PURIFICAÇÃO DE INULINA OBTIDA DE RAÍZES DE *Stevia rebaudiana* CULTIVADAS EM SOLO E EM SISTEMA HIDROPÔNICO

Heloísa Jardim (PIBIC/CNPq), Arildo Jose Braz de Oliveira (Orientador), Gabriela Lafayne Okonski Dos Santos (Coorientadora). E-mail: ajboliveira@uem.br.
Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Farmácia, Maringá, PR.

Biotecnologia, Biotecnologia Vegetal, Tecnologia de Processos e Produtos.

Palavras-chave: Agente clarificantes; Frutanos; Remoção de interferentes.

RESUMO
A *Stevia rebaudiana* apresenta inulina em suas raízes, um frutano com propriedades prebióticas e aplicações alimentícias e farmacêuticas. A obtenção de seus extratos requer processos eficientes de extração e redução de compostos interferentes. Assim, avaliou-se o efeito da adição de carvão ativado (0,5%, 1% e 2%) e de uma mistura de resinas de troca iônica durante a extração hidrotérmica de raízes de *S. rebaudiana* cultivadas em sistema hidropônico. As raízes, obtidas por cultivo hidropônico em sistema de Técnica do Filme Nutriente (TFN), foram secas, trituradas e submetidas à extração em autoclave. Os extratos foram avaliados quanto ao rendimento, teores de açúcares totais, açúcares redutores, inulina estimada e proteínas, além dos perfis espectroscópico, por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflectância total atenuada (EITF-RTA), e cromatográfico, por cromatografia em camada delgada (CCD). O tratamento com a mistura de resinas apresentou maior rendimento e redução do teor de proteínas em comparação com as demais amostras. Os espectros de EITF-RTA apresentaram perfil característico de inulina, enquanto a CCD evidenciou comportamento cromatográfico semelhante ao padrão de inulina em todas as amostras. Os resultados indicam potencial da utilização de resinas associada à extração para obtenção de extratos com maior rendimento e menor teor de proteínas, mantendo características compatíveis com inulina.

INTRODUÇÃO
A espécie *Stevia rebaudiana* Bertoni é reconhecida pela presença de glicosídeos diterpênicos em suas folhas, utilizados como adoçantes naturais de alta intensidade. Além disso, suas raízes apresentam interesse como fonte de inulina, um frutano com propriedades prebióticas e aplicações nas áreas alimentícia e farmacêutica (MARIANO *et al.,* 2023). Sistemas de cultivo controlados, como a Técnica do Filme Nutriente (TFN), podem favorecer a obtenção de biomassa radicular mais uniforme para processos de extração (LIMA *et al.,* 2025).
A extração hidrotérmica em autoclave destaca-se como uma alternativa eficiente para obtenção de inulina, porém pode promover a coextração de compostos interferentes, como proteínas, pigmentos e compostos fenólicos, que podem afetar a qualidade dos extratos (MARIANO *et al.*, 2023).
Nesse contexto, a utilização de agentes clarificantes durante a própria extração surge como uma estratégia para minimizar a presença desses compostos. O carvão

ativado apresenta elevada capacidade de adsorção, sendo utilizado na remoção de pigmentos e moléculas indesejáveis presentes em extratos vegetais. Já as resinas adsorventes e de troca iônica apresentam potencial para remoção seletiva de compostos interferentes, podendo contribuir para a obtenção de extratos com maior qualidade química.
Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adição de carvão ativado (0,5%; 1% e 2%) e de uma mistura de resinas (A502PSFL, C150H e PPA1335, a 1% de cada) durante a extração hidrotérmica de raízes de *S. rebaudiana* cultivadas em sistema hidropônico compacto, bem como caracterizar qualitativa e quantitativamente os extratos obtidos por técnicas espectrofotométricas e cromatográficas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Cultura de Stevia rebaudiana *em um sistema hidropônico*
As mudas de *S. rebaudiana* foram cultivadas por 28 dias em sistema hidropônico compacto do tipo Técnica Filme Nutriente (TFN), utilizando solução nutritiva e condições controladas de cultivo. Ao final do período, as raízes foram coletadas, secas em estufa a 50 °C por 24 h e trituradas em liquidificador industrial.

