



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA



Análisis de las características fitoquímicas, propiedades farmacológicas, usos y aplicaciones más comunes de la Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) en Ecuador

Trabajo de Titulación, Modalidad: Proyectos de Investigación, previo la obtención del Título de Ingeniera Bioquímica, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Cynthia Elizabeth Miranda Ramos

Tutor: PhD. José Homero Vargas López

Ambato-Ecuador

Marzo-2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

PhD. José Homero Vargas López

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este trabajo de titulación bajo la Modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 01 de Febrero del 2022

PhD Homero Vargas López

C.I. 1801978048

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Cynthia Elizabeth Miranda Ramos, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniera Bioquímica son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.

Cynthia Elizabeth Miranda Ramos

C.I. 1805307293

AUTORA

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad proyecto de investigación, mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Presidente del Tribunal

Mg. Danae Fernández Rivero
C.I 1757181209

Mg. Juan de Dios Espinoza Moya
C.I: 1803201431

Ambato, 11 de Marzo de 2022

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de Titulación o parte de este un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública. Además, apruebo la reproducción de este trabajo dentro de las regulaciones de la universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.

Cynthia Elizabeth Miranda Ramos

C.I. 1805307293

AUTORA

DEDICATORIA

En primer lugar, quisiera dedicar el presente trabajo a Dios, porque me regaló la vida y me lleno de las herramientas necesarias para poder cumplir mi objetivo de ser profesional.

A mis padres Juan Miranda y Clemencia Ramos quienes con su esfuerzo y trabajo duro me dieron la posibilidad de estudiar y me ayudaron económicamente de manera incondicional a pesar de las duras situaciones que se atravesaron.

Dedico mi tesis a mi hermano Sebastián, porque es mi mejor amigo, quien nunca permitió que me rindiera aun cuando parecía que todo iba por mal camino, porque ha sido mi compañero en todas mis luchas y mis noches de desvelos a lo largo de mi carrera y también cuando egrese.

Con mucho cariño, a mis ángeles del cielo, mis abuelitos: Orlando, Teresa, Manuel y María Dolores con quienes compartí mucho o poco tiempo y que sé, que desde arriba donde se encuentran, están orgullosos de mí y les hubiera gustado estar aquí para celebrar conmigo. Sin embargo, conservo sus enseñanzas y su amor siempre está presente en mi a cada paso que he dado y daré a futuro.

Por y para ustedes, los amo con todo el corazón

Cynthia Elizabeth

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la vida, porque estoy aquí con algún propósito y a pesar de cualquier golpe que me dé la vida, sé que el mismo sabrá darme la fuerza para superarla. Agradezco a mis padres Juan y Clemencia por haber hecho de mí una persona de bien, y por su apoyo incondicional a lo largo de toda mi vida. A mi hermano Sebastián por su apoyo y complicidad en todas las etapas de mi vida, gracias a ti nunca me he sentido sola ñaño te amo mucho.

A mis tíos, primos y demás familia, quienes siempre han estado apoyándome y dándome ánimos para poder culminar esta etapa de mi vida, de manera muy especial a mis tías Bachita, Piedad y Tere quienes me han tratado como una hija más y me han ayudado tanto moral como económicamente en medida de sus posibilidades, y siempre seré agradecida por la confianza que han tenido y tienen en mí.

A la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos que me abrió sus puertas para poder adquirir conocimientos y experiencias que quedarán guardadas en mi corazón por siempre, agradezco al personal docente que pude conocer y que con el tiempo se convirtieron en grandes amigos, Ing. Bolívar Morales, Ing. Patricio Orozco, Ing. Yoel Hernández, Mg. Alex Valencia, Dr. Orestes López y con mucho respeto en memoria del Dr. Carlos Rodríguez quien fue un gran docente y un gran ser humano digno de admiración.

A mi tutor, Dr. Homero Vargas por su guía y apoyo a lo largo del presente trabajo, por su confianza y su amistad. Al Ing. Andrés Robalino por su predisposición y guía en el presente trabajo para que saliera de la mejor manera.

A mis amiguis que hice en la facultad, con quienes empecé este sueño y lo vamos a terminar juntos, gracias a ustedes las clases nunca fueron aburridas y su amistad fue muchas veces ese empuje para no tirar la toalla, gracias Dieguito Rubio, Dieguito Tobar, Naty, Esteban, Bryan, Samy, Sancheins y un abrazo al cielo amigui John.

Por último y no menos importante quiero agradecer infinitamente a Fernando, gracias amor porque tu apoyo ha sido fundamental para poder lograr esto.

Gracias totales a todos lo que de alguna forma fueron parte de esto. Gracias a ustedes lo Logré.

Cynthia Elizabeth.

ÍNDICE GENERAL

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO.....	iv
DERECHOS DE AUTOR.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xii
CAPÍTULO I	1
ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	1
1.1 Justificación	1
1.2 Antecedentes.....	2
1.2.1 <i>Stevia rebaudiana</i>	2
1.2.2 Información botánica	3
1.2.3 Propagación de <i>Stevia rebaudiana</i> Bert.....	4
1.2.4 Antecedentes investigativos.....	4
1.3 Objetivos.....	5
1.3.1 Objetivo General.....	5
1.3.2 Objetivos Específicos	5
CAPÍTULO II.....	7
METODOLOGÍA.....	7
2.1 Investigación.....	7
2.1.2 Bases de datos científicas.....	7
2.1.3 Ilustraciones	8
CAPÍTULO III	9
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	9
3.1 Características fitoquímicas	9
3.1.1 Metabolitos	9
3.1.2 Métodos de extracción de metabolitos.....	10
3.1.3 Metabolitos presentes en <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	10
3.1.3.1 Carbohidratos.....	15
3.1.3.2 Glucósidos	16
3.1.3.2.1 Extracción de los glucósidos.....	16

3.1.3.3 Taninos.....	17
3.1.3.4 Compuestos fenólicos	17
3.1.3.5 Proteínas y aminoácidos	19
3.1.3.6 Lípidos	21
3.1.3.7 Vitaminas y minerales	22
(Miranda,2022).....	22
3.2 Aplicaciones Farmacéuticas	23
3.2.1 Actividad antihiper glucemiante	24
.....	26
3.2.2 Actividad antihipertensiva	26
3.2.3 Actividad antioxidante	27
3.2.4 Actividad antibacteriana	29
3.2.5 Actividad anticancerígena.....	30
3.2.6 Actividad antiinflamatoria	31
3.2.7 Toxicidad	31
3.3 Aplicaciones en la industria	33
3.4 Discusión	34
CAPÍTULO IV.....	36
CONCLUSIONES	36
4.1 Conclusiones	36
CAPÍTULO V	38
BIBLIOGRAFÍA	38
5.1 Bibliografía	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición fitoquímica de <i>S. rebaudiana</i> Bertoni	10
Tabla 2. Aplicaciones biológicas de <i>S. rebaudiana</i> Bertoni	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	3
Figura 2. Hojas de <i>S. rebaudiana</i> Bertoni	4
Figura 3. Glucosa, estructura básica de los carbohidratos.....	15
Figura 4. Glucósidos de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	16
Figura 5. Estructura básica de los taninos	17

Figura 6. <i>Compuestos fenólicos en S. rebaudiana</i>	19
Figura 7. Aminoácidos esenciales de <i>S. rebaudiana</i>	20
Figura 8. Aminoácidos no esenciales de <i>S. rebaudiana</i>	21
Figura 9. Ácidos grasos de <i>S. rebaudiana</i>	22
Figura 10. Vitaminas en <i>S. rebaudiana</i>	22
Figura 11. TTOG después de administrado 1g/kg de almidón, 0,5mg/kg de acarbosa y 25 mg/kg de cada extracto a ratas Wistar. Día 30.	25
Figura 12. Grupos de ratas con diferentes dietas. No y Do: grupos control; D1-D4: grupos a los cuales se les administró diferentes concentraciones de extractos.	26
Figura 13. Porcentajes de PAS en ratas tratadas con extractos de <i>S. rebaudiana</i> con dosis de 25 mg/kg.	27
Figura 14. Efecto del uso de diferentes mezclas de glucósidos de esteviol sobre la proliferación o viabilidad de los fibroblastos.	28
Figura 15. Actividad de la lactato deshidrogenasa.	29
Figura 16. Halos de inhibición en cm de los extractos de <i>S. rebaudiana</i>	29
Figura 17. Evaluación de la citotoxicidad del esteviol frente a las células cancerosas MCF-7 a diferentes concentraciones.	30
Figura 18. Actividad negativa de insuficiencia cardíaca provocada por <i>S. rebaudiana</i>	32
Figura 19. Actividad negativa de insuficiencia hepática provocada por <i>S. rebaudiana</i>	32
Figura 20. Actividad negativa de insuficiencia renal provocada por <i>S. rebaudiana</i>	32

RESUMEN

Según la Organización Mundial de la Salud en la actualidad la medicina tradicional es considerada ente fundamental en la salud de las comunidades. El género *Stevia* representa uno de los más diversos de la familia Asteraceae. La especie más conocida a nivel mundial es *Stevia rebaudiana* Bertoni, llamada comúnmente “hoja de miel”. La investigación tuvo como propósito indagar sobre la composición fitoquímica y aplicaciones tanto industriales como farmacéuticas de la especie *Stevia rebaudiana* Bertoni en Ecuador. Para el desarrollo del estudio se plantearon criterios de inclusión y exclusión como: artículos y documentos tomados de bases de datos científicas, e investigaciones realizadas desde el año 2015 tanto en inglés como español, dando como resultado un total de 87 artículos analizados, de los cuales 64 fueron utilizados para la presente revisión.

Se describieron los grupos funcionales de la especie en estudio y sus metabolitos secundarios en el tamizaje químico. Los componentes principales son los glucósidos de esteviol: esteviósido y rebaudiósido-A, estos representan el 2,4 por ciento del peso de hojas secas que junto con el resto de componentes le otorgan a *Stevia rebaudiana* propiedades anticancerígenas, antihipertensivas, antimicrobianas y antihiperglucémicas. Esta última permite que la población que padece de obesidad la use en el tratamiento como endulzante no calórico. En cuanto a las aplicaciones industriales, las empresas ya han reemplazado la sacarosa por glucósidos de esteviol en sus bebidas ya sean estas carbonatadas o no, debido a que no producen efectos adversos en la salud de las personas.

Palabras Clave: Investigación Bibliográfica, farmacología, etnobotánica, industria alimentaria, plantas medicinales, edulcorantes, *Stevia*

ABSTRACT

According to World Health Organization nowadays traditional medicine it's considered a fundamental part of health in communities. The genus *Stevia* represents one of the most diverse in the family Asteraceae. The species most known worldwide as *Stevia rebaudiana* Bertoni, commonly called "leaf of honey". The investigations' main purpose was to research about the phytochemical composition and the industrial and pharmaceutical applications of the species *Stevia rebaudiana* Bertoni in Ecuador. For the development of this study, we established inclusion and exclusion criteria, like articles and documents taken from scientific databases and investigations conducted since 2015 in English as well as in Spanish resulting in total of 87 articles pre-selected, of which 64 were included.

In this study we described the functional groups of the species as well as the secondary metabolisms in chemical screening. The principal components are glucosides of Steviol: Stevioside and rebaudioside-A, that represent 2.4 percent of the weight of dried leaves that together with the rest of components, they give *Stevia rebaudiana* anticancer, antihypertensive, antimicrobial and antihyperglycemic properties. This last one allows the population with obesity to use them in the treatment as no caloric sweeteners. About the industrial properties the companies have replaced the saccharose for glucosides of steviol their drinks either if they are carbonated drinks or not due to the fact that they do not produce adverse effects in the health of the people.

Key words: Bibliographic research, pharmacology, ethnobotany, food industry, medicinal plants, sweeteners, *Stevia*.

CAPÍTULO I

ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

En este capítulo se aborda información sobre la importancia del estudio de *Stevia rebaudiana* Bertoni, los usos generales que se le atribuyen, su taxonomía, descripción botánica y algunos análisis previos que se han realizado sobre la composición y aplicaciones de esta especie. Además, se establecen los objetivos a desarrollarse en el transcurso del proyecto.

1.1 Justificación

El ser humano a través de la historia ha utilizado las plantas como un recurso para resguardar la salud y la vida (Pazos, et al, 2019). La medicina tradicional y natural es considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un tratamiento inocuo, efectivo y con un costo racional que es asequible para la población. En los países en desarrollo, estos remedios con frecuencia son considerados la única opción, ya que son económicamente factibles (Bussmann, 2018). Ecuador, es conocido a nivel mundial como uno de los países que contiene la mayor biodiversidad en cuanto a conocimiento ancestral y riqueza cultural relacionada a plantas medicinales (Jaramillo et al. 2016), sin embargo, existe una gran variedad de especies vegetales cuya composición fitoquímica, características toxicológicas y efectos terapéuticos no han sido estudiados (Borgo et al. 2021).

Varias de las familias botánicas presentes en Ecuador contienen diversos metabolitos secundarios como terpenoides, ácidos grasos, ésteres, bencenoides, y algunos hidrocarburos volátiles (Echavarría et al. 2020).

El género *Stevia* representa uno de los más diversos de la familia Asteraceae. Está distribuido en América, desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Chile y Argentina. Comprende hierbas y arbustos que habitan desde los 500 hasta 3.000 m.s.n.m. en pastizales, laderas de montañas, bosques de coníferas y terrenos montañosos semisecos (Aldana and Carreño Macías 2018). La especie más conocida a nivel mundial es *Stevia rebaudiana* Bertoni, llamada comúnmente en Ecuador como

“hoja de miel”, planta capaz de sintetizar en sus hojas un glucósido de naturaleza diterpénica, denominado esteviósido, el cual le confiere un sabor dulce intenso, también exhibe propiedades sensoriales y funcionales con beneficios terapéuticos contra la diabetes, hipertensión y obesidad (Arumugam, Subramaniam, and Alagaraj 2020). Alrededor del 85% de su composición corresponde a nutrientes como proteínas, lípidos, fibra, monosacáridos, aceites esenciales y vitaminas. Funciona como un gran antioxidante, ya que contiene apigenina, quercetina, mioceno, luteolina, entre otros, lo que la convierte en un suplemento dietético que protege al organismo de los efectos nocivos del estrés oxidativo (Leonardo and Haro 2015). También presenta ciertos minerales, por ejemplo, cobalto, magnesio, hierro, potasio y fósforo, lo que hace que países como Japón se interesen en comercializar glucósidos de esteviol en la industria farmacéutica y alimentaria, con el fin de reemplazar la sacarosa y tratar enfermedades como la diabetes mellitus, obesidad, caries e hipertensión (Ardisana, Garcia, and Solorzano 2020).

