

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



Propuestas para el uso de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni en preparaciones alimenticias.

INFORME DE TESIS

Presentado por:

Luvia Elizabeth Orozco Rodríguez

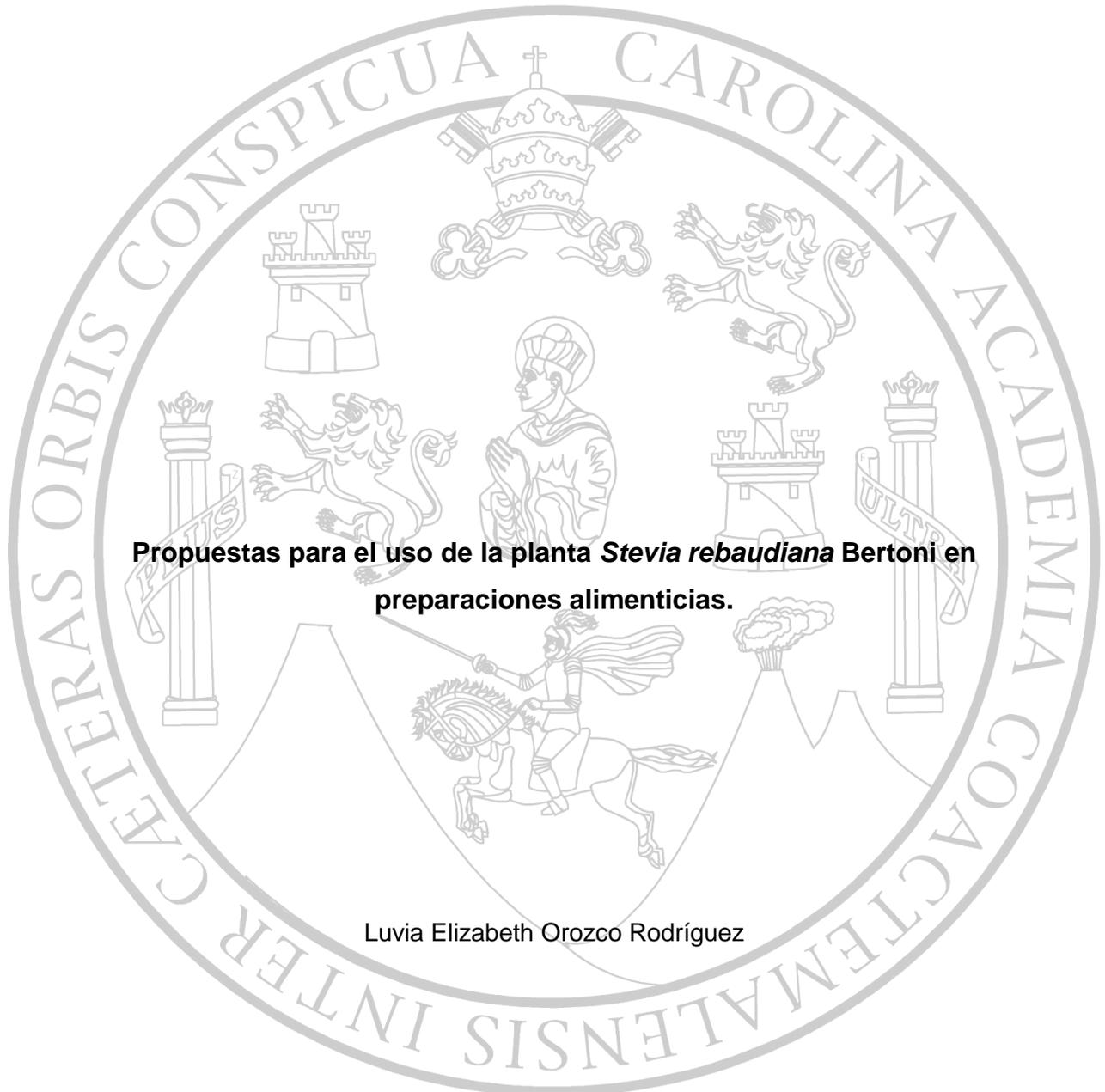
Para optar por el título de

Nutricionista

Guatemala, enero de 2018

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



Propuestas para el uso de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni en preparaciones alimenticias.

Luvia Elizabeth Orozco Rodríguez

Nutricionista

Guatemala, enero de 2018

Junta Directiva

DECANO

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

SECRETARIA

MA. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza

VOCAL I

M.Sc. Miriam Carolina Gúzman Quilo

VOCAL II

Dr. Juan Francisco Perez Sabino

VOCAL III

Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera

VOCAL IV

Br. Andreina Delia Irene López Hernández

VOCAL V

Br. Carol Andrea Betancourt Herrera

Agradecimientos

A la Universidad de San Carlos de Guatemala	Casa de estudios que me forjó como profesional.
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia	Y en especial a la Escuela de Nutrición por permitirme culminar mi carrera con éxito, mediante una formación integral que me permitirán realizarme como persona y profesional.
A mis catedráticos	Por su apoyo y dedicación en su labor educativa.
A mis asesores	M.A. Sucelly Orozco de Morales e Ing. Qco. Mario Mérida Meré, por compartir sus conocimientos y experiencias para la realización de la presente tesis.
Al personal del LIPRONAT	Por toda la colaboración y disponibilidad recibida.
A mis amigas	Sarai Estrada y Lubia Soto por las risas, tristezas, enojos, prisas y horarios que no concordaban durante estos años universitarios. Así como a Ma. Fernanda Zepeda y Keren Reyes por los momentos de estrés, alegrías, satisfacciones, desvelos y triunfos compartidos.

Tabla de Contenido

Resumen.....	1
Antecedentes	5
Edulcorantes.....	5
Edulcorantes Calóricos	6
Edulcorantes calóricos naturales.....	6
Edulcorantes calóricos artificiales.....	9
Edulcorantes no calóricos.....	12
Edulcorantes no calóricos artificiales.....	12
Edulcorantes no calóricos naturales.....	17
Stevia rebaudiana Bertoni.....	22
Generalidades	22
Descripción Botánica.....	23
Morfología.....	24
Características agronómicas	25
Propagación de la planta Stevia rebaudiana Bertoni.....	26
Componentes de la planta Stevia rebaudiana Bertoni.....	27
Glucósidos de esteviol.....	29
Nombres químicos y empíricos de los glucósidos del esteviol.....	30
Perfil químico nutricional de las hojas de Stevia rebaudiana Bertoni.....	30
Usos y aplicaciones de la planta Stevia rebaudiana Bertoni.....	31
Propiedades de la planta Stevia rebaudiana Bertoni.....	33
Niveles de calidad de la planta Stevia rebaudiana Bertoni	33
Absorción y excreción de la planta Stevia rebaudiana Bertoni	34
Toxicología de la planta Stevia rebaudiana Bertoni.....	36
Legislación y aprobación del uso de la planta Stevia rebaudiana Bertoni	38
Producción, consumo actual y potencial de Stevia.....	43
Extracción de los componentes activos de la Stevia.....	45
Análisis Sensorial.....	50

Justificación.....	54
Objetivos	56
Materiales y Métodos	57
Resultados	69
Discusión.....	81
Conclusiones.....	87
Recomendaciones.....	89
Referencias Bibliográficas	90
Anexos	98

Índice de Tablas

Tabla 1	Clasificación de los edulcorantes	5
Tabla 2	Descripción de los edulcorantes calóricos naturales	9
Tabla 3	Descripción de los alcoholes	11
Tabla 4	Descripción de los edulcorantes no calóricos naturales de naturaleza proteica	19
Tabla 5	Descripción de los edulcorantes no calóricos	21
Tabla 6	Clasificación sistemática de la <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	24
Tabla 7	Nombres químicos y empíricos de los glucósidos más representativos <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	30
Tabla 8	Productos derivados de la <i>Stevia</i> : Taxonomía	32
Tabla 9	Propiedades del edulcorante de <i>Stevia</i>	33
Tabla 10	Aprobación de la <i>Stevia</i> como edulcorante a nivel mundial	41
Tabla 11	Dosis máxima de <i>Stevia</i> por aplicación de destino específico	43
Tabla 12	Análisis Químico Proximal de hojas frescas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni procedentes de Barberena, Santa Rosa (en 100g).	70
Tabla 13	Análisis mineral de hojas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni procedentes de Barberena, Santa Rosa (en 100g).	71
Tabla 14	Determinación de rendimiento de etanol a distintas concentraciones mediante la prueba del mejor solvente.	71
Tabla 15	Datos del extracto etanólico al 50% de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	72
Tabla 16	Determinación de actividad citotóxica contra nauplios de <i>Artemia salina</i> de la planta <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni en estudio 1 mg/MI	72

Tabla 17	Respuesta de panelistas a la pregunta ¿Qué le gustó de la muestra que seleccionó de Incaparina?	73
Tabla 18	Respuesta de panelistas a la pregunta ¿Qué atributo o característica sensorial le agradó de la muestra que más prefirió de Incaparina?	74
Tabla 19	Respuesta de panelistas a la pregunta ¿Cuál es la principal diferencia entre ambas muestras de Incaparina?	75
Tabla 20	Respuesta de panelistas a la pregunta ¿De la muestra que no prefirió de Incaparina que considera se le puede mejorar?	76
Tabla 21	Respuesta de panelistas a la pregunta ¿Qué le gusto de la muestra que seleccionó de rosa de jamaica?	77
Tabla 22	Respuesta de panelistas a la pregunta ¿Qué atributo o característica sensorial le agradó de la muestra que más prefirió de rosa de jamaica?	78
Tabla 23	Respuesta de panelistas a la pregunta ¿Cuál es la principal diferencia entre ambas muestras de rosa de jamaica?	79
Tabla 24	Respuesta de panelistas a la pregunta ¿De la muestra que no prefirió de rosa de jamaica que considera se le puede mejorar?	80
Tabla 25	Caracterización hoja fresca de Stevia rebaudiana Bertoni	105
Tabla 26	Caracterización de hojas frescas licuadas de Stevia rebaudiana Bertoni.	105
Tabla 27	Caracterización de la infusión de hoja fresca de Stevia rebaudiana Bertoni.	106

Índice de Figuras

Figura 1	Fórmula química de los polialcoholes	10
Figura 2	Estructura química de los edulcorantes artificiales utilizados en alimentos y bebidas.	17
Figura 3	Propuestas sobre las vías metabólicas del esteviósido	35
Figura 4	Propuestas sobre las vías metabólicas del rebaudiósido A	36
Figura 5	Ejemplar de herbario <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	69
Figura 6	Esquema de Weende para el Análisis Químico Proximal	100
Figura 7	Esquema de extracción mineral método de espectrofotometría de absorción atómica y cuantificación química por el método de colorimetría.	101
Figura 8	Hoja fresca de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	105

Resumen

Se elaboró dos preparaciones alimenticias con pertinencia cultural de Guatemala haciendo uso de la planta Stevia rebaudiana Bertoni como propuesta de edulcorante natural, siendo Incaparina (mezcla vegetal de harina de maíz y harina de soja fortificada con vitaminas y minerales) y rosa de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.); con el objetivo de promover la planta en estudio como una alternativa a edulcorantes artificiales o azúcar blanca estándar.

El material fresco se obtuvo en Laguna del Pino, Barberena, Santa Rosa, altitud de 1034 msnm, localización Norte 14°20' 33.01; Oeste 90°23' 21.79. Se preparó un ejemplar de herbario el cual fue identificado e ingresado al Herbario BIGU de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala con el número de inventario 075943.

Así mismo, se realizó el análisis químico proximal en el laboratorio de Bromatología de La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Escuela de Zootecnia Unidad de Alimentación Animal de la Universidad de San Carlos de Guatemala destacando un alto porcentaje de humedad (83.70%), y predominando en su composición química los siguientes macronutrientes: carbohidratos (8.81 g) y proteínas (3.67 g), siguiendo los Métodos Oficiales de Análisis de la Asociación Oficial de Químicos Analíticos.

El análisis de P, Fe y Ca se realizó por triplicado en laboratorio de Suelo – Planta – Agua “Salvador Castillo Orellana” de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, el promedio de los resultados obtenidos fue de 0.34%, 150 ppm y 0.50% respectivamente.

En el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales –LIPRONAT- Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Universidad de San Carlos de Guatemala se realizó la extracción de la materia vegetal a nivel laboratorio, presentándose un rendimiento mayor del extracto de 18.95% a una concentración

del 50% de etanol, determinado mediante la prueba del mejor solvente. Al evaluar la actividad citotóxica se determinó que el extracto de la planta estudiada no produjo efecto agudo de letalidad a los organismos por lo que no presentaba citotoxicidad alguna.

Se definió la aceptación y preferencia de dichas bebidas por panelistas en una prueba piloto, los resultados obtenidos de degustación indicaron que existen diferencias significativas $p > 0.05$ entre las muestras de Incaparina y rosa de Jamaica endulzadas con azúcar blanca estándar e infusión de la planta de Stevia rebaudiana Bertoni.

La bebida de rosa de jamaica obtuvo mayor porcentaje de preferencia que la bebida de Incaparina ambas endulzadas con infusión de Stevia rebaudiana Bertoni, sin embargo las formulaciones de infusión de la planta en estudio no tuvieron una preferencia sobre el azúcar blanca estándar como tal, algunos panelistas comentaron que era aceptable, por lo que el uso de la planta Stevia rebaudiana Bertoni a nivel casero es una opción elegible recomendable que puede utilizarse en la cocina tradicional guatemalteca

Introducción

Los productos dulces han sido consumidos por el hombre desde el inicio de la historia. Alrededor del mundo incluyendo Guatemala, en las últimas décadas el azúcar ha sido el edulcorante de mayor consumo obtenido a partir de la caña de azúcar *Saccharum officinarum L.* y de la remolacha azucarera *Beta vulgaris L.*

En los últimos años, se ha inducido al mercado mundial de los edulcorantes artificiales y con ello ha ido en aumento el consumo de productos sustitutos del azúcar los cuales surgieron para satisfacer las necesidades de las personas con limitaciones respecto al consumo del mismo y calorías en su dieta (López & Peña, 2004).

Así mismo, las industrias alimentarias han optado por emplear edulcorantes artificiales en una gran cantidad de alimentos y bebidas; hasta el momento, la evidencia existente sobre los beneficios de emplear este tipo de edulcorantes no calóricos como parte de la dieta y alimentación habitual de la población carece de resultados a largo plazo, con relevancia significativa desde el punto de vista científico (García-Almeida, J., Gracia, M., Casado F. & García J., 2013).

En este contexto, se hace referencia a la planta Stevia rebaudiana Bertoni, nativa de la región tropical de Sudamérica con alto contenido de los glucósidos esteviósido y rebaudiósido que le da las cualidades de su dulzor, de su nombre como “hoja dulce” y su uso como edulcorante de origen natural con bajo contenido calórico.

Esta planta puede ser procesada y utilizada para consumo humano ya que sus hojas tiernas tienen un agradable sabor a regaliz y se puede usar para reemplazar el azúcar estándar blanca, siendo de 25 a 30 veces más dulce que el azúcar estándar blanca y su extracto unas 300 veces más soluble, en agua fría o caliente, sin nutrientes, sin calorías; se puede hornear, es estable a los 200°C, no se fermenta, no crea placa dental y no tiene efectos tóxicos (González-Moralejo, A., 2011) con beneficios considerables en la salud, principalmente a personas diabéticas, obesas, hipertensas, entre otras como parte de una estrategia eficaz

para la prevención y manejo de enfermedades crónicas no transmisibles (Monzón, D., 2014).

El objetivo de este estudio es de elaborar propuestas para el uso de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni en preparaciones alimenticias tradicionales a fin de presentar alternativas que contribuyan a disminuir el consumo de azúcar estándar blanca en las personas que buscan una fuente de edulcorante natural, así como promover la utilización de la planta natural *Stevia rebaudiana* Bertoni que se cultiva en Guatemala.

Antecedentes

Edulcorantes

El término edulcorante, hace referencia a aquel aditivo que proporciona dulzura a los alimentos (González A., 2013). El Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) lo define como un aditivo alimentario que incluye todos los azúcares normalizados (azúcar en polvo, dextrosa en polvo, entre otros), productos sin normalizar (azúcar moreno, azúcares parcialmente invertidos, jarabe de maíz rico en fructosa, entre otros) y edulcorantes simples (miel). Así mismos la *Food and Drug Administration* de los Estados Unidos (FDA) define a un edulcorante como aquel que añade dulzor con o sin calorías adicionales.

En cuanto a su clasificación, estos pueden por su origen ser: naturales y artificiales, por su estructura: carbohidratos, alcoholes polihídricos, glucósidos, proteínas y otros, por su valor nutritivo son clasificados como nutritivos y no nutritivos así mismo pueden ser clasificados por su valor calórico como calóricos y no calóricos (Sánchez, M., 2014). Para fines prácticos en la realización de este trabajo se considerará la clasificación en base a su valor calórico.

Tabla 1

Clasificación de los edulcorantes.

Calóricos	Naturales	Azúcares	Sacarosa, glucosa, fructosa, maltosa
		Edulcorantes naturales calóricos	Miel, Jarabe de arce, azúcar de palma o de coco y jarabe de sorgo
	Artificiales	Azúcares modificados	Jarabe de maíz de alto fructosa, caramelo
		Alcoholes de azúcar	Sorbitol, xilitol, manitol, eritriol, maltitol.
No Calóricos	Naturales	Edulcorantes naturales sin calorías	Taumantina, nomelina, Stevia Rebaudiana Bertoni, Luo Han Guo
	Artificiales	Edulcorantes artificiales	Aspartame, sucralosa, sacarina, neotame

Fuente: García-Almeida, J., Gracia, M., Casado F. & García J., 2013.

Edulcorantes Calóricos

En general, estos aportan calorías en su ingesta por lo que son considerados una fuente de energía rápida. Dentro de sus funciones además del sabor dulce, añaden una amplia variedad de cualidades favorables a los alimentos, como su acción antimicrobiana, el gusto, aroma y textura, así como la viscosidad y consistencia (Gómez, C & Palma, S., 2013), aportan cierta cantidad de minerales y nutrientes más sin embargo, al momento de su industrialización y refinación pueden perder valiosas propiedades. Se encuentran de forma natural en muchos alimentos como frutas, verduras, cereales y leche llamados edulcorantes calóricos naturales o derivados de los compuestos del azúcar también denominados como edulcorantes calóricos artificiales. Se debe de tener en cuenta que el consumo excesivo del mismo o de alimentos que los contengan pueden ser un factor de riesgo para el desarrollo de obesidad, enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), entre otros.

Edulcorantes calóricos naturales. Se engloban todos los sacáridos, entre los cuales los más usados habitualmente son la sacarosa, glucosa, dextrosa, fructosa, lactosa, maltosa, galactosa, entre otros, así como los edulcorantes naturales calóricos con índice glicémico algo menor que el azúcar destacando la miel, jarabe de arce, azúcar de palma o de cómo y jarabe de sorgo (García-Almeida, J., Gracia, M., Casado F. & García J., 2013).

Sacarosa. Es un disacárido constituido por una molécula de fructosa y glucosa por lo que para su utilización por el organismo este se desdobla (glucosa + fructosa), por acción de la sacarasa intestinal. Es el edulcorante más utilizado en el mundo como azúcar de mesa, adicionándolo a productos de bollería y pastelería, galletas, refrescos, cereales, entre otros, y representa el 75% de todos los azúcares añadidos, de ellos el 80% lo añade la industria y el 20% el consumidor. Se clasifica,

de acuerdo a su pureza, en azúcar terciaria, azúcar morena o de caña, azúcar semiblanca, azúcar blanca y azúcar refinada (Gil, 2010). La sacarosa, cuando es incluida de forma equilibrada en la dieta, tiene importantes propiedades, ya que favorece el aporte rápido de glucosa al cerebro y al músculo, siendo un glúcido imprescindible para el desarrollo de las funciones cognitivas y de la actividad física (Gómez, C & Palma, S., 2013)

Glucosa. También llamada dextrosa, se trata del hidrato de carbono más elemental y esencial para la vida encontrándose de forma natural en la miel, frutas, verduras y hortalizas, en animales como glucógeno, en vegetales (almidón y celulosa) de forma polimérica y en edulcorantes como sacarosa, sorbitol, azúcar de arce, lactosa, miel, entre otros. La materia prima para la obtención de la misma son los almidones procedentes del maíz, trigo, arroz y papa mediante hidrólisis enzimática y posterior evaporización cristalización y desecación (Gil, A., 2010).

Fructosa. También llamada levulosa es el más dulce de todos los azúcares naturales encontrándose de forma natural en la miel, frutas, verduras, hortalizas, vegetales en la forma polimérica (inulina) y algunos alimentos como FOS (fructooligosacáridos). Su obtención es inulina mediante hidrólisis ácida o mezclas de glucosa-fructosa como el azúcar invertido. Ampliamente utilizadas en productos de confitería por su alto poder edulcorante sin formación de cristales y poder humectante (Sánchez, M., 2014). La fructosa clásicamente se ha sido utilizada en sustitución de la sacarosa en pacientes diabéticos y como edulcorante en la elaboración de numerosos productos etiquetados como “aptos para diabéticos”. Sin embargo, más recientemente se ha comprobado que las dietas con alto contenido en fructosa, sobre todo si esta es añadida a los alimentos elaborados, podrían inducir hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e insulinoresistencia, hecho que ha determinado la recomendación de limitar su uso entre los pacientes diabéticos (García-Almeida, J., Gracia, M., Casado F. & García J., 2013).

Lactosa. Disacárido formado por la unión de galactosa y glucosa. Se encuentra en forma natural en la leche y derivados del mismo como yogurt, requesón, cuajada,

etc. Se obtiene a partir del suero lácteo mediante ultrafiltración, evaporación y cristalización. Se emplea en la elaboración de alimentos dietéticos infantiles y sustituye a la sacarosa en la elaboración de algunos productos horneados (Gil, A., 2010).

Maltosa. Disacárido formado por la unión de dos moléculas de glucosa mediante un enlace α 1,4-glucosídico, es un azúcar reductor hidrolizado por ácidos y la enzima maltasa. Es posible encontrarlo de manera natural en miel, frutas, verduras y cereales, así como industrialmente por acción enzimática de amilasas sobre el almidón (Sánchez, M., 2014).

Miel. El aprovechamiento de la miel se remonta a tiempos prehistóricos. Esta es una sustancia natural dulce producida por la abeja *Apis mellifera* a partir del néctar de las flores o de las secreciones de las partes vivas de las plantas o de excreciones de insectos succionadores, presentes en partes vivas de las plantas que las abejas recolectan, transforman, y dejan en las colmenas para que madure. Además del azúcar (>90-95% en materia seca) contiene pequeñas cantidades (< 0,45% del peso total) de sales minerales, compuestos nitrogenados, ácidos orgánicos, vitaminas (tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido pantoténico, ácido fólico, biotina), pigmentos y sustancias aromáticas (Gil, A. 2010).

Azúcar de coco. Es otro producto tradicional que se puede emplear como alternativa al azúcar en pacientes diabéticos ya que se considera un alimento de bajo Índice Glicémico (IG). Está compuesto por sacarosa, aminoácidos como la glutamina y destaca su riqueza en minerales y vitaminas del grupo B (García-Almeida, J., Gracia, M., Casado F. & García J., 2013).

Tabla 2

Descripción de los edulcorantes calóricos naturales

Compuesto	Energía (Kcal/g)	Índice Glicémico	Poder edulcorante, relativo a sacarosa
Glucosa	3,7	141 ± 4	0,7
Fructosa	3,7	27 ± 4	1,1-1,3
Sacarosa	3,9	97 ± 7	1
Maltosa	4	150	0,5-0,6
Lactosa	4	66 ± 3	0,15-0,30

Fuente: adaptado de: Monzón, D. (2014) y Gil, A. (2010)

Edulcorantes calóricos artificiales. Comprende los azúcares modificados destacando el jarabe de maíz de alta fructosa, caramelo, azúcar invertido y los alcoholes de azúcar que son considerados también como carbohidratos que se producen de forma natural en pequeñas cantidades, en las plantas y cereales, parte de su estructura de carbohidrato es similar a la del azúcar y alcohol, a pesar de que no contiene etano. Por lo general, contienen menos calorías por gramo que el azúcar y no se han asociado al desarrollo de caries dental. A pesar de que son carbohidratos, el organismo no puede metabolizarlos plenamente y, en consecuencia, tienden a tener menos de cuatro calorías por gramo y un índice glicémico muy bajo. Algunos de estos hidratos de carbono utilizados como edulcorantes (polidextrosa o el xilitol) se han propuesto como ingredientes de alimentos funcionales útiles para el control de la ingesta por su bajo contenido energético debido a su metabolización parcial (de 1,5 a 3 kcal/g) (García-Almeida, J., Gracia, M., Casado F. & García J., 2013).

