

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**



**TESIS DE GRADO**

**EFFECTO DE LAS CARACTERÍSTICAS  
AGRONÓMICAS Y EL SECADO EN EL CONTENIDO DE ESTEVIÓSIDO  
DE LA ESTEVIA (*Stevia rebaudiana Bert.*) EN LA PROVINCIA DE  
CARANAVI**

**MILENA AMPARO GUTIERREZ CASAS**

**La Paz, Bolivia  
2005**

**Universidad Mayor de San Andrés  
Facultad de Agronomía  
Carrera de Ingeniería Agronómica**

**EFFECTO DE LAS CARACTERÍSTICAS AGRONOMICAS Y EL SECADO  
EN EL CONTENIDO DE ESTEVIÓSIDO DE LA ESTEVIA (*Stevia  
rebaudiana Bert.*) EN LA PROVINCIA DE CARANAUI**

*Tesis de Grado presentado como requisito  
parcial para optar el Título de  
Ingeniero Agrónomo*

**MILENA AMPARO GUTIERREZ CASAS**

**Tutor (es)**

Ing. Agr. Alejandro Flores .....

**Asesores:**

Ing. Agr. Ramiro Mendoza Nogales .....

Dra. Bioq- Farm. Maria Torrez T. ....

**Comité Revisor:**

Ing. M.Sc. René Calatayud Valdez .....

Ing. M.Sc. Hugo Bosque .....

Ing. Agr. Wilfredo Peñafiel Rodríguez .....

**APROBADA**

**Decano:**

Ing. M.Sc. Jorge Pascuali Cabrera .....

*Lo dedico de corazón a mis amados padres:*

*Luis Gutiérrez y Elena Casas de G.*

*Por darme la vida, su amor, apoyo y sacrificio incondicional*

*A mis queridos hermanos y amigos del alma: Omar y Angel*

*Y a mis adorados sobrinos: Frances Nicol, Ian Christopher*

*“ Quienes me motivaron en mi formación personal y profesional” .*

## AGRADECIMIENTOS

*A los Ingenieros: Ramiro Mendoza Nogales, Alejandro Flores y Dra. María Torrez, por su asesoramiento profesional y personal y comprensión brindada durante la realización del presente trabajo de tesis.*

*A los Ingenieros José Luis Mantilla, Casto Maldonado, Gregorio Zapata, Jorge Barco, Rodolfo Espinoza, Eddy Navia por haber depositado su confianza en la presente investigación por su apoyo personal y profesional sin el cual no se hubiese llegado a la culminación del presente trabajo.*

*Mis Agradecimientos a las Instituciones: “Alcaldía de Caranavi” al Ingeniero Manuel Mamani, “Ayuda En Acción” en especial al Lic. Luis Urquidi, Ing Eloy Sirpa, “Misión Alianza Noruega” al Ing. Grover Gisbert, “Ministerio De Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural” en especial al Lic. Severino Mamani por su apoyo sin el cual difícilmente se hubiera llegado a las metas trazadas.*

*Al Instituto Superior Técnico Agro- Industrial (ISTAIC), por el apoyo brindado para la realización del presente trabajo de investigación.*

*Al Instituto Servicio de Laboratorio y Diagnostico SELADIS y todos sus colaboradores por haber incluido el presente trabajo en sus planes y facilitado el acceso al laboratorio de Bromatología. A la Dra. María Torrez Encargada del Laboratorio de Bromatología por haber colaborado en el proceso de análisis de muestras.*

*Mis agradecimientos a la “Universidad Mayor de San Andrés”, al personal docente de la Facultad de Agronomía, por el apoyo brindado en todo momento durante mi formación profesional.*

*A la familia Tancara de la localidad de Santa Fe, Sr. Esteban Villegas, Sr. Casimiro Aruni, de la localidad de Caranavi por la ayuda brindada en el trabajo de campo y capacitaciones.*

*A los Sr. Ing. Hugo Bosque, Ing. René Calatayud por los aportes y observaciones al presente trabajo.*

