

Stevia rebaudiana Bertoni: Un Singular Edulcorante Natural*

RUTH H. GALPERIN de LEVY

*División Química (Productos Naturales),
CHEMI S.R.L., Libertad 353 - 6º "B", 1012 Buenos Aires, Argentina*

En la presente comunicación vamos a ampliar algunos aspectos ya mencionados en un trabajo anterior ¹, en el que a partir de un extracto purificado de hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni aislamos, caracterizamos y valoramos el Steviósido, dosificando el compuesto obtenido y elaborando con él comprimidos semejantes a los de sacarina.

BREVE RESEÑA HISTORICA

La llamada "yerba dulce" o "kaa-he-é" en guaraní, era conocida y empleada como edulcorante desde tiempos remotos por los indígenas en Paraguay, quienes empleaban las hojas de esta planta para endulzar el mate u otras infusiones. Amat ² ha publicado recientemente una interesante reseña sobre este tema.

Es el Dr. M. Bertoni ³ el que la clasifica botánicamente y propone el epíteto específico *rebaudiana*, en homenaje al químico paraguayo Dr. O. Rebaudi, autor del primer análisis químico de esta especie ⁴.

Desde el uso empírico por la población aborígen, hasta los sofisticados métodos empleados en la actualidad para aislar, identificar y cuantificar los prin-

cipios dulces, fueron muchos los investigadores que en diferentes partes del mundo, trataron de dilucidar el secreto de este "dulce" vegetal.

Son figuras claves en esta historia Bridel y Lavieille ⁵. Estos investigadores franceses aislaron, identificaron y dieron nombre al principal componente dulce —Steviósido— y efectuaron el primer ensayo farmacológico. Más de veinte años transcurrieron hasta que en EE.UU. el grupo dirigido por Mosseting ⁶ dilucidó la fórmula estructural de este compuesto y de los otros que lo acompañan en menor proporción. Desde entonces se denominan glucósidos diterpénicos.

En 1970, técnicos japoneses introducen las primeras plantas de origen sudamericano en el Japón y publican numerosos y detallados estudios sobre esta especie, siendo actualmente este país el principal productor y exportador de los productos obtenidos de *Stevia rebaudiana*.

En los últimos años son los EE. UU. quienes ven con interés comercial este vegetal, como posible fuente de productos edulcorantes ⁷ Un grupo multidisciplinario de la Universidad de Illinois, Chicago, publicó nuevos métodos de pu-

* Comunicación leída el 7 de diciembre de 1983 en el Primer Simposio Argentino y Latinoamericano de Farmacobotánica, Buenos Aires, Argentina.

rificación⁸, valoración⁹ y pruebas experimentales efectuadas para determinar la toxicidad y mutagénesis¹⁰, cuyos resultados revelan la absoluta inocuidad de los principios edulcorantes analizados.

Los principales componentes hasta ahora aislados e identificados son: *Steviósido*, *Rebaudiósido A* y *C* (denominado también *Dulcósido B*). Los componentes menores son *Steviolbiósido*, *Rebaudiósido B, D, E* y *Dulcósido A*.

Existen ideas controvertidas acerca de la existencia en la planta del Steviolbiósido y del Rebaudiósido B. Algunos autores postulan que éstos son productos que se originan en el proceso de extracción.

Desde el punto de vista de su empleo, nos interesan en especial el *Steviósido* y el *Rebaudiósido A*.

El contenido medio aproximado de estos componentes en las hojas es de 7% y 3%, respectivamente. Las flores contienen 0,92% de Steviósido y 0,15% de Rebaudiósido A¹¹.

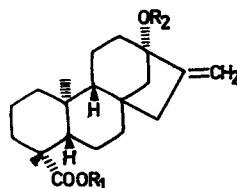
El poder edulcorante relativo, tomando como comparación el dulzor de la sacarosa, es 300 veces mayor para el Steviósido y 450 veces mayor para el Rebaudiósido A.

La estructura química fundamental de estos compuestos es la que se ve en la Figura 1. La aglucona es el Steviol, estructura del tipo (-)kaureno, denominándose por ello ácido 13-hidroxi-kaurenoico⁶.

Tanto el Steviolbiósido como el Rebaudiósido B son débilmente dulces, en tanto que el Steviol es insípido. Lo es también el isómero de este último (Isosteviol).

Estos compuestos se denominan también sofrósidos, pues las dos molé-

culas de glucosa en posición C₁₃ presentan una unión del tipo de la sofrorosa.



