

UTILIZACIÓN DE MEDICIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES COMO APROXIMACIÓN AL CONTENIDO DE STEVIOLGLICÓSIDOS EN STEVIA REBAUDIANA

Ing. Agr. Taiariol, Darío R.
Apoyo Técnico Leiva Nelson
INTA Bella Vista - Centro Regional Corrientes

Introducción

Stevia rebaudiana Bert., es una planta nativa del Paraguay conocida como Yerba Dulce utilizada en la industria alimenticia como una alternativa natural para sustituir edulcorantes sintéticos. En su forma natural las hojas son aproximadamente 15 - 30 veces más dulce que el azúcar de mesa (sacarosa), y en forma pura los Steviolglicósidos pueden llegar a ser entre 100 a 400 veces más dulce que la sacarosa. Por tratarse de una planta que se reproduce sexualmente por fecundación cruzada (alógama), no debe extrañar la diversidad fenotípica (apariencia) que se observa en las poblaciones nativas en Paraguay; esto provoca una gran diferencia de contenido de edulcorantes entre las distintas plantas y/o clones (Jarma et al, 2005).

La Yerba Dulce es utilizada por personas que buscan endulzantes no calóricos naturales con características similares a los calóricos.

Las hojas tienen el mayor contenido de Esteviósido y Rebaudiósido A (siendo este el componente más dulce), que son sus principales principios activos. Estos contenidos dependen en gran medida, del genotipo y las condiciones ambientales, del manejo de prácticas agronómicas, como la nutrición mineral y el riego.

En la planta los Steviolglicósidos tienden a acumularse en las hojas, con mayor concentración en las más viejas (más bajas) que en las hojas más jóvenes (superiores),

debido a que los cloroplastos son importantes en la síntesis de los precursores de los mismos. Las concentraciones en las hojas disminuyen con la floración (Brandle et al, 1998).

Ramesh et al. (2006) afirmaron que el crecimiento vegetativo, el área foliar, el peso seco de hojas y el rendimiento de Steviolglicósidos varían de acuerdo a la duración del día y que estos parámetros fueron mayores en días largos al compararlos con días cortos, principalmente la concentración de Esteviósidos, que aumentó en un 50%. Algunos de los pocos trabajos de investigación realizados en el tema han reportado que el crecimiento vegetativo de *Stevia* se reduce cuando las temperaturas están por debajo de 20°C y cuando la longitud del día es menor a 12 horas (Lemus-Mondaca et al. 2012; Yermakov & Kochetov, 1996). Los mismos autores informaron que al aumentar la longitud del día a 16 horas y la intensidad de la radiación, se incrementan el crecimiento vegetativo y los niveles de Steviolglicósidos. En el mejoramiento de *S. rebaudiana*, el análisis del contenido de los Steviolglicósidos presentes en las hojas es fundamental para encontrar plantas con mayor potencial edulcorante, más calidad industrial de los materiales vegetales, en especial mayor contenido de Rebaudiósido A respecto de los otros.

Según Castro y Novoa, 2008, la correlación obtenida para el contenido en peso de Steviolglicósidos en agua frente a su valor de índice de refracción y °Brix resulta una aproximación satisfactoria para estimar la concentración de Steviolglicósidos en un extracto bajo la consideración de que en éste hay una concentración cercana a 50% de sustancias diferentes de Steviolglicósidos.

El objetivo de este trabajo fue observar la variación estacional de Steviolglicósidos en cuatro genotipos y su correlación con un método sencillo de medición por °Brix, de los mismos.

Materiales y Métodos

El ensayo se realizó con cuatro genotipos: Clon A (Figura 1) y Clon B (Figura 2) (procedentes de Misiones), Clon D (Figura 3) (Buenos Aires) y Eireté (Figura 4) (Paraguay) implantados en 2009 en la EEA Bella Vista, con cobertura plástica bicolor (150 μ), fertirriego a base de Urea, Nitrato de Potasio y Ácido Fosfórico (calculado en base a una extracción de 1.62 g de N, 0.19 g de P y 1.4 g de K, por planta/año), con una densidad (75 cm x 20 cm) 66667 pl.Ha⁻¹. Para cada clon se registró °Brix cada 15 días, durante 2012-2013, 2013-2014 y 2014-2015 y se realizó análisis del contenido de Estevióside, Rebaudiósido A y Rebaudiósido C, en tres momentos en el año, fines primavera, invierno y verano, por medio de HPLC (% peso en Base Seca), durante la campaña 2014-2015.



