

## ANEXO

EXTRACCIÓN DE GLUCÓSIDOS DE STEVIA REBAUDIANA (*BERTONI*)  
A PARTIR DE TECNOLOGÍAS DE EXTRACCIÓN VERDES

**Tabla 1.** Técnicas de extracción empleadas para la extracción de esteviósido y Reb-A a partir de *Stevia rebaudiana* Bertoni.

| Técnica | Condiciones experimentales  | Medio de extracción  | Rendimiento  | Ref.   |                                    |
|---------|---|--|--|--|------------------------------------|
| EAM     | 160 W durante 4 min   | Etanol al 75%  | 19,6 mg Est/g de ES.<br>15,3 mg Reb-A/g de ES.                                   | Ameer <i>et al.</i> (2017)                     |                                    |
|         | 3,3 W/g de extracto, durante 2 min  | Agua   | 46,48 mg Est/g de E<br>17,03 mg Reb-A/g de E                                     | Periche <i>et al.</i> (2015)                   |                                    |
|         | 400 W, 50 °C, 80 s, S:L 1:30  | Agua   | 47 mg Est/g de E<br>23 mg Reb-A/g de E.  | Carbonell-Capella <i>et al.</i> (2017)         |                                    |
|         |   | Etanol al 50%  | 37 mg Est/g de E<br>19 mg Reb-A/g de E.  |  |                                    |
|         | 400 W, 90 °C, 45 min, S:L 1:10 g/mL   | Etanol   | 17 mg Est/g de MS<br>4,21 mg Reb-A/g de MS                                       | Yildiz-Ozturk <i>et al.</i> (2015)             |                                    |
| EAU     | 60 W, 68 °C, 32 min, pH 7   | Agua   | 16,9 g Est/ 100g MS<br>43,63 % de Est respecto a E<br>28,86 % Reb-A respecto a E | Liu <i>et al.</i> (2010)                       |                                    |
|         | 400 W, 81,2 °C, 10 min, DS 22 mm,   | Agua   | 96,49 mg Est/g de E<br>36,92 mg Reb-A/g de E                                     | Zlabur <i>et al.</i> (2015)                    |                                    |
|         | 480 W, DS 20 mm, S:L 1:10 g/mL, 18 min                                      | Isopropanol al 60 %  | 37,10 g Est/100 g MS   | Gasmalla <i>et al.</i> (2014)                  |                                    |
|         | 360W, DS 20 mm, S:L 1:10 g/mL, 6 min  | Etanol al 30%  | 33,85 g Est/100 g MS   |  |                                    |
|         |   |  | Agua   | 32,79 g Est/100 g MS                           |                                    |
|         |   | 90 °C, S:L 1:15 g/mL, 45 min, 75% potencia                       | Etanol   | 4,66 mg Reb-A/ g de MS<br>10,24 mg Est/g de MS | Yildiz-Ozturk <i>et al.</i> (2015) |
|         | 360 W, DS 20 mm, S:L 1:10 g/mL, 18 min                                      | Isopropanol al 60 %  | 35,61 g Reb-A /100 g de MS   | Gasmalla, Yang & Hua (2015)                    |                                    |
| EFS     | 250 bar, 80 °C, 60min   | CO <sub>2</sub><br>20 % Co-solvente (etanol-agua)                | 41,10 mg Est/g MS<br>18,8 mg Reb-A/g MS  | Santos <i>et al.</i> (2017)                    |                                    |
|         | 400 bar, 75 °C, 45min   | CO <sub>2</sub><br>20 % Co-solvente (etanol-agua 30:70 v/v)      | 11,78 mg Reb-A/100g de hoja  | Erkucuk <i>et al.</i> (2009)                   |                                    |
|         | 225bar, 45°C, 70min   | CO <sub>2</sub><br>40 % Co-solvente (etanol-agua)                | 95,76 mg Est/g MS<br>62,95 mg Reb-A/g MS   | Ameer, Chun & Kwon (2017)                      |                                    |
| EAA     | Hemicelulasa al 3 % (p/v), 1 h y 60 °C                                      | Solución buffer de Acetato a pH 5                                | 369,23 µg Est /100 g de MS   | Puri <i>et al.</i> (2012)                      |                                    |
|         | Celulasa al 2% (p/v), 1 h y 50°C.   | Solución buffer de Acetato a pH 5                                | 359 µg Est /100 g de MS  | Puri <i>et al.</i> (2012)                      |                                    |
|         | Pectinasa al 1% (p/v), 1 h, 45 °C   |  | 333 µg Est /100 g de MS  |  |                                    |
|         | Hemicelulasa, celulasa, pectinasa al 2% (p/p) cada una, 76,42 min y 52.5 °C | Solución buffer de fosfato a pH 4,6 y 0.1 M de FeCl <sub>3</sub> | 975 µg Est /100g de MS   | Carbonell-Capella <i>et al.</i> (2015)         |                                    |
|         | Celulasa al 1%, 2 h y 55°C  |  | 3,76 g (Est + Reb-A) / 100 g de MS   |  |                                    |
|         | Reflujo por calor, 55 °C, 60 min, S:L 1:20 g/mL                             | Etanol   | 6,62 % de E respecto MS<br>15,53 mg Est/g de ES.<br>14,26 mg Reb-A/g de ES       | Ameer (2017)                                   |                                    |
| EC      | Contacto agua caliente, 90,27 °C, 65 min, S:L= 1:12,5 g/mL                  | Agua   | 11,01 g Est/ 100 g MS  | Rai, Majumdar & De (2012)                      |                                    |
|         | Soxleth, 960 min, S:L 1:30  | Etanol   | 0,2768 mg Est/g MS   | Javad <i>et al.</i> (2014)                     |                                    |
|         | Maceración fría, 1440 min, S:L 1:30   | Etanol   | 0,2022 mg Est/g MS   |  |                                    |

Donde, Ref.: estudio de referencia, EAM: extracción asistida por microondas, EAU: extracción asistida por ultrasonido, EFS: extracción con fluidos supercríticos, EAA: extracción asistida por enzimas, EC: extracción convencional, Est: esteviósido, ES: extracto seco, Reb-A: rebaudiósido-A, E: extracto, MS: muestra seca, S: L proporción sólido: líquido.

