

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA ACERCA DE *STEVIA REBAUDIANA* BERTONI: UNA REVISIÓN BIBLIOMÉTRICA

Samanta García-Hernández^{1*}, *Jorge A. Pino*^{2,3} y *Guido Riera-González*¹

¹*Dpto. Ingeniería Química. Universidad Tecnológica de La Habana «José Antonio Echeverría». CUJAE.
CP 19390, La Habana, Cuba.*

²*Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Carr. al Guatao km 3½, CP 17100, La Habana, Cuba.*

³*Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana. Calle 222 No. 2317, CP 13600, La Habana,
Cuba.*

E-mail: samantagh@quimica.cujae.edu.cu

Recibido: 14-12-2021 / Revisado: 21-12-2021 / Aceptado: 27-12-2021/ Publicado: 04-01-2022

RESUMEN

La estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) es una planta con propiedades edulcorantes que ofrece numerosos beneficios para la salud. Este trabajo analizó las publicaciones de mayor impacto relacionadas con el estudio de la estevia y los resultados más importantes de la base de datos Scopus revisada en octubre de 2021. Los documentos fueron clasificados en términos de números de publicaciones por año, revistas científicas, autores, afiliación, países, tipo de documento y por área temática. El estudio bibliométrico reveló 2 748 publicaciones en 67 años con una mayor prevalencia en el área de las ciencias agrícolas y biológicas. La extracción con disolvente es el método más utilizado y las variables que más inciden en el proceso de extracción son tamaño del soluto, relación soluto: disolvente, temperatura de extracción, pH y tiempo de operación.

Palabras clave: estevia, *Stevia rebaudiana*, revisión bibliométrica, producción científica, edulcorante.

ABSTRACT

Scientific production about *Stevia rebaudiana* Bertoni: a bibliometric review

Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) is a plant with sweetening properties that offers numerous health benefits. This work analyzed the publications with the greatest impact related to the study of stevia and the most important results of the Scopus database revised in October 2021. The documents were classified in terms of number of publications per year, scientific journals, authors, affiliation, countries, type of document and by subject area. The bibliometric study revealed 2,748 publications in 67 years with a higher prevalence in the area of agricultural and biological sciences. Solvent extraction is the most widely used method and the variables that most affect the extraction process are solute size, solute:solvent ratio, extraction temperature, pH and operation time.

Keywords: stevia, *Stevia rebaudiana*, bibliometric review, scientific production, sweetener.

**Samanta García-Hernández: Graduada de Ingeniería Química (CUJAE, 2021). Pertenece al Grupo de Investigación de los Alimentos del Dpto. de Ingeniería Química. Actualmente es profesora en la Facultad de Ingeniería Química.*

INTRODUCCIÓN

Desde los inicios de los tiempos, la humanidad ha tenido una clara preferencia hacia los alimentos dulces y el azúcar ha sido el endulzante de mayor consumo (1, 2). El aumento de la incidencia de trastornos metabólicos como la diabetes, obesidad y enfermedades cardiovasculares debido al consumo excesivo del azúcar de mesa ha dado lugar a un aumento de la demanda de alternativas de edulcorantes como sustitutos de la dieta (3). En los últimos años se han introducido en el mercado mundial los edulcorantes artificiales bajos en calorías a base de componentes químicos. Asimismo, se han explorado otras alternativas como son los edulcorantes naturales cuyos beneficios son similares a los de los edulcorantes artificiales pero con el valor agregado de no causar efectos nocivos en la salud (1).

La estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) es una planta herbácea perenne que pertenece a la familia Asteráceas, nativa de la región tropical de Sudamérica que se encuentra aún en estado silvestre en el Paraguay y en la provincia argentina de Misiones, pero desde hace varias décadas se cultiva en varias partes del mundo por sus propiedades edulcorantes y su ínfimo contenido calórico (4).

Los glucósidos son moléculas compuestas por un glúcido (generalmente monosacáridos) y un compuesto no glucídico (5). Los glucósidos de esteviol pasan por el cuerpo sin producir ningún tipo de acumulación o impacto calórico significativos. Las propiedades edulcorantes de la estevia son ideales para satisfacer las necesidades de consumidores que deben controlar la ingesta de azúcares por padecer problemas de salud vinculados a desórdenes metabólicos como la diabetes o problemas asociados a la obesidad (4).

En Cuba, la planta es poco conocida, aunque las condiciones ambientales son propicias para su producción (6). Es de gran interés para el país el desarrollo y comercialización de alimentos funcionales y saludables con el fin de satisfacer las necesidades de pacientes con trastornos metabólicos como la diabetes, obesidad y enfermedades cardiovasculares e incitar a la población en general de un consumo más sano y bajo en calorías. La introducción y uso de la estevia en Cuba como edulcorante puede constituir una de las soluciones a estos problemas.