El propósito de este proyecto investigativo fue recolectar información sobre la composición fitoquímica, aplicaciones biológicas, usos y propiedades de la especie *Stevia rebaudiana* Bertoni, ya que no existen trabajos similares en Ecuador que agrupen toda esta información, además se pretende proporcionar un punto de referencia que pueda ser de utilidad en futuras investigaciones.

1.2 Antecedentes

1.2.1 *Stevia rebaudiana*

Stevia rebaudiana es una planta nativa de Sudamérica, específicamente del norte de Paraguay. Perteneció al género *Stevia*, el cual consta con alrededor de 230 especies, pero solamente *S. rebaudiana* confiere efectos de endulzamiento (Ruiz-Ruiz, Moguel-Ordoñez, and Segura-Campos 2017). Es conocida comúnmente como hoja de miel, hoja de caramelo, hierba dulce, entre otras. Esta planta está siendo reconocida mundialmente por su capacidad de actuar como edulcorante no calórico, y es destinada a personas consientes del consumo de azúcares y carbohidratos (Hossain et al., 2017). *S. rebaudiana* es un cultivo introducido a Ecuador, se presume que los primeros individuos se ingresaron desde Colombia y en la actualidad se cultiva en varias provincias del país, por ejemplo, Manabí, Pichincha, Loja, Guayas, etc. (Técnico and Especial, 2009).

1.2.2 Información botánica

S. rebaudiana Bertoni es una planta perenne perteneciente a la familia Asteraceae. En la literatura se la describe como un arbusto con extensas raíces y tallos quebradizos, presenta pocas ramificaciones y varía en tamaño de 30 a 50 cm. En cultivos crece en forma de dosel de 70 a 140 cm (Bussmann, 2018). Sus hojas son simples y subsésiles, la forma de estas depende de los diversos genotipos. Sus flores son blancas con inflorescencia en capítulos y su corola exhibe pelos externos. Las semillas se encuentran en aquenios, es decir, frutos secos con una semilla, en la cual su envoltura externa no se encuentra unida a la semilla (Bihan et al., 2020).

La taxonomía de *S. rebaudiana* Bertoni se encuentra establecida de la siguiente manera:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Stevia*

Especie: *Stevia rebaudiana* Bertoni

Fuente: (Ijaz et al. 2015)



Figura 1. *Stevia rebaudiana* Bertoni (Ijaz et al. 2015)



Figura 2. Hojas de *S. rebaudiana* Bertoni (Khiraoui et al., 2017)

1.2.3 Propagación de *Stevia rebaudiana* Bert.

La reproducción de Stevia se efectúa de tres modos: sexual, asexual y por cultivo *in vitro* de tejidos vegetales. De forma sexual se realiza mediante aquenios, por polinización cruzada, debido a la lenta y desigual floración las semillas deben almacenarse en la oscuridad, en lugares secos y a bajas temperaturas, aún con estas condiciones el porcentaje de germinación es relativamente bajo, entre 10 y 38% (Martínez, 2015).

En cuanto a la reproducción asexual, el mejor método es la propagación agámica, es decir, que se efectúa mediante diferentes partes de la planta como raíces, tallos, hojas, etc., los cuales son denominados propágulos. Este método permite conservar las características de la planta madre, y por lo general no se generan mutaciones genéticas (Martínez, 2015).

El cultivo *in vitro* de *S. rebaudiana* genera resultados con alta viabilidad, ya que se obtiene una gran cantidad de plantas utilizando sistemas RITA (Recipient for Automated Temporary Immersion) logrando 11,8 brotes en cada planta (Ramírez-Mosqueda et al., 2016).

1.2.4 Antecedentes investigativos

Stevia rebaudiana Bertoni ha sido ampliamente estudiada por sus múltiples beneficios, Fabrizio Ferrazzano et al. (2015) recopilaron investigaciones sobre esta especie para determinar la capacidad edulcorante sin efectos cariogénicos, los resultados mostraron que los extractos de esta planta no producen caries en la población adulta, pero sugieren realizar estudios *in vivo* con pacientes pediátricos.

Bursac Kovačević et al. (2018) realizaron un estudio en donde se discuten las diferentes técnicas innovadoras de extracción de nutrientes con supuestos beneficios para la salud humana, ya que los sistemas convencionales presentan desventajas como la desnaturalización de ciertos componentes, el uso de solventes orgánicos o el alto consumo de energía.

Ahmad et al. (2020) elaboraron una revisión bibliográfica sobre *S. rebaudiana*, su composición y aplicaciones industriales como sustituto de azúcares tradicionales, además incluyeron evidencia de que es segura para el consumo humano, aunque sugieren más estudios clínicos para proporcionar mayor información.

Hossain et al. (2017) recopilaron varias investigaciones en las cuales señalan la tecnología de cultivo de *Stevia rebaudiana* para obtener un mayor rendimiento en cuanto a metabolitos de interés. Mencionan que las hojas de stevia presentan un rendimiento óptimo y esteviósidos de calidad justo antes de la floración.

Bursac et al. (2018) elaboraron una revisión bibliográfica en la que describieron a *Stevia rebaudiana* Bertoni, su composición fitoquímica y los métodos de extracción de los principios activos que esta contiene. Señalaron métodos convencionales como extracción con solventes orgánicos, y no convencionales como extracción por ultrasonido, microondas entre otros, con los cuales se obtiene mayor rendimiento. Finalmente mencionaron formas de purificación de dichos compuestos.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

- Analizar las características fitoquímicas, propiedades farmacológicas, usos y aplicaciones más comunes de la stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) en Ecuador.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Analizar la composición fitoquímica de *Stevia rebaudiana* Bertoni.

- Determinar la importancia del uso de *Stevia rebaudiana* Bertoni a nivel farmacéutico.
- Identificar los usos etnobotánicos y aplicaciones en la industria alimentaria de *Stevia rebaudiana* Bertoni.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1 Investigación

El presente proyecto trata sobre una investigación bibliográfica, en la cual se utilizaron diversos criterios como:

2.1.2 Bases de datos científicas

Se realizó una búsqueda sistemática usando bases de datos científicas que tenían información relacionada con el tema del proyecto, como: Science Direct, Espacenet, Scientific Electronic Library Online, Natura, LANCET, Agroindustrial Science, Scopus, REDALYC, Google académico, Pubment, LANCET, CHEMICAL REVIEWS, The Plant List.

Para el análisis de la información se utilizaron ciertos criterios de inclusión como:

- Libros y artículos obtenidos de bases de datos científicas.
- Publicaciones realizadas a partir del año 2015, en inglés y español, que incluían palabras clave como esteviósido, stevia, diabetes, obesidad, metabolitos secundarios.

Se excluyeron aquellos libros digitales o publicaciones científicas que no cumplían con los criterios antes mencionados.

El material preseleccionado incluyó un total de 107 investigaciones entre artículos y libros digitales, de los cuales 83 fueron utilizados para la presente revisión. Para la selección del material relevante se consideraron aquellos estudios que tuvieron concordancia con los objetivos planteados, es decir, la composición fitoquímica, aplicaciones biológicas y usos de *Stevia rebaudiana* Bertoni en Ecuador.

2.1.3 Ilustraciones

Para la representación de las estructuras químicas se empleó la plataforma virtual “Chemdraw”, mediante la cual se realizaron las figuras de los diversos componentes químicos presentes en *Stevia rebaudiana* Bertoni como glucósidos de esteviol, antocianinas, entre otros.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Características fitoquímicas

La fitoquímica es la ciencia que se encarga del análisis de la composición química de las diferentes estructuras de especies vegetales. Es la unidad fundamental para el estudio de fármacos con amplia actividad biológica, ya sea propiedades anticancerígenas, antimicrobianas, antioxidantes, entre otras. Además dichos compuestos son los responsables de otorgar ciertas características a las plantas, por ejemplo, aromas, sabores, pigmentos, etc. (Phillipson, 2007).

Varios estudios han demostrado que la composición fitoquímica de una especie está estrechamente relacionada con las condiciones en las que se desarrolla la planta, es decir, la síntesis de varios compuestos se ven afectados por la radiación solar, estrés mineral, temperatura, disponibilidad de agua, agentes oxidantes, entre otras (Salazar-García, et al., 2016).

3.1.1 Metabolitos

Las plantas son seres autótrofos, es decir, que elaboran su propio alimento mediante diferentes procesos. Dichos compuestos son considerados como metabolitos primarios o secundarios. Los metabolitos primarios (MP) son aquellos que le permiten a la planta crecer y desarrollarse, por ejemplo, carbohidratos, ácidos grasos, clorofilas, etc. (Reyes-Silva, et al., 2020). En cambio, los metabolitos secundarios (MS) son compuestos químicos que generan las especies vegetales y que juegan un rol muy importante, ya que sirven como intercambio de señales, mecanismo de defensa, respuesta a daños de algún tejido, entre otros. Se han reportado varios MS de entre los cuales se destacan alcaloides, compuestos fenólicos, glicósidos, terpenos, cianógenos y saponinas (Hernández-Alvarado et al., 2018).

3.1.2 Métodos de extracción de metabolitos

La metodología de extracción debe regirse a la naturaleza química de los compuestos que se desean obtener. Existen varios métodos que se utilizan en los laboratorios e industrias para obtener los diversos metabolitos, por ejemplo, con fluidos supercríticos, maceraciones con aceites, extracción por microondas, arrastre de vapor de agua, y la forma más común es extracción Soxhlet utilizando solventes orgánicos. Este último es empleado dependiendo las solubilidades de los compuestos a extraer, para lípidos que presentan baja polaridad se utilizan solventes como éter de petróleo y cloroformo, para aquellos de polaridad media y alta etanol, acetato de etilo, entre otros (Gómez, 2018).

3.1.3 Metabolitos presentes en *Stevia rebaudiana* Bertoni

S. rebaudiana ha sido utilizada en varios estudios, ya que presenta diversos beneficios para la salud de las personas, la principal es su función de edulcorante natural no calórico, ofreciendo una alternativa para el tratamiento de la diabetes y obesidad. Por tal motivo se han realizado varias investigaciones para determinar la composición fitoquímica de la planta, la cual se detalla en la tabla 1 a continuación. Cabe recalcar que la presencia de ciertos componentes químicos varía según el quimiotipo de la planta, el área geográfica donde se encuentra, los métodos de aireación y procesamiento a los que se les somete (Veach et al., 2019).

Tabla 1. Composición fitoquímica de *S. rebaudiana* Bertoni

Grupo funcional	Contenido	Parte	Tipo de extracción	Referencia
carbohidratos	+++	Hojas	Maceración/ Solventes orgánicos	(Ritu and Nandini 2016)
Glucósidos	+++	Hojas	Hidrodestilación/agua	(Khiraoui et al., 2017)
Taninos	+++	Hojas	Soxhlet/ Solventes orgánicos	(Howlader et al. 2016)

Compuestos fenólicos	++	Hojas	Solventes orgánicos	(Gawel-Beben et al. 2015b)
Proteínas	+	Hojas	Maceración/ Solventes orgánicos	(Ritu and Nandini 2016)
Aminoácidos	+++	Hojas	Maceración/ Solventes orgánicos	(Abou-Arab et al., 2010)
Lípidos	+	Hojas	Maceración/ Solventes orgánicos	(Ritu and Nandini 2016)
Vitaminas	++	Hojas	Solventes orgánicos	(Abou-Arab et al., 2010)
Minerales	+	Hojas	Solventes orgánicos	

Tabla 2. Metabolitos presentes en *S. rebaudiana* Bertoni

Grupo funcional	Metabolito	Concentración	Referencia
Carbohidratos	Monosacáridos y polisacáridos	61,93%/100g muestra	(Esmat Abou-Arab, Azza Abou-Arab, and Ferial Abu-Salem 2010)
Glucósidos	Esteviósido	5-10% del peso de hojas secas	(Yadav et al. 2011)
	Rebaudiósido-A	2.4% del peso de hojas secas	
	Rebaudiósido-C	1.2 % del peso de hojas secas	
	Dulcósido-A	ND	

Taninos	G	1085.8 mg/100 g de extracto	(González-Chavira et al. 2018)
Compuestos fenólicos	Ácido cafeico	0.28 ± 0.08 mg/g de extracto	
	Ácido clorogénico	0.3 ± 0.01 mg/g de extracto	
	Ácido ferúlico	5.50 ± 0.23 mg/g de extracto	
	Ácido protocatéchico	0.12 ± 0.05 mg/g de extracto	(Gaweł-Bęben et al., 2015)
	Ácido rosmarínico	0.36 ± 0.04 mg/g de extracto	
Flavonoides	Ácido salicílico	0.06 ± 0.02 mg/g de extracto	
	Catequina	0.24 ± 0.04 mg/g de extracto	(Gaweł-Bęben et al., 2015)
	Epicatequina	0.11 ± 0.05 mg/g de extracto	
	Luteolina	0.03 ± 0.01 mg/g de extracto	
Proteínas	Rutina	0.17 ± 0.07 mg/g de extracto	
	G	226.83 a 374.67 mg/g extracto	(Gaweł-Bęben et al., 2015)
	Arginina	0.45 g/100g hojas secas	
	Lisina	0.70 g/100g hojas secas	

Aminoácidos	Histidina	1.13 g/100g hojas secas	(Esmat Abou-Arab et al. 2010)
	Fenilalanina	0.77 g/100g hojas secas	
	Leucina	0.98 g/100g hojas secas	
	Metionina	1.45 g/100g hojas secas	
	Valina	0.64 g/100g hojas secas	
	Treonina	1.13 g/100g hojas secas	
	Isoleucina	0.42 g/100g hojas secas	
	Aspartato	0.37 g/100g hojas secas	
	Serina	0.46 g/100g hojas secas	
	Ácido glutámico	0.43 g/100g hojas secas	
	Prolina	0.17 g/100g hojas secas	
	Glicina	0.25 g/100g hojas secas	
	Alanina	0.56 g/100g hojas secas	
	Cisteína	0.40 g/100g hojas secas	

	tirosina	1.08 g/100g hojas secas	
Lípidos	Ácido palmítico	29.5 g/100g hojas secas	
	Ácido palmitoleico	3 g/100g hojas secas	
	Ácido esteárico	4 g/100g hojas secas	
	Ácido oleico	9.9 g/100g hojas secas	(Goyal, Samsher, and Goyal 2010)
	Ácido linoleico	16.8 g/100g hojas secas	
	Ácido linolénico	32.6 g/100g hojas secas	
Vitaminas	Vitamina C	14.98 mg/ 100 g hojas secas	
	Vitamina B2	0.43 mg/ 100 g hojas secas	(Kim et al. 2011)
	Ácido fólico	52.18 mg/ 100 g hojas secas	
Minerales	Potasio	21.15 ± 0.35 mg/100 g en peso	
	Calcio	17.70 ± 0.20 mg/100 g en peso	
	Sodio	14.93 ± 0.05 mg/100 g en peso	(Esmat Abou-Arab et al. 2010)
	Magnesio	3.26 ± 0.58 mg/100 g en peso	

Cobre	0.73 ± 0.002 mg/100 g en peso
Manganeso	2.89 ± 0.58 mg/100 g en peso
Hierro	5.89 ± 0.34 mg/100 g en peso
Zinc	1.26 ± 0.72 mg/100 g en peso

ND: presencia no cuantificada, G: General

3.1.3.1 Carbohidratos

Los carbohidratos comúnmente son definidos como poli-hidroxi-aldehídos, alcoholes, ácidos, cetonas, entre otros, y están unidos mediante enlaces poliméricos. También pueden ser clasificados de acuerdo a su grado de polimerización, por ejemplo, mono y disacáridos (azúcares), oligosacáridos (unión de tres a nueve monosacáridos) y polisacáridos (poseen diez o más monosacáridos) (Delbianco et al. 2015).