Jarabe de maíz de alta fructosa. También denominado isoglucosa o jarabe de glucosa con alto contenido en fructosa. Se obtiene de la hidrólisis del almidón de maíz seguida de una transformación parcial de glucosa en fructosa por isomerización enzimática. Usado en la elaboración de bebidas gaseosas, bebidas de frutas, bebidas deportivas, yogures, alimentos enlatados, entre otros (Borrego, F., 2010).

Alcoholes del azúcar. También denominados polialcoholes, polioles, glucoalcoholes, polihídricos o azúcares-alcohol. Se obtienen de la hidrogenación de los diferentes edulcorantes naturales como la sacarosa, glucosa, fructosa, entre otros. El propósito de su uso es darle textura, humedad y evitar la caramelización de los alimentos al calor. El más utilizado es el sorbitol (Gil, A., 2010). La estructura química de estas sustancias determina una mayor potencia edulcorante en su interacción con los receptores del gusto y una menor absorción por el tracto digestivo, así como una menor reacción insulínica, por lo que tienen un contenido calórico útil menor que el del azúcar (Gines, A., 2014).

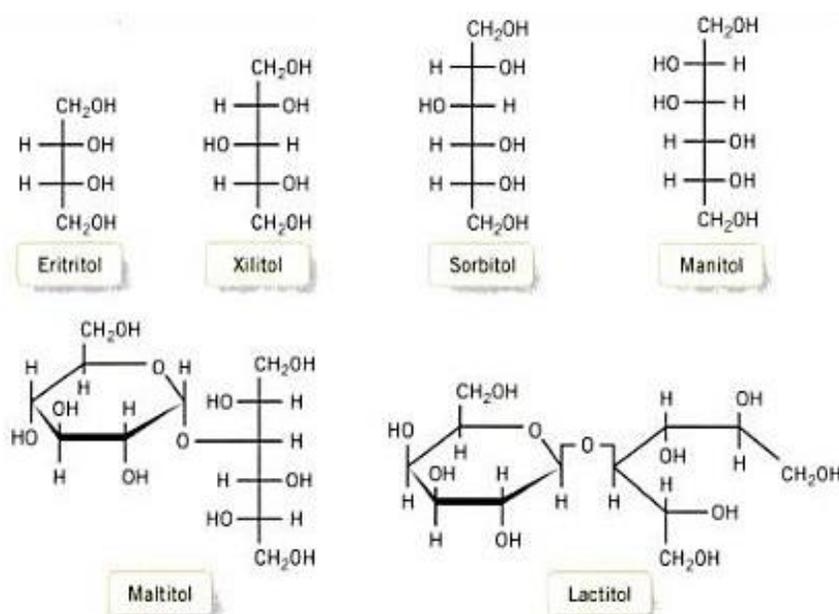


Figura 1. Formula química de los polialcoholes. Gil, A., 2010

Tabla 3

Descripción de los alcoholes.

Polioles	Obtención	Valor nutritivo (Kcal/g)	Poder edulcorante, relativo a sacarosa	Cantidad máxima tolerable (g/día)	ÍG ¹	Presencia y/o usos
Eritriol	Fermentación de glucosa por levadura <i>moniliella tormensosa</i> var <i>pollinis</i> y posterior cristalización.	0,2	0,75	En dosis superiores a cualquier otro	1	En frutas, repostería, mantequillas, chocolate y alimentos fermentados
Lactitol	Hidrogenación catalítica de lactosa y cristaliza con una o dos moléculas de agua.	2	0,5	≥20	3	Caramelos, helados, galletas, microbiota intestinal.
Maltitol	Hidrogenación de maltosa.	2,1	1	30-50	35	Goma de mascar y caramelos
Manitol	Hidrogenación catalítica de la fructosa.	1,6	0,7	10-20	2	Goma de mascar y superficies de confitería
Sorbitol	Hidrogenación catalítica de la glucosa contenida en frutos.	2,6	0,7	>80	4	Cereales de desayuno, caramelos y en pastelería.
Xilitol	Reducción catalítica de xilosa, disponible a partir de virutas de madera, bagazo, cascaras de semillas y algas.	2,4	1	>50	12	Goma de mascar, helados, postres, repostería, mentas para el aliento, pasta de dientes y enjuagues bucales.

¹IG= Índice Glicémico. **Fuente:** adaptado de: García-Almeida, J., Gracia, M., Casado F. & García J., (2013) y Monzón, D, (2014)

Edulcorantes no calóricos

Son sustancias que no aportan energía y que se agregan a los alimentos para proporcionarles un sabor dulce. Se emplea para reemplazar total o parcialmente el azúcar (Zacarias, I & Vera, G. 2005). Tienen un poder edulcorante muy alto (entre 300 y 6.000 veces el de la sacarosa). Aunque por lo general la ausencia de características de “carga” y su baja resistencia termina limitan el abanico de aplicaciones en las que estos pueden sustituir directamente al azúcar (Organización internacional del azúcar, 2012).

Son conocidos como edulcorantes a calóricos artificiales y edulcorantes a calóricos naturales, una clase importante de sustitutos del azúcar son los conocidos como edulcorantes de alta intensidad (Monzón, D., 2014).

Edulcorantes no calóricos artificiales. Son edulcorantes artificiales fabricados o procesados químicamente. Dentro de sus características comunes es posible mencionar que son muy bajos en calorías, reducen el contenido energético global, aportan poco o ningún nutriente al organismo (López & Peña, 2014).

El problema que se presenta en el campo de estos edulcorantes es la presencia de percepciones gustativas secundarias, conocidas como regusto y que puede ser metálico, amargo, mentolado o alicorado (Restrepo, M., 2004).

Así mismo, a este tipo de edulcorantes se le atribuyen una gran cantidad de efectos nocivos para la salud; en febrero de 1994, el Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos publicó y suministró a la Food and Drug Administration (FDA), la lista de reacciones negativas de los edulcorantes. Entre las lesiones reportadas figuran dolores de cabeza, migraña, vértigo, náuseas, espasmos musculares, depresión, fatiga, irritabilidad, insomnio, pérdida de la audición, dificultades respiratorias, ataques de ansiedad y pérdida de memoria, entre otras (Herrera, F., Gómez, F. & González, C., 2012).

Aspartame. Es un dipéptido formado por ácido aspártico y fenilalanina, dos aminoácidos constructores de proteína. Es desdoblado por el organismo en sus componentes: ácido aspártico, fenilalanina y metanol. Descubierta en 1965 por el químico James Schallatter de la compañía G.D. Searle and Co. Como otros aminoácidos, ambos proporcionan 4 kcal/g, pero al ser tan dulce (cerca de 200 veces más dulce que el azúcar de mesa), la cantidad utilizada para sustituir el azúcar es menor al 1% por lo que su aporte energético es insignificante (González A., & Cols., 2013).

Es vendida bajo los nombres de marca Nutrasweet®, Equal®, y Sugar Twin®. La FDA aprobó el aspartame en 1981 (46 FR 38283) para su uso, bajo ciertas condiciones, como edulcorante de mesa, en goma de mascar, cereales para el desayuno frío, y bases secas para ciertos alimentos (es decir, bebidas, café instantáneo y té, gelatinas, pudines, y rellenos, y los productos lácteos y aderezos). En 1983 (48 FR 31376), la FDA aprobó el uso de aspartame en bebidas carbonatadas y en bebidas carbonatadas a bases de jarabe, en 1996, la FDA aprobó para su uso como un " edulcorante de uso general. " No es estable al calor y pierde su dulzor cuando se calienta, por lo que normalmente no se utiliza en productos horneados. El aspartame es una de las sustancias más estudiadas de forma exhaustiva en el suministro de alimentos humanos, con más de 100 estudios que avalan su seguridad (FDA, 2015).

Se desaconseja su uso en pacientes con fenilcetonuria, puesto que es bien conocido como una enfermedad genética provocada por la carencia de la enzima fenilalanina hidroxilasa, y esta al ser una fuente del aminoácido fenilalanina, el cuerpo no es capaz de metabolizarlo en el hígado, con la consecuente acumulación y posterior daño al sistema nervioso central (SNC), entre otros. Es preciso recalcar que es una condición muy poco frecuente en la población y que su incidencia es menor a uno en cada 15,000 nacidos vivos, por lo que, en personas sin la patología anteriormente mencionada, estudios revelan que su ingestión no se asocia a cambios clínicos significativos en parámetros clínicos de reproducción o gestación (Montes, N., 2009).

Acesulfame-K. Descubierta y desarrollada por los químicos Karl Klauss y Harald Jenssen en Hoechst Company, A.G. en 1967. Es un derivado del ácido acético; y su fórmula es 5,6-dimetil-1,2,3-oxatizaina-4(3H)-ona-2,2-dióxido. Se vende bajo los nombres de marca Sunett® y Sweet One®, su uso más frecuente es combinado con otros edulcorantes para intensificar su grado de dulzor y disminuir su sabor amargo. Su dulzor es aproximadamente 200 veces mayor que la sacarosa, es estable al calor y frío (Montes, N., 2009). Se absorbe en el intestino delgado y es excretado por vía renal sin ser metabolizado.

La FDA aprobó el acesulfame de potasio para su uso en alimentos y bebidas categorías específicas en el año 1988 (53 FR 28379), y en 2003 lo aprobó como edulcorante de uso general y potenciador del sabor en los alimentos, excepto en carne y aves de corral, bajo ciertas condiciones de uso. Es estable al calor, lo que significa que se mantiene dulce, incluso cuando se utiliza a altas temperaturas durante la cocción, por lo que es adecuado como un sustituto del azúcar en productos horneados. Actualmente se utiliza en los postres, helados, dulces, bebidas y productos horneados. Más de 90 estudios apoyan su seguridad (FDA, 2015).

Sacarina. Descubierta por James Schlatter en 1875, químico norteamericano. Es el más antiguo de los edulcorantes con un poder edulcorante cerca de 300 veces mayor que la sacarosa. Actualmente se obtiene mediante síntesis química del tolueno y generalmente es comercializada como su sal sódica. No es metabolizado por el sistema digestivo humano ya que es excretado rápidamente por medio de la orina sin acumularse en el organismo humano (Crespo, R., 2012). Está aprobada para su uso en la alimentación como un edulcorante no nutritivo, Es vendida bajo los nombres de marca Sweet and Low®, Sweet Twin®, Sweet'N Low®, and Necta Sweet®. Actualmente aprobado para su uso, bajo ciertas condiciones, en bebidas, jugos de frutas, como sustituto del azúcar para la cocina o como sustituto del azúcar de mesa, en alimentos procesados y con determinados fines tecnológicos (FDA, 2015).

Ciclamatos. En 1937 se descubrió el sabor dulce de las sales del ácido ciclámico, compuesto por ácido ciclo-hexil-sulfámico y posteriormente los laboratorios Abbott realizaron estudios en 1950 para lograr su autorización ante la FDA y de esta manera enmascarar el sabor amargo de ciertos antibióticos. Su introducción al mercado de bebidas dietéticas dio inicio cuando se descubrió que combinados con la sacarina en relaciones de 10:1 (Ciclamato/sacarina) provocan un efecto sinérgico que repercute en un mayor dulzor y sabor que cada uno por sí solo (González A., & Cols., 2013). Su poder edulcorante es poco comparado con otros edulcorantes, ya que es de 30 veces mayor a la sacarosa (Crespo, R., 2012).

Sucralosa. Descubierta en 1976. Se obtiene a partir de la cloración de una molécula de sacarosa, en la cual se sustituyen tres grupos hidroxilo por iones cloruro. La presencia de estos átomos incrementa la potencia edulcorante e impide que se metabolice, es vendida bajo el nombre de marca Splenda® y es el edulcorante más potente ya que su dulzor es 600 veces mayor que la sacarosa (Restrepo, M., 2004). El 85% de la sucralosa ingerida es eliminada con las heces y el restante 15% se absorbe de manera pasiva sin fines energéticos.

Los tres cloros permiten que la sucralosa sea resistente al calor, por lo que se puede cocer, asar y hornear alimentos que la contienen sin que se pierda su característica edulcorante. La suma de todas las fuentes dietéticas de cloro incluido el consumo de sucralosa, no excede las cantidades que el organismo puede procesar fácilmente (González A., & Cols., 2013), por lo que la FDA aprobó la sucralosa para su uso en 15 categorías de alimentos en 1998 y para su uso como edulcorante de uso general para los alimentos en 1999, bajo ciertas condiciones de uso y actualmente es posible encontrarlo en una variedad de alimentos, incluyendo productos de panadería, bebidas, goma de mascar, gelatinas y postres lácteos congelados (FDA,2015).

La sucralosa ha sido ampliamente estudiada y más de 110 estudios de seguridad fueron revisados por la FDA para aprobar el uso de la sucralosa como edulcorante de uso general para los alimentos.

Neotame. Aprobado para su uso en la alimentación como un edulcorante no nutritivo y se vende bajo el nombre de marca Newtame® (FDA, 2015). Es un sucesor del aspartame ya que sus estructuras químicas son similares pero la diferencia mejora notablemente en sus propiedades, pues no presenta problemas metabólicos, ya que la fenilalanina no es liberada en el metabolismo y su poder edulcorante es de 7,000-13,000 unidades de sacarosa (Restrepo, M., 2004). Es estable al calor, lo que significa que se mantiene dulce, incluso cuando se utiliza a altas temperaturas durante la cocción, por lo que es adecuado como un sustituto del azúcar en productos horneados.

Aprobado por la FDA para su uso como edulcorante de uso general y potenciador del sabor en los alimentos (excepto en la carne y aves de corral), bajo ciertas condiciones de uso, en el 2002. En la determinación de la seguridad del neotame, la FDA revisó los datos de más de 113 estudios en animales y humanos destinados a determinar posibles efectos tóxicos, incluidos los efectos sobre el sistema inmunológico, sistema reproductivo y el sistema nervioso (FDA, 2015).

Advantame. o Advantame (N-[N-[3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)propil] –L- α - aspartil] – L-fenilalanina-1-metil-éster) siendo un derivado del aspartame, estructuralmente semejante al neotame y desarrollado por la empresa Ajinomoto. Con un poder edulcorante de 20,000 veces más dulce que la sacarosa y 100 veces más dulce que el aspartame (WHO, 2013). Fue aprobado como un nuevo aditivo alimenticio a usarse como edulcorante y para mejorar el sabor de los alimentos, excepto el de la carne de res y de las aves de corral.

Entre los ejemplos de usos para los cuales se ha aprobado están los productos horneados; las bebidas sin alcohol (incluyendo los refrescos o gaseosas); la goma de mascar; las golosinas y los merengues o glaseados; los postres congelados; las gelatinas, pudines y flanes; las jaleas y mermeladas; las frutas en conserva; y los jugos de frutas, los aderezos y los jarabes.

Para determinar la inocuidad del advantame, la FDA analizó los datos de 37 estudios realizados en animales y en humanos, diseñados para identificar posibles

efectos tóxicos (perjudiciales), entre ellos sus efectos sobre los sistemas inmunológico, reproductivo y del desarrollo, y nervioso (FDA, 2015)

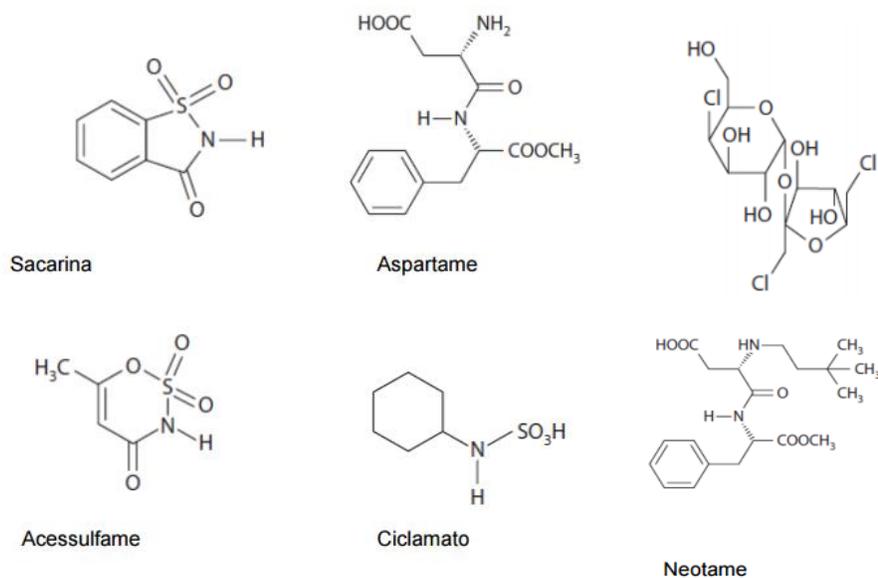


Figura 2. Estructura química de los edulcorantes artificiales utilizados en alimentos y bebidas.

Gines, A. (2014)

Edulcorantes no calóricos naturales. Los edulcorantes no calóricos constituyen hoy una de las áreas más dinámicas dentro del campo de los aditivos alimentarios, dada la gran expansión que ha experimentado en estos últimos años el mercado de los alimentos bajos en calorías (Alonso, J., 2010) algunos de estos han demostrado estar asociados a diversas enfermedades. Por esta razón, en los últimos años la industria alimentaria ha dedicado esfuerzos en el desarrollo de agentes edulcorantes, pero obtenidos de fuentes naturales (González, C., Tapia, M., Pérez, E., Dornier, M. & Morel, G., 2014).

Luo Han Guo. Es un edulcorante de alta intensidad proveniente de una fruta china llamada *lou han guo* también denominada Monk (*Siraitia grosvenorii* Swingle), un miembro de la Cucurbitaceae (Yeouruenn, 1995). Esta familia de plantas (familia de las cucurbitáceas) contiene notables componentes dulces, incluyendo otras especies del género *Siraitia* (por ejemplo, *S. siamensis*, *S. silomaradjae*, *S. sikkimensis*, *S. africana*, *borneensis* *S.* y *S. taiwaniana* 2) (Sánchez, M. 2014). La

fruta es de alta intensidad (300 veces más dulce que el azúcar de caña) y no calórico, Esta exótica fruta es cosechada verde, que se convierte en color canela a marrón cuando se seca, después de secado lento en los hornos, la fruta desarrolla un aroma a nuez y caramelo toffee, sabor dulce.

Actualmente es comercializado bajo la marca PureLo® que es un concentrado en polvo no calórico que se deriva de sus propiedades edulcorantes de glicósidos triterpénicos llamados mogrósidos. Una de las ventajas que tiene sobre Stevia es la ausencia del regusto amargo característico de ésta. Al igual que Stevia, su índice glicémico es cero y recientemente ha sido aprobado por la FDA para el uso con el reconocimiento GRAS para aditivo de algunos alimentos desde 2010 (FDA, 2015).

De naturaleza proteica. A este grupo puede pertenecer ciertos aminoácidos que presentan sabor dulce como la glicina la cual ha sido utilizada en asociación con sacarina para edulcorar productos de confitería y bebidas. Así mismo ciertos péptidos del cual el más importante es el aspartame y algunas proteínas aisladas de frutas tropicales las cuales han roto la teoría de que solo las moléculas pequeñas eran dulces y que se explican a continuación (Rivas, C., Vásquez, R. & Vásquez, K., 2014).

Tabla 4

Descripción de los edulcorantes no calóricos naturales de naturaleza proteica.

Edulcorante	Obtención	PE ¹	Descripción	Ventajas de uso	Desventajas de uso
Taumantinas (I y II)	Del fruto de la planta tropical del Oeste de África <i>Thaumatococcus danielli</i>	2,000-3000, sabor azucarado tardío persistente y a veces un sabor residual alicorado.	Son proteínas alcalinas de una sola cadena polipeptídica y peso molecular (PM) de 20.000 daltons.	Estable en forma seca y congelada, edulcorante sinérgico con sacarina, esteviósido y Acesulfamo K	Son inestables si el medio de conservación no es estéril. En disolución tienen una estabilidad muy variable, desnaturalizándose por el calor.
Monelina	Extraída de la fruta africana Serendipiti Berry (<i>Discoreopsis hyllum cumminsii</i>)	2,500-3,000 con aporte calórico despreciable debido a su intenso PE.	Constituida por dos cadenas polipeptídicas unidas por enlaces covalentes, PM de 15,000 daltons.	Se conserva mejor a temperatura ambiente en condiciones estériles.	Muy inestable, el calentamiento a medio ácido (pH <2) acelera su destrucción
Miraculina	Glicoproteína extraída de la fruta <i>Richardella dulcifera</i> del oeste africano.	Calculado en 400,000 en solución de ácido cítrico 0.1M	PM de 42,000. Su petición de sustancia GRAS fue denegada en 1974.	Peculiar propiedad de impartirle a los alimentos ácidos un sabor dulce	Termolábil y se inactiva a pH ácidos extremos. Tiene un poder modificador del sabor transcurridas varias horas tras su ingestión

Fuente: texto adaptado de Carmen, A. & Repetto, M. (2014), García, M., Quintero, R. & López-Munguía, A., (2004), Rodríguez, V. & Simón, E. (2008) y Badui, S. (2006) . ¹PE = Poder edulcorante relativo a sacarosa.

Dentro de los usos de los edulcorantes de naturaleza proteica podemos mencionar que la Taumatina I y II se utiliza como edulcorante en bebidas y postres, y como potenciador del aroma, elevando hasta diez veces el aroma a menta, canela o pimienta, por lo que se emplea en pastas de dientes y enjuagues bucales, goma de mascar, o incluso para mejorar y estimular el aroma del café y productos lácteos (Camean, A. & Repetto, M., 2012). Así mismo, los usos de la Monelina se limitan a productos de confitería, gomas de mascar y helados, al ser altamente inestable al calor (65°C) y pH extremos (Rodríguez, V. & Simón, E., 2008).

Esteviósido. Es un glucósido diterpeno cristalino responsable junto con el Rebaudiósido A de aportar un marcado sabor dulce a las hojas de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni, identificado por los franceses Bridel y Lavieille en 1931; la cual ha destacado gran interés desde la última década y su cultivo se ha incrementado significativamente desde que se han desarrollado procesos para la extracción y purificación de dichos compuestos. Entre las principales propiedades de estos glucósidos se encuentran su alta solubilidad en agua por lo que existe la posibilidad de extraer el esteviósido de las hojas de las plantas sin recurrir a disolventes químicos que en mayor o menor grado son nocivos para la salud (Romero, M., 2013), elevado sabor dulce; del cual en forma pura es 300 veces más dulce que una solución al 0,4% de sacarosa, escaso aporte calórico, no se fermentan, no se oscurecen por cocción y estabilidad en condiciones acidas o al calor (González, C., et al. 2014). Se emplea principalmente como edulcorante de mesa, en bebidas, en pastelería, en dulces, confituras, mermeladas, yogures, goma de mascar, entre otros (López & Peña, 2004)

Tabla 5
Descripción de los edulcorantes no calóricos

Edulcorante	Estatus Regulatorio	Uso en marcas comerciales	Poder edulcorante ¹	IG ²	IDA ³	Cantidad equivalente a IDA ⁴
Acesulfame-K	Aprobado como edulcorante y potenciador del sabor en los alimentos en general (excepto en carne y aves de corral) 21 CFR 172.800	Sweet One® Sunett®	200x	0	15	23
Advantame	Aprobado como edulcorante y potenciador del sabor en los alimentos en general (excepto en carne y aves de corral) 21 CFR 172.803		20,000	0	32,8	4,920
Aspartame	Aprobado como edulcorante y potenciador del sabor en los alimentos en general. 21 CFR 172.804	Nutrasweet® Equal® Sugar Twin®	200 x	Reducida	50	75
Sacarina	Aprobado como edulcorante únicamente en ciertos alimentos dietéticos especiales y como aditivo utilizado para ciertos fines tecnológicos 21 CFR 180.37	Sweet and Low® Sweet Twin® Sweet'N Low® Necta Sweet®	200-700 x	0	15	45 (intensidad de 400 x sucralosa)
Sucralosa	Aprobado como edulcorante en alimentos en general. 21CFR 172.831	Splenda®	600 x	0	5	23
Glicósidos purificados de la planta Stevia rebaudiana Bertoni	Especificado como Generalmente Reconocido como Seguro (GRAS). ≥95% glicósidos puros.	Truvia® PureVia® Enliten®	200-400 x	0	4*	9 (intesidad de 300 x sucralosa)

¹ Poder edulcorante relativo a sacarosa ²IG: Índice Glicémico ³ Ingesta Diaria Admitida en mg/kg de peso por día ⁴ numero endulzante de mesa en paquete que una persona de 60 kg necesita consumir para alcanzar el IDA asumiendo que un paquete de edulcorante de alta intensidad es tan dulce como dos cucharaditas de azúcar. * IDA de Glicosidos del Steviol establecidos por FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Fuente: adaptado de FDA (2015).