Para obtener los principios endulzantes de las hojas de estevia existen numerosos procesos reportados que involucran una primera etapa de extracción con disolventes (7-16). El proceso de extracción tradicional podría resumirse en los siguientes pasos: extracción con disolvente, filtración, purificación con resinas de intercambio iónico, cristalización y secado.

Los estudios en Cuba que exploran el potencial biológico de la estevia, así como la extracción de sus fitoquímicos son escasos. Por lo tanto, es importante que se utilicen herramientas de búsqueda exploratorias en las revisiones para estudiar el perfil completo del objeto de la investigación representado por los datos disponibles en la literatura. Entre las herramientas disponibles para este fin, el análisis bibliométrico se destaca como el más adecuado. Este método estadístico permite comprender la influencia de las tendencias de investigación, campos de publicación, así como revistas, autores, países e instituciones más prolíficos en el tema.

Este trabajo tuvo como objetivo analizar las publicaciones de mayor impacto relacionadas con el estudio de la estevia y los resultados más importantes de la bibliografía consultada.

MÉTODO

Para documentar la información en relación con la extracción de glucósidos a partir de las hojas secas de estevia se realizó una búsqueda bibliográfica y un estudio bibliométrico en octubre de 2021. Existen muchas bases de datos científicas en todo el mundo como *Google Scholar*, *ScienceDirect*, *SciFinder*, *Food Science and Technology Abstracts* y *Scopus*. De ellas, *Scopus* tiene una excelente reputación en la mayoría de instituciones científicas y universidades y proporciona un impacto positivo en la calidad de las investigaciones. Por tal razón, esta base fue seleccionada para analizar los documentos en relación con la obtención de un extracto de estevia y las variables más significativas en el proceso. Además, se buscó en *Google Scholar*, *Web of Sciences* y otros sitios relacionados con la industria de los edulcorantes y el análisis del tema en cuestión. Para la búsqueda se utilizó como palabra clave *stevia* en el título, resumen o palabras clave de los documentos citados.

Es necesario señalar que el filtro por año no fue usado, por lo que los resultados contienen todos los trabajos presentes en la base de datos. El estudio aportó una apreciación estadística de los avances en trabajos publicados de la estevia en el período 1955 a 2022. Los documentos han sido clasificados en términos de número de publicaciones por año, revistas científicas, autores, afiliación, países, tipo de documento y por el área temática a la que pertenecen.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis del estudio bibliométrico

En el período de 67 años aparecen 2 748 publicaciones con relación a la estevia. La producción científica se incrementó ligeramente de 1976 hasta 2002; sin embargo, con una media de aproximadamente 10 documentos, no se superaron los 20 artículos por año. A partir de 2003 existió un incremento más pronunciado, siendo el año 2019 el más destacado con 262 publicaciones. Le siguieron el 2020 y 2021 con 254 y 253, respectivamente. Este es un indicio del auge que ha tomado la especie y su uso como edulcorante en los últimos años, siendo prácticamente desconocida hasta formar parte importante en el mercado mundial (Fig. 1).

En las revistas científicas sobresalen cinco de un total de 155 revistas registradas en la búsqueda (Fig. 2). Estas son *Phytochemistry* (FI = 4,072; Elsevier), *Food Chemistry* (FI = 7,514; Elsevier), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (FI = 5,279; American Chemical Society), *Sugar Tech* (FI = 1,532; Springer India) y

Food Manufacture (William Reed Business Media). El período evaluado mostró 68 publicaciones; sin embargo, actualmente el número de publicaciones sobre el tema ha disminuido. Entre 1980 y 1997 se aprecia el mayor número de reportes con 43 publicaciones. La segunda revista con más trabajos publicados sobre la estevia fue *Food Chemistry* con 55 publicaciones, de ellas 27 pertenecen a los últimos cinco años. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* registró 38 publicaciones; mientras que la *Sugar Tech*, publicó 34 trabajos. Por último, *Food Manufacture* alcanzó 31 publicaciones con un máximo de nueve documentos publicados en 2013, la mayor cifra de documentos en un año por una misma revista.

Los 10 autores con mayor producción en el tema bajo estudio se presentan en la Fig. 3, tres de ellos son latinoamericanos Bolini, H.M.A.; Cerda García Rojas, C.M. y Joseph Nathan, P. Son cinco autores los que tienen más de 20 documentos reportados y 159 autores hicieron publicaciones relacionadas con la estevia.

