

## **STEVIA REBAUDIANA: COMPOSICIÓN, BENEFICIOS A LA SALUD, TOXICIDAD Y USO**

*Eliosbel Márquez\* y Jorge A. Pino*

*Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria*

*Carretera al Guatao, km 3½, C.P. 19 200, La Habana, Cuba*

### **RESUMEN**

Esta revisión tuvo como objetivo recopilar y analizar la información acerca del origen histórico del consumo de *Stevia rebaudiana*, su composición química, beneficios a la salud, toxicidad y uso. Esta planta en su forma natural es 15 veces más dulce que la sacarosa y el extracto de 100 a 300 veces. El principal componente dulce de las hojas de esta planta es un glucósido llamado esteviósido, pero también se encuentran presentes otros en concentraciones menores, como son el rebaudósido A, B, C, D, E y F, esteviolbíosido y dulcósido A. La extracción de las sustancias edulcorantes de la hoja seca de la estevia se realiza fácilmente con agua o etanol, seguido de un proceso de purificación. El Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios en conjunto con la FAO y la Organización Mundial de Salud establecieron una Ingesta Diaria Admisible para el esteviósido de 0 a 2 mg/kg de peso corporal, basados en los estudios de toxicidad que demuestran que los extractos de estevia y el esteviósido no presentan toxicidad aguda, ni efectos carcinogénicos ni teratogénicos. Por otra parte, las sustancias edulcorantes de la estevia son altamente solubles en agua, estables al calor (200 °C) y a un amplio rango de valores de pH (3 a 9), lo que permite ser usado en una amplia gama de productos alimenticios.

**Palabras clave:** *Stevia rebaudiana*, composición, beneficios, toxicidad, uso.

### **ABSTRACT**

***Stevia rebaudiana*: composition, benefits to the health, toxicity and use**

This review had as objective to gather and to analyze the information about the historical origin of the consumption of *Stevia rebaudiana*, its chemical composition, benefits to the health, toxicity and use. This plant in its natural form is 15 times sweeter than sucrose and the extract is 100 to 300 times sweeter. The main sweet component of the leaves of this plant is a glucoside named stevioside, they are also present other, but in smaller concentrations, like they are the rebaudside A, B, C, D, and F, steviolbioside and dulcoside A. The extraction of the sweetener substances from of the dry leaf of estevia is easily carried out with water or ethanol, followed by a purification process. The Expert's Committee in Alimentary Preservatives together with FAO and WHO established an Acceptable Daily Ingest for the stevioside from 0 2 mg/kg of corporal weight, based on the toxicity studies that demonstrate that stevia extracts and the stevioside do not present acute toxicity, neither carcinogenic and/or teratogenic effects. On the other hand, the sweetener substances of stevia are highly soluble in water, stable to heat (200 °C) and to a wide range of pH values (3 9), which allows to be used in a wide range of nutritional products.

**Keywords:** *Stevia rebaudiana*, composition, benefits, toxicity, use.

### **INTRODUCCIÓN**

*Stevia rebaudiana* Bertoni, comúnmente conocida como estevia, es un arbusto perenne de la familia Asterácea, nativa del norte de Paraguay y de ciertas regiones de Brasil. A menudo se la refiere como "la hierba dulce del Paraguay". La estevia en su forma natural es 15 veces más dulce que la sacarosa y el

---

\***Eliosbel Márquez:** graduado de Licenciatura en Alimentos (La Habana, 1998) y Máster en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (La Habana, 2005). Jefe del Laboratorio de Bioquímica y Química-Física de Frutas y Vegetales del Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria. Trabaja temáticas relacionadas con la bioquímica y la evaluación química-física de alimentos de origen vegetal ya sean frescos y procesados.

extracto de 100 a 300 veces. El principal componente dulce de las hojas de esta planta es un glucósido llamado esteviósido, pero también se encuentran presentes otros en concentraciones menores, como son el rebaudósido A, B, C, D, E y F, esteviolbósido y dulcósido A (1).

Tanto la planta estevia como sus extractos y el esteviósido puro han sido utilizados como edulcorantes por muchos años en Paraguay, Argentina, Brasil, Japón y Corea. En estos países están oficialmente aceptados como edulcorantes de bajas calorías desde hace más de 15 años. En EE.UU., el polvo de las hojas de estevia y sus extractos refinados se han utilizado como suplementos dietarios desde 1995 (2).