El poder edulcorante (PE) de los sustitutos del azúcar con respecto a la sacarosa como se muestra en la Tabla 5, son de sumo interés y se define como: gramos de sacarosa que hay que disolver en agua para obtener un líquido de igual sabor que la disolución de 1 gramo de edulcorante en el mismo volumen. La valoración cuali-cuantitativa del dulzor se basa en las percepciones que un grupo de catadores tienen en su lengua obteniéndose un valor promedio para dicha sensación. Los datos que se obtengan no se expresan en unidades absolutas, sino en valores relativos a un estándar arbitrariamente elegido. Se toma como referencia o patrón la sacarosa con un valor de 1 (Méndez, F., Saravia R., 2012).

Stevia rebaudiana Bertoni

Generalidades. Planta nativa del sudeste de Paraguay sobre todo en el departamento de Amambay, que junto a otras 154 variedades conforman el género *Stevia* a nivel mundial, destacando a Morita 2 desarrollada en Japón por Toyosigue Morita la cual tiene como ventaja a otras variedades su mayor rendimiento de hoja seca y mejor contenido químico; además esta especie presenta numerosos ecotipos (Landázuri, P. & Tigrero, J., 2009).

La *Stevia rebaudiana Bertoni* es la única especie en la que sus hojas son fuente de glicósidos de diterpeno, denominados como estevioglicósidos, el esteviósido y el rebaudiosido A, son los principales compuestos responsables de su poder edulcorante y normalmente están acompañados por pequeñas cantidades de otros estevioglicósidos con un poder edulcorante de 25- 30 veces más que el azúcar blanca estándar y su extracto hasta 300 veces (Espitia, M., Montoya, R. & Atencio, L., 2009), soluble en agua fría o caliente, sin nutrientes, sin calorías, se puede hornear siendo estable a los 200°C, no se fermenta, no crea placa dental, es anti-carries, no tiene efectos tóxicos, no se hace caramelo al calentarse ni se llega a cristalizar tal como el azúcar (González, C., Tapia, M., Pérez, E., Dornier, M. & Morel, G., 2014).

En la actualidad, se cultiva en muchos países de todo el mundo, entre ellos, países de América Latina y Asia. Conocida como hierba dulce, anteriormente por

los indios guaraníes de Paraguay como *ca-a-yupe* (FAO/OMS, 2005) y se utilizaba tradicionalmente para endulzar bebidas amargas conocidas como mate o como pequeñas golosinas cuando en el campo se encontraban con ella (Herrera, F., Gómez, F. & González, C., 2012). Actualmente comercializada como edulcorante Stevia.

El primer encuentro entre Europa occidental y la Stevia fue en la época de la colonia española en el siglo XVI. Los españoles de la colonia enviaron el informe a España, comentando de una planta que los indígenas de Sudamérica utilizaban como edulcorante para el té. Así en el siglo XIX, se aumentó el interés de la misma en Europa y se inició la investigación de la misma a través de entrevistas en Brasil (FAO/OMS, 2005).

En 1887, el Dr. Moisés S. Bertoni, biólogo botánico y director de la Universidad de Agricultura de Asunción en Paraguay, tuvo conocimiento de esta hierba (Caruajulca, D., 2012) y en 1899 escribió el reporte de su estudio sobre la Stevia y a partir de 1990 empezó a publicar varios trabajos de investigación sobre la planta. La determinación y el aislamiento de los principios activos (esteviósido y Rebaudiósido) se debe al Dr. Ovidio Rebaudi, químico paraguayo en 1900 (FAO/OMS, 2005).

Gracias a estos pioneros y a la creciente preocupación mundial por la salud, el uso de la Stevia popularizó a lo largo del planeta como sustituto de azúcar blanca estándar y de edulcorantes artificiales (Caruajulca, D., 2012).

Descripción Botánica. Pertenece a la familia *Asteraceae* la cual también pertenece plantas muy conocidas como el diente de león, girasol y la achicoria (González A., & Cols., 2013). Es una planta herbácea perenne, tallo erecto, subleñoso, pubescente; durante su desarrollo inicial no posee ramificaciones, tornándose multicaule después del primer ciclo vegetativo, llegando a producir hasta 20 tallos en tres a cuatro años; puede alcanzar de 90 cm de altura en su hábitat

natural y en trópicos puede llegar a tener alturas superiores a 100 cm (Herrera, F., Gómez, F. & González, C., 2012).

Tabla 6

Clasificación sistemática de la *Stevia rebaudiana* Bert.

Nombre común	Hierba dulce
Subreino	Tracheobionta (Plantas vasculares)
División	Magnolophyta (fanerógama angiosperma)
Subdivisión	Spermatophyta (plantas de la semilla)
Clase	Magnoliopsida (dicotiledóneas)
Subclase	Asteridae
Serie	Multiaristae
Tribu	Eupatorieae
Orden	Campanulares (asterales)
Familia	Compuestas (Asteráceas de Monochlamydeae, comositaseas)
Genero	<i>Stevia</i>
Especie	<i>rebaudiana</i> Bertoni
Nombre científico	<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni ó <i>Eupatorium rebaudianum</i> Bertoni ó <i>Rebaudianum</i> de <i>Eupatorium</i>

Fuente: Caruajulca, D., 2012

Morfología. Posee una raíz perenne, abundante, que apenas ramifica, (González A., & Cols., 2013) filiforme, pivotante y no profundiza distribuyéndose cerca de la superficie (Landázuri, P. & Tigrero, J., 2009).

La *S. rebaudiana Bertoni* tiene hojas elípticas, ovales o lanceoladas, algo pubescentes; presentan disposición opuesta en sus estados juveniles, y alternas cuando las plantas llegan a su madurez fisiológica, previa a la floración (Herrera, F., Gómez, F. & González, C., 2012).

Sus tallos son semi-leñosos, pero débiles (FAO, 2004), poseen un alto contenido de antioxidantes, siendo de 5 a 6 veces mayor que el del té verde (González A., & Cols., 2013).

Las flores son hermafroditas y se ubican en capítulos pequeños de 7-15mm (González A., & Cols., 2013) por lo que su tamaño es pequeño agrupados en panículas corimbosas y blanquecina (Landázuri, P. & Tigrero, J., 2009).

El fruto es un aquenio delgado y plumoso que es fácilmente diseminado por el viento (González A., & Cols., 2013).

Las semillas son pequeñas y el peso de mil semillas de Stevia oscila por lo general ente 0,15-0,30g (FAO, 2004).

La hoja seca contiene de 9 a 13% de estevioglicósidos, el tallo posee menos del 3% y la raíz no contiene. El cultivo se considera perenne, siempre y cuando se realicen las prácticas adecuadas para mantener el sistema radicular y así lograr un rebrote luego de cada cosecha. En promedio posee un periodo vegetativo de tres meses donde alcanza la madurez fisiológica, disminuyendo el contenido de fibra, se acentúa el color verde y aroma, y debido a la aparición del estevioglicósido las hojas presentan un mayor dulzor (Jeria, D. & Pozo, A., 2011).

Características agronómicas. La planta Stevia rebaudiana Bertoni en su estado natural, crece en la región subtropical, semihúmeda de América, especialmente en hábitats semiáridos, que van desde las llanuras hasta laderas de montañas (González A., & Cols., 2013), con precipitaciones que oscilan entre 1,400 a 1,800 mm., distribuidos durante todo el año y humedad relativa de 75% – 85%. Esta planta requiere días largos y alta intensidad solar (heliofanía) (Landázuri, P. & Tigrero, J., 2009).

Su cultivo se puede dar en terrenos relativamente pobres donde pueden utilizarse para producción comercial durante varios años (cinco o seis años). Las raíces que quedan enterradas en el suelo permiten el rebrote de la planta cada vez que es cortada (Caruajulca, D., 2012). Según FAO (2004), los requerimientos agronómicos en el cultivo de la Stevia son los siguientes:

Latitud. Se encuentra en el Ecuador y 50°C con un óptimo entre 15°C - 30°C

Temperatura. Su clima natural es subtropical y semi-húmedo con temperaturas extremas entre 21-43°C, con un promedio de 24°C. El rango reportado de temperatura para el crecimiento es de 15-43°C con un óptimo entre 18-30°C. No puede soportar temperaturas invernales por debajo de - 6°C.

Agua. El rango reportado de precipitación anual para el crecimiento de la planta es de 500-1800 mm con un óptimo entre 1000-1400 mm.

Radiación. Requiere un lugar soleado y caluroso. Es una planta de días cortos. La floración ocurre en fotoperiodo crítico de 12hrs, 40-60 días después de la siembra o corte. Los días largos, sin embargo, promueven la producción de hojas y prolonga el periodo de crecimiento antes de la floración. Dado que la síntesis de esteviósido se reduce justo en la floración o antes de la misma, una floración retrasada permite más tiempo para la acumulación de esteviósido.

Suelo. Crece naturalmente en suelos infértiles, ácidos y arenosos. Los suelos óptimos para el cultivo de la Stevia son aquellos con pH 6,5 – 7, de baja o nula salinidad, con mediano contenido de materia orgánica, de textura franco-arenosa a franco, y con buena permeabilidad y drenaje (Landázuri, P. & Tigrero, J., 2009).

Propagación de la planta Stevia rebaudiana Bertoni. La propagación es de dos formas, como se describe a continuación:

Sexual. Se reproduce sexualmente por achenios, observándose alta heterogeneidad en las poblaciones resultantes, debido a la polinización cruzada; gran parte de los achenios son estériles, livianos y de fácil dispersión por el viento (Landázuri, P. & Tigrero, J., 2009).

Asexual. Debido a la alta heterogeneidad de las plantas obtenidas a través de semillas, la propagación agámica o sin semilla es la mejor, ya que conserva las características de la planta madre. Ésta puede ser por hijuelos, estacas y por cultivo de tejidos (Landázuri, P. & Tigrero, J., 2009).

La reproducción por hijuelos puede utilizarse para plantaciones pequeñas, ya que su número es reducido. Los hijuelos nacen en la base del tallo o bajo tierra y aparecerán pequeños vástagos (Landázuri, P. & Tigrero, J., 2009).

La propagación por estacas es el método más conveniente para ser usado a escala comercial; para esto es importante tener una plantación madre que proveerá del material vegetativo inicial (Landázuri, P. & Tigrero, J., 2009).

El cultivo de tejidos es otro método de propagación vegetativa que permite plantaciones más uniformes; además, se obtiene una rápida multiplicación clonal (Landázuri, P. & Tigrero, J., 2009).

Componentes de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni. Las hojas de *Stevia* poseen un alto contenido de clorofila (tres veces mayor al de otras plantas) y se postula que es el precursor de la síntesis de los esteviolglicósidos. Los principios de la *Stevia rebaudiana* Bertoni se deben a sus componentes naturales activos presentes en las hojas que son el esteviósido y rebaudiósido A o reb-A, B, C, D y E; Dulcósido A, y Esteviolbiónido. Se encuentran en menor cantidad algunos compuestos no dulces y otros que proporcionan un sabor desagradable y amargo, los cuales deben ser removidos durante la elaboración del edulcorante (Jeria, D. & Pozo A., 2011).

Las hojas de la planta silvestre de *Stevia* contienen 0,3% Dulcósido, 0,6% Rebaudiósido C, 3,8% Rebaudiósido A y el 9,1% de Esteviósido (Durán, S., Rodríguez, M., Córdón, K., & Record, J., 2012). Las hojas frescas de *Stevia* poseen una gran cantidad de nutrientes: más del 50% son carbohidratos de fácil asimilación, más del 10% son fibras, polipéptidos (proteínas vegetales) más del 1% lípidos y potasio, entre el 0,3 y 1% calcio, magnesio y fósforo (Herrera, F., Gómez, F. & González, C., 2012), contienen una gran cantidad de agua (80 a 85%), así como menos del 0,01% ácido ascórbico, β -caroteno, cromo, cobalto, hierro, riboflavina, tiamina, estaño, zinc, etc. Entre los productos químicos encontrados están la apigenina, austroinilina, avicularin, β -sitoesterol, ácido caféico, campesterol, cariofileno, centaureidin, ácido clorogénico, clorofila, kaempferol, luteolina,

quercetina, estigmasterol, entre otras (Durán, S., Rodríguez, M., Cordon, K., & Record, J., 2012).

A continuación se detallan algunos componentes minerales de la Stevia citados por Jarma, A., Combatt, C. & Cleves, J. (2010):

Nitrógeno. Este elemento es primordial para la planta, ya que forma parte de proteínas y otros compuestos orgánicos esenciales, como enzimas, coenzimas, vitaminas, ácidos nucleicos, clorofila, reguladores de crecimiento, etc.

Fósforo. Forma parte esencial de muchos glucofosfatos como la uridin difosfato glucosa, UDP-glc, molécula donadora de glucosa en la síntesis de los glucósidos de diterpeno, y de otros que participan en la fotosíntesis, la respiración y distintos procesos metabólicos. También forma parte de nucleótidos y fosfolípidos que se encuentran en las membranas. Además, desempeña un papel fundamental en el metabolismo energético, debido a su presencia en las moléculas de ATP, ADP, AMP y pirofosfato (PPi). Por lo que la deficiencia de fosfato, la Stevia presenta un crecimiento limitado y retardado, ya que la energía química producida en el cloroplasto es igualmente limitada y su deficiencia afecta varios procesos incluyendo síntesis proteica y de ácidos nucleicos.

Calcio. Esencial para las funciones normales de la membrana citoplasmática en cualquier célula, seguramente a modo de enlazador de fosfolípidos, tanto entre sí como a proteínas de membrana. La mayor parte del calcio que contienen las plantas se encuentra en las vacuolas centrales, y en las paredes celulares se encuentra unido a ciertos polisacáridos llamados pectatos. Parece ser que las concentraciones bajas, casi micromolares, de Calcio en el citosol deben mantenerse en parte para impedir la formación de sales de calcio insolubles, obtenidas partiendo del ATP y de otros fosfatos orgánicos. Además, las concentraciones de Calcio por encima del margen micromolar inhiben la corriente citoplásmica. Aunque se activan unas cuantas enzimas mediante Ca^{2+} , muchas otras quedan inhibidas, lo que hace más necesario todavía que las células mantengan concentraciones muy bajas de Calcio en el citosol, donde existen muchas enzimas.

En hojas de *Stevia* con deficiencia de calcio se presentan síntomas de necrosis apical en primordios foliares, que concluye en muerte descendente, decrecimiento en el contenido de esteviósidos, las nuevas ramas formadas son quebradizas y las raíces presentaron reducción en su longitud y grosor.

Azufre. En algunas especies vegetales, este no se redistribuye con facilidad desde los tejidos maduros, así que la deficiencia se nota antes en las hojas más jóvenes. La mayor parte del azufre en las plantas se encuentra en las proteínas, más precisamente en los aminoácidos cisteína y metionina, que son constituyentes de las proteínas. Las vitaminas tiamina y biotina, así como la coenzima A, son otros compuestos esenciales que contienen azufre. Por ello, no es extraño observar decrecimientos en el contenido de esteviósidos ante deficiencias del mismo.

Zinc. Los inconvenientes producidos por las deficiencias de zinc se dan como resultado de la disminución de crecimiento de las hojas jóvenes y los entrenudos del tallo. Los bordes foliares suelen presentar distorsiones y pliegues. Frecuentemente se produce una clorosis intervenal en gramíneas y frutales, lo que indica que este elemento participa en la formación de la clorofila o bien impide su destrucción.

Glucósidos de esteviol. Estos son componentes naturales de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni y su interés radica en las propiedades edulcorantes de los cuales tiene como principales componentes el esteviósido y rebaudiósido (Caruajulca, D., 2012).

Para su obtención, las hojas son procesadas con agua caliente y el extracto acuoso se concentra y purifica para posteriormente desecarse por pulverización. Las preparaciones de glucósidos de esteviol son unos polvos solubles en agua o extractos líquidos, con un elevado porcentaje de glucósidos esteviósido y rebaudiósido A y cantidades más pequeñas de otros glucósidos de esteviol como rebaudiósido C, dulcósido A, rubusósido, esteviolbiósido y rebaudiósido B entre 20 y 300 veces más dulces que la sacarosa, blancos o blancos ligeramente amarillentos, cristalinos, con leve o ningún olor característico. Las impurezas que

aparecen en los extractos de las hojas de *Stevia* son materiales vegetales característicos, como pigmentos y sacáridos (Caruajulca, D., 2012).

Rebaudiósido A. Se encuentra ente el 20 y el 70% de toda la mezcla de glucósidos de esteviol. Estudios determinaron que este tiene el mejor sabor y es más cercano al azúcar sin notas de sabor amargo o metálico.

Nombres químicos y empíricos de los glucósidos del esteviol. A continuación, se presentan los nombres químicos y empíricos de los glucósidos más representativos de la *Stevia*:

Tabla 7

Nombres químicos y empíricos de los glucósidos más representativos *Stevia rebaudiana* Bertoni.

Nombre común	Nombre químico	Nombre empírico
Esteviósido	13-[(2-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosil)oxi] ácido kaur-16-en-18-oico, β-D-glucopiranosil éster	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₈
Rebaudiósido A	13-[(2-O-β-D-glucopiranosil-3-O-β-D-glucopiranosil)oxi] ácido kaur-16-en-8-oico, β-D-glucopiranosil éster.	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃
Rebaudiósido B	13-[(2-O-α-L-ramnopiranosil-3-O-β-D-glucopiranosil)oxi] ácido kaur-16-en-18-oico, β-D-glucopiranosil éster	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₂
Dulcósido A	13-[2-O-α-L-ramnopiranosil-β-D-glucopiranosil)oxi] ácido kaur-16-en-18-oico, β-D-glucopiranosil éster	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₇

Fuente: Adaptado de (Caruajulca, D., 2012)

Perfil químico nutricional de las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni. El perfil químico proximal de la hoja *Stevia* seca, revela presencia de proteínas, grasa, carbohidratos y micronutrientes. Según Jeria, D. & Pozo A., (2011) los nutrientes en conjunto aportan 275 kcal/100 g de hoja seca, valor calórico 31% menor que el de la sacarosa. Sin embargo, estos nutrientes varían según su genotipo y lugar donde son cultivados.

Usos y aplicaciones de la planta Stevia rebaudiana Bertoni. El 70% de la producción mundial se utiliza para procesar cristales de esteviósido, mientras que el 30% restante se destina a usos herbarios. Los extractos de la hoja pueden ser procesados en polvo o en forma líquida. La mejor forma de usar Stevia depende de la cantidad de dulzura que se requiera en un producto (González-Moralejo, A., 2011).

Según Hernández, S. (2015) en su evaluación del consumo de alimentos procesados altos en azúcar en 127 estudiantes universitarios, como resultado se obtuvo que los alimentos mayormente consumidos son gaseosas, cereales de desayuno y otras bebidas (té frío, jugos diversos, bebidas hidratantes, Incaparina) así como los alimentos con más cantidad de azúcar son: gaseosas, otras bebidas y yogures.

Lo anteriormente mencionado hace que el mercado más importante sea la industria alimentaria, principalmente como edulcorante y saborizante. El mercado de la salud ocupa el segundo lugar en orden de importancia, y el tercero están los sub-productos de la planta, para la industria del té o industrias extractivas. Los extractos son adecuados para cocer, sin embargo, no son adecuados para determinados productos de confitería como los que llevan chocolate o los glaseados, ya que carecen de propiedades emulsionantes (Caruajulca, D., 2012).

La Stevia puede usarse como edulcorante de mesa y como aditivo para endulzar diversos tipos de preparados tales como bebidas, gaseosas, confituras, repostería, salsas, pickles, productos medicinales, de higiene bucal, gomas de mascar y golosinas (Rivas, C., Vásquez, R. & Vásquez, K., 2014).

Tabla 8

Productos derivados de Stevia: Taxonomía

Taxonomía	Descripción del producto
HOJAS	
Hojas frescas	Tienen un sabor suave y licoroso. Esta es la forma más sencilla de Stevia, en su estado más natural y no procesado. Las hojas son usadas para preparar salsas, pero resultan aún mejor en el té herbario y para el consumo directo. Las hojas no se disuelven. Se pueden comprar sueltas o en saquitos de té. Son 15 a 30 veces más dulces que el azúcar.
Hojas secas	Son 10 a 15 veces más dulce que el azúcar. Para secarlas se debe eliminar toda el agua. Es un procedimiento que permite un periodo mayor de almacenamiento. Tienen los mismos usos que las hojas frescas, pero también son utilizadas en los procesos industriales para extracción del esteviósido.
Hojas molidas o en polvo.	Pueden encontrarse a granel y en saquitos de té. De color verdoso se usa como un realzado del sabor y como edulcorante en el té, ensaladas, frutas, café, etc. Las hojas molidas de Stevia no se disuelven.
Subproductos	Las partes restantes de la planta, incluyendo tallos, semillas, flores e incluso hojas que no fueron seleccionadas para la industrialización, pueden ser usadas para la alimentación de animales o en fertilizantes.
Extractos líquidos	
Oscuro	Un jarabe concentrado hecho de las hojas secas a base de agua y alcohol. Usado como edulcorante de bebidas.
Claro	Una solución de cristales de esteviósido disueltos en agua, alcohol o glicerina. Usado como edulcorante de bebidas.
Extractos en polvo	
Con 40% - 50% de glucósidos	Las hojas se procesan a través de uno de los varios métodos de extracción, normalmente con una base de agua o alcohol etílico. El polvo resultante, blanquecino, tiene 40%-50% de glucósidos dulces y es 100 veces más dulce que el azúcar. Utilizado como edulcorante de comidas y bebidas.
Combinaciones	
Glucósidos y sus combinaciones	Se combinan los extractos de esteviósido puro con un "vehículo" (lactosa, maltodextrina, dextrosa) que permite obtener un producto fácil de medir y con gran sabor. Es uno de los glucósidos más poderosos de Stevia y se obtiene ya sea como un polvo blanco o extracto líquido. Estas mezclas son las formas más versátiles y fáciles de usar Stevia.

Fuente: (González-Moralejo, A., 2011)

Propiedades de la planta Stevia rebaudiana Bertoni. Ideal para satisfacer las necesidades de consumidores que deben de controlar la ingesta de azúcares por padecer problemas de salud vinculados a desórdenes metabólicos. Se deduce que es una planta antiácida, antibacteriana bucal, edulcorante, hipotensora, antioxidante, adecuada para bajar el nivel de acidez de la sangre y orina, actúa en forma directa estimulando las células beta del páncreas generando una secreción considerable de insulina, vasodilatadora, alivia las “hambres falsas” entre otros. (Herrera, F., Gómez, F. & González, C., 2012).

Tabla 9

Propiedades del edulcorante de Stevia

Propiedades	Descripción
Farmacéuticas y Nutracéuticas	Antioxidante, hipoglucémica, reduce la ansiedad por comida y el deseo de ingerir dulces o grasas, ayuda a bajar los niveles de ácido úrico, acción cardiovascular, combate la fatiga y depresión, mejora las funciones gastrointestinales, antagonista del calcio.
En alimentación humana	Endulzante de alimentos: café, infusiones, goma de mascar, caramelos, etc. Sustituto a su vez del azúcar en bebidas de bajo contenido calórico, salsas y repostería. Refuerza sabores y olores.
Aplicaciones en acuicultura	Revitaliza los microorganismos benéficos del suelo y permite recuperar la fertilidad, purifica el suelo contaminado por agroquímicos y otras sustancias químicas, aumenta la resistencia de las plantas al ataque de plagas y enfermedades.
Área pecuaria	Saborizante para animales de granja y domésticos, estimula el apetito, previene enfermedades reduciendo el uso de antibióticos.
Aplicaciones en medioambiente	Acelera la producción de abono orgánico a partir de residuos orgánicos, reduce la concentración de nitratos, dioxinas, restos de fertilizantes y pesticidas del suelo.
Aplicaciones cosméticas	Complemento en los tratamientos de celulitis, elaboración de dentífricos y enjuagues para la higiene bucal, lociones, cremas, jabones, ayuda a eliminar manchas y suaviza arrugas.

