

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LA *STEVIA REBAUDIANA*

M. Bravo A.¹, N. Ale B.², D. Rivera C.³, J. Huamán M.⁴, D. Delmás R.⁵,
M. Rodríguez B.⁶, M. Polo S.⁷, M. Bautista C.⁸.

RESUMEN

Se realizaron extracciones acuosas, controlando el pH con CaCO_3 e Ca(OH)_2 , se utilizaron como clarificantes carbón activado y arcillas activadas en soluciones frías y calientes; de ello se obtuvo los mejores resultados con bentonita en frío, arcilla activada y carbón activado en caliente. Los resultados analíticos se comparan con una muestra de *Stevia* comercial.

Palabras clave: Extracción, clarificante, edulcorante, intercambio iónico, esteviósido.

CHEMICAL CHARACTERIZATION OF THE *STEVIA REBAUDIANA*

ABSTRACT

Aqueous extractions were performed controlling the pH with CaCO_3 and Ca(OH)_2 , using as clarifiers activated coal and activated clays in cold and warm solutions to obtain best results with cold bentonite, warm activated clay and warm activated coal. Analytical results were compared with a commercial sample of stevia.

Keywords: Extraction, clarifier, sweetener, ion exchange, stevioside.

I. INTRODUCCIÓN

En el momento actual, en el que todo el mundo mira a los productos naturales como una alternativa de alimentación sana, nos vemos en la necesidad de estudiar las hojas de esta planta. La *Stevia rebaudiana* crece en ceja de selva del Perú, así como en las regiones de Cajamarca y Arequipa.

Esta planta es usada como edulcorante natural no calórico, recomendada para personas diabéticas y personas obesas. Por referencias bibliográficas se conoce que tiene muchas propiedades beneficiosas: digestiva, antibacteriana, diurética, antiácida y cardiotónica, antioxidante, desintoxicante, cosmética y antidiabética.

Es usada como infusión, en extracto y como cristales solubles, para estas dos últimos es necesario hacer una purificación y clarificación.

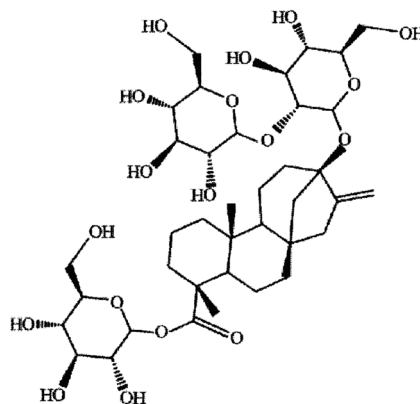


Figura N.º 1. Estructura del esteviósido.

- 1 Departamento de Química Analítica, FQIQ, UNMSM, mbravo@hotmai.com
- 2 Departamento de Química Analítica, FQIQ, UNMSM, alesbunmsm@yahoo.es
- 3 Departamento de Química Analítica, FQIQ, UNMSM, riverl@hotmail.com
- 4 Departamento de Química Orgánica, FQIQ, UNMSM, jmariah25@hotmail.com
- 5 Departamento de Química Analítica, FQIQ, UNMSM, dines_13delmas@yahoo.com
- 6 Departamento de Química Analítica, FQIQ, UNMSM, angelrodbest@yahoo.com
- 7 Departamento de Química Inorgánica, FQIQ, UNMSM, aproinsac@yahoo.com
- 8 Departamento de Procesos, FQIQ, UNMSM, mabutistac@unmsm.edu.pe

En el presente trabajo se enfatizó en la extracción del esteviósido, identificando al metabolito primario responsable del poder edulcorante. Figura N.º 1.

II. PARTE EXPERIMENTAL

Material biológico. Las hojas de *Stevia rebaudiana* fueron adquiridas en Lima pero proceden de la región de Cajamarca.

Los análisis se realizaron con muestras deshidratadas.

Las muestras para la extracción del esteviósido se prepararon según Figura N.º 2.

Etapas del proceso

1era etapa: Selección, molienda y tamizado en malla 200.

2da etapa: Extracción acuosa con CaCO_3 por 24 horas, posterior filtración cuidadosa.