En los últimos años se ha incrementado el empleo de la estevia como agente endulzante, como una alternativa para sustituir a los edulcorantes sintéticos por naturales. Esto ha permitido un crecimiento en la producción de alimentos destinados a pacientes con enfermedades relativas al metabolismo del azúcar. En 1998 había más de 140 millones de personas diabéticas en el mundo. Según datos de la Organización Mundial de la Salud, esta cifra aumentará a unos 300 millones para el 2025.

Cuba no escapa a este fenómeno; la diabetes ha estado, consistentemente, entre las 10 primeras causas de muerte durante los últimos años. En el 2004, esta enfermedad ocasionó 1 849 defunciones y 2 370 en el 2009 para una tasa de 16,5 y 21,1 por cada 100 mil habitantes, respectivamente. Por otra parte, su tasa de prevalencia se incrementó de 19,3 en 1996 a 30,5 por cada 1 000 personas en 2004, actualmente hay más 400 mil personas que padecen la enfermedad (3).

En Cuba esta planta es poco conocida; sin embargo, existe un gran número de personas sobre todo diabéticas que han consumidos productos derivados de la misma para sustituir la sacarosa. Actualmente el Instituto Nacional de Ciencias Agrícola (INCA) empezó a cultivarla con el objetivo de extender su cultivo en todo el país.

Aunque existen algunas revisiones publicadas con relación a los componentes dulce de *S. rebaudiana* (4 18), la presente revisión tiene como objetivo recopilar y analizar la información actual acerca del origen his-

tórico del consumo de *Stevia rebaudiana Bertonii*, su composición química, beneficios que aporta a la salud, toxicidad y uso.

### Aspectos generales de la planta

El género *Stevia*, perteneciente a la familia de las Asteráceas, está constituido por aproximadamente 200 especies (19, 20) y lo conforman un grupo de hierbas y arbustos que se desarrollan en regiones montañosas, bosques y laderas de ríos (21). La primera descripción botánica es atribuye al botánico paraguayo Moisés Santiago Bertonii. La planta se nombró primeramente *Eupatorium rebaudianum Bert.* en honor a Rebaudi, primer químico que estudió las características químicas de las sustancias extraídas. Este nombre fue cambiado más tarde por el nombre actual (*Stevia rebaudiana Bertonii*) y recomendada no solo para la producción de alimentos, sino también por los efectos medicinales atribuidos por Bertonii en 1905. Sin embargo, de las diferentes especies que conforman el género solamente *Stevia rebaudiana* es la que presenta un sabor dulce (19).

La estevia es una planta herbácea perenne, con tallo erecto, subleñoso y 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 hasta 90 cm de altura en su hábitat natural y en los trópicos puede llegar a tener alturas superiores a 1 m. Las raíces son fibrosas, filiformes mayormente superficiales, aunque una sección engrosada tiende a profundizar y son la única parte de la planta en la que no hay esteviósidos (22).

*Stevia rebaudiana* tiene hojas elípticas, ovales o lanceoladas, con el margen festoneado, algo pubescentes; presentan disposición opuesta en sus estados juveniles y alternas cerca de la floración (22). La planta es auto incompatible, pues la maduración de los gametos masculinos ocurre antes que los gametos femeninos, fenómeno conocido como protandria, por lo que la polinización es entomófila, se dice que es de tipo esporofítico y clasificada como apomítica obligatoria. El fruto es un aquenio delgado y plumoso que puede ser claro (estéril) u oscuro (fértil) y es diseminado por el viento (23).

Se ha observado que la propagación de la estevia por medio de aquenios es útil para el mejoramiento genético, pero no para cultivos comerciales, debido a la alta heterogeneidad en las poblaciones resultantes y a la dificultosa recolección de la semilla. Sin embargo, la agámica conserva las características de la planta madre y puede ser por hijuelos, estacas y por cultivo de tejidos (24).

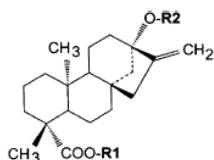
La estevia en su estado natural, crece en la región subtropical, semihúmeda de América, con precipitaciones que oscilan entre 1 400 y 1 800 mm, distribuidos durante todo el año y temperaturas extremas de -6 a 43 °C, con promedio de 23 °C. Durante el invierno su parte aérea se seca, rebrotando desde la base en primavera. La planta resiste la humedad pero no la sequía y esto puede explicarse por la morfología de su sistema radicular (16).

Los suelos óptimos para el cultivo, son aquellos con pH entre 6,5 y 7, de baja o nula salinidad, con mediano contenido de materia orgánica, de textura franco arenosa a franco y con buena permeabilidad y drenaje. Se recomienda la siembra a distancias de 20 cm entre hileras y 16 cm entre plantas, lo que equivale a una densidad de 180 mil plantas por hectárea (25).