*A Wilfredo Valle por su apoyo sin el cual difícilmente se hubiera llegado a las metas trazadas para la realización del presente estudio.*

*A Gregorio, Severo, Emilio, Oscar, Zulema, Raymunda, Técnicos del ISTAIC por su apoyo incondicional.*

*A mis amigos preciados Boris Escobar, Magdalena Ajata, Juan Peter Nina, Javier Mendez y Flia, PROMOCION SEMILLAS.*

*A Federico Rada por su colaboración desinteresada para la culminación y edición de la Tesis de Grado.*

## RESUMEN

El cultivo y producto de la estevia (*Stevia rebaudiana Bert.*) posee un alto potencial para consumo, como edulcorante sustituto del azúcar granulado y posible alternativa económica para los ingresos del agricultor.

En el presente estudio se evaluó el efecto de las características agronómicas y secado en el contenido de esteviósido de la estevia en la Provincia de Caranavi, Colonia Broncini en predios del Instituto Técnico Superior Agro – Industrial Caranavi (ISTAIC).

La valoración comprendió la descripción de las características agronómicas y secado, el establecimiento de la relación de las características agronómicas con el contenido de esteviósido y por último la evaluación del efecto de tres métodos de secado: a sol ( horas), en sombra (24 horas) y en estufa (3 horas) sobre el contenido de esteviósido y materia seca.

Para el cultivo de la estevia (*Stevia rebaudiana Bert.*) la descripción identificó en la fase inicio de floración (aparición de botón floral), las características agronómicas de mayor variabilidad genética/planta para la segunda cosecha como: Peso hoja/planta a la cosecha con 23.68 g, peso/planta a la cosecha con 27.87 g, número de hojas/planta con 161.54 hojas, área foliar/planta, presentó 12.11 cm<sup>2</sup>; con respecto a la primera cosecha con 11.63 g peso hoja/planta, 14.17 g peso/planta a la cosecha, 100.24 número de hojas/planta, 9.32 cm<sup>2</sup> área foliar/planta. Con coeficientes de variación del 39.55, 34.78, 25.01 y 25.06 segunda cosecha con respecto a 30.08, 23.98, 22.89 y 21.99 %y 30.08 % primera cosecha.

La segunda cosecha presento el mayor rendimiento peso/planta y peso hoja/planta de 2787 kg/planta/ha y 2368 kg/planta/ha con relación a la primera cosecha con 1417 kg/planta/ha y 1163 kg/planta/ha. Por tanto estas características agronómicas de mayor coeficiente de variación, tienen un efecto marcado en el rendimiento del cultivo por cosecha y en la variabilidad genética de los individuos seleccionados para estudio.

Para el secado a un peso fresco/planta promedio de 11.83 y 23.68 g con una humedad inicial del 100 % para la primera y segunda cosecha dio como resultado un mayor peso seco/planta promedio de 3.83 g primera y 9.82 g segunda cosecha respectivamente para el secado en sombra (24 horas) con humedad final de 11.48 y 13.25 % y materia seca de 32.93 y 41.47 %.

Para la asociación se observó que la mayor variación del contenido de esteviósido a una correlación positiva alta fue de 72.12 % para el área foliar de  $r = 0.849$  (primera cosecha) y 94.79 % para el peso hoja fresca/planta de  $r = 0.828$  (segunda cosecha) ambas de grado de asociación positiva y negativa.

O sea a medida que disminuya el área foliar el contenido de esteviósido aumenta y a medida que aumenta el peso hoja fresca/planta aumenta el contenido de esteviósido esto, explicado por la ecuación de segundo grado  $y = a + bx + cx^2$  para ambas cosechas.

También se determinó el efecto del secado en el contenido de esteviósido y materia seca reportándose para el método de secado en sombra (24 horas) el mayor contenido de esteviósido de 7.67 y 10.09 %, con materia seca de 32.08 y 41.78 % para la primera y segunda cosecha respectivamente.