COMPUESTO	R ₁	R ₂
Steviósido	Glu	Glu-Glu
Rebaudiósido A	Glu	Glu < $\begin{matrix} \text{Glu} \\ \text{Glu} \end{matrix}$
Steviolbiósido	H	Glu-Glu
Rebaudiósido B	H	Glu < $\begin{matrix} \text{Glu} \\ \text{Glu} \end{matrix}$

Glu=Glucosa

Figura 1. Fórmulas estructurales

PRODUCTOS DE HIDROLISIS Y ESTABILIDAD

Si se somete el Steviósido a una hidrólisis enzimática¹² se obtiene el steviol. Si la hidrólisis se efectúa con ácido sulfúrico al 5%, el producto de hidrólisis es el isómero Isosteviol¹³ (Figura 2).

En medios ácidos débiles, el Steviósido demuestra poseer una elevada estabilidad¹. Por hidrólisis alcalina se obtiene Steviolbiósido.

NUEVOS METODOS DE VALORACION

En nuestro trabajo¹ valoramos el Steviósido purificado aplicando un método colorimétrico no específico. Otros investigadores, teniendo presente las reacciones de hidrólisis arriba descritas, las aplicaron para valorar el Steviósido presente en las diferentes muestras. Estos métodos son más precisos y exactos¹³.

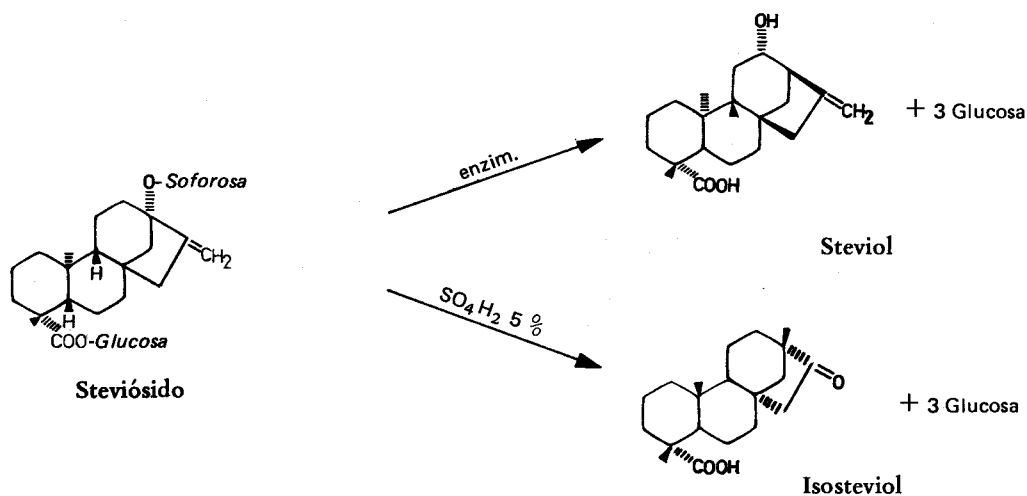


Figura 2. Productos de hidrólisis

Por cromatografía líquida de alta precisión (HPLC) se logra una buena separación y cuantificación de los componentes principales⁹. Una rápida purificación del extracto bruto se obtiene aplicando cromatografía por goteo en contracorriente (DCCC)⁸.

INHIBICION MICROBIANA

Se estudió¹⁴ el efecto que sobre un cultivo de bacterias orales ejerce la adición de Steviósido en el medio. Los resultados obtenidos indican que no favorece la propagación bacteriana y por ello se preconiza su empleo en caramelos y gomas de mascar.

¿EDULCORANTE NO CALORICO?

Es tan ínfima su incidencia desde el punto de vista calórico, que bien puede clasificarse como "no calórico", aunque en su composición química inter vengan de 3 a 4 moléculas de glucosa.

La cantidad de edulcorante a emplear en bebidas o infusiones es mínima, de ahí que sea también mínimo su aporte calórico, por lo que puede ser empleado con ventajas en regímenes hipocalóricos y en pacientes diabéticos.

ACTIVIDAD FITO-FISIOLOGICA

Se comprobó en diversas experiencias que el Steviol (aglucona del Steviósido) actúa estimulando el crecimiento de algunas plantas.

Ello se explica si se tiene presente la estructura de las gibberellinas, hormonas vegetales, que derivan estructuralmente del mismo esqueleto (-)kaureno que el Steviol¹⁵.

En la Universidad de Campinas, San Pablo, se han efectuado interesantes aportes al estudio fisiológico de esta especie¹⁶.