*Stevia rebaudiana* es una especie semipermanente que en cultivo puede durar entre cinco y seis años, con dos o tres cortes anuales. Las cosechas se realizan cuando presentan como máximo 5 % de botones florales, haciendo un corte entre los 6 y 8 cm del suelo para que permanezcan en la planta de dos a tres pares de hojas. El mayor rendimiento del cultivo se presenta en los primeros tres años y si las condiciones ambientales son favorables, se realizan hasta cuatro cosechas al año, después de este tiempo conviene que sean dos (26).

### Estructura química de los glucósidos y propiedades edulcorantes

En los tejidos de las hojas de la estevia se han identificados ocho glucósidos ent-kaurenos con propiedades edulcorantes (27). El principal componente dulce de las hojas de esta especie es el esteviósido, con fórmula  $C_{38}H_{60}O_{18}$  y  $M=804,8$  (16). Lo forman una aglicona (esteviol) y tres moléculas de glucosa (Figura 1). Además se encuentran presentes otros en concentraciones menores, como son el rebaudósido A, B, C, D, E y F, esteviolbiósido y dulcósido A (1). Existen evidencias que el esteviolbiósido y rebaudósido B no son constituyentes genuinos de *S. rebaudiana*, sino más bien son formados por hidrólisis parcial durante el proceso de extracción (28, 29).



Nombre	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Esteviol	H	H
Esteviolbiósido	H	Glucosa-1,2-Glucosa
Esteviósido	Glucosa	Glucosa-1,2-Glucosa Glucosa-1,2-Glucosa
Rebaudósido A	Glucosa	 1,3-Glucosa Glucosa-1,2-Glucosa
Rebaudósido B	H	 1,3-Glucosa Glucosa-1,2-Ramnosa
Rebaudósido C	Glucosa	 1,3-Glucosa
Rebaudósido D	Glucosa-1,2-Glucosa	Glucosa-1,2-Glucosa 
Rebaudósido E	Glucosa-1,2-Glucosa	1,3-Glucosa Glucosa-1,2-Glucosa
Rebaudósido F	Glucosa	Glucosa-1,2-Xilosa 
Dulcósido A	Glucosa	1,3-Glucosa Glucosa-1,2-Ramnosa

Figura 1. Estructura química de los glucósidos del esteviol en *Stevia rebaudiana*.

Los kaurenos representan un grupo importante de diterpenos tetracíclicos. Sus estructuras están constituidas por una unidad perhidrofenantreno (anillos A, B y C) fusionada con una unidad ciclopentano (anillo D) que se forma por un puente entre dos átomos de carbono C<sub>8</sub> y C<sub>13</sub>. Todos estos glucósidos presentan al esteviol como estructura común (11, 30).

Los cuatro principales edulcorantes son esteviósido, rebaudósido A, rebaudósido C y dulcósido A (31). La dulzura de estos compuestos con respecto a la sacarosa es 300, 250 a 450, 50 a 120 y 50 a 120 veces mayor que la sacarosa, respectivamente (10), de aquí que los principales glucósidos edulcorantes son el esteviósido que se encuentra en concentraciones entre 5 y 10 % del peso seco de las hojas y el rebaudósido A entre 2 y 4 %, el resto alcanzan concentraciones entre 1 y 2 % (1, 10, 32, 33).

En otros trabajos se ha informado que el contenido de esteviósido puede variar entre 4 y 20 % en base al peso seco, dependiendo del cultivar y condiciones de crecimiento (34). De hecho, en Paraguay es donde las hojas de estevia alcanzan la mayor concentración de moléculas de esteviósido y rebaudiósidos (9 y 13 %), en la India alrededor de 9,1 % y China solamente entre 5 y 6 % del peso seco de las hojas (35, 36).

Otros autores le han conferido un particular interés al rebaudósido A, por ser el más deseable en el perfil de sabor, aunque el componente mayoritario es el esteviósido con concentraciones entre 60 y 70 % del contenido total de glucósidos, sin embargo este es el responsable del sabor amargo y de cierto grado de pungencia lo cual reduce la aceptabilidad del mismo (37). Por otra parte, el rebaudósido A se encuentra entre 30 y 40 % de los glucósidos totales, pero no aporta sabor amargo. De aquí que una medida de la aceptación y calidad de los edulcorantes a partir de la estevia se deba a la relación entre el esteviósido y rebaudósido A, mientras más rebaudósido A es mejor, aunque si ambas sustancias se encuentran en cantidades iguales el sabor amargo no sería perceptible (38, 39).

