e IRA-410 (-OH) (ISHIZONE, 1979; SAWAGUCHI e KIKUCHI, 1977; OHE, 1977; MIWA, 1979) e outros tipos de Amberlite (CHANG e CHANG, 1985) obtendo vários graus de clarificação e purificação do extrato.

O segundo grupo utiliza somente íons metálicos como coagulantes na clarificação de extrato aquoso. O CaCO_3 em H_2O_2 (MASUYAMA, 1980); Sn^{+2} em meio alcalino (CHISSO Corp., 1980); CaCl_2 ; AlCl_3 ; FeCl_2 ; $\text{Ca}(\text{OH})_2 + \text{CO}_2$ ou $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3/\text{Ca}(\text{OH})_2$ (TAKAMURA et al., 1977; SATO et al., 1980; WAKABAYASHI, 1981; MITSUBISHI, 1983 a; ZI et al., 1986) e MgCO_3 ou $\text{Mg}(\text{OH})_2$ com aeração (TAKAMURA et al., 1977), $\text{Mg}(\text{OH})_2$ calcinado como adsorvente (YOKOYAMA E SUGIYAMA, 1990) ou ainda $\text{Ca}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$ (DE CERNADAS e PRYLUKA, 1985) são os mais usados para o processo de clarificação do extrato.

O terceiro grupo de processos utiliza somente resinas trocadoras de íons ou resinas adsorventes para descoloração do extrato. Estes processos utilizam a HP-20 (copolímero divinil benzeno-estireno) como resina adsorvente (OHE et al., 1977) ou diaion HP-10, diaion WH, duolite S-37 e amberlite IRA-93 como resinas porosas, aniônicas fracas, levemente básicas (MARUZEN, 1980; TOYO, 1981; HAGA et al., 1976) ou sistemas de resinas trocadoras de íons (mistura de IR-120, IRA-68, IR-120B, IRA-411) (OHE et al., 1977). Utilizam ainda amberlite XE-275, amberlite XAD-7 e amberlite IR-120 (KIUNI et

al., 1977; PERSINOS, 1973; AQUINO et al., 1985), resinas com celulose (SEIKISUI, 1983) e resinas macro reticulares (BIAN et al., 1986), sendo que, também, alguns pesquisadores utilizam carvão ativo como adsorvente de impurezas (MIZUFUNE et al., 1987), produzindo um bom nível de clarificação e edulcorantes com paladar mais agradável.

O quarto grupo de processos se utiliza da purificação por eletrólise com eletrodos de alumínio em meio contendo NaCl (MIWA et al., 1979 a) ou meio com $\text{Al}(\text{SO}_4)_3$ ou AlCl_3 como condutores (MIWA et al., 1979 b) ou ainda uma composição de eletrólise e tratamento com resinas trocadoras de íons (MIWA, 1979 b; ADUCCI et al., 1987).

O quinto grupo destes processos reside no tratamento do extrato aquoso das folhas de Stévia com solventes orgânicos como os álcoois de 4 a 8 carbonos e os glicosídeos são cristalizados em metanol (ASANO et al., 1975) ou o fracionamento com sistema de solventes (ALVAREZ et al., 1984), ou cristalizações fracionadas em álcoois (AJINOMOTO, 1981a, b) e ainda com um sistema metanol/clorofórmico extraído com água obtendo de imediato o esteviosídeo cristalino e outros produtos. Alguns utilizam, ainda, uma seqüência de tratamentos com sais complexos como $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2$ e CaCO_3 procedendo extrações sucessivas com solventes como éter, acetona e etanol (LI et al., 1983; TAKAHASHI et al. 1987) ou $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3/(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4/\text{Ca}(\text{OH})_2$ (ARASHI, 1987).

O sexto grupo trata de processos que envolvem o clareamento do extrato aquoso da Stévia com polieletrólitos que fazem a coagulação e decantação das impurezas. Desta forma, o tratamento do extrato aquoso com cloreto de benzalcônio ou com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ou $\text{Al}(\text{SO}_4)$ seguido de agregação com uma amida poliacrílica ou outro polímero floculante (KODAKA, 1977; MITSUBISHI, 1983 b) consegue remover boa parte das impurezas do extrato, tornando-o bastante clarificado.

Com a clarificação do extrato das folhas de Stévia, que é a parte da extração que diferencia os métodos, esta é processada a seguir, praticamente, da mesma maneira em todos os sistemas. A solução é concentrada e redissolvida em metanol para proceder a cristalização do esteviosídeo. A recristalização é feita no mesmo solvente, obtendo-se esteviosídeo praticamente puro.

Vale ainda citar o método de extração e fracionamento dos princípios ativos para fins analíticos desenvolvido por KINGHORN et al. (1982), onde o extrato aquoso é extraído com butanol e a solução concentrada. É feita a cromatografia do resíduo em um

sistema contracorrente conseguindo boa separação do esteviosídeo, rebaudiosídeo A e dulcosídeo A.

Interessante método foi desenvolvido, também, por KATO et al. (1977) para extração do esteviosídeo. Os autores purificaram o extrato aquoso ou alcoólico pelo uso de membranas semipermeáveis (acetato de celulose, daicel DRS-50) e por ultrafiltração do líquido tratado em membrana de poliacrilonitrilo (daicel DUH-20) fornecendo um filtrado que ao ser concentrado produz esteviosídeo com aproximadamente 80% de pureza. Semelhante sistema foi usado por FUH e CHIANG (1990), na Universidade de Taiwan, os quais utilizaram um sistema de ultrafiltração em membrana para remover acima de 96% da pigmentação do extrato aquoso de folhas de Stévia e posterior concentração do extrato por osmose reversa. A clarificação final foi feita por troca iônica em resinas.

Recentemente, novos processos usando tecnologia avançada vêm sendo experimentados. A equipe de Osamu Tanaka, trabalhando para a Mitsue Petrochemical Ind. (TAN et al., 1988) desenvolveu um processo de extração de folhas de Stévia através de CO₂ super crítico em presença de metanol, extraíndo esteviosídeo e rebaudiosídeo-A com 17,5 % de rendimento. Trabalho semelhante foi feito por KIENLE (1989) na Europa, o qual extraiu previamente as graxas e pigmentação contaminantes das folhas da Stévia com CO₂ super crítico, extraíndo posteriormente, de maneira convencional os princípios adoçantes.

Particular interesse apresenta a extração, além do esteviosídeo, também dos rebaudiosídeos, principalmente o rebaudiosídeo A. Para tanto, foi desenvolvido um processo de separação do esteviosídeo e rebaudiosídeo a partir de um extrato de folhas de Stévia clarificado pela MARUZEN (1982). A mistura foi tratada com álcoois de 3 a 6 carbonos, solubilizando o esteviosídeo e permanecendo na fração insolúvel o rebaudiosídeo A.

A TOYO Sugar Refining Co. Ltd. (1982) desenvolveu um outro processo para o mesmo fim. Utilizou para tanto uma resina adsorvente moderadamente polar (diaion HP-10; amberlite XAD-2 ou XAD-7) com um valor de saturação menor que o conteúdo de rebaudiosídeo e esteviosídeo, porém maior do que o teor de esteviosídeo. O efluente contém o rebaudiosídeo e o esteviosídeo fica adsorvido, separando os dois componentes.

Atualmente, no processo de clarificação, está em uso industrial no Brasil o tratamento com íons metálicos juntamente com solventes orgânicos.

O esteviosídeo tem sua aplicação industrial limitada em alguns segmentos, devido a dificuldade em se alcançar um produto final com alto teor de pureza, sem resíduos resultantes do processo de extração; e devido a dificuldade em se obter um produto de uma cor agradável ao mercado.

2.3.4. Vantagens e desvantagens dos diferentes processos convencionais de clarificação do extrato de *Stevia rebaudiana* Bertoni

Os processos que utilizam somente íons metálicos para clarificação são bastante simples e econômicos, entretanto, apresentam o inconveniente de deixarem resíduos dos sais aplicados, que muitas vezes podem afetar a saúde dos consumidores dos produtos. Sob este aspecto, levam grande vantagem os processos com íons metálicos onde, posteriormente, os extratos clarificados são deionizados por resinas trocadoras de íons que praticamente eliminam aquele tipo de impureza. Estas resinas, no entanto, tornam os processos menos econômicos pois deve-se considerar que o custo delas é bastante alto, pois é necessário a sua recuperação a cada operação. Além disso, as resinas deixam resíduos macromoleculares como solutos que muitas vezes podem ser danosos à saúde, sendo proibidos em alguns países como o Japão. Esta recuperação por sua vez envolve toda uma tecnologia operacional que consome reagentes e mão-de-obra. Além disso, as resinas não são perenes, o que as tornam ainda mais dispendiosas.

Os processos de eletrólise implicam também em deionização. Portanto, os processos que utilizam solventes voláteis na extração parecem ser os mais práticos pois apresentam um baixo custo, além de serem, os solventes, quase totalmente recuperáveis e recicláveis além de bastante seletivos quanto à polaridade dos solutos a serem extraídos, permitindo uma operacionalidade mais simples e menos onerosa. Há, entretanto, a necessidade de remoção completa de resíduos de solventes, pois os mesmos podem ser danosos à saúde, o que torna o processo caro pelos cuidados necessários.

Os sistemas de membranas de ultrafiltração e osmose reversa reduzem substancialmente os níveis de impurezas e os volumes a serem manipulados, proporcionando uma economia ao processo de purificação. Porém, utilizam materiais de alto custo e necessitam de tecnologia operacional de custo elevado.

2.4. As zeólitas

2.4.1. Histórico das zeólitas

O termo zeólita foi criado no século XVIII, quando constatou-se que determinados minerais submetidos à calcinação a elevadas temperaturas, pareciam fundir-se com liberação de vapor de água. Denominou-se zeólita por composição das palavras gregas “zein” (ferver) e “lithos” (pedra).

As zeólitas eram consideradas simples “curiosidades mineralógicas” e só a partir da segunda metade do século XIX passaram a ser estudadas. Os primeiros trabalhos realizados com zeólitas, no final do século passado, foram em adsorção e troca iônica.

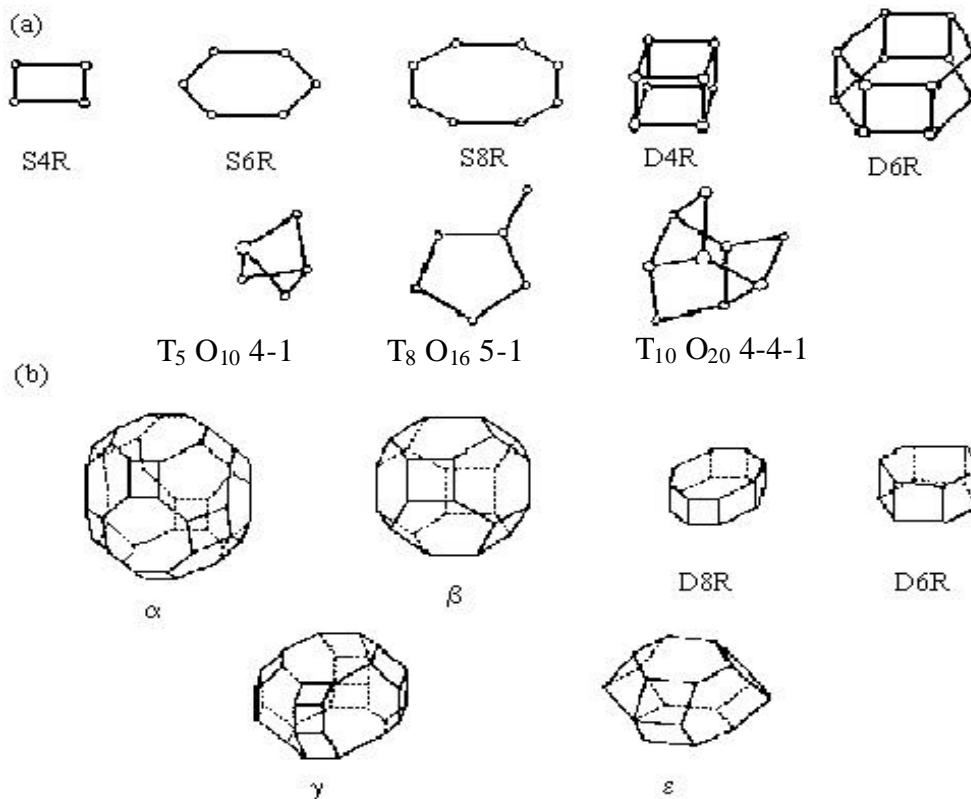
Surgiram, a partir de então, muitos trabalhos com zeólitas naturais, para satisfazer a pesquisadores e interesses industriais. Em 1948 foram produzidas em laboratório as primeiras zeólitas sintéticas, nomeadas de Mordenita e zeólitas A, X e Y.

Em 1954 as zeólitas sintéticas começaram a ser utilizadas, como adsorventes e peneiras moleculares, em processos industriais de separação e de purificação de gases. A mais importante aplicação das zeólitas em catálise heterogênea iniciou-se em 1962, no craqueamento catalítico do petróleo para produção de gasolina. As zeólitas substituíram os clássicos catalisadores de sílica-alumina amorfo (FIGUEIREDO e RIBEIRO, 1987).

2.4.2. A estrutura das zeólitas

As zeólitas são aluminossilicatos cristalinos de origem natural ou sintética, composta por canais e cavidades com dimensões comparáveis às moléculas orgânicas. Os elementos estruturais básicos das zeólitas são os tetraedros TO_4 (onde o átomo “T” pode ser Al, Si, Ga, Ge,...). Cada átomo “T” localiza-se no centro do tetraedro e os átomos de oxigênio no vértice dos tetraedros. Estes são unidos entre si pelo átomo de oxigênio, ou seja, cada átomo de oxigênio é compartilhado por dois tetraedros. Os tetraedros TO_4 são chamados de unidade de construção primária da zeólita. Estes tetraedros combinam-se formando as SBUs (*secondary building units*), ou unidades de construção secundária. As unidades de construção secundária mais simples são o anel de quatro tetraedros (*4-ring*) e de seis tetraedros (*6-ring*). Em alguns casos, a estrutura da zeólita pode ser considerada em termos de unidades de poliedros, tal como o octaedro truncado. A Figura 08 apresenta as

diversas formas das SBUs, onde os vértices das estruturas representam átomos “T”, e o ponto médio das arestas representam átomos de oxigênio.



(a) As unidades de construção secundária (SBU) da estrutura das zeólitas

(b) Algumas unidades de poliedros da estrutura das zeólitas

Figura 8. Unidades de construção secundária das zeólitas, SBU (BRECK, 1974).

A descoberta das zeólitas A e X nos Laboratórios Union Carbide Corporation representou um avanço na composição, volume de poro e estrutura de canal, garantindo à estas duas zeólitas proeminência comercial sobre as 150 espécies sintéticas e as descobertas nos últimos vinte e cinco anos. Ambas as zeólitas são quase "saturadas" em alumínio na composição da estrutura zeolítica com uma razão molar de Si/Al próximo de um, o conteúdo máximo possível de alumínio no tetraedro de aluminossilicato se for seguida a regra de Loewenstein.

A zeólita X possui razão Si/Al 1,0-1,5 e a zeólita A possui razão Si/Al 1,0-1,2.

Como consequência elas contêm um número máximo de locais de troca de cátion que equilibram o alumínio na estrutura, e assim possuem maior conteúdo de cátions e

maior capacidade de troca. Estas características de composição combinadas lhes fornecem superfície altamente heterogênea, conhecida entre materiais porosos devido à exposição da carga catiônica posicionada na estrutura de aluminossilicato, o que resulta em altos gradientes de campo. A superfície delas é altamente seletiva para água, moléculas polares e polarizáveis, que servem como a base para muitas das aplicações das zeólitas, particularmente em secagem e purificação.

Os volumes de poro das zeólitas X e A, de quase $0,5 \text{ cm}^3/\text{cm}^3$, são os maiores conhecido para zeólitas e lhes dá uma distinta vantagem econômica nos processos de separação e purificação, onde a alta capacidade é essencial para o despenho econômico. A estrutura tridimensional dos canais dessas zeólitas, favorece ao máximo as características de difusão (RIBEIRO et al., 1984).