CULTIVOS

El hábitat originario de *Stevia rebaudiana* se encuentra en el noreste del Paraguay. Existen en ese país, al igual que en Brasil, extensas plantaciones.

En el Japón, a través de ensayos realizados en diversos puntos del territorio, se determinaron las condiciones óptimas de crecimiento y de contenido en componentes dulces, seleccionándose las variedades porcentualmente más ricas en estos componentes y de esa manera se lograron rendimientos más elevados¹⁷

CULTIVOS EXPERIMENTALES EN LA REPUBLICA ARGENTINA

Colonia "El Soberbio", Misiones.

Estos cultivos comenzaron en 1979, a partir de especies originarias de Paraguay. Se observó el poder germinativo de las semillas y se llegó a lograr una perfecta adaptación al medio, con un buen manejo de los métodos de multiplicación.

Los ensayos incluyeron semillas, estacas y estolones. Todos los procedimientos dieron buenos resultados.

En este momento se estudian 5-6 variedades de semillas para determinar cuál es la que brinda mejores rendimientos en cantidad de hojas y en contenido de compuestos edulcorantes.

No se detectaron plagas y los pocos hongos que aparecieron fueron controlados con facilidad.

El área inicial de mil plantines se transformó a la fecha en 5 Has y dos millones de nuevos plantines en viveros.

De ahora en más, el incremento de

la superficie sembrada depende de las posibilidades del mercado de absorber la producción. Ello se halla en íntima relación con la propuesta de instalar una planta para la extracción de los componentes dulces en la región.

CONCLUSIONES

Dado que la tecnología de extracción y purificación ya ha sido desarrollada y puesta a punto, y que el cultivo experimental ha resultado exitoso, sólo resta planificar las diferentes etapas que nos permitan, en un futuro próximo, transformar a nuestro país en un productor más de este codiciado edulcorante natural.

AGRADECIMIENTOS. A la colaboración y al entusiasmo brindado por la Sra. Ana María Cavnar de López y a los Sres. Héctor Alvarez y O.A. López. A los productores de la Colonia "El Soberbio" y en especial al Sr. Sergio Fenocchio, pionero del cultivo de *Stevia rebaudiana* en el país.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Levy, R.H.G. de (1982) "Extracción, purificación y empleo del steviósido", Comunicaciones a la V Reunión Técnica sobre Especies Aromáticas y Medicinales. SAIPA-INTA, Castelar, pág. 47. *Revista INFYB* 7: 707 (1984)
2. Amat, A.G. (1982) *Acta Farm. Bonaerense* 1: 121-3
3. Bertoni, M. S. (1905) *An. Cient. Parag.* Ser. I, 5: 1
4. Rebaudi, O. (1900) *Rev. Qca. Farm. B.A.*, Nos. 2, 3 y 4
5. Bridel, M. y R. Lavieille (1931) *Compt. Rend.* 4: 1123
6. Mosseting, E. y W. Nes (1955) *J. Org. Chem.* 20: 884-99
7. Ahmed, M.S., R.H. Dobberstein y N.R. Farnsworth (1980) *J. Chromatog.* 192: 387-93
8. Kinghorn, A.D., N.P.D. Nanayakkara, D.D. Soejarto, P.J. Medon y S. Kamath (1982) *J. Chromatog.* 237: 478-83
9. Ahmed, M.S. y R.H. Dobberstein (1982) *J. Chromatog.* 245: 373-6
10. Medon, P.J., J.M. Pezzuto, J.M. Hovanec-Brown, N.P.D. Nanayakkara, D.D. Soejarto, S. Kamath y A.D. Kinghorn (1982) *Fed. Proc.* 41: 1568
11. Darise, M., H. Kohda, K. Mizutani, R. Kasai y O. Tanaka (1983) *Agric. Biol. Chem.* 47: 133-5
12. Mizukami, H., K. Shiiba y H. Ohashi (1982) *Phytochemistry* 21: 1927-30
13. Martelli, A. y M. Gallino (1982) *1a. Conv. Naz. Soc. Ital. Fitochim.*, Firenze, Italia. Maggio: 145
14. H. Fujita y T. Edahiro (1979) *Shokuhin Kogyo* 22: 65-72
15. Ruddat, M., E. Heftmann y A. Lang (1965) *Arch. Biochem. Biophys.* 111: 187-90
16. Viana, A.M. y J. Metivier (1980) *Ann. Bot.* 45: 469-74
17. Mitsuhashi, H., J. Ueno y T. Sumita (1975) *Yakugaku Zasshi* 95: 127-30