



V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA 05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

Estudo Fitoquímico de Clones de Elite de Folhas de Estévia

Paula Moro¹, Heloisa Vialle Pereira¹, Paula Gimenez Milani², Silvio Claudio da Costa¹

¹Universidade Estadual de Maringá – Departamento de Bioquímica

CEP 87020-900 Maringá – Paraná - E-mail: (paulla_moro@hotmail.com)

²Universidade Estadual de Maringá – Pós Graduação em Ciência de Alimentos

CEP 87020-900 Maringá – Paraná

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a composição de compostos fenólicos, flavonoides e a capacidade antioxidante de extratos etanólico obtido por maceração de folhas e caules e ramos folhas Stevia rebaudiana. Os compostos fenólicos foram avaliados pelo método de Folin-Ciocalteu utilizando ácido gálico como padrão. Flavonoides totais foram quantificados em equivalentes de quercetina e rutina e a atividade antioxidante foi avaliada por meio da redução dos radicais livres DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Compostos fenólicos em mg equivalentes de ácido gálico/g do extrato etanólico obtido por maceração das folhas e caules apresentaram-se no valor de 358,8 e 690, respectivamente. A capacidade antioxidante expressa em porcentagem dos respectivos extratos foi de 75% e 96,92%. O conteúdo de flavonoides totais não foi expressivo, sendo maior nas folhas. Este estudo mostrou que os extratos etanólicos das folhas e principalmente dos caules e ramos de Stevia rebaudiana podem ser usados como importantes aditivos em alimentos.

Palavras-chave: *Stevia rebaudiana*, Compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante.

INTRODUÇÃO

Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni, planta da família Asteraceae, é nativa do Paraguai e é cultivada em muitos países (Dacome et al., 2005). Tem importância na indústria de alimentos por apresentar, principalmente em suas folhas, glicosídeos diterpênicos com alto poder edulcorante, dentre os quais se destacam o esteveosídeo e o rebaudiosídeo A (rebA). As plantas de estévia apresentam ainda mais de 100 compostos, (Wölwer-Rieck, 2012) e extratos das suas folhas têm sido tradicionalmente utilizados no tratamento de doenças como o diabetes (Tadhani et al., 2007; Shukla et al., 2009), possuem efeitos benéficos na saúde humana, incluindo anti-hipertensão (Chan et al., 2000), anti-hiperglicêmica (Abudula et al., 2008), não é cariogênico e na função renal (Shukla et al., 2009). Esses extratos contêm compostos fenólicos, flavonóides, alcalóides, clorofilas hidrossolúveis e xantofilas, entre outros que têm sido estudados como fonte desses efeitos benéficos na saúde humana. Importantes concentrações foram encontradas nos extratos etanólicos, metanólicos e usando acetato de etila como solventes (Wölwer-Rieck, 2012; Shukla et al, 2009). Porém mais estudos devem ser realizados devido ao fato dessas plantas apresentarem variações. Os caules e ramos de *Stevia rebaudiana* apresentam menores concentrações de glicosídeos de esteviol, e, portanto são geralmente descartados da produção de adoçantes, alimentos e bebidas para seres humanos. Porém esses constituintes representam uma biomassa significativa (35%) da planta (Brandle et al., 1998) e podem apresentar



V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA 05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

concentrações importantes, possivelmente maiores que nas folhas, de compostos fenólicos e flavonoides, o que confere grande importância ao estudo desses componentes.

No Brasil, o Núcleo de Estudos em Produtos Naturais (NEPRON) da Universidade Estadual de Maringá (UEM), apresenta uma coleção de plantas de estévia com diferentes perfis na composição de glicosídeos de esteviol. Destacam-se as variedades clonais Stevia UEM-320, a M1 Alvarez e uma nova coleção denominada Stevia UEM 13, que possuem altos teores de Reb A. Sendo assim o objetivo deste estudo foi avaliar o total de glicosídeos, compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante de extratos etanólicos de folhas e caules *Stevia rebaudiana* produzidas e cultivadas no NEPRON (UEM).

MATERIAL E MÉTODOS

Material Experimental

Os arbustos de clones de Stevia rebaudiana da variedade seminal UEM 13 cultivada no NEPRON (UEM) foram coletados na fase de máximo crescimento vegetativo. Esses arbustos foram previamente secos em estufa a 60 °C, e posteriormente foram separadas as folhas dos caules e ramos que foram acondicionadas em sacos de polietileno e armazenadas a -18°C até sua utilização para o desenvolvimento dos diferentes extratos. Os reagentes químicos e os padrões de ácido gálico, Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), rutina, quercetina e DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) foram adquiridos da Sigma-Aldrich.

Preparação dos extratos

Folhas e caules de estévia (variedade seminal UEM 13) foram submetidos a diferentes métodos de extração e posteriormente foram realizadas as análises de quantificação de glicosídeos, compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante.

Extrato etanólico das folhas realizado por maceração (EEFM)

O sistema de extração foi estabelecido utilizando 100 g de folhas de Stevia rebaudiana da variedade seminal UEM 13 previamente moídas, depositadas em um becker de vidro com capacidade de 1,0 L; foram adicionados 350 de etanol absoluto (99,5%) P.A. O sistema permaneceu em repouso por 24 horas ao abrigo de luz para a obtenção da primeira fração. O mesmo processo foi repetido até a obtenção de 7 frações. Os extratos foram reunidos e secos em rotaevaporador (marca Buchi), a temperatura de 50°C e à vácuo. O pó obtido foi utilizado para a avaliação dos glicosídeos, compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a atividade antioxidante.