Fuente: adaptado de (Landázuri, P. & Tigrero, J., 2009),

Niveles de calidad de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni. No todos los productos de *Stevia* son iguales, la calidad de cualquier producto a base de *Stevia* depende de la cantidad de esteviósidos que contiene y del porcentaje de rebaudiósido-A, que son el resultado del tipo de cultivo y de los métodos de extracción. La presencia de estos componentes durante el periodo de crecimiento, cosecha o procesamiento son factores importantes en el momento de determinar la calidad final del producto (González-Moralejo, A., 2011).

Absorción y excreción de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni. El esteviósido es una molécula neutra con ambas regiones polares e hidrofóbicas la cual puede ser degradado por la flora intestinal a esteviol la cual tiene un anillo hidrofóbico y una carga negativa en el grupo carboxílico. El esteviol se absorbe en el intestino grueso y se excreta por los sistemas renal y biliar. A pesar de lo anterior, los mecanismos subyacentes de la excreción de esteviósido y esteviol son todavía desconocidos (Durán, S., Rodríguez, M., Cordon, K., & Record, J., 2012).

Esto lo demuestran a su vez, los estudios realizados por: Gardana, C., Simonetti, P., Canzi, E., Zanchi, R. & Pietta, P. "Metabolismo del esteviósido y rebaudiósido A del extracto de *Stevia rebaudiana* por la microflora humana" y Koyama, E., Kitazawa, K., Korita, Y., Izawa, O., Kakegawa, K., Fujino, A. & Uic, M. "Metabolismo in vitro de los endulzantes glicosídicos, mezcla de *stevia*, y *stevia* enzimáticamente modificada en la microflora intestinal humana" ambos estudios realizados en el 2003.

Los resultados analíticos obtenidos mediante la incubación del esteviósido en la microflora intestinal humana en el estudio Gardana, C. et al. (2003) muestran que este compuesto fue completamente degradado a su steviol aglicona en 10 horas. La concentración del esteviolbiónido alcanzó su punto máximo después de 2-4 horas de incubación, y después de este tiempo, se redujo rápidamente a cero. El esteviol por su parte se detectó sólo después de 3-4 horas de incubación, y posteriormente su concentración fue aumentando rápidamente.

Estos resultados sugirieron que el esteviósido es inicialmente hidrolizado para dar el compuesto esteviolbiósido, y luego este compuesto intermedio se metaboliza rápidamente a esteviol.

Así mismo, el rebaudiósido A fue también completamente metabolizado a esteviol por la microflora humana, pero un tiempo más largo fue necesario para ello (24 horas). De hecho, después de una inicial fase de latencia de 6-7 h, el rebaudiósido A se hidroliza esteviolbiósido (12 a 15 horas), y luego se convierte rápidamente de esteviol.

Koyamaa, E., et all. (2003) sugiere que el esteviósido es hidrolizado a través de rubusósido, SG (1) y SG (2), y finalmente a esteviol.

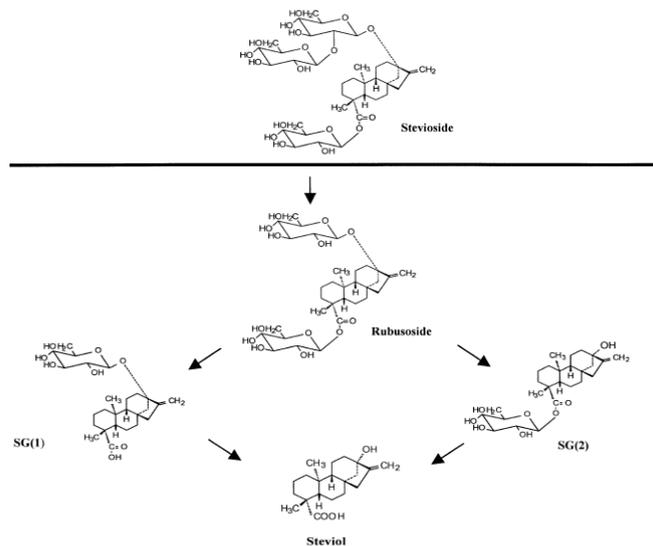


Figura 3. Propuestas sobre las vías metabólicas del esteviósido. Koyamaa, E. et. all (2003)

Así mismo, la vía metabólica predominante sugiere que el rebaudiósido A es hidrolizado a través de esteviósido, y, finalmente, a esteviol, mientras que la vía menor indica que el rebaudiósido A se metaboliza a través de rebaudiósido B, y finalmente a esteviol.

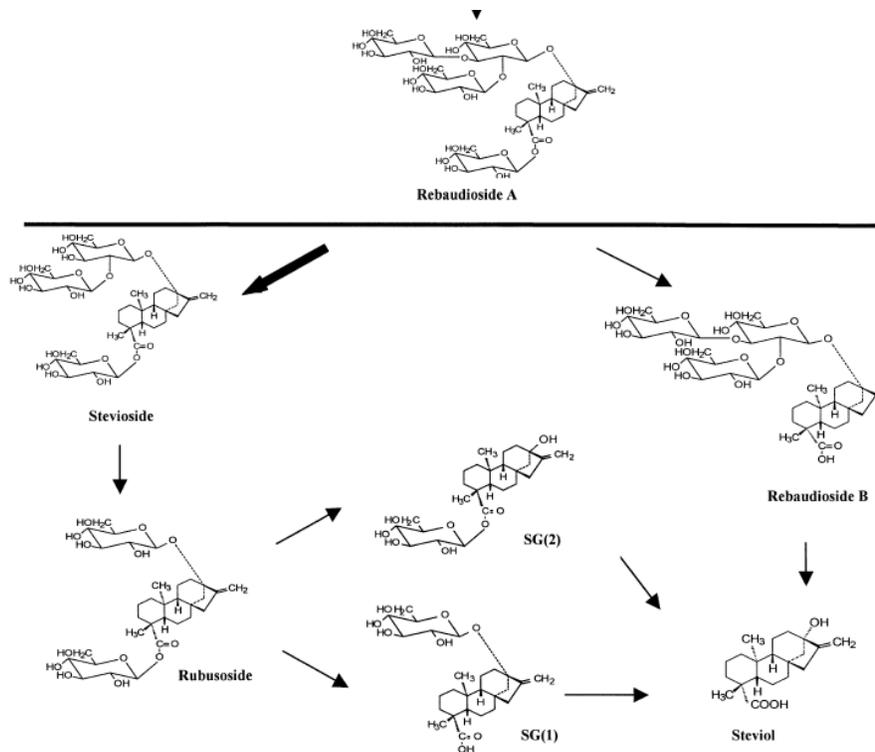


Figura 4. Propuestas sobre las vías metabólicas del rebaudiósido A. Koyamaa, E. et. all (2003)

Toxicología de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni. Hasta ahora no se han determinado efectos tóxicos de las sustancias componentes de la *Stevia* y, no hay información de toxicidad inherente de la sustancia edulcorante e incluso nada específico sobre la dosis, es decir, la cantidad por unidad de masa y el tiempo para su consumo. En el año 2006, los datos de investigación recopilados en la evaluación de seguridad publicados por la OMS no encontraron efectos adversos de los glucósidos de esteviol. No hay prueba concluyente de riesgos potenciales de la *Stevia* en la salud humana (Chacón, B. & Castells, E., 2014).

La principal clase de actividad biológica es la toxicidad de la sustancia. La actividad es generalmente dependiente de la dosis y no es común que tenga efectos en un rango de beneficios a adversos para una sustancia cuando va de bajas a altas dosis, La actividad depende críticamente en el cumplimiento de los criterios de absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) (Chacón, B. & Castells, E., 2014).

Así mismo, según Chacón, B. & Castells, E., (2014) en su estudio documental sobre toxicidad de la Stevia realizado desde 1964 hasta el 2014, observaron que 15 de los 36 artículos clasificados como estudios toxicológicos hasta la fecha, fueron de tipo toxicocinético. En general, se realizaron pruebas tipo in vivo – in vitro en animales, ratas principalmente, sobre funciones renales-urinarias de excreción de glúcidos. De estas pruebas solo se realizó uno en personas. El siguiente tipo de estudio más común fue de tipo mutagénico, con un total de siete artículos consultados hasta la fecha. Todos estos se realizaron in vitro, con cepas de *Salmonella typhimurium*. En estos estudios se observó diferencia entre los resultados obtenidos teniendo algunas referencias como positivas y otras con resultado negativo, de manera que estudios similares llegaron a conclusiones diferentes y contradictorias.

Los estudios sobre genotoxicidad también demostraron resultados contradictorios dando positivo en el estudio de Chatsudthipong V., Jutabha, P (2001) y Oliveira-Filho R., Minetti, C. & Valle L. (1989) mientras que el estudio Suttajit, M., Vinitketkaumnuen, U. & Buddhasukh, D. (1993) da como resultado negativo en la toxicidad.

El tipo de estudio toxicológico embriología/reproducción donde el artículo de Wasuntarawat, C., Toskulkao, C & Mungkornkarn, P. (1998) contradice los artículos de Sekihashi K., Saitoh H, & Sasaki, Y. (2002) y Geuns JM, Bruggeman V, Buyse JG. J. (2003) que indicaban que no había efecto toxico en la reproducción ni en embriones.

Segun Keyler DE, Lee DY, Overstreet DH, Boucher TA. (2002) y Curry LL, Roberts A. (2008) se encontró una respuesta negativa de toxicidad realizada in vivo en ratas. De igual manera, el estudio Das S, Das AK, Punwani IC, Kinghorn AD. (1992) refiere una respuesta toxicológica negativa.

Bioensayo de letalidad frente a *Artemia Salina*. Este es uno de los biomodelos más utilizados en las etapas de investigación fitoquímica. El método convencional descrito por Solis et al., 1993 consiste en la preparación del agua de mar haciendo

una disolución de 35 g de la sal de mar en un litro de agua destilada, se marca el vaso de precipitar para indicar el volumen de agua, se hierve por 30 minutos hasta evaporar según la marca; por último, se filtra y refrigera hasta el momento de usar (Pérez, K, 2003).

Posterior a ello se cultiva el *A. Salina* (*Artemia Salina* Leach.) colocando el agua en la “pecera”, se agregan 40 mg de huevecillos en el área cerrada y se incuba por 48 hrs a temperatura ambiente y con luz artificial incandescente. Al eclosionar, los nauplios pasan al área abierta donde se sacan a las 24 hrs las larvas que eclosionan y se utilizan las que eclosionan en las últimas 24hrs. Por último, se determina la citotoxicidad exponiendo los nauplios a los compuestos activos y/o extractos de plantas (Pérez, K., 2003).

La interpretación del mismo se realiza sumando el número de camarones de mar muertos y dividiéndolo en el número total de camarones, multiplicado por 100 para determinar valores de concentración letal 50 (CL₅₀), expresada en g/ml, siendo indicadores de toxicidad a nivel celular (Martinez, I., Quintero, G., Marquez, L., Gonzales, J., Alvarez, A. & Zarragoitia, A., 2006). Tiene como fin, determinar la citotoxicidad de extractos para discriminar aquellas muestras de elevada toxicidad, debido a que presenta buena correlación con la toxicidad *in vitro*.

Son fáciles de cultivar y manipular en el laboratorio, son sensibles a una gran variedad de tóxicos; y genera resultados confiables en cuanto alternativa poco costosa, sencilla y rápida (Sánchez, L. & Neira, A., 2005) ya que el potencial de *Artemia* para investigación y aplicaciones en toxicología acuática se ha explorado desde 1975 en el Laboratorio de Investigación Biológica en Toxicología Acuática de la Universidad Estatal de Ghent, Belgica (Pérez, K., 2003).

Legislación y aprobación del uso de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni. El uso generalizado de aditivos en la industria alimentaria actualmente obliga a establecer unos mecanismos de control que regulen su correcta utilización y que verifiquen sus resultados. Para que una sustancia sea admitida como aditivo debe de estar caracterizada químicamente y debe superar los controles toxicológicos

establecidos por parte de los correspondientes organismos sanitarios. Así mismo, ha de demostrarse su necesidad de tal modo que su uso suponga ventajas tecnológicas y beneficios para el consumidor (Sánchez, M., 2014).

A nivel mundial, la FAO en colaboración con la OMS crearon un comité que evalúa diversos aspectos de los aditivos llamado JECFA, el cual se ha estado reuniendo desde 1956, inicialmente para evaluar la inocuidad de los aditivos alimentarios. Actualmente prepara especificaciones de identidad y pureza de los aditivos alimentarios y efectúa estimaciones de la ingestión de aditivos alimentarios (Sánchez, M., 2014) mejor conocido como IDA (Ingesta Diaria Admisible) la cual es expresada en relación con el peso corporal, que una persona puede ingerir diariamente durante toda la vida sin riesgo apreciable para su salud (se refiere normalmente a una persona estándar de 60kg) (RTCA 67.04.54:10, 2012).

La FDA, previa a la aprobación del producto realiza estudios de laboratorio donde se demuestra su inocuidad ante las distintas pruebas a que son sometidos. Una vez que es aprobada la seguridad de un aditivo alimentario, se determina la cantidad diaria que se puede utilizar (IDA) expresado en mg/Kg de peso corporal del individuo (Sánchez, M., 2014).

La Stevia se ha utilizado como edulcorante en Japón por décadas, después de haber sido introducidas allí en 1970. Durante los años 1970 y 1980 se venden libremente tiendas de hierbas y alimentos saludables en los EE.UU. A finales de 1980, comenzó a aparecer en los EE.UU. como un suplemento dietético, pero la FDA negó varios intentos de mercado de la Stevia como aditivo alimentario. Fue así como en 1991, la FDA la categorizo como un aditivo alimentario inseguro y prohibió su uso (FAO, 2015).

En 1994, se reconoce el uso de la Stevia como un suplemento dietético. Mas esto todavía no permite su uso como aditivo alimentario, por ejemplo, como edulcorante (FAO 2015).

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) en sus reuniones 68ª y 69ª (2008) evaluó los resultados de estudios específicos en

humanos realizados y estableció una IDA para los glicósidos de esteviol de 0–4 mg por kg de peso corporal (Caruajulca, D., 2012).

En la 68ª reunión de la JECFA se elaboraron especificaciones completas, indicando que la pureza del aditivo alimentario es del 95 por ciento para los siete glicósidos de esteviol entre esteviósido y rebaudiósido A y cantidades más pequeñas de otros glicósidos de rebaudiósido C, dulcósido A, rubusósido, esteviolbiósido y rebaudiósido B. (Caruajulca, D., 2012)

FDA en diciembre del 2008 otorgó el estatus GRAS (Generally Recognized as Safe – Generalmente reconocido como no peligroso) para Reb A en los productos alimenticios. Técnicamente no ha concedido aprobación de la Stevia, pero ha firmado que no se opondrá a que las empresas lo usen en alimentos y bebidas (Rivas, C., Vásquez, R. & Vásquez, K., 2014) siempre y cuando no sobrepase el nivel de dosis máxima por aplicación de destino específico.

Así mismo, la Unión Europea aprobó el aditivo Stevia en el 2011. Guatemala sigue las directrices europeas para el uso de Stevia.

Tabla 10

Aprobación de la Stevia como edulcorante no calórico a nivel mundial

País	Clasificación	Situación	Aprobación	Normas de pureza
Japón	Aditivo alimentario	Aprobación	2007	Glucósidos de esteviol- (80% más de cuatro componentes), stevia tratada con enzima (α -glucósido Sils Tebi Todos los glucósidos, e incluye más de 80% en la cantidad total de glucósido de steviol cuatro componentes sin reaccionar, α -glucósido Sils Tebi Toda la distribución Más del 65% del cuerpo de azúcar)
China	Aditivo alimentario	Aprobación	1999	Los glicósidos de esteviol (80%, 85%, 90% o más)
Corea del Sur	Aditivo alimentario	Aprobación	2009	JECFA estándar stevia-tratado con enzimas más del 80% (glucósidos de esteviol totales, menos del 15% de otros glucósidos sin reaccionar)
Taiwan	Aditivo alimentario	Aprobación	2008	Estándar JECFA
Hong Kong	Aditivo alimentario	Aprobación	2010	Estándar JECFA
Singapur	Aditivo alimentario	Aprobación	2009	Estándar JECFA
Filipinas	Aditivo alimentario	No autorizado	-	-
Indonesia	Aditivo alimentario	No autorizado	-	-
EE.UU	GRAS	GRAS	2008	95% o más Rebaudiósido o superior al 97%, y los glucósidos de esteviol (95% o más)
	Nutricionales suplementos	Aprobación	-	-
Canadá	Aditivo alimentario	Pendiente	-	-
	Natural de alimentos saludables	Aprobación	-	Estándar JECFA

País	Clasificación	Situación	Aprobación	Normas de pure
Unión Europea	Aditivo alimentario	Balance positivo salió de la EFSA. Procedimiento de la Comisión de la UE en ese momento.	-	Estándar JEFCA
Francia	Aditivo alimentario	Aprobado intervalos de dos años	2009	Rebaudiósido A 97% o mas
Rusia	Aditivo alimentario	Aprobación	-	-
Australia	Aditivo alimentario	Aprobación	2008	Estándar JEFCA
Nueva Zelanda				
Países de América del Sur	Aditivo alimentario	Aprobación	-	Estándar JEFCA

*Normas del JEFFA: más el 95% en el componente de nueve *-: detalles son desconocidos. Fuente: (Rivas, C., Vásquez, R. & Vásquez, K., 2014

Tabla 11

Dosis máxima de Stevia por aplicación de destino específico”

Aplicación	Glucósidos del esteviol
Bebidas saborizadas a base de agua, valor energético reducido o sin azúcar añadida	600 mg/l
Leche y derivados de la leche, bebidas a base de jugo de frutas o sin azúcares añadidos	350 mg/l
Bebidas a base de soya	350 mg/l
Leche y preparaciones a base de leche, de valor energético reducido sin azúcar añadida	300 mg/l
Mermeladas de valor energético reducido, jaleas y mermeladas	600 mg/kg
Frutas de valor energético reducido y preparaciones	600 mg/kg
Salsas	350 mg/kg

Fuente: Innova database (2014)

Producción, consumo actual y potencial de Stevia. En términos generales, las previsiones apuntan a que el mercado global crecerá a un ritmo más acelerado que el azúcar, algo consistente con la generación del consumo de alimentos y bebidas “light” o “bajos en calorías” aprovechando las tendencias del mercado que reclama ingredientes menos procesados y que favorecen la utilización de edulcorantes que puedan ser comercializados como “naturales”. Tras el visto bueno de las entidades reguladoras, el potencial para que se produzca un rápido crecimiento futuro de los edulcorantes de Stevia es considerable (ISO, 2010).

El sector de refrescos es actualmente su principal usuario, Coca-Cola ha utilizado Truvia Rebiana en su producto Fanta Still y en los zumos de frutas Eckes-Granini bajo los nombres de productos Réa y Joker.

Coca-Cola y Cargill por un lado y Pepsi y PureCircle por otro anunciaron inmediatamente alianzas para producir y comercializar Reb-A tras la autorización de diciembre de 2008 de la FDA. Coca-Cola y Cargill desarrollaron un edulcorante de stevia bajo la marca Truvia (que también contiene eritritol). El edulcorante de mesa Truvia de Cargill es ahora el segundo mayor sustituto del azúcar en Estados

Unidos por detrás de Splenda (sucralosa) con una cuota de mercado del 13%, por delante de Equal (aspartame) y Sweet'N Low (sacarina) (Sánchez, M., 2014).

La industria de lácteos también ha mostrado gran interés en la Stevia ya que Danone comenzó a utilizar este ingrediente en sus yogures Taillefine. Así mismo, el posicionamiento de los edulcorantes de Stevia para complementar al azúcar en mezclas de Stevia/sacarosa para conseguir unos ahorros del 10-20% en el uso de azúcar en algunos productos alimentarios representará también otro pilar de considerable crecimiento potencial del uso de la Stevia (Organización internacional del azúcar, 2012).

Entre los principales productores de Stevia a nivel mundial son Japón, China, Corea, Taiwán, Tailandia, Indonesia, Laos, Malasia y Filipinas; todos estos países representan el 95% de la producción mundial. Cabe destacar que Japón es el país con mayor cantidad de fábricas procesadoras y extractoras de esteviósido (Herrera, F., Gómez, F. & González, C., 2012).

En América es cultivada principalmente en Paraguay, Brasil, Argentina, Colombia, Perú y cultivos muy pequeños en Ecuador. Paraguay, en la actualidad es uno de los mayores productores de Stevia a nivel mundial (Herrera, F., Gómez, F. & González, C., 2012).

Desde su autorización en 2008, los edulcorantes de Stevia han penetrado notoriamente en el mercado de edulcorantes en EE.UU. Según informes del Market Researcher Packaged Facts la Splenda/sucralosa sigue liderando el mercado de los sustitutos de azúcar de mesa, aunque sus ventas han bajado un 5,6% del 2009 al 2010 mientras que en el 2010 en el mercado estadounidense se introdujeron 76 líneas de productos endulzados con Stevia.

La conversión ideal de la materia prima a cristales de Stevia es de aproximadamente 10% (10kg de hojas secas a 1 kg de cristales de Stevia). Se puede resumir el proceso Stevia del siguiente modo: Extracción de impurezas y coagulación por cambio de pH, clean-up sobre resinas de intercambio iónico, cristalización y secado (Rivas, C., Vásquez, R. & Vásquez, K., 2014).

Extracción de los componentes activos de la Stevia

Los extractos de Stevia se pueden preparar por varios métodos. La mayoría de los procesos naturales, consisten en la extracción con agua o con alcohol, la decoloración por un blanqueador o mediante el empleo de ácido cítrico y la purificación usando resinas de intercambio iónico, técnicas electrolíticas o precipitación. La extracción puede realizarse haciendo uso de varios disolventes, algunos son el alcohol y el agua. El uso del alcohol se justifica por ser un disolvente que se evapora a una velocidad mucho más rápida que el agua, mientras que el agua por su parte, es un producto más natural siendo el más popular por motivos obvios (Romero, M., 2013).

Según Jaramillo y Roger (2007) un proceso de extracción tradicional podría resumirse en los siguientes pasos:

Extracción con agua o solventes orgánicos: Las hojas secas de Stevia (preferiblemente trituradas) son colocadas en un tanque para ser combinadas con agua u otro solvente orgánico.

Filtración: El extracto obtenido pasa por un proceso de filtración donde se retienen las partículas en suspensión, los más comunes son de arena y carbón activado.

Precipitación de impurezas: El flujo continúa con el tanque clarificador (floculación/coagulación), en el cual se separan los componentes endulzantes del resto de la mezcla. El uso de sustancias como la cal o sulfato de aluminio genera que estos componentes no deseados se precipiten al fondo del tanque.

Purificación con resinas de intercambio iónico: Se lleva a cabo haciendo pasar el líquido a través de una o varias columnas en cuyo interior contienen lechos de resina para intercambio iónico.

Cristalización: Al completar todos los procesos anteriores, se obtiene un edulcorante a base de Stevia en su forma líquida. Para obtener el edulcorante en

polvo se continúa con el evaporador cuya finalidad es liberar gran cantidad de agua y facilitar la cristalización.

Secado: Posteriormente el producto es pasado al secador para reducir la humedad del producto y por último se pasa al molino para pulverizar y mezclar con lactosa maltodextrina o dextrosa.

Extracción con agua. Razo, E. (2011) expresan que para esta extracción se coloca en un vaso 1g de hojas secas de Stevia y 100 mL de agua potable previamente hervida durante cinco minutos, para disminuir su nivel de oxígeno disuelto y evitar así una posible oxidación del extracto. Se dejan hervir las hojas del edulcorante en el solvente también durante cinco minutos. Con ese tratamiento se obtiene una solución muy oscura y se percibe un retro sabor.

Así mismo, se puede mencionar la metodología utilizada por González, C., Tapia, M., Pérez, E., Dornier, M. & Morel, G., (2014). La cual se adiciona en tubos de centrifuga 14 mL de agua por cada gramo de hoja pulverizada. Manteniendo la solución por 56 minutos a 78°C, en un baño termostatado con agitación para posteriormente filtrar (0,45 µm) y vaciados en recipientes de polietileno, dispuestos con tapa.