### Métodos de extracción de los edulcorantes

En general, la extracción de las sustancias edulcorantes de la hoja seca de la estevia se realiza fácilmente con agua o etanol. El extracto que se obtiene a partir de la

hoja presenta una coloración oscura que contiene a los principios edulcorantes junto con otros compuestos que forman parte de su composición, como taninos y clorofila, que le confieren color y aroma no deseado para su uso como edulcorante de mesa o a nivel industrial (25).

Otros autores proponen que antes de la extracción se deben de eliminar la grasa, clorofila y otros principios apolares con disolventes orgánicos tales como cloroforno y hexano (31).

Seguidamente se realiza la purificación del extracto, en esta operación se han aplicado varios métodos que consisten en: combinación de membranas filtrantes de distintos tamaños de poros, adsorción con zeolitas modificadas, para esto se utiliza zeolitas convencionales tratadas con una solución de CaCl<sub>2</sub> para lograr la sustitución de los iones Na<sup>+</sup> de las mismas por iones Ca<sup>2+</sup>, elución en columnas de intercambio iónico, precipitación por medio de agentes externos, entre otros (40).

Existen otros procedimientos para aislar a los edulcorantes de la estevia a escala piloto que implican extracciones líquidas con disolventes tales como cloroforno-metanol, glicerol, propilenglicol, seguido de una extracción con disolventes polares, elución por columnas de intercambio iónico y cristalización. La purificación del esteviósido también puede realizarse por columnas de intercambio iónico la cual ha sido aceptada como la mejor técnica, posteriormente el extracto acuoso será filtrado y reprecipitado para producir esteviósido con 90 % o más de pureza (41, 42).

### Toxicidad y beneficios a la salud

La estevia se ha convertido en una planta esencial para la calidad de vida de los diabéticos. Científicos de la Universidad de Aarhus (Dinamarca) revelaron que el esteviósido actúa estimulando en forma directa las células beta del páncreas generando así una secreción considerable de insulina. El resultado de estas pruebas médicas indica que la estevia podría tener un rol potencial antihiper glucémico en personas con diabetes tipo 2 (43, 44).

Existen otros trabajos que demuestran el efecto hipotensor que presenta la estevia lo cual fue observado cuando se suministró por vía oral altas dosis de esteviósidos a ratas durante 20, 40 y 60 días, al cabo de los 40 y 60 días de administrar el extracto se obtuvo

**Tabla 1. Toxicidad aguda del esteviósido suministrado oralmente a roedores (7)**

Especie	Sexo	DL <sub>50</sub> (g/kg de peso)	Pureza del esteviósido
Ratones	M y H	>15	96
Ratas	M y H	>15	96
Hamster	M y H	>15	96
Ratones	M y H	>17	20
Ratones	M y H	>15	93,5

M: macho, H: hembra.

una disminución de la presión sanguínea, así como un incremento en la disminución de sodio. También ocurrió un ligero efecto diurético, el cual se potencializó cuando fue combinado con verapamil (medicamento usado para disminuir la presión arterial en personas con presión arterial alta) (45, 46).

Resultados similares fueron observados en un estudio con humanos, cuando personas voluntarias entre 20 y 40 años de edad consumieron te preparado a partir de las hojas de estevia (7, 47).

### **Toxicidad aguda**

Los estudios de toxicidad aguda del esteviósido se resumen en la Tabla 1. En estos estudios no se observó letalidad antes de los 14 días después de la administración oral, tampoco se encontraron signos clínicos de toxicidad o cambios morfológicos o histopatológicos en los animales ensayados (7).

En otro estudio realizado en canes después de administrarle esteviósido por vía intravenosa dosis de 26 µg/kg de peso corporal, no se observaron cambios significativos en la composición de la sangre, plasma, función renal ni alteraciones en la estructura de los órganos renales. Por lo que se concluyó que el esteviósido carece totalmente de efectos agudos extra renales tales como hipoxemia lo cual puede contribuir a una nefrotoxicidad durante un periodo de 6 h después de la administración intravenosa (48).

Un estudio de toxicidad subaguda se realizó en ratas con extractos acuosos de estevia que contenía alrededor de 50 % m/m de esteviósido. Las ratas fueron divididas en un grupo control y en grupos a los que se le administraron 0,25 y 0,5 g de esteviósidos en la dieta

durante 65 días. Concluido este tiempo no se encontraron anomalías en los animales alimentados con estevia y el grupo control (49).