S. rebaudiana Bertoni contiene alrededor de 61.93% de carbohidratos a partir de 100 gramos de muestra de polvo de hojas secas (Esmat Abou-Arab et al. 2010).

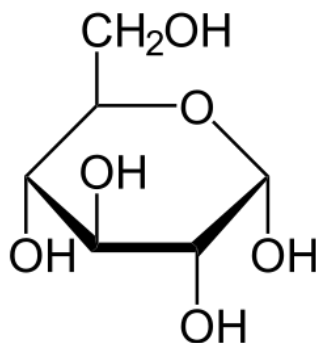


Figura 3. Glucosa, estructura básica de los carbohidratos

3.1.3.2 Glucósidos

Los glucósidos son moléculas que contienen un carbohidrato unido mediante un enlace glucosídico a otra estructura distinta a carbohidrato, la cual es denominada aglicona, y esta es responsable de su actividad biológica (Anon, 2018). Se han descrito ocho glucósidos con propiedades endulzantes en *Stevia rebaudiana* Bertoni, de los cuales se han señalado cuatro con mejor capacidad endulzante, estos son: esteviósido, rebaudiósido-A, rebaudiósido-C y dulcósido-A (Yadav et al. 2011).

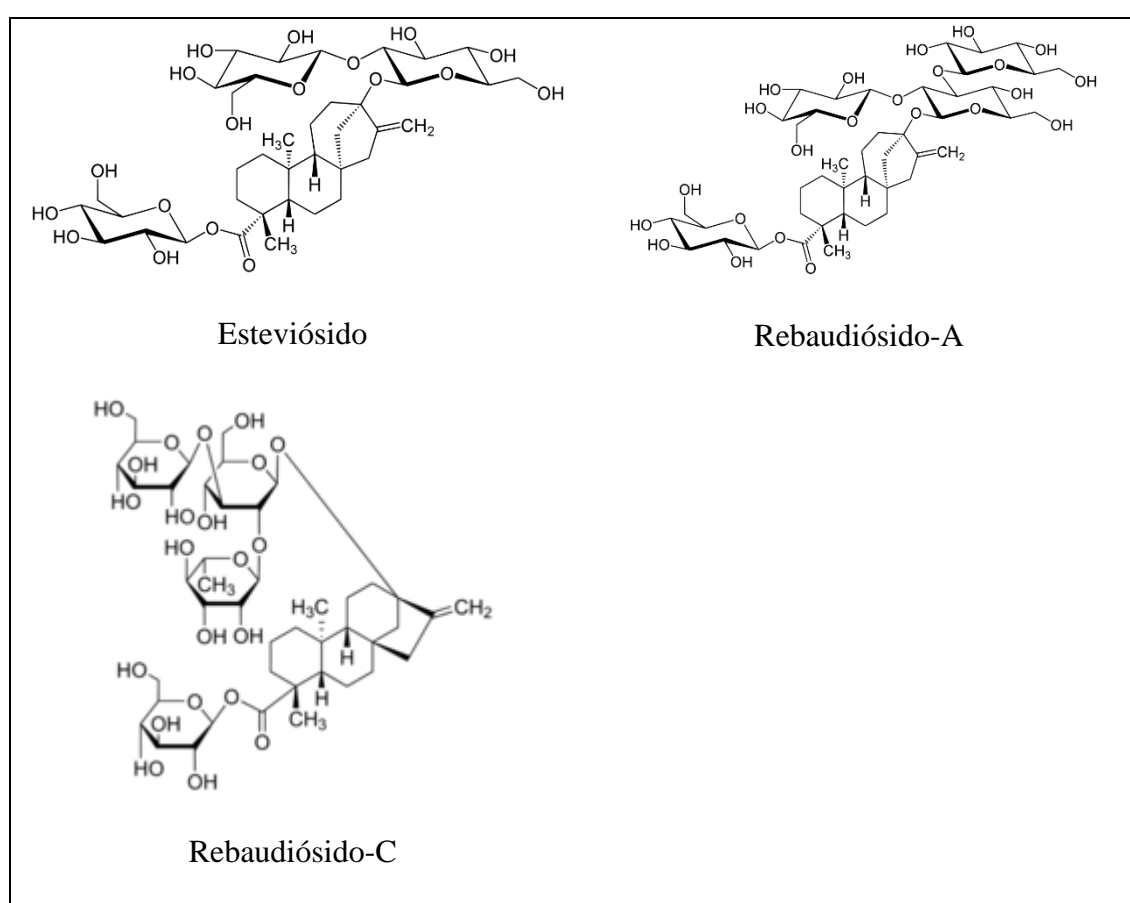


Figura 4. Glucósidos de *Stevia rebaudiana* Bertoni

3.1.3.2.1 Extracción de los glucósidos

Para extraer estos compuestos de las hojas secas de *S. rebaudiana* que no deben presentar una humedad mayor al 3%, se realiza por métodos convencionales y no

convencionales. Como métodos convencionales se utiliza la extracción Soxhlet. Para la extracción por métodos no convencionales se utilizan ultrasonido en la cual se emplea una solución buffer y un solvente orgánico y posteriormente se induce la sonicación a alrededor de 44 kHz. Para la extracción enzimática de igual manera se utiliza un buffer y un solvente orgánico, empleando tres enzimas celulasa, hemicelulasa y pectinasa. El mejor método para obtener un rendimiento favorable es el enzimático (María et al., 2017).

3.1.3.3 Taninos

La definición de taninos más acertada sigue siendo la de Bate-Smith y Swain (1962): “Compuestos fenólicos solubles en agua, con pesos moleculares entre 500 y 3000 Daltons, que además de dar las reacciones fenólicas usuales, tienen propiedades especiales tales como la habilidad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas” (Isaza, 2007). González-Chavira et al. (2018) determinaron la abundante presencia de taninos en los extractos de hojas de *S. rebaudiana*, resultando una concentración de 1085.8 mg/100 g de extracto.

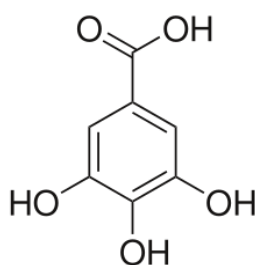
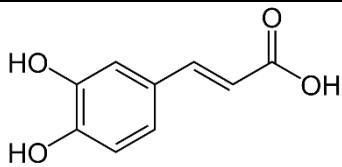


Figura 5. Estructura básica de los taninos

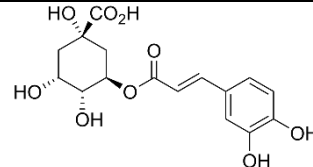
3.1.3.4 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son todas aquellas sustancias que presentan un grupo fenol en su estructura, es decir, se derivan de un fenol, el cual es un anillo aromático que contiene un grupo hidroxilo (Gordo, 2018). Los compuestos polifenólicos contenidos en los extractos de *S. rebaudiana* son: ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido ferúlico, ácido protocatechico, ácido rosmarínico, ácido salicílico. En cuanto a flavonoides se

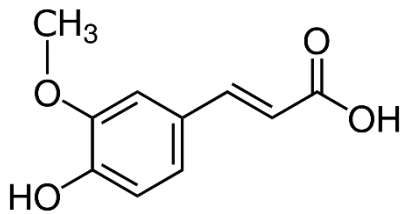
encuentran: catequina, epicatequina, luteolina y rutina (Gawel-Bęben et al., 2015). Conforme avanza el tiempo se ha demostrado en varios estudios la importancia de los flavonoides, ya que presentan grandes beneficios para la salud, por ejemplo, tienen efectividad en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, cáncer, entre otras.



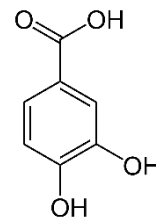
Ácido cafeico



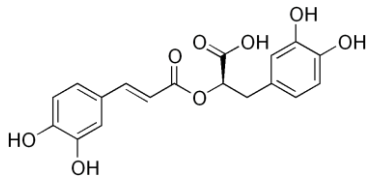
Ácido clorogénico



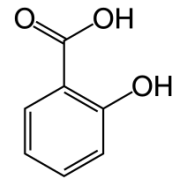
Ácido ferúlico



Ácido protocatechico

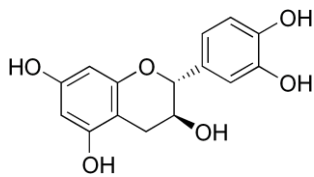


Ácido rosmarínico

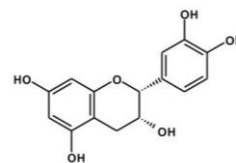


Ácido salicílico

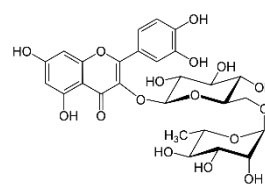
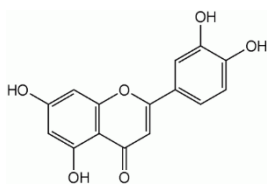
Flavonoides