Con el fin de tener una mejor visión del panorama mundial de estas publicaciones se realizó una búsqueda por países. Del conjunto de países involucrados, los mayores contribuyentes del tema con más de 150 publicaciones fueron la India, EE. UU., China, Brasil y México, seguidos por otros para un total de 98 países (Tabla 1). Es interesante destacar que los documentos publicados sobre la estevia por este grupo de los 10 primeros países representan el 56,8 % del total de artículos y que Cuba tiene cuatro documentos en este tema de investigación. Debe tenerse en cuenta también que este

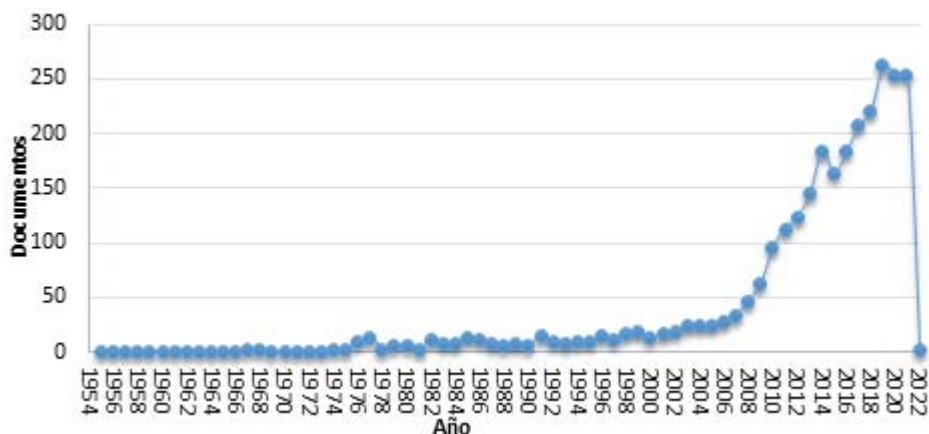


Fig. 1. Número de publicaciones por año según Scopus.

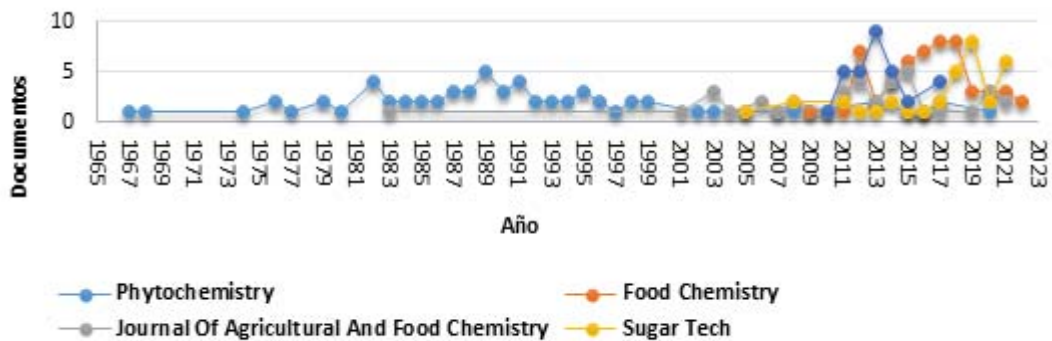


Fig. 2. Número de publicaciones para las revistas más sobresalientes según Scopus.

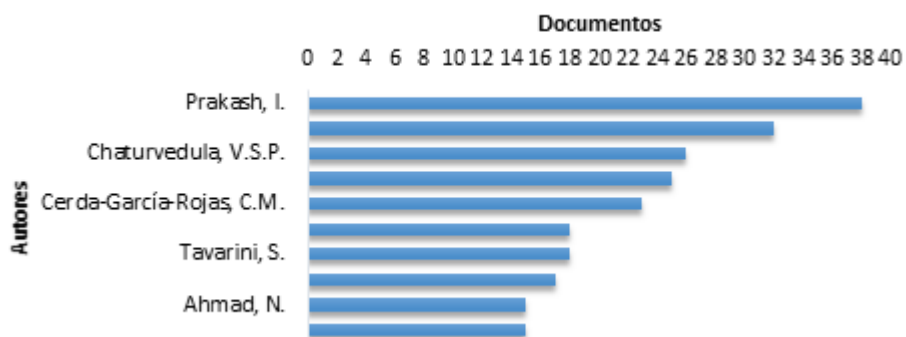


Fig. 3. Número de publicaciones por autores según Scopus.