Extracción con alcohol etílico. Se coloca en un vaso 5g de Stevia seca, 100 mL de alcohol etílico y se deja hervir durante cinco minutos. Se obtiene un extracto alcohólico color verde vivo (Razo, E., 2011)

Extracción con solución buffer. Se mezcla 25 mL de una solución de 0,025M de KP_2PO_4 Y 65 mL de agua con 1g de Stevia hirviendo por cinco minutos. Se añade 10 mL de un inhibidor de oxidación (NA_2S-O_3) A 100 ppm al extracto obtenido para limitar la oxidación de fenoles u otros componentes de las hojas de Stevia, ya que este fenómeno podría ser causante del retro-gusto y el color oscuro del extracto durante su cocción (Jaramillo A. & Rogel E., 2007).

A continuación, se describen algunos modelos patentados de extracción mencionados por López & Peña (2004):

Método descrito por Kutowy (1999). El proceso comienza con un tanque dispuesto de forma vertical que se encuentra abierto en la parte superior para la introducción de las hojas secas trituradas a un tamaño de 20mm. En la parte inferior del tanque se encuentra una tapa perforada que va a soportar las hojas. Se adiciona el solvente a una temperatura entre 2 y 6°C (preferiblemente 2°C) A esta temperatura la extracción de los componentes indeseables con alto peso molecular (lípidos) es menor que a altas temperaturas. La relación de peso hoja/agua es de 0,05; muy poca cantidad de hojas aumenta la extracción de componentes indeseables y demasiada cantidad de hojas disminuye la extracción de los componentes endulzantes. Para mantener la temperatura entre 0 y 10°C se puede adicionar trozos pequeños de hielo a los tanques.

Una velocidad adecuada del flujo en el tanque es de 24 a 30 ml/min, produciendo un tiempo de permanencia de 10 a 20 min; siendo estos datos variables. El proceso de extracción mejora, bajando el pH del agua al rango ácido, preferiblemente a un pH 2. Esto se logra adicionando al solvente ácido fosfórico o ácido sulfúrico.

Para procesos continuos se recomienda que se alimente el solvente en el tanque a una presión de 140kPa. Es importante aclarar que la presión y gravedad del flujo dependen del tamaño de las hojas trituradas y de las dimensiones del tanque.

El extracto obtenido es pretratado en un micro filtro cerámico (tamaño de poros de 0,2 μm), en donde se remueven algunos pigmentos, materiales de alto peso molecular y material particulado que se puede generar en la trituración. Este es impulsado por una bomba para producir una presión de 100 a 200kPa. Se recomienda realizar diafiltración. El extracto continúa con la ultrafiltración usando membranas con un tamaño de poro de 0,08 μm , para remover impurezas de alto peso molecular (proteínas, pectinas y pigmentos). En este punto también es recomendable realizar diafiltración. La temperatura debe ser controlada en un rango de 10 a 65°C, aunque se prefiere dejar a temperatura ambiente para ahorrar energía. La presión de membrana debe estar en un rango de 200 a 700kPa, con una velocidad de flujo de 75 a 300 LMH (litros metros cúbicos hora).

Luego el extracto pasa a nanofiltración con un tamaño de poro de 0,035 μm , sistema que está diseñado para operar a mayores temperaturas que las normales (mayor a 85°C).

Variando la temperatura en un rango de 45 a 85°C a través de un controlador de temperatura localizado en la diafiltración, las porosidades de las membranas son modificadas, características que se utilizan para capturar los componentes dulces y dejar pasar los componentes no deseados que producen regusto. Preferiblemente el punto de corte de la membrana es de 400Da. La presión en la membrana está en el rango de 500 a 1300kPa. El extracto obtenido (25 a 45 LMH) de este proceso se usa como liquido concentrado o continua con la cristalización.

Método descrito por Alvarez y Couto (1984) y Goto (1997). Se mezcla agua hirviendo con las hojas de Stevia hasta obtener el extracto el cual es filtrado al vacío. Luego se mezcla con alcohol isobutílico manteniendo la proporción de 40:60 (v/v), hasta que se complete la fase de separación.

Después el extracto butanólico es centrifugado a 3.500 rpm (Solvall, RT 600D) por 15 minutos y el resultado es calentado a 80°C para pasar a través de una cama de carbón activado (1g de carbón activado por cada 100 ml de extracto). Finalmente es concentrado en un rotaevaporador por 24 horas para alcanzar la cristalización de los glucósidos. Los cristales son lavados con metanol y secados en un horno de circulación de aire.

Método descrito por Kienle (1982). Este método utiliza el gas de dióxido de carbono para remover sustancias no deseadas (cutículas de cera, clorofila y otros pigmentos), con el fin de mejorar el sabor, ya sea de las hojas, del extracto o de los cristales de Stevia. El dióxido de carbono es llevado a condiciones supercríticas (presión arriba de 73bar y temperatura superior a 31°C), para ser conducido a un recipiente que contiene el material a tratar. Al terminar el proceso de extracción el gas es separado del recipiente y se lleva a presiones por debajo de 72bar y a temperaturas entre 25 a 50°C con el fin de regenerar el dióxido de carbono.

El gas regenerado es enfriado hasta la temperatura de licuefacción para ser retornado al inicio del proceso donde nuevamente es llevado a condiciones supercríticas.

Método descrito por Dobberstein (1982). Primero se realiza una extracción con un solvente de polaridad intermedia, menor a la del agua, y a la de los alcanos bajos pero mayor al de los alquenos, se recomienda como primer solvente el uso de líquido haloalqueno bajo, o preferiblemente cloroformo. La extracción se realiza poniendo en contacto las hojas de Stevia finalmente trituradas con el solvente a temperatura ambiente o a altas temperaturas. La proporción del solvente es de 10 a 60 litros por un kilogramo de hojas. En este proceso se remueven las impurezas de baja polaridad.

Luego se realiza una segunda extracción con un solvente de alta polaridad como el agua o alcanos bajos (ej: metanol). La extracción es similar a la primera pero aquí se obtienen los glucósidos.

El extracto es introducido a una columna cromatográfica con fase estacionaria a base de silica para capturar los glucósidos. Luego se introduce en la columna un solvente de polaridad mayor al primer solvente utilizado, pero con una polaridad menor al segundo, con el fin de enjuagar y capturar los glucósidos adheridos a la fase estacionaria.

Método descrito por Payzant John Donald (1999). Las hojas de Stevia son mezcladas con agua cuya temperatura puede estar entre la temperatura ambiente y 65°C. Luego se pasa a un proceso de filtración para obtener un extracto acuoso, el cual es tratado con hidróxido de calcio, carbonato de calcio, óxido de calcio y otras sales básicas de calcio para conseguir un precipitado que remueve ácidos orgánicos, bases orgánicas, sales inorgánicas, fenol, sustancias derivadas del aparato fotosintético, proteínas, aminoácidos, entre otros.

El precipitado es tratado con resinas de intercambio iónico de ácido fuerte (Ej: Dowex 50 W, Rohm y Haas IRA 120), luego con resinas de intercambio iónico de base débil (Ej: Dowex WGR, Dowex MWA-1, Rohm y Haas IR4B).

El tratamiento puede repetirse varias veces hasta obtener la calidad deseada. Por último, se filtra y se calienta el precipitado para obtener un producto con 107 g de esteviósido y un nivel de pureza del 70% (70% combinación de glucósidos, 25% polisacáridos, y 5% aceites); al comienzo del proceso se tenía un kg de hojas de Stevia.

Para su purificación lo obtenido es disuelto en agua y aplicado a una columna de resina de una pulgada de diámetro que contiene resina Amberlite XAD-7. La resina es enjuagada con metanol para obtener los glucósidos y una mínima parte de otras sustancias, que fueron atraídos. Este líquido es calentado para eliminar el metanol y obtener un producto con 95% de glucósidos.

Lo obtenido es mezclado con un solvente orgánico como metanol anhidrido, la solución es enfriada con el fin de precipitar el esteviósido, el cual es recuperado por un proceso de filtración. El líquido sigue al siguiente paso que consiste en calentarlo y luego es enfriado para obtener por precipitación al rebaudiósido A con un grado de pureza del 79%. Se disuelve con metanol para luego calentar la mezcla y posteriormente enfriarla generando la precipitación del rebaudiósido A con un grado de pureza del 95%.

Análisis Sensorial

El Instituto de Alimentos de EEUU (IFT), define la evaluación sensorial como “la disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído”. (Hernández, E., 2005)

Así mismo, en 1959, Kramer lo definió como “conjunto de características que diferencian entre distintas unidades de un producto y que influyen en aceptación del mismo por el consumidor” (Costel, E., 2010).

No existe ningún otro instrumento que pueda reproducir o reemplazar la respuesta humana; por lo tanto, la evaluación sensorial resulta un factor esencial en cualquier estudio sobre alimentos.

Aplicable a sectores como desarrollo y mejoramiento de productos, control de calidad, estudios sobre almacenamiento y desarrollo de procesos (Watts, B., Ylimaki, G., Jeffery, L., & Elías, L., 1992).

La evaluación sensorial surge como disciplina para medir la calidad de los alimentos, conocer la opinión y mejorar la aceptación de los productos por parte del consumidor. Se dedica al mejoramiento, optimización y elaboración e innovación de productos alimenticios, en el aseguramiento de la calidad, promoción y venta (Hernández, E., 2005).

Existen diversas formas de clasificación con relación a las pruebas, aunque todos los autores coinciden en que estas se dividen principalmente en dos grandes grupos. Las primeras son las pruebas analíticas se utilizan para determinar las diferencias entre productos o para medir características sensoriales (Pruebas orientadas al producto), las segundas son las pruebas utilizadas para evaluar la preferencia, aceptabilidad o grado en que gustan los productos y de las actitudes de los consumidores hacia los alimentos (Pruebas orientadas al consumidor) (Watts, B. et al., 1992). Y de las cuales se profundizará en este estudio.

Pruebas orientadas al producto. También llamadas pruebas analíticas. Estas pruebas se emplean pequeños paneles entrenados que funcionan como instrumentos de medición. Los paneles entrenados se utilizan para identificar diferencias entre productos alimenticios similares o para medir la intensidad de características tales como el sabor (olor y gusto), textura o apariencia. Por lo general, estos paneles constan de 5 a 15 panelistas seleccionados por su agudeza sensorial, los que han sido especialmente entrenados para la tarea que se realizará (Watts, B. et al., 1992).

Pruebas orientadas al consumidor. También llamadas pruebas afectivas. Estas pruebas están orientadas hacia las preferencias del consumidor. Para tal objetivo, se selecciona una muestra aleatoria numerosa, compuesta por personas representativas de la población posible de usuarios, con el fin de obtener información sobre las actitudes o preferencias de los consumidores.

Por lo general, para este tipo de pruebas se entrevistan de 100 a 500 personas. Los resultados se utilizan para predecir actitudes de una población determinada (Watts, B. et al., 1992).

Debido a que este proceso es caro y requiere bastante tiempo, se utilizan paneles internos de consumidores en la etapa inicial de los estudios de aceptabilidad de un producto. Y por lo general, estos paneles internos (paneles piloto de consumidores) están integrados por un número de 30 a 50 panelistas no entrenados, seleccionados dentro del personal de la organización donde se lleva a cabo el desarrollo o investigación del producto. El grupo panelista deberá tener características similares a la población que consumirá el producto y será útil para indicar la aceptabilidad de un producto e identificar defectos posibles (Watts, B. et al., 1992). Estas incluyen las pruebas de aceptabilidad, hedónica y pruebas de preferencia.

Pruebas de preferencia. Se emplea para definir el grado de aceptación y preferencia de un producto determinado por parte del consumidor (Hernández, E., 2005) mediante la selección de varias muestras, indicando si prefieren una muestra sobre otra o si no tienen preferencia. Dentro de estas pruebas encontramos la prueba de preferencia pareada; las pruebas de ordenamiento y de categorías. (Watts, B. et al., 1992). Para estas pruebas se requiere de un grupo bastante numeroso de panelistas los cuales no necesariamente tienen que ser entrenados (Hernández, E., 2005).

La prueba de preferencia pareada tiene como fin el hacer uso de dos muestras codificadas (A) (B) y preguntar a los panelistas cuál de ellas prefiere. Se les pide que seleccionen una, incluso si ambas muestras les parecen idénticas. Ambas muestras (A) y (B) se presentan en recipientes idénticos, codificados con números aleatorios de tres dígitos. Existiendo dos posibilidades de ordenes de presentación de las muestras (A) y (B) o (B) y (A).

Las muestras en la prueba de preferencia pareada se presentan simultáneamente en el orden seleccionado para cada panelista, de manera que los panelistas puedan evaluar las muestras de izquierda a derecha.

En esta prueba se permite saborear (probar) las muestras varias veces, si es necesario. Los resultados se analizan utilizando una prueba binomial de dos extremos, se suma el número de panelistas que prefieren cada muestra y se determina la significancia de los totales.

Justificación

En nuestro país, culturalmente el edulcorante de uso masivo es la sacarosa o azúcar estándar blanca. Según la Asociación de Azucareros de Guatemala (ASAZGUA), en Guatemala operan 14 ingenios ubicados en cuatro departamentos de la costa pacifico del cual aproximadamente el 28% de la producción es utilizada para consumo interno del país. En el 2010 el consumo doméstico fue de 683,497 TM (36.8%) (Asasgua, 2010). La industria de los refrescos es el principal consumidor industrial de azúcar, seguida de confiterías, panaderías, fabricantes de jugo, productores de leche y compañías farmacéuticas (Superintendencia de Bancos, 2011).

Sin embargo, su consumo no controlado se encuentra relacionado con factores de riesgo como lo son las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) tales como la obesidad, diabetes, hipertensión arterial (HTA), diabetes mellitus tipo 2 (DM2), entre otras.

La mortalidad por ECNT ha ido en aumento, en el periodo comprendido entre 1986 y 1999, el porcentaje de mortalidad por enfermedades vasculares en Guatemala incremento de un 7% a un 13% (Donado, L., et al, s.f.)

En el año 2003 se realizó el estudio “prevalencia de DM e HT arterial en el municipio de villa nueva” el cual incluyo una muestra representativa de personas mayores de 19 años demostrando una prevalencia de DM de 8,4%, HTA 12.9%, sobrepeso 53.5%, actividad física insuficiente de 51,2%, hipercolesterolemia 34,6% concluyendo que la prevalencia de DM2 es más elevada que la prevalencia reportada en otros países de Latinoamérica y que en el futuro se producirá un incremento en la prevalencia de la misma a menos que se introduzcan medidas preventivas (Donado, L., Valladares, G., Contreras J., Varela, E., Figueroa, A., Molina E. & Castellanos L., s.f.).

Este estudio tuvo como objetivo el elaborar preparaciones alimenticias con la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni como propuesta de edulcorante natural, promoviendo a su vez el uso de esta planta natural y especialmente su uso tradicional como una alternativa a edulcorantes artificiales o azúcar de mesa.

De esta manera también se espera fomentar el cultivo y uso de la planta ya que se obtuvo importante información toxicológica, identificación taxonómica, información nutricional y análisis sensorial como aporte de esta investigación.

Objetivos

Objetivo general:

Elaborar preparaciones alimenticias tradicionales con la planta Stevia rebaudiana Bertoni como propuesta de edulcorante natural como una alternativa al uso de azúcar blanca estándar.

Objetivos específicos:

Determinar la descripción botánica diagnóstica de la planta Stevia rebaudiana Bertoni.

Realizar extracción de compuestos esenciales, a escala laboratorio de la planta Stevia rebaudiana Bertoni.

Determinar por medio de Análisis Químico Proximal el valor nutricional de la planta Stevia rebaudiana Bertoni.

Cuantificar la presencia de los minerales fósforo, calcio y hierro.

Determinar la toxicidad aguda de la planta Stevia rebaudiana Bertoni frente a larvas de *Artemia Salina*.

Determinar las preparaciones alimenticias tradicionales factibles a sustitución de azúcar blanca estándar por planta Stevia rebaudiana Bertoni.

Evaluar la aplicación y funcionalidad de la planta Stevia rebaudiana Bertoni como edulcorante en dos preparaciones alimenticias tradicionales.

Evaluar la preferencia sensorial de las dos preparaciones alimenticias propuestas haciendo uso de la planta Stevia rebaudiana Bertoni vs azúcar blanca estándar fortificada.

Materiales y Métodos

Universo

Constituido por la totalidad de plantas de *Stevia rebaudiana* Bertoni cultivadas en Santa Rosa, Guatemala.

Muestra

Planta *Stevia rebaudiana* Bertoni cultivada en Laguna El Pino Barberena, Santa Rosa localizada en un área de 100 metros cuadrados.

Tipo de estudio

Transversal, descriptivo-comparativo.

Materiales

Biológico. *Stevia rebaudiana* Bertoni, Incaparina, rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y *Artemia salina*.

Reactivo. Etanol al 30%, etanol al 50%, etanol al 70% y etanol al 90%, agua destilada.

Cristalería. Beacker, capsulas de porcelana, varilla de agitación, crisol.

Equipo. Horno de secado, estufa electrica de 4 hornillas marca General Electric, balanza electrónica Ohaus con capacidad de 2,000g y sensibilidad de 1g, percolador, balanza analítica, bomba de oxígeno para pecera, embudo, esterioscopio, lámpara de luz blanca, microplaca, pecera para cultivo, refrigerador, termómetro, campana de extracción.

Materiales y utensilios. Bandejas, Guantes, algodón, papel filtro, servilletas de papel, agua pura, vasos desechables con tapadera con capacidad de una onza, papelería, materiales de oficina, puntas amarillas de 200 µl, puntas azules de 100 µl, sal de mar, recipiente con boquilla regulable en la parte inferior, pinzas, tazas medidoras de sólidos, probeta de 100mL, cucharas medidoras, otros utensilios menores.

Recursos.

Recurso humano. Investigadora, asesores, actores clave, estudiantes de Nutrición de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Equipo. Computadoras, equipo del laboratorio de Bromatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Escuela de Zootecnia Unidad de Alimentación Animal, equipo del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales -LIPRONAT-, Escuela de Química Farmacéutica Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y equipo del laboratorio de Ciencias de Alimentos de la Escuela de Nutrición, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, laboratorios ubicados en la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Recursos institucionales. Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Escuela de Zootecnia Unidad de Alimentación Animal, instalaciones del laboratorio de Investigación de Productos Naturales -LIPRONAT-, Escuela de Química Farmacéutica Facultad de Ciencias Químicas, así como el Laboratorio de Ciencias de Alimentos de la Escuela de Nutrición, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia; Universidad de San Carlos de Guatemala.

Instrumentos

Formulario para la recolección de la planta Stevia rebaudiana Bertoni (anexo 1)

Esquema de Weende para el Análisis Químico Proximal (anexo 2)

Esquema de extracción mineral método de espectrofotometría de absorción atómica y cuantificación química por el método de colorimetría (anexo 3)

Consentimiento informado análisis sensorial (anexo 4)

Boletas para prueba de preferencia piloto (anexo 5)

Fuentes de investigación

Fuentes primarias. Recolección de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni.

Fuentes secundarias. Se utilizaron libros, revistas científicas, documentos oficiales de instituciones públicas, e informes de investigación de instituciones públicas o privadas.

Métodos

Planta *Stevia rebaudiana* Bertoni. A continuación, se describe la metodología utilizada para la planta de *Stevia rebaudiana* Bertoni.

Para la recolección de muestra. Las hojas de las plantas recolectadas debieron lucir frescas e integra, con buena textura, jóvenes de color natural vivo, plantadas en un suelo con las mismas condiciones y un óptimo nivel de hidratación, encontradas dentro de los 100 metros de área a utilizar. Así también, debieron de tomarse las medidas necesarias para impedir el daño o pérdidas de la muestra durante el transporte (Anexo 1).

Identificación taxonómica. Se realizó en dos pasos: colecta y secado, montaje y etiquetado. Durante la recolecta de la muestra, se tomaron dos plantas prototipo que tuvieran hojas, flores y frutos, estos ejemplares fueron colocados en papel periódico debidamente identificada con etiquetado legible y permanente. Posteriormente en el Herbario BIGU de la escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia se llevó a cabo la herborización de los ejemplares frescos colocándose las muestras a secar guardándose durante 48 horas.

Para el montaje y etiquetado se colocaron cada una de las muestras secas en formatos de 30.5 x 42.5 cm de cartulina Texcote 160 g, empleando goma blanca, posteriormente fueron catalogados para establecer su nombre taxonómico y elaboración de la ficha de Herbario; con la ayuda del Ing. Agro. Mario Véliz del Herbario BIGU de la escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. El espécimen forma parte de la colección del Herbario BIGU.

Análisis químico proximal. El valor nutricional de la planta Stevia rebaudiana Bertoni las muestras fueron analizadas en cuanto a humedad, cenizas, las grasas brutas (extracto etéreo), proteína y fibra cruda mediante un análisis proximal o sistema de Weende por triplicado haciendo uso de un total de 450 gramos de la hoja fresca, en el laboratorio de Bromatología de La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Escuela de Zootecnia Unidad de Alimentación Animal de la Universidad de San Carlos de Guatemala, siguiendo los Métodos Oficiales de Análisis de la Asociación Oficial de Químicos Analíticos, -AOAC- por sus siglas en inglés (Anexo 2).

Para calcular la energía (E) se aplicó el factor de kilocalorías que provee cada gramo de macronutrientes:

$$E = (X \text{ g grasas} * 9) + [(X \text{ g carbohidratos} + X \text{ g proteínas}) * 4]$$

Para calcular carbohidratos se aplicó la siguiente ecuación:

$$\text{Carbohidratos (g): } 100 - (\% \text{ cenizas} + \% \text{ grasa} + \% \text{ proteína cruda} + \% \text{ fibra cruda} + \% \text{ humedad})$$

Para la presentación de resultados se elaboró un instrumento para anotar los resultados de las determinaciones en triplicado de energía total, humedad, fibra cruda, proteína cruda, carbohidratos, grasas y ceniza.

Análisis Mineral. Para el análisis, las muestras secas se llevaron al laboratorio de Suelo – Planta – Agua “Salvador Castillo Orellana” de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, donde se determinó el porcentaje de Hierro, Fósforo y Calcio por triplicado. La técnica de combustión seca y cuantificación química por el método de colorimetría para cuantificar el fósforo (AOAC No. 3.062 al 3.064) y espectrofotometría de absorción atómica para cuantificar hierro y calcio (AOAC No. 2.096 al 2.100) (Anexo 4).

Extracción a nivel laboratorio. En el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales –LIPRONAT- escuela de Química Farmacéutica, Facultad de Ciencias

Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala se realizó la extracción de la materia vegetal a nivel laboratorio llevándose a cabo en tres pasos.

La preparación de la planta se dio inicio colocando hojas frescas de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni en bandejas y posteriormente colocándolas dentro del horno de secado a 40°C hasta que llegara a un porcentaje de humedad del 10% o menos. El porcentaje de humedad final de las hojas de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni fue de 8.17%. La materia seca fue posteriormente molida.

Se realizó la prueba del mejor solvente seleccionando cuatro recipientes de boquilla regulable y se colocó papel filtro, un poco de algodón en la parte inferior de cada recipiente (cada recipiente seleccionado correspondió a cada concentración de etanol 30%, 50%, 70% y 95%) y 1g de materia vegetal seca. Se cubrió el material vegetal con el solvente a utilizar, 20mL: 1g *Stevia rebaudiana* Bertoni. Y se procedió a tapar cada recipiente de manera de asegurar que no se evaporará el solvente contenido en su interior. Se dejó reposar la materia vegetal con el solvente por 24 horas. Se seleccionaron cuatro capsulas y se colocaron en un horno desecador una hora a 110°C y se esperó por unos 20 minutos para que llegaran a temperatura ambiente para posteriormente tararlas, recibir tintura de los cuatro solventes (2g) y colocar las capsulas con tintura en una estufa a temperatura constante dentro de la campana para evaporar el disolvente a llama directa hasta que se eliminó toda la tintura sin que se quemara. Por último, se procedió a pesar las capsulas y a calcular la cantidad de sólidos totales:

$$\% \text{ de sólidos} = (\text{Peso final} - \text{tara}) / (\text{Peso de la tintura}) * 100$$

El solvente que presentó mayor porcentaje de sólidos totales se consideró el mejor solvente y se utilizó para la extracción por percolación.