As zeólitas podem ser classificadas segundo seus cátions de compensação em 3A, 4A e 5A que apresentam como cátion de compensação, respectivamente: potássio, sódio e cálcio; com diâmetros respectivamente de: $3,2 \text{ \AA}$, $4,2 \text{ \AA}$ e $5,2 \text{ \AA}$ (BRECK, 1974).

As zeólitas X e A apresentam estruturas formadas pela união de octaedros truncados (β -cages) característicos de estruturas sodalitas. Nessas zeólitas, os átomos T's podem ser silício ou alumínio, porém a relação silício/alumínio é diferente. Na natureza encontra-se a Faujasita, que é estruturalmente análoga à zeólita X.

A célula unitária da zeólita X (Figura 9) é caracterizada por 8 octaedros truncados (sodalita ou cavidade beta, β -cage) conectados por meio de 16 prismas hexagonais (*double 6-ring*, D6R) pela união das faces hexagonais destes octaedros, formando assim uma grande cavidade com aproximadamente $13,7 \text{ \AA}$ de diâmetro livre (super-cavidade ou cavidade alfa, α -cage).



Figura 9. Estrutura da zeólita X (CIOLA, 1981).

A zeólita A (Figura 10) pode ser descrita em termos de dois tipos de poliedros: um é o simples arranjo cúbico de 8 tetraedros, as estruturas D4R (*double 4-ring*); o outro é um octaedro truncado de 24 tetraedros ou β -*cage*. Os octaedros truncados são ligados uns aos outros por intermédio das estruturas D4R. Desta forma os octaedros ocupam cada vértice da estrutura cúbica, formando no interior do cubo uma cavidade com um diâmetro livre de 11,4 Å. O diâmetro livre das cavidades β -*cages* é de 6,6 Å.

A célula unitária da zeólita A contém 192 tetraedros TO_4 (96 tetraedros SiO_4 e 96 tetraedros $(AlO_4)^-$). Normalmente a zeólita A é sintetizada na forma sódica, outras formas podem ser preparadas pela troca iônica em solução. A troca iônica provoca alterações no tamanho do poro da zeólita (BRECK, 1974).

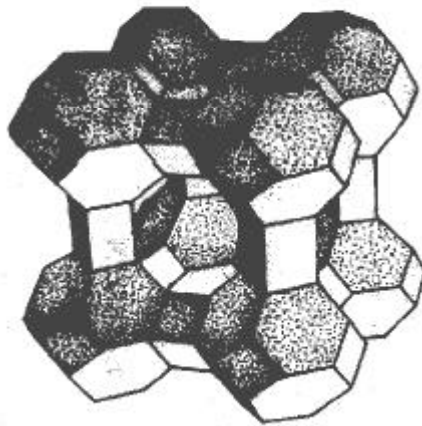
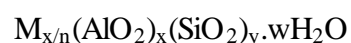


Figura 10. Estrutura da zeólita A (CIOLA, 1981).

2.4.3. Cátions de compensação das zeólitas

Como o alumínio é trivalente, a estrutura carrega uma carga negativa para cada átomo de alumínio. Esta carga é balanceada por cátions alcalinos e alcalinos terrosos, que não pertencem à estrutura cristalina, chamados de cátions de compensação, intersticiais ou intercambiáveis, que são livres para se mover nos canais da rede, e os íons da estrutura podem ser trocados por outros em solução. Os cátions de compensação, usualmente são Na^+ , K^+ ou Ca^+ .

A fórmula estrutural da zeólita pode ser representada por :



onde

M - o cátion de compensação

n - é a carga do cátion de compensação

w – o número de moles de água de hidratação

(x+y) – o número total de tetraedros por célula unitária

Define-se como célula unitária a menor estrutura capaz de representar a zeólita em questão, ou seja, a estrutura básica que se repete a longo do cristal (BRECK, 1974).

A estrutura microporosa da zeólita permite também a transferência de massa entre o espaço cristalino e o meio externo. Entretanto, a transferência de massa é limitada pelo diâmetro dos poros da estrutura zeolítica, nos quais só podem entrar ou sair moléculas cujas dimensões sejam inferiores a um certo valor crítico, o qual varia de acordo com o tipo de zeólita (GIANNETTO, 1990).

2.4.4. Relação sílica/alumina (SAR) na zeólita

A relação sílica/alumina ($\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$) na zeólita, que é igual a duas vezes a razão silício/ alumínio, é de grande importância nas propriedades físico-químicas desta. zeólitas com diferente SAR apresentam propriedades diferentes como: hidrofília, capacidade de troca iônica e estabilidade térmica.

As zeólitas com elevados valores de SAR, possuem grande quantidade de silício em sua estrutura, e conseqüentemente, pouco alumínio. O espaçamento entre os átomos de alumínio, devido ao reduzido número dos mesmos, promove a dispersão dos centros ácidos, aumentando a distância média entre os sítios adjacentes aniônicos (AlO_2) na estrutura zeolítica. Logo, zeólitas que apresentam tal dispersão em sua estrutura, acomodam com mais facilidade cátions monovalentes, aumentando a dificuldade de um cátion simples divalente em satisfazer os campos de dois sítios aniônicos adjacentes. Como resultado, nota-se que a preferência da zeólita por cátions divalentes diminui, aumentando a preferência por cátions monovalentes, na mesma proporção da diminuição da quantidade de alumínio (BARRER, 1978).

O efeito inverso é verificado para zeólitas que apresentam baixa razão sílica/alumina. Neste caso, a grande quantidade de alumínio na estrutura aproxima os centros ácidos, e conseqüentemente, as cargas negativas ficam muito próximas. Essa proximidade permite a acomodação de cátions polivalentes e altamente polarizados.

2.4.5. Troca iônica

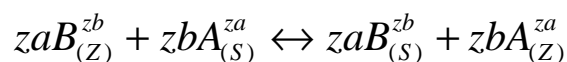
O processo de troca iônica envolve o contato de uma fase fluida livre (líquida ou gasosa) com uma fase rígida (sólida), no caso a zeólita, que possua propriedade de reter e guardar seletivamente espécies contidas inicialmente no fluido. No caso da zeólita, é utilizada uma solução contendo o cátion de interesse; e é então deixada a zeólita em contato com essa solução, em condições favoráveis para que ocorra a troca do cátion de compensação da zeólita, que possui mobilidade nos canais zeolíticos, pelo cátion em solução.

A troca iônica é governada por diversos fatores tais como: o efeito de peneira devido ao sistema de canais e cavidades, pela incapacidade dos cátions introduzidos de ocupar precisamente o mesmo lugar na estrutura ocupado pelo cátion trocado e capacidade de coordenação do íon metálico com os oxigênios da rede cristalina. As diferentes condições em que se realiza a troca são de grande importância pois ela influem diretamente na eficiência da troca.

O cátion de compensação atribui diversas propriedades à zeólita, assim, realizando-se a troca desse cátion é possível modificar suas propriedades.

As propriedades que podem ser modificadas são muitas, como: acidez, capacidade de adsorção, seletividade, área superficial, estabilidade térmica, atividade catalítica, abertura dos poros.

A troca iônica pode ser representada pela seguinte equação (BRECK, 1974):



Onde

z_a e z_b - são as cargas dos cátions A e B envolvidos na troca
subscritos “z” e “s” – referem-se à zeólita e à solução, respectivamente.

A capacidade de troca iônica está diretamente relacionada com a quantidade de alumínio presente na estrutura zeolítica. Logo, um parâmetro de muita importância é a razão molar de silício/alumínio da estrutura da zeólita.

2.4.6. Aplicação das zeólitas

Adsorção - Zeólitas são usadas para adsorver uma grande variedade de materiais. Isto inclui aplicações em secagem, purificação e separação. Elas podem remover água a baixas pressões parciais e têm poder dessecante muito eficiente, com uma capacidade de remover mais que 25% do peso em água. Podem remover substâncias químicas orgânicas voláteis de fluxos de ar, separar isômeros e misturas de gases.

Catálise – Zeólitas podem ser catalisadores seletivos, pela seletividade do estado de transição ou pela exclusão de reagentes competitivos, baseado no diâmetro molecular. Zeólitas também podem ser catalisadores ácidos e podem ser usadas como suporte para metais ativos ou reagentes. Elas também são usados como catalisadores de oxidação. A principal área de aplicação industrial é na refinação de petróleo, produção de aromáticos e produção de hidrocarbonetos. As zeólitas sintéticas são os catalisadores mais importantes em refinarias de petróleo.

Troca iônica – O maior volume de uso para zeólitas está em formulações de detergente onde elas substituíram o fosfato para diminuir a dureza da água. Elas fazem isto trocando o sódio da zeólita pelo cálcio e o magnésio presente na água.

São também utilizadas para a retirada de metais pesados em efluentes e na diminuição de radioatividade pela retirada de metais radioativos do meio.

2.5. Zeólita como adsorvente

2.5.1. Processos de adsorção interfase sólida-líquido.

Imagine uma interfase sólida-líquido constituída por um líquido puro em contato com um sólido. Devido à interação entre as moléculas do líquido com o sólido na interfase, ocorre uma certa orientação das mesmas. Em conseqüência, a estrutura na interfase e no seio da fase líquida torna-se diferente. A concentração de moléculas de líquido na interfase é, portanto, diferente da concentração no interior do líquido.

Quando essa fase líquido não é composta por um líquido puro, mas no caso em que se encontram presentes um ou mais solutos. Ocorre variações na concentração no interior

da solução, isso ocorre devido a uma interação entre as moléculas do líquido com o sólido ou uma interação dos solutos, ou especificamente um deles, com o sólido.

Esse fenômeno é denominado adsorção.

Numerosas reações entre substâncias são catalisadas por sólidos. Entre essas reações existem muitas que apresentam interesse industrial muito grande. Desse modo, o estudo das reações catalíticas heterogêneas, constitui uma das aplicações mais importantes da físico-química de superfícies.

A catálise heterogênea é o motivo, em parte, do estudo intensivo da adsorção. O objetivo é fazer com que uma reação se processe mais rapidamente na superfície do catalisador do que na fase homogênea. Porém, as reações na camada de adsorção podem ser unimoleculares, bimoleculares ou uma combinação dessas reações (RABOCKAI, 1979).

Dependendo da força de adsorção, isto é, da força das ligações que ocorrem entre as moléculas que estão sendo adsorvidas e o adsorvente, podemos diferenciar dois tipos principais de adsorção: adsorção física e adsorção química.

A adsorção física é aquela que envolve fenômeno de condensação ou atração por forças de Van der Waals. A adsorção química é aquela na qual formam-se ligações químicas entre o adsorvente e o adsorbato.

Destas definições, podemos ver que o conceito de adsorção é função do tipo de ligação química ou atração superficial (CIOLA, 1981).

2.5.2. Adsorção em zeólita

O uso de zeólitas como adsorventes, para executar grande número de separações e purificações, tornou-se firmemente estabelecido nas indústrias de processo químicos. Uma lista resumida das principais aplicações adsorventes, adaptada da última revisão de Anderson, Molecular Sieve Zeolite Conference em Chicago, está na Tabela 3.

Tabela 3. Aplicações industriais das zeólitas como adsorvente (baseado em RIBEIRO et al., 1984).

Purificação		Separação	
I.	Secagem - gás natural - gás de <i>cracking</i> - gás refrigerante em sistemas fechados	I.	Separação de parafinas
II.	Remoção de CO ₂ - gás natural - plantas criogênicas de separação de ar	II.	Separação de xileno
III.	Remoção de compostos sulfúricos - adoçamento de gases naturais e gás de petróleo liquefeito	III.	Separação de olefinas
IV.	Combate à poluição Remoção de Hg, NO _x , SO _x	IV.	O ₂ do ar
		V.	Separação de açúcares

É possível ver que as aplicações atuais se dividem em duas categorias, aplicações de purificação que em geral dependem da seletividade de superfície para moléculas polares ou moléculas polarizáveis; e separações, que são baseadas nos princípios de peneiras moleculares. Recentemente, as separações com zeólitas adsorventes foram estendidas para a fase líquida, sistemas aquosos na separação de misturas de frutose-dextrose-polissacarídeos (RIBEIRO et al., 1984).

2.5.3. Utilização de zeólita no tratamento do extrato aquoso de Stévia.

Existem poucos artigos publicados onde zeólitas foram usadas no processo com Stévia. Em uma patente japonesa, a zeólita foi utilizada na clarificação do extrato aquoso de Stévia, no entanto, o tipo de zeólita, condições ou a maneira como ocorre o processo

não é citada. Simplesmente é citado que a zeólita é colocada em contato com o extrato aquoso bruto de Stévia e após esse contato a solução obtida é concentrada ou cristalizada, de acordo com o produto final desejado (KODAKA, 1977).

Como foi citado anteriormente, recentemente as separações com zeólitas adsorventes foram estendidas para a fase líquida, sistemas aquosos na separação de misturas de frutose- dextrose-polissacarídeos (RIBEIRO et al., 1984).

SILVA (1998) trabalhou com zeólita, utilizando-a na separação da frutose no meio de síntese da dextrana e obteve sucesso em seus experimentos.

A idéia da utilização de zeólitas no processo com Stévia surgiu do conhecimento da utilização de zeólita na separação de outros glicosídeos com sucesso. Acreditava-se que a zeólita teria afinidade com os glicosídeos da Stévia, ou com pelo menos um deles especificamente. Poderia também ocorrer que os compostos responsáveis pela coloração tivessem preferência na adsorção e assim separar os glicosídeos da cor indesejada.

As formas cálcicas e bárias das zeólitas A e X foram escolhidas tendo como base o conhecimento de que essas formas são as que dão melhor resultados na separação glicose-frutose e frutose-dextrana. Tais são zeólitas baratas e muito utilizadas como adsorvente e por possuírem razão Si/Al pequena, o que proporciona uma maior quantidade de íons Ca e Ba na estrutura

No presente trabalho, foi feita a troca com íons de cálcio e bário em zeólita NaX, depois o extrato aquoso da folha de Stévia foi colocado em contato com as zeólitas NaX, CaX e BaX, sob as mesmas condições; com a finalidade de avaliar a influência desse contato na clarificação do extrato aquoso de Stévia .

No campo da clarificação do extrato aquoso de Stévia, o processo com zeólitas se mostra vantajoso pois: tem baixo custo, não deixa resíduos que podem ser nocivos e possui tecnologia operacional de fácil entendimento e aplicação.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Zeólitas de partida

As utilizadas zeólitas neste trabalho foram fornecidas pela Pluriquímica. São zeólitas do tipo Baylith da Bayer. Foram fornecidas amostras de zeólitas NaA em pó e NaX em pó e grão (1,0–4,0 mm).

3.1.1. Espectrofotometria de absorção atômica

As zeólitas de partida e as zeólitas modificadas, foram caracterizadas por espectrofotometria de absorção atômica. Nas zeólitas de partida foi determinada a razão Si/Al e nas modificadas a percentagem de troca realizada.

O procedimento de abertura (solubilização) das zeólitas seguiu a metodologia descrita por MACHADO (1995). A abertura das amostras constituiu-se em um ataque ácido de 0,250 g de amostra, em reator de *Teflon*, por 30 mL de uma mistura de H₂O, HNO₃, H₂F₂ na proporção de 2,5:1,0:2,5. O reator é então fechado e colocado em estufa com aeração forçada a 353K por 24 horas. As amostras são resfriadas e diluídas adequadamente.

As curvas padrão foram realizadas nos intervalos de:

0,25 - 1,5 µg sódio /mL, 100 - 300 µg silício /mL, 100 - 250 µg alumínio /mL, sendo utilizado padrão Merck para o preparo das soluções. Isso garante que a curva de calibração caia na faixa de validade da lei de Beer.

As amostras foram preparadas de modo que as concentrações previstas dos elementos a serem analisados estivessem dentro dos intervalos de concentração da curva padrão, as soluções foram analisadas em um espectrofotômetro Varian Spectra AA-10 Plus, utilizando-se de lâmpadas, condições específicas e com auxílio de uma curva padrão para quantificação do elemento desejado.

3.1.2. Medida de área superficial específica total

As medidas de área superficial específica total, foram feitas utilizando o aparelho CG200, cujo funcionamento baseia-se no método B.E.T.

As amostras foram colocadas no porta-amostras (tubo em “U”) e ativadas com fluxo de N₂ super seco, com vazão de 50 cm³/min por 2 horas à temperatura de 473 K. Utilizou-se do método dinâmico de medida de área, onde as amostras contidas no tubo em “U” foram submetidas a um fluxo da mistura de N₂-He (10% N₂) a diversas pressões.