Figura 1. Clon A



Figura 2. Clon B



Figura 3. Clon D



Figura 4. Variedad Eirete

Determinación de Sólidos Solubles Totales

La medición de °Brix, fue realizada en base a la metodología de Stevia Farma Industrial, Castro y Novoa, 2008. Las correlaciones completas para Steviolglicósidos comercial se muestran en la figura 5.

De cada unidad experimental se colectaron cinco hojas, tomadas de los nudos 4 a 6 desde el ápice de las ramas y con ausencia de floración, las mismas se colocaron en frascos etiquetados y se llevaron al laboratorio donde se las trituro con mortero (Figura 6) y se agregó quince gotas de agua destilada, para obtener una solución (25 % p/p). Con la ayuda de un gotero se tomó una muestra de 1 a 2 gotas de esta solución colocando la misma en el lente del refractómetro (método refractométrico, Atago Digital Refractometer PR-1, Figura 7) obteniéndose los valores de °Brix de cada variedad. Con los datos registrados se obtuvo la variación anual, visualizada mediante una línea de tendencia polinómica de orden 6, obteniéndose el R^2 correspondiente.

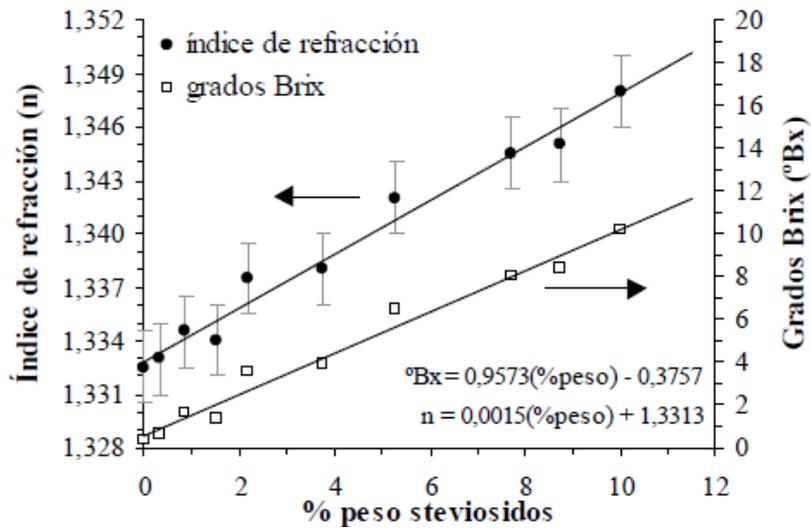


Figura 5. Correlación entre contenido en peso de Steviolglicósidos (Stevia Farma Industrial) y el valor de índice de refracción y °Brix de la mezcla. En Castro y Novoa 2008.



Figura 6. Detalle de mortero, para triturar las hojas de Stevia.



Figura 7. Detalle del refractómetro Atago Digital Refractometer PR-1, para realizar mediciones de ° Brix.

Resultados y Discusión

Los °Brix promedio fueron: Clon A, primavera 5,5, invierno 3 y verano-otoño 4,5; Clon B, 5,5 – 3 - 5; Clon D, 5 – 3 - 4,5 y Eireté, 6 – 4 - 5,5 (Figura 8). Los contenidos totales fueron: Clon A 12,86 – 8,98 – 12,81; Clon B 13,96 – 9,79 – 12,97; Clon D 12,02 – 8,89 – 11,5 y Eireté 14,98 – 10,77 – 13,96. (Figura 9 y Tabla 1). Tanto los °Brix como los contenidos de Steviolglicósidos, coinciden en la estacionalidad siendo mayores en primavera-verano, con diferencias entre genotipos y menores en invierno, resultados que coinciden con los de Jarma et al. (2005), al indicar que con mayor radiación es más elevado el contenido de componentes. Las relaciones Rebaudiósido A/ Esteviósido fueron: Clon A 0,95 Clon B 0,71, Clon D 0,44 y Eireté 0,88 (Tabla 2).

La variedad Eireté presentó valores de °Brix más estables durante el año, un mayor contenido de Steviolglicósidos totales y una relación Rebaudiósido A/Esteviósido cercana a 1, considerada muy promisoria. Los °Brix pueden ser utilizados como una primera aproximación a la evaluación de variedades y parámetro de cosecha. Además este parámetro puede utilizarse en la evaluación de tratamientos que afecten el contenido de Steviolglicósidos.

