

OBTENÇÃO E DETERMINAÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E FUNCIONAIS DE EXTRATO DE ESTÉVIA MINIMAMENTE PROCESSADO (ESMP)

Fabiane Hodas (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Simone Rocha Ciotta, Maria Rosa Trentin Zorzenon, Paula Gimenez Milani (Coorientadora), Silvio Claudio da Costa (Orientador), e-mail: sccosta@uem.br

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: percolação, extração hidroalcoólica, edulcorante natural.

Resumo:

O pré-tratamento de folhas de estévia com etanol é importante para melhorar suas características sensoriais, uma vez que reduz o gosto residual amargo e herbáceo das folhas. A partir de folhas de estévia pré-tratadas com etanol (FSPE), é possível obter extratos minimamente processados ou empregá-las diretamente na formulação de alimentos. O objetivo do trabalho foi obter extrato de estévia minimamente processado (ESMP) a partir de FSPE. Utilizou-se como solventes verdes etanol absoluto para o pré-tratamento e etanol 70 % para obtenção do ESMP, com rendimento de 64% e teor de compostos fenólicos 2,5 vezes superior ao da FSPE. A atividade antioxidante e teor de adoçantes das folhas, das FSPE e do ESMP não diferiram estatisticamente.

Introdução

Glicosídeos de esteviol são compostos presentes na planta *Stevia rebaudiana* (Bert.), utilizados na indústria alimentícia como adoçantes naturais de alta intensidade. O Núcleo de Estudos em Produtos Naturais (NEPRON) da UEM realiza desde 1981 pesquisas de caráter multidisciplinar, visando desenvolvimento de processos de extração e purificação, obtenção de novas variedades e estudos funcionais dos extratos e substâncias isoladas a partir da planta estévia. Dentre os adoçantes majoritários da estévia, o rebaudiosideo A (REB A) é o que apresenta melhor qualidade do gosto doce. A *Stevia* UEM-13, obtida pelo NEPRON, possui até três vezes mais REB A em relação às populações de plantas selvagens (MILANI et al., 2017). Além do uso de plantas selecionadas ou melhoradas, outra estratégia para melhorar as características sensoriais das folhas de estévia é por meio do pré-tratamento com etanol. Com a técnica desenvolvida é possível obter FSPE, livre da fração amarga, a qual pode ser utilizada diretamente na

formulação de alimentos ou ainda ser empregada como material de partida para a produção de extratos de estévia com alta qualidade sensorial (FORMIGONI et al., 2018). Outras substâncias presentes na estévia, como compostos fenólicos, flavonoides e ácidos clorogênicos, apresentam atividades funcionais e/ou medicinais importantes, podendo atuar como antioxidantes, hipotensivos, anti-hiperglicêmicos, anti-inflamatórios e antimicrobianos, ajudando no tratamento e prevenção de doenças cardiovasculares e metabólicas (RIZWAN et al., 2018). Entretanto, a aplicação de extratos funcionais de estévia para fins terapêuticos ou nutricionais apresenta limitações, uma vez que muitos bioativos podem sofrer degradação quando expostos à luz, oxigênio e mudanças de pH (CHRANIOTI et al., 2015). O objetivo deste trabalho foi obter ESMP a partir de FSPE, microencapsulando em matrizes poliméricas como maltodextrina e gelatina de grau alimentício, por meio da técnica de secagem em *spray dryer*, a fim de promover aumento de sua estabilidade.

Materiais e métodos

Acompanhamento do cultivo de estévia

Foi acompanhado o cultivo de estévia da variedade Stevia UEM-13 no NEPRON, UEM. Em aproximadamente 60 dias, as plantas atingiram estágio de máximo crescimento vegetativo e estas foram então colhidas e secas em estufa de circulação de ar forçado a 60 °C. Foram separadas as folhas dos caules e impurezas manualmente. As folhas foram moídas e acondicionadas em sacos de polietileno, sendo armazenadas no escuro em temperatura ambiente.

Quantificação de glicosídeos de esteviol das folhas de estévia

O teor de glicosídeos de esteviol (em específico rebaudiosídeo A, rebaudiosídeo C e esteviosídeo) presente nas folhas de estévia secas e moídas foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) seguindo metodologia descrita por Dacome et al. (2005).

Pré-tratamento com etanol das folhas de estévia

As folhas de estévia secas e moídas foram submetidas ao pré-tratamento com etanol absoluto pelo método de percolação, de acordo com Formigoni et al. (2018). Foram pré-tratadas 300 g de folhas, utilizando 5,1 L de solvente com fluxo constante de 36 mL/min. Após o pré-tratamento, as folhas foram secas ao sol e armazenadas em geladeira até posterior uso.