Extração dos frutanos das raízes de S. rebaudiana
A extração foi realizada em autoclave a 121 °C por 20 minutos, utilizando raízes e água na proporção 1:20 (m/v). Foram avaliadas diferentes condições de clarificação durante esse processo, utilizando carvão ativado (0,5%; 1% e 2%) ou uma mistura de resinas (A502PSFL, C150H e PPA1335, 1% de cada), as quais foram comparadas a uma amostra controle sem adição desses agentes. Após a extração, os extratos foram filtrados, congelados e liofilizados, obtendo-se amostras adequadas para as análises posteriores.

Determinação de açúcares totais e redutores
As análises colorimétricas foram realizadas em espectrofotômetro Agilent Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies®) no LABIPROS/UEM. Os açúcares totais foram determinados pelo método do fenol-ácido sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956), enquanto os açúcares redutores foram quantificados pelo método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS) (Miller, 1959). A concentração estimada de inulina (%CI) foi obtido pela diferença entre os teores de açúcares totais (%AT) e açúcares redutores (%AR), conforme Lingyun *et al.* (2007), de acordo com a Equação 1.

$$\%CI = \%AT - \%AR \qquad (1)$$

Determinação de proteínas
A determinação de proteínas foi realizada pelo método de Lowry *et al.* (1951), com modificações. As absorbâncias foram obtidas a 650 nm, utilizando padrão de albumina bovina para cálculo do teor proteico.

Espectroscopia no infravermelho
As análises por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e reflectância total atenuada (EITF-RTA). Foram realizadas no Complexo de Centrais

de Apoio à Pesquisa (COMCAP) da Universidade Estadual de Maringá, para obtenção dos espectros característicos das amostras.

Cromatografia em camada delgada (CCD)

As análises por cromatografia foram utilizadas placas de gel de sílica 60, empregando-se dois sistemas de solventes como fases móveis: 1) isopropanol:butanol:água:ácido acético (14:10:4:2, v/v) e 2) isopropanol:butanol:água:ácido acético:ácido fórmico (14:10:4:1:1, v/v) e reveladas com reagente de orcinol-sulfúrico (Salomé-Abarca *et al.,* 2023). Após a aplicação foi calculado o Rf dos padrões (Frutose, Glicose e Inulina) e das amostras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação de açúcares totais, redutores, concentração de inulina e proteína

Os resultados obtidos indicaram que a adição de carvão ativado e da mistura de resinas durante a extração alterou o rendimento e a composição química dos extratos de *S. rebaudiana* nas condições avaliadas (Tabela 1).

Tabela 1. Rendimento da extração e composição química das raízes de *S. rebaudiana* obtidos por diferentes tratamentos de extração.

Amostra	Rendimento (%)	Açúcar total (%)	Açúcar redutor (%)	Concentração estimada de inulina (%)	Proteínas (%)
CT	14,13	24,05 ± 0,05	7,14 ± 0,05	16,91	19,98 ± 0,01
A0,5%	9,99	44,99 ± 0,01	6,37 ± 0,04	38,62	18,20 ± 0,02
A1%	11,27	28,92 ± 0,01	6,24 ± 0,04	22,66	14,44 ± 0,01
A2%	10,72	23,72 ± 0,03	6,22 ± 0,04	17,5	12,57 ± 0,06
AR	22,28	28,31 ± 0,03	7,38 ± 0,06	20,93	13,01 ± 0,00

A concentração de inulina foi estimada por método indireto. No qual, CT = controle; A0,5% = extração com adição de 0,5% (m/v) de carvão ativado; A1% = extração com adição de 1% (m/v) de carvão ativado; A2% = extração com adição de 2% (m/v) de carvão ativado; AR = extração com adição de uma mistura de resinas composta por A502PSFL, C150H e PPA1335 (1% m/v de cada resina; 3% m/v no total).

