

CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD) DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *STEVIA REBAUDIANA* CULTIVADA EM HIDROPONIA

Isadora Valério Martins da Silva (PIBIC/CNPq)¹, Gabriela Lafayne Okonski dos Santos², Regina Aparecida Correia Gonçalves^{1,2}, Arildo José Braz de Oliveira^{1,2} (Orientador). E-mail: ajboliveira@uem.br.

¹Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Farmácia, Maringá, PR.

²Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UEM

Farmácia, Farmacognosia.

Palavras-chave: Cromatografia; Glicosídeos de esteviol; Hidroponia.

RESUMO

O estudo teve como objetivo avaliar o cultivo hidropônico de *Stevia rebaudiana*, técnica que dispensa o solo e utiliza solução nutritiva balanceada. Foram utilizadas mudas adquiridas em viveiro e transferidas para um sistema de técnica de filme nutritivo, com três soluções distintas: Hidrogood (H), Kristalon (K) e Hidrogood suplementados com ácido indol-butírico (AIB). Após 28 dias, as folhas foram colhidas, pesadas e submetidas à extração hidroetanólica (etanol 80%) na proporção 1/50 (m/V), sob refluxo por 1 hora, seguida de evaporação do etanol e liofilização, resultando em três extratos secos. Os extratos foram analisados por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placas de gel de sílica, a fase móvel foi acetona:acetato de etila:água (5:4:1 v/v/v) e revelado com solução de orcinol-sulfúrico. O cálculo dos fatores de retenção (R_f) permitiu a comparação com padrões de esteviosídeo e rebaudiosídeo B. Os resultados mostraram valores de R_f semelhantes entre os extratos e os padrões, indicando a presença de ambos os compostos nos cultivos hidropônicos, independentemente da solução utilizada. Além disso, foram observados outros pontos cromatográficos, sugerindo a presença de diferentes glicosídeos de esteviol (GEs) em suas folhas.

INTRODUÇÃO

Os extratos de *Stevia* são usados em diversas preparações devido à propriedade edulcorante de seus compostos, os glicosídeos de esteviol. A *S. rebaudiana* em particular é um aditivo alimentar de baixa calorias ou pode ser considerada uma droga potencial para diabéticos (Yang *et al.*, 2014). Dentre os GEs, pode-se destacar, o esteviosídeo (STV), rebaudiosídeo (Reb A, B, C, D, E, F e M) e dulcosídeo A (DA).

O objetivo deste trabalho foi utilizar uma forma alternativa para realizar o cultivo de *S. rebaudiana*, optando-se pelo cultivo por hidroponia, que pode ser conceituada como uma técnica de cultivar plantas sem solo, onde as raízes recebem

uma solução nutritiva balanceada que contém água e todos os nutrientes essenciais ao seu desenvolvimento. Nesse cultivo, as raízes podem estar suspensas em meio líquido, chamada de técnica filme nutriente (TFN) ou apoiadas em substrato inerte hidropônico (Martinez e Silva, 2006).

MATERIAIS E MÉTODOS

Cultivo de Stevia rebaudiana em sistema hidropônico.

As mudas de *S. rebaudiana* foram adquiridas no Viveiro 4 Estações (Maringá-PR), as raízes foram lavadas, para que a terra fosse retirada, e as plantas transferidas para o sistema hidropônico caseiro do tipo TFN contendo canais de cultivo por onde a solução nutritiva circula.

Foram utilizadas três soluções nutritivas distintas, uma contendo substrato da marca Hidrogood (H), outra com substrato da marca Kristalon (K) e outra, com Hidrogood suplementado com ácido 3 indol-butírico (AIB). Foram preparados 20 L de solução nutritiva, o pH e a condutividade das soluções foram verificados todos os dias. O sistema de bombeamento de água foi ligado sem o uso de temporizador, as plantas foram parcialmente submersas na lâmina de solução nutritiva circulante.

Após um período de 28 dias da sua introdução no sistema hidropônico as plantas foram retiradas e as folhas removidas e pesadas para realizar a extração e análise.

Extrato hidroetanólico das folhas de Stevia rebaudiana.

As folhas foram submetidas a extração segundo Sun e Hou (2019) com algumas modificações, as mesmas foram secas, trituradas com o auxílio de gral e pistilo, pesadas e a amostra, transferida para um balão de destilação de 500 mL ao qual foram adicionados 250 ml de etanol 80%, e 5 g das folhas secas (1:50 p/v) realizando a extração sob refluxo por 1 hora após fervura, em sequência as amostras foram evaporadas em evaporador rotativo para a retirada do excesso de solvente e levadas ao liofilizador, para serem estocadas em freezer a -30 °C até o momento das análises, rendendo o extrato seco das folhas.

Ao final foram obtidos três extratos, das plantas cultivadas com Hidrogood (H), com Hidrogood suplementado com AIB (AIB) e o outro com Kristalon (K), que foram analisados pela técnica de Cromatografia em Camada Delgada.

Cromatografia em Camada Delgada (CCD).