Catequina



Epicatequina



Luteolina

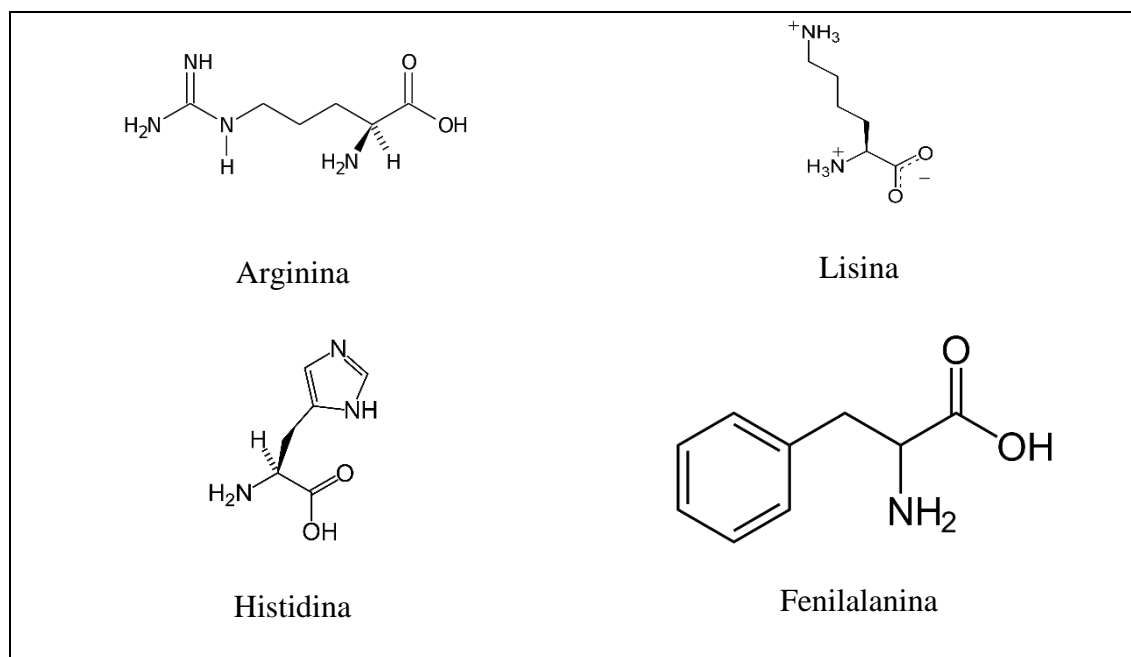
Rutina

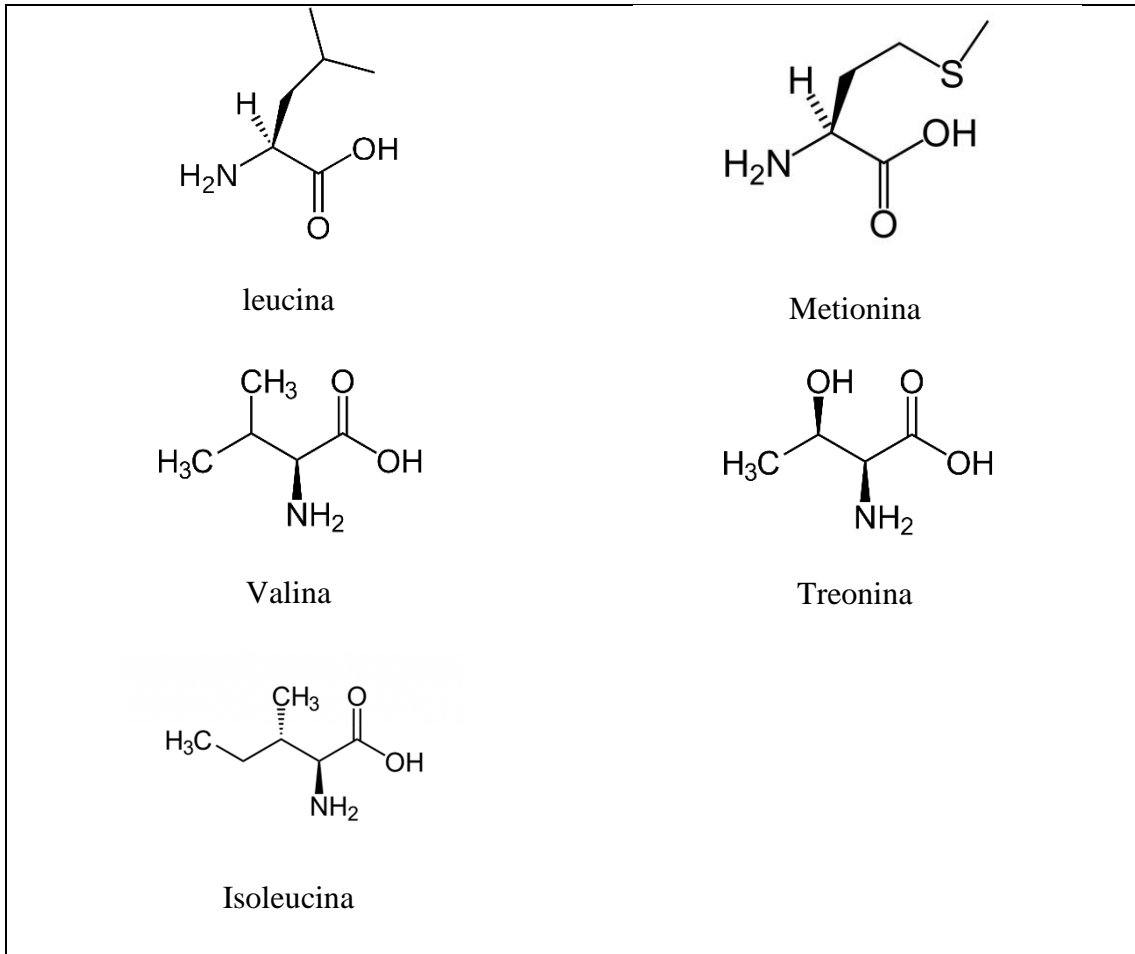
(Vásquez, 2015).

Figura 6. Compuestos fenólicos en *S. rebaudiana***3.1.3.5 Proteínas y aminoácidos**

Las proteínas son estructuras compuestas por aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. En cambio los aminoácidos son moléculas constituidas por un grupo amino y un carboxilo, son componentes esenciales para el buen funcionamiento de las células y los procesos biológicos en general (Wu, 2021).

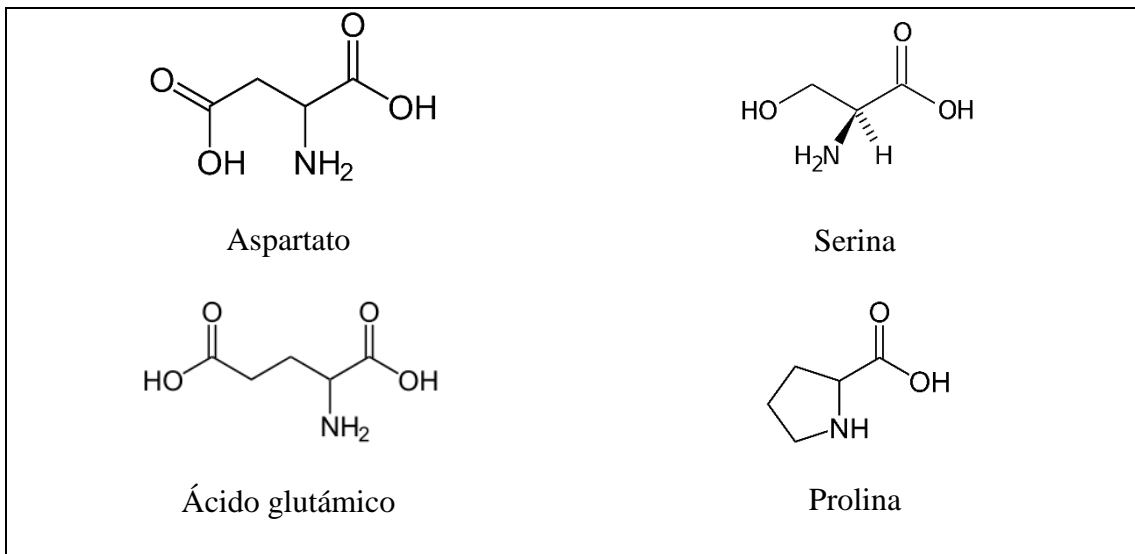
Los extractos de hojas secas de *S. rebaudiana* contienen alrededor de 226.83 a 374.67 mg de proteínas por gramo de extracto (Gawel-Bęben et al., 2015). En cuanto a los aminoácidos presentes en esta especie, se han identificado nueve esenciales: Arginina, lisina, histidina, fenilalanina, leucina, metionina, valina, treonina, isoleucina. También se ha observado la presencia de aminoácidos no esenciales como: aspartato, serina, ácido glutámico, prolina, glicina, alanina, cisteína y tirosina (Esmat Abou-Arab et al., 2010).

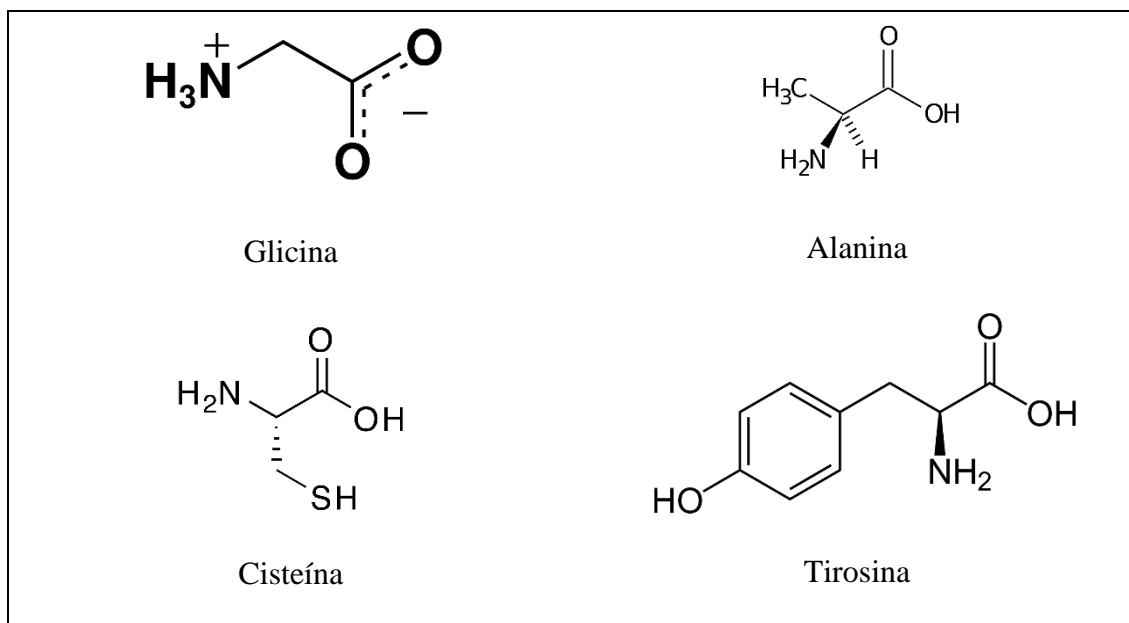




(Miranda, 2022)

Figura 7. Aminoácidos esenciales de *S. rebaudiana*



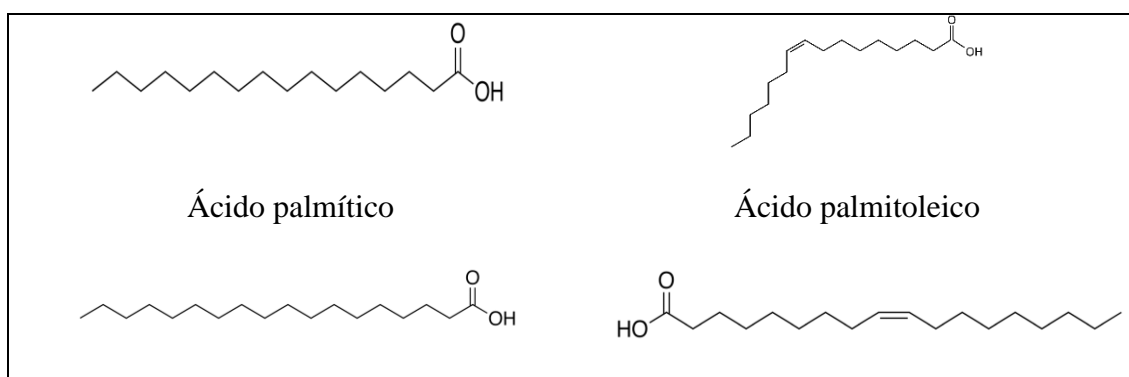


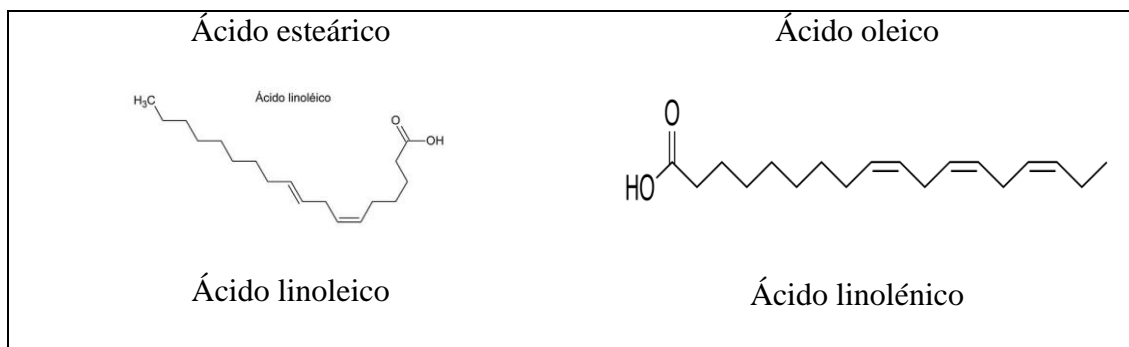
(Miranda, 2022)

Figura 8. Aminoácidos no esenciales de *S. rebaudiana*

3.1.3.6 Lípidos

Los lípidos son sustancias que presentan actividad biológica y cumplen un rol fundamental en el organismo humano, almacenan energía, forman parte de las estructuras de la membrana celular, regulan funciones fisiológicas, entre otras (Marcinek and Krejpcio 2015). Las hojas secas de *S. rebaudiana* contienen de 1.9 a 5.6 g de lípidos/100 g de extracto. En su composición se encuentran alrededor de seis ácidos grasos, como ácido palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico, linoleico, y linolénico (Goyal et al., 2010).



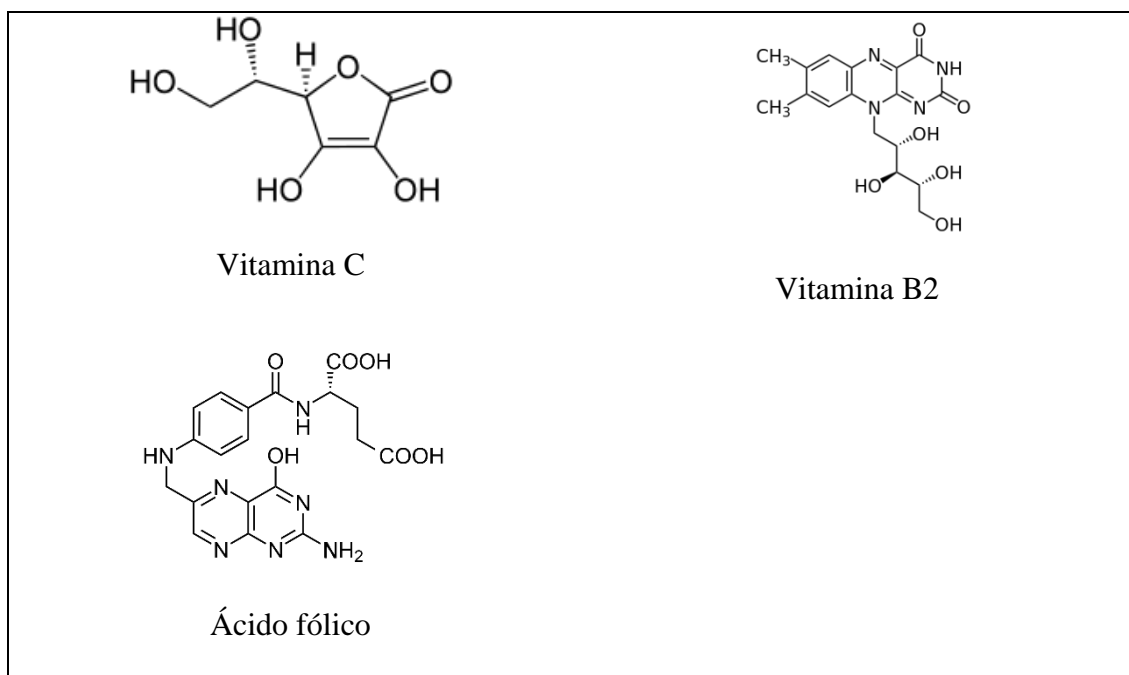


(Miranda,2022).

Figura 9. Ácidos grasos de *S. rebaudiana*

3.1.3.7 Vitaminas y minerales

Las vitaminas son compuestos que se encargan del correcto funcionamiento fisiológico. Se han identificado tres clases de vitaminas en los extractos de *S. rebaudiana*: vitamina C, vitamina B2 y ácido fólico (Kim et al., 2011). En cambio, los minerales presentes en esta especie se dividen en macro: potasio, sodio, calcio, magnesio y micro (metales pesados): cobre, manganeso, hierro, y zinc (Abou-Arab et al., 2010).



