



ESTUDO FITOQUÍMICO DE CLONES DE ELITE DE ESTÉVIA

Maria Rosa Trentin Zorzenon (PIBIC/CNPq/UEM), Paula Gimenez Milani, Maysa Formigoni, Antonio Sergio Dacome e Silvio Claudio da Costa (Orientador), e-mail: mariarosazorzenon@hotmail.com
Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas/Maringá, PR.

Área e subárea: Ciência de alimentos. Química, Física, Físico-Química e Bioquímica dos Alim. e das Mat.-Primas Alimentares.

Palavras-chave: *Stevia rebaudiana*, composição centesimal, constituintes químicos e bioquímicos.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a planta de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni (*Stevia* UEM-13), determinando ainda a concentração de compostos fenólicos, flavonóides, glicosídeos esteviol (adoçantes de estévia) e avaliar o potencial antioxidante do extrato etanólico obtido de suas folhas. Foram determinados os seguintes valores nas folhas de estévia: 17,83 g/100g de proteínas totais, 2,16 g/100g de lipídeos totais, 7,74 g/100g de cinzas, 1,25 mg/g para clorofila a, 1,70 mg/g para clorofila b, 0,54 µg/100g de antocianinas, 6,79% de umidade, 22,81 mg/g de compostos fenólicos, 123,27 µg/mg de flavonóides e atividade antioxidante de 42,26%. Já o extrato etanólico apresentou concentrações de 28g/100g de glicosídeos, 79,01 mg/g de compostos fenólicos, 198,68 µg/mg e capacidade antioxidante de 85,6%, indicando que o extrato apresenta potencial para ser empregado como aditivo na fortificação da propriedade antioxidante em alimentos, bebidas e medicamentos.

Introdução

Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni é naturalmente doce em função da presença de glicosídeos de esteviol presentes em suas folhas. Os glicosídeos diterpênicos com alto poder adoçante são principalmente esteviosídeo, rebaudiosídeos A-F, esteviolbiosídeo e dulcosídeo, apresentando valor comercial em todo o mundo como substituto do açúcar. O Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais da Universidade Estadual de





Maringá possui uma seleção de plantas com alto teor de rebaudiosídeo A. Com isso, o objetivo deste estudo foi determinar a composição centesimal das folhas dessa nova variedade de estévia, obtida pelo NEPRON, bem como quantificar outros compostos fitoquímicos nas suas folhas e no seu extrato etanólico.

Materiais e métodos

Preparo do extrato aquoso de folhas: foram utilizadas folhas de *Stevia rebaudiana* da variedade seminal *Stevia UEM-13* cultivadas no NEPRON (UEM), coletadas na fase de máximo crescimento vegetativo (50-60 dias). 2,0g de folhas moídas e 100mL de água foram transferidas para um bequer de 250mL e mantido ao fogo por 5 minutos após a fervura. O extrato foi então filtrado em um filtro de papel. O extrato resultante das duas extrações foram transferidos para um balão volumétrico de 250mL.

Obtenção do extrato etanólico de folhas: foram utilizadas 100g de *Stevia UEM-13* previamente moídas, que foram transferidas para um béquer de vidro. Foram adicionados 350 mL de etanol absoluto (99,5%) P.A. e o sistema foi mantido por 24 horas ao abrigo de luz para a obtenção da primeira fração. O mesmo processo foi repetido seis vezes. Posteriormente, as folhas percoladas com etanol foram secas em estufa à 60°C.

Determinação de glicosídeos do extrato aquoso e etanólico das folhas de Stevia UEM 13: os glicosídeos totais foram determinados por meio de cromatografia líquida de alta eficiência com 10ml de extrato aquoso ou etanólico seco no rotaevaporador, resuspenso em 2,0mL de água deionizada e 8,0mL de acetonitrila (J.T.Baker grau HPLC concentração 99,9%), filtrado por 3 vezes, e analisado em cromatógrafo líquido da marca *Gilson*, modelo 307, acoplado a um detector de índice de refração S:32, com coluna NH₂ de 5µm, e de dimensões 125x4,6mm.