Tabla 1. Número de documentos por países según Scopus

País	Número de documentos
India	393
EE. UU.	327
China	208
Brasil	199
México	183
Irán	138
Japón	126
España	110
Alemania	90
Italia	86
Cuba	4

número puede ser superior pues *Scopus* solo registra determinado tipo de revistas donde no están incluidas muchas revistas en idioma español.

Un total de 160 instituciones han participado activamente en las investigaciones sobre la estevia, en su mayoría centros universitarios y de investigación. En la Tabla 2 aparecen las 10 primeras instituciones que sobresalen con más de 25 trabajos publicados.

Los tipos de documentos más utilizados para publicar en relación a la estevia son los artículos científicos para 83,3 %, seguido de los artículos de revisión y en menor medida las conferencias, notas y capítulos de libros. En otros documentos están incluidos artículos en prensa, cartas, editoriales, libros, entre otros (Fig. 4).

Los documentos publicados sobre la estevia pueden dividirse en 26 áreas temáticas. Un ordenamiento de las nueve disciplinas con mayor número de publicaciones aparece en la Fig. 5. Las ciencias agrícolas y biológicas fueron las más exploradas con 29 % del total, seguidas de bioquímica, química y farmacología con 10 % o más de las publicaciones, mientras temas como la ingeniería química, ingeniería, ciencia medioambiental e inmunología y microbiología no llegan al 5 % entre todas sus publicaciones.

Síntesis de los resultados más importantes

S. rebaudiana es una planta de 90 cm de altura y tallo erecto de raíz pivotante. El género *Stevia* incluye más de 300 especies, sin embargo, sólo dos de ellas contienen

Tabla 2. Número de publicaciones por afiliación según Scopus 1955-2022

Afiliación	Publicaciones
Institute of Himalayan Bioresource Technology India	52
Universidade Estadual de Maringa	52
Universidade Estadual de Campinas	49
Instituto Politécnico Nacional	46
Chinese Academy of Sciences	43
The Coca-Cola Company	41
Centro de Investigacion y de Estudios Avanzados	38
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas	30
Università di Pisa	28
Universidad Nacional Autónoma de México	28

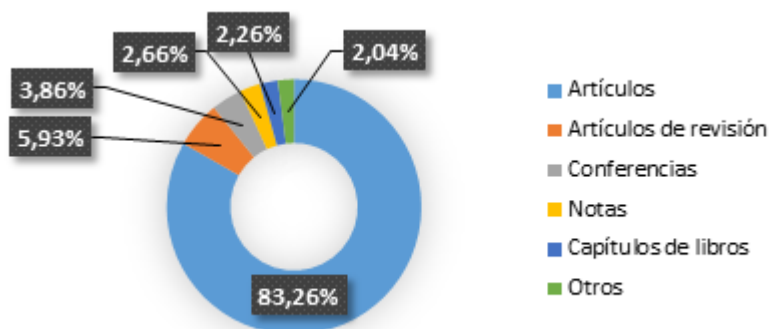


Fig. 4. Tipos de documentos publicados según Scopus.

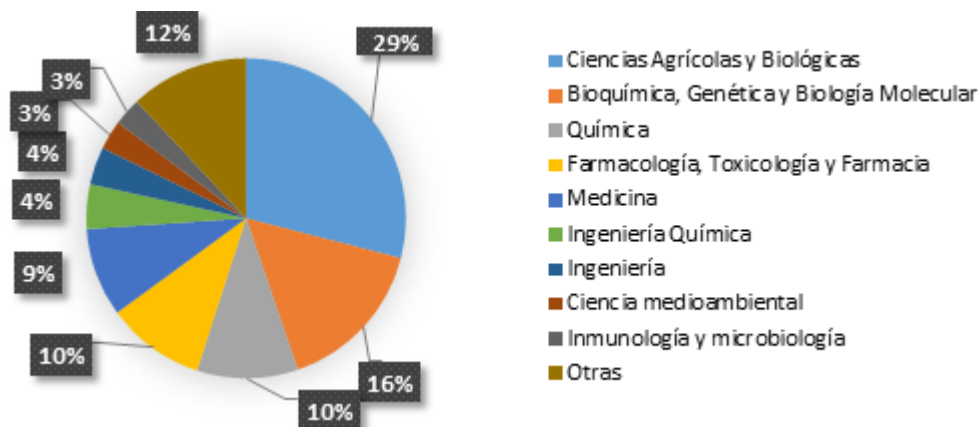


Fig. 5. Documentos por área temática según Scopus.

glucósidos de esteviol, siendo la estevia la variedad que contiene los compuestos más dulces (5). Las hojas de la estevia son pequeñas, elípticas ovales o lanceoladas, simples, opuestas en sus estados juveniles y alternos como manifestación de la floración, presentan el borde dentado. Es una planta que se reproduce sexualmente por los aquenios, sin embargo, la propagación agámica (asexual) es la mejor, ya que conserva las características de la planta madre, ésta puede ser por retoños, estacas y por cultivo de tejidos. Su vida útil es de aproximadamente seis años y el componente endulzante se encuentra en las hojas (17).