A análise consistiu em imergir o tubo em “U” com as amostras em um recipiente contendo nitrogênio líquido para diversos valores de pressão. Após a imersão do tubo, houve a adsorção do nitrogênio na amostra no interior do tubo.

Na saída do tubo, um detector de condutividade conectado a um integrador, registrou o pico proporcional à quantidade de N₂ adsorvido pela amostra naquela pressão. Em seguida fez-se a dessorção do nitrogênio da amostra imergindo o tubo em “U” em água à temperatura ambiente. Repetiu-se este procedimento para diversas razões de P/P₀ (P₀ pressão de saturação do N₂ nas mesmas condições) menores que 0,3 (condições do método B.E.T.). A partir de relações entre a área dos picos e seus valores de P/P₀ foi possível obter o valor da área superficial.

3.1.3. Troca iônica do sódio pelo cálcio e pelo bário.

As zeólitas de partida foram: NaA em pó e NaX em pó e grão, com o tamanho das partículas variando entre 1,0 e 4,0 mm.

Foram feitas trocas iônicas do sódio pelo cálcio e pelo bário nas zeólitas de partida, trabalhando sempre com cloreto como ânion, o que facilita sua eliminação. Como sal de troca para fornecer os cátions a serem introduzidos na zeólita, foram utilizadas soluções de CaCl₂.2H₂O e BaCl₂.2H₂O.

A metodologia de troca foi a mesma utilizada por SILVA e MACHADO (1994). Ambas as trocas foram realizadas em um reator batelada.

A quantidade de íon utilizado na troca, foi baseado no número de equivalentes grama em Na₂O presente na zeólita, tomando-se uma razão em equivalentes de:

- cálcio, Ca⁺²/Na⁺ = 2
- bário, Ba⁺²/Na⁺ = 2

- Troca com Cálcio

- Sal de Cálcio (CaCl₂.2H₂O)- Definiu-se em 15% em peso o teor de sólidos no reator. Foi feita uma suspensão aquosa com zeólitas e colocada sob agitação magnética por 24 horas quando na forma pó e 1 hora quando na forma granulada. Esta diferença no tempo

de agitação, ocorre pois a agitação serve para desfazer os grumos de zeólitas presentes na suspensão, como a suspensão de zeólita na forma granulada não possui grumos, necessita de um tempo menor de agitação.

Fez-se então o ajuste do pH entre 5 e 6, com auxílio de uma solução HCl 6% (p/p). O reator foi colocado em placa de aquecimento com agitação magnética a 348 K. Após a estabilização da temperatura interna em 348 K; adicionou-se lentamente a solução de 16% de cloreto de cálcio, sendo a mistura deixada em agitação por 24 horas.

- Troca com Bário

- Sal de Bário ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)- Definiu-se em 10% em peso o teor de sólidos no reator. Foi feita uma suspensão aquosa com zeólitas e colocada sob agitação por 24 horas quando na forma pó e 1 hora quando na forma granulada. Fez-se então o ajuste do pH entre 5 e 6 com auxílio de uma solução HCl 6% (p/p). O reator foi colocado em placa de aquecimento com agitação a 348 K. Após a estabilização da temperatura interna em 348 K; adicionou-se lentamente a solução de 20% de cloreto de bário, sendo a mistura deixada em agitação por 24 horas.

Para ambas as trocas, decorridas 24 horas a suspensão foi filtrada em funil de Büchner em trompa de vácuo. A torta foi lavada três vezes, sendo a 1ª lavagem com solução de sal igual à adicionada na suspensão e a 2ª e 3ª lavagem com a mesma quantidade de água deionizada usada na dissolução do sal. As lavagens foram realizadas à mesma temperatura da troca. Depois de lavada, a torta foi colocada para secar a 393 K por 24 horas.

Nas amostras onde a zeólita se apresentava na forma de grãos foi necessário a realização de três procedimentos de troca iônica, para se alcançar a percentagem de troca equivalente à amostras em pó.

3.2. *Stevia Rebaudiana* Bertoni

3.2.1. Preparo do extrato aquoso de folhas secas de *Stevia rebaudiana* Bertoni

Para os experimentos realizados foram utilizadas folhas de Stévia, fornecidas pela Steviafarma S.A.

O extrato aquoso foi feito na proporção de 1:10; a água foi aquecida a 328 K e então misturada às folhas de Stévia e deixado em infusão por 30 minutos. Após esfriar, o extrato aquoso foi então filtrado, em papel de filtro quantitativo de filtração média.

As características do extrato aquoso de folhas de Stévia, sofrem variações devido às naturais variações que ocorrem com as folhas com o qual o extrato é feito. As características da folha variam conforme o clima, solo e tudo o que pode alterar a planta.

Todos os testes foram feitos com extrato aquoso de folhas de Stévia sempre recém preparado.

3.2.2. Método Fenol- Sulfúrico para carboidratos totais

Para determinação dos princípios adoçantes da folha de Stévia, utiliza-se o Método Fenol- Sulfúrico para carboidratos totais e a correlação que existe entre carboidratos totais e glicosídeos da folha de Stévia (ALVAREZ et al., 1986).

Os reagentes utilizados foram: Ácido Sulfúrico Concentrado (PA), soluções aquosas de Glicose (4,5 p/p), Fenol (5%), e Ácido Clorídrico (6%).

Um volume de 10µL extrato aquoso de folha de Stévia, a ser analisado, foi diluído em 10mL de água. 500µL do extrato diluído foi misturado, em tubos de ensaio, com 500µL de solução de Fenol 5%, adicionou-se então de uma só vez 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Foi utilizado um padrão de glicose de 4,5% (p/p) nas mesmas condições.

Amostra = 500µL Fenol 5% + 500µL amostra diluída + 2,5mL ácido sulfúrico concentrado

Padrão = 500µL Fenol 5% + 500µL Glicose 4,5%(p/p) + 2,5mL ácido sulfúrico concentrado

Branco = 500µL Fenol 5% + 500µL água + 2,5mL ácido sulfúrico concentrado

A mistura foi deixada em repouso por 10 - 15 minutos e a cor desenvolvida foi medida em Espectrofotômetro a 490 nm contra o Branco (contendo água). A leitura da absorbância foi feita em triplicata.

O conteúdo de carboidratos totais na folha de Stévia é calculado pela seguinte Equação (1):

$$CHT \text{ (g / 100 mL)} = \frac{A_A}{A_P} \times 4,5045 \quad (1)$$

onde:

CHT - teor carboidratos totais em g/ 100 mL de solução

A_A - absorvância amostra

A_P - absorvância padrão

O desenvolvimento dessa equação encontra-se no Apêndice 1.

3.2.3. Método dos sólidos solúveis totais

Os sólidos solúveis totais em uma solução são determinados pelo Refratômetro. Para as análises foi utilizado Refratômetro Atago-N1 (Brix 0-32 % \pm 0,10), da Steviafarma, que fornece o valor percentual de sólidos solúveis presentes, em grau Brix.

3.2.4. Método de cálculo da clarificação do extrato de *Stevia rebaudiana* Bertoni

Foi feita uma curva de calibração do extrato aquoso de *Stévia* a 420 e 670 nm, absorvância *versus* concentração. O extrato aquoso de *Stévia* foi preparado na proporção 1:10 e apresentou Brix = 4,0 %.

Quando temos uma solução com compostos estranhos corados, para uma boa análise de absorvância é vantajoso obter, à partir da curva de calibração, um gráfico que obedeça a lei de Beer, onde a absorvância é diretamente proporcional à concentração.

O trecho da curva a ser utilizado a partir da curva de calibração, será o que fornecer um gráfico mais próximo da linearidade, com boa inclinação mas que deve, no entanto, passar pela origem. Uma maior inclinação da reta proporciona melhores resultados, pois trabalha-se com uma faixa mais ampla de valores. Com isso teremos uma solução que obedece à lei de Beer, conforme ilustra a Figura 11 (WILLARD et al., 1974).

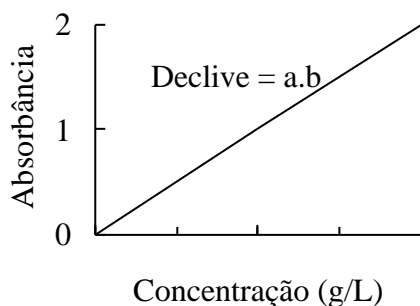


Figura 11. Representação gráfica da lei de Beer (baseada em WILLARD et al., 1974).

Os dados a 420 nm e 670 nm estão representados na Figura 12.

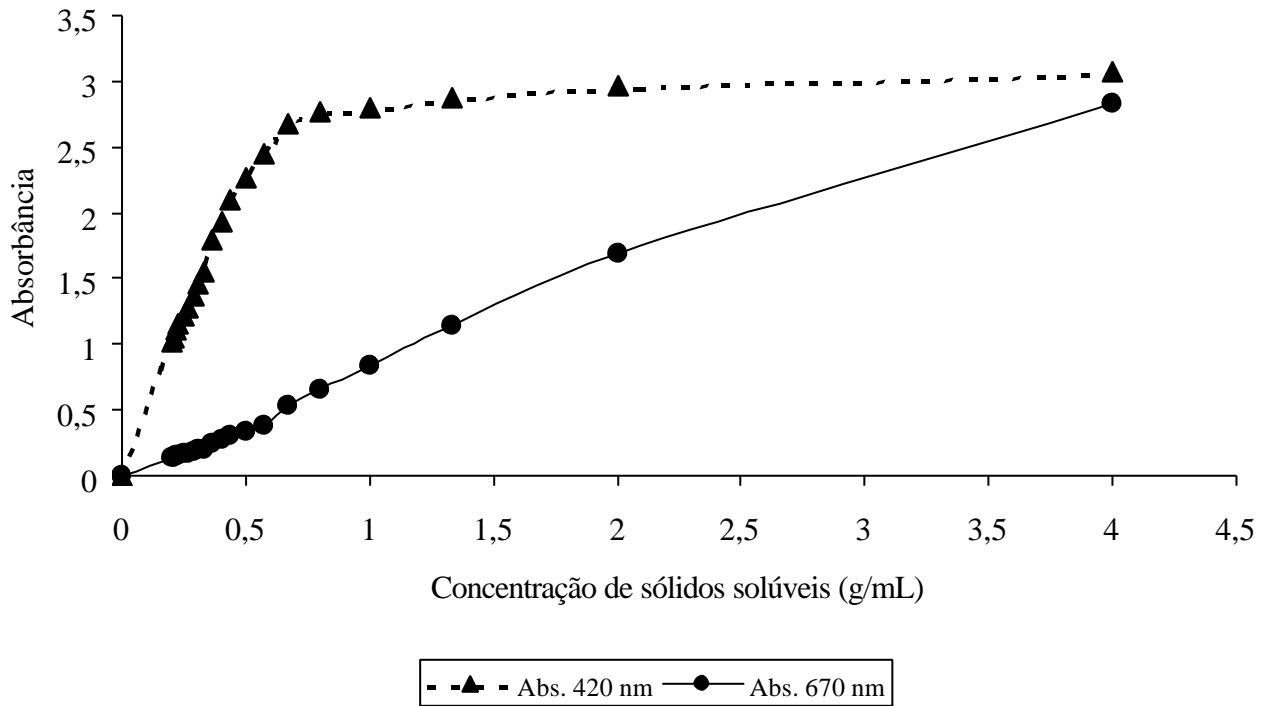


Figura 12. Absorbância *versus* concentração do extrato de Stévia, em 420nm e 670 nm.

Dessa forma as retas utilizadas para os cálculos são as apresentadas nas Figuras 13 e 14. Essas retas representam o melhor ajuste segundo a lei de Beer.

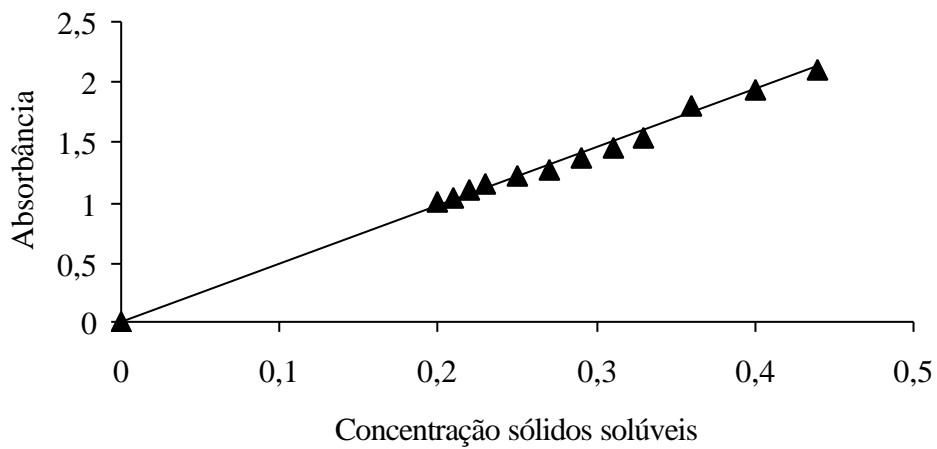


Figura 13. Absorbância *versus* concentração em 420 nm.

O melhor ajuste dos pontos para 420 nm está representado na Equação (2):

Correlação= 0,9943

Abs. = 4,8415. Conc (2)

onde Abs. – absorvância lida

Conc. – concentração de sólidos solúveis no extrato de Stévia

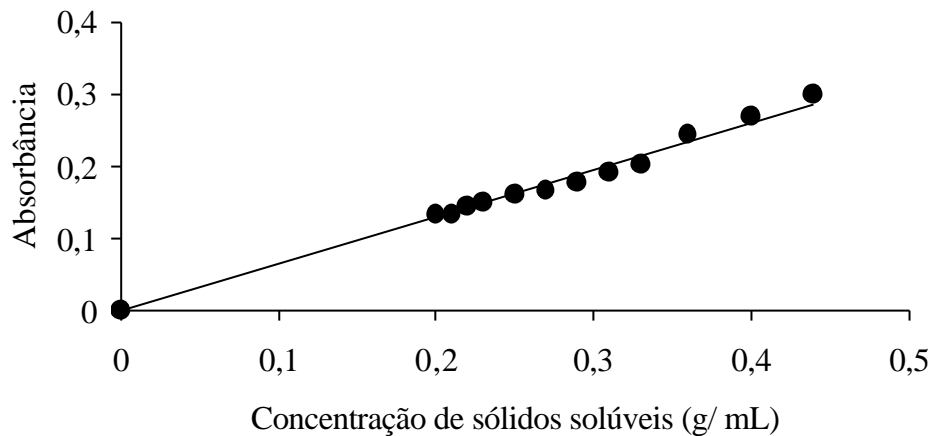


Figura 14. Absorbância *versus* concentração em 670 nm.

O melhor ajuste dos pontos para 670 nm está representado na Equação (3):

Correlação= 0,9866

Abs. = 0,6514. Conc. (3)

Para o cálculo da clarificação do extrato, após o contato com a zeólita, é feita uma análise de absorvância. Utiliza-se uma correlação que existe entre absorvância e clarificação (FUH e CHIANG, 1990). Os pigmentos na solução foram analisados por medida de absorvância nos comprimentos de ondas 420 nm e 670 nm, comprimento de onda da absorvância máxima dos pigmentos. A percentagem de clarificação é calculada pela Equação (4):

$$\% \text{Clarificação} = \left(1 - \frac{(A_{420}(\text{ou}A_{670}))_{\text{depois}}}{(A_{420}(\text{ou}A_{670}))_{\text{antes}}} \right) \cdot 100 \quad (4)$$

onde:

A_{420} ou A_{670} antes - absorvância da amostra, nos respectivos comprimentos de onda 420 e 670 nm, antes da purificação

A_{420} ou A_{670} depois - absorvância da amostra após a purificação

As medidas de absorvância foram feitas em triplicatas, em todos os testes.

3.2.5. Identificação de açúcares por cromatografia em papel

Cromatografia em papel é um método simples e rápido para a separação e identificação de açúcares, mesmo em pequenas quantidades. A identificação é feita por comparação da migração em determinados sistemas do composto a ser identificado, com a migração de compostos conhecidos. Essa identificação pode ser feita comparando-se o R_f do composto desconhecido com o R_f dos padrões.