### **Toxicidad subcrónica**

En un estudio de toxicidad subcrónica se suministró esteviósido en la dieta a ratas F344 a concentraciones de 0; 0,31; 0,62; 1,25; 2,5 y 5 %. Las ratas fueron distribuidas aleatoriamente en seis grupos que consistían en 10 hembras y 10 machos. Al finalizar el estudio no se encontraron diferencias entre el grupo control y los grupos tratados en cuanto a ganancia de peso corporal, sin embargo cuando se realizó el análisis bioquímico e histológico de los órganos estos investigadores encontraron un incremento en los niveles de lipoproteínas de alto peso molecular LDH y necrosis únicamente en células del hígado en todos los animales ensayados, pero esto no fue considerado como cambios específicos por la baja severidad y las limitaciones en las ratas, otros parámetros que fueron encontrados para demostrar diferencias significativas fueron los estudios hematológicos los cuales no mostraron significancia toxicológica. De este estudio se concluyó que dietas con 5 % de esteviósido puede ser considerada como dosis máxima para realizar estudios carcinogénicos en ratas durante dos años (50).

En otros estudios se han utilizado ratas Wistar y esteviósido en polvo con una pureza de 85 %, el mismo fue suministrado a los animales en la dieta a concentraciones de 100, 300 y 600 mg/kg de peso/d. Finalizado el estudio no se encontraron cambios en el peso corporal y apariencia general, además la mortalidad fue similar en los animales tratados y el grupo control, así como tampoco hubo diferencias significativas en el



tiempo de vida. Por otra parte, no se observaron cambios hematológicos, la orina, ni en la bioquímica clínica. La evidencia y severidad de los cambios neoplásico y no neoplásico no fueron correlacionadas con la concentración de esteviósido en la dieta, por lo que estos autores sugirieron que la ingesta diaria para humanos es de 7,9 mg/kg de peso/d (50).

Sin embargo, el Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios en conjunto con la FAO y la Organización Mundial de Salud establecieron una Ingesta Diaria Admisible de 0 a 2 mg/kg de peso (51), ya que estas cantidades producen en el colon una concentración aproximadamente de 0,05 a 0,2 mM de esta sustancia, lo cual no muestra toxicidad en las células intestinales. Esto se encuentra en concordancia con estudios previos de farmacocinética en humanos que después de la administración oral de una dosis única de 4,2 mg de esteviósido/kg de peso, se obtuvo que estas concentraciones de esteviol no mostraron efectos tóxicos en células humanas (52).

El potencial carcinogénico del esteviósido tiene un interés particular por lo que un número de investigaciones han sido conducidas para evaluar los efectos mutagénicos del esteviósido y el esteviol en modelos experimentales. Los análisis genéticos bacterianos revelaron que el esteviósido no es mutagénico (53, 57).

Ensayos in vivo del potencial carcinogénico del esteviósido en ratas y ratones suministrado oralmente demostraron que no hay incremento en la incidencia de cáncer en estos animales (58, 59).

Muchos de estos estudios coinciden que dosis de esteviósido de 5 mg/kg de peso es segura y no tienen efectos carcinogénicos ni teratogénicos (56, 60).

### Uso de la estevia como edulcorante

En la actualidad los productos de la estevia son utilizados como edulcorante en varios países como Paraguay, Japón, Corea, China, Taiwán y diversos países americanos y asiáticos. En Japón, por ejemplo, se utiliza desde los años setenta como edulcorante natural sustitutivo del azúcar y otros de origen sintético. Allí tiene una cuota de mercado superior al 50 %. Sin embargo, en otros países como es el caso de EE.UU. sólo se autoriza como suplemento dietético desde 1991 (61).

Por otra parte, su utilización como edulcorante ha venido incrementándose desde que Japón desarrolló la tecnología de extracción del esteviósido y de eliminación del sabor amargo que presenta (62).

Recientemente entre las conclusiones de la segunda reunión internacional de la estevia en Asunción Paraguay, en el 2006, se presentaron públicamente los resultados de los estudios requeridos por FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), con objeto de lograr el status definitivo de los glucósidos del esteviol, e iniciar las gestiones posteriores que permitan la apertura de la comercialización internacional de la estevia en los países que aun hoy no está autorizada. Tanto la FAO como la OMS han tomado ya determinaciones para certificar la inocuidad de esta planta y, por tanto, incluir a la estevia en una lista temporal, como paso previo para el definitivo pasaje a su "Codex Alimentarius". De hecho, JECFA ya admitió la ingesta de hasta 2 mg/kg de peso corporal al día de glucósidos del esteviol, cantidad muy alta equivalente a 110 g de azúcar al día, que abre una vía clara para el reconocimiento generalizado (61).