La estevia puede utilizarse como planta entera o como hojas trituradas, pero los extractos de estevia (líquidos o en polvo) son los productos más populares (18). Actualmente se cultiva en Japón, China, Brasil, Paraguay, Rusia, Indonesia, Corea, EE. UU., India, Tanzania, Canadá, Argentina y México. China es el primer productor, mientras que Japón y Corea son los principales consumidores (19). Las investigaciones se han enfocado en los extractos a partir de las hojas, los que son usados como endulzantes naturales, no calóricos y sin sacarosa (20). En su forma natural, la estevia es 10 a 15 veces más dulce que la sacarosa, los extractos en su forma líquida tiene un poder endulzante (PE) aproximadamente 70 veces mayor que la sacarosa, mientras que los extractos refinados, llamados esteviósidos (polvo blanco con contenido de 85 a 95 % de esteviósido) son 200 a 300 veces más dulce que la sacarosa (18).

sacarosa). Sin embargo, el esteviósido es el que se en-

Entre los principales beneficios a la salud que destacan a la estevia se encuentran su soporte a la diabetes, al control de peso y la reducción de la presión arterial (21, 22). Es una planta antiácida, antibacteriana bucal, cardiotónica, digestiva, diurética, edulcorante hipoglucemiante, hipotensora, antioxidante, mejora el metabolismo y es vasodilatadora (23, 24). También actúa como inmunomodulador, ayudando a regular el sistema inmunológico, no tiende a aumentar la inmunidad, sino que la normaliza optimizando la respuesta inmune (25). Las agencias reguladoras de la salud de todo el mundo aprobaron, desde noviembre de 2011, los extractos de hojas de estevia de alta pureza como consumo completamente seguro (26, 27). El Comité Conjunto de Expertos de la Organización Mundial de la Salud y la Organización para los Alimentos y la Agricultura (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA por sus siglas en inglés)) estableció un reglamento de glucósidos de esteviol que exigen un nivel de pureza de al menos el 95 % de los esteviolglicósidos totales químicamente definidos y en 2008, se decidió aumentar la ingesta diaria admisible para glicósidos de esteviol de 2 a 4 mg/kg de peso corporal (28-30).

El esteviol es un diterpeno aislado por primera vez de la estevia en 1931, pero su estructura química no fue completamente elucidada hasta 1960 (31, 32). De los tipos de glucósidos de esteviol, los más importantes son el esteviósido y rebaudiósido A, siendo este último el más dulce y con menor nota amarga que el esteviósido (con un porcentaje en peso seco de las hojas de estevia de 2 a 4 % y un PE de 300 a 450 veces más que la

cuenta en mayor proporción y es más estable que los demás glucósidos (con un porcentaje en peso seco de las hojas de estevia de 4 a 14 % y un PE de 250 a 300 veces más que la sacarosa). Otros componentes presentes, pero en menor concentración son esteviolbiónido, rebaudiósido B, C, D, E y F, así como dulcósido A (5, 33).

Los glucósidos de esteviol son moléculas orgánicas de alta masa molar. Todos los glucósidos de diterpeno aislados de las hojas tienen el mismo esqueleto y difieren principalmente en el contenido de residuos de hidratos de carbono (R1 y R2), mono-, di- y trisacáridos que contienen glucosa y ramnosa en las posiciones C13 y C19. La dulzura de los rebaudiósidos se incrementa con el aumento de cantidad de unidades de glucosa. Sin embargo, su contenido en la planta disminuye al mismo tiempo (32, 34). Otros fitoquímicos presentes en las hojas son monosacáridos y fibra cruda, compuestos fenólicos, fitoesteroides, triterpenos, proteínas, clorofila, resinas, ácidos orgánicos y ácidos grasos. Además, se encuentran varios nutrientes naturales, que son importantes en el área médica, como la vitamina

B3 y minerales como el cromo, magnesio, manganeso, potasio, selenio y zinc, los cuales son beneficiosos para la salud humana (32, 35).

