

Isolamento e Caracterização Preliminar das Inulinas obtidas a partir das Raízes de *Stevia rebaudiana*

Sheila Mara Sanches Lopes¹, Raizza Tafet Carminato Silva¹, Edilainy Rizzieri Caleffi¹, Milena de Oliveira Jayme¹, Débora Jacomini¹, Regina Aparecida Correia Gonçalves¹, Arildo José Braz de Oliveira¹.

¹Universidade Estadual de Maringá – Departamento de Farmácia
Avenida Cristovão Colombo, 5.790, Bloco K80, CEP 87.020-900, Maringá – Paraná
E-mail: (sanches_sheila@hotmail.com)

RESUMO

Stevia rebaudiana (Bertoni) Bertoni pertence a família Asteraceae e é mundialmente conhecida pela produção de edulcorantes a partir de suas folhas. A inulina é um frutano de reserva, importante devido as suas características nutricionais, funcionais e aplicações tecnológicas na indústria de alimentos, farmacêutica e cosmética. O objetivo do presente estudo é isolar, quantificar e caracterizar os frutanos nas raízes de *Stevia rebaudiana*. A partir dos dados experimentais, observou-se um rendimento de extração de 29,31%, que é superior ao observado a partir das principais fontes comercialmente disponíveis (15-20%). A partir das análises espectrofotométricas, enzimáticas e RMN de ¹H e ¹³C, pode-se observar que as moléculas de inulina obtidas a partir das raízes de *S. rebaudiana* possuem um alto Grau de Polimerização (GP) (~ 30). A partir dos dados obtido, pode-se afirmar que a *Stevia rebaudiana* é uma promissora fonte de obtenção comercial de inulina com elevado grau de polimerização.

Palavras-chave: *Stevia rebaudiana*, Inulina, Polissacarídeos.

1. INTRODUÇÃO

A *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni é uma planta da família Asteraceae, ficou mundialmente conhecida devido a produção dos glicosídeos de steviol um adoçante não calórico natural (cerca de 300 vezes mais doce que a sacarose a 4%) a partir de suas folhas¹.

O uso das folhas da *Stevia rebaudiana* já está bem estabelecido e é utilizado em todo o mundo, no entanto, existem poucos relatos de estudos químicos² com raízes de espécies do gênero *Stevia* descritos na literatura em relação à obtenção de metabólitos primários como os polissacarídeos.

A inulina é um polissacarídeo de reserva encontrado em uma grande variedades de plantas. Suas principais funções nutricionais estão relacionadas à sua propriedade de fibras dietéticas e atividade prebiótica³. Dentre os seus benefícios, pode-se observar redução dos níveis sanguíneos de triglicerídeos e colesterol, prevenção de doenças como: infecções respiratórias, gastrointestinais, obesidade, diabetes tipo II, doenças cardiovasculares e redução de câncer colorretal^{4,5}.



Suas propriedades tecnológicas, possibilitam sua utilização como substituto de açúcar e gorduras em alimentos de baixa caloria, além de aplicações adicionais como espessante, emulsificante, umectante e gelificante⁴.

Considerando a existência de poucos estudos químicos com as raízes de espécies do gênero *Stevia* descritos na literatura em relação à obtenção de metabólitos primários, o objetivo do trabalho foi isolar, caracterizar e quantificar as inulinas obtidas a partir das raízes de *S. rebaudiana*, sugerindo uma nova fonte de obtenção desse polissacarídeo.

1. MATERIAL E MÉTODOS

A extração aquosa dos polissacarídeos, foi realizada sob refluxo, a quantidade de líquido extrator foi padronizado em 300 mL. Ao todo foram efetuadas três extrações com um tempo de refluxo de 4 horas, para obter o esgotamento do material.

Para a caracterização preliminar da amostra foram realizadas metodologias colorimétricas para determinação dos principais componentes da amostra. A determinação dos açúcares totais foi realizada pelo método do Fenol-Sulfúrico, segundo Dubois (1956)⁶, os açúcares redutores foram determinados pelo método do Ácido *p*-Hidroxi Benzóico Hidrazida (PAHBAH) segundo Lever, (1972)⁷ e as proteínas totais foram determinadas segundo Hartree, (1972)⁸. A determinação de frutose foi realizada com o reagente resorcinol descrita por Roe (1948)⁹.