Espectroscopia no infravermelho

A análise por EITF-RTA permitiu observar bandas características compatíveis com o perfil espectral da inulina em todas as amostras (Figura 1), indicando manutenção de grupos funcionais associados a frutanos após os diferentes tratamentos de clarificação.

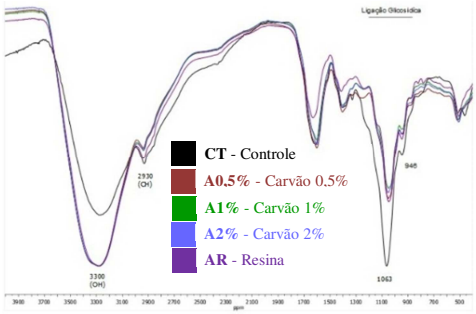
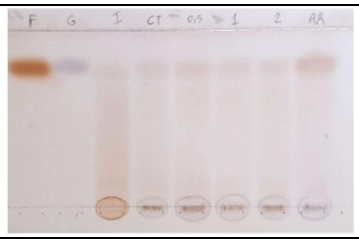


Figura 1 – Espectros de infravermelho dos extratos de raízes de *S. rebaudiana* obtidos sob diferentes tratamentos de clarificação.

Cromatografia em camada delgada (CCD)

A análise por CCD evidenciou perfil cromatográfico semelhante ao padrão de inulina em todas as amostras, com formação de faixa contínua e valores de migração próximos (Tabela 2).

Tabela 2. Perfil cromatográfico e fatores de retenção dos padrões e extratos de raízes de *S. rebaudiana* obtidos por diferentes tratamentos de extração.



Amostra	Fator de Retenção (cm)
Padrão de frutose (F)	3,92
Padrão de glicose (G)	3,95
Padrão de inulina (I)	3,76
CT	3,78
0,5	3,81
1	3,82
2	3,86
AR	4

No qual, CT = controle; 0,5 = extração com adição de 0,5% (m/v) de carvão ativado; 1 = extração com adição de 1% (m/v) de carvão ativado; 2 = extração com adição de 2% (m/v) de carvão ativado; AR = extração com adição de uma mistura de resinas composta por A502PSFL, C150H e PPA1335 (1% m/v de cada resina; 3% m/v no total).

CONCLUSÕES

A aplicação dos agentes clarificantes alterou o rendimento e a composição química dos extratos nas condições avaliadas. A mistura de resinas destacou-se pelo maior rendimento e pelo menor teor de proteínas, mantendo perfil espectral característico de inulina e perfil cromatográfico semelhante ao padrão de inulina observado por CCD. Esses resultados indicam o potencial das resinas como estratégia de clarificação associada à extração hidrotérmica de raízes de *S. rebaudiana*, embora análises adicionais de pureza, massa molar e grau de polimerização sejam necessárias para confirmar a identidade e a qualidade da inulina obtida.

REFERÊNCIAS

DUBOIS, M. *et al*. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

LIMA, H. R. S. *et al.* Extraction and Characterization of Inulin-Like Fructans from Hydroponically Grown *Stevia rebaudiana* Roots for Food Applications. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 80, 2025.

LOWRY, O. H. *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.

MARIANO, T. B. *et al.* Inulin extraction from *Stevia rebaudiana* roots in an autoclave. **Carbohydrate Research**, v. 530, p. 108850, 2023.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

SALOMÉ-ABARCA, L. F. *et al*. HPTLC-based fingerprinting: An alternative approach for fructooligosaccharides metabolism profiling. **Current Research in Food Science**, v. 6, p. 100451, 2023.