Todos los procesos de extracción de glucósidos de esteviol reportados y patentados siguen aproximadamente la misma metodología con variaciones en las operaciones finales de purificación y separación de los glucósidos individuales e involucran en general múltiples y complejas operaciones (Fig. 6). En una primera etapa se realiza la extracción con agua, disolvente alcohólico, mixto o fluidos supercríticos, en algunos casos precedida de un desengrase con disolventes apolares como cloroformo, hexano o CO₂ (36, 37). Luego, puede realizarse una filtración con filtro de arena o carbón activado para retener partículas en suspensión; después una clarificación con iones metálicos (floculación/coagulación) y una decoloración, microfiltración cerámica y ultrafiltración, donde se separan coloides, pigmentos y gomas entre otras impurezas (13, 38). Finalmente se realiza la purificación del extracto primario o clarificado con resinas de intercambio iónico o bien

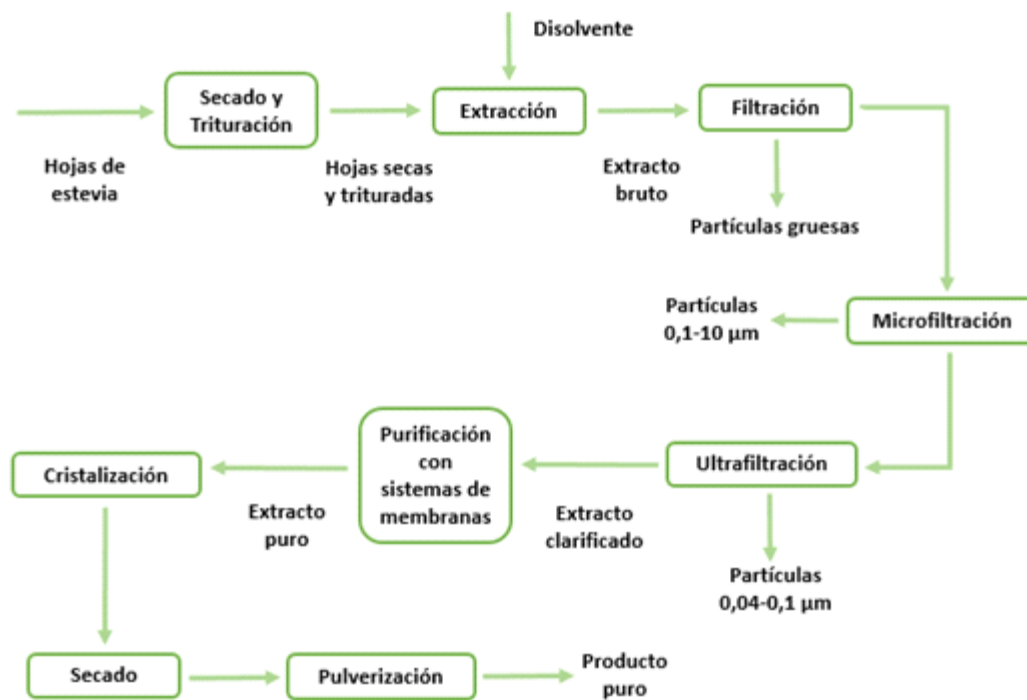


Fig. 6. Diagrama de bloques del proceso de obtención de glucósidos de esteviol.

sistemas de membranas para obtener como producto un extracto claro concentrado, donde los glucósidos son los principales componentes (16, 36).

Las siguientes operaciones de separación y purificación dependerán de los productos buscados, pudiéndose diferenciar entre dos líneas generales de procesamiento: aquellas en las que el principal producto es rebaudiósido A y afines, y aquellas donde se obtiene esteviósido como producto principal (11, 14). La eficiencia de extracción depende significativamente de varios parámetros que determinan el diseño del proceso y las características de la operación. Los parámetros más importantes de operación a tener en cuenta en la optimización del proceso extractivo de la estevia son la preparación del material sólido (tamaño de soluto y secado), relación soluto:disolvente, temperatura de extracción, pH y tiempo de operación (7-16).

CONCLUSIONES

El estudio bibliométrico sobre la estevia reveló 2 748 publicaciones en 67 años, cuatro de ellas pertenecen a Cuba, con una mayor prevalencia en el área de las ciencias agrícolas y biológicas. A partir de 2003 existió un incremento de las publicaciones, siendo el 2019 el más destacado con 262 trabajos. Las revistas más sobresalientes fueron *Phytochemistry* y *Food Chemistry* con la mayor cantidad de artículos. Los artículos científicos fueron la forma más utilizada para publicar en relación con la estevia con 83,3 % del total de documentos. Los principales glucósidos son el esteviósido y rebaudiósido A por ser los compuestos más dulces y de mayor concentración en las hojas. Las investigaciones deben tener en cuenta, para establecer el proceso de extracción, los parámetros principales que pueden ser controlados y las interacciones entre ellos que tengan mayor influencia en el contenido final de glucósidos y en el rendimiento del proceso. Es necesario la previa experimentación en la que se manipulen las variables independientes para analizar las consecuencias sobre las variables dependientes. La extracción con disolvente es el proceso de separación de glucósidos de esteviol más usado, es un método factible y económico. Las variables que más inciden en el proceso de extracción son tamaño del soluto, relación soluto:disolvente, temperatura de extracción, pH y tiempo de operación.