R_f = relação entre a distância percorrida pelo composto e a distância percorrida pelo solvente.

$$R_f = \frac{\text{distância percorrida pelo açúcar}}{\text{distância percorrida pelo solvente}}$$

$$RF = R_f \times 100$$

Como os açúcares são compostos incolores, reações de cor, algumas específicas, são usadas para a revelação dos cromatogramas.

Em uma folha de papel Whatman n° 1 ou similar de 23 x 57 cm, traçou-se com um lápis uma linha paralela e a 6 cm da borda mais estreita do papel; nessa linha colocou-se 6 marcas, distanciadas entre si de 2 a 3 cm, sendo que a primeira e a última marca estavam a pelo menos 2,5 cm da borda mais longa do papel. Molhou-se o papel com ácido bórico 0,3 M, deixou-se secar o papel ao ar livre. Depois do papel seco, colocou-se as amostras usando capilares, aproximadamente 5 μ L de cada solução de açúcares a serem identificadas e o padrão. Deixou-se as manchas secarem e colocou-se o papel em câmara para cromatografia descendente previamente saturada com o solvente. Desenvolveu-se o cromatograma com acetato de etila – isopropanol - água (6:3:1 v/v), até que a frente do solvente percorresse aproximadamente 40– 45 cm do papel (BOBBIO e BOBBIO, 1995 b).

Tirou-se o cromatograma da cuba, marcou-se a frente do solvente, deixou-se secar. Para revelar banhou-se o papel em solução reveladora, previamente preparada de : 400 mL acetona, 4 g difenilamina, 8 mL anilina, 40 mL de ácido fosfórico. Prendeu-se o papel em

forma circular e deixou-se secar ao ar livre. Após 24 horas, colocou-se em estufa a 383 K, por aproximadamente 5 minutos até a revelação (DOSSIÊ TÉCNICO, 1984).

3.2.6. Análise sensorial

No estudo e desenvolvimento de produtos alimentícios, normalmente há a necessidade de se confiar nos sentidos humanos: paladar, olfato, visão e tato; para avaliar a qualidade dos alimentos. Isto se deve ao fato de não se conhecer um método objetivo satisfatório para medida de características como sabor, que têm grande importância na aceitabilidade do produto, por parte do consumidor.

São também vários os procedimentos de laboratório e de mercado para a seleção de provadores, para coleta e preparo de amostras, análise dos resultados, conclusão e tomada de decisões, daí ocorrer que o trabalho de um grupo de pesquisadores pode não coincidir com o outro.

O principal objetivo da avaliação sensorial é fornecer informações sobre o efeito dos “tratamentos experimentais” em uma população particular. Esse efeito, normalmente, é descrito como uma alteração particular ou diferenças em uma resposta, que são medidas e analisadas, usando métodos estatísticos. A exatidão e segurança da informação, fornecida pelo estudo sensorial, dependerá: da seleção, do procedimento, do teste apropriado para o caso, da seleção apropriada do teste e da análise dos resultados.

Os testes sensoriais exigem controles especiais de várias classes. Se tais cuidados não são observados, os resultados obtidos podem ser tendenciosos ou ter sua segurança reduzida. Muitos desses controles dependem ou são afetados por condições físicas, nas quais os testes são conduzidos. Assim, por exemplo, para testes em laboratório, devem ser eliminados estímulos de odores estranhos, distração psicológica e providenciar conforto geral para o desenvolvimento do trabalho (CHAVES, 1980).

3.2.6.1. Seleção dos provadores pelo Método de Ordenação

Os provadores foram selecionados dentre os funcionários da Steviafarma.

Os candidatos provadores utilizaram o Método de Ordenação (MORAES, 1983) para avaliar as amostras e foram escolhidos segundo o método da Amplitude.

As amostras dadas aos candidatos no período de seleção foram soluções de sacarose, com concentrações variando de 2% à 6%.

Os candidatos a provadores foram submetidos a testes, com três amostras em cada teste. Os candidatos foram instruídos a dar notas:

nota 1 atribuída à mais diluída

nota 2 para a amostra intermediária

nota 3 para a amostra mais concentrada.

Cada provador recebeu fichas conforme o modelo a seguir (Figura 15), onde transcreveram as notas.

TESTE DE ORDENAÇÃO		
Nome: _____ Data: ____/____/____		
Ordene as 3 (três) amostras em relação à doçura de acordo com os valores.		
1- Menos doce	2- Intermediário	3- Mais doce
Número da amostras	Ordenação	
_____	_____	
_____	_____	
_____	_____	

Figura 15. Ficha utilizada na seleção dos provadores (Teste de ordenação).

Para os testes foram preparadas várias combinações de amostras de solução de sacarose codificadas, para que o candidato não identificasse concentração da solução ou fosse influenciado.

Foram preparadas três baterias de testes, com variação tanto nas concentrações como no intervalo entre as amostras, para uma melhor verificação da acuidade dos provadores

1° Teste – Soluções de sacarose, com concentrações de 2 %, 4 % e 6%.

Combinação referente às concentrações utilizadas no primeiro teste.

Amostras	A	B	C
S1₁	2,0 %	4,0 %	6,0 %
S1₂	2,0 %	6,0 %	4,0 %
S1₃	4,0 %	2,0 %	6,0 %
S1₄	4,0 %	6,0 %	2,0 %
S1₅	6,0 %	2,0 %	4,0 %
S1₆	6,0 %	4,0 %	2,0 %

2° Teste – Soluções de sacarose, com concentrações de 2 %, 3 % e 4%.

Combinação referente às concentrações utilizadas no primeiro teste.

Amostras	A	B	C
S2₁	2,0 %	3,0 %	4,0 %
S2₂	2,0 %	4,0 %	3,0 %
S2₃	3,0 %	2,0 %	4,0 %
S2₄	3,0 %	4,0 %	2,0 %
S2₅	4,0 %	2,0 %	3,0 %
S2₆	4,0 %	3,0 %	2,0 %

3° Teste – Soluções de sacarose, com concentrações de 2 %, 2,5 % e 3%.

Combinação referente às concentrações utilizadas no primeiro teste.

Amostras	A	B	C
S3₁	2,0 %	2,5 %	3,0 %
S3₂	2,0 %	3,0 %	2,5 %
S3₃	2,5 %	2,0 %	3,0 %
S3₄	2,5 %	3,0 %	2,0 %
S3₅	3,0 %	2,0 %	2,5 %
S3₆	3,0 %	2,5 %	2,0 %

O critério para a seleção era de o candidato ter um índice de acerto o mais próximo possível de 100%.

3.2.6.2. Análise sensorial pelo Método de Comparação Pareada.

Nesse teste foi utilizado o Método de Comparação Pareada (CHAVES, 1980). Este teste baseia-se no princípio de que a preferência de certa amostras sobre outra é manifestada quando duas amostras são comparadas diretamente. São sempre comparadas duas amostras de cada vez.

Pelo Método de Comparação Pareada, pelo procedimento geral, apresenta-se aos provadores primeiro a amostra de referência (padrão), que é imediatamente seguida pela amostra desconhecida. Solicita-se do provador uma análise da amostra.

A probabilidade do provador, em cada comparação, fazer uma escolha correta ou incorreta, é de $\frac{1}{2}$ ou 50%. A significância dos resultados pode assim ser determinada pela soma das comparações feitas e pelo número total de identificações corretas.

Cada provador recebeu fichas conforme o modelo a seguir (Figura 16), onde transcreveram as preferências e comentários.

TESTE DE COMPARAÇÃO PAREADA		
Nome: _____ Data: ____/____/____		
Você irá receber uma amostra padrão marcada com um “P” e outra amostra.		
Compare a amostra com o padrão e indique se é melhor, igual ou pior em relação ao sabor. E se quiser faça comentários quanto ao odor, cor e outros.		
Melhor	Igual	Pior
Comentários: _____		

Figura 16. Ficha utilizada na análise sensorial do extrato de Stévia (Teste de Comparação Pareada).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização das zeólitas

4.1.1. Determinação da razão silício/alumínio

As zeólitas utilizadas foram: NaA em pó e NaX em pó e grão; ambas do tipo Baylith da Bayer do Brasil S.A., o tamanho das partículas: 1,0–4,0 mm, quando na forma de grãos.

Pela Espectrofotometria de Absorção Atômica foi determinada a composição química média por peso das zeólitas. Para as análises foi utilizado equipamento Varian Spectra AA-10 Plus. Os resultados estão na Tabela 4:

Tabela 4. Composição das zeólitas NaX e NaA.

Zeólita	% Al₂O₃	%SiO₂	%Na₂O	Razão Si/Al
NaA	35,9	43,3	20,8	1,02
NaX	30,3	52,6	17,1	1,47

4.1.2. Área superficial específica das zeólitas

As medidas de área superficial específica total foram feitas utilizando o aparelho CG200, cujo funcionamento baseia-se no método B.E.T.

Foram feitas medidas antes e depois da troca, com o íon de cálcio e bário. Nas zeólitas granuladas, como os grãos apresentavam-se em diversos tamanhos (1-4 mm), optou-se por uma amostragem manual, onde foi selecionado o menor e o maior grão para a medida da área superficial específica.

Os resultados estão nas Tabelas 5 e 6, onde é possível notar que após a troca iônica com o bário houve uma diminuição área superficial da zeólita, enquanto que na troca iônica com cálcio houve um aumento significativo na área superficial das zeólitas. Isso já era esperado, uma vez que o íon cálcio provoca um alargamento nos poros da zeólita.

Tabela 5. Área superficial específica da zeólita NaX e BaX.

Zeólita	Área superficial específica (m²/g)
NaX	388,0
BaX	327,0

Tabela 6. Área superficial específica das zeólitas NaX e CaX.

Zeólita	Área superficial específica (m²/g)
NaX ₁	388,0
NaX ₂	390,0
CaX ₁	862,0
CaX ₂	864,0

Os subscrito, significam:

1 – grão de menor diâmetro

2 - grão de maior diâmetro

É possível ver pela Tabela 6, que o tamanho do grão não afeta a área superficial específica, tanto da zeólita na forma sódica quanto da zeólita modificada.

Apesar de o fabricante da zeólita afirmar que não existe nenhum material ligante na zeólita granulada, existe a possibilidade das medidas de área superficial específica terem sido afetadas por impurezas ou possíveis ligantes, que seriam lixiviados durante o processo de troca, aumentando de maneira significativa a área superficial específica nas amostras granuladas.

4.2. Teste de afinidade com os glicosídeos da *Stevia rebaudiana* Bertoni.

A idéia da utilização de zeólitas no processo com *Stévia* surgiu do conhecimento da utilização de zeólita na separação de outros glicosídeos (glicose, frutose) com sucesso. Acreditava-se que a zeólita teria afinidade com os glicosídeos da *Stévia*, ou com pelo menos um deles especificamente. Poderia também ocorrer que os compostos responsáveis pela coloração tivessem preferência na adsorção e assim, poder-se-ia separar os glicosídeos da cor indesejada.

Há trabalhos publicados (KODAKA, 1977) na qual zeólita foi aplicada em processos com Stévia, sem explicar no entanto como se dá o tratamento. A principal dificuldade encontrada foi a falta de referências sobre o assunto, tornando a pesquisa praticamente inédita.

Primeiramente foi feito um teste para verificar a afinidade das zeólitas por glicosídeos da Stévia. Como esteviosídeo e rebaudiosídeo A estão em maior quantidade na folha de Stévia (esteviosídeo 5-10 %, rebaudiosídeo A 2-4 %), eles foram utilizados nos testes iniciais. Foram utilizadas soluções puras desses glicosídeos (fornecidos pela Steviafarma). Foi feita uma suspensão com solução desses glicosídeos puros e zeólita, onde essa solução entrou em contato direto com as zeólitas NaX, NaA, CaA, BaA, CaX, BaX.

A primeira análise utilizada para determinar a influência do contato da solução de glicosídeos puros com a zeólita foi a de identificação de açúcares por cromatografia em papel. Os primeiros resultados não mostraram qualquer alteração devido ao contato. Por ser a primeira vez que esse método de análise era usado, acreditou-se que poderia ter havido algum problema durante a análise. Foram variados então alguns parâmetros da análise, tais como: concentração e quantidade das amostras aplicadas no papel, quantidade de solvente na cuba, tempo de contato do papel com o solvente e tempo de revelação. Mesmo com essas variações, a análise não indicou qualquer alteração na solução desses glicosídeos após o contato.

Para garantirmos que o problema não era com a análise, optamos por outra análise, a análise do fenol sulfúrico para carboidratos totais (CHT), análise essa que mostrou que não houve qualquer alteração no extrato devido ao contato com a zeólita, ou seja, o CHT antes do contato era igual após o contato, o que significa que o conteúdo de glicosídeos na solução final era o mesmo que na solução inicial. Portanto, não se verificou a afinidade das zeólitas pelos glicosídeos da Stévia.

4.3. Teste com zeólitas modificadas em contato com extrato aquoso de *Stevia rebaudina* Bertoni

Uma vez que os resultados com os glicosídeos puros não foram satisfatórios, optou-se por testar o extrato aquoso de Stévia.

As zeólitas modificadas foram colocadas em contato com o extrato aquoso de Stévia e foram feitos testes em batelada, à temperatura ambiente e com tempo de contato de 24 horas. Passado esse tempo de contato a solução foi filtrada.

As zeólitas CaA e BaA não alteraram nenhuma característica do extrato aquoso; mas as zeólitas CaX e BaX clarificaram o extrato aquoso, ficando estas carregadas de pigmentos. É possível notar, pela Tabela 7, que a variação no CHT não é significativa, isto é muito importante, pois demonstra que os glicosídeos extraídos inicialmente da folha de Stévia não sofreram alterações devido ao contato com a zeólita. A variação no Brix é devida à retirada das substâncias responsáveis pela cor, resultando na diminuição da densidade do extrato. Com esse teste foram descartadas as zeólitas CaA, BaA e BaX; restando somente a zeólita CaX, que produziu resultados positivos, com a qual foram feitos outros testes.

Tabela 7. Resultado do contato zeólita/extrato aquoso de Stévia, testes em batelada, a temperatura ambiente com tempo de contato de 24 horas.

Amostra	Padrão	CaX	BaX
% Brix	4,2	3,1	3,8
CHT (g/100 mL)	1,602	1,519	1,474
% redução Brix	-	26,2	9,5
% redução CHT	-	5,2	8,0
OBS.	-	Não alterou as características do extrato	Tornou o sabor do extrato salino.

Como é possível observar pela Tabela 7, a zeólita CaX não alterou significativamente o CHT e não alterou sabor do extrato, enquanto que a zeólita BaX tornou o sabor do extrato salino. Essa alteração provocada pela zeólita BaX, possivelmente se deve ao fato de a zeólita ter liberado íons de bário quando colocada em contato com o extrato de Stévia.

4.4. Análise da eficiência da troca iônica

Com o primeiro teste foi possível notar que o processo de separação da zeólita em pó é difícil, por esse motivo foi feita troca iônica com a zeólita NaX na forma de grãos. E na tentativa de obter a mesma percentagem de troca iônica obtida na zeólita em pó, foram necessárias três trocas iônicas consecutivas na zeólita em forma de grãos.

Notou-se que o ajuste do pH deve ser feito muito lentamente, pois uma concentração alta de ácido em solução faz com que os grãos se desfaçam.

A eficiência da troca iônica (SILVA, 1998) é calculada pela percentagem de cátions de sódio trocado (PST), que é dada pela Equação (5):

$$\text{PST} = \frac{(\text{concentração inicial sódio} - \text{concentração final sódio}) \times 100}{\text{concentração inicial de sódio}} \quad (5)$$

Tabela 8. Percentagem de Troca Iônica, zeólita BaX em pó.

Zeólita	PST
BaX (pó)	83,6 %

A Tabela 8 mostra a eficiência de troca iônica na zeólita BaX na forma de pó, que é aproximadamente semelhante à obtida com a zeólita CaX.

Tabela 9. Percentagem de troca iônica, zeólita CaX granulada e em pó.

Zeólita	PST
CaX (pó)	86,4 %
CaX(grãos)	84,0 %

Pelo resultado mostrado na Tabela 9, é interessante notar que a troca iônica mostra a mesma eficiência tanto na zeólita na forma de pó quanto na forma de grãos, sendo as trocas iônicas sucessivas suficientes para se alcançar o mesmo patamar de troca. Os resultados são mostrados na Tabela 10:

Tabela 10. Percentagem de troca iônica nas etapas da troca consecutiva, zeólita CaX grãos.

