



## CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE EXTRATO DE FOLHAS DE *STEVIA REBAUDIANA* CULTIVADAS EM HIDROPONIA

<sup>1</sup>Isadora Valério Martins da Silva (PIBIC/CNPq), <sup>1,2</sup>Arildo José Braz de Oliveira (Orientador). E-mail: [ajbоловeira@uem.br](mailto:ajbоловeira@uem.br), <sup>1,2</sup>Regina Aparecida Correia Gonçalves (Co-orientadora), <sup>2</sup>Gabriela Lafayene Okonski dos Santos (participante).

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Farmácia, Maringá, PR.

### Farmácia, Farmacognosia.

**Palavras-chave:** Espectrometria de massas; Glicosídeos do Steviol; Rebaudiosídeo B; Steviosídeo.

### RESUMO

A *Stevia rebaudiana* (Bertoni), Asteraceae, que é conhecida pelo seu poder adoçante, foi cultivada em sistema hidropônico caseiro TFN (Técnica de Filme Nutriente) com soluções nutritivas diferentes, Kristalon e Hidrogood, e mantidas por 28 dias, com controle de luz, temperatura, pH e condutividade do substrato. As plantas foram colhidas e um extrato hidroalcoólico foi preparado e analisado por espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear, assim como os padrões de Steviosídeo e Rebaudiosídeo B, os resultados de Espectrometria de massas (EM) e Ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio foram comparados e os resultados mostraram que ambas as amostras contêm Steviosídeo e Rebaudiosídeo B, compostos de interesse comercial.

### INTRODUÇÃO

*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, Asteraceae, mundialmente conhecida pelo seu poder adoçante, devido à grande produção de diterpenos glicosídeo de esteviol, este composto é um adoçante não calórico natural, muito mais doce que a sacarose (Lemus-Mondaca *et al.*; 2012). O cultivo hidropônico tem se expandido no Brasil desde 1990 e é uma alternativa viável, que envolve pouco espaço e ambiente controlado, para o cultivo de hortaliças (Martinez e Silva; 2006), uma técnica alternativa onde a planta fica submersa por uma solução nutritiva com ou sem um suporte físico de material inerte (Asao; 2012).

### MATERIAIS E MÉTODOS

*Cultivo de Stevia rebaudiana em um sistema hidropônico caseiro*



As mudas de *Stevia rebaudiana* foram adquiridas em viveiro 4 Estações Garden Center localizado na Av. Colombo nº 7432 – Zona 7, Maringá-PR, lavadas e transferidas para um sistema hidropônico caseiro do tipo TFN (Técnica de Filme Nutriente). Foram preparadas duas soluções nutritivas, uma com fertilizante mineral misto NPK (Hidrogood), e outra, com fertilizante (Kristalon) ambas enriquecidas com diferentes formas de nitrato: nitrato de cálcio (Hidrogood) e organocálcio (Kristalon), e as condições de cultivo foram controladas com temperatura controlada ( $28 \pm 1^\circ\text{C}$ ), umidade relativa de  $40 \pm 10\%$  e um fotoperíodo de 16h luz/8h escuro com uma intensidade de luminosa  $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , mantendo o pH entre (6,5 - 7,5) e a condutividade entre 1,0 e 1,2 mScm $^{-1}$ , para manter um padrão. Após 28 dias de cultivo, as folhas das plantas de ambos os cultivos foram retiradas para realizar a extração por refluxo.

#### *Extração das folhas de Stevia rebaudiana produzida em hidroponia*

Após obter uma biomassa suficiente, as folhas de *Stevia* de ambos os cultivos foram secas em estufa, trituradas e submetidas a extração com etanol 80% por 1 hora sob refluxo. Em seguida, o solvente foi removido usando um rota-evaporador, e o extrato foi liofilizado e armazenado a  $-30^\circ\text{C}$  até as análises. O processo resultou em um extrato hidroalcóolico concentrado das folhas de Hidrogood (FH-EtOH 80) e Kristalon (FK-EtOH 80).