3ra etapa: Extracción regulando el pH con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en frío y en caliente para definir el método más óptimo y posterior filtración cuidadosa.

4ta etapa: Regular el pH del extracto 10 - 12 y posterior filtración.

5ta etapa: Clarificación usando en unos casos carbón activado y en otras arcillas activadas. Regulando a un pH 7,5.

6ta etapa: Purificación usando resinas de intercambio iónico y obtención de cristales.

Procedimiento experimental

Selección, molienda y tamizado en malla 200, posterior extracción acuosa regulando el pH con CaCO_3 por 24 horas con agitación constante. (Extracto Bruto 1). Se filtra el extracto obtenido separando los gruesos de los finos (Extracto 2), se adiciona $\text{Ca}(\text{OH})_2$ regulando el pH. Se realiza la filtración ade-

cuada del extracto para eliminar impurezas realizando múltiples filtraciones (Extracto 3) y luego precipitándolo a un pH de 10 con H_3PO_4 al 2% para eliminar interferentes persistentes (Extracto 4). Se procede a la clarificación, usando carbón activado y en otros casos arcilla activada (Extracto clarificado) con un pH 7,5 regulando con una temperatura máxima de 45 °C para los procesos en caliente. Finalmente, se purifica usando resinas de intercambio iónico, para su posterior cristalización.

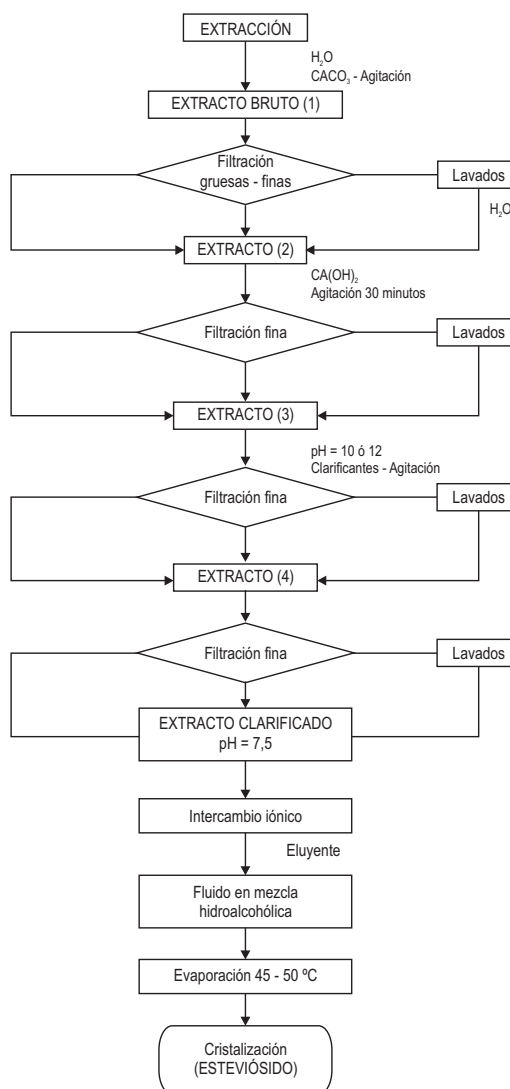


Figura N.º 2. Diagrama de flujo para la obtención del esteviósido.

III. RESULTADOS

Cuadro N.º 1. Análisis cualitativo de iones: Ca^{2+} y PO_4^{3-} , en extractos y cristales.

Muestra	Ca^{2+}	PO_4^{3-}
Referencia	X	X (solución verde)
Extracto acuoso	X X	No hay
Cristales	X	No hay

Donde: X: enturbiamiento.
XX: precipitación.

Cuadro N.º 2. Pruebas cualitativas en el extracto acuoso.

Reactivo	Resultado
Reactivo de Fehling	Positivo (++)
Reactivo de Cloruro Férrico	Positivo (++)
Reactivo de Molisch	Positivo (+)

(++) : Buena cantidad
(+) : Poco

Cuadro N.º 3. Estudio de la clarificación-efecto del pH.