Troca	PST
Primeira	18,2 %
Segunda	77,0 %
Terceira	84,0 %

Durante a troca iônica a zeólita vai se tornando ácida, sendo que na terceira troca não é necessária a correção do pH. Ocorreu uma variação do pH de 12 à 6 entre a primeira e a última troca. O fabricante da zeólita afirma que não existe nenhum material ligante na zeólita granulada, contudo existe a possibilidade desse tipo de material estar presente e influenciar no pH da zeólita.

No final da troca iônica uma parte das zeólitas granuladas tornou-se pó, devido à agitação e ao ajuste de pH, restando aproximadamente 60 % de massa de zeólita na forma granulada no final das três trocas iônicas consecutivas.

4.5. Efeito da variação da massa de zeólita

Foram feitos testes batelada com amostras de zeólitas CaX, com a massa de zeólita variando de 10 à 60 % em solução de extrato aquoso de Stévia, com CHT inicial de 1,593 g/100mL.

As amostras foram colocadas em banho termostático, com agitação a 303 K por 1 hora. A variação da % clarificação foi observada a 420 nm e 670 nm, os resultados são apresentados na Figura 17.

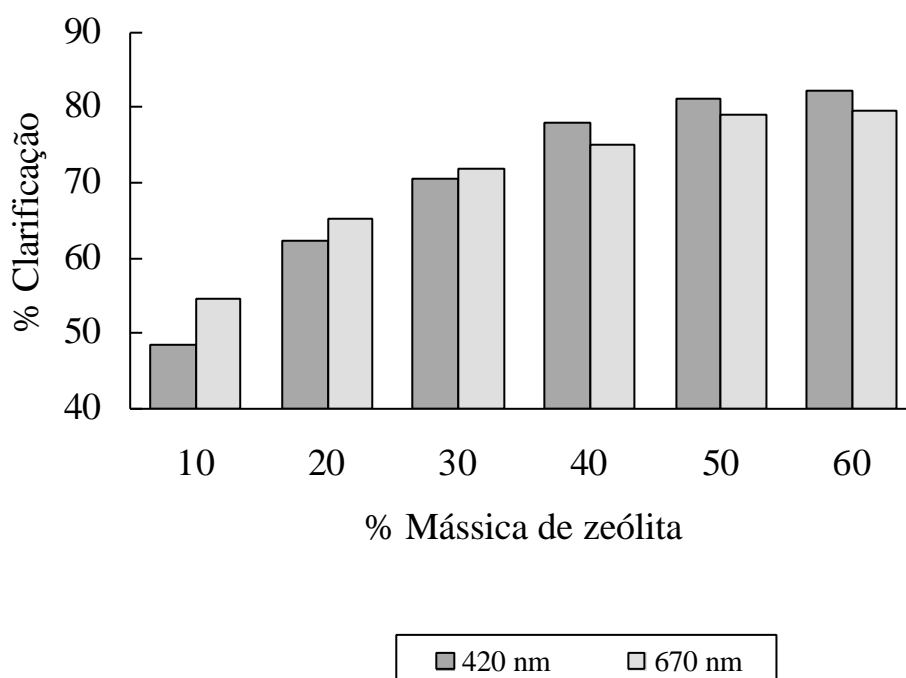


Figura 17. Clarificação variando a massa de zeólita (teste batelada), com agitação a 303 K por 1 hora.

Pela Figura 17 é possível notar que a massa de 40% de zeólita CaX em solução é a massa ideal para o processo de clarificação do extrato aquoso de Stévia, pois a partir desse valor o acréscimo na percentagem de clarificação não compensa o aumento da quantidade relativa de zeólita.

É possível observar pela Figura 17, que até 30% de zeólita em solução, a zeólita tem maior efeito sobre a concentração dos pigmentos com absorvância máxima a 670 nm, de 40% à 60% nota-se que ocorre uma inversão.

Foi avaliado também a influência da agitação no processo de clarificação, na Tabela 11, está apresentada a porcentagem de clarificação obtida com 40% de zeólita CaX em solução, com agitação e tempo de 1 hora e sem agitação com tempo de 24 horas. A agitação foi realizada em agitador magnético (coloque a marca e o número no botão de agitação)

Tabela 11. Influência da agitação, no processo de clarificação .

Amostra	Tempo	% Clar. l = 420 nm	% Clar. l = 670 nm
Com agitação	1 hora	77,9	75,0
Sem agitação	24 horas	74,9	64,7

Observa-se pela Tabela 11, que o processo com agitação produz uma clarificação melhor com menor tempo.

4.6. Efeito do tamanho das partículas de zeólita na porcentagem de clarificação

Foi colocada em contato a zeólita CaX com o extrato aquoso de folha de Stévia, formando uma suspensão a 40% de zeólita CaX. O tempo de contato foi 24 horas, à temperatura e pressão ambiente.

Pela Tabela 12, observa-se que a clarificação obtida com a zeólita CaX granulada é semelhante à obtida com a zeólita CaX em pó. Dessa forma torna-se interessante trabalhar com a zeólita CaX granulada, visto que a separação, desta do sistema é mais fácil.

É possível notar pela Tabela 12, que tanto a zeólita em pó quanto a granulada, nessa concentração (40% de zeólita em solução) tiveram maior efeito sobre a concentração dos pigmentos com absorvância máxima a 420 nm.

Tabela 12. Teste com zeólita CaX granulada e em pó, tempo de contato de 24 horas, à temperatura e pressão ambiente.

Amostra	Extrato Padrão	Extrato +CaX pó	Extrato + CaX grão
pH	5,60	5,80	5,80
Brix (%)	4,0	3,0	3,2
CHT (g/ 100 mL)	1,580	1,497	1,502
% red. Brix	-	25,0	20,0
% red. CHT	-	5,25	4,94
%Clar. l = 420nm	-	81,3	80,8
%Clar. l = 670nm	-	70,2	69,8

4.7. Teste com zeólita CaX granulada com variação de temperatura

Foram feitos teste variando-se a temperatura de 303 K à 343 K (de dez em dez graus), a pressão ambiente, com agitação em banho termostático e tempo de contato de 1 hora em cada temperatura.

Pela Tabela 13 é possível notar que o aumento da temperatura não favorece o processo de clarificação do extrato aquoso de Stévia, sendo portanto a temperatura ótima de trabalho a ambiente.

Tabela 13. Variação da temperatura de operação, à pressão ambiente, com agitação em banho termostático.

T (K)	% Clar. l = 420 nm	% Clar. l = 670 nm
303	83,6	71,5
313	81,3	70,7
323	79,5	69,6
333	78,9	68,5
343	78,3	68,1

4.8. Efeito do tempo de contato

Com o objetivo de se verificar a influência do tempo de contato, foram realizados testes com intervalos de minutos, com zeólita CaX granulada em banho termostático com agitação.

Neste teste a temperatura e percentagem de zeólita foram mantidas constantes, sendo variado apenas o tempo de contato. É possível notar pela Figura 18 que o tempo de processo necessário para se atingir o equilíbrio é de 90 minutos a 670 nm e de 120 minutos a 420 nm. O que facilita a operação, viabilizando o processo.

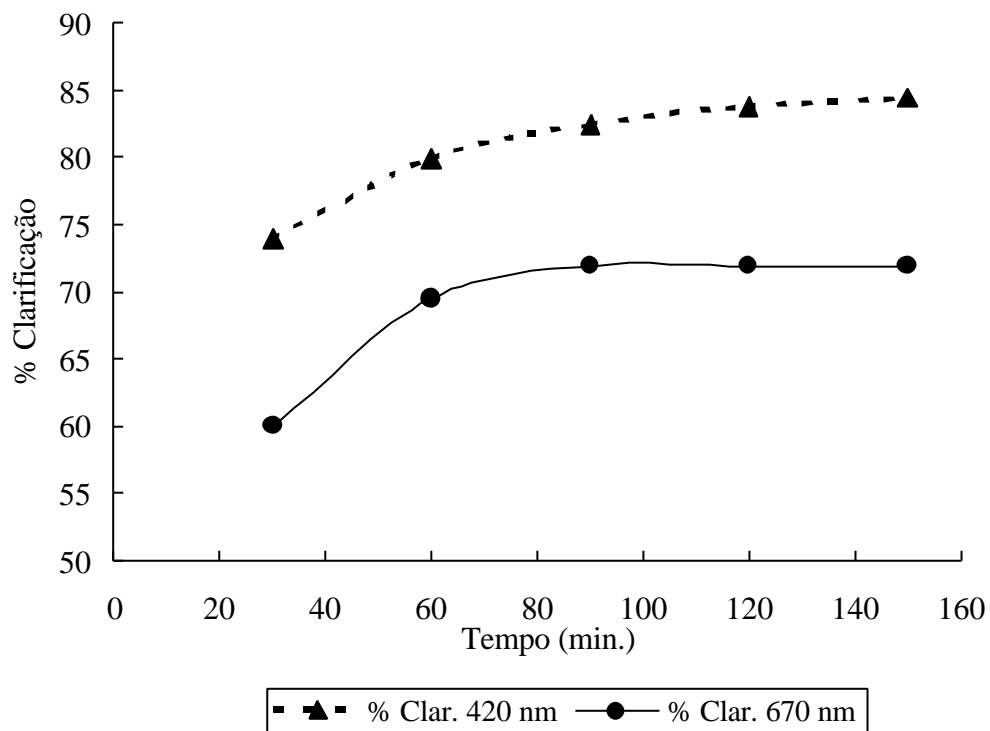


Figura 18 Tempo de clarificação (teste batelada), teste em banho termostático com agitação.

4.9. Regeneração das zeólitas

Para se alcançar esse objetivo a meta foi a limpeza visual dos grãos de zeólita, que após a clarificação do extrato apresentam-se esverdeada. Foi utilizada nesse teste a zeólita CaX granulada, que teve anteriormente um primeiro contato com extrato de Stévia, com

tempo de contato de 90 minutos, temperatura ambiente e sob agitação, e obteve a percentagem de clarificação aproximadamente igual à citada no teste anterior.

A idéia inicial foi a lavagem com água deionizada e após diversos experimentos conclui-se que a zeólita pode ser reutilizada, mas para a reutilização é necessário que, uma vez usada, a zeólita seja lavada com água quente, retirando assim a maior quantidade possível dos pigmentos que ficaram retidos no primeiro contato da zeólita com o extrato aquoso de folhas de Stévia. Depois de lavada, a zeólita é então seca a 393 K por 24 horas, depois de seca e resfriada está pronta para ser reutilizada. Mesmo assim a zeólita não é totalmente regenerada, pois mantém coloração residual. Há resíduos que, no entanto, pouco influem na sua reutilização.

Foram feitos testes com a zeólita lavada, em um único ciclo, nas mesmas condições dos testes anteriores, onde foi analisada sua capacidade de clarificação e os resultados, em média, estão na Tabela 14. Nota-se uma ligeira redução na capacidade de clarificação do extrato.

Tabela 14. Resultado do teste de reutilização da zeólita CaX, único ciclo.

% Clar. $\lambda = 420 \text{ nm}$	% Clar. $\lambda = 670 \text{ nm}$
70,0	65,0

4.10. Processo contínuo de clarificação.

Após serem obtidos os resultados com testes feitos em batelada, foi montado um módulo, com leito fixo de zeólita CaX; onde foi passado o extrato aquoso de Stévia em fluxo ascendente, sendo a vazão controlada para que o tempo de contato fosse o suficiente. A massa de zeólita utilizada foi de 40% em relação ao extrato aquoso de Stévia.

O módulo montado para o processo contínuo de clarificação está esquematizado na Figura 19. Foram colhidas amostras do extrato clarificado em intervalos de tempo que variaram de acordo com o tempo total do teste.

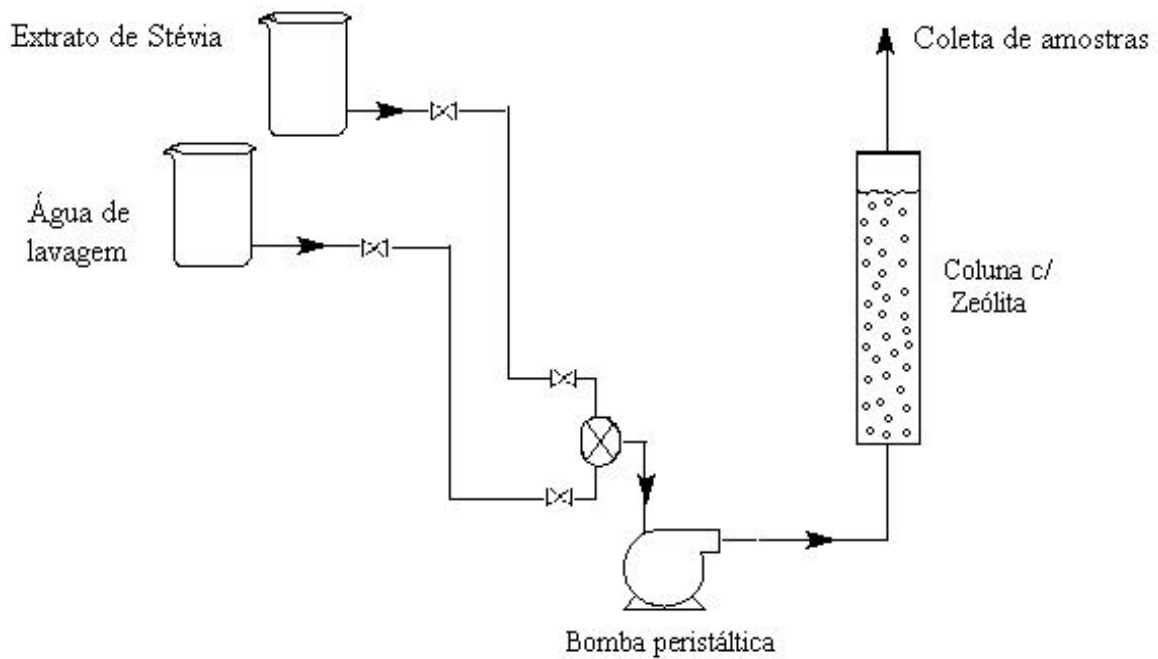


Figura 19. Módulo experimental utilizado no processo contínuo.

Foram obtidos resultados para diferentes vazões, que estão representados nas figuras 20, 21 e 22.

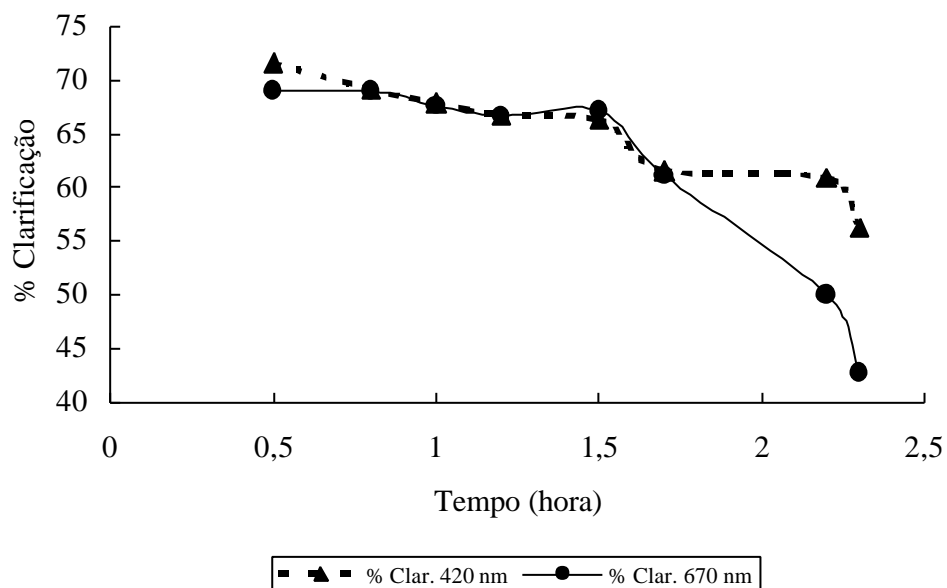


Figura 20. Processo contínuo de clarificação, à pressão e temperatura ambiente, vazão = 1,0 mL/min, t = 2 h 30 min.