Compostos Fenólicos Totais, Flavonoides e Atividade Antioxidante do extrato aquoso e etanólico das folhas: a determinação de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante foram realizados seguindo as respectivas metodologias: SINGLETON *et al.*, 1999; JIA *et al.*, 1999 e BLIOS, 1958.





Determinação de proteínas, lipídeos totais, cinzas e umidade das folhas de Stevia UEM-13: proteínas, lipídeos totais e cinzas foram determinados de acordo com a metodologia proposta pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005.

Determinação de Clorofila A e B nas folhas e Antocianinas de Stevia UEM-13: para a determinação de clorofila A e B empregou-se o Método de Arnon (1949). As antocianinas foram determinadas de acordo com LEES & FRANCIS, 1972.

Resultados e Discussão

O teor de glicosídeos totais encontrado nas folhas da variedade Stevia UEM-13 foi 14%, sendo 4,8% de esteveosídeo, 6,8% de RebA e 2,4% de RebC; com razão RebA/Stev de 1,41 o que demonstra que o método de extração utilizado foi eficiente na remoção de compostos bioativos das folhas e no aumento da capacidade de sequestrar radicais DPPH.. A **Tabela 1** mostra outros dados referentes à composição centesimal, glicosídeos, compostos fenólicos e flavonoides das folhas e do extrato etanólico de Stevia UEM-13.

Tabela 1. Composição das folhas de Stevia UEM-13 e do seu extrato etanólico.

Análise	Folhas de Stevia UEM-13	Extrato etanólico
Glicosídeos Totais (%)	14,0	28,0
Proteínas Totais (%)	17,83	-
Lipídeos Totais (%)	2,16	-
Cinzas (%)	7,74	-
Clorofila A (mg/g)	1,25	-
Clorofila B (mg/g)	1,70	-
Antocianinas (%)	0,54	-
Umidade (%)	6,79	-
Compostos Fenólicos (mg/g)	22,81	79,61
Flavonoides (µg/g)	123,27	198,68
Potencial antioxidante (%)	42,26	85,6

Observa-se na **Tabela 1** que as folhas da variedade Stevia UEM-13 apresentam um alto conteúdo de proteínas (17,83g/100g), valor um pouco superior ao relatado por MONDACA *et al.*, 2012 (11,39g/100g). O teor de





lipídeos, cinzas, umidade, clorofilas e antocianinas estão de acordo com a literatura. O conteúdo de fenólicos totais flavonoides e atividade antioxidante do extrato etanólico foi superior das folhas de estévia, o que demonstra que o método de extração utilizado foi eficiente na remoção de compostos bioativos das folhas e no aumento da capacidade de sequestrar radicais DPPH, indicando seu potencial de uso em alimentos e bebidas.

Conclusões

Os estudos realizados confirmaram que a Stevia UEM-13 é uma variedade de elite, com alto teor de glicosídeos totais. A análise da composição centesimal demonstrou que as folhas apresentam excelentes valores de macro e micronutrientes, bem como classes de fitoquímicos, cuja presença tem sido correlacionada à atividade antioxidante.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo apoio financeiro e ao NEPRON-UEM pela oportunidade e confiança.

Referências

- BLIOS, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature** 26, 1199–1200.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos, v. 1, 4ªed., Cap. IV, p. 98-105, IMESP, São Paulo.
- JIA, Z., TANG, M., WU, J., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food chemistry**, v. 64, p. 555-559.
- MONDACA, R.L., GÁLVEZ, A.V., BRAVO, L.Z., HESS, K.A., (2012). *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. 132: 1121-1132.
- SINGLETON, V.L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTOS, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means folin-ciocalteu reagents. *Methods Enzymol* 299, 152–178.