(Miranda,2022)

Figura 10. Vitaminas en *S. rebaudiana*

3.2 Aplicaciones Farmacéuticas

Tabla 2. Aplicaciones biológicas de *S. rebaudiana* Bertoni

Aplicación biológica	Resultado	Tipo de ensayo	Concentración	Referencia
Antihiper glucemiante	+	In vivo (Ratas albinas)	200, 300, 400 y 500 ppm/kg	(Ahmad and Ahmad 2018).
		In vivo (Ratas wistar)	25 mg/kg	(Carrera-Lanestosa et al. 2020).
Antihipertensiva	+	In vivo (Pacientes hombres y mujeres)	1000 mg/día	(Maki et al. 2008)
Antioxidante	+	In vitro (línea celular cancerígena HepG2)	---	(Bender, Graziano, and Zimmermann 2015)
		In vitro (fibroblastos cardíacos de rata)	1 mg/mL	(Prata et al. 2017)
		In vitro		(Rodríguez

Antibacteriana	+	(S. aureus, S. epidermidis)	20 µL	2020)
		In vitro	Extractos acuosos al 2%	Massón-Palacios et al. (2016)
	+	(Streptococcus mutans, S. sanguis)		
Anticancerígena	+	In vitro (Líneas celulares de cáncer de mama humano)	25-250 µM	(Gupta et al. 2017)
Antiinflamatoria	+	In vivo (ratones de laboratorio)	---	(Lemus-Mondaca et al. 2018)

“+”, actividad biológica positiva/favorable

3.2.1 Actividad antihiper glucemiante

La diabetes se caracteriza por ser una enfermedad metabólica en donde predomina la hiperglicemia, es decir, niveles incrementados de glucosa en la sangre. Esta afección se debe a varios factores como la baja secreción de insulina, la acción defectuosa de la insulina o ambas (Aranda-González et al., 2014).

Para el tratamiento de esta enfermedad se han planteado varias alternativas, una de ellas es el uso de endulzantes no calóricos como *Stevia rebaudiana* Bertoni. Carrera-Lanestosa et al. (2020) realizaron extractos acuosos y etanólicos al 10% de hojas y tallos de *S. rebaudiana* y los suministraron a un grupo de 40 ratas Wistar en un ensayo *in vivo* en el cual se les aplicó una dieta que les produjo un aumento de peso y glucosa en la sangre. Los resultados del TTOG (Test de tolerancia oral a la glucosa) indicaron que después de 30 días de realizado el tratamiento se obtuvo una disminución del 14.83% del porcentaje de glucosa en la sangre con extractos etanólicos de hojas (HEMU), y 14.40% con extractos acuosos de hojas (HAMO), a los 45 y 120 minutos respectivamente luego de haber empezado el test.

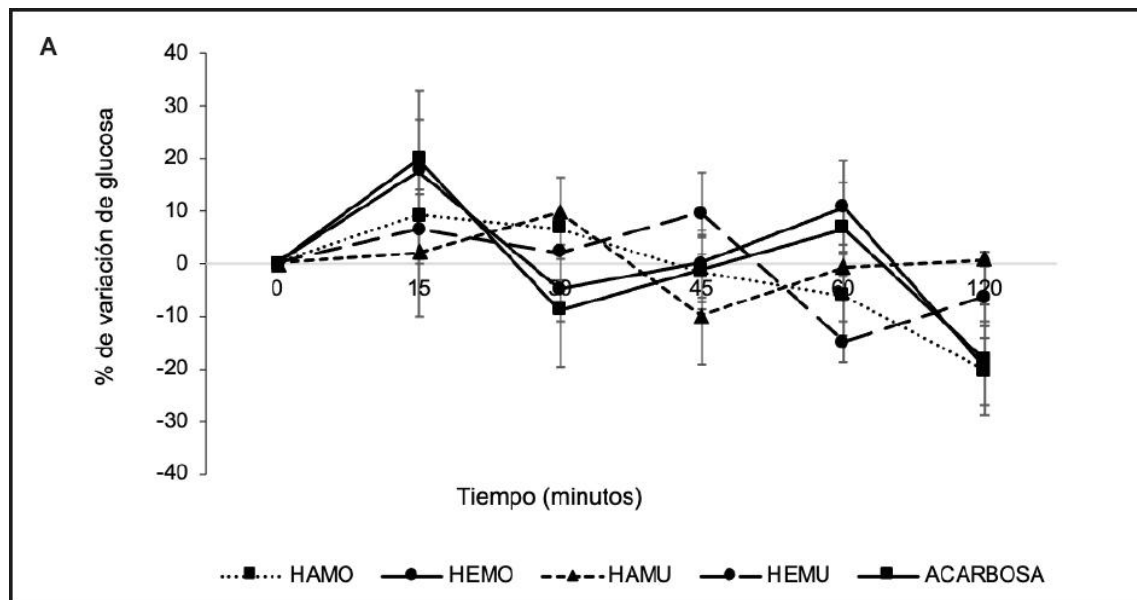


Figura 11. TTOG después de administrado 1g/kg de almidón, 0,5mg/kg de acarbose y 25 mg/kg de cada extracto a ratas Wistar. Día 30 (Carrera-Lanestosa et al. 2020).

Por otra parte, Ahmad and Ahmad (2018) realizaron una investigación para estudiar el efecto antidiabético de los extracto acuosos de *S. rebaudiana* en ratas albinas. Los extractos se obtuvieron mezclando las hojas secas y molidas con agua caliente (65°C). Se utilizaron un total de 60 ratas albinas, las cuales se dividieron en seis grupos, a varios de ellos se le sometió a una inyección de estreptozotocina (40 mg/kg de peso corporal) para inducir diabetes. Los resultados mostraron que las ratas a las cuales se les administraron los extractos (D1- D4: 200, 300, 400 y 500 ppm/kg pc de ratas, respectivamente) redujeron los niveles de glucosa en la sangre (RBG), como se muestra en la figura 12.

Grupos de dietas	Semana 0	Semana 1	Semanas 2	Semanas 3	Semanas 4	Semanas 5	Semanas 6	Semanas 7	Semanas 8	% De RBG
N ₀	80,72 ± 3,82Ec	82,73 ± 2,91 CC	83,4 ± 2,62Ebc	83,7 ± 2,44 Fbc	84,9 ± 2,54 Fb	85,4 ± 2,66 Fb	87,3 ± 2,86 Fa	88,4 ± 2,77Fa	89,25 ± 2,76 Ca	7,88
D ₀	340,1 ± 2,32Dd	342,1 ± 1,22 Ad	348,7 ± 1,32 Ad	354,3 ± 1,43 Acd	360,9 ± 1,66 AC	366,2 ± 1,55 AC	273,3 ± 1,54Ac	381,2 ± 2,89 Ab	391,22 ± 1,65Aa	15,04
D ₁	334,23 ± 1,99 Ca	332,23 ± 1,34 Bb	320,22 ± 1,44 Bc	278,88 ± 1,65 Bd	256,66 ± 1,67 Be	166,67 ± 1,43 Bf	143,33 ± 1,87 Bg	122,23 ± 1,78 Bh	94,43 ± 1,23Bi	-71,74
D ₂	336,23 ± 2,94Ba	330,23 ± 1,44 Bcb	312,22 ± 1,43 Cc	262,22 ± 1,34 Cd	240,44 ± 1,88Ce	153,32 ± 1,77 Cf	130,98 ± 1,65 Cg	118,87 ± 1,54 canales	93,29 ± 1,54Bi	-72,25
D ₃	338,88 ± 3,77 ABa	327,88 ± 1,23 Cb	310,88 ± 1,65CDc	251,42 ± 1,23 Dd	232,22 ± 1,98De	140,98 ± 1,87 Df	122,21 ± 1,87Dg	112,32 ± 1,56Dh	91,22 ± 1,87 BCi	-73,08
D ₄	339,22 ± 4,32Aa	326,44 ± 1,65 Cb	308,65 ± 1,23 Cc	243,32 ± 1,77Ed	221,32 ± 1,80Ee	127,76 ± 1,45Ef	116,54 ± 1,98Eg	107,65 ± 1,32Eh	90,77 ± 1,27 Ci	-73,24

Figura 12. Grupos de ratas con diferentes dietas. No y Do: grupos control; D1-D4: grupos a los cuales se les administró diferentes concentraciones de extractos (Ahmad and Ahmad, 2018).

3.2.2 Actividad antihipertensiva

La presión arterial se define como la tensión que existe en la pared que es generada por la sangre en la parte interna de las arterias (Tagle 2018). La hipertensión es conocida como la presión elevada que ejerce la sangre en las paredes de las arterias, con el pasar del tiempo si no es tratada puede ocasionar trastornos de salud graves como enfermedades cardíacas o en el peor de los casos derrames cerebrales y hasta la muerte. La presión arterial tiende a presentar un incremento paulatino mientras avanza la edad de la persona (Cayetano Heredia Lima et al., 2016).

Carrera-Lanestosa et al. (2020) realizaron un seguimiento de cuatro semanas proporcionando extractos de *S. rebaudiana* Bertoni a ratas Wistar, al finalizar cada semana del tratamiento midieron la presión arterial en la punta de la cola de las ratas empleando un esfigmomanómetro. Los resultados mostraron que los mejores efectos antihipertensivos se produjeron al usar los extractos etanólicos de las hojas (HEMU) y extractos acuosos de hojas (HAMU), con una reducción del porcentaje de presión arterial sistólica (PAS) de 30,47% y 29,31% respectivamente.

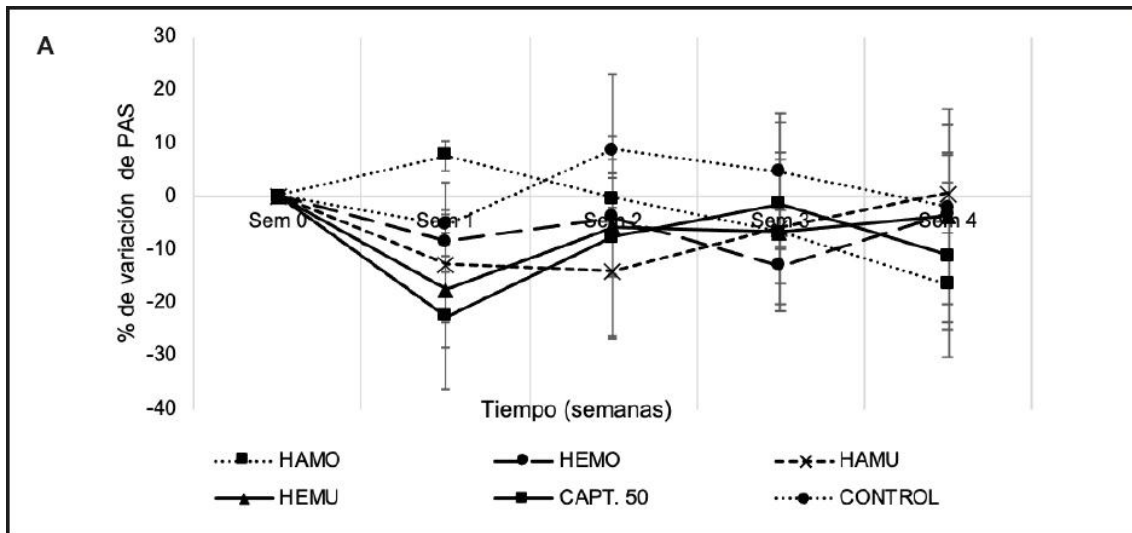


Figura 13. Porcentajes de PAS en ratas tratadas con extractos de *S. rebaudiana* con dosis de 25 mg/kg (Carrera-Lanestosa et al., 2020).

Maki et al. (2008) realizaron otro estudio *in vivo* en un grupo de 175 pacientes entre hombres y mujeres, a los cuales se les proporcionó una dieta en la cual estaba incluido un suplemento de rebaudiósido “A” a dosis de 1000 mg/día. Los resultados indicaron que no hubo una diferencia significativa en la presión arterial sistólica entre los grupos que consumieron rebaudiósido A 121.6 ± 1.4 mmHg frente al placebo, 126.0 ± 1.6 mmHg.

3.2.3 Actividad antioxidante

Los antioxidantes son compuestos químicos capaces de inhibir la oxidación de otras moléculas, neutralizan los daños que causan los radicales libres como el envejecimiento prematuro o enfermedades degenerativas (Leos-Rivas, et al., 2016).

Bender, Graziano, and Zimmermann (2015), realizaron una investigación *in vitro* en la cual emplearon extractos de hojas y tallos de *S. rebaudiana* obtenidos mediante infusión con agua destilada. Utilizaron una línea celular cancerígena HepG2 de origen humano. Se desarrolló una prueba de actividad antioxidante celular (CAA) para correlacionar la sustancia química (extractos de stevia) con respecto a su capacidad antioxidante biológica. Los resultados mostraron que los extractos fueron absorbidos por las células y demostraron una capacidad considerable para eliminar radicales peróxidos a nivel

intracelular. Los extractos obtenidos de las hojas obtuvieron un potencial antioxidante mucho mayor que el de los tallos.

Prata et al. (2017), también evaluaron la capacidad antioxidante de *S. rebaudiana* mediante un ensayo *in vitro* usando fibroblastos cardíacos de rata Sprague-Dawley. Se utilizaron dos compuestos, esteviósido y rebaudiósido A, obtenidos de empresas que comercializan *Stevia*. Los fibroblastos se trataron con cuatro extractos comerciales R97, R60, SG y TRU (1 mg/mL) durante 24 horas, también fueron estresados con peróxido de hidrógeno para probar la viabilidad del ensayo. Los resultados mostraron que los glucósidos de esteviol presentan un gran potencial como papel protector frente al estrés oxidativo. Además, la actividad en el medio de cultivo del lactato deshidrogenasa (LDH) fue cuantificada como un marcador inespecífico de daño celular. El tratamiento con glucósidos de esteviol en fibroblastos logró contrarrestar significativamente la liberación de LDH de las células.

