

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS POLISSACARÍDEOS DE STEVIA REBAUDIANA

Lorena Gonçalves Bardini Aristides (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Silvio Cláudio da Costa (Orientador), e-mail: ra114954@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Área e sub-área do conhecimento: Ciência e Tecnologia de Alimentos. Química, Física, Físico-Química e Bioquímica dos Alim. e das Mat.-Primas Alimentares.

Palavras-chave: Polissacarídeos, caules de Stevia, Stevia UEM-13.

Resumo:

As folhas da planta *Stevia rebaudiana* apresentam em suas folhas, caules e ramos, glicosídeos do esteviol, os quais tem sido explorado comercialmente como adoçantes naturais não calóricos em substituição à sacarose e aos adoçantes sintéticos de alta intensidade. Diversas classes de substâncias de baixo peso molecular tem sido isolado e suas propriedades funcionais avaliadas, principalmente a partir folhas de Stevia. Entretanto, pouco se conhece a respeito da composição polissacarídica dessa planta, a qual foi obtida a partir de folhas de Stevia não tratadas com rendimento de 3,51%. A análise de composição monomérica de caules desengordurados por meio de CLAE, indicou a presença de 6,4% pentoses (arabinose raminose) e 8,0% de hexoses (Glicose, manose e galactose)

Introdução

Polissacarídeos são compostos basicamente de monossacarídeos conectados por ligações glicosídicas, os quais possuem uma variedade de atividades biológicas, como a regulação do metabolismo lipídico, potencial terapêutico contra a colite, redução do dano oxidativo das células, regulação do microbiota intestinal e sistema imunológico, atividade antitumoral, propriedades antienvhecimento e atividade anti-hiperglicêmica (ZHANG, H., ZHAO, J., SHANG, H., GUO, Y., & CHEN, S. 2020). Os polissacarídeos de plantas em geral, localizados principalmente na parede celular, são divididos em pectinas, hemiceluloses e celuloses. A celulose é um polímero linear de unidades de anidro-D-glicopiranosose unidas por ligações glicosídicas (1->4). Entretanto, essas ligações estão na configuração β e as unidades dissacarídicas constituintes são chamadas celubiose. O seu peso molecular depende do meio onde se encontra a celulose, a forma que foi extraída e o método usado para determinação do peso molecular (FENNEMA, 1976). Já as pectinas, são polissacarídeos ricos em ácido galacturônico, ramnose, arabinose e galactose. Ramnogalacturonanas I e II, arabinanas, galactanas, arabinogalactanas I e hemogalacturonanas são exemplos de polissacarídeos

pécticos (ASPINALL, 1980; BRETT E WALDRON, 1990). As hemiceluloses são polissacarídeos que ocorrem em íntima associação com as celuloes, especialmente em tecidos lignificados (ASPINALL, 1959). São hemiceluloses: xilanas, glicomananas, mananas, galactomananas, glicuronomananas, xiloglicanas e β -glicanas 1->3, 1->4 ligadas a arabinogalactanas II (ASPINALL, 1980; BRETT E WALDRON 1990). Assim, a proposta desse projeto, é extrair e caracterizar os polissacarídeos de folhas e caules de *Stevia rebaudiana*, variedade Stevia UEM-13, e avaliar o efeito de seus metabólitos e o potencial hipoglicemiante *in vitro* e *in vivo*. Caules e ramos de Stevia representam aproximadamente 25% da biomassa produzida em culturas de Stevia. Entretanto, em função do baixo conteúdo de edulcorantes, caules e ramos têm sido descartados, ou seja, tratados como resíduos. Os dados disponíveis na literatura referentes à composição centesimal de caules e ramos não permitem uma avaliação segura do potencial nutricional ou funcional dos mesmos, são poucos e conflitantes.

Materiais e Métodos

Material de partida

Os caules e folhas de *Stevia rebaudiana* cultivadas no Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais (NEPRON) na Universidade Estadual de Maringá, foram colhidas no estágio máximo de crescimento vegetativo. Esses arbustos foram secos em estufa de circulação a 60°, e suas folhas foram separadas dos caules para a moagem em um moedor de facas de aço e armazenadas em sacos de polietileno.

Tratamento com Hexano

100 mg de caule de Stevia moídos foram submetidos a uma extração por exaustão e tratados com 600 mL de hexano no Soxhlet por aproximadamente 6 horas.