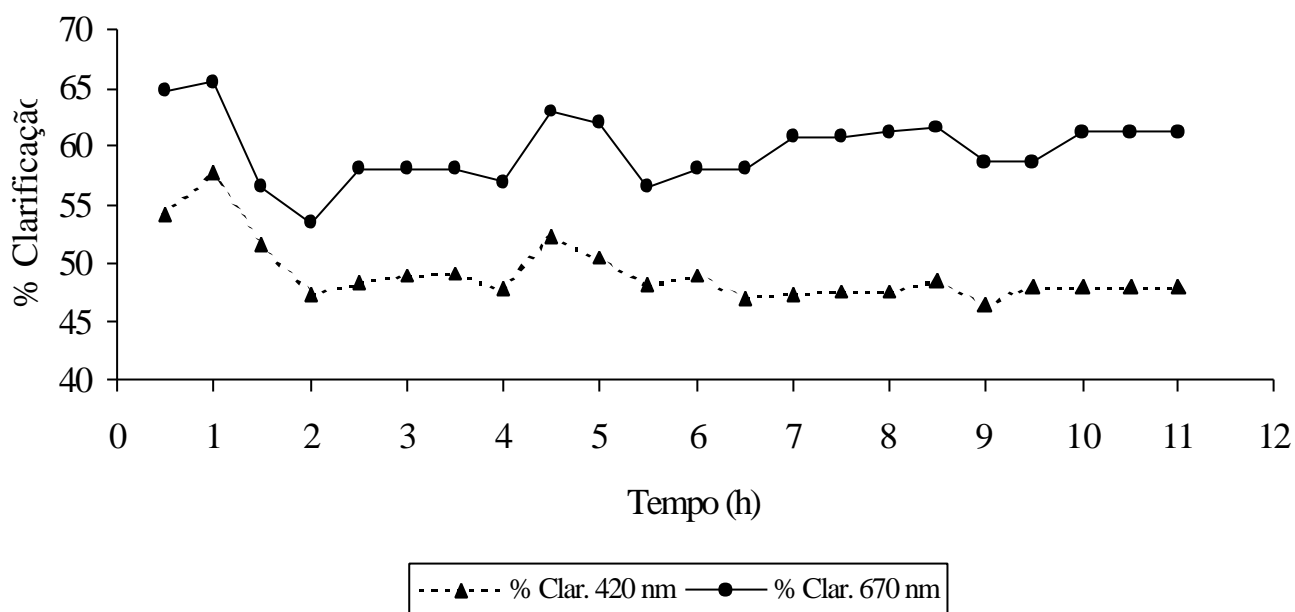


Figura 21. Processo contínuo de clarificação, a pressão e temperatura ambiente vazão = 1,25 mL/min, t = 11 h.

Foi possível notar que no processo em batelada, a zeólita teve maior efeito sobre a concentração dos pigmentos com absorvância máxima a 420 nm e no processo contínuo houve uma inversão sobre o efeito exercido pela zeólita sobre os pigmentos, ou seja, no processo contínuo a zeólita teve maior efeito sobre a concentração dos pigmentos com absorvância máxima a 670 nm. Isso provavelmente deve-se à maior facilidade de adsorção de pigmentos com máximo de absorvância na região de 670nm, e pelo fato do processo ser contínuo ele é facilitado. Já os pigmentos que absorvem na região de 420nm devem possuir uma adsorção mais lenta, porém mais eficiente.

O processo contínuo de clarificação proporcionou resultados semelhantes aos obtidos com os testes em batelada, demonstrando ser um processo viável. É possível notar pelos gráficos que com vazão menor pode-se obter nas primeiras 2 horas uma percentagem de clarificação alta, que depois desse tempo decresce lentamente. Por outro lado, com uma vazão maior, a clarificação torna-se aproximadamente constante num intervalo de tempo consideravelmente grande, tendo assim uma percentagem de clarificação aproximadamente igual durante todo o processo.

Como pode ser observado na Figura 21, após cerca de 1 hora de corrida a porcentagem de clarificação tem uma queda, atingindo um patamar em torno de 57%, permanecendo neste patamar até o fim do teste. Dessa forma, percebeu-se estar longe da saturação da zeólita.

A partir disto, nova carga de extrato foi preparado para 24 horas de teste. O resultado está representado na Figura 22.

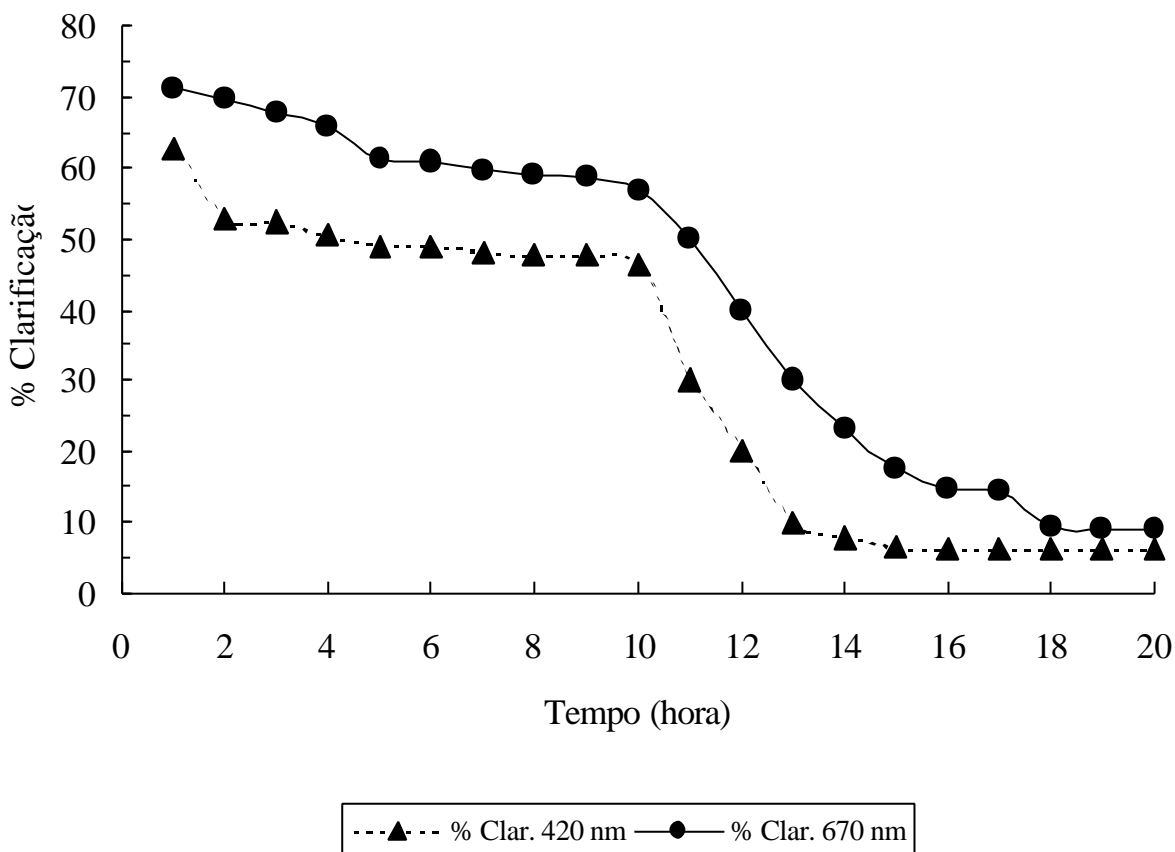


Figura 22. Processo contínuo de clarificação, a pressão e temperatura ambiente vazão = 1,0 mL/min, t = 20 h.

Para um tempo maior de processo, foi possível notar que os resultados obtidos anteriormente se repetiram.

É possível ver pela Figura 22 que nas primeiras 2 horas foi possível obter uma porcentagem de clarificação alta. Depois desse tempo, esta decresce lentamente. No período entre 2 a 10 horas a clarificação torna-se aproximadamente constante, e depois decresce.

Devido ao fato desses teste contínuos serem feitos com extrato bruto de Stévia, sem adição de nenhum conservante, após 20 horas o extrato começar a ter suas características

alteradas, tais como odor e aspecto do extrato. Dessa forma, impossibilita um maior tempo de teste. Por outro lado a queda acentuada na percentagem mostra que a zeólita está praticamente saturada em aproximadamente 13 horas de processo, nestas condições de operação.

4.11. Resultado da análise sensorial

4.11.1. Seleção dos provadores

Foram utilizados 12 funcionários da empresa Steviafarma, que demonstraram interesse em participar da seleção de provadores, sendo denominados de P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8, P9, P10, P11, P12.

1° Teste – Soluções de sacarose com concentrações de 2 %, 4 % e 6%.

O índice de acerto foi 100%, observou-se que as diferenças nas concentrações eram muito grandes, facilitando a distinção. Para que a escolha dos provadores fosse mais criteriosa, optou-se por fazer testes com concentrações mais próximas e mais diluídas.

2° Teste – Soluções de sacarose com concentrações de 2 %, 3 % e 4%.

Foram utilizados os mesmos 12 funcionários do teste anterior.

Ainda assim o índice de acerto foi alto (93%).

3° Teste – Soluções de sacarose com concentrações de 2 %, 2,5 % e 3%.

Resolveu-se dificultar ainda mais a seleção, diminuindo-se as concentrações e o intervalo entre essas concentrações.

Utilizando os mesmos 12 funcionários dos testes anteriores, notou-se que surgiu alguma dificuldade na avaliação das amostras, não sendo de 100% o índice de acerto (90%).

Sendo assim, foram fixadas as concentrações de soluções de sacarose em 2,0%, 2,5% e 3,0%. Para a seleção de provadores, utilizou-se o método da Amplitude (CHAVES, 1980).

Foram feitos novamente testes com essas concentrações, cada candidato a provador testou 12 amostras, ao acaso. Os dados da análise são mostrados na Tabela 15.

Tabela 15. Tabela de resultados da seleção de provedores.

Lote	Nota que deveria ser dada	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	
2,0 %	1	1	1	2	1	1	1	1	1	2	3	1	1	
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1
		1	2	1	1	1	1	1	3	1	2	1	2	1
Soma		4	5	6	4	4	4	6	4	6	6	6	4	
Desvio		0	1	2	0	0	0	2	0	2	2	2	0	
Amplitude		0	1	1	0	0	0	2	0	1	2	1	0	
2,5 %	2	2	2	1	2	2	2	3	2	1	1	2	3	
		2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
		2	2	1	2	2	2	2	3	2	2	2	1	2
		3	1	2	2	2	2	2	2	3	3	2	3	2
Soma		9	6	6	8	8	8	10	9	8	7	8	9	
Desvio		1	1	2	0	0	0	2	1	2	1	2	1	
Amplitude		1	1	1	0	0	0	1	1	2	1	2	1	
3,0 %	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	2	3	2	
		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3
		2	3	3	3	3	3	3	1	2	1	3	1	3
Soma		11	12	12	12	12	12	8	11	10	11	10	11	
Desvio		1	0	0	0	0	0	4	1	2	1	2	1	
Amplitude		1	0	0	0	0	0	2	1	2	1	2	1	
Amplitude da soma(AS)		7	6	6	8	8	8	4	7	4	5	4	7	
Soma dos desvios (SD)		2	2	4	0	0	0	8	2	6	4	6	2	
Soma das amplitudes (SA)		2	2	2	0	0	0	5	2	5	4	5	2	
R= Razão [(AS)/(SA)]		3,5	3,0	3,0	¥	¥	¥	0,8	3,5	0,8	1,25	0,8	3,5	

Soma - soma das quatro repetições do lote.

Desvio - soma das diferenças entre a nota dada e a nota que deveria ser dada.

Amplitude - diferenças entre a maior e a menor nota dada dentro das repetições.

Amplitude da Soma (AS) - diferenças entre a maior e a menor soma.

Soma das Amplitudes (SA) – soma simples das amplitudes de cada candidato.

Soma dos Desvios (SD) - soma simples dos desvios de cada candidato.

R – razão entre a amplitude da soma e a soma das amplitudes (AS/SA)

Os candidatos foram escolhidos de acordo com a análise dos resultados dos testes, com auxílio da “TABELA 3” de acordo com CHAVES (1980) página 58, tabela esta que encontra-se em anexo, ANEXO 1. Foram escolhidos os candidatos que apresentaram desvio mínimo (SD) e a razão (AS/SA) superior a 1,74.

P1	- SD = 2	R = (AS)/(SA) = 3,5	Aprovado, R.>1,74, SD baixo.
P2	- SD = 2	R = (AS)/(SA) = 3,0	Aprovado, R.>1,74, SD baixo.
P3	- SD = 4	R = (AS)/(SA) = 3,0	Reprovado, apesar de R >1,74 o SD alto.
P4	- SD = 0	R = (AS)/(SA) = ∞	Aprovado sem erros.
P5	- SD = 0	R = (AS)/(SA) = ∞	Aprovado sem erros.
P6	- SD = 0	R = (AS)/(SA) = ∞	Aprovado sem erros.
P7	- SD = 8	R = (AS)/(SA) = 0,8	Reprovado, R<1,74, SD alto.
P8	- SD = 2	R = (AS)/(SA) = 3,5	Aprovado, R.>1,74, SD baixo.
P9	- SD = 6	R = (AS)/(SA) = 0,8	Reprovado, R<1,74, SD alto.
P10	- SD = 4	R = (AS)/(SA) = 1,25	Reprovado, R<1,74, SD alto.

P11 - SD = 6 $R = (AS)/(SA) = 0,8$ Reprovado, $R < 1,74$, SD alto.

P12 - SD = 2 $R = (AS)/(SA) = 3,5$ Aprovado, $R > 1,74$, SD baixo.

De acordo com os resultados obtidos os candidatos foram classificados em três grupos:

Grupo 1 : P4, P5, P6

Grupo 2 : P1, P2, P3, P8, P12

Grupo 3 : P7, P9, P10, P11

Os candidatos do grupo 1, tiveram 100% de acerto, demonstrando uma grande habilidade em distinguir todas as amostras apresentadas.

Os candidatos do grupo 2 apresentaram certa habilidade para distinguir as amostras apresentadas, uma vez que obtiveram valores de R superior a 1,74. A habilidade do candidato em manter determinada nota é mostrada pela SD, por isso uma análise mais detalhada se faz necessária para a seleção dos provadores.

Os candidatos P1, P8, P12 conseguiram acertar nas soluções mais diluídas e fizeram apenas uma troca nas soluções mais concentradas.

O candidato P2 conseguiu acertar nas soluções mais concentradas, fez apenas uma troca na solução mais diluída.

O candidato P3 conseguiu acertar somente nas soluções mais concentradas, isso demonstrou deficiência em identificar amostra mais diluídas.

Os candidatos do grupo 3 foram automaticamente excluídos do painel, uma vez que não conseguiram alcançar o valor mínimo de R.

Com isso, os candidatos para compor o painel de análise sensorial foram selecionados e são: P1, P2, P4, P5, P6, P8, P12.

4.11.2. Análise sensorial do extrato de Stévia tratado com zeólita

Foram utilizados 7 funcionários da empresa Steviafarma, que foram selecionados pelo teste anterior. Foi preparado um extrato de folhas de Stévia 2% (p/p). Outro extrato na mesma proporção de 2% (p/p) foi preparado e depois colocado em contato com a zeólita CaX.

Utilizando o Método de Comparação, os 7 candidatos selecionados foram colocados para analisar comparativamente o extrato bruto de Stévia e o extrato de Stévia tratado com zeólita CaX. Esse mesmo teste foi repetido duas vezes. Os analistas foram estimulados a escolher a amostra com melhor sabor. Os resultados estão na Tabela 16:

A- Extrato bruto de Stévia B- Extrato de Stévia tratado com zeólita CaX

Tabela 16. Tabela de resultado da análise sensorial do extrato de Stévia.

Repetições	Amostras	
	A	B
1		X
2		X
3		X
4		X
5		X
6		X
7		X
8		X
9		X
10		X
11		X
12		X
13		X
14		X

Os candidatos selecionados (P1, P2, P4, P5, P6, P8, P12) em todas as análises que fizeram escolheram o extrato de Stévia tratado com zeólita CaX que apresenta melhores características de sabor. Portanto, a amostra B foi selecionada como melhor que a A, em 14 das 14 vezes.