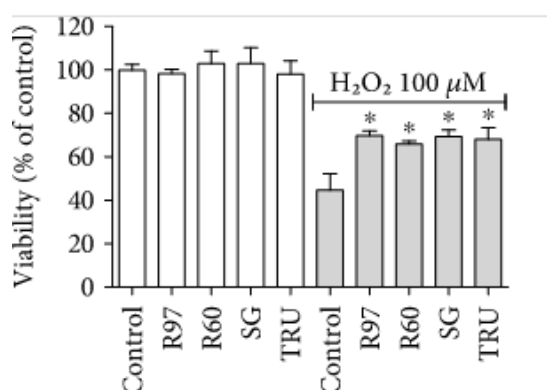


Figura 14. Efecto del uso de diferentes mezclas de glucósidos de esteviol sobre la proliferación o viabilidad de los fibroblastos (Prata et al. 2017).

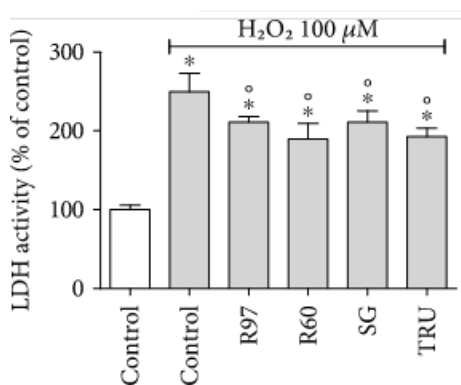


Figura 15. Actividad de la lactato deshidrogenasa (Prata et al. 2017).

3.2.4 Actividad antibacteriana

Las plantas son capaces de sintetizar aceites esenciales que son volátiles y de carácter lipofílico (Esther et al. 2017). Esta última les permite ingresar en las membranas celulares de microorganismos provocando una alteración en la permeabilidad y por ende la salida del material intracelular.

Para evaluar la actividad antimicrobiana de *S. rebaudiana*, Rodríguez (2020) obtuvo extractos etanólicos de esta especie por dos métodos, maceración y por ultrasonido. Además utilizó cepas de *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* y *S. saprophyticus* salvaje. Realizó siembras en agar con cada cepa y colocó en pozos 20 μ L de extracto. Los resultados mostraron que los extractos obtenidos por sonicación (ultrasonido) presentaron mejor actividad antibacteriana con mayor magnitud de halos de inhibición como se muestra en la figura 16.

Extracto etanólico	CEPAS						Control positivo Vancomicina (30 μ g) 2 cm
	Halos de inhibición en cm y en %						
	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>		<i>S. saprophyticus</i>		
Crudo maceración	1	50	1.6	80	1.6	80	
Crudo sonicación	1.3	76	1.8	90	1.8	90	

Figura 16. Halos de inhibición en cm de los extractos de *S. rebaudiana* (Rodríguez 2020).

Massón-Palacios et al. (2016) también realizaron investigaciones sobre la actividad antibacteriana de *S. rebaudiana* sobre *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguis* principales microorganismos responsables de la caries dental. Para el desarrollo del estudio utilizaron extractos acuosos al 2% de hojas secas de la planta. Como resultados se obtuvieron halos de inhibición de 7,2 mm para *Streptococcus sanguis*, y 6,7 mm para *Streptococcus mutans*.

3.2.5 Actividad anticancerígena

El cáncer es una enfermedad en la cual existe un crecimiento desmesurado de células anormales, provocando lesiones de tejidos que en la mayoría de casos ya no pueden ser reparados por células somáticas normales. Además, es una de las principales causas de muerte a nivel mundial (Landrove-Escalona et al., 2021).

Para evaluar la actividad anticancerígena de *S. rebaudiana*, Gupta et al. (2017) utilizaron líneas celulares de cáncer de mama humano (MCF-7) para analizar la eficacia del esteviol aislado de la especie en cuestión. Los resultados mostraron que a concentraciones de 25-250 μM existió una disminución abrupta de las células MCF-7.

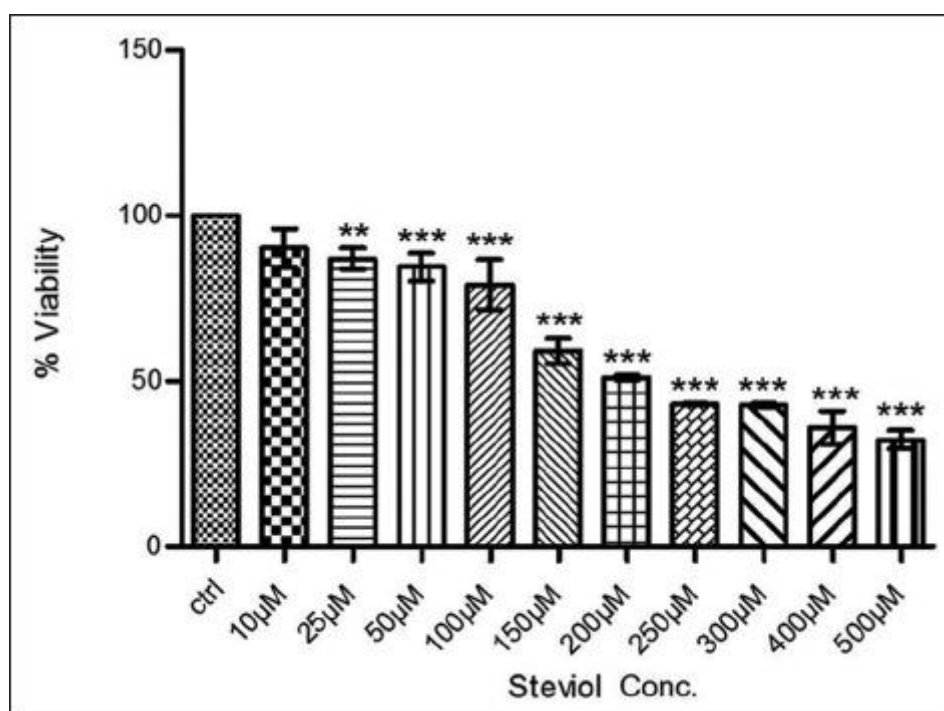


Figura 17. Evaluación de la citotoxicidad del esteviol frente a las células cancerosas MCF-7 a diferentes concentraciones (Gupta et al., 2017).

3.2.6 Actividad antiinflamatoria

La inflamación es una respuesta del sistema inmune hacia diversas lesiones o agresiones ya sean endógenas o exógenas. En este tipo de lesiones participan la inmunidad innata como la adquirida provocando numerosos eventos locales y sistémicos conocidos como reacción en cascada. La inflamación se caracteriza por varios signos: rubor, calor, dolor, entre otros, y es causado por un aumento en la concentración de leucocitos y otros compuestos en el tejido lesionado (González Costa and Padrón González, 2019).

Lemus-Mondaca et al. (2018) realizaron una investigación *in vivo* en ratones, utilizaron diferentes extractos etanólicos de *S. rebaudiana*. Dichos extractos fueron probados en dos modelos inflamatorios, 12-miristato 13-acetato de forbol (TPA) y ácido araquidónico (AA). Se usaron dos fármacos de referencia (nimesulina e idometacina) con los cuales se obtuvo una reducción del edema del oído del 48,8% (1 mg de inflamación del oído AA) y 92,9% (0,5 mg de inflamación del oído TPA). En cambio el tratamiento con los extractos etanólicos redujo la inflamación por AA del 10,3 al 35,9% y la inflamación provocada por el TPA del 32,2 al 43,9%.

3.2.7 Toxicidad

Palza and Diaz-Murillo (2019) realizaron una investigación extensa para determinar la toxicidad o efectos adversos del uso continuo de extractos acuosos de *S. rebaudiana*. El estudio *in vivo* consistió en el uso de *Rattus norvegicus* variedad Sprague Dawley, se les suministró diferentes concentraciones de extractos (0,3; 0,6 y 0,9) g/kg/día, en diferentes tratamientos de 30, 45 y 60 días. Los resultados indicaron los siguientes datos:

TRATAMIENTOS	TGO (UI/L)			
	BASAL	30	45	60
CONTROL	67.51	67.85	72.34	72.29
Stevia rebaudiana 0.3g/kg/día	60.10	75.01	74.99	79.76
Stevia rebaudiana 0.6g/kg/día	65.92	70.28	75.51	72.84
Stevia rebaudiana 0.9g/kg/día	66.16	72.76	71.35	72.08
F (ANOVA)	1.71	0.83	0.30	1.83
P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SIGNIFICANCIA	NS	NS	NS	NS

^{abc}TUKEY (p<0.05)

Figura 18. Actividad negativa de insuficiencia cardíaca provocada por *S. rebaudiana* (Palza and Diaz-Murillo 2019).

TRATAMIENTOS	TGP (UI/L)			
	BASAL	30	45	60
CONTROL	55.26	56.32	57.53	55.36
Stevia rebaudiana 0.3g/kg/día	56.86	57.98	52.35	56.30
Stevia rebaudiana 0.6g/kg/día	57.61	57.35	55.83	57.47
Stevia rebaudiana 0.9g/kg/día	57.17	53.54	57.51	57.24
F (ANOVA)	0.27	2.33	1.77	0.53
P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SIGNIFICANCIA	NS	NS	NS	NS

^{abc}TUKEY (p<0.05)

Figura 19. Actividad negativa de insuficiencia hepática provocada por *S. rebaudiana* (Palza and Diaz-Murillo 2019).

TRATAMIENTOS	CREATININA (mg/dl)			
	BASAL	30	45	60
CONTROL	0.60	0.59	0.60	0.63
Stevia rebaudiana 0.3g/ kg/día	0.60	0.63	0.62	0.62
Stevia rebaudiana 0.6g/ kg/día	0.64	0.64	0.63	0.59
Stevia rebaudiana 0.9g/ kg/día	0.65	0.64	0.65	0.61
F (ANOVA)	1.95	3.66	0.91	1.53
P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
SIGNIFICANCIA	NS	NS	NS	NS

^{abc}TUKEY (p<0.05)

Figura 20. Actividad negativa de insuficiencia renal provocada por *S. rebaudiana* (Palza and Diaz-Murillo 2019).

También se realizaron estudios histológicos verificando que no existe daño alguno de los tejidos. La administración oral de dosis elevadas LD50 de 5-20g/kg de esteviol produce toxicidad dependiendo la especie, siendo más común la muerte en hámsteres debido a un fallo renal.

3.3 Aplicaciones en la industria

Los edulcorantes tienen como función principal realzar el sabor y calidad de un producto, los que provienen de origen natural son fructosa, glucosa, sacarosa, miel, entre otras. La Administración de Drogas y Alimentos de EE.UU. (FDA) los ha reconocido como seguros, pero existen ciertos riesgos para la salud cuando el consumo de estos es en altas concentraciones (Jahangir Chughtai et al., 2020). A través del tiempo han surgido varias especulaciones sobre los edulcorantes no calóricos sintéticos, mencionando que provocan un aumento del apetito o producen una alta preferencia por el sabor dulce, lo que conlleva a la obesidad. Existen varios de estos edulcorantes, siendo los más conocidos sucralosa, sacarina y glucósidos de esteviol (Aldrete-Velasco et al., 2017). Los glucósidos de esteviol resultan ser seguros para el organismo, ya que básicamente llegan al colon de manera intacta después de haber pasado por el tubo gastrointestinal, una vez allí son hidrolizados por la microbiota a esteviol, luego es absorbido por la vena porta y posteriormente procesado por el hígado, el cual lo transforma en glucorónido de esteviol para ser eliminado a través de la orina (Bueno-Hernández et al., 2019).

En Ecuador se utiliza *S. rebaudiana* Bertoni como edulcorante no calórico. Ha pasado de una desconfianza absoluta en su uso, hacia el inicio de un gran proceso de maquila que permite su exportación a diferentes mercados (Britos, 2016). La producción de stevia en el país para el año 2010 se realizaba a pequeña escala, la empresa “Agroestevia” contaba con 17 hectáreas de plantación de la especie (Maily Jiménez et al., 2015).

La principal limitación de la producción a gran escala de los edulcorantes no calóricos a base de *S. rebaudiana* es el regusto amargo que poseen los glucósidos de esteviol (De Roode et al., 2015). Algunas empresas líderes a nivel mundial en lo que respecta a bebidas carbonatadas ya han introducido a la stevia como edulcorante para sus refrescos

(Amarakoon, 2021). Las bebidas heladas, en especial los té que contienen en su composición stevia como edulcorante no calórico han aumentado alrededor del 86% a nivel mundial en los últimos 5 años, ya que al formular un té con un contenido calórico bajo, la stevia se utiliza con similar frecuencia que la sucralosa (PureCircle, 2017).

Para mejorar la producción de *S. rebaudiana* se realizan cultivos *in vitro* de las plantas que tienen mejores características. Venutolo and Salazar (2015) micropropagaron *in vitro* *S. rebaudiana* utilizando micro estacas de plantas previamente cultivadas en invernaderos, como resultados se obtienen plantas vigorosas, con buenas características que luego son utilizadas en invernaderos para su producción masiva y así posteriormente sean tratadas en las industrias para la extracción de los glucósidos de esteviol. Rivilla et al., (2016), también realizaron micropropagación *in vitro* pero usaron reguladores de crecimiento para verificar la eficiencia de estos, lograron obtener plantas con mejores características listas para su posterior aclimatación y producción masiva en invernaderos.

3.4 Discusión

En lo concerniente a la composición fitoquímica de *Stevia rebaudiana* Bertoni en base a la investigación bibliográfica, se determinó que los componentes principales son los glucósidos de esteviol: esteviósido con un 5-10% del peso de la hoja seca y rebaudiósido-A con 2,4% del peso de la hoja seca, estos compuestos son los responsables de otorgarle el sabor dulce con potencial no calórico.

Esta planta posee varios compuestos fenólicos que le confieren ciertas actividades biológicas favorables, por ejemplo, antioxidante, anticancerígena, etc. De entre todos los componentes fenólicos el que más destacó es el ácido ferúlico con una concentración de alrededor de 5.50 mg/g de extracto. De igual manera, los flavonoides son los principales responsables del potencial antioxidante de una especie, en el caso de *S. rebaudiana* la catequina es la que se encuentra en mayor proporción en la planta con 0.24 mg/g de extracto.