Pré-tratamento etanólico

O pré-tratamento etanólico das folhas de Stevia foi realizado de acordo Formigoni et al. (2018). E as análises cromatográficas de acordo com Dacome et al., (2005).

Dosagem de monossacarídeos

100 mg das amostras de caules tratados e não tratados foram hidrolisados com 1 mL de ácido trifluoroacético (TFA) 2 M, em banho-maria aproximadamente 100°C, durante 8 horas. O material hidrolisado foi evaporado em evaporador-rotativo e o resíduo obtido foi solubilizado com 50 mL de água destilada. O mesmo processo foi feito para as amostras das folhas sem tratamento e pré-tratadas com etanol. Em seguida, as folhas e caules pré-tratados e não tratados passaram por uma cromatografia de alta eficiência (HPLC) para a caracterização monomérica.

Resultados e Discussão

O pré-tratamento de folhas de Stevia UEM-13 mostrou-se bastante seletiva, uma vez que o conteúdo de adoçantes permaneceu praticamente inalterado quando comparado à folha não tratada como demonstrado na tabela 1. Em uma análise preliminar, constatou-se que a FPT não apresenta o forte gosto herbáceo característico da FNT.

Tabela 1. Quantificação de glicosídeos de esteviol nas folhas de Stevia não tratadas (FNT) e folhas pré-tratadas com etanol (FPT).

Glicosídeos de esteviol	FNT (%)	FPT (%)
Esteviosídeo	4,5	4,4
Rebaudiosídeo A	7,1	6,7
Rebaudiosídeo C	2,0	2,0
Glicosídeos totais	13,6	13,1
RebA/Stev	1,58	1,52

Para obtenção da fração polissacarídica, foi empregado como material de partida extrato de Stevia minimamente processado (ESMP) com pureza de 30,06% (CIOTTA et al., 2022), obtido a partir de folhas de Stevia in natura não tratadas (FNT), por meio de percolação semi-contínua, tendo como solvente água destilada e deionizada aquecida a 100°C. A fração polissacarídica (FP) apresentou rendimento médio de 3,51%. Caules de folhas de Stevia foram analisados em CLAE e apresentaram 1,5% de adoçantes (tabela 2), os quais foram hidrolisados com TFA e tiveram a sua composição monomérica aproximada determinada, sendo detectado 6,4% de pentoses (ramnose e arabinose) e 8,0% hexoses (glicose, galactose e manose).

Tabela 2. Quantificação de glicosídeos do esteviol em caules de stevia

Glicosídeos do esteviol	Caule in natura (%)	Caule desengordurado (%)
Esteviosídeo	0,9	0,6
Rebaudiosídeo A	0,3	0,4
Rebaudiosídeo C	0,3	0,1
Glicosídeos totais	1,5	1,1
RebA/Stev	0,33	0,66

Conclusões

A partir de extratos de Stevia minimamente processados, foi obtida uma fração polissacarídica com rendimento de 3,1% em relação à massa de folhas secas de Stevia in natura. A composição monomérica dos polissacarídeos do caule de Stevia foi determinada de forma indireta, por meio da hidrólise do mesmo com TFA, sendo detectado 6,4% de pentoses (ramnose e arabinose) e 8,0% de hexoses (manose, glicose e galactose).

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos, ao NEPRON e a Universidade Estadual de Maringá.

Referências

CIOTTA, S. R. *et al.* Extraction of sweeteners from Stevia rebaudiana by semicontinuous percolation of untreated leaves and leaves pretreated with ethanol. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s.l.], v. 46, n. 3, p. 1-9, 2022.

DACOME A.S. *et al.* Sweet diterpenic glycosides balance of a new cultivar of Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni: Isolation and quantitative distribution by chromatographic, spectroscopic, and eletrophoretic methods. **Process Biochemistry**, [s.l.], v. 40, n. 11, p. 3587-3594, 2005.

FENNEMA, O. R. **Principles of Food Science: Part I – Food Chemistry**. New York: Marcell Dekker, 1976.

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**, [s.l.], v. 241, p. 452-459, 2018.

ZHANG, H., *et. al.* Extraction, purification, hypoglycemic and antioxidant activities of red clover (*Trifolium pratense* L.) polysaccharides. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.] v. 148, p. 750-7601, 2020.