A “TABELA 1” de acordo com CHAVES (1980), página 56, ANEXO 2, mostra que 11 é o número mínimo para se considerar a diferença estatisticamente significativa, ao nível de 0,1% de probabilidade. Pode-se concluir que o contato da zeólita CaX com o extrato aquoso de Stévia melhora o sabor desse extrato.

A obtenção do extrato aquoso de Stévia clarificado através de um único processo não agressivo é de extrema importância, pois atualmente para clarificação de extrato são utilizados mais de um processo associado.

O extrato clarificado com zeólitas pode ser diretamente utilizado de acordo com o produto desejado.

CONCLUSÕES

As zeólitas modificadas CaX e BaX promoveram a clarificação do extrato aquoso de Stévia, sendo que zeólita modificada CaX não alterou as características iniciais do extrato. No entanto a zeólita BaX tornou o sabor do extrato salino, sendo assim descartada dos testes.

A zeólita na forma granulada teve o mesmo desempenho que a zeólita em pó. Entretanto, é preferível trabalhar com a zeólita granulada, para facilitar a remoção da zeólita após a clarificação.

Devido aos efeitos difusivos, para que a zeólita granulada pudesse obter a mesma percentagem de troca iônica foram necessárias três trocas consecutivas

Houve um aumento da área superficial específica da zeólita após a troca, o que já era esperado pois o íon cálcio provoca um alargamento nos poros, no entanto como esse aumento é acentuado, provavelmente houve lixiviação de prováveis ligantes da zeólitas aglomerada.

Nos testes com variação de massa de zeólita, foi possível notar que 40% de zeólita em solução é a massa ideal para o processo de clarificação.

Através de experimentos, notou-se que a temperatura ótima de processo é a temperatura ambiente, pois um aumento na temperatura não favorece o processo.

Notou-se também que a agitação é fundamental pois diminui o tempo de processo. A despigmentação obtida em 24 horas sem agitação pode ser obtida entre 1 hora à 1 hora e 30 minutos com agitação.

Verificou-se que a zeólita pode ser reutilizada, sendo somente necessário a lavagem da mesma com água quente, para remoção de pigmentos adsorvidos na superfície zeolítica.

O processo contínuo de clarificação proporciona resultados equivalente aos obtidos com os testes em batelada, podendo então ser aplicado. Dessa maneira, torna-se o processo de clarificação mais prático e econômico.

Num teste de 11 horas de processo, na primeira hora a percentagem de clarificação sofreu uma queda acentuada, permanecendo num patamar de aproximadamente 57% até o final do processo.

Num teste de 20 horas de processo, após 13 horas a zeólita encontrava-se praticamente saturada, não sendo possível continuar o teste por mais tempo pois o extrato, após 20 horas, começou a ter suas características alteradas.

Através de uma análise sensorial conclui-se que a zeólita CaX, além de clarificar, também melhora o sabor do extrato.

O presente trabalho significou um avanço no tratamento do extrato de Stévia,. É um trabalho pioneiro, visto que as patentes que citam o uso de zeólita no processo com Stévia, não especificam o tipo de zeólita, bem como as condições de processo.

Isso faz com que apesar de sintético e exploratório o trabalho seja de extrema importância, uma vez que apresenta uma alternativa de tratamento do extrato de Stévia, simples e de baixo custo, além de não ser agressivo à saúde e ao meio ambiente, pois os processos convencionais conhecidos, não apresentam essas vantagens juntas em um só processo.

AGRADECIMENTOS

À Steviafarma S.A. pela colaboração na execução desse trabalho, bem como pelo fornecimento das folhas de Stévia.

À CAPES pelo auxílio financeiro.

À Pluriquímica pelas amostras de zeólitas A e X (Baylight), gentilmente cedidas.

REFERÊNCIAS

- ADUCCI, J., BUDDHASUKH, D., e TERNAL, B.; 1987, “Improved Isolation and Purification of Stevioside”, *Journal Science Society Thailand*, pp. 179-183.
- AJINOMOTO CO. INC. ,1981 a, *Stevia* Sweetener Purification, Japan Kokai, 81:121-454.
- AJINOMOTO CO. INC., 1981 b, Stevioside Removal From *Stevia* Sweetener, Japan Kokai, 81:121-455.
- ALVAREZ, M; KUSUMOTO, I. T. e ARAES, L. S.; 1986, “Correlação entre o Teor de Carboidratos Totais e o Teor de Glicosídeos Diterpênicos nas folhas secas de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni”, *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, v.5, pp.19 - 24, Curitiba, PR.
- ALVAREZ, M. e COUTO, A.C.C.; 1984, *Processo de Fracionamento dos Componentes das Folhas da Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni*, Fund. Univ. Estadual de Maringá e Banco do Brasil. Pedido de privilégio no Brasil, prot. nº 84,02,752, Maringá, PR.
- ANGELUCCI, E., 1979, *O Esteviósido de Plantas Brasileiras de Stevia rebaudiana Bertoni e a Potencialidade de seu Emprego em Alimentos. Ensaio em Formulações Hídricas e Carbonatadas*. Tese de D. Sc., Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.
- ANGELUCCI, E.; 1989, *Edulcorantes e adoçantes em alimentos*, v.2, n. 11, p. 14-15, Campinas, Casa da Agricultura.
- AQUINO, R.P.; BEHAR, I.; BIONDI, A.; DE SIMONI, F., e SCALESSE, G.; 1985, “Isolation of Sweet Compounds from *Stevia rebaudiana*”, *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, v.61(9), pp.1247-1252.
- ARASHI, H., 1987, “Purification Of Stevioside from *Stevia rebaudiana* Leaves”, (Arashi Agro-desenvolvimento Ltda.), Bras. Pedido PI BR 87 00,543 (Cl C13D1/14), 6 pp.

- ASANO, K.; TOMOMATSU, S. e KAWASAKI, M.; 1975, Extraction of Stevioside. (Tagasaku Perfumery co., Ltd.), Japan Kokai., 75,88,100.
- AYKROYD, W.R.; 1967, Sweet Malefactor. Sugar, Slavery and Human Soc. - London: Heinemann.
- ARYA, V. P.; 1962, "Position and Configuration of the Carboxyl Group in Steviol and Isosteviol", *Journal Sci. Ind. Res.*, Índia, 21B, pp. 93-95.
- BARRER, R. M.; 1978, *Cation exchange equilibria in zeolites and feldspathoids; Natural Zeolites- Occurrence, Properties and use*; Pergamon Press, Oxford.
- BERTONI, M., 1901, Monthly Review du Paraguay, Asuncion jul/1901, pp.149-151.
- BERTONI, M.S., 1905, Le Kaá Hê-é, Sa Nature e ses Propriétés Anales Cientificos Paraguayos I:5, pp.1-14.
- BIAN, S.; SUN, H.; LIU, L., e ZHOU, H.; 1986, "Extraction of Total Stevioside by Macro-reticular Resins", *Zhongcaoyao*, v.17(6), pp.12-13.
- BOBBIO, F.O. e BOBBIO, P.A.; 1995 a, *Introdução à química de alimentos*, 2ª ed., São Paulo, Livraria Varela Ltda
- BOBBIO, F.O. e BOBBIO, P.A.; 1995 b, *Manual de laboratório de química de alimentos*, 1ª ed., São Paulo, Livraria Varela Ltda
- BOYD, E.M.; 1977 a, Part II. Toxicity of Carbohydrate - Glucose. In Toxicity of Pure Foods. Carls E. Boyd (ed). CRS - Press Inc. Cleveland 4ª ed., pp. 39-44.
- BOYD, E.M.; 1977 b, Part II. Toxicity of Carbohydrate - Sucrose. In Toxicity of Pure Foods. Carls E. Boyd (ed). CRS - Press Inc. Cleveland 4ª ed., pp.23-38.
- BRECK, D.W.; 1984, *Zeolite Molecular Sieves*. 2º ed., New York, John Wiley & Sons Inc.

- BRIDEL, M. e LAVIEILLE, R.; 1931 a, “Le Principe Sucré du Kaà-Hê-é (*Stevia rebaudiana* Bertoni)”, *Bulletin Soc. Chim. Biol.*, Paris , v.13, pp.781-796.
- BRIDEL, M., e LAVIEILLE, R.; 1931 b, “Le Principe à Saveur Sucrée du Kaà-Hê-é (*Stevia rebaudiana* Bertoni)”, *Bulletin. Soc. Chim. Biol.*, Paris, v.31, pp.636-655.
- BROUWER, J.N.; VAN DER WEL, H.; FRANCKE, A., e HENNING, G.J.; 1968, “Miraculin, the sweetness-inducing protein from miracle fruit”, *Nature*, v. 220, pp.373-374.
- CÂNDIDO, L.M.B. e CAMPOS, A. M.; 1996. *Alimentos para fins especiais – Dietéticos*. 1º edição, São Paulo, Livraria Varela Ltda.
- CHANG, C.Y., e CHANG, W.H.; 1985, “A Study on The Conditions of Extraction of Stevioside from *Stevia* Leaves”, *Chung-Kuo Nung Yeh Hua Hsueh Hui Chih.*, v. 23 (1-2), pp.168-177.
- CHANG, S. e COOK, J.; 1983, “Stability Studies of Stevioside and Rebaudioside-A in Carbonated Beverages”, (Corp. Res. Dev. Dep. Coca-Cola Co.) *Journal Agric. Food. Chem.*, v. 31(2), pp. 409-412.
- CHAVES, J. B. P.; 1980, *Avaliação Sensorial de Alimentos (Métodos de Análises)*, 1º Edição, Minas Gerais, Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa.
- CHISSO CORP. ,1980, *Stevia Sweetener Purification*. Japan Kokai. 80,120,770.
- CIOLA, R. ; 1981, *Fundamentos da Catálise*, 1º Edição, São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo.
- CORRÊA, M.P., 1926, *Caá-êhê. no Dicionário das Plantas do Brasil e das Exóticas Cultivadas*, 1ª edição, vol 1, pg. 348, Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura .

- DE CERNADAS, R.R., e PRYLUKA, M.; 1985, “A Method for the Isolation of Stevioside from Leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni”, *Revista Agroquim. Tecnol Aliment.*, Buenos Aires, v. 25(2), pp.268-272.
- DIETERICH, K.; 1909, “Some New Naturally Occurring Sweet Substances”, *Pherm. J. & Pharmacist.*, v. 28, pp. 769-836.
- DJERASSI, C.; QUITT, P.; MOSETTIG; E., CAMBIE, R.C.; RUTLEDGE, P.S., e BRIGGS, L.H.; 1961, “Optical Rotatory dispersion studies. LVII. The Complete Absolute Configurations of Steviol, Kaurene and Diterpene Alkaloids of hte Garryfoline and Atisine Groups”, *Journal of the American Chemical Society*, v. 83, pp. 3720-3722.
- DOLDER, F.; LICHTI, H.; MOSETTIG, E., e QUITT, P.; 1960, “The Structure and Stereochemistry of Steviol and Isosteviol”, *Journal of the American Chemical Society*, v. 82, pp. 246-247.
- DOSSIÊ TÉCNICO, 1984, Steviafarma Industrial S.A, Maringá, PR.
- DOWA, K. K.; 1982, Nonhygroscopic Stevioside Sweetener. Japan Kokai. 82,16,782.
- EEC REPORT OF THE SCIENTIFIC COMMITTEE FOR FOOD ON SWEETNERS; 1984, Final revision, Commission of European Communities– Directorete General for Internal Market and Industrial Affairs III/A/2 - Scientific Committee for Food.
- FERRIER, R.J. e COLLINS, P.M; 1972, *Monossaccharide Chemistry*, 1° ed., Harmondsworth, Midelessex England, Penguin Books.
- FIGUEIREDO, J. L., e RIBEIRO, F. R.; 1987, *Catálise Heterogénea*. 1° edição, Lisboa, Editora Fundação Calouste Gulbenkian.
- FUH, W. S. e CHIANG, B. H.; 1990, “Purification of Stevioside by Membrane and Ion Exchange Processes”; *Journal Food of Science*, v. 55, n° 5 (set./out.), pp. 1454-1457.

FUJI FOODS K.K., 1982, Stevioside, Japan Kokai, Tokkyo Koho, 82,46,998.

FUJITA, H. e EDAHIRO, T.; 1979, "Safety and Utilization of Stevia Sweetener", *Food Industry*, v. 22(22), pp. 65-72.

GIANNETTO, G. P.; 1990, *Zeolitas: Caracteristicas, Propriedades y Aplicaciones Industriales*; Caracas, Ed. Innovación Tecnológica.

GIOVANETTO, R.H.; 1989, Extraction of Steviosides from *Stevia rebaudiana*. Eur. Pat. Appl. EP 302,948 (Cl CO7H15/256). 3 pp.

GLINSMAN, H.W.; IRAUSQUIN, H., e PARK, Y.K.; 1986, *Evaluation of Health Aspects of Sugars Contained in Carbohydrate Sweeteners*, In: F.D.A- report, Division of Nutrition and Toxicology, Center for Food Safety and Applied Nutrition. 200 c Street, S. W. Washington D.C.

HAGA, T.; ISE, R. e KOBAYASHI, A.; 1976, Purification of Stevioside. (Sanyo Kokusaku Pulp. Co. Ltd.). Japan Kokai. 76,149,300.

INGLETT, G. E., e MAY, J. F.; 1968, "Tropical plants with unusual taste properties", *Economic Botany*, v.22, pp. 326-331.

INGLETT, G. E., e MAY, J. F.; 1969, "Serendipity berries (*Dioscoreophyllum cumminsii*) Source of a new intense sweetener", *Journal Food Res.*, v. 34, pp. 408-411.

INGLETT, G. E.; 1974, Sweeteners, new challenges and concepts, In Symposium: Sweeteners (Inglett, G. E., ed.), Avi, Westport, Conn.

ISHIZONE, H.; 1979, Separation and Purification of Stevioside.; (Hriuchi Itaro Shoten K. K.). Japan Kokai. 79,12,400.

IWAMURA, J.; KINOSHITA, R. e HIRAO, N.; 1979, "Acid Hydrolysis of Stevioside and Determination of the Products by a Chromatographic Scanner", *Koen Yoshishu-Koryo, Terupen Oyobi Seiyu Kagaku ni Kansuru Toronkai*, v. 23, pp.249-252.

- JIZBA, J.; DOLEIS, L.; HEROUT, V., e SORM, F.; 1971 a, “The structure of osladin- The sweet principle of the rhizomes of *Polypodium vulgare L.* Tetrahedron”, Lett. 18, pp. 1329-1332.
- JIZBA, J., DOLEIS, L., HEROUT, V., SORM, F., FEHLHABER, H., SNATZKE, G., TSCHESCHE, R., AND WULFF, G.; 1971 b, “Polypodosaponin, a new type of saponin from *Polypodium vulgare L.*”, *Chem. Ber.*, v.104, pp. 837-846.
- KATO, R.; SAKAGUSHI, Y. e MOTOI, N.; 1977, Extraction and Purification of Stevioside. (Daicel, Ltd.). Japan Kokai. 77,136,200.
- KIENLE, U.; 1989, Process for Preparation of a Natural Sweetening Agent from *Stevia rebaudiana* and its Use Thereof., Eur. Pat. Appl. EP 335,265 (Cl C07H15/256). 7 pp.
- KIKUCHI, H. e SAWAGUCHI, Y.; 1977, Stevioside. (Sanyo Kakusaku Pulp. co.). Japan Kokai. 77,57,199.
- KINGHORN, A.D.; NANAYAKKARA, N. P. D.; SOEJARTO, D.D. e MEDON, P. J.; 1982, “Potential Sweeteners Agents of Plant origin. I. Purification of *Stevia rebaudiana* Sweet Constituents by Droplet Counter Current Chromatography”, *Journal of Chromatography*, v. 237, pp. 478-483.
- KINGHORN, A.D.; FULLAS, F. e HUSSAIN, R.A.; 1995, “Structure-activity relationship of highly sweet natural products”; *Study Natural Products Chemistry*, v. 15, pp. 3-41.
- KIUNI, M.; NAKASAWA, T.; SASAKI, S. e FUKUMURA, T.; 1977, Stevioside Production. (Japan Organo Corp. Ltd.). Japan Kokai. 77,100,500.
- KOBOMURA, S.; UENO, J.; CHIDA, S. e KANAEDA, J.; 1976, Purification of Stevioside. (Nikken Chemicals Co. ltd.). Japan Kokai. 76,91,300.
- KODAKA, K., 1977, Purification of sugar solution from *Stevia* dry leaves., Japan. Kokai. Pat. Appl. 76/27,634 (Cl. A23L1/22), 3pp.