Sin embargo consideramos que lo más importante de esta investigación es que los resultados demuestran que existe una relación de las características agronómicas y un efecto del secado en la presencia de mayor o menor concentración y mantenimiento del componente principal esteviósido.

## INDICE GENERAL

	No Pág.
<b>I INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1 Justificación.	2
1.2 Objetivos	3
1.2.1. Objetivo general	3
1.2.2. Objetivos específicos	3
<b>II REVISIÓN BIBLIOGRAFICA</b>	<b>4</b>
2.1. Origen Y Distribución	4
2.2. Importancia económica del cultivo	4
2.3. Características botánica, sistemática y agronómica de la estevia	6
2.3.1. Clasificación sistemática	6
2.3.2. Variedades	6
2.3.3. Características botánicas	6
Raíz	7
Hoja	7
Tallo	7
Flor	8
Fruto	8
2.3.4. Estudios agronómicos realizados en Bolivia	9
2.3.5. Características Agronómicas	9
2.3.5.1. Altura de planta	9
2.3.5.2. Número de ramas/planta	10
2.3.5.3. Diámetro de tallo/planta	10
2.3.5.4. Número de hojas/planta	11
2.3.5.5. Peso/planta a la cosecha	11
2.3.5.6. Peso seco/planta	11
2.3.5.7. Peso hoja seca/planta	12
2.4. Ciclo biológico	12
2.5. Ecología del cultivo	13
2.5.1. Clima	13
2.5.2. Suelo	14
2.5.3. Altitud	14
2.6. Propagación	14
2.7. Labores culturales	15
2.8. Plagas y enfermedades	15
2.9. Cosecha	16
2.10. Rendimiento	17
2.11. Manejo poscosecha	17
2.11.1. Secado	17

2.11.2. Estudios del manejo poscosecha (secado) realizados en Bolivia	18
2.11.3. Normas de calidad para la hoja seca de estevia	19
2.11.4. Infraestructura de secado	19
2.11.5. Métodos de secado	19
2.11.6. Contenido de humedad en las hojas secas	21
2.11.6.1. Determinación de la humedad (para los métodos de secado)	21
2.11.7. Envasado	22
2.12. Esteviósido	22
2.12.1. Principios activos	22
2.12.2. Características del esteviósido	24
2.12.3. Investigaciones sobre la extracción de esteviósido	25
2.12.4. Proporción del contenido de esteviósido en la planta	26
2.12.5. Método de análisis químico del esteviósido	26
2.12.5.1. Curva de calibración para la muestra en estudio	27
2.12.5.2. Lectura por espectrofotometría de absorción en el ultravioleta y en el visible	27
2.13. Usos	28
<b>III MATERIALES Y METODOS</b>	<b>29</b>
3.1. LOCALIZACION	29
3.1.1. Ubicación geográfica	29
3.1.2. Clima	29
3.1.3. Recursos hídricos	30
3.1.4. Vegetación	30
3.1.5. Recursos forestales	30
3.1.6. Suelos	31
3.2. MATERIALES	33
3.2.1. Material vegetal	33
3.2.2. Material de campo	33
3.2.3. Material de laboratorio	33
3.3. METODO	34
3.3.1. Evaluación de las características agronómicas y secado	36
3.3.1.1. Muestreo	36
3.3.1.1.1. Tamaño de la muestra	36
3.3.1.2. Análisis estadístico	37