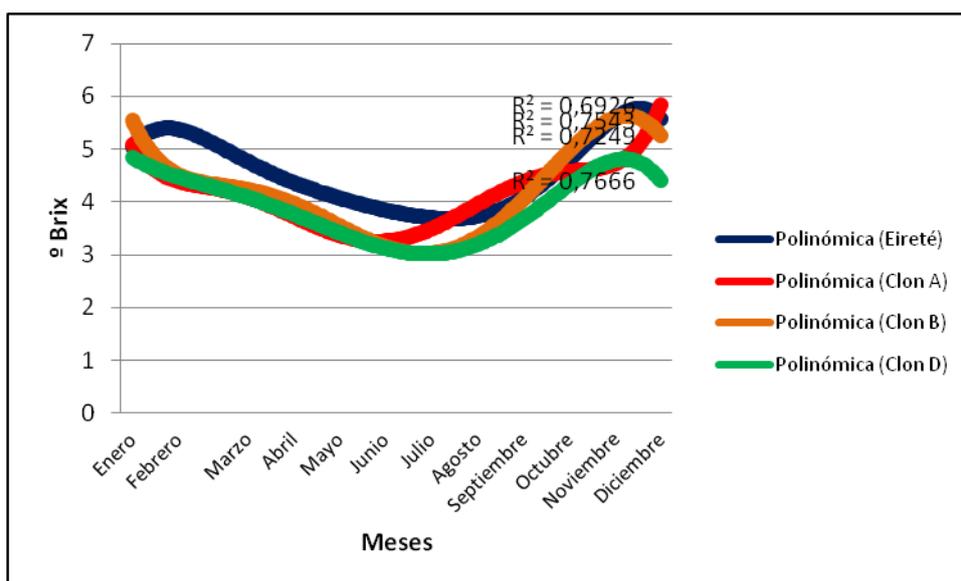


Figura 8. Variación anual de °Brix en cuatro genotipos. Campañas 2012-2013, 2013-2014 y 2014-2105

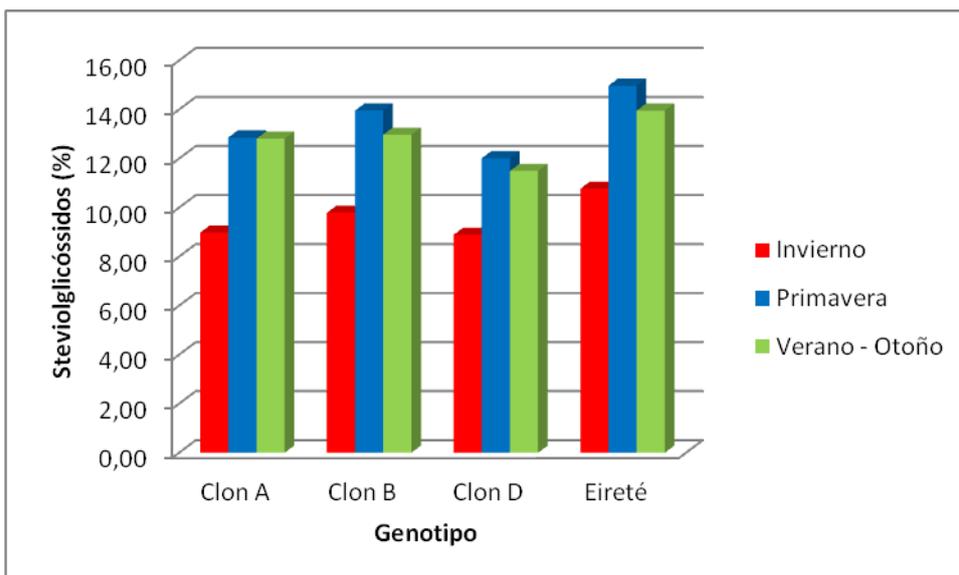


Figura 9. Porcentaje de Steviolglicósidos totales en tres momentos y cuatro genotipos. Campaña 2014-2015

Tabla 1. Porcentaje de Steviolglicósidos totales en tres momentos y cuatro genotipos. Se realizó un análisis en cada momento en la campaña 2014-2015.

		Esteviósido (% bh)	Rebaudiósido A (%bh)	Rebaudiósido C (%bh)
Invierno	Clon A	4,77	4,64	0,52
	Clon B	4,42	4,38	0,77
	Clon D	5,66	2,01	0,67
	Eireté	5,34	5,2	0,61
Primavera	Clon A	6,46	5,75	0,66
	Clon B	7,56	5,78	0,63
	Clon D	9,08	2,41	0,53
	Eireté	8,00	6,30	0,68
Verano	Clon A	6,13	6,03	0,66
	Clon B	9,11	3,10	0,77
	Clon D	6,39	4,50	0,62
	Eireté	7,00	6,17	0,79

Tabla 2. Relación Rebaudiósido A/ Esteviósido. Promedio Anual. Campaña 2014-2015.

