

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

Facultad de Industrias Alimentarias



**“OBTENCION DE ESTEVIOSIDO EN POLVO A PARTIR
DE HOJAS DE ESTEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni)”**

**Tesis para optar el título de
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Br. Jessica Marcia Delgado Alarcón

**Lima – Perú
2003**

INDICE DE CONTENIDO

	Pag.
RESUMEN	
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LITERATURA	3
2.1 Estevia	3
2.1.1. Generalidades	3
2.1.2. Descripción morfológica	4
2.1.3. Composición química	7
2.1.4. Propiedades	9
2.2 Edulcorante	12
2.2.1 Generalidades	12
2.2.2 Poder edulcorante	12
2.2.3 El poder edulcorante y la evaluación sensorial	14
2.2.4 Edulcorantes de la Estevia	14
2.2.5 Síntesis de los edulcorantes de la Estevia	16
2.3 Esteviósido	18
2.3.1. Generalidades	18
2.3.2. Composición	20
2.3.3. Extracción	20
a. Disolventes orgánicos	21

b. Medio acuoso	21
c. CO ₂ presurizado	22
2.4. Toxicidad de la Estevia y del Esteviósido	22
2.5. Alternativas de industrialización del esteviósido	24
III. MATERIALES Y METODOS	28
3.1. Materiales e insumos	28
3.1.1. Materia prima	28
3.1.2. Enzimas	28
3.2. Equipos, materiales y reactivos	29
3.2.1. Equipos	29
3.2.2. Materiales	30
3.2.3. Reactivos	30
3.3. Métodos de Análisis	31
3.3.1. Análisis Físico-químicos	31
3.3.2. Determinación de la actividad enzimática	32
3.3.3. Análisis cromatográficos	33
3.3.4. Análisis sensorial	34
3.4. Metodología Experimental	35
3.4.1. Obtención del esteviósido	36
3.4.1.1. Diseño experimental	38

a.	Estudio de la precipitación del esteviósido con metanol	39
b.	Estudio de la influencia del pH en la purificación por intercambio iónico	39
c.	Estudio de la clarificación – tamaño de partícula	42
d.	Estudio del tamaño de partícula y dilución	44
3.4.1.2.	Análisis estadístico	45
3.4.2.	Determinación de los compuestos presentes en el esteviósido extraído	46
3.4.3.	Evaluación sensorial	46
3.4.3.1.	Análisis estadístico	47
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
4.1.	Determinación de la actividad enzimática	48
4.1.1.	Actividad enzimática de Celluclast 1.5L	48
4.1.2.	Actividad pectinasa de Ultrazyme 100G	50
4.2.	Curva estándar de Esteviósido	51
4.3.	Estudio de la precipitación del esteviósido con metanol	52
4.4.	Estudio de la influencia del pH en la purificación por intercambio iónico	56
4.5.	Estudio de la clarificación – tamaño de partícula	65
4.6.	Estudio del tamaño de partícula - dilución	77
4.7.	Evaluación de los compuestos presentes en el esteviósido en polvo por Cromatografía en Capa Fina o TLC	83

4.8.	Evaluación sensorial del esteviósido	87
4.8.1.	Prueba de ordenamiento o ranking	88
4.8.2.	Prueba triángulo	91
V.	CONCLUSIONES	93
VI.	RECOMENDACIONES	95
VII.	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Pag.
1. Constituyentes químicos de la estevia	9
2. Poder edulcorante de diferentes productos comerciales	13
3. Resultados experimentales del estudio de la precipitación con metanol en el rendimiento y concentración del producto obtenido	53
4. Resultados experimentales del estudio de la influencia de pH en la purificación por intercambio iónico	63
5. Análisis de la viscosidad cinemática en la hidrólisis enzimática	67
6. Resultados experimentales del estudio de la influencia de clarificación-tamaño de partícula en la transmitancia de los extractos	69
7. Resultados experimentales del estudio de la influencia de clarificación-tamaño de partícula en el rendimiento del producto obtenido	72
8. Resultados experimentales del estudio de la influencia de clarificación-tamaño de partícula en la concentración del producto obtenido	75
9. Resultados experimentales del estudio de la influencia del tamaño de partícula - dilución en el rendimiento del producto obtenido	79
10. Resultados experimentales del estudio de la influencia del tamaño de partícula - dilución en la concentración del producto obtenido	81

INDICE DE FIGURAS

Figura	Pag.
1. Hojas de <i>Estevia rebaudiana</i> Bertoni	5
2. Principales glicósidos de la estevia: esteviósido (a) y rebaudiósido A (b)	8
3. Glicósidos presente en las hojas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	16
4. Ruta de la síntesis de los glicósidos en la estevia	17
5. Camino biosintético para la síntesis de los glicósidos de esteviol	18
6. Esquema de la interacción entre glicósido y receptor	19
7. Flujo de operaciones de la cromatografía en capa fina	34
8. Flujo del proceso de la evaluación sensorial	35
9. Flujo de operaciones para la obtención de esteviósido	37
10. Diseño experimental del estudio de la precipitación con metanol	39
11. Diseño experimental del estudio de la influencia del pH en la purificación	40
12. Esquema de la cromatografía de intercambio iónico	41
13. Diseño experimental del estudio de la clarificación-tamaño de partícula	43
14. Diseño experimental del estudio de tamaño de partícula-dilución	44
15. Curva estándar de glucosa	48
16. Curva de la actividad enzimática de Celluclast 1.5L	49
17. Curva de la actividad enzimática de Ultrazime 100G	50
18. Curva estándar de esteviósido	51
19. Efecto del uso del metanol en el rendimiento (%) y concentración (mg/mL) del producto obtenido	54
20. Cromatograma de la cinética de las fracciones obtenidas a pH 12.5	57

21.	Cromatograma de la cinética de las fracciones llevadas a pH 8.5	59
22.	Cromatograma de la cinética de las fracciones llevadas a pH 9.5	60
23.	Cromatograma de la cinética de las fracciones llevadas a pH 10.5	62
24.	Efecto del pH en la purificación por intercambio iónico en la transmitancia (%), rendimiento (%) y concentración (mg/mL)	64
25.	Efecto del uso de clarificantes comerciales (gelatina, bentonita y sol de sílice) en la transmitancia (%) durante la etapa de clarificación	70
26.	Efecto del uso de clarificantes comerciales (gelatina, bentonita y sol de sílice) en muestras sometidas a tratamiento enzimático y sin enzimas en el rendimiento (%) en el producto obtenido	74
27.	Efecto del uso de clarificantes comerciales (gelatina, bentonita y sol de sílice) en la concentración (mg/mL) del producto obtenido	76
28.	Efecto del tamaño de partícula-dilución en el rendimiento (%) del producto obtenido	80
29.	Efecto del tamaño de partícula-dilución en la concentración (mg/mL) del producto obtenido	82
30.	Cromatograma en capa fina de los compuestos presentes en las tres mejores muestras de esteviósido obtenido y esteviósido patrón	84
31.	Cromatograma de los diversos azúcares comparado con la muestra desconocida	86
32.	Cromatograma en capa fina de un extracto acuoso de estevia y tres azúcares incorporados	87
33.	Resultados de la prueba de ordenamiento del poder edulcorante	89