3.3.1.2.1. Análisis estadístico descriptivo (Para las características agronómicas)	37
3.3.1.2.2. Descripción de las variables de respuesta	38
3.3.1.2.3. Análisis estadístico descriptivo (Para el secado)	40
3.3.1.2.4. Método de secado	40
3.3.1.2.5. Proceso de secado	41
3.3.1.2.6. Variables de respuesta	41
3.3.2. Relación de las características agronómicas con el contenido de esteviósido	43
3.3.2.1. Análisis de regresión y correlación simple	43
3.3.2.2. Variables dependientes	45
3.3.2.3. Variables independientes	45
3.3.3. Evaluación del contenido de esteviósido y materia seca (Laboratorio)	45
3.3.3.1. Diseño experimental	45
3.3.3.1.1. Formulación de tratamientos	46
3.3.3.2. Análisis estadístico	46
3.3.3.2.1 Comparación entre métodos de secado	46
3.3.3.3. Cuantificación de esteviósido por espectrofotometría	47
3.3.3.3.1. Curva de calibración	47
3.3.3.3.2. Preparación de la muestra	48
3.3.3.3.3. Calculo de la concentración de esteviósido según la curva de calibración	49
<b>IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>50</b>
4.1. Características metereológicas de la zona en estudio	50
4.2. Características edafológicas de la zona en estudio	52
4.3. Evaluación de las características agronómicas y secado	53
4.3.1. Características agronómicas	53
4.3.1.1. Altura de planta	53
4.3.1.2. Número de ramas / planta	55
4.3.1.3. Diámetro de tallo / planta	56
4.3.1.4. Número de hojas / planta	57
4.3.1.5. Área foliar	57
4.3.1.6. Peso fresco / planta a la cosecha	58
4.3.1.7. Peso rama / planta a la cosecha	59
4.3.1.8. Peso hoja fresca / planta a la cosecha	59

4.3.1.9. Rendimiento promedio peso/planta a la cosecha	60
4.3.1.10. Rendimiento promedio peso/hoja a la cosecha	61
4.3.2. Secado	63
4.3.2.1. Determinación de peso hoja seca/planta en función al tiempo de secado.	63
4.3.2.2. Determinación del porcentaje de humedad en función al peso para los diferentes métodos de secado.	66
4.3.2.3. Determinación del porcentaje de materia seca en función al peso.	67
4.4. Relación de las características agronómicas con el contenido de esteviósido.	70
4.4.1. Análisis de correlación simple	70
4.4.2. Análisis de determinación	73
4.4.3. Análisis de regresión simple	74
4.5. Evaluación del contenido de esteviósido y materia seca	77
4.5.1. Determinación de la concentración de esteviósido según la curva de calibración.	77
4.5.2. Resultados de las concentraciones de esteviósido en las muestras de estudio.	78
4.5.3. Análisis del efecto del secado en el contenido de esteviósido	79
4.5.4. Análisis del efecto del secado en la materia seca	82
<b>V CONCLUSIONES</b>	<b>86</b>
<b>VI RECOMENDACIONES</b>	<b>89</b>
<b>VII BIBLIOGRAFÍA DDE CONSULTA</b>	<b>91</b>
<b>ANEXO</b>	<b>98</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

	No Pág.
Cuadro 1. Requerimiento de condiciones ambientales para el cultivo de estevia.	13
Cuadro 2. Clasificación de los edulcorantes.	23
Cuadro 3. Propiedades físico-químicas del esteviósido para los alimentos.	24
Cuadro 4. Ventajas comparativas frente a otros edulcorantes.	25
Cuadro 5. Condiciones ambientales de la zona de estudio.	29
Cuadro 6. Referencias de las técnicas de secado.	41
Cuadro 7. Análisis físico-química del suelo Colonia Broncini Provincia Caranavi	52
Cuadro 8. Parámetros estadísticos de tendencia central y de dispersión para 8 variables cuantitativas (primera cosecha).	54
Cuadro 9. Parámetros estadísticos de tendencia central y de dispersión para 8 variables cuantitativas (segunda cosecha).	54
Cuadro 10. Rendimiento peso/planta/hectárea para las cosechas.	61
Cuadro 11. Rendimiento peso hoja/planta /hectárea para las cosechas.	61
Cuadro 12. Determinación del peso fresco inicial antes del secado.	63
Cuadro 13. Matriz de correlación en 9 variables cuantitativas (n = 100) primera cosecha.	71
Cuadro 14. Matriz de correlación en 9 variables cuantitativas (n = 100) segunda cosecha.	72
Cuadro 15. Relación del contenido de esteviósido con las características agronómicas (primera cosecha).	73
Cuadro 16. Relación del contenido de esteviósido con las características agronómicas (segunda cosecha).	74
Cuadro 17. Grado de relación del contenido de esteviósido con las características agronómicas (primera y segunda cosecha).	75
Cuadro 18. Tabla de concentraciones de la solución	