Además de los componentes mencionados anteriormente, *S. rebaudiana* también contiene proteínas, aminoácidos, lípidos, vitaminas y minerales. Gracias a toda esta composición esta especie es capaz de proporcionar ciertos beneficios para la salud de

las personas, por ejemplo, presenta efectos antihiper glucémicos, ideales en tratamientos para personas que padecen de diabetes. También, es muy útil para la inhibición del crecimiento de ciertos microorganismos patógenos causantes de las caries dentales, como son *Streptococcus sanguis* y *S. mutans*, formando halos de inhibición de 7.2mm y 6.7mm respectivamente. Asimismo presenta actividades anticancerígenas, antihipertensivas, entre otras, y en estudios realizados sobre la toxicidad de la planta se determinó que no es perjudicial para la salud como se observa en las figuras 18, 19 y 20, a excepción de concentraciones muy altas como LD50 de 5-20 mg/kg las cuales provocan la muerte en hámsteres debido a un fallo renal.

En cuanto a las aplicaciones industriales cada vez existe mayor interés por las industrias para reemplazar los azúcares como sacarosa por edulcorantes no calóricos como son los glucósidos de esteviol, para así disminuir el impacto negativo que tienen estos carbohidratos sobre la salud de las personas.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES

4.1 Conclusiones

La presente investigación recopiló información disponible en varias bases de datos, las cuales tenían a disposición libros electrónicos, artículos científicos y publicaciones con datos importantes de *Stevia rebaudiana* Bertoni, como estudios sobre su botánica, distribución a nivel global, composición fitoquímica, actividades farmacéuticas, toxicidad y aplicaciones industriales.

El cribado fitoquímico reveló que *S. rebaudiana* Bertoni contiene la mayoría de sus metabolitos secundarios de interés en las hojas, y una baja concentración de los mismos en las demás estructuras. Presenta monosacáridos y polisacáridos; glucósidos de entre los cuales los más importantes son el esteviósido y el rebaudiósido A por ser edulcorantes no calóricos. También posee abundantes compuestos fenólicos y flavonoides capaces de proporcionarle efectos antioxidantes. Además, en su composición exhibe proteínas, lípidos, aminoácidos, vitaminas, taninos y minerales que son de gran importancia para el desarrollo de la misma, ya que son metabolitos responsables del buen funcionamiento celular de la planta. Se ha comprobado que los metabolitos secundarios contenidos en *S. rebaudiana* Bertoni son de gran utilidad en la industria farmacéutica por su extensa actividad biológica.

A nivel farmacéutico esta especie contiene grandes beneficios, por ejemplo, presenta actividad antihiper glucemiante ayudando a reducir los niveles de glucosa en la sangre, y por ende es de gran ayuda en el tratamiento de personas que padecen de diabetes. Comprende también efecto antihipertensivo, ya que disminuye la presión arterial sistólica. Es ideal para emplearla como antimicrobiana, debido a la inhibición de ciertas bacterias como *Streptococcus mutan* y *S. sanguis*, los cuales son los principales responsables de la caries dental. Igualmente incluye actividades antioxidantes, y

anticancerígenas realizadas en líneas celulares en ensayos *in vitro* obteniendo resultados positivos en cada una. En cuanto a la actividad antiinflamatoria se han realizados estudios *in vivo* con ratones de laboratorio, demostrándose que al utilizar extractos acuosos o etanólicos de la planta se obtiene disminución de la inflamación de los oídos alrededor del 50%.

De estudios realizados sobre la toxicidad de la planta, se determinó que no existe riesgos al consumir extractos acuosos de la planta incluso al realizarlo diariamente por extensiones prolongadas de tiempo, siempre que las dosis no sean altas. Por ejemplo, se verificó que a concentraciones de DL50 de 5-20 mg/kg provoca la muerte en hámsteres, debido a fallos renales.

Stevia rebaudiana Bertoni fue introducida en la década de los 2000 en Ecuador y desde entonces es utilizada como edulcorante no calórico. La industria alimentaria ha demostrado interés en la producción a gran escala de esta especie, ya que se ha demostrado que los glucósidos de esteviol no producen efectos adversos en la salud de las personas. Además contienen propiedades antiinflamatorias y antioxidantes, por lo que cada vez son más utilizados en la elaboración de bebidas, ya sean carbonatadas o normales. Para la comercialización de estos edulcorantes es estrictamente necesaria la aprobación de ciertos organismos como la FDA en EE.UU., por lo que la etapa de mayor interés en las plantas productoras es la de purificación, siendo un desafío para las industrias la eliminación del regusto amargo que presentan estos edulcorantes.

CAPÍTULO V

BIBLIOGRAFÍA

5.1 Bibliografía

- Abou-Arab, A. Esmat, A. Azza Abou-Arab, and M. Ferial Abu-Salem. 2010. “Physico-Chemical Assessment of Natural Sweeteners Steviosides Produced from Stevia Rebaudiana Bertoni Plant.” *African Journal of Food Science* 4(5):269–81. doi: 10.5897/AJFS.9000226.
- Ahmad, Jamil, Imran Khan, Renald Blundell, Joseph Azzopardi, and Mohamad Fawzi Mahomoodally. 2020. “Stevia Rebaudiana Bertoni.: An Updated Review of Its Health Benefits, Industrial Applications and Safety.” *Trends in Food Science & Technology* 100:177–89. doi: 10.1016/J.TIFS.2020.04.030.
- Ahmad, Uswa, and Rabia Shabir Ahmad. 2018. “Anti Diabetic Property of Aqueous Extract of Stevia Rebaudiana Bertoni Leaves in Streptozotocin-Induced Diabetes in Albino Rats.” *BMC Complementary and Alternative Medicine* 18(1):1–11. doi: 10.1186/S12906-018-2245-2/FIGURES/5.
- Aldana, Julio, and Bosco Carreño Macías. 2018. “Evaluación de Los Efectos Del Proceso de Secado Sobre La Calidad de La Stevia (Stevia Rebaudiana Bertoni) y La H.”

- Aldrete-Velasco, J., R. López-García, S. Zúñiga-Guajardo, P. Riobó-Serván, L. Serra-Majem, A. Suverza-Fernández, MG Esquivel-Flores, F. Molina-Segui, R. Pedroza-Islas, M. Rascón-Hernández, S. Díaz-Madero, J. Tommasi-Pedraza, H. Laviada-Molina, J. Aldrete-Velasco, R. López-García, S. Zúñiga-Guajardo, P. Riobó-Serván, L. Serra-Majem, A. Suverza-Fernández, MG Esquivel-Flores, F. Molina-Segui, R. Pedroza-Islas, M. Rascón-Hernández, S. Díaz-Madero, J. Tommasi-Pedraza, and H. Laviada-Molina. 2017. “Análisis de La Evidencia Disponible Para El Consumo de Edulcorantes No Calóricos. Documento de Expertos.” *Medicina Interna de México* 33(1):61–83.
- Alvarenga Venutolo Tatiana Salazar Aguilar, Silvana. 2015. “Mass Micropropagation of Stevia Rebaudiana Bertoni in Temporary Immersion Systems.” *Cultivos Tropicales* 36(3):50–57.
- Amarakoon, Suweesha. 2021. “Stevia Rebaudiana-A Review on Agricultural, Chemical and Industrial Applications.” *Journal of Nature and Applied Research* 1(1):2792–1352.
- Anon. 2018. “Desarrollo de Nuevas Metodologías de Síntesis de Glicósidos, N- y O-N-Sustituidos, a Partir de Glicales.” doi: 10.35537/10915/71580.
- Aranda-González, Irma, Maira Segura-Campos, Yolanda Moguel-Ordoñez, and David Betancur-Ancona. 2014. “Stevia Rebaudiana Bertoni. Un Potencial Adyuvante En El Tratamiento de La Diabetes Mellitus.” [Http://Mc.Manuscriptcentral.Com/Tcvt](http://Mc.Manuscriptcentral.Com/Tcvt) 12(3):218–26. doi: 10.1080/19476337.2013.830150.
- Ardisana, E., T. Garcia, and B. Solorzano. 2020. “Influencia de Bioestimulantes Sobre El Crecimiento y El Rendimiento de Cultivos de Ciclo Corto En Manabí, Ecuador.”
- Arumugam, R., AL Subramaniam, and P. Alagaraj. 2020. “Stevia as a Natural Sweetener: A Review.” *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry* 18(2):94–103. doi: 10.2174/1871525718666200207105436.
- Bender, Cecilia, Sara Graziano, and Benno F. Zimmermann. 2015. “Study of Stevia Rebaudiana Bertoni Antioxidant Activities and Cellular Properties.” [Http://Dx.Doi.Org/10.3109/09637486.2015.1038223](http://Dx.Doi.Org/10.3109/09637486.2015.1038223) 66(5):553–58. doi: 10.3109/09637486.2015.1038223.
- Bihan, Zoé Le, Patrick Cosson, Dominique Rolin, and Valérie Schurdi-Levraud. 2020. “Phenological Growth Stages of Stevia (Stevia Rebaudiana Bertoni) According to the Biologische Bundesanstalt Bundessortenamt and Chemical Industry (BBCH) Scale.” *Annals of Applied Biology* 177(3):404–16. doi: 10.1111/AAB.12626.
- Borgo, Jimena, Laura C. Laurella, Florencia Martini, Cesar A. N. Catalán, and Valeria P. Sülsen. 2021. “Stevia Genus: Phytochemistry and Biological Activities Update.” *PMC* 26(9). doi: 10.3390/MOLECULES26092733.
- Bueno-Hernández, N., R. Vázquez-Frías, A. T. Abreu y Abreu, P. Almeda-Valdés, L. A. Barajas-Nava, R. I. Carmona-Sánchez, J. Chávez-Sáenz, A. Consuelo-Sánchez, A. J. Espinosa-Flores, V. Hernández-Rosiles, G. Hernández-Vez, M. E. Icaza-Chávez, A. Noble-Lugo, A. Romo-Romo, A. Ruiz-Margaín, M. A. Valdovinos-Díaz, and F. E. Zárate-Mondragón. 2019. “Revisión de La Evidencia Científica y Opinión Técnica Sobre El Consumo de Edulcorantes No Calóricos En

- Enfermedades Gastrointestinales.” *Revista de Gastroenterología de México* 84(4):492–510. doi: 10.1016/J.RGMX.2019.08.001.
- Bursać Kovačević, Danijela, Marta Maras, Francisco J Barba, Daniel Granato, Shahin Roohinejad, Kumar Mallikarjunan, Domenico Montesano, Jose M. Lorenzo, and Predrag Putnik. 2018. “Innovative Technologies for the Recovery of Phytochemicals from Stevia Rebaudiana Bertoni Leaves: A Review.” *Food Chemistry*. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.06.091.
- Bursać Kovačević, Danijela, Marta Maras, Francisco J. Barba, Daniel Granato, Shahin Roohinejad, Kumar Mallikarjunan, Domenico Montesano, Jose M. Lorenzo, and Predrag Putnik. 2018. “Innovative Technologies for the Recovery of Phytochemicals from Stevia Rebaudiana Bertoni Leaves: A Review.” *Food Chemistry* 268:513–21. doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2018.06.091.
- Bussmann, Rainer W. 2018. “Plantas Medicinales de Los Andes y La Amazonia Ethnobotany of Kailash Sacred Landscape Nepal: Ecology, Ethnography and Ethnomedicine View Project Medicinal Plants and Their Ecology in Northern Peru and Southern Ecuador View Project.” *Article in Ethnobotany Research and Applications*. doi: 10.32859/era.15.1.001-293.
- Carrera-Lanestosa, Areli, Juan J. Acevedo-Fernández, Maira R. Segura-Campos, Rodolfo Velázquez-Martínez, Yolanda Moguel-Ordóñez, Areli Carrera-Lanestosa, Juan J. Acevedo-Fernández, Maira R. Segura-Campos, Rodolfo Velázquez-Martínez, and Yolanda Moguel-Ordóñez. 2020. “Efecto Antihipertensivo, Antihiper glucemiante y Antioxidante de Los Extractos de Stevia Rebaudiana Bertoni (Variedad Criolla INIFAP C01) En Ratas Wistar Con Síndrome Metabólico Inducido.” *Nutrición Hospitalaria* 37(4):730–41. doi: 10.20960/NH.02858.
- Delbianco, Martina, Priya Bharate, Silvia Varela-Aramburu, and Peter H. Seeberger. 2015. “Carbohydrates in Supramolecular Chemistry.” *Chemical Reviews* 116(4):1693–1752. doi: 10.1021/ACS.CHEMREV.5B00516.
- Echavarría, Ana Paola, Nubia Matute, Jaime Andrés Cano, and Haydelba D’armas. 2020. “Phytochemical Analyses of Eight Plants from Two Provinces of Ecuador by GC-MS.” ~ 10 ~ *International Journal of Herbal Medicine* 8(1):10–20.
- Esmat Abou-Arab, A., A. Azza Abou-Arab, and M. Ferial Abu-Salem. 2010. “Physico-Chemical Assessment of Natural Sweeteners Steviosides Produced from Stevia Rebaudiana Bertoni Plant.” *African Journal of Food Science* 4(5):269–81.
- Esther, Miladys, Torrenegra Alarcón, Paola Pájaro, and Glicerio León Méndez. 2017. “Actividad Antibacteriana in Vitro de Aceites Esenciales de Diferentes Especies Del Género Citrus.” *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm* 46(2):160–75. doi: 10.15446/rcciquifa.v46n2.67934.
- Fabrizio Ferrazzano, Gianmaria, Tiziana Cantile, Brunella Alcidi, Marco Coda, Aniello Ingenito, Armando Zarrelli, Giovanni Di Fabio, Antonino Pollio, Jean Jacques, Vanden Eynde, and Sylvain Rault. 2015. “Is Stevia Rebaudiana Bertoni a Non Cariogenic Sweetener? A Review.” II. doi: 10.3390/molecules21010038.
- Gawel-Bęben, Katarzyna, Tomasz Bujak, Zofia Nizioł-Łukaszewska, Beata Antosiewicz, Anna Jakubczyk, Monika Karaś, and Kamila Rybczyńska. 2015a.