El esteviósido es considerado por sustituir a la azúcar y a los edulcorantes comerciales ya sea en forma pura o como extracto de estevia. Ellos son usados en gran variedad de alimentos tales como vegetales enlatados, mermeladas de frutas, jugos y bebidas, mariscos deshidratados, salsa soya, caramelos, chicles, yogures y helados, así como en pasta dental y enjuague bucales (41, 63).

Las principales propiedades físico-químicas de la estevia para ser utilizada en el procesamiento de alimentos son (7, 11, 61).

**Resistencia al calor:** Es estable hasta 200 °C, por lo que presenta estabilidad a las temperaturas habituales en el procesamiento de alimentos y funde a 238 °C. Las propiedades endulzantes no se pierden después de 2 h a 95 °C (64).

**Alteración del color:** No se observa oscurecimiento, aún en las condiciones más rigurosas de procesamiento de alimentos.

**Solubilidad:** Es altamente soluble en agua, alcohol etílico y metílico e insoluble en éter etílico.

**Resistencia al pH:** Es suficientemente estable a pH entre 3 y 9.

**Contenido de calorías:** No es metabolizado por el organismo, por lo tanto se convierte en no calórico y es adecuado para usos dietéticos.

**Calidad del sabor dulce:** Conjuntamente con el sabor dulce, el esteviósido presenta un sabor secundario, persistente, definido como sabor a regaliz-mentol, detectable a altas concentraciones. Este sabor secundario es evidente en el extracto natural. El rebaudiósido A posee un sabor dulce más puro. Este sabor no deseado se puede enmascarar con la utilización de combinaciones de otras sustancias edulcorantes. Los mejores resultados se obtienen con sacarosa y glucosa, seguido de la fructosa, sorbitol y malitol.

## CONCLUSIONES

Los edulcorantes de la estevia se pueden extraer fácilmente con disolventes polares, como el agua y etanol, y se purifican por columnas de intercambio iónico.

El Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios en conjunto con la FAO y OMS establecieron una Ingesta Diaria Admisible de esteviósido de 0 a 2 mg/kg de peso corporal. Estudios de toxicidad demuestran que los extractos de estevia y el esteviósido no presentan toxicidad aguda, ni efectos carcinogénicos ni teratogénicos. Las sustancias edulcorantes de la estevia son altamente solubles en agua, estables al calor y a un amplio rango de valores de pH, lo que permite ser usado en una amplia gama de productos alimenticios.