estándar vs absorvancia.	77
Cuadro 19. Tabla de la concentración de esteviósido (primera cosecha).	78
Cuadro 20. Tabla de la concentración de esteviósido (segunda cosecha).	79
Cuadro 21. Análisis de varianza para el contenido de esteviósido (%).	80
Cuadro 22. Prueba de Duncan ( $\alpha = 0.05$ ) para el contenido de esteviósido por métodos de secado.	80
Cuadro 23. Análisis de varianza para el contenido de esteviósido (%).	81
Cuadro 24. Prueba de Duncan ( $\alpha = 0.05$ ) para el contenido de esteviósido por métodos de secado.	81
Cuadro 25. Análisis de varianza para el contenido de materia seca (%).	82
Cuadro 26. Prueba de Duncan ( $\alpha = 0.05$ ) para el contenido de materia seca por métodos de secado.	83
Cuadro 27. Análisis de varianza para el contenido de materia seca (%).	83
Cuadro 28. Prueba de Duncan ( $\alpha = 0.05$ ) para el contenido de materia seca por métodos de secado.	84

## ÍNDICE DE FIGURAS

	No Pág.
Figura 1. Pilares de la calidad para el comercio de hojas (Exportación).	
Figura 2. Estructura química del esteviósido.	22
Figura 3. Flujograma de investigación del efecto de las características agronómicas y secado en el contenido de esteviósido.	34
Figura 4. Cuantificación de esteviósido por espectrofotometría.	35
Figura 5. Concentraciones de la solución estándar patrón.	47
Figura 6. Distribución de las temperaturas máxima, mínima, media, gestión (2002 – 2003) Colonia Broncini Provincia de Caranavi.	50
Figura 7. Distribución de las precipitaciones total, media, mensual, gestión (2002 – 2003) Colonia Broncini Provincia de Caranavi.	51
Figura 8. Efecto del método de secado en el peso seco/planta (primera cosecha).	64
Figura 9. Efecto del método de secado en el peso seco/planta (segunda cosecha).	65
Figura 10. Efecto del método de secado en el contenido de humedad para el peso seco/planta (primera cosecha).	66
Figura 11. Efecto del método de secado en el contenido de humedad para el peso seco/planta (segunda cosecha).	67
Figura 12. Efecto del método de secado en el contenido de materia seca en base al peso seco/planta (primera y segunda cosecha).	68
Figura 13. Curva de calibración para el esteviósido.	77

## I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de la estevia (*Stevia rebaudiana Bert.*), se ha extendido en países de mayor producción como: Paraguay, Brasil en forma intensiva Japón, Corea del Sur y China; concentrando el 95 % de la producción mundial en el Continente Asiático. También países mayores consumidores como: Japón, Alemania, Estados Unidos de América y Brasil. Actualmente es aceptado por el F.D.A. (Food and Drug Administration, *Administración de Drogas y Alimentos*) de los Estados Unidos de América. y la firma europea Royal Pharmaceutical Society de Gran Bretaña como suplemento dietético en la alimentación.

La estevia es un edulcorante natural, 300 veces más dulce que la sacarosa, dietético, acalórico. Estable frente a otros azúcares dietéticos sintéticos, como la sacarosa, sorbitol, aspartame, ciclamato, prohibidos en muchos países por ser altamente cancerígenos.

Actualmente, en Bolivia el producto de la estevia es desconocido (*uso y aplicación*), pero existen cultivos a nivel familiar en regiones del Chapare (*Cochabamba*), Yapacaní (*Santa Cruz*), Yungas (*La Paz*). En los Yungas, el agricultor centraliza su economía en cultivos tradicionales como el café, que por efecto de factores climáticos adversos (*presencia de heladas*) en el periodo agrícola actual, disminuye notablemente la producción y los precios.