- KOKAI, M.; MIYAMORI, S.; SASAKI, S. & FUKUMURA, T.; 1979, Purification of Stevioside. (Japan Organo Co. Ltd.). Japan Kokai. 79,02,381.
- KORBERT, R.; 1915, Sweet Principles of Eupatorium and Glycyrrhiza. American Journal Pharm., v. 87, pp. 555-568.
- KURIHARA, K., e BEIDLER, L. M.; 1968, "Taste-modifying protein from miracle fruit", Science, v.161, pp. 1241-1243.
- LAUWERS, A.M., DAUMERIE, C., HENQUIN, J.C.; 1985, "Intestinal Absorption of Sorbitol and Effects of its Acute Administration on Glucose Homeostasis in Normal Rats", *British Journal Nutr.*, v.53, pp. 5-63.
- LAWRENCE, A.R., FERGUSON, L.N.; 1959, "Exploratory Physicochemical Studies on the Sense of Taste", *Nature*, v.183, pp. 1469-1471.
- LI, Y.; 1983, "Extraction of Stevioside from *Stevia rebaudiana* - An Experimental Method for High Yield", *Shipin Kexue (Beijing)*, v. 46, pp.20-22.
- LI, R., ZHOU, R., RAN, Z., LI, Q.; 1984, "Isolation of Glycosides from *Stevia* species", *Zhongguo Tiaoweipin*, v.11, pp. 16-17.
- MACHADO, N. R.C. F.; 1995. *Estudo da interação de cobre com os suportes ZnO, TiO₂ e Nb₂O₅ e efeitos sobre a reforma do Metanol*, Tese de D.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- MARUTOKU SEITO K. K.; 1982, Low Calorie Sweetening Agents. Japan Kokai. 82,125,699.
- MARUZEN CHEMICAL CO. LTD; 1980, Decolorization of *Stevia* extract. Japan Kokai, 80,111,768.
- MARUZEN CHEMICAL CO. LTD.; 1982, Separation of Stevioside and Rebaudioside-A. Japan Kokai. 82,86,264.

- MASUYAMA, F.; 1980, Stevioside Sweetener Purification from *Stevia rebaudiana* Leaves; Japan Kokai. 80,07,039.
- MAZUR, R. H.; 1974, Aspartic acid based sweeteners, In Symposium: Sweeteners (Inglett, G. E., ed.), Avi, Westport, Conn.
- MITSUBISHI ACETATE CO. LTD.; 1983 a, Purification of Stevioside Extract. Japan Kokai. 83,28,247.
- MITSUBISHI ACETATE CO. LTD.; 1983 b, Stevioside Sweetener Purification. Japan Kokai. 83,28,246.
- MIWA, K.; 1979 a Extraction of Stevioside or Phyllodulcin. (Toyo Ink. Mfg. Co. Ltd.). Japan Kokai, 79,103,900.
- MIWA, K.; MAEDA, S. & MURATA, Y.; 1979 b, Purification of Stevioside. (Toyo Ink. Mfg. Co. Ltd.). Japan Kokai. 79,90,199.
- MIYAMOTO, H.; 1983, Steviolbioside for Fruit Flavor Impronegment. Japan Kokai. 83,41,808.
- MIZUFUNE, S., UDA, Y., IKEDA, M.; 1987, Extraction of Stevioside as a Sweetner from Plants. Japan Kokai Tokkyo Koho JP 62 56,158 ((87 56,158) (Cl A23L1/221). 4 pp.
- MORAES, M. A. C.; 1983, *Métodos para Avaliação Sensorial dos Alimentos*, 4 ° Edição, Campinas, Ed. Fea Unicamp.
- MORITA, E., 1977, Tabacco Flavor and from Aroma Improvement With Stevia Extract. (Morita Kagaku Co. Ltd.). Japan Kokai. 77,148,700.
- MORITA, E., 1978, Taste Improvement of Licorice Sweetener With Stevia Glicoside Ag. (Morita Kagaku Kogyo Co. Ltd.). Japan Kokai, 78,59,074.

- MORITA KAGAKU CO. LTD., 1982 c, Activation of α -Amilase and Promotin of α -Amilase Production. Japan Kokai. 82,206,389.
- MORITA KAGAKU KOGYO CO. LTD., 1982 a, Stevia Extracts as Plant Growth Regulators. Japan Kokai. 82,206,603.
- MORITA KAGAKU KOGYO CO. LTD., 1982 b, Stevia Extracts as Plant Growth Regulators. Japan Kokai. 82,183,705.
- MORRIS, J. A., AND CAGAN, R. H.; 1972, "Purification of monelhn, the sweet principle of *Dioscoreophyllum cumminsii*.", *Biochim. Biophys. Acta*, v. 261, pp. 114-122.
- MOSETTIG, E. e NES, W.R.; 1955, "Steviside II. The Structure of the Aglucon", *Journal of Organic Chemistry*, v.20, pp. 884-899.
- MOSETTIG, E.; QUITTI, P.; BEGLINGER, V.; WATERS, J.A.; VORBRUEGGEN, H., e DJERASSI, C.; 1961, "A direct Correlation of the Diterpene Alkaloids and Hidrocarbons of Phyllocladene Group. Interconversion of Garryfoline and Steviol". *Journal of the American Chemical Society*, v.83, pp. 3163-3164.
- MOSETTIG, E.; BEGLINGER, V.; DOLDER, F.; LICHTI, H.; QUITTI, P., e WATERS, J.A.; 1963, "The Absolute Configuration of Steviol and Isosteviol", *Journal of the American Chemical Society*, v.85, pp.2305-2309.
- NEWBRAN, E.; 1985, *Açúcar, Substitutos do Açucar e Agentes Adoçantes não Calóricos*. In *Cariologia*, pp. 123-160.
- NISSHIN FLOUR MILLING CO. LTD.; 1982 Stevioside Addition to Capsules of Dietetic Oil Preparations. Japan Kokai. 82,29,248.
- OHE, Y.; OKANE, H.; WATANABE, M.; SHIBASATO, M. & KAMATA, Z., 1977, Separation of Sweeteners from *Stevia*. (Toyo Sugar Refining Co. Ltd.). Japan Kokai. 77,120,170.

- PAGLIOSA, F.M.; 1981, “Pesquisas Sobre a *Stevia rebaudiana* Bertoni no Centro de Pesquisas de Produtos Naturais da Univ. de Santa Maria-RS”, *I Seminário sobre Stevia rebaudiana Bertoni*, pp.IX.1- IX.2, Campinas, SP, Brasil, 25-26 de junho.
- PANGBORN, R.M., 1974, *Sensory Perception of Sweeteners*. In Symposium: Sweeteners (Inglett, G.E. eds.) Avi. Westport, Conn.
- PERSINOS, G. J.; 1973, Method of Producing Stevioside (Amazon Natural Drug Company). U.S. Patent 73,3,723,410.
- POMARET, M.M.M. e LAVIEILLE, R.; 1931, Le Principe à Saveur Sucrée du Kaà-Hê-é (*Stevia rebaudiana*) Bertoni IV. Quelques Propriétés Physiologiques du Stèvioside. *Bulletin Society Chim. Biol.*, v.13, pp. 1248-1253, Paris.
- RASENACH, P.; 1908, “Uber dir Süsstoffe des Eupatorium rebaudianum Umd des Süssholzes”, *Arbeiten Aus Deus Kaizerlichen Gesundheitsant*, v. 28, pp. 420-443.
- REBAUDI, O.; 1900, “Nota sobre el Caá-éhé”, *Revista de Química Farmacêutica*, Buenos Aires, v. 1, 2, 3.
- RIBEIRO, F.R.; RODRIGUES, A.E.; ROLLMANN, L.D.; NACCACHE, C.; 1984, *Zeolites: Science and Technology*, Estados Unidos, Martinus Nijhoff Publishers.
- ROBINSON, B.L.; 1930, Records Preliminary to a General Treatment of the *Eupatoriae*. VIII. Observations on the Genus *Stevia*. The *Stevias* of Argentine Republic. The *Stevias* of Paraguay. The *Stevias* of North America. Contrib. to Gray Herb. Harvard Univ. 90, pp. 3-160
- SAITSUGA, H.; 1982, “Use of Steviosides in Processed Foods”, (Maruzen Kasei K. K. Japan), *Japanes Food. Science*, v. 21(21), pp. 24-30.
- SAKAGUCHI, M. e KAN, T.; 1982, “As pesquisas Japonesas com *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni e o Esteviosídeo”, *Ciência e Cultura*, v.34(2), pp. 235-248.

- SATO, T.; KURODA, J. e MIHARA, K.; 1980, Stevioside Purification. (Inst. for Prod. and Dev. Sci.). Japan Kokai. 80,39,731.
- SAWAGUSHI, Y. & KIKUCHI, H.; 1977, Purification of Stevioside. (Sanyo Kokusaku Pulp. Co. Ltd.). Japan Kokai. 77,05,800.
- SAZAKI, K.; 1983, Applications of Stevia Sweetener to Soft Drinks. New Drinks. New Food Ind. 25(4):38-43.
- SEIKISUI CHEMICAL CO., LTD.; 1983, Purification of *Stevia* Sweeteners by Precipitation. Japan Kokay Tokkyo Koho JP 58,212,759 ((83 212,759)) (CI A23L1/22). 3 pp.
- SEIKISUI CHEMICAL CO., LTD.; 1984, Purification of *Stevia* Sweeteners. Japan Kokay Tokkyo Koho JP 59 42,862 ((84 42,862)) (CI A23L1/22). 4 pp.
- SILVA, C. F.; 1998, *Efeitos da Troca Iônica em Zeólitas na Adsorção de Frutose*; Tese de M. Sc., FEA/Unicamp, Campinas, SP, Brasil.
- SILVA, C. F. e MACHADO, N. R. C. F.; 1994, “Estudo da Troca Iônica em Zeólita Y”, *Revista UNIMAR*, 16(3), pp.463-479.
- SILVÉRIO, S.S.; 1999, “Obtenção de xilitol por fermentação de hidrolisados de biomassa”, *IV Seminar on Enzymatic Hydrolysis of biomass*, p.32, Maringá, PR, dezembro.
- SOEJARTO, D.D.; COMPADRE, C.M.; MEDON, P.J.; KAMATH, S.K. e KINGHORN, A. D.; 1983, “Potential sweetening agents of plant origin.,II: Field search for sweet-tasting *Stevia* species”, *Economic Botany*, v.37, pp. 71-79.
- TAMA SEIGAKU K. K., 1982, Stevioside Purification. Japan Kokai. Tokkyo Koho. 82,75,992.

- TAKAHASHI, T., 1987, Method for Obtaining Sweetening Sugars from Leaves of *Stevia*. (Arashi Agro-desenvolvimento Ltda.). Braz. Pedido PI BR 86 05,325 (CI CO7H15/24). 12 pp.
- TAKAMURA, K.; KAWAGUCHI, M. e ISONO, C.; 1977, Separation of Stevioside (Chugai Pharmaceutical Co. Ltd.). Japan Kokai. 77,51,069.
- TAN, S., SHIBUTA, Y. e TANAKA, O.; 1988, Isolation of Sweetner from *Stevia rebaudiana* (Mitsui Petrochemical Industries); Japan Kokai Tokkyo Koho JP 63,177,764 ((88 177,764)(CLA23L1/22)) 7 pp.
- TANAKA, O.; YAMAZAKI, K.; KASAI, K. E KOHDA, H.; 1977, Preparation of Sweetening Agents. (Ajinomoto Co. Inc.). Japan Kokai. 77,41,275.
- THOMAS, E.; 1937, '*Stevia rebaudiana*', *Bulletin Assoc. Chem.*, v. 54, pp. 844-847, Londres.
- TOYO SEITO K. K.; 1980, Stevioside Extraction of *Stevia rebaudiana*. Japan Kokai. 80,40,596.
- TOYO SUGAR REFINING CO. LTD., 1981, Sterol Glycoside Purification. Japan Kokai. 81,137,866.
- TOYO SUGAR REFINING CO. LTD., 1982, Purification of α -Glucosylstevioside. Japan Kokai. 82,43,659.
- VAN DER WEL, H.; SOEST VAN, T. C., e ROYERS, E. C.; 1975, Crystallization and crystal data of thaumatin 1, a sweet-tasting protein from *Thaumatococcus daniellii* Benth. FEBS Lett. 56, pp. 316-317.
- VIS, E., e FLETCHER, H.W.; 1956, "Stevioside. IV. Evidence that Stevioside is a Sophoroside", *Journal of the American Chemical Society*, v.78, pp. 4709-4710.

- WAKABAYASHI, T.;1981, *Purificação de Extratos Contendo Steviosídeo*, Pedido Bras. PI - BR. 81,03,228.
- WASHÜTTL, J.; RIEDERER, P., e BANCHER, E.; 1973, “A Qualitative and Quantitative Study of Sugar-alcohols Food”, *Journal Food of Science*, v.38, pp. 1262-1263
- WATERS, J.A.; BECKER, E.D., e MOSETTIG, E.; 1962, “Anodic Decarboxylation of Isosteviol acid”, *Journal of Organic Chemistry*, v.27, pp. 4689-4691.
- WOOD, H.B.; ALLERTON, R.; DIEHL, W., e FLETCHER, G.H.; 1955, “Stevioside I. The Structure of the Glucose Moities”, *Journal of Org. Chemistry*, v.20, pp. 875-883.
- WOOD, H.B., e FLETCHER, G.H.; 1955, “Stevioside III. The Anomeric 2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-Omesitoyl-D-glucopy-ranoses and their Behavior with Alkali”, *Journal of the American Chemical Society*, v.78, pp. 207-210.
- YAMADA, S. e KAJIMA, S.; 1980, Pure Stevioside Production. Japan Kokai. Tokkyo Kono. 80,162,953.
- YOKOYAMA, S., SUGIYAMA, H.; 1990, “Clarification of Aqueous Extract from *Stevia* Leaves by Using Magnesia Adsorbent”, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, v. 37(11), pp. 899-905.
- ZHOU, R.; RAN, Z.; LI, Q.; ZI, X.; RONG, Y., e LI, R.; 1984, “Ion Exchange Methods in Extraction and Purification of Steviosides from *Stevia rebaudiana*”, *Zhongguo Tiaoweipin*, v.(12), pp.12-13.
- ZI, X.; LI, R., e ZHOU, R.; 1986, “Extraction of Steviosides from *Stevia* by Modified Water Extraction-Alcohol Precipitation Methods”, *Zhongguo Tiaoweipin*, v. (2), pp. 17-18.

ANEXOS

Anexo 1

Anexo 2

Apêndice 1

Equação CHT

Para determinação dos princípios adoçantes da folha de Stévia, utiliza-se o Método Fenol- Sulfúrico para carboidratos totais e a correlação que existe entre carboidratos totais e glicosídeos da folha de Stévia (ALVAREZ et al., 1986).

A equação utilizada para classificar as folhas de Stévia, bem como para acompanhar o processo industrial, é seguinte equação:

$$CHT \text{ (g / 100 mL)} = \frac{A_A}{A_P} \times 4,5045$$

onde:

CHT - teor carboidratos totais em g/ 100 mL de solução

A_A- absorbância amostra

A_P - absorbância padrão

O fator 4,5045 da equação CHT, vêm das seguintes considerações:

- primeiro levamos em consideração o fator de diluição das amostras
- segundo o método tomamos 10 µL e diluímos em 10 mL

Se calcularmos o fator de diluição chegaremos ao fator 1001

Cálculo:

$$0,010 \text{ mL} + 10 \text{ mL} = 10,01 \text{ mL}$$

$$\text{Fator de diluição} = 10,01/0,01 = 1001$$

A formula de cálculo é:

$$CHT = (\text{Abs. Amostra/ abs. Padrão}) \times \text{Conc.solução padrão (glicose)} \times 1001$$

$$CHT = (\text{Abs. Amostra/ abs. Padrão}) \times 4,5 \text{ mg/100 mL} \times 1001$$

Transformar 4,5 mg/ 100 mL em g/ mL devemos dividir por 1000, logo o fator fica:

$$4,5\text{mg} \times (1\text{g/ } 1000\text{mg}) \times 1001 = 4,5045 \text{ g}$$