Na análise por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio, a amostra foi dissolvida em água deuterada (20 mg em 0,7 mL D₂O). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm).

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a extração aquosa das raízes de *S. rebaudiana*, foi obtido um rendimento de obtenção do polissacarídeo (inulina) de 29,31%. Este rendimento é superior ao observado nas duas espécies atualmente utilizadas comercialmente pela indústria para produzir inulina que são a alcachofra de Jerusalém e chicória¹⁰, que apresentam um rendimento de extração de inulina de 15-20%¹¹.

A partir da dosagem de açúcares totais, pode-se observar que o polissacarídeo é o componente majoritário na amostra, uma vez que a quantidade de AT foi superior a 80% (Tab 1).

Em relação a quantidade de açúcares redutores presente na amostra, observou-se um valor inferior a 10%, esse valor comprova a integridade das moléculas do polissacarídeo, pois segundo a literatura uma baixa quantidade de AR está diretamente relacionada a uma baixa taxa de hidrólise dessas amostras durante o processo de obtenção¹².

Tabela 1. Dados das análises espectrofotométricas realizadas no extrato bruto das raízes de *S. rebaudiana*.

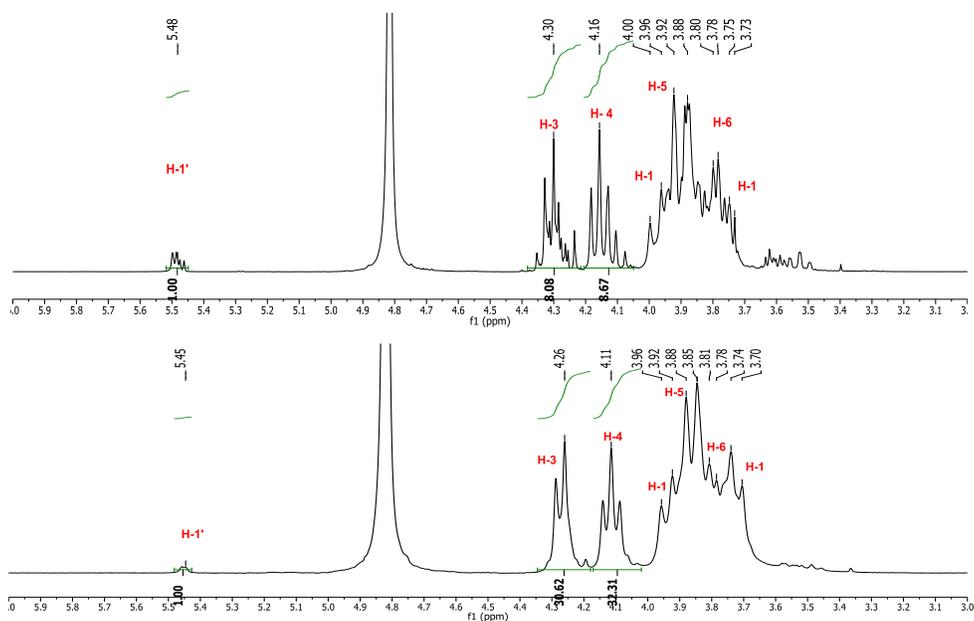
	Açúcar Total	Açúcar redutor	Proteína	Frutose
EB de <i>Stevia</i>	80,50% ± 0,70	7,88% ± 0,99	1,88% ± 0,17	98,9 ± 0,85

Na determinação de frutose foi observado um valor superior a 95% (Tab 1), esse dado comprova que o polissacarídeo em estudo é um frutano, devido a elevada quantidade de unidades de frutose na amostra¹³.

Na quantificação de proteínas totais, os valores observados foram inferiores a 3%, (Tab 1) mostrando a eficiência da extração para as inulinas (componente majoritário) e reduzida extração dos demais compostos como, por exemplo, as proteínas¹⁴.