La extracción por percolación se colocó en la punta del percolador un poco de algodón, un pedazo de papel filtro de forma circular cubriendo el fondo del percolador y se agregaron 200g de materia vegetal seca. Se cubrió la muestra con 2000mL de etanol al 50%. Dejando reposar por 24 horas. Al transcurrir el tiempo, se abrió la llave de salida y se dejó gotear el líquido a una velocidad adecuada en

un erlenmeyer. Al finalizar, se volvió a añadir suficiente disolvente extra, según lo requerido, hasta obtener el volumen del disolvente agregado al inicio. Este paso fue realizado cuatro veces y se pasó el disolvente recogido al balón del rotavapor para concentrar a 40°C y velocidad de rotación de 125 rpm.

Para la concentración en rotavapor se encendió el baño María y se llevó la temperatura a $40 \pm 1^\circ\text{C}$, se engrasaron todas las bocas esmeriladas y se armó el rotavapor según el instructivo específico, se succionó la solución obtenida del percolador (tintura) para posteriormente conectar la bomba de vacío e iniciar el rotador para la destilación del extracto con recuperación del disolvente hasta llevarlo a consistencia semisólida. Se vertió el extracto concentrado en una caja de Petri de vidrio debidamente tarada y rotulada. Se colocó en una desecadora durante 25 días y se trasvasó a viales debidamente tarados y rotulados cuando el extracto tuvo consistencia sólida para mantener a una temperatura de 8°C.

Análisis toxicológico. Se realizó un análisis para evaluar la citotoxicidad de la planta *Stevia rebaudiana Bertoni* en el Laboratorio de Investigación en Productos Naturales –LIPRONAT-, escuela de Química Farmacéutica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala haciendo uso del bioensayo de letalidad frente a *Artemia* salina y determinar los valores de concentración letal 50 (CL₅₀). A continuación, se describirá cada paso realizado.

La preparación del agua de mar se realizó disolviendo 35g. de sal de mar (procedente de salineras) en un litro de agua destilada, se hizo la marca en el vaso de precipitar para indicar el volumen del agua, se dejó ebulir por 30 minutos y se completó el volumen que se evaporó según la marca. Por último, se procedió a filtrar y refrigerar hasta el momento de usar a una temperatura de 6 - 8°C.

Para el cultivo de *Artemia* salina fue necesario el colocar en un vaso de precipitar 200 mL del agua de mar y airear por 30 minutos, el agua posteriormente se colocó en una pecera con un compartimiento oscuro y uno iluminado por una lámpara de 25 W colocada a una distancia aproximadamente de 30cm y se agregó 40mg de huevecillos en el área cerrada (lado oscuro). Se incubó por 48 horas a temperatura

ambiente (25°C) y con luz artificial. Al eclosionar, los nauplios estos pasaron al área abierta de la pecera, los nauplios de no más de 18 horas de nacimiento fueron utilizados para la prueba de toxicidad.

Por último, se incubó la microplaca por triplicado con diferentes concentraciones del extracto (7 µL, 12 µL, 25 µL y 50 µL) más el pozo control para probar la actividad citotóxica, con una temperatura ambiental proporcionada por una luz artificial por 24 horas para después contar en el estetoscopio el número de nauplios muertos y se determinó la CL₅₀ (Concentración letal al 50%). Mediante lo siguiente:

Sumar el número de nauplios muertos en los tres pozos (X)

Sumar el número total de nauplios en los tres pozos (Y)

Dividir X dentro de Y, multiplicar por 100

Elaboración de las preparaciones. Para la elaboración de las preparaciones alimenticias se utilizó la planta de Stevia rebaudiana Bertoni, incaparina (mezcla vegetal de harina de maíz y harina de soja fortificada con vitaminas y minerales), rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y azúcar.

Diseño experimental. Tomando en cuenta la realización de preparaciones alimenticias tradicionales de alto consumo en Guatemala se realizó la caracterización de la planta de Stevia rebaudiana Bertoni (Anexo 6) y se procedió a formular dos preparaciones de bebidas haciendo uso de la planta en estudio y se definió la aceptación y preferencia de dichas bebidas determinado por parte de los estudiantes y docentes de la carrera de Nutrición que hayan cursado o estén cursando la asignatura “Análisis de Alimentos” en la Universidad de San Carlos de Guatemala de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia mediante su evaluación sensorial utilizando la prueba de preferencia pareada, con el fin de presentar alternativas que contribuyan a disminuir el consumo de azúcar estándar blanca en las personas que buscan una fuente de edulcorante natural, así como promover la utilización de la planta natural Stevia rebaudiana Bertoni que se cultiva en Guatemala.

A continuación, se detallan los procedimientos utilizados:

Ensayo de preparaciones alimenticias. Se determinó en base a la consistencia de las bebidas a preparar que el método idóneo para la extracción del edulcorante natural de Stevia rebaudiana Bertoni a nivel casero a utilizar para la sustitución de azúcar blanca estándar, fue haciendo uso de la infusión de la planta en estudio. Para cada bebida se calculó la porción de los ingredientes de tal forma que la porción fuera de 250mL. Se logró esto tomando en cuenta el tiempo de cocción del alimento en caso necesario, el tiempo de infusión de la planta Stevia rebaudiana Bertoni, las instrucciones de preparación de la bebida en caso necesario y la intensidad de dulzor deseada para cada formulación.

Elaboración de bebida de incaparina (mezcla vegetal de harina de maíz y harina de soja fortificada con vitaminas y minerales) con infusión de planta Stevia rebaudiana Bertoni. Para ello se utilizaron los siguientes ingredientes: incaparina (mezcla vegetal de harina de maíz y harina de soja fortificada con vitaminas y minerales), agua pura, planta Stevia rebaudiana Bertoni y azúcar blanca estándar.

Para la bebida de incaparina con infusión de planta Stevia rebaudiana Bertoni se siguió el siguiente procedimiento:

Se pesó 4.5 gramos de hojas frescas de Stevia rebaudiana Bertoni sin tallo.

Se midió 300 mililitros de agua pura.

En un recipiente metálico con capacidad de un litro se agregaron las hojas frescas de la planta en estudio con el agua pura, se tapó y se calentó a fuego medio hasta que ebullera por 10 minutos.

Posteriormente se dejó enfriar por cinco minutos y se eliminaron las hojas de Stevia rebaudiana Bertoni para que quedara únicamente la infusión de color verde traslucido.

Se pesó 18.5 gramos de incaparina (o una cucharada sopera bien llena como lo explica la preparación de la mezcla vegetal).

Se midió 100 mililitros de agua pura.

Se agregó a la infusión de las hojas de Stevia rebaudiana Bertoni los gramos de incaparina y los mililitros de agua pura.

Se ebulló durante ocho minutos agitando constantemente (como lo explica la preparación de la mezcla vegetal).

Para la bebida de incaparina con azúcar blanca estándar se siguió el siguiente procedimiento:

Se midió 300 mililitros de agua pura.

Se pesó 18.5 gramos de incaparina (o una cucharada sopera bien llena como lo explica la preparación de la mezcla vegetal).

Se pesó 10 gramos de azúcar blanca estándar.

En un recipiente metálico con capacidad de un litro se agregaron los gramos de incaparina, agua pura y azúcar.

Se ebulló durante ocho minutos revolviendo constantemente (como lo explica la preparación de la mezcla vegetal).

Elaboración de bebida de rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) con infusión de planta Stevia rebaudiana Bertoni. Para ello se utilizaron los siguientes ingredientes: rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), agua pura, planta Stevia rebaudiana Bertoni y azúcar blanca estándar.

Para la bebida de rosa de jamaica con infusión de planta de Stevia rebaudiana Bertoni se siguió el siguiente procedimiento:

Se midió 200 mililitros de agua pura.

Se pesó 2.5 gramos de Stevia rebaudiana Bertoni.

En un recipiente metálico con capacidad de un litro se agregaron las hojas frescas de la planta en estudio con el agua pura, se tapó y se calentó a fuego medio hasta que ebullera por 10 minutos.

Posteriormente se dejó enfriar por cinco minutos y se eliminaron las hojas de Stevia rebaudiana Bertoni para que quedara únicamente la infusión de color verde traslucido.

Se pesó 2.5 gramos de rosa de jamaica.

Se agregó a la infusión de las hojas de Stevia rebaudiana Bertoni los gramos de rosa de jamaica.

Se dejó reposar en refrigeración por dos horas.

Se retiraron los cálices de la rosa de Jamaica.

Se midió 50 mililitros y se agregó a la bebida.

Para la bebida de rosa de jamaica con infusión de planta de Stevia rebaudiana Bertoni se siguió el siguiente procedimiento:

Se midió 250 mililitros de agua pura.

Se pesó 2.5 gramos de rosa de jamaica.

Se pesó siete gramos de azúcar blanca estándar.

En un recipiente metálico con capacidad de un litro se agregaron los gramos de rosa de jamaica, agua pura y azúcar blanca estándar y se calentó a fuego medio hasta que ebullera por 10 minutos.

Posteriormente se dejó enfriar por cinco minutos.

Se retiraron los cálices de la rosa de Jamaica.

Se dejó reposar en refrigeración por dos horas.

Análisis sensorial. A continuación, se describe el análisis sensorial realizado a los panelistas entrenados.

Prueba de preferencia. Se realizó una prueba piloto de preferencia pareada con 50 panelistas entrenados quienes se escogieron de manera aleatoria de la carrera de Nutrición de la Universidad de San Carlos de Guatemala de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Cada bebida fue elaborada dos horas antes de la prueba y se sirvió en vasos desechables de una onza con tapa para facilitar su distribución, luego de firmar el consentimiento informado (Anexo 4) respondieron a la pregunta ¿cuál de las dos muestras codificadas prefieren? Para cada bebida, debiendo seleccionar una de cada bebida, incluso si no estaban seguros (anexo 5) así mismo, respondieron a las siguientes preguntas: ¿Que le gusto de la muestra que seleccionó?, ¿Qué atributo o característica sensorial le agradó de la muestra que más prefirió?, ¿Cuál es la principal diferencia entre ambas muestras?, ¿De la muestra que no prefirió que considera se le puede mejorar?. Las muestras se presentaron simultáneamente en el orden seleccionado para cada panelista, de manera que los panelistas pudieron evaluar las muestras de izquierda a derecha y codificados con números aleatorios de tres dígitos. Los criterios de inclusión fueron los siguientes: estudiantes de la carrera de Nutrición que hayan cursado la asignatura “Análisis de Alimentos y Análisis Sensorial” y así como docentes Nutricionistas entrenados en evaluación sensorial de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Tabulación y análisis de datos. Para el análisis químico proximal y mineral, se reportó el promedio de cada nutriente en 100 gramos de planta Stevia rebaudiana Bertoni.

Para el análisis de los datos obtenidos en la prueba de preferencia pareada, los datos fueron colocados en una tabla en el programa Microsoft Excel 2016. Se asignó un numero aleatorio para las características más relevantes y destacados por los panelistas los cuales se utilizaron para unificar los atributos de las preguntas ¿Que le gusto de la muestra que seleccionó?, ¿Qué atributo o característica sensorial le grado de la muestra que más prefirió?, ¿Cuál es la principal diferencia entre ambas

muestras?, ¿De la muestra que no prefirió que considera se le puede mejorar?, siendo el siguiente:

- 1 Sabor
- 2 Dulzor intenso
- 3 Dulzor leve
- 4 Color
- 5 Olor
- 6 Acidez característica
- 7 Leve sabor residual
- 8 Consistencia
- 9 Intensidad de dulzor
- 10 Sabor residual amargo

Posteriormente se analizó en el paquete estadístico Stata 12.1 “Data Analysis and Statistical Software” obteniendo la media, mediana, medidas de dispersión (rango y desviación estándar) a un 95% de intervalo de confianza mediante la representación en tablas de la información solicitada.

Los resultados de las muestras realizadas con las preparaciones de planta Stevia rebaudiana Bertoni deberán presentar un valor igual o menor de probabilidad de 0,05 en la prueba sensorial preferencia pareada en comparación con las muestras con azúcar blanca estándar a fin de concluir que la muestra de la planta Stevia rebaudiana Bertoni es significativamente más preferida que la muestra empleando azúcar blanca estándar.

Resultados

El material fresco se obtuvo en Laguna del Pino, Barberena, Santa Rosa, altitud de 1034 msnm, localización Norte 14°20' 33.01; Oeste 90°23' 21.79. Se preparó un ejemplar de herbario el cual fue identificado e ingresado al Herbario BIGU de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala con el número de inventario 075943.

Planta cultivada, exótica, edulcorante, con cabezuelas discoides con flores de color blanco.



Figura 5. Ejemplar de herbario *Stevia rebaudiana* Bertoni

Para el análisis químico proximal, se destaca que los macronutrientes de las hojas frescas por triplicado de *Stevia rebaudiana* Bertoni se encuentran en cantidades muy similares, los resultados se expresan en 100 gramos del alimento como se presenta en la Tabla 12.

Tabla 12.

Análisis Químico Proximal de hojas frescas de *Stevia rebaudiana* Bertoni procedentes de Barberena, Santa Rosa (en 100g).

NUTRIENTES	CANTIDAD			PROMEDIO
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	($x \pm 1$ DE)
Kilocalorías	56 kcal	50 kcal	48 kcal	51 kcal \pm 4
Humedad	80.74 %	85.16 %	85.21 %	83.70 % \pm 2.57
Proteínas	4.27 g	3.35 g	3.39 g	3.67 g \pm 0.52
Grasas	0.48 g	0.39 g	0.38 g	0.41 g \pm 0.06
Carbohidratos	10.46 g	8.22 g	7.76 g	8.81 g \pm 1.44
Fibra	1.95 g	1.52 g	1.85 g	1.78 g \pm 0.23
Cenizas	2.10 g	1.36 g	1.41 g	1.62 g \pm 0.41

En la Tabla 12 se presenta el contenido de kilocalorías, humedad, proteínas, grasas, carbohidratos, fibra y cenizas en por triplicado en una muestra de 100 gramos de planta fresca de *Stevia rebaudiana* Bertoni destacando un alto porcentaje de humedad (83.70%), y predominando en su composición química los siguientes macronutrientes: carbohidratos (8.81 g) y proteínas (3.67 g).

Tabla 13.

Análisis mineral de hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni procedentes de Barberena, Santa Rosa (en 100g).

Muestra	Fósforo (%)	Calcio (%)	Hierro (ppm)
1	0.34	0.50	180
2	0.33	0.50	130
3	0.34	0.50	130

En la Tabla 13 se presenta el contenido de minerales de las muestras de la planta de *Stevia rebaudiana* Bertoni (hierro, fósforo y calcio), se observa que se encuentran en cantidades muy similares entre sí. En las tres muestras el porcentaje de calcio fue el mismo (0.50%). Los resultados se expresan en 100 gramos del alimento.

Tabla 14.

Determinación de rendimiento de etanol a distintas concentraciones mediante la prueba del mejor solvente.

Concentración de etanol	Peso final	Tara	Porcentaje de Rendimiento
30%	40.3412	40.1510	19.02%
50%	51.7265	51.5286	19.79%
70%	45.5946	45.4223	17.23%
90%	45.3922	45.3106	8.16%

Para la extracción a nivel laboratorio, fue primordial conocer la concentración de etanol a trabajar. Mediante la prueba del mejor solvente se puede observar en la Tabla 14 que el mayor porcentaje de sólidos totales presentó fue el etanol al 50% (19.79%) y el que presentó menor porcentaje de sólidos totales fue el etanol al 90% (8.16%). De esta manera, se consideró trabajar con el solvente que presentara mayor porcentaje de sólidos totales, siendo este el etanol al 50% para la extracción de los componentes de la materia vegetal.

Tabla 15.

Datos del extracto etanólico al 50% de *Stevia rebaudiana* Bertoni

Procedencia de la materia vegetal	Barberena, Santa Rosa
Porcentaje de humedad de la materia seca	8.17%
Materia vegetal utilizada	200 g
Extracto obtenido	37.9
Porcentaje de extracto obtenido	18.95%

En la Tabla 15 se presentan los resultados de la extracción por percolación haciendo uso del solvente etanólico al 50%, obteniendo un rendimiento del 18.95% con la materia vegetal utilizada.

Tabla 16.

Determinación de actividad citotóxica contra nauplios de *Artemia salina* de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni en estudio 1 mg/mL.

}	Nauplios de A. salina expuestos por pozo	Nauplios de A. salina Muertos	Actividad	Citotoxicidad
	10	0	-	> de 1 mg/mL
7	10	0	-	> de 1 mg/mL
	10	0	-	> de 1 mg/mL
	10	0	-	> de 1 mg/mL
12	10	0	-	> de 1 mg/mL
	10	0	-	> de 1 mg/mL
	10	0	-	> de 1 mg/mL
25	10	0	-	> de 1 mg/mL
	10	0	-	> de 1 mg/mL
	10	0	-	> de 1 mg/mL
50	10	0	-	> de 1 mg/mL
	10	0	-	> de 1 mg/mL
	10	0	-	> de 1 mg/mL

(-) <50% de nauplios de A, salina muertos.

En la Tabla 16 se muestran los resultados de la actividad citotóxica del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* Bertoni en concentraciones de 7 $\mu\text{L/mL}$, 12 $\mu\text{L/mL}$, 25 $\mu\text{L/mL}$ y 50 $\mu\text{L/mL}$. La planta en estudio a partir de la concentración inicial de 1 mg/mL, no causó muerte a los nauplios de *A. salina*, por lo tanto, al no mostrar actividad biosida no se obtuvieron valores de CL_{50} , por lo que no presenta ninguna actividad biológica importante.

Tabla 17.

Respuesta de panelistas ¿Qué le gustó de la muestra que seleccionó de Incaparina?

Group Interval]	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf.
1 3.777309	36	2.947368	.4096061	2.524982	2.117428
2 5.00573	14	2.916667	.949149	3.287949	.8276038
combined 3.70476	50	2.94	.3805581	2.690952	2.17524
diff 1.840849		.0307018	.9002865		-1.779446
diff = mean(1) - mean(2)				t = 0.0341	
Ho: diff = 0				degrees of freedom = 48	
Ha: diff < 0		Ha: diff != 0		Ha: diff > 0	
Pr(T<t) = 0.5135		Pr(T > t) = 0.9729		Pr(T>t) = 0.4865	

Para la bebida de Incaparina, en relación al atributo ¿qué les gustó a los panelistas de la muestra que seleccionaron? para la muestra realizada con azúcar blanca estándar resaltan los atributos de sabor, dulzor leve, consistencia e intensidad de dulzor, así como para la muestra realizada de infusión de *Stevia rebaudiana* Bertoni resaltan los atributos sabor y consistencia. Se obtiene una media de 2.94 y una desviación estándar de 2.690952. Se determina que no hay diferencia significativa en relación al atributo sensorial que les gustó de la muestra seleccionada con una probabilidad de error de 0.4865 mayor a 0,05.

Tabla 18.

Respuesta de panelistas ¿Qué atributo o característica sensorial le agradó de la muestra que más prefirió de Incaparina?

Group	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]
1	36	3.368421	.3798275	2.341414	2.598817 4.138025
2	14	2.666667	.5550503	1.922751	1.445009 3.888324
combined	50	3.2	.318158	2.249717	2.560638 3.839362
diff		.7017544	.745829		-.7978353 2.201344
diff = mean(1) - mean(2)				t =	0.9409
Ho: diff = 0				degrees of freedom =	48
Ha: diff < 0		Ha: diff != 0		Ha: diff > 0	
Pr(T<t) = 0.8243		Pr(T > t) = 0.3515		Pr(T>t) = 0.1757	

Para la bebida de Incaparina, en relación a ¿Qué atributo o característica sensorial le agradó de la muestra que más prefirió? para la muestra realizada con azúcar blanca estándar resaltan los atributos sabor, dulzor leve, consistencia e intensidad de dulzor, así como para la muestra realizada de infusión de Stevia rebaudiana Bertoni resaltan los atributos sabor, consistencia, leve sabor residual, dulzor intenso e intensidad de dulzor. Se obtiene una media de 3.2 y una desviación estándar de 2.249717. Se determina que no hay diferencia significativa en relación al atributo sensorial que les agradó de la muestra seleccionada con una probabilidad de error de 0.1757 mayor a 0,05.

Tabla 19.

Respuesta de panelistas ¿Cuál es la principal diferencia entre ambas muestras de Incaparina?

Group Interval]	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf.
1 6.214753	36	5.184211	.5086104	3.135285	4.153668
2 4.007015	14	2.416667	.7225621	2.503028	.8263183
combined 5.430082	50	4.52	.4528729	3.202295	3.609918
diff 4.766356		2.767544	.9941201		.7687314
diff = mean(1) - mean(2)				t = 2.7839	
Ho: diff = 0				degrees of freedom = 48	
Ha: diff < 0		Ha: diff != 0		Ha: diff > 0	
Pr(T<t) = 0.9962		Pr(T > t) = 0.0077		Pr(T>t) = 0.0038	

Para la bebida de Incaparina, en relación a ¿Cuál es la principal diferencia entre ambas muestras? para la muestra realizada con azúcar blanca estándar resaltan los atributos sabor, intensidad de dulzor, color, así como para la muestra realizada de infusión de Stevia rebaudiana Bertoni resaltan los atributos sabor, leve sabor residual, color, consistencia. Se obtiene una media de 4.52 y una desviación estándar de 3.202295. Se determina que los panelistas encuentran mayor diferencia de la muestra con azúcar blanca estándar en comparación a la infusión de la planta en estudio con una probabilidad de error de 0.0038 menor a 0,05.

Tabla 20.

Respuesta de panelistas ¿De la muestra que no prefirió de Incaparina que considera se le puede mejorar?

Group Interval]	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf.
1 6.955911	36	5.921053	.5107404	3.148415	4.886194
2 5.552517	14	3.916667	.7432355	2.574643	2.280816
combined 6.326075	50	5.44	.4409267	3.117822	4.553925
diff 4.019425		2.004386	1.00219		-.0106529
diff = mean(1) - mean(2)				t = 2.0000	
Ho: diff = 0				degrees of freedom =mn48	
Ha: diff < 0		Ha: diff != 0		Ha: diff > 0	
Pr(T<t) = 0.9744		Pr(T > t) = 0.0512		Pr(T>t) = 0.0256	

Para la bebida de Incaparina, en relación a ¿De la muestra que no prefirió que considera se le puede mejorar? para la muestra realizada con azúcar blanca estándar resaltan los atributos a mejorar de sabor, consistencia, intensidad de dulzor y dulzor leve, así como para la muestra realizada de infusión de Stevia rebaudiana Bertoni resaltan los atributos a mejorar de sabor, dulzor intenso y leve sabor residual. Se obtiene una media de 5.44 y una desviación estándar de 3.117822. Se determina que si hay diferencia significativa en relación al atributo sensorial que se puede mejorar de la muestra no seleccionada con una probabilidad de error de 0.0256 menor a 0,05.

Tabla 21.

Respuesta de panelistas ¿Qué le gusto de la muestra que seleccionó de rosa de jamaica?

Group Interval]	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf.
1 3.798376	28	2.928571	.4239165	2.243155	2.058767
2 2.286054	22	1.636364	.312409	1.465328	.9866736
combined 2.936342	50	2.36	.2867979	2.027968	1.783658
diff 2.404411		1.292208	.5531603		.1800045
diff = mean(1) - mean(2)				t = 2.3360	
Ho: diff = 0				degrees of freedom = 48	
Ha: diff < 0		Ha: diff != 0		Ha: diff > 0	
Pr(T<t) = 0.9881		Pr(T > t) = 0.0237		Pr(T>t) = 0.0119	

Para la bebida de rosa de jamaica, en relación al atributo ¿qué les gustó a los panelistas de la muestra que seleccionaron? para la muestra realizada con azúcar blanca estándar resaltan los atributos de sabor, dulzor leve, olor y acidez característica, así como para la muestra realizada de infusión de Stevia rebaudiana Bertoni resaltan los atributos sabor, color y acidez característica. Se obtuvo una media de 2.36 y una desviación estándar de 2.027968. Se determina que si hay diferencia significativa en relación al atributo que les gustó de la muestra seleccionada con una probabilidad de error de 0.0119 menor a 0,05.

Tabla 22.

Respuesta de panelistas ¿Qué atributo o característica sensorial le agradó de la muestra que más prefirió de rosa de jamaica?