- “Molecules Stevia Rebaudiana Bert. Leaf Extracts as a Multifunctional Source of Natural Antioxidants.” *Molecules* 20:5468–86. doi: 10.3390/molecules20045468.
- Gaweł-Bęben, Katarzyna, Tomasz Bujak, Zofia Nizioł-Łukaszewska, Beata Antosiewicz, Anna Jakubczyk, Monika Karaś, and Kamila Rybczyńska. 2015b. “Stevia Rebaudiana Bert. Leaf Extracts as a Multifunctional Source of Natural Antioxidants.” *Molecules* 2015, Vol. 20, Pages 5468-5486 20(4):5468–86. doi: 10.3390/MOLECULES20045468.
- Gómez, Paternina. 2018. “(PDF) PRODUCTOS NATURALES: METABOLITOS SECUNDARIOS Y ACEITES ESENCIALES.” *Book*.
- González-Chavira, Mario Martín, Sofía Estefania-Ojeda, Serafina Rocío Díaz-Huacuz, José Luis Pons-Hernández, Ramón Gerardo Guevara-González, Salvador Horacio Guzmán-Maldonado, Mario Martín González-Chavira, Sofía Estefania-Ojeda, Serafina Rocío Díaz-Huacuz, José Luis Pons-Hernández, Ramón Gerardo Guevara-González, and Salvador Horacio Guzmán-Maldonado. 2018. “Cambios En El Contenido de Compuestos Fenólicos, Esteviosidos y Nivel de Metilación En Stevia Rebaudiana Elicitada.” *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 9(7):1435–46. doi: 10.29312/REMEXCA.V9I7.1314.
- González Costa, Maricarmen, and Alexander Ariel Padrón González. 2019. “La Inflamación Desde Una Perspectiva Inmunológica: Desafío a La Medicina En El Siglo XXI.” *Revista Habanera de Ciencias Médicas, ISSN-e 1729-519X, Vol. 18, N.º. 1, 2019, Págs. 30-44* 18(1):30–44.
- Gordo, Dario Alonso Martín. 2018. “Los Compuestos Fenólicos, Un Acercamiento A Su Biosíntesis, Síntesis Y Actividad Biológica.” *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 9(1):81–104. doi: 10.22490/21456453.1968.
- Goyal, S. K., Samsher, and R. K. Goyal. 2010. “Stevia (Stevia Rebaudiana) a Bio-Sweetener: A Review.” *Http://Dx.Doi.Org/10.3109/09637480903193049* 61(1):1–10. doi: 10.3109/09637480903193049.
- Gupta, Ena, Shweta Kaushik, Shalini Purwar, Ramesh Sharma, Anil K. Balapure, and Shanthi Sundaram. 2017. “Anticancer Potential of Steviol in MCF-7 Human Breast Cancer Cells.” *Pharmacognosy Magazine* 13(51):345. doi: 10.4103/PM.PM_29_17.
- Hernández-Alvarado, Jerelly, Adrian Zaragoza-Bastida, Gabino López-Rodríguez, Armando Peláez-Acero, Agustín Olmedo-Juárez, Nallely Rivero-Perez, Jerelly Hernández-Alvarado, Adrian Zaragoza-Bastida, Gabino López-Rodríguez, Armando Peláez-Acero, Agustín Olmedo-Juárez, and Nallely Rivero-Perez. 2018. “Actividad Antibacteriana y Sobre Nematodos Gastrointestinales de Metabolitos Secundarios Vegetales: Enfoque En Medicina Veterinaria.” *Abanico Veterinario* 8(1):14–27. doi: 10.21929/ABAVET2018.81.1.
- Hossain, M. F., M. T. Islam, M. A. Islam, and S. Akhtar. 2017. “Cultivation and Uses of Stevia (*Stevia Rebaudiana* Bertoni): A Review.” *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 17(4):12745–57. doi: 10.4314/ajfand.v17i4.
- Howlader, Md Moniruzzaman Sohag, Sheikh Rashed Ahmed, Khadizatul Kubra, and Md Khairul Hassan Bhuiyan. 2016. “Biochemical and Phytochemical Evaluation

- of Stevia Rebaudiana.” *Asian Journal of Medical and Biological Research* 2(1):121–30. doi: 10.3329/AJMBR.V2I1.27577.
- Ijaz, Muhammad, Arslan M. Peerzada, Muhammad Saqib, and Muhammad Latif Malik. 2015. “Stevia Rebaudiana: An Alternative Sugar Crop in Pakistan-A Review Brucellosis in Pakistan View Project World Without Waste-Pakistan Without Waste by WWF View Project.” *Article in Journal of Medicinal and Spice Plants*.
- Isaza, José. 2007. “TANINOS O POLIFENOLES VEGETALES.” *Redalyc* XIII(33):13–18.
- Jahangir Chughtai, Muhammad Farhan, Imran Pasha, Tahir Zahoor, Adnan Khaliq, Samreen Ahsan, Zhengzhong Wu, Muhammad Nadeem, Tariq Mehmood, Rai Muhammad Amir, Iqra Yasmin, Atif Liaqat, and Saira Tanweer. 2020. “Nutritional and Therapeutic Perspectives of Stevia Rebaudiana as Emerging Sweetener; a Way Forward for Sweetener Industry.” *Http://Mc.Manuscriptcentral.Com/Tcyt* 18(1):164–77. doi: 10.1080/19476337.2020.1721562.
- Jaramillo, Carmita Jaramillo, Anyi Jaramillo Espinoza, Haydelba D’Armas, Luis Troccoli, and Luisa Rojas de Astudillo. 2016. “Concentraciones de Alcaloides, Glucósidos Cianogénicos, Polifenoles y Saponinas En Plantas Medicinales Seleccionadas En Ecuador y Su Relación Con La Toxicidad Aguda Contra Artemia Salina.” *Revista de Biología Tropical* 64(3):1171–84. doi: 10.15517/rbt.v64i3.19537.
- Kim, Il Suk, Mira Yang, Ok Hwan Lee, and Suk Nam Kang. 2011. “The Antioxidant Activity and the Bioactive Compound Content of Stevia Rebaudiana Water Extracts.” *LWT - Food Science and Technology* 44(5):1328–32. doi: 10.1016/J.LWT.2010.12.003.
- Landrove-Escalona, Eduardo Adiel, Ismael Camilo Rodríguez-Núñez, Elianis De, Caridad Figueredo-Guerra, Isabel Cristina, and Martel Cabrera. 2021. “Estudios Preclínicos Novedosos de La Withania Somnifera Para Tratamiento Del Cáncer.” *EsTuSalud* 3(2):79.
- Lemus-Mondaca, Roberto, Antonio Vega-Gálvez, Pilar Rojas, Karina Stucken, Carla Delporte, Gabriela Valenzuela-Barra, Rosa J. Jagus, María Victoria Agüero, and Alexis Pasten. 2018. “Antioxidant, Antimicrobial and Anti-Inflammatory Potential of Stevia Rebaudiana Leaves: Effect of Different Drying Methods.” *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 11:37–46. doi: 10.1016/J.JARMAP.2018.10.003.
- Leonardo, Alex, and Jiménez Haro. 2015. *Estudio Fitoquímico y Evaluación de La Actividad Antidermatófica IN VITRO Del Látex de Brosimum Utile (Kunth c.s.)(Leche de Sandi)*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Leos-Rivas, Catalina, Catalina Rivas-Morales, and David Gilberto García-Hernández. n.d. “CAPÍTULO ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y TOXICIDAD.” doi: 10.3926/oms.333.
- Maily Jiménez, Connie, Romero Escuela, Agrícola Panamericana, and Zamorano Honduras. 2015. “Plan de Negocios Para La Producción y Comercialización de Té de Infusión a Base de Stevia Rebaudiana, En Ecuador.”
- Maki, K. C., L. L. Curry, M. S. Reeves, P. D. Toth, J. M. Mckenney, M. V Farmer, S.

- L. Schwartz, B. C. Lubin, A. C. Boileau, M. R. Dicklin, M. C. Carakostas, and S. M. Tarka. 2008. "Chronic Consumption of Rebaudioside A, a Steviol Glycoside, in Men and Women with Type 2 Diabetes Mellitus." doi: 10.1016/j.fct.2008.05.007.
- Marcinek, Katarzyna, and Zbigniew Krejpcio. 2015. "Stevia Rebaudiana Bertoni - Chemical Composition and Functional Properties." *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria* 14(2):145–52. doi: 10.17306/J.AFS.2015.2.16.
- María, Ada, Ríos Cortés, Victor Gabriel, Canuas Landero, Claudia Fernanda, Romero Medina, Sandra Luz Cabrera Hilerio, Gabriel Ríos Cortés, and Minerva Rosas Morales. 2017. "Extracción de Steviósido y Rebaudiósido A Por Métodos No Convencionales."
- Massón-Palacios, Maria, Ana Armas -Vega, Correspondencia María, and Masson Palacios. 2016. "Comparación de La Efectividad Antibacteriana de La Stevia Rebaudiana Sobre Streptococcus Mutans y Streptococcus Sanguinis." *Revista KIRU* 13(2).
- Mf, Hossain, Islam Mt, Islam Ma, S. Akhtar, and Farid Hossain. 2017. "Cultivation and Uses of Stevia (*Stevia Rebaudiana* Bertoni): A Review." *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 17(4):12745–57. doi: 10.4314/ajfand.v17i4.
- Palza, Julio Alberto Todco, and Henry Diaz-Murillo. 2019. "Toxicity of Aqueous Extract of Stevia Rebaudiana in Rattus Norvegicus Variety Sprague Dawley."
- Pazos, Claribel Plaín, Anisbel Pérez de Alejo Plain, and Yeilyn Rivero Viera. 2019. "La Medicina Natural y Tradicional Como Tratamiento Alternativo de Múltiples Enfermedades." *Revista Cubana de Medicina General Integral* 35(2):1–18.
- Peruana Cayetano Heredia Lima, Universidad, Clínica Ricardo Palma Lima, Pedro Martín Salazar Cáceres, Aida Rotta Rotta, and Fanny Otiniano Costa. 2016. "Hipertensión En El Adulto Mayor." *Revista Medica Herediana* 27(1):60–66.
- Phillipson, J. David. 2007. "Phytochemistry and Pharmacognosy." *Phytochemistry* 68(22–24):2960–72. doi: 10.1016/J.PHYTOCHEM.2007.06.028.
- Prata, Cecilia, Laura Zambonin, Benedetta Rizzo, Tullia Maraldi, Cristina Angeloni, Francesco Vieceli Dalla Sega, Diana Fiorentini, and Silvana Hrelia. 2017. "Glycosides from Stevia Rebaudiana Bertoni Possess Insulin-Mimetic and Antioxidant Activities in Rat Cardiac Fibroblasts." *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017. doi: 10.1155/2017/3724545.
- Ramírez-Mosqueda, M. A., L. G. Iglesias-Andreu, G. Ramírez-Madero, and E. U. Hernández-Rincón. 2016. "Micropropagation of Stevia Rebaudiana Bert. in Temporary Immersion Systems and Evaluation of Genetic Fidelity." *South African Journal of Botany* 106:238–43. doi: 10.1016/J.SAJB.2016.07.015.
- Reyes-Silva, Jesús A., Arturo Salazar-Campos, and Héctor H. Ríos-Cortes. 2020. "Metabolitos Secundarios de Las Plantas (Angiospermas) y Algunos Usos Interesantes." *Uno Sapiens Boletín Científico de La Escuela Preparatoria No. 1* 2(4):16–18.
- Ritu, Mathur, and Johri Nandini. 2016. "Nutritional Composition of Stevia Rebaudiana, a Sweet Herb, and Its Hypoglycaemic and Hypolipidaemic Effect on Patients with

- Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus.” doi: 10.1002/jsfa.7627.
- Rivilla, Diego Martínez, Diego Martínez Rivilla, Aura Urrea, Elio Jiménez, and Lucia Atehortua. 2016. “Estrategia Para La Propagación *in Vitro* de *Stevia Rebaudiana* Bertoni.” *Biotecnología Vegetal* 16(3).
- Rodríguez, José Albino Moreno. 2020. “Evaluación de La Actividad Antimicrobiana Del Extracto Etanólico de *Stevia Rebaudiana* Frente a Bacterias de Importancia Clínica.” doi: 10.16/CSS/JQUERY.DATATABLES.MIN.CSS.
- Ruiz-Ruiz, Jorge Carlos, Yolanda Beatriz Moguel-Ordoñez, and Maira Rubi Segura-Campos. 2017. “Biological Activity of *Stevia Rebaudiana* Bertoni and Their Relationship to Health.” *Https://Doi.Org/10.1080/10408398.2015.1072083* 57(12):2680–90. doi: 10.1080/10408398.2015.1072083.
- Salazar-García, Samuel, Raquel Enedina Medina-Carrillo, and Arturo Álvarez-Bravo. 2016. “Influencia Del Riego y Radiación Solar Sobre El Contenido de Fitoquímicos En La Piel de Frutos de Aguacate ‘Hass.’” *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* (13):2565–75.
- Tagle, Rodrigo. 2018. “DIAGNÓSTICO DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL.” *Revista Médica Clínica Las Condes* 29(1):12–20. doi: 10.1016/J.RMCLC.2017.12.005.
- Técnico, Boletín, and Edición Especial. 2009. “*Stevia Rebaudiana* Bertoni, Una Planta Medicinal.”
- Vásquez, Marilú Roxana Soto. 2015. “Estudio Fitoquímico y Cuantificación de Flavonoides Totales de Las Hojas de *Piper Peltatum* L. y *Piper Aduncum* L. Procedentes de La Región Amazonas.” *In Crescendo* 6(1):33–43. doi: 10.21895/INCRES.2015.V6N1.04.
- Veach, Allison M., Reese Morris, Daniel Z. Yip, Zamin K. Yang, Nancy L. Engle, Melissa A. Cregger, Timothy J. Tschaplinski, and Christopher W. Schadt. 2019. “Rhizosphere Microbiomes Diverge among *Populus Trichocarpa* Plant-Host Genotypes and Chemotypes, but It Depends on Soil Origin.” *Microbiome* 7(1):1–15. doi: 10.1186/S40168-019-0668-8/TABLES/3.
- Wu, Guoyao. 2021. “Amino Acids : Biochemistry and Nutrition.” doi: 10.1201/9781003092742.
- Yadav, A. K., S. Singh, D. Dhyani, and P. S. Ahuja. 2011. “A Review on the Improvement of *Stevia* [*Stevia Rebaudiana* (Bertoni)] For Personal Use Only.” *J. Plant Sci* 91:1–27. doi: 10.4141/CJPS10086.