#### *EM*

A análise de EM foi realizada com espectrômetro Bruker Impact 2, com alíquota de 100  $\mu\text{l}$  (na concentração de 1 mg/ml) suspendida em 1 ml de Acetonitrila grau LC-MS com uma fonte de ionização *electrospray*, as amostras foram enviadas e a análise foi realizada pelo Laboratório de Biomoléculas e EM (LABIOMASS), situado no Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP), bloco B08, sala 112, na Universidade Estadual de Maringá (UEM).

#### *Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN- $^1\text{H}$ )*

Uma alíquota de 10 mg de cada um dos extratos etanólicos (EtOH) foi dissolvida em 700  $\mu\text{L}$  dimetilsulfóxido deuterado (DMSO) a 99,9%, e a solução foi transferida para o tubo de RMN e foi encaminhado para análise. As análises de  $^1\text{H}$  foram realizadas a  $50^\circ\text{C}$  devido a viscosidade da amostra analisada. As análises foram realizadas em um Espectrômetro VARIAN, modelo Mercury Plus, operado a 300,05 MHz para o núcleo de hidrogênio no Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá. Os deslocamentos químicos foram expressos em partes por milhão (ppm).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**



## EM

Na análise de espectrometria foram comparados os padrões de Steviosídeo e Rebaudiosídeo B com as amostras de *Stevia rebaudiana* cultivadas em sistema hidropônico contendo as soluções nutritivas Hidrogood e Kristalon, as análises foram realizadas em modo negativo e os dados de massas são mostrados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Detecção de Steviosídeo nos extratos de folhas de *Stevia rebaudiana* cultivada em diferentes soluções nutritivas.

Amostra	Massa exata (m/z)	Massa experimental (m/z)	m/z erro ( $\Delta$ ppm)
Padrão Steviosídeo	803,3695	803,3640	6,85
Padrão Rebaudiosídeo B	803,3695	803,3640	6,85
Extrato EtOH - Hidrogood	803,3695	803,3648	5,85
Extrato EtOH - Kristalon	803,3695	803,3676	2,36

Na Tabela 1 pode-se constatar a presença dos compostos Steviosídeo e Rebaudiosídeo B, pois foi possível detectar a presença desses dois compostos nos extratos pela determinação de sua massa exata.

## RMN-<sup>1</sup>H

Na análise de RMN de <sup>1</sup>H os picos das amostras de *Stevia rebaudiana* cultivada em sistema hidropônico por Hidrogood e Kristalon foram comparados com os picos dos padrões de Steviosídeo e Rebaudiosídeo B.

Os sinais obtidos no espectro de RMN de hidrogênio foram compatíveis com os resultados apresentados na espectrometria de massas, pois foi possível constatar a presença de Steviosídeo e Rebaudiosídeo B, indicando que os extratos EtOH *Stevia rebaudiana* cultivadas em hidropônia em dois tipos de solução nutritiva foram capazes de produzir esses dois compostos de interesse.

## CONCLUSÕES

A partir dos dados apresentados é possível concluir que os extratos EtOH de *Stevia rebaudiana*, cultivada em sistema hidropônico empregando-se duas soluções nutritivas diferentes, apresentam Rebaudiosídeo B e Steviosídeo em sua composição.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPQ pela concessão da bolsa, à UEM pela infraestrutura e oportunidade, à equipe LABIPROS e LABIOTEC pelo auxílio e conhecimento



partilhado, em especial ao meu orientador, Arildo Braz de Oliveira e às minhas co-orientadora Profa. Dra. Regina A. C. Gonçalves e a mestrandra do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas Gabriela L. Okonski dos Santos.

## REFERÊNCIAS

- ASAO, T. **Hydroponics: A standard methodology for plant biological research.** Rijeka: InTech, p.244, 2012.
- LEMUS-MONDACA, R.; VEGA-GÁLVEZ, A.; ZURA-BRAVO, L.; AH-HEN, K. Stevia rebaudiana Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: a comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. **Food Chemistry.** v 132, p.1121–1132, 2012.
- MARTINEZ, H. E. P.; SILVA FILHO, J. B. **Introdução ao cultivo hidropônico de plantas.** Viçosa: UFV, 2006.