A partir da comparação entre os espectros de RMN de ¹H (Fig. 1) do padrão comercial de inulina com o espectro obtido a partir do extrato bruto das raízes de *S. rebaudiana*, pode-se confirmar que o polissacarídeo obtido é a inulina. Os valores de deslocamentos químicos obtidos para os hidrogênios da amostra estão de acordo com os da inulina padrão e dados da literatura^{2,13}.

Figura 1. Espectros de RMN de ¹H: Inulina Padrão (A), Extrato Bruto das raízes de *S. rebaudiana* (B).



CONCLUSÕES



III SIMBBTEC
Londrina 2013

Anais do III Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia Trabalho Completo apresentado na seção: PÔSTER

Diante dos dados preliminares obtidos, tais como alto rendimento e pureza da amostra, pode-se considerar que as raízes de *S. rebaudiana* representam uma fonte alternativa e promissora para obtenção comercial de inulina. Some-se a isso a possibilidade da obtenção de inulina como um subproduto das indústrias que produzem edulcorantes, que utilizam apenas as folhas da *S. rebaudiana*.

REFERÊNCIAS

- (1) MADAN S., AHMAD S., SILVA G. N., KOHLI K., KUMAR Y., SINGH R., GARG M. *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni – A Review. **Revista Brasileira de Produtos Naturais e Recursos**, v. 1, p. 267-286, 2010.
- (2) OLIVEIRA A. J. B., GONÇALVES R. A. C., CHIERRITO T. P. C., SANTOS M. M., SOUZA M. S., GORIN P. A. J., SASSAK G. L.I., IACOMINI M. Structure and degree of polymerisation of fructooligosaccharides present in roots and leaves of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. **Food Chemistry**, v.129, p. 305-311, 2011.
- (3) NOGUEIRA R. I., **Processo de Obtenção de Inulina de Chicória (*Cichorium intybus*) em pó**. Brasil, 2012. 151 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – setor de Engenharia Agrícola, na área de concentração em Tecnologia Pós-Colheita, da Universidade Estadual de Campinas.
- (4) ARAVIND N., SISSONS M.J., FELLOWS C.M., BLAZEK J., GILBERT E.P. Effect of inulin soluble dietary fibre addition on technological, sensory, and structural properties of durum wheat spaghetti. **Food Chemistry**, v. 103, p. 299-309, 2011.
- (5) RINALDONI A. N., CAMPDERRÓS M. E., PADILLA A. P. Physico-chemical and sensory properties of yogurt from ultrafiltered soy milk concentrate added with inulin. **Food Science and Technology**, v. 45, p. 142-147, 2011.
- (6) DUBOIS M. K., GILLES A., HAMILTON J. K., REBERES P. A., SMITH F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.
- (7) LEVER M. A New Reaction for Colorimetric Determination of Carbohydrates. **Analytical Biochemistry** .vol. 47, p. 273-279, 1972.
- (8) HARTEER E. F. A Modification of the Lowry method that gives a Linear Photometric responder. **Analytical Biochemistry**, vol 48, p. 422-427, 1972.
- (9) ROE, J. H., EPSTEIN, J. H., & GOLDSTEIN, N. P. A Photometric method for the determination os inulin in plasma and urine. **Journal of Biological Chemistry**, p. 839-845, 1948.
- (10) CHI Z. M., ZHANG T., CAO T. S., LIU X. Y., CUI W., ZHAO C. H. Biotechnological potential of inulin for bioprocesses. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 4295-4302, 2011.
- (11) MEYER D., BAYARRI S., TÁRREGA A., COSTELL E. Inulin as texture modifier in dairy products. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1881-1890, 2011.
- (12) BLECKER C, FOUGNIES C, VAN HERCK J C., Kinetic study of the acid hydrolysis of various oligofructose samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 1602-1607, 2002.
- (13) YANG Z., HU J., ZHAO M. Isolation and quantitative determination of inulin-type oligosaccharides in roots of *Morinda officinalis*. **Carbohydrate Polymers**, vol.83, p.1997–2004, 2011.
- (14) LEITE J. T. C., PARK K. J., RAMALHO J. R. P., FURLAN D. M., Caracterização Reológica das Diferentes Fases de Extrato de Inulina de Raízes de Chicória Obtida por Abaixamento de Temperatura. **Eng. Agríc., Jaboticabal**, v.24, p. 202-210, 2004.