Group Interval]	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf.
1 3.992365	28	3.214286	.3792123	2.006603	2.436206
2 5.408736	22	4	.6774027	3.1773	2.591264
combined 4.295648	50	3.56	.3660713	2.588515	2.824352
diff .6949833		-.7857143	.7364329		-2.266412
diff = mean(1) - mean(2)				t = -1.0669	
Ho: diff = 0				degrees of freedom = 48	
Ha: diff < 0		Ha: diff != 0		Ha: diff > 0	
Pr(T<t) = 0.1457		Pr(T > t) = 0.2913		Pr(T>t) = 0.8543	

Para la bebida de rosa de jamaica, en relación a ¿Qué atributo o característica sensorial le agradó de la muestra que más prefirió? para la muestra realizada con azúcar blanca estándar resaltan los atributos sabor, olor, acidez característica, intensidad de dulzor, así como para la muestra realizada de infusión de Stevia rebaudiana Bertoni resaltan los atributos sabor, intensidad de dulzor y color. Se obtiene una media de 3.56 y una desviación estándar de 2.588515. Se determina que no hay diferencia significativa en relación al atributo sensorial que les agradó de la muestra seleccionada con una probabilidad de error de 0.8543 mayor a 0,05.

Tabla 23.

Respuesta de panelistas ¿Cuál es la principal diferencia entre ambas muestras de rosa de jamaica?

Group Interval]	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf.
1 4.271516	28	3.214286	.5152622	2.726511	2.157055
2 6.49836	22	4.909091	.7642133	3.584478	3.319822
combined 4.873192	50	3.96	.4544205	3.213238	3.046808
diff .0986974		-1.694805	.8920082		-3.488308
diff = mean(1) - mean(2)				t = -1.9000	
Ho: diff = 0				degrees of freedom = 48	
Ha: diff < 0		Ha: diff != 0		Ha: diff > 0	
Pr(T<t) = 0.0317		Pr(T > t) = 0.0635		Pr(T>t) = 0.9683	

Para la bebida de rosa de jamaica, en relación a ¿Cuál es la principal diferencia entre ambas muestras? para la muestra realizada con azúcar blanca estándar resaltan los atributos sabor, intensidad de dulzor, acidez característica y color, así como para la muestra realizada de infusión de Stevia rebaudiana Bertoni resaltan los atributos sabor, color, dulzor intenso, leve sabor residual y sabor residual amargo. Se obtiene una media de 3.96 y una desviación estándar de 3.213238. Se determina que no hay diferencia significativa sobre la principal diferencia de la muestra de azúcar blanca estándar en comparación a la infusión de la planta en estudio con una probabilidad de error de 0.9683 mayor a 0,05.

Tabla 24.

Respuesta de panelistas ¿De la muestra que no prefirió de rosa de jamaica que considera se le puede mejorar?

Group Interval]	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf.
1 6.965242	28	5.535714	.6967083	3.686634	4.106187
2 8.284011	22	7.590909	.3332841	1.563241	6.897807
combined 7.320477	50	6.44	.4381408	3.098123	5.559523
diff		-2.055195	.8410249		-3.746189
					.3642009
diff = mean(1) - mean(2)				t = -2.4437	
Ho: diff = 0				degrees of freedom = 48	
Ha: diff < 0		Ha: diff != 0		Ha: diff > 0	
Pr(T<t) = 0.0091		Pr(T > t) = 0.0183		Pr(T>t) = 0.9909	

Para la bebida de rosa de jamaica, en relación a ¿De la muestra que no prefirió que considera se le puede mejorar? para la muestra realizada con azúcar blanca estándar resaltan los atributos a mejorar de sabor, intensidad de dulzor y dulzor leve, así como para la muestra realizada de infusión de Stevia rebaudiana Bertoni resaltan los atributos a mejorar de olor, leve sabor residual, intensidad de dulzor y sabor residual amargo. Se obtiene una media de 6.44 y una desviación estándar de 3.098123. Se determina que si hay diferencia significativa en relación al atributo sensorial que se puede mejorar de la muestra no seleccionada con una probabilidad de error de 0.0091 menor a 0,05.

Discusión

En el presente estudio se realizó el análisis químico proximal al no encontrarse reportados los nutrientes en la tabla de composición de alimentos, se observa que en los valores experimentales de macronutrientes destacan carbohidratos (8.81 g) y proteínas (3.67 g), especialmente un porcentaje de humedad en estado natural de 83.70% concordando con estudios realizados siendo entre 80 y 85% (Durán, S., Rodríguez, M., Córdón, K., & Record, J., 2012) (Tabla 12).

Así mismo el contenido de minerales es de suma importancia para un crecimiento óptimo de la planta siendo afectada por las variaciones de las condiciones ambientales en los distintos lugares donde es cultivada destacando el fósforo (actúa sobre la molécula donadora de glucosa en la síntesis de los glucósidos de diterpeno entre otros procesos metabólicos), hierro (forma parte de algunas enzimas y numerosas proteínas, que trasladan electrones durante la fotosíntesis y la respiración) y calcio (Inhibe los síntomas de necrosis apical en primordios foliares) los cuales su deficiencia repercute en el decrecimiento en el contenido de esteviósidos y muerte descendente. El promedio de los resultados obtenidos 0.34%, 150 ppm y 0.50% respectivamente (Tabla 13) correspondieron a los estudios realizados siendo entre el 0,3 y 1% calcio y fósforo (Herrera, F., Gómez, F. & González, C., 2012), así como menos del 0,01% de hierro (Durán, S., Rodríguez, M., Córdón, K., & Record, J., 2012)

La obtención del extracto etanólico a nivel laboratorio de las hojas de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni en estudio se realizó por medio del método de percolación, presentándose un rendimiento mayor del extracto de 18.95% (Tabla 15) a una concentración del 50% de etanol, determinado mediante la prueba del mejor solvente (Tabla 14). Para este resultado pudieron influir factores como la época de corte, grado de humedad de la materia vegetal, proceso de secado, el método de extracción y variaciones en brillo solar, temperatura, factores edáficos

que afectan el inicio de la floración en *Stevia rebaudiana* Bertoni que, a su vez, incide en sobre los contenidos de glucósidos de esteviol (Tabla 15).

A partir del bioensayo de letalidad frente a *Artemia* salina de 48 horas de vida, se determinó los valores de concentración letal 50 (CL₅₀) de la planta en estudio. Al evaluar la actividad citotóxica contra *A. salina* se determinó que el extracto de la planta estudiada no produjo efecto agudo de letalidad a los organismos por lo que no presentaba citotoxicidad, ya que el porcentaje de camarones muertos no fue mayor al 50%, considerando que su DL₅₀ es mayor de 1 mg/mL (Tabla 16).

Para la elaboración de las preparaciones alimenticias, se optó por realizar dos propuestas en bebidas ya que las consecuencias del uso de azúcar blanca estándar adicionado a bebidas sigue siendo el motivo de estudio y publicación en las revistas científicas ya que han confirmado la relación entre el consumo de bebidas azucaradas y enfermedades crónicas no transmisibles como lo demuestra el estudio “La ruta de las bombas de azúcar” realizado en la Universidad de Yale en Estados Unidos, entre los datos más relevantes de la investigación, se encontró que el consumo de bebidas es la principal fuente de calorías de la dieta, ya que en promedio se ingiere 50 gramos de azúcar equivalentes a 200 kilocalorías extras reportando que un mexicano promedio bebe 163 litros al año, lo que representa medio litro al día, y se demostró que un litro de refresco tiene el equivalente a 27 cubitos de azúcar; por lo cual si en promedio se ingiere medio litro de esta bebida diariamente, se consume alrededor de 14 cubos de azúcar por día (Procuraduría Federal del Consumidor, 2009).

Este dato anteriormente mencionado no es una cifra muy lejana en la población guatemalteca ya que, Solorzano, E. (2015) determinó que en el patrón de consumo de alimentos en 8 regiones de Guatemala (ciudad de Guatemala, Alta Verapaz, El Progreso, Jutiapa, Chimaltenango, Quetzaltenango Quiché y Petén) a 110 madres de familia, se pudo observar que la dieta es alta en carbohidratos y baja en proteínas de alto valor biológico, con una alta ingesta de azúcar por día en algunas de las familias. Las familias acostumbran a comer alimentos vacíos que no aportan nutrientes esenciales para el crecimiento, como lo son aguas gaseosas y refrescos.

Posteriormente se realizó la caracterización de la planta en estudio en hoja fresca, hoja fresca licuada e infusión de hoja fresca en caliente e infusión en frío para determinar a cuáles bebidas eran factibles a sustitución de azúcar estándar blanca por *Stevia rebaudiana* Bertoni (Anexo 6) determinando que en infusión de hojas por el método en frío el color fue de un verde traslucido con un sabor residual levemente metálico en comparación con los demás métodos que tuvieron un color verde musgo y sabor residual marcado a amargo/metálico.

Con los resultados obtenidos y conociendo que se comercializan bebidas con altas cantidades de azúcar, colorantes, preservantes y aditivos alimentarios entre ellos edulcorantes artificiales; existiendo controversia por los posibles efectos dañinos que pueden causar estos en los alimentos se optó por sustituir azúcar blanca estándar en dos bebidas tradicionales caseras y de alto consumo en Guatemala siendo Incaparina y rosa de jamaica.

La Incaparina, es una mezcla vegetal de harina de maíz y harina de soja avalada por el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), que contiene una proteína de buena calidad y está fortificada con vitaminas y minerales, por lo que es un alimento de alto valor nutritivo, bajo costo y fácil preparación. Para este estudio se siguieron las instrucciones del empaque haciéndolo proporcional a un vaso o 250 mL. Así mismo es un alimento de compra frecuente en la población guatemalteca como lo demuestra Solorzano, E. (2015), la cual tiene un consumo nacional del 17.5%, 16.8% de consumo urbano y 18.3% de compra rural (Monroy M., Rodríguez, F., & Toledo, P., 2013).

La rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) es un arbusto de cultivo anual que pertenece a la familia de las Malváceas y que para este estudio se hizo uso de la infusión de los cálices de la planta, su producción en Guatemala se da principalmente en los departamentos de Huehuetenango, Baja Verapaz y Guatemala respectivamente; en este último es donde se concentra toda la producción del País, para su posterior dispersión al resto de la República incluso se

destina para su exportación (Mendez, K., 2007), su uso está destinado en la preparación de una bebida refrescante ampliamente consumida por la población principalmente por poseer compuestos antioxidantes con efectos anti-hipertensivos, anti-hipercolesterolémicos y anticancerígenos, lo que le confiere importancia tanto económica como cultural (Duarte Z., Zamora V., Montalvo E., & Sáyo, S., 2016).

Los resultados obtenidos en el análisis sensorial mostraron que los panelistas entrenados prefieren la bebida de Incaparina endulzada con azúcar que la bebida realizada con infusión de la planta en estudio según el análisis estadístico demostrado mediante una significancia de $p > 0.05$.

En relación al atributo ¿qué les gustó a los panelistas de la muestra que seleccionaron? y ¿Qué atributo o característica sensorial le agradó de la muestra que más prefirió? las respuestas fueron muy similares por el grupo de panelistas ya que para la muestra realizada con azúcar blanca estándar la preferencia se debió a su dulzor leve (refiriéndose como menos dulce), consistencia (refiriéndose como menos denso) y color característico a Incaparina; para la muestra realizada de infusión de Stevia rebaudiana Bertoni la preferencia se debió a su sabor más dulce, leve sabor residual y consistencia (refiriéndose como más denso) (Tabla 17 y Tabla 18).

El grupo de panelistas si detectaron diferencias entre las muestras con azúcar blanca estándar e infusión de la planta de Stevia rebaudiana Bertoni realizadas con la bebida de Incaparina, destacando que la muestra de azúcar blanca estándar mantiene su dulzor, consistencia (refiriéndose como menos denso), color característico a Incaparina y su dulzor fue más leve. Para la muestra realizada de infusión de Stevia rebaudiana Bertoni destacó un leve sabor a residual amargo, consistencia (refiriéndose como más denso) y color no característico a Incaparina, esto debido al color verde claro característico de la infusión de la planta en estudio (Tabla 19).

Los panelistas a su vez determinaron que los aspectos a mejorar a la bebida de Incaparina para la muestra realizada con azúcar blanca estándar es su sabor, consistencia (refiriéndose como hacerla más densa) y aumentar el dulzor, así como para la muestra realizada de infusión de Stevia rebaudiana Bertoni los aspectos a mejorar son el disminuir el dulzor intenso, consistencia (disminuir densidad) y disminuir el leve sabor residual (Tabla 20).

Las Tablas 21 y 22 revelan que para la bebida de rosa de jamaica los panelistas tuvieron mayor preferencia a la bebida realizada con azúcar sobre la bebida realizada con infusión de la planta en estudio. En relación al atributo ¿qué les gustó a los panelistas de la muestra que seleccionaron? y ¿Qué atributo o característica sensorial le agradó de la muestra que más prefirió? las respuestas fueron muy similares por el grupo de panelistas ya que para la muestra realizada con azúcar blanca estándar la preferencia se debió a su olor y acidez característica a rosa de jamaica, sabor, y dulzor leve (refiriéndose como menos dulce); para la muestra realizada de infusión de Stevia rebaudiana Bertoni la preferencia se debió a su sabor dulce, acidez característica y color levemente más fuerte que la muestra con azúcar blanca estándar.

A su vez, es importante destacar que los panelistas detectaron diferencias entre las muestras de rosa de Jamaica con azúcar blanca estándar e infusión de planta de Stevia rebaudiana Bertoni determinando que las muestras difieren en que la muestra con azúcar blanca estándar su dulzor es menos intenso, sin residual amargo, con un olor y acidez característico a rosa de jamaica, mientras que la muestra con infusión de la planta en estudio es más dulce, con un olor y sabor herbal y sabor residual amargo (Tabla 23).

Se determinaron los aspectos a mejorar en la bebida de rosa de jamaica para la muestra realizada con azúcar blanca estándar son mayor dulzor y menor acidez, así como para la muestra realizada de infusión de Stevia rebaudiana Bertoni los

aspectos a mejorar son olor y sabor herbal, disminuir dulzor y sabor residual a amargo (Tabla 24).

A partir de estos resultados, es posible determinar que existen diferencias significativas $p > 0.05$ entre las muestras de Incaparina y rosa de Jamaica realizadas con azúcar blanca estándar e infusión de la planta de Stevia rebaudiana Bertoni, lo cual significa que las muestras con azúcar blanca estándar fueron más preferidas que las muestras de la infusión de la planta en estudio, esto pudo deberse a varios factores como la presencia del residual característico a la planta en estudio y gustos individuales de cada panelistas (preferencia a bebidas con poco o mucho dulzor) así como agrado y consumo de bebidas con edulcorantes artificiales o naturales, entre otros.

La bebida de rosa de jamaica con infusión de Stevia rebaudiana Bertoni es el que mayor porcentaje de respuesta obtuvo en relación a la bebida de Incaparina con infusión de Stevia rebaudiana Bertoni que obtuvo un menor grado de aceptabilidad, la cual representa la opción de mayor agrado de aceptabilidad.

Es importante señalar que el objetivo de realizar el panel de degustación fue el definir el grado de aceptación y preferencia de las propuestas de bebidas de Incaparina y rosa de jamaica formuladas con planta de Stevia rebaudiana Bertoni. Es satisfactorio señalar que, aunque las formulaciones de infusión de la planta en estudio no tuvieron una preferencia sobre el azúcar blanca estándar, algunos panelistas especificaron que era aceptable, por lo que el uso de la planta Stevia rebaudiana Bertoni a nivel casero es una opción elegible si se desea utilizar en la cocina tradicional guatemalteca.

Conclusiones

Es posible la utilización de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni en preparaciones alimenticias de Guatemala como una alternativa al uso de azúcar blanca estándar, resaltando que es un edulcorante natural, siendo posible la extracción de los glucósidos que le confieren el poder edulcorante mediante métodos tradicionales y no presenta citotoxicidad.

El mayor porcentaje de sólidos totales fue haciendo uso de etanol al 50% (19.79%) con un porcentaje de extracto obtenido de 18.95% mediante la prueba del mejor solvente.

La planta *Stevia rebaudiana* Bertoni estudiada en cuanto a macronutrientes presenta en 100 gramos 51 kcal, 83.70% humedad, 3.67g proteína, 0.41g grasa, 8.81g carbohidratos, 1.78g fibra y 1.62g ceniza así mismo podemos decir que en relación a minerales presenta 0.34% P, 0.50% Ca y 147 ppm de Fe.

El extracto etanólico de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni, presentó un DL₅₀ mayor a 1 mg/mL contra los nauplios de *A. salina*.

Para la elaboración preparaciones alimenticias, se optó por realizar dos propuestas en bebidas (rosa de Jamaica e Incaparina) ya que diversos estudios han confirmado la relación entre el consumo de bebidas azucaradas y enfermedades crónicas no transmisibles.

De las preparaciones realizadas con la planta en estudio, la bebida de rosa de jamaica elaborado con infusión de planta de *Stevia rebaudiana* Bertoni fue el que obtuvo mayores porcentajes para las respuestas que representaban el mayor grado de aceptabilidad evaluado. Así mismo, la bebida de incaparina elaborado con infusión de planta de *Stevia rebaudiana* Bertoni obtuvo el menor porcentaje de aceptación de la misma respuesta por lo que representa el menor grado de aceptabilidad evaluado.

Con base al análisis estadístico del análisis sensorial se establece que existe significancia entre la preferencia de los productos endulzados con azúcar estándar en comparación a los endulzados con la planta Stevia rebaudiana Bertonii demostrado mediante una significancia de $p > 0.05$.

Recomendaciones

Se recomienda la utilización e inclusión de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni como edulcorante natural en preparaciones alimenticias tradicionales mediante métodos artesanales, como alternativa de sustituto de azúcar blanca estándar.

Continuar con los estudios de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni, con el fin de complementar esta investigación evaluando aplicación y funcionalidad en otros alimentos y bebidas de mayor consumo por la población guatemalteca.

Realizar pruebas de aceptabilidad con población de alto consumo de edulcorantes comerciales o con regímenes especiales relacionados a sustituto de azúcar estándar.

Ampliar estudios analíticos para comprobar la cantidad de glucósidos (esteviósido y rebaudiósido A o reb-A, B, C, D y E; dulcósido A, y esteviolbiósido) presentes en la planta en estudio mediante análisis químicos.

Para fines analíticos elaborar la infusión de *Stevia rebaudiana* Bertoni mediante la extracción con agua por medio de arrastre con vapor haciendo uso de un filtro de carbón activado con el objetivo de disminuir el sabor a hierba y clarificar la infusión.

En nuestro país, que exista un mercado potencial para cultivar, producir y promocionar el uso de la planta de *Stevia rebaudiana* Bertoni, se sugiere investigar para luego capacitar al sector emprendedor del país y así tener un mayor aprovechamiento de sus propiedades nutricionales y económicas.

Referencias Bibliográficas

- Alonso, J. (2010) Edulcorantes naturales. *La Granja*. Revista de Ciencias de la Vida 12(No. 2), 3-12.
- Asociación de Azucareros de Guatemala. (2012). Porcentaje de producción para el consumo interno y exportación. 2001-02/2012-13. Estadísticas: Guatemala
- Badui, S. (2006) *Química de los Alimentos*. (4ta ed.). México: Pearson Educación.
- Borrego, F. (2010) Edulcorantes de alta intensidad en bebidas refrescantes. *Revista de alimentación, equipos y tecnología*. 19(No. 4), 115-119.
- Camean, A. & Repetto, M. (2012) *Toxicología Alimentaria*. Madrid: Ediciones Díaz de Santos, S.A.
- Caruajulca, D. (2012) *Efecto de la concentración de extracto de Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) en las características fisicoquímicas y sensoriales de néctar de membrillo*. (Tesis de licenciatura en Ingeniería Agroindustria). Universidad Nacional de Trujillo, Perú.
- Chacón, B. & Castells, E. (2014) *¿Existe información suficiente para determinar la toxicidad de la "Estepia" y sus compuestos edulcorantes?*. (Tesis de licenciatura en Ciencia y Tecnología de Alimentos). Universidad Autónoma de Barcelona, España.
- Chatsudthipong V, Jutabha P. (2001). Effect of steviol on paraaminohippurate transport by isolated perfused rabbit renal proximal tubule. *Revista J Pharmacol Exp Ther*. 298(No. 3),1120-1127.
- Costell, E. (2010). *Análisis Sensorial y El Control de Calidad*. Recuperado el 27 febrero del 2016 de: http://digital.csic.es/bitstream/10261/5729/1/IATA_AGROCSIC_Analisis.pdf
- Crespo, R. (2012) Adoçantes Nutritivos E Não-Nutritivos: Nutritive And Non-Nutritive Sweeteners. *Revista Da Faculdade De Ciências Médicas De Sorocaba*. 14(No.1), 5-7.

- Curry LL, Roberts A. (2008). Subchronic toxicity of rebaudioside A. *Revista Food Chem Toxicol.* 46(No. 7), 11-20.
- Das S, Das AK, Punwani IC, Kinghorn AD. (1992). Evaluation of the cariogenic potential of the intense natural sweeteners stevioside and rebaudioside A. *Revista Caries Research.* 26(No. 5), 363-366.
- Donado, L., Valladares, G., Contreras J., Varela, E., Figueroa, A., Molina E. & Castellanos L. (s.f.) Estudios sobre estilo de vida y riesgo de desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles en poblaciones adultas de áreas urbanas de la ciudad de Guatemala. *Revista Universidad del Valle de Guatemala,* 20(No. 1), 63-68.
- Duarte Z., Zamora V., Montalvo E., & Sáyo, S. (2016). Caracterización nutricional de 20 variedades mejoradas de rosa de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) cultivadas en México. *Revista fitotecnia mexicana,* 39(No. 3), 199-206.
- Duran, S., Rodríguez, M., Córdón K., & Record, J. (2012) Estevia (*Stevia rebaudiana*) edulcorante natural y no calórico. *Revista chil. nutr.* 39(No. 4), 203-206.
- Espitia, M., Montoya, R. & Atencio, L. (2009) Rendimiento de Stevia Rebaudiana Bert. Bajo tres arreglos poblacionales en el Sinú Medio. *Revista U.D.C.A.* 12 (No.1), 151-161.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud (2005). ESTEVIOSIDO. *Conferencia regional FAO/OMS sobre Inocuidad de los Alimentos para las Américas y el Caribe.* Recuperado el 13 de diciembre del 2016 de: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/008/j7050s/j7050s00.pdf>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2004) Stevia rebaudiana Plant. Editado por Ecocrop. Recuperado el 04 de enero del 2017 de: <http://ecocrop.fao.org/ecocrop/srv/en/cropView?id=10084>.

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2015) Additional Information about High-Intensity Sweeteners Permitted for use in Food in the United States. Recuperado el 11 de enero del 2017 de: <http://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/foodadditivesingredients/ucm397725.htm>
- Gardana,C., Simonetti, P., Canzi,E., Zanchi,R. & Pietta, P. (2003). Metabolism of Stevioside and Rebaudioside A from *Stevia Rebaudiana*. *Revista Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(No. 22), 6618-6620
- García-Almeida, Gracia M., Casado F., García J. (2013) Una visión global y actual de los edulcorantes. *Revista Nutrición hospitalaria*, 28(No. 1), 17-31
- García, M., Quintero, R. & López-Munguía, A. (2004) *Biotecnología Alimentaria*. México: Editorial Limusa.
- Geuns JM, Bruggeman V, Buyse JG. J. (2003). Effect of stevioside and steviol on the developing broiler embryos. *Revista Agric Food Chem*. 51(17), 5162-5167.
- Gil, A. (2010). *Tratado de Nutrición: Composición y calidad nutritiva de los alimentos*. Madrid: Medica Panamericana.
- Gines, A. (2014) *adoçantes dietéticos e excesso de peso corporal em adultos e idosos do Estado de São Paulo*. (Tesis Doctoral de Nutrición y Salud Publica). Universidade de São Paulo, Brasil.
- Gómez, C & Palma, S. (2013) Una visión global, actualizada y critica del papel del azúcar en nuestra alimentación. *Revista Nutrición hospitalaria*, 28(No. 1), 1-4.
- González, A. & Cols (2013) Posición de consenso sobre las bebidas con edulcorantes no calóricos y su relación con la salud. *Revista mexicana de cardiología*. 24(No. 2), 55-68.
- González, C., Tapia, M., Pérez, E., Dornier, M. & Morel, G. (2014) Caracterización de cultivares de *Stevia rebaudiana* Bertoni de diferentes procedencias. *Revista Bioagro*, 26(No. 2), 79-88.