Muestra (molida)	Método de extracción	pH	Clarificante	pH (después de clarificación)
M 1	Frío	10,0	Bentonita + Gelatina	7,5
M 2	Caliente	10,0	Bentonita + Gelatina	7,5
M 3	Frío	10,0	AA + Gelatina	7,5
M 4	Caliente	10,0	Carbón activado	7,5
M 5	Caliente	12,0	AA + Gelatina + C A	7,5
M 6	Caliente	10,0	AA + Gelatina	7,5

Frío: Temperatura ambiente. Caliente: T = 40 - 45 °C
AA: Arcilla activada C A: Carbón activado
Clarificante: 2% Gelatina: 0,1%

Cuadro N.º 4. Estudio cromatográfico del esteviósido.

Muestras: Extractos clarificados y producto cristalino.

	Rf (Muestra)	Rf: Referencia
M1	0,64	0,65
M2	0,63	0,64
M3	0,63	0,63
M4	0,64	0,64
M5	0,63	0,63
M6	0,64	0,64
C	0,67	0,67

Cuadro N.º 5. Bandas características de la muestra de referencia (FTIR).

Bandas (cm^{-1}), ν	Grupos Funcionales
3350,07	O-H
2929,98	C-H
1727,99	C=O
1447,90	C-H
1074,52	C-O-C

Cuadro N.º 6. Bandas características de la muestra (cristales obtenidos) (FTIR).

Bandas (cm^{-1}), ν	Grupos Funcionales
3377,21	O-H
2935,53	C-H
1726,56	C=O
1447,81	C-H
1073,74	C-O-C

IV. DISCUSIÓN

De los resultados obtenidos mostrados en el Cuadro N.º 2, con las reacciones de Fehling, cloruro férrico y reactivo de Molisch se determina la presencia de grupos OH, grupos C=O y azúcares.

El método óptimo para la extracción del esteviósido comprende varias etapas entre las más importantes: extracción acuosa (temperatura de extracción), filtración, clarificación, purificación, precipitación, recristalización y secado del esteviósido.

De acuerdo a los espectros IR, se nota la presencia de los grupos funcionales característicos, tanto en la muestra de referencia como la de los cristales obtenidos.

V. CONCLUSIONES

Según las pruebas analíticas cualitativas, los extractos finales presentan calcio y un pH promedio de 7,5; mientras que en los extractos purificados por cromatografía de intercambio iónico disminuye la presencia de calcio y el pH promedio es 6. La muestra utilizada como referencia presenta calcio en menor proporción y un pH 6,5.

Los Rf de la muestra de referencia y de las muestras de trabajo extractos_clarificados tienen valores entre 0,63 y 0,67, lo que indica la presencia del esteviósido.

En cuanto al barrido de longitudes de onda por espectrofotometría visible, podemos notar que la muestra utilizada como referencia y todas las muestras trabajadas tienen un máximo de absorbencia de 660 nm, en tanto que sus menores absorbencias se encuentran entre 620-625 nm.

Las muestras clarificadas con bentonita en frío y con arcilla activada y carbón activado en caliente presentan los mayores niveles de absorción en 660 nm al igual que la muestra utilizada como referencia.

El espectro FTIR de la muestra de referencia muestra bandas características de la molécula de estudio obtenida. La muestra aislada presenta bandas similares que confirman la presencia del esteviósido.

VI. AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen la financiación otorgada por el Consejo Superior de Investi-

gaciones (CSI) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Lock de Ugaz O. *Investigación fitoquímica*, 2da. ed. Lima: Fondo Editorial PUCP, 1994; pp. 255-279.
- [2] Gibaja Oviedo S. *Pigmentos naturales*. Lima: Fondo Editorial UNMSM, 1998; pp. 145-149.
- [3] Soto A, Del Val S. *Revista de Ciencias Agrarias y Tecnología de los alimentos*. 2002 20: 5-9.
- [4] Mosetting E. *et al.* J. Am. Chem. Soc. 1963 85: 2305.
- [5] Tanaka O. *Trends in Analytical Chemistry* 1982 1 (11):246-248.
- [6] Kobayashi, M. *et al.* *Phytochemistry* 1977 16: 1405.
- [7] *United States Patent*, Patent. Number: 5, 962,678, Oct. 5, 1999.
- [8] www.miski/perusac.com
- [9] www.paraguayvende.com.py