2.2.2. Extrato etanólico dos caules e ramos realizado por maceração (EECM)

O sistema de extração foi estabelecido utilizando 200 g de caules e ramos de Stevia rebaudiana da variedade seminal UEM 13 previamente moídos, depositados em um becker de vidro com capacidade de 1,0 L; foram adicionados 350 de etanol absoluto (99,5%) P.A. O sistema permaneceu em repouso por 24 horas ao abrigo de luz para a obtenção da primeira fração. O mesmo processo foi repetido até a obtenção de 6 frações. Os extratos de cada fração foram reunidos e secos em rotaevaporador a temperatura de 50°C e à vácuo, e o fluido obtido foi utilizado para a avaliação dos glicosídeos, compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a atividade antioxidante.



V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA 05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de glicosídeos totais dos extratos e frações estão indicados na Tabela 1. As folhas e caules de Stevia UEM 13 utilizadas neste estudo apresentaram respectivamente um teor de 13,1% e 3,8% de glicosídeos totais. O processo de extração etanólico por maceração retirou um percentual baixo de adoçantes (12,1% das folhas e 1,05% dos caules). Esses resultados indicam que tratamentos com solventes alcóolicos podem contribuir para a extração de demais substâncias presentes na estévia como compostos fenólicos, extraindo valores mínimos de glicosídeos. Pasquel et al, 2000 mostraram que um pré-tratamento das folhas de estévia com solventes como etanol e CO₂ anteriormente ao processo de extração convencional podem melhorar a qualidade do adoçante obtido, contribuindo para a redução do sabor residual amargo (Pasquel, 2000).

Tabela 1

Glicosídeos totais presentes nos extratos de Stevia rebaudiana

Tipo de Extrato	Total de Glicosídeos (g/100g de extrato)
EEFM	26,0
EECM	8,7

EEFM: Etanólico das folhas (maceração); EECM: Etanólico dos caules (maceração).

A concentração de compostos fenólicos das folhas e dos caules e ramos foi, respectivamente de 358,8 e 690,0 mg em equivalente de ácido gálico/g de extrato. Esses resultados evidenciam o elevado potencial antioxidante de extratos desenvolvidos a partir de folhas e caules de estévia. Concentrações importantes de compostos fenólicos dos óleos essenciais e extratos de estévia foram encontradas por Muanda et al., 2011. Shukla et al., 2009 encontraram 61,5 mg de EAG/g de extrato etanólico de folhas de estévia obtido em Soxhlet. Kim et al., 2011 também encontraram quantidades significativas de compostos fenólicos em extratos aquosos de folhas de estévia e identificaram como composto principal o pyrogallol. Os valores encontrados neste estudo pioneiro de caules e ramos de estévia (690,3 mg/g) são superiores aos encontrados nos extratos de folhas e calos, disponíveis na literatura (Wölwer-Rieck, 2012), o que indica que esses componentes devem ser melhores avaliados quanto ao seu potencial como antioxidante a ser adicionados em alimento e bebidas.

Quantidades de flavonoides não foram expressivas em ambos os extratos, apresentando-se em valores inferiores a 1mg/g de extrato. Em geral todos os extratos apresentaram potenciais antioxidantes importantes, destacando-se o extrato etanólico dos caules com respectivamente 96,92%% de inibição na concentração de 1 mg/ml.

CONCLUSÕES

Uma dieta rica em antioxidantes pode contribuir de forma significativa para a prevenção de doenças degenerativas, cardiovasculares e metabólicas. Sendo assim a busca por alimentos tanto naturais quanto industrializados enriquecidos de compostos fenólicos e flavonoides contribui para a redução dessas doenças. Este estudo mostrou que os extratos etanólicos das



V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA 05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

folhas e caules e ramos de *Stevia rebaudiana* apresentaram grande potencial como possíveis aditivos para aumentar a funcionalidade de alimentos e bebidas.

Agências de Fomento: Capes.

REFERÊNCIAS

- DACOME, A.S., SILVA, C.C., COSTA, C.E.M., FONTANA, J.D., ADELMANN, 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.
- SHUKLA, S., MEHTA, A., BAJPAI, V.K., SHUKLA S. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. **Food and Chemical Toxicology** v. 47, p. 2338–2343, 2009.
- CHAN, P., LINSON, B., CHEN, Y., LIU, J., HSIEH, M., CHENG, J. A double blind placebo-controlled study of the effectiveness and tolerability of oral stevioside in human hypertension. **Br. J. Clin. Pharmacol** v.50, p.215–220, 2000.
- ABUDULA, R., MATCHKOV, V.V., JEPPESEN, P.B., NILSSON, H., AALKJÆR, C., HERMANSEN, K., 2008. Rebaudioside A directly stimulates insulin secretion from pancreatic beta cells: a glucose-dependent action via inhibition of ATP-sensitive K⁺-channels. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v.10, p. 1074–1085, 2000.
- BRANDLE, J.E., STARRATT, A.N., GIJZEN, M. *Stevia rebaudiana*: Its agricultural, biological, and chemical properties. **Canadian Journal of Plant Science**, p. 526–536, 1998.
- SINGLETON, V.L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods Enzymol** v. 299, p. 152–178, 1999.
- JIA, Z., TANG, M., WU, J. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry** v.64, 555–559, 1999.
- BLIOS, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 26, p. 1199–1200, 1958.
- PASQUEL, A., MEIRELES, M.A.A., MARQUES, M.O.M.; PETENATE, A.J. Extraction of stevia glycosides with CO₂ + water, CO₂ + ethanol, and CO₂ + water + ethano. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 17, n.3, 271–282, 2000.
- KIM, I.-S., YANG, M., LEE, O.-H., KANG, S.-N. The antioxidant activity and the bioactive compound content of *Stevia rebaudiana* water extracts. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, p. 1328–1332, 2011.