- González-Moralejo, A. (2011) aproximación a la comprensión de un endulzante natural alternativo, la Stevia Rebaudiana Bertoni: producción, consumo y demanda potencial. *Revista Agroalimentaria*, 17(No. 32), 57-69.
- Hernández, E. (2005) *Evaluación Sensorial*. Bogotá. Universidad Nacional Abierta y a Distancia.
- Herrera F., Gómez, F. & González C. (2012) El cultivo de Stevia (*Stevia rebaudiana*) Bertoni en condiciones agroambientales de Nayarit, México. Santiago Ixcuintla, Nayarit: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). *Revista Centro de Investigación Regional Pacifico Centro*. 19 (No. 1), 1-31.
- Organización Internacional del Azúcar. (2012). Edulcorantes alternativos en un contexto de altos precios del azúcar. *Revista MECAS* 12(No. 4), 57-123.
- Innova DataBase (2014) Food Ingredients: Stevia. Recuperado el 17 de febrero de 2016: <http://new.innovadatabase.com/>
- Jaramillo A. & Rogel E. (2007) Producción de yogur usando microorganismos probióticos y endulzado con edulcorante no calórico proveniente de la Stevia rebaudiana Bertoni. *Revista Quito Ecuador* 12(No. 1), 132-137.
- Jarma, A., Combatt, C. & Cleves, J. (2010) Aspectos nutricionales y metabolismo de *Stevia rebaudiana* (Bertoni). Una revisión. *Revista Agronomía Colombiana* 38(No. 2), 199-208.
- Jeria, D. & Pozo, A. (2011) *Estudio del secado convectivo de hojas de Stevia Rebaudiana Bertoni y factibilidad técnico-económica de una planta elaborada de edulcorante a base de Stevia*. (Tesis de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos). Universidad de Chile, Chile.
- Keyler DE, Lee DY, Overstreet DH, Boucher TA. (2002). Toxicity study of an antidipsotropic Chinese herbal mixture in rats. *Revista Altern Complement Med*. 8(No. 2), 83-175.

- Koyamaa, E., Kitazawaa, K., Ohoria, Y., Izawaa, O., Kakegawab, K., Fujinoa, A. & Uic, M. (2003). In vitro metabolism of the glycosidic sweeteners, stevia mixture and enzymatically modified stevia in human intestinal microflora. *Revista Food and Chemical toxicology*, 41(No. 3), 359-374.
- Landázuri, P. & Tigrero, J. (2009) *Stevia Rebaudiana Bertoni: Una planta medicinal. Boletín técnico edición especial*. (Tesis de Licenciatura en Ciencias Agropecuarias). Escuela Politécnica del Ejército, Ecuador.
- López & Peña. (2004) *Plan estratégico para la creación de una empresa dedicada a la producción y comercialización de edulcorante a base de Stevia*. (Tesis de Licenciatura en Ingeniería Industrial). Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.
- Martinez, I., Quintero, G., Marquez, L., Gonzales, J., Alvarez, A. & Zarragoitia, A., (2006). Determinación de la Citotoxicidad de Extractos de *Erythroxylum confusum* Britt. mediante el Método de la *Artemia salina*. *Revista Acta Farm. Bonaerense* 25(No. 3), 31-429.
- Méndez, F. & Saravia R. (2012) *Extracción de un edulcorante natural no calórico a escala de laboratorio a partir de "Stevia Rebaudiana bertoni" y su aplicación en la industria de alimentos*. (Tesis de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos). Universidad de El Salvador, El Salvador.
- Mendez, K. (2007). Comercialización (Producción de maíz) y proyecto: producción de rosa de Jamaica. (Tesis de Licenciatura en Administración de Empresas). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Monroy M., Rodríguez, F., & Toledo, P. (2013). Diseño de la nueva canasta básica de alimentos de Guatemala. *Revista Perspectivas en Nutrición Humana*, 14(No. 2), 125-144
- Monzón, D. (2014) *Estudio de mercado para la introducción de Stevia Rebaudiana Bertoni en el mercado guatemalteco*. (Tesis de Maestría de Administración Industrial y Empresas de Servicio). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

- Montes, N. (2009) Edulcorantes calóricos y no calóricos. Obtenido de Énfasis Alimentación. Recuperado el 29 de marzo de 2016: <http://www.alimentacion.enfasis.com/articulos/14052-edulcorantes-caloricos-y-no-caloricos->
- Oliveira-Filho RM, Minetti CA, Valle LB. (1989). Chronic administration of aqueous extract of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni in rats: endocrine effects. *Revista Gen Pharmacol.* 20(No. 2), 91-187.
- Organización internacional del azúcar. (2012). Edulcorantes alternativos en un contexto de altos precios del azúcar. *Revista MECAS* 12 (No. 4) 1-65.
- Pérez, K. (2003). *Comparación de la actividad biológica de 10 extractos vegetales y 5 fármacos utilizando tres bioensayos toxicológicos.* (Tesis de Licenciatura en Química Farmacéutica). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Procuraduría Federal del Consumidor (2009). *La ruta de las bombas de azúcar.* Revista del consumidor. Recuperado el 07 de enero del 2017 de: <http://revistadelconsumidor.gob.mx/>
- Razo, E. (2011). *Diseño de una planta piloto para la industrialización de Stevia en la comunidad Cueva de los Monos, cantón Sacha, provincia de Orellana.* (Tesis de Licenciatura en Ingeniería Agroindustrial). Escuela Politécnica Nacional, Quito.
- Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 67.04.45:10) (2012) Alimentos y Bebidas procesadas. Aditivos Alimentarios.
- Restrepo, M. (2004) Sinergia entre edulcorantes no calóricos y el ácido fumárico. *Revista Lasallista de Investigación*, 1(No. 2), 46-55.
- Rivas, C., Vásquez, R. & Vásquez, K. (2014) *Formulación y desarrollo de productos de panadería y mermeladas con bajo contenido calórico utilizando Stevia como edulcorante natural.* (Tesis de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos). Universidad de El Salvador, El Salvador.

- Rodríguez, V. & Simón, E. (2008) *Bases de la Alimentación Humana*. España: Editorial Netbiblo, S.L.
- Romero, M. (2013) *Influencia del edulcorante natural hierba dulce (Stevia Rebaudiana Bertoni) en los niveles de glucosa y en el estado nutricional de los pacientes diabéticos tipo II con sobrepeso del patronato del diabético de la ciudad de Coatepeque, Quetzaltenango, Guatemala*. (Tesis de Licenciatura en Nutrición). Universidad Rafael Landívar, Guatemala.
- Sánchez, L. & Neira, A. (2005) Bioensayo general de letalidad en *Artemia Salina*, a las fracciones del extracto etanólico de *Psidium Guajava*. L y *Psidium Guineense*. *Revista Sw. Cultura Científica*, 3(No. 3), 40-45.
- Sánchez, M. (2014) *Edulcorantes: Utilización y aprovechamiento en diferentes procesos de la industria alimentaria*. (Tesis de Licenciatura en Química de Alimentos). Universidad Autónoma del Estado de México, México.
- Sancho, J., Bota, E. & De Castro, J. (1999) *Introducción al análisis sensorial de los alimentos*. Barcelona: Ediciones de la Universidad de Barcelona.
- Sekihashi K, Saitoh H, Sasaki Y. J. (2002). Genotoxicity studies of stevia extract and steviol by the comet assay. *Revista Toxicol Sci.*, 27 (No. 1), 1-8.
- Solórzano, E. (1998) *Análisis proximal y mineral de tres plantas nativas comestibles de Guatemala*. (Tesis de Licenciatura en Nutrición). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Solórzano, E. (2015). *Determinación del patrón de consumo de alimentos en las 8 regiones de Guatemala. Enero - mayo 2015* (Tesis de Licenciatura en Nutrición). Universidad Rafael Landívar, Guatemala.
- Superintendencia de Bancos. (2011) Sector Azucarero: Análisis de Sectores Económicos. Departamento de Análisis Económico y Estándares de Supervisión: Guatemala.

- Suttajit M, Vinitketkaumnue U, Buddhasukh D. (1993). Mutagenicity and human chromosomal effect of stevioside, a sweetener from *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Revista Environ Health Perspect*, 101(No. 3), 6-53.
- Wasuntarawat C, Toskulkao C, Mungkornkarn P. (1998). Developmental toxicity of steviol, a metabolite of stevioside, in the hamster. *Revista Drug Chem Toxicol*. 21(No. 2), 22-207.
- Watts, B., Ylimaki, G., Jeffery, L., & Elías, L. (1992). *Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos*. Montevideo: Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo.
- Zacarias, I & Vera, G. (2005) Sección de alimentos, Uso del etiquetado Nutricional para una Alimentación Saludable: Manual de consulta para profesionales de la salud. FAO. Recuperado el 07 de febrero de 2017: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/red-icean/docs/Chile_Etiquetado%20nutricional_Alimentacion%20saludable_2005_%20REDICEAN.pdf.pdf
- World Health Organization/Food and Agriculture Organization (WHO/FAO). (2013). Evaluation of certain food additives and contaminants: Seventy-seventh report of the Joint FAO/WHO. Expert Committee on Food Additives. Geneva: WHO/FAO.

Anexos

Anexo 1

Formulario para la recolección de la planta Stevia rebaudiana Bertoni

Anexo 2

Esquema de Weende para el Análisis Químico Proximal

Anexo 3

Esquema de extracción mineral método de espectrofotometría de absorción atómica y cuantificación química por el método de colorimetría

Anexo 4

Consentimiento informado análisis sensorial

Anexo 5

Boletas para prueba de preferencia pareada

Anexo 6

Caracterización planta Stevia rebaudiana Bertoni

Anexo 1**“Formulario para la recolección de la planta Stevia rebaudiana Bertoni”**

DATOS GENERALES

Fecha de recolección: _____

Hora de recolección: _____

Lugar de recolecta:

DATOS ETNOBOTÁNICOS

Parte de la planta usada para consumo: _____

Parte de la planta recolectada: _____

DATOS BOTÁNICOS

Altura de la planta: _____

Características del tallo: _____

Características de la flor: _____

Características de las hojas: _____

DATOS ECOLÓGICOS

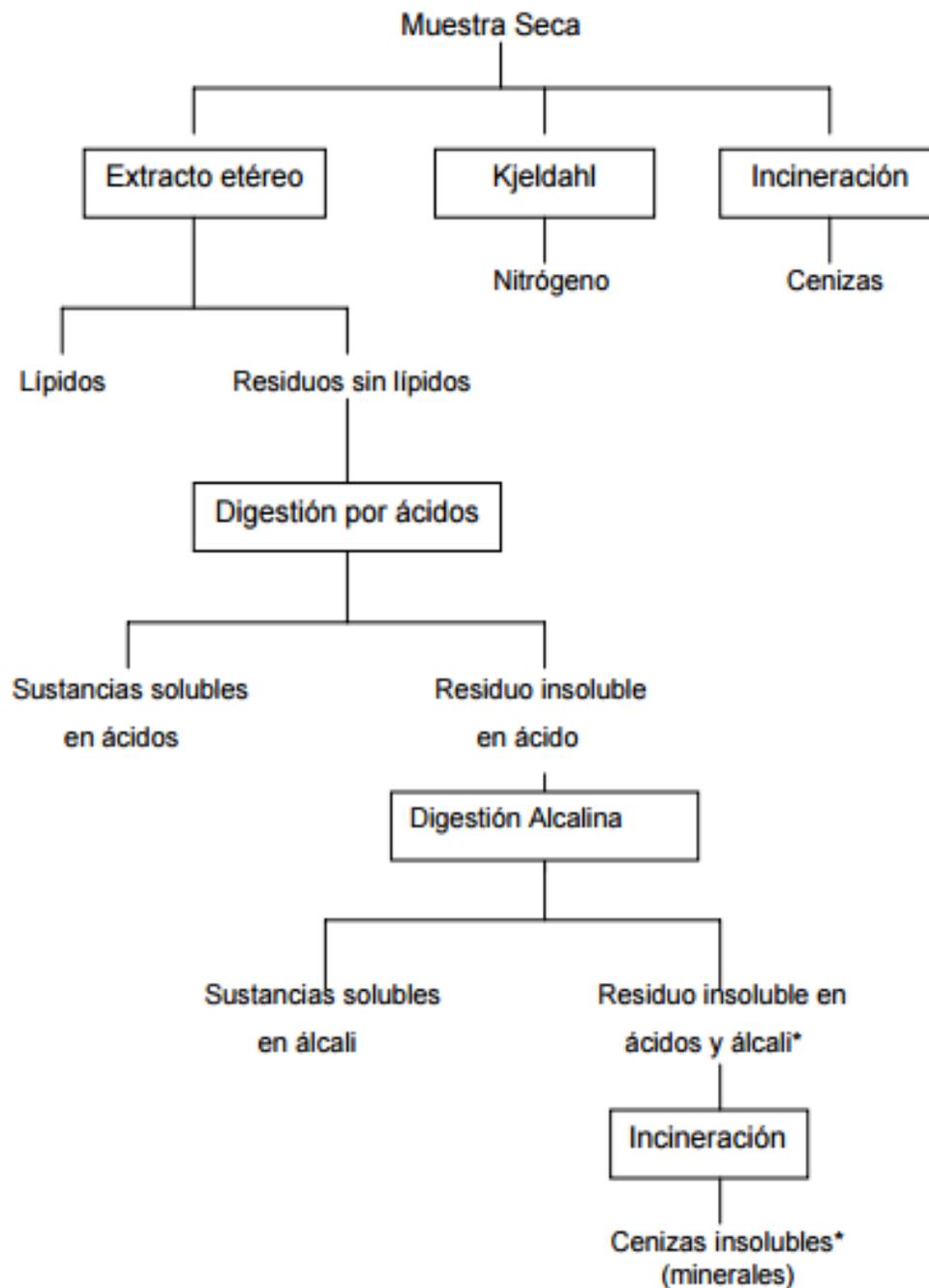
Altitud: _____

Características del clima: _____

Tipo del suelo: _____

Tipo de vegetación: _____

Anexo 2

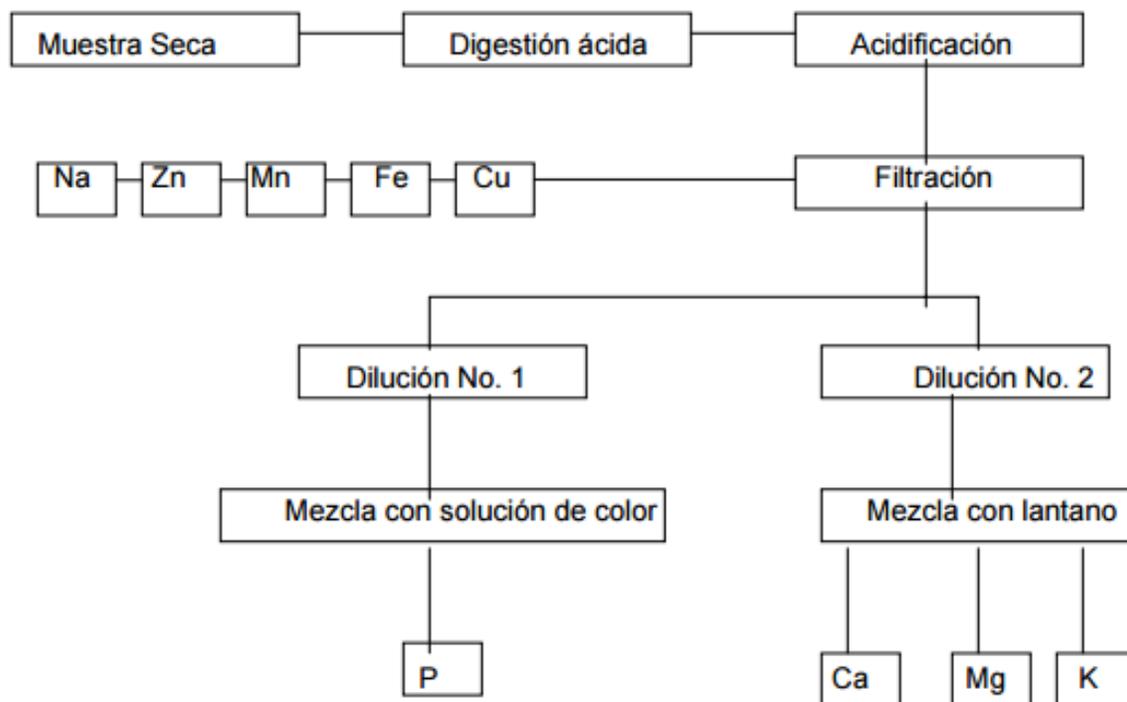


*residuo insoluble – ceniza insoluble = Fibra

Muestra = Lípidos + Cenizas + Proteína + Fibra = Extracto No Nitrogenado (E. N. N.)

Figura 6. Esquema de Weende para el Análisis Químico Proximal. Solórzano, E. (1998)

Anexo 3



Ca= Calcio; P=Fósforo; Mg=Magnesio; Mn= Manganese; Mo=Molibdeno; Fe=Hierro.

Figura 7. Esquema de extracción mineral método de espectrofotometría de absorción atómica y cuantificación química por el método de colorimetría.

González, P. (2005)

Anexo 4

“Consentimiento informado análisis sensorial”

**Universidad San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela de Nutrición**

Este documento de Consentimiento Informado tiene dos partes:

- Información
- Formulario de consentimiento (para firmar si está de acuerdo en participar)

PARTE I: Información

Introducción:

Soy Luvia Elizabeth Orozco Rodríguez (carné 201214310) estudiante con pensum cerrado de la carrera de Nutrición. Estoy investigando sobre el uso de la planta Stevia rebaudiana Bertoni en preparaciones alimenticias, por lo cual se le está invitando a que participe en este estudio y pueda conocer sobre el tema antes de tomar una decisión.

Propósito:

La planta Stevia Rebaudiana Bertoni, nativa de la región tropical de Sudamérica usada como edulcorante de origen natural con bajo contenido calórico, puede ser procesada y utilizada para consumo humano con beneficios considerables en la salud, principalmente a personas diabéticas, obesas, hipertensas, entre otras como parte de una estrategia eficaz para la prevención y manejo de enfermedades crónicas no transmisibles.

Tipo de intervención:

Esta investigación incluirá la evaluación sensorial de dos preparaciones de incaparina y rosa de jamaica en la que procederá a marcar la que más prefiera.

Selección de participantes:

Se está invitando a todas las personas adultas estudiantes o docentes de la carrera de Nutrición que estudien o laboren en la Universidad de San Carlos de Guatemala de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y que hayan cursado o estén cursando la asignatura “Análisis de Alimentos” que no padezcan de alergia o intolerancia a la incaparina, Stevia y rosa de jamaica, a participar en la investigación sobre propuestas para el uso de la planta Stevia rebaudiana Bertoni en preparaciones alimenticias.

Participación Voluntaria:

Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria. Usted puede elegir participar o no, puede cambiar de idea más tarde y dejar de participar aun cuando ya haya aceptado.

PARTE II: Procedimientos y protocolo.**Descripción del Proceso:**

Se le entregarán dos muestras para que las evalúe sensorialmente, llenando la boleta correspondiente. El tiempo estimado para completarlo será de cinco minutos para cada muestra.

Confidencialidad:

No se compartirá la identidad de aquellos que participen en la investigación. La información que se recoja por esta investigación se mantendrá confidencial.

Derecho a negarse o retirarse:

Usted no tiene porque tomar parte en esta investigación si no desea hacerlo. Puede dejar de participar en la investigación en cualquier momento que quiera. Es su elección y todos sus derechos serán respetados.

A Quien Contactar:

Si tiene cualquier pregunta puede hacerlas ahora o más tarde, incluso después de haberse iniciado el estudio.

He leído la información proporcionada. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente participar en esta investigación como participante.

Nombre del Participante _____

Firma del Participante _____ **Fecha** _____

Luvia Elizabeth Orozco Rodríguez

Anexo 5

“Boletas para prueba de preferencia pareada”

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela de Nutrición

Carrera: _____

F

M

Fecha: _____

Instrucciones:

Por favor, pruebe las dos muestras que tiene enfrente. Coloque el código y haga un círculo al número de la muestra que más prefiere. Usted debe escoger una muestra, aunque no esté seguro.

Producto: _____

Código:

Código:

Indique:

1. ¿Que le gusto de la muestra que seleccionó? _____
2. ¿Qué atributo o característica sensorial le grado de la muestra que más prefirió? _____
3. ¿Cuál es la principal diferencia entre ambas muestras? _____
4. ¿De la muestra que no prefirió que considera se le puede mejorar? _____

Comentarios: _____

Muchas Gracias

Anexo 6

“Caracterización planta Stevia rebaudiana Bertoni”



Figura 8. hoja fresca de Stevia rebaudiana Bertoni.

Tabla 25.

Caracterización hoja fresca de Stevia rebaudiana Bertoni.

Forma	Textura	Color	Olor	Sabor
Forma elíptica, con borde y margen dentado-crenado, apice acuminado, base acutada y venación pinada – reticulada.	Ambas caras foliares con pubescencia puberulosa compuesta de pequeños tricomas color blanco y forma acicular	Hojas maduras de coloración marrón verdosas y hojas jóvenes color verde claro.	Herbal, de tierra, planta, levemente dulce.	Dulce con residual amargo/metálico.

Nota: Análisis descriptivo

Tabla 26.

Caracterización de hojas frescas licuadas de Stevia rebaudiana Bertoni.

Color	Olor	Sabor	Sabor residual
Líquido verde claro con hojas de Stevia molidas color verde oscuro.	Planta, Herbal, dulce	Levemente dulce	Metálico.

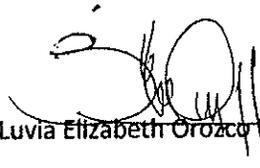
Nota: Análisis descriptivo

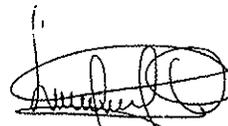
Tabla 27.

Caracterización de la infusión de hoja fresca de *Stevia rebaudiana* Bertoni.

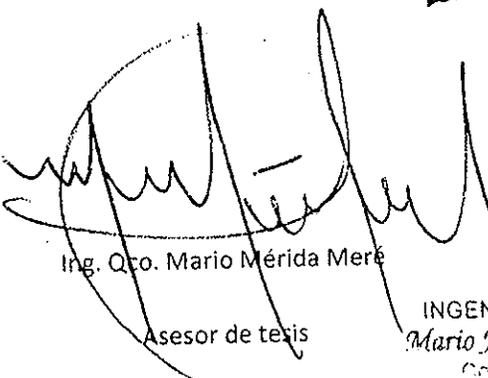
Método	Color	Olor	Sabor	Sabor residual
Caliente	Verde musgo brillante y translucido alrededor, el color se pronuncia hacia el centro a verde oscuro	Planta, hierba.	Dulce, panela, planta.	Dulce con residual amargo/metálico.
Frio	Verde musgo brillante y translucido alrededor, el color se pronuncia hacia el centro a verde oscuro	Planta, azúcar	Dulce, panela	Levemente metálico.

Nota: Análisis descriptivo.


Luvia Elizabeth Orozco Rodríguez
Autora

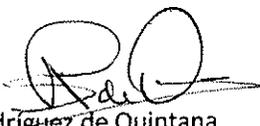

MA. Sucelly Orozco de Morales
Asesora de tesis

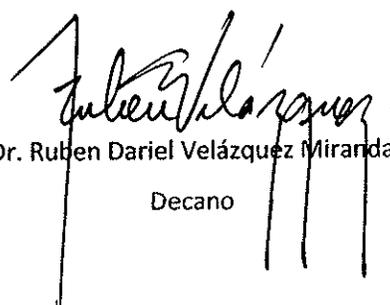
MA. SUCELLY OROZCO MARRGOUN
NUTRICIONISTA
COL 2082


Ing. Qto. Mario Mérida Meré
Asesor de tesis

INGENIERO QUÍMICO
Mario José Mérida Meré
Colonia 1411

ESCUELA DE NUTRICIÓN
DIRECCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN CRISTÓBAL DE LA JAMAICA


Msc. Silvia Rodríguez de Quintana
Directora de Escuela de Nutrición


Dr. Ruben Dariel Velázquez Miranda
Decano