REFERENCIAS

1. Durán AS, Rodríguez NMP, Cordón AK, Record CJ. Estevia (*Stevia rebaudiana*), edulcorante natural y no calórico. Rev Nutr Chil 2012; 39(4):203-06.
2. López-Torres LD, Peña-Guevara LG. Plan estratégico para la creación de una empresa dedicada a la producción y comercialización de edulcorante a base de stevia [Diploma]. Ecuador: Pontificia Universidad Javeriana; 2004.
3. Adari BR, Avala S, George SA, Meshram HM, Tiwari AK, Sarma AVS. Synthesis of rebaudioside-A by enzymatic transglycosylation of stevioside present in the leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni. Food Chem 2016; 200:154-58.
4. Martínez-Cruz M. *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. Una revisión. Cult Trop 2015; 36(Especial):5-15.
5. Palacio-Vásquez E, Arroyave-Roa JD, Cardona-Caicedo M, Hurtado-Ibarbo JH, Martínez-Girón J. Extracción de glucósidos de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) a partir de tecnologías de extracción verdes. Rev Inv Agr Amb 2019; 10(1):43-56.
6. Rodríguez-González H, Acosta de la Luz LL, Hechevarría-Sosa I, Rivera-Amita MM, Rodríguez-Ferradá CA, Sánchez-Govín E, Milanés-Figueroa M. Comportamiento del cultivo de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni en Cuba. Rev Cub Plant Med 2007; 12(4):1-5.
7. Giovanetto RH. Method for the recovery of steviosides from plant raw material. US 4892938; 1990 jan 9.
8. Kutowy O, Zhang SQ, Kumar A. National Research Council of Canada. Extraction of sweet compounds from *Stevia rebaudiana* Bertoni. US 5972120A; 1999 oct 26.
9. Abelyan V, Markosyan A, Abelyan L. PureCircle Sdn Bhd. Process for manufacturing a sweetener and use thereof. US 20100112171A1; 2010 may 6.
10. Abelyan VH, Ghochikyan VT, Markosyan AA, Adamyan MO, Abelyan LA. PureCircle Sdn Bhd. Extraction, separation and modification of sweet glycosides from the *Stevia rebaudiana* plant. US 7838044; 2010 nov 23.