## REFERENCIAS

1. Jiménez, T.; Cabrera, G.; Álvarez, E. y Gómez, F. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud 8 (1): 47-53, 2010.
2. Cavalcante da Silva, G.E., Hakin Asséf, A., Cordeiro Albino, C., Funari Ferri, L.A., Tassin, G. y Takahashi, M.H. Braz. Arch. Biol. Technol. 49 (4): 583-587, 2006.
3. Minsap. Anuario de Estadística, 2009.
4. Brandle, J.E.; Starratt, A.N. y Gijzen, M. Can. J. Plant Sci. 78 (4): 527-536, 1998.
5. Brusick, D.J. Food Chem. Toxicol. 46, (7 SUPPL.): S83-S91, 2008.
6. Carakostas, M.C.; Curry, L.L.; Boileau, A.C. y Brusick, D.J. Food Chem. Toxicol. 46 (7 Suppl.): S1-S10, 2008.
7. Panpatil, V.V. y Polasa, K. J. Food Sci. Technol. 45 (6): 467-473, 2008.
8. Rayaguru, K. y Khan, Md.K. J. Food Sci. Technol. 45 (5): 391-397, 2008.
9. Serio, L. Phytotherapie 8 (1): 26-32, 2010.
10. Chatsudthipong, V. y Muanprasat, C. Pharmacology & Therapeutics 121: 41-54, 2009.
11. Sharma, M.; Thakral, N. y Thakral, S. Natural Product Radiance 8 (2): 181-189, 2009.
12. Goyal, S.K.; Samsheer, S. y Goyal, R.K. Int. J. Food Sci. Nutr. 61 (1): 1-10, 2010.
13. Salunkhe, V.R. y Bhise, S.B. Indian Drugs 47 (2): 5-13, 2010.
14. Madan, S.; Ahmad, S.; Singh, G.N.; Kohli, K.; Kumar, Y.; Singh, R. y Garg, M. Ind. J. Nat. Prod. Res. 1 (3): 267-286, 2010.
15. Brahmachari, G.; Mandal, L.C.; Roy, R.; Mondal, S. y Brahmachari, A.K. Arch. Pharm. Chem. Life Sci. 1: 5-19, 2011.
16. Yadav, A.K.; Singh, S.; Dhyani, D. y Ahuja, P.S. J. Plant Sci. 91: 1-7, 2011.
17. Ceunen, S. y Geuns, J.M.C. J. Nat. Prod. 76: 1201-1228, 2013.
18. Pawar, R.S.; Krynitsky, A.J. y Rader, J.I. Anal. Bioanal. Chem. 405: 4397-4407, 2013.
19. Soejarto, D.D.; Compadre, C.M.; Medon, P.J.; Kamath, S.K. y Kinghorn, A.D. Econ. Bot. 37: 71-79, 1983.
20. Lester, T. Aust. New Crops News Lett. 11. Nat. Prod. Radiance 2: 120-124, 1999.
21. Robinson, R.L. Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University Cambridge, MA., The Gray Herbarium of Harvard University, 1930, pp. 78-91.
22. Shock, C.C. California Agric. 36: 4-5, 1982.
23. Monteiro, R. Rev. Bras. Bot. 5: 5-15, 1982.
24. Landázuri, P. y Tigrero, J. Generalidades. En Stevia rebaudiana Bertoni, una planta medicinal. Boletín Técnico. Edición especial. P.A. Landázuri y J.O. Tigrero (Eds.). Sangolquí, Ecuador, ESPE, 2009.
25. Sagakuchi, M. y Tatasuiko, K. Ciencia e Cultura 34 (2): 235-248, 1982.
26. Ramírez, L.E., Informe agronómico sobre el cultivo de Stevia rebaudiana, la hierba dulce. Asociación Camino al Progreso. Ecuador. 8 p., 2005.
27. Singh, S.D. y Rao, G.P. Sugar Technol. 7: 17-24, 2005.
28. Kim, S.H. y Dubois, G.F. Natural high potency sweeteners. En Handbook of Sweeteners. Marie S., Piggott J.R. (Eds.), Glasgow, Blackie Avi, 1991.