Genotipos	Rebaudiósido A/Esteviósido
Clon A	0,95
Clon B	0,71
Clon D	0,44
Eireté	0,88

Bibliografía

Brandle J.E., Telmer P.G. 2007. Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochem.* 68:1855-1863.

Brandle J. E., Starratt A N, Gijzen M. 1998. *Stevia rebaudiana*: Its agricultural, biological, and chemical properties. *Cana J Plant Sci*; 78:527-36

Casaccia J., Alvarez E. 2006. Recomendaciones técnicas para una producción sustentable del Ka'a He'e (*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni) en el Paraguay. Caácupe Ministerio de Agricultura y Ganadería, Dirección de Investigaciones Instituto Agronómico Nacional Agrícola. 51 p. (Manual técnico N° 8) http://www.steviaparaguay.com.py/recomendaciones-tecnicas_kaahee.pdf

Castro V. A. Amadeus y Novoa C. Carlos F. 2008. Preparación y seguimiento de la estabilidad de extracto ácido de hoja pretratada de *Stevia Rebaudiana* Bertoni frente a almacenamiento y su aplicación directa en un alimento. *Revista RE'TAKVN*. Facultad de Ingeniería - Universidad del Magdalena. Volumen I – Número I, Diciembre - Año 2008. ISSN: 2027-162X. en <http://es.scribd.com/doc/18504007/Retakvn-Articulo-Stevia-en-Alimentos-Vol-1-1-p39-2008>

Kolb N, Kolb E, Ferreyra D, Le Vraux A y Celaya L 2012. Variación del contenido de Esteviósido y Rebaudiósido A durante el ciclo de crecimiento de la *Stevia rebaudiana* Bertoni. "II Congreso Internacional de Stevia, 22-23 de junio de 2012. Perico, Argentina.

Jarma A., Rengifo T., Araméndiz-Tatis H. 2005. Aspectos fisiológicos de estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) en el Caribe Colombiano: I. Efecto de la radiación incidente sobre el área foliar y la distribución de biomasa. *Agronomía Colombiana* 23(2): 207-216.

Lemus-Mondaca R., Vega-Gálve A., Zurabrado L., Ah-Hen K. 2012. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chem.* 132:1121-1132.

Lima Filho O. F. de, Malavolta E., de Sena J. O. A., Carneiro J. W. P. Absorção e Acumulação de Nutrientes em Estévia *stevia rebaudiana* (bert.) bertoni: I. Macronutrientes. II. Micronutrientes. *Sci. agric.* v. 54 n. 1-2 Piracicaba Ene./Ago. 1997.

Ramesh K., Singh V., Megeji N. W. 2006. Cultivation of stevia [*Stevia rebaudiana* (bert.) Bertoni]: A comprehensive review. En: *Advances in Agronomy*. Academic Press. San Diego, California – USA Vol. 89. 360p.

Taiariol D., Leiva N., Molas M, 2015. Influencia de la densidad de plantación en el Cultivo de *Stevia rebaudiana* en un sistema bajo fertirriego en Bella Vista, Corrientes. XXXVIII Congreso Argentino de Horticultura. 5 al 8 de octubre de 2015, Bahía Blanca, Argentina.

Taiariol D., Molas M., Lezcano J. y Leiva N., 2014. Variación estacional de grados Brix en cuatro variedades de *Stevia rebaudiana*, en EEA INTA Bella Vista, Corrientes. Revista Ciencia y Tecnología de los Cultivos Industriales. INTA. Año 4. N° 6: 70- 74.

Taiariol D., Molas M., Lezcano J. y Leiva N., 2014. Fertirriego y cobertura plástica en la variación estacional de grados Brix en *Stevia rebaudiana*, variedad Eireté. Revista Ciencia y Tecnología de los Cultivos Industriales. INTA. Año 4. N° 6: 74- 78.

Yermakov Y. I., Kochetov A. A. 1996. Specificities of the growth and development of stevia. Russ. Agr. Sci. 1:9-11.

Material elaborado en la EEA INTA Bella Vista.
Información técnica:

Darío Rubén TAIARIOL
E-mail: taiariol.dario@inta.gob.ar



Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
Ministerio de Agroindustria de la Nación

ESTACION EXPERIMENTAL AGROPECUARIA BELLA VISTA

3 de Abril – C.C. N°5 – 3432 – Bella Vista – Corrientes

Telefax: 54 – 3777 –450951/451923

Gestión de la Información

Rene E. Oviedo – Andrés A. Zárate

E-mail: oviedo.rene@inta.gob.ar; zarate.andres@inta.gob.ar

www.inta.gob.ar/bellavista