A técnica foi realizada segundo Dacome e colaboradores (2005) com modificações, foram utilizadas cromatoplasacas de gel de sílica 60G com base de alumínio da marca Lemandou® como fase estacionária e, como fase móvel, foi utilizada uma solução de acetona:acetato de etila:água (5:4:1 v/v/v), o revelador utilizado foi uma solução de 250 mg de Orcinol dissolvido em etanol e ácido sulfúrico (95:5 v/v), após a aplicação a placa foi aquecida de 100-105 °C por 5-10 minutos em

chapa de aquecimento. As amostras e os padrões foram dissolvidos em metanol na concentração de 1 mg/mL. O cálculo do R_f (fator de retenção) foi realizado seguindo a Equação 1.

$$R_f = \frac{d_s}{d_m}$$

Equação 1 – Fórmula para cálculo do R_f.

Onde d_s é a distância percorrida pela amostra e d_m é a distância percorrida pela fase móvel. Os valores de R_f foram analisados e comparados com os valores apresentados pelos padrões de esteviosídeo e rebaudiosídeo B.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cromatografia foi realizada após a aplicação dos padrões de esteviosídeo e rebaudiosídeo B e dos extratos de folhas de *S. rebaudiana* cultivadas em diferentes soluções nutritivas, os principais pontos foram medidos e seus respectivos R_f calculados, as manchas referentes aos componentes majoritários medidos podem ser observados na Figura 1.

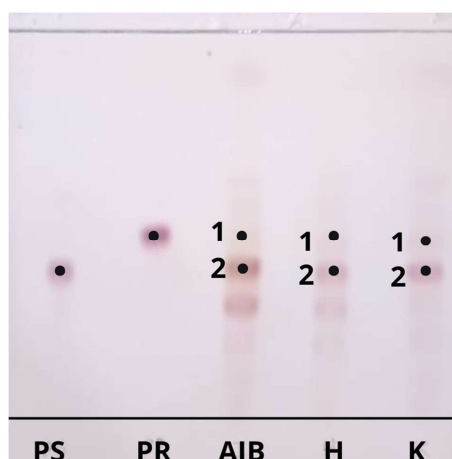


Figura 1 – Cromatoplaça revelada com os pontos analisados em destaque e numerados. onde **PS**: padrão esteviosídeo, **PR**: padrão rebaudiosídeo B, **AIB**: extrato de folhas de *Stevia rebaudiana* cultivadas com solução enriquecida com ácido indol-butírico, **H**: extrato de folhas de *Stevia rebaudiana* cultivadas em solução Hidrogood e **K**: extrato de folhas de *Stevia rebaudiana* cultivadas em solução Kristalon.

Após medir a área central dos pontos presentes na placa, foi feito o cálculo do R_f, a partir da equação mostrada anteriormente. Os resultados foram comparados com o R_f dos padrões e podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores de Rf calculados a partir da cromatoplaça apresentada na Figura 1.

Fatores	Hidrogood	Kristalon	AIB	Padrão Esteviosídeo	Padrão Rebaudiosídeo B
Rf	0,48	0,47	0,47	-	0,47
Rf	0,40	0,40	0,40	0,39	-

Com base nisso, podemos sugerir que ambos os extratos das folhas de *S. rebaudiana* cultivadas em soluções nutritivas produzem rebaudiosídeo B e esteviosídeo. Por se tratar de um extrato de origem vegetal, é possível visualizar outros pontos, que podem ser atribuídos a outros SGs, presentes também nas folhas de *Stevia rebaudiana*.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram que as folhas de *S. rebaudiana* cultivadas em sistema hidropônico possuem esteviosídeo e rebaudiosídeo B.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa, à Universidade Estadual de Maringá (UEM) pela infraestrutura, ao meu orientador e à equipe LABIPROS e LABIOTEC.

REFERÊNCIAS

Dacome, A. S.; Silva, C. C.; Costa, C. E. M.; Fontana, J. D.; Adelman, J.; Costa, S. C. Sweet diterpenic glycosides balance of a new cultivar of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni: Isolation and quantitative distribution by chromatographic, spectroscopic, and electrophoretic methods. **Process biochemistry**, v. 40, p. 3587-3594, 2005. Acesso em: 5 de ago. de 2025;

Martinez, H. E. P.; Silva Filho, J. B. **Introdução ao cultivo hidropônico de plantas**. Viçosa: UFV, 2006.

Sun, Y.; Hou M.; Mur, I. A. J.; Yang, Y.; Zhang, T.; Xu, X.; Huang, S.; Tong, H. Nitrogen drives plant growth to the detriment of leaf sugar and steviol glycosides metabolisms in *Stevia* (*Stevia rebaudiana* Bertoni). **Plant Physiology and Biochemistry**, v 141, p. 240–249, 2019. Acesso em: 5 de ago. de 2025;

Yang Yh, Huang, S. Z.; Han, Y. L.; Yuan, H. Y.; Gu, C. S.; Zhao, Y. H. Base substitution mutations in uridine diphosphate-dependent glycosyltransferase 76G1 gene of *Stevia rebaudiana* causes the low levels of rebaudioside A Mutations in UGT76G1 A key gene of steviol glycosides synthesis. **Plant Physiol Biochem** v 80, p. 220-225, 2014. Acesso em: 5 de ago. de 2025;