29. Prakash, I.; DuBois, G.E.; Clos, J.F.; Wilkens, K.L. y Fosdick, L.E. *Food Chem. Toxicol.* 46: S75-S82, 2008.
30. Shibata, H.; Sawa, Y.; Oka, T.; Sonoke, S.; Kim, K.K. y Yoshioka, M. *Arch. Biochem. Biophys.* 321: 390-396, 1995.
31. Kinghorn, A.D. *J. Nat. Prod.* 50: 1009-1024, 1987.
32. Dacome, A.S.; da Silva, C.C.; da Costa, C.E.M.; Fontana, J.D.; Adelman, J. y da Costa, S.C. *Process Biochem.* 44: 3587-3594, 2005.
33. Sekaran, T.; Giridhar, P. y Ravishankar, G.A. *J. Sci. Food Agric.* 87: 420-424, 2007.
34. Starrat, A.N.; Kirby, C.W.; Pocs, R. y Brandle, J.E. *Phytochem.* 59: 367-370, 2002.
35. Ashwini, K.S. Production of multiple shoots and somatic embryogenesis in *Stevia rebaudiana* Bertoni through in vitro propagation. [M.Sc. (Agri.) thesis], UAS, Bangalore, India, 1996.
36. Chalapathi, M.V.; Shivaraj, B. y Ramakrishna Prama, V.R. *Crop Res.* 14: 205-208, 1997.
37. DuBois, G.E. Sweeteners: non-nutritive. En *Encyclopedia of Food Science and Technology*, F.J. Francis (Ed.), New York, John Wiley and Sons, Inc., Vol. 4, 2000, pp. 2245-2265.
38. Brandle, J. *Can. J. Plant Sci.* 79: 85-92, 1999.
39. Oddone, B. How to grow *Stevia*. Pawcatuck, Connecticut, Guarani Botanicals, Inc., 1999, pp. 1-30.
40. Soto, A.E. y Del Val, S. *Rev. Cienc. Agr. Tecnol. Alim.* 20: 5-9, 2002.
41. Kinghorn, A.D. y Soejarto, D.D. Current status of stevioside as a sweetening agent for human use. En *Economic and Medical Plant Research*, H. Wagner, H. Hikino y N.R. Farnsworth (Eds.), London, Academic Press, 1985, Vol. 1, pp. 1-52.
42. Pasquel, A.; Meireles, M.A.A.; Marques, M.O.M. y Petenate, A.J. *Braz. J. Chem. Eng.* 17(3): 271-282, 2000.
43. Curi R.; Alvarez M.; Bazotte R.B.; Botion L.M.; Godoy J.L. y Bracht A. *Brazil J. Med. Biol. Res.* 19: 771-774, 1986.
44. Jeppesen, P.B.; Gregersen, S.; Poulsen, C.R. y Hermansen, K. *Metabolism* 49: 208-214, 2000.
45. Melis, M.S. *J. Ethnopharmacol.* 47: 129-134, 1995.
46. Melis, M.S. y Sainati, A.R. *J. Ethnopharmacol.* 33: 257-262, 1991.
47. Geuns, J.M.C.; Buysse, J.; Vankeirsbilck, A. y Temme, E.H. *Exp Biol Med* 232:164-173, 2007.
48. Krejci, M.E. y Koechel, D.A. *Toxicology* 72: 299-313, 1992.
49. Toskulkao, C.; Chaturat, L.; Temcharoen, P. y Glinsukon, T. *Drug. Chem. Toxicol.* 20: 31-44, 1997.
50. Aze, Y.; Toyoda, K.; Imaida, K.; Hayashi, S.; Imazawa, T.; Hayashi, Y. y Takahashi, M. *Bull. Nat. Inst. Hyg. Sci.* 109: 48-54, 1991.
51. JECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Steviol glycosides [Addendum to stevioside]. En *Safety Evaluation of Certain Food Additives. Sixtythird Meeting of the Joint FAO/WHO Expert on Food Additives*, June 8-17, 2005, Geneva. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/World Health Organization (WHO); Geneva, WHO Food Additives Series, No. 54, pp. 117-144 & 638, 2006.
52. Wheeler, A.; Boileau, A. C.; Winkler, P.C.; Compton, S.C.; Prakash, J. y Jiang, X. *Food Chem. Toxicol.* 46: S54-S60, 2008.
53. Pezzuto, J.M.; Nanayakkara, N.P.; Compadre, C.M.; Swanson, S.M.; Kinghorn, A.D.; Guenther, T.M.; Sparnins, V.L. y Lam, L.K. *Mutat. Res.* 169 (3): 93-103, 1986.
54. Pezzuto, J.M.; Compadre, C.M.; Swanson, S.M.; Nanayakkara, D. y Kinghorn, A.D. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82 (8): 2478-2482, 1985.
55. Suttajit, M.; Vinitketkaumnun, U.; Meevatee, U. y Buddhasukh, D. *Environ. Health Perspect.* 101 (Suppl 3): 53-56, 1993.
56. Matsui, M.; Matsui, K.; Kawasaki, Y.; Oda, Y.; Noguchi, T.; Kitagawa, Y.; Sawada, M.; Hayashi, M.; Nohmi, T.; Yoshihira, K.; Ishidate, M. y Sofuni, T. *Mutagenesis* 11 (6): 573-579, 1996.
57. Klongpanichpak, S.; Temcharoen, P.; Toskulkao, C.; Apibal, S. y Glinsukon, T. *J. Med. Assoc. Thai* 80 (Suppl 1): S121-S128, 1997.
58. Toyoda, K.; Matsui, H.; Shoda, T.; Uneyama, C.; Takada, K. y Takahashi, M. *Food Chem. Toxicol.* 35 (6): 597-603, 1997.
59. Sekihashi, K.; Saitoh, H. y Sasaki, Y. *J. Toxicol. Sci.* 27 (Suppl 1): 1-8, 2002.
60. Yasukawa, K.; Kitanaka, S. y Seo, S. *Biol. Pharm. Bull.* 25 (11): 1488-1490, 2002.
61. López, E. *Estevia (Stevia rebaudiana Bertoni)* <http://www.terra.org/articulos/art02039.html> (consultado en julio 1, 2012), 2009.
62. Cardello, H.M.; Da Silva, M.A. y Damasio, M.H. *Plant Food Hum. Nutr.* 54: 119-130, 1999.
63. Brandle, J.E. y Rosa, N. Heritability for yield, leaf: stem ratio and stevioside content estimated from a landrace cultivar of *Stevia rebaudiana*. <http://res2.agr.ca/london/pmrc/faq/cjps-ste.html>. (consultado en Junio 28, 2000), 1998.
64. Shizuka, H. *Japan Food Sci.* 21: 24-30, 1982.