11. Jackson MC, Francis GJ, Chase G. SGF Holdings, LLC. Pure and substantially pure rebaudioside A. US 20110207918A1; 2011 aug 25.
12. Magomet M, Tomov T, Somann T, Abelyan VH. PureCircle Sdn Bhd. Process for manufacturing a sweetener and use thereof. US 7862845; 2011 jan 4.
13. Chabot S, Beaulieu M. Justbio Inc. Extraction method for providing an organic certifiable *Stevia rebaudiana* extract. US 8728545 B2; 2014 may 20.
14. Hahn JJ, Evans JC, Myerson AS, Rhonemus TA, Tyler CA, Storo KM. Cargill, Incorporated. Method of producing purified Rebaudioside A compositions using solvent/antisolvent crystallization. CA 2676220C; 2016 apr 5.
15. Purkayastha S, Markosyan A, Malsogov M. PureCircle Sdn Bhd. Process for manufacturing a sweetener and thereof. US 20200093166A1; 2020 mar 26.
16. Chhaya R, Majumdar GC, Sirshendu D. Optimization of process parameters for water extraction of stevioside using response surface methodology. Sep Sci Technol 2012; 47(7):1014-22.
17. Gallo-Murcia SM. Diseño de un proceso de separación para la producción de un endulzante a base de *Stevia rebaudiana* Bertoni [Diploma]. Colombia: Universidad de los Andes 2009.
18. Bursæ Kovaëviæ D, Maras M, Barba FJ, Granato D, Roohinejad S, Mallikarjunan K, Montesano D, Lorenzo JM, Putnik P. Innovative technologies for the recovery of phytochemicals from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves: A review. Food Chem 2018; 268:513-21
19. Kumar H, Kaul K, Bajpai-Gupta S, Kumar Kaul V, Kumar S. A comprehensive analysis of fifteen genes of steviol glycosides biosynthesis pathway in *Stevia rebaudiana* (Bertoni). Gene 2012; 492(1):276-84.
20. Vázquez-Hernández MC, Guevara-González RG, Aguirre-Becerra H, Mariana-Alvarado A, Romero-Zepeda H. Consumo actual de edulcorantes naturales (beneficios y problemática): Stevia. Rev Méd Elect 2017; 39(5).
21. Agulló V, García-Viguera C, Domínguez-Perles R. The use of alternative sweeteners (sucralose and stevia) in healthy soft-drink beverages, enhances the bioavailability of polyphenols relative to the classical caloric sucrose. Food Chem 2022; 370:1-7.
22. Dhama K, Munjal A, Iqbal HM-N. Recent advances and novel strategies for the development of biomedical therapeutics: State-of-the-art and future perspectives. Int J Pharm 2017; 13(7):929-33.
23. Singh S, Garg V, Yadav D, Nadeem Beg M, Sharma N. In-vitro ntioxidative and antibacterial activities of various parts of *Stevia rebaudiana* (Bertoni). Int J Pharm Pharm Sci 2012; 4(3):468-73.
24. Gawe³-Bêben K, Bujak T, Nizio³-Łukaszewska Z, Antosiewicz B, Jakubczyk A, Karac³ M, Rybczyńska K. *Stevia rebaudiana* Bert. leaf extracts as a multifunctional source of natural antioxidants. Molecules 2015; 20:5468-86.
25. Siddique Abu B, Mizanur Rahman SM, Amzad Hossain M, Amzad Hossain M, Abdur Rashid M. Phytochemical screening and comparative antimicrobial potential of different extracts of *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. Asian Pac J Trop Dis 2014; 4(4):275-80.
26. Palacio-Vasquez E, Hurtado-Ibarbo JH, Arroyave-Roa JD, Cardona-Caicedo M, Martínez-Girón J. Edulcorantes naturales utilizados en la elaboración de chocolates. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 2017; 15(2):142-52.
27. Woelwer-Rieck U, Lankes C, Wawrzun A, Wust M. Improved HPLC method for the evaluation of the major steviol glycosides in leaves of *Stevia rebaudiana*. Eur Food Res Technol 2010; 231(4):581-88.
28. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Compendium of Food Additive Specifications, 68th meeting 2007. FAO JECFA Monographs. 2007.
29. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Compendium of Food Additive Specifications, 69th meeting 2008. FAO JECFA Monographs. 2008.
30. EFSA FAF Panel (EFSA Panel on Food Additives and Flavourings), Younes M, Aquilina G, Engel KH, Fowler P, Frutos-Fernandez MJ, Fürst P, Gürtler R, Gundert-Remy U, Husøy T, Manco M, Mennes W, Moldeus P, Passamonti S, Shah R, Waalkens-Berendsen I, Wölflle D, Wright M, Degen G, Giarola A, Rincon AM, Castle L. Scientific opinion on the safety of a proposed amendment of the specifications for steviol glycosides (E 960) as a food additive: to expand the list of steviol glycosides to all those identified in the leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni. EFSA Journal 2020; 18(4):1-32.
31. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Framework for steviol glycosides, 87th meeting 2019. FAO JECFA Monographs. 2019.
32. Añazco-Camacho KA, Suárez-Villón EF. Determinación de las condiciones óptimas en la extracción de glicósidos diterpenoides a partir de *Stevia rebaudiana* Bertoni en un digestor [Diploma]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica del Litoral; 2015.
33. Kaur G, Pandhair V, Cheema G. Extraction and characterization of steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. J Med Plant Stud 2014; 2(5):41-5.

34. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Compendium of food additive specifications, 91st meeting 2021. FAO JECFA Monographs 2021.
35. Esmat Abou-Arab A, Azza Abou-Arab A, Ferial Abu-Salem M. Physico-chemical assessment of natural sweeteners steviosides produced from *Stevia rebaudiana* Bertoni plant. Afr J Food Sci 2010; 4(5):269-81.
36. Celaya LS. Optimización de la extracción de esteviolglicósidos de *Stevia rebaudiana* Bertoni [Maestría]. Misiones Universidad Nacional de Misiones; 2013.
37. Muñoz-Moreno C. Proceso de obtención de un nuevo edulcorante natural a base de Stevia [Diploma]. Cádiz, España: Universidad de Cádiz; 2015.
38. Bravo AM, Ale BN, Rivera CD, Huamán MJ, Delmás RD, Rodríguez BM, Polo SM, Bautista CM. Caracterización química de la *Stevia rebaudiana*. Rev Per Quím Ing Quím 2009; 12(2):5-8.