Obtenção do extrato de estévia minimamente processado (ESMP)

A partir das FSPE, foi realizada a extração verde por meio de solvente hidroalcoólico 70 % (0,7 etanol:0,3 água v/v) com metodologia de Martins et al. (2016), com modificações. A extração foi realizada em *shaker* em cinco ciclos de 10 minutos cada, com temperatura de 50 °C e agitação em 100 rpm, com a proporção folha:solvente em 1:10 (m/v). Os filtrados obtidos foram reunidos e secos em evaporador rotativo. O pó resultante (ESMP) foi armazenado em frasco de vidro âmbar em dessecador.

Quantificação de compostos fenólicos e atividade antioxidante presentes nas folhas de estévia, FSPE e ESMP

Folhas de estévia e FSPE, bem como ESMP (concentração de 1 mg/mL) foram quantificados quanto ao teor de compostos fenólicos totais pela metodologia de Singleton et al. (1999), utilizando o reagente Folin-Ciocalteu. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média, em equivalentes de ácido gálico ($\mu\text{g/mL}$). A atividade antioxidante das folhas, FSPE e ESMP foi determinada pela metodologia de inibição do radical livre DPPH segundo Blois (1958) e os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média em equivalentes de Trolox ($\mu\text{g/mL}$). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida de teste de Tukey com 5% de significância.

Resultados e Discussão

Foram colhidos três lotes de folhas de estévia, resultando em 2,643 Kg de folhas secas e moídas. Por meio de CLAE, foi quantificado o teor de glicosídeos, resultando em 4,7% de esteviosídeo (STEV), 5,2% de rebaudiosídeo A (REB A) e 2,5% de rebaudiosídeo C (REB C), com total de 12,4% de glicosídeos de esteviol. Nota-se um teor maior de REB A em comparação ao STEV, indicando que a variedade da planta utilizada é de elite (DACOME et al., 2005; MILANI et al., 2017). O pré-tratamento de 300 g de folhas resultou em 280,14 g de FSPE, a partir das quais foi obtido o ESMP, com rendimento de 64 %.

A **Tabela 1** contém os dados referentes às análises do teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante presentes na folha de estévia, FSPE e no ESMP.

Tabela 1 – Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante presente nas folhas, FSPE e ESMP.

| | Folhas | FSPE | ESMP |
|---|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| Compostos Fenólicos ($\mu\text{gEAG/mL}$) | 51,16 \pm 0,08 ^a | 48,03 \pm 2,36 ^a | 123,92 \pm 2,92 ^b |
| Atividade Antioxidante ($\mu\text{gET/mL}$) | 8,00 \pm 0,02 ^a | 8,13 \pm 0,50 ^a | 8,33 \pm 0,07 ^a |

Letras diferentes na mesma linha representam diferença significativa entre si ($p < 0,05$).
EAG = Equivalentes de Ácido Gálico e ET (Equivalente de Trolox)

O pré-tratamento não alterou significativamente o teor de compostos fenólicos e nem de atividade antioxidante das FSPE. O ESMP apresentou teor de compostos fenólicos cerca de 2,5 vezes maior em relação às folhas. A superioridade de compostos fenólicos do ESMP está de acordo com o trabalho de Martins et al. (2016), que cita que a polaridade do etanol 70 % favorece a extração destes compostos das folhas de estévia.

Conclusões

O pré-tratamento com etanol não alterou o teor de compostos fenólicos e nem a atividade antioxidante das FSPE. A extração verde de FSPE resultou em ESMP com rendimento 64 % e elevado teor de compostos fenólicos.

Agradecimentos

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

Referências

- BLOIS, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 26, p. 1199–1200, 1958.
- CHRANIOTI C., CHANIOTI S., TZIA C. Microencapsulation of steviol glycosides (*Stevia rebaudiana* Bertoni) by a spray drying method - Evaluation of encapsulated products and prepared syrups. **International Journal of Food Studies**, v. 4, p. 212 - 220, 2015.
- DACOME, A.S., et al. Sweet diterpenic glycosides balance of a new cultivar of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni: Isolation and quantitative distribution by chromatography, and electrophoretic methods. **Process Biochemistry**. v. 40, p. 3587 – 3594, 2005.
- FORMIGONI, M., et al. Pretreatment with ethanol as an alternative to improve steviol glycosides extraction and purification from a new variety of stevia. **Food Chemistry**, v. 241, p. 452-459, 2017.
- MARTINS, P. M.; THORAT, B. N.; LANCHOTE, A. D.; FREITAS, L. A. P. Green extraction of glycosides from *Stevia rebaudiana* (Bert.) with low solvent consumption: A desirability approach. **Resource-Efficient Technologies**, v. 2, p. 247-253, 2016.
- MILANI, P. G., et al. New seminal variety of *Stevia rebaudiana*: Obtaining fractions with high antioxidant potential of leaves. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 3, p. 1841-1850, 2017.
- RIZWAN, F., et al. Preliminary analysis of the effect of Stevia (*Stevia rebaudiana*) in patients with chronic kidney disease (stage I to stage III). **Contemporary Clinical Trials Communications**, v. 12, p. 17-25, 2018.
- SINGLETON, V.L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagentes. **Methods Enzymol**, v. 299, 152–178, 1999.