**Fuente:** adaptado de los estudios mostrados en columna "Ref."

## ANEXO

EXTRACCIÓN DE GLUCÓSIDOS DE STEVIA REBAUDIANA (*BERTONI*)  
A PARTIR DE TECNOLOGÍAS DE EXTRACCIÓN VERDES

**Tabla 2.** Nuevas técnicas empleadas en la extracción de esteviósido y rebaudiósido-A a partir de *Stevia rebaudiana* Bertoni.

| Nombre/Descripción  | Condiciones experimentales  | Rendimientos  | Ref.  |
|---|---|---|---|
| <p><b>Maceración dinámica</b></p> <p>Extracción sólido-líquida de agitación constante, que depende de variables como: tamaño de partícula del sólido, tipo de disolvente, temperatura, agitación, pH y tiempo.</p>  | <p>-Etanol al 70%</p> <p>-D50=181 <math>\mu</math>m</p> <p>-D/S=1:10</p> <p>-t=1h</p> <p>-T= 50 °C</p> <p>-SS=100 rpm</p>         | <p>8,38 % de Est en MS</p> <p>4,51% de Reb-A en MS</p>            | <p>Martins, <i>et al.</i> (2016)</p>                  |
| <p><b>Extracción con disolvente acelerado</b></p> <p>Usa altas temperaturas y presiones que permiten el uso de disolventes en fase líquida y la disminución del tiempo de extracción; se favorecen la solubilidad del analito y la difusión.</p>                              | <p>-Agua</p> <p>-T=100 °C</p> <p>-t=4 min</p> <p>-Ciclos=1</p> <p>-D50= &lt;0,5 mm</p> <p>-P=10,30 MPa</p>                        | <p>31,60 mg Reb-A/g MS</p> <p>63,2 mg de Est/g MS</p>             | <p>Jentzer <i>et al.</i> (2015)</p>                   |
| <p><b>Extracción dinámica sólido-líquida rápida</b></p> <p>Implica el uso del extractor Naviglio, que funciona bajo el principio de presión/depresión, utilizando agua como disolvente a temperatura ambiente.</p>  | <p>-Agua</p> <p>-D/S=5:60</p> <p>-t=120 min</p> <p>-P= 9 bar</p>  | <p>12,23% Est, respecto E</p> <p>4,08% Reb-A, respecto E</p>      | <p>Gallo <i>et al.</i> (2017)</p>                     |
| <p><b>Extracción con agua subcrítica</b></p> <p>Usa agua como disolvente a 374°C y 221bar. Permite la extracción de compuestos polares o apolares, modificando los parámetros de presión y temperatura del disolvente.</p>  | <p>-P=230 bar</p> <p>-T=125 °C</p> <p>-D/S=1:10 w/v</p> <p>-t=45 min</p> <p>-Q= 4 mL/min</p>                                      | <p>38,67 mg Est/g MS</p> <p>35,68 mg Reb-A/g MS</p>               | <p>Yildiz-Ozturk, Tag &amp; Yesil-Celiktas (2014)</p> |
| <p><b>Turbo extracción</b></p> <p>Extracción con agitación y reducción simultánea de tamaño de partícula, mediante la aplicación de altas fuerzas de cizalla que conllevan a ruptura celular y disolución rápida de solutos.</p>  | <p>-Etanol al 70%</p> <p>-D50 780 <math>\mu</math>m</p> <p>-D/S= 1:10 g/g</p> <p>-t=18 min</p> <p>-T=23°C</p> <p>-SS=5000 rpm</p> | <p>5,22 % Est respecto MS</p> <p>2,83 % Reb-A respecto MS</p>     | <p>Martins <i>et al.</i> (2017)</p>                   |
| <p><b>Extracción con agua caliente presurizada</b></p> <p>Utiliza agua a temperaturas elevadas (entre 100-374 °C) y condiciones de presión controladas que permitan mantenerla en estado líquido. Bajo estas condiciones el agua se comporta como un disolvente orgánico.</p> | <p>-Agua</p> <p>-t= 50 min</p> <p>-Q=1,5 mL/min</p> <p>-T= 100 °C</p> <p>-P= 11-13 bar</p>  | <p>1448,3 mg Est/100 g</p> <p>1442,1 mg Reb-A/100 g</p>           | <p>Teo <i>et al.</i>, (2009)</p>                      |
|   | <p>-Agua destilada</p> <p>-3 ciclos</p> <p>-t=5 min</p> <p>-T=160°C</p> <p>-P=10,34 MPa</p>                                       | <p>9,09 +/- 0,13 g Est/100g</p> <p>3,22 +/- 0,16 g Reb-A/100g</p> | <p>Kovacevic <i>et al.</i> (2018)</p>                 |

Donde, Ref.: estudio de referencia, Est: esteviósido, Reb-A: rebaudiósido-A, MS: muestra seca, E: extracto, D50: diámetro promedio de partícula, SS: velocidad de agitación, D/S: relación hoja seca pulverizada / disolvente, t: tiempo, T: temperatura, P: presión, Q: tasa de flujo. **Fuente:** adaptado de los estudios mostrados en columna "Ref."