Por esta razón, el cultivo y producto de la estevia es una posible alternativa que sustituya al azúcar granulado. Sin embargo, hasta el presente pocos estudios han demostrado este beneficio de manera irrefutable.

Según Bertonha citado por Pinaya (1996), observa que una diversidad fenotípica en la población, produce grandes diferencias del contenido de esteviósido entre las distintas plantas. De acuerdo a trabajos anteriores se establece que es conveniente la reproducción asexual, a partir de plantas seleccionadas.

Experimentos en Japón revelan que factores como ser: ambientales, manejo del cultivo, post cosecha y características morfofisiológicas del cultivo, puede tener influencia en el mantenimiento de su componente principal esteviósido (Sumida, 1997).

La complejidad de relación entre los factores mencionados anteriormente con el componente esteviósido, se trató desde un enfoque correlacional (*el grado de relación que existe entre los factores*), seleccionando las características morfofisiológicas y el manejo post cosecha, para finalizar con la lectura de esteviósido del producto.

### **1.1. Justificación:**

En Bolivia existen parcelas de estevia a escala familiar, con alta diversidad genética (heterogeneidad en la población) y bajo porcentaje de germinación, las cuales pueden influir en la selección, reproducción y el contenido alimenticio. Para la reproducción a partir de individuos sobresalientes necesita características importantes para los factores de selección como es: Condición morfofisiológica y factor de juvenilidad (*edad de la planta*).

El propósito de la selección es mejorar, no creando variabilidad genética (caracteres de generación en generación) en la población es importante la elección de individuos de acuerdo a las características morfofisiológicas y como se reproducen.

Las características morfofisiológicas, son estudiadas e identificadas a través de parámetros como las características agronómicas y su relación con el contenido de esteviósido para establecer los patrones morfológicos de los individuos para realizar la selección y luego su propagación.

El manejo post cosecha, tiene influencia en la conservación de los componentes físico-químico del producto (hoja seca), es necesario conocer las condiciones de secado óptimo, existe referencias de diferentes experiencias en secado para otros países los cuales se pretenden replicar adecuándolos a las condiciones de nuestro campo de estudio en la Provincia de Caranavi, para el producto, manteniendo su componente principal (esteviósido).

Las hojas de estevia y el esteviósido tienen un alto costo en el mercado internacional, por lo que la propuesta de este trabajo es de información para un mejor manejo y mejoramiento del cultivo y a la vez una alternativa para los ingresos del agricultor.

Se obtuvo, resultados que influye de manera directa en el contenido de esteviósido más óptimo, en función de los parámetros de estudio (características agronómicas y secado). Todo lo anteriormente mencionado, no ha sido evaluado y validado para la región.

## **1.2. Objetivos**

### **Objetivo General**

Evaluar el efecto de las características agronómicas y el secado en el contenido de esteviósido de la estevia (*Stevia rebaudiana Bert.*) en la Provincia de Caranavi

### **Objetivos específicos**

- Realizar la descripción de las características agronómicas y secado.
- Establecer la relación de las características agronómicas con el contenido de esteviósido.
- Evaluar el efecto de tres métodos de secado sobre el contenido de esteviósido y materia seca.

## II. REVISION DE LITERATURA

### 2.1. Origen y distribución

Pajas (2000), indica que la planta de estevia es originaria del Paraguay de la zona de Amanbay, en 1899 fue descrita por primera vez por el Dr. Moisés Santiago Bertoni.

En 1955 los japoneses comienzan a desarrollar cultivos (inicialmente en el Paraguay) y en 1960 fueron llevadas semillas al Japón para realizar mejoramiento con respecto al contenido de esteviósido en hojas.

Hoy el esteviósido que se extrae de la planta se fabrica en Japón, Brasil, Paraguay, Argentina. Los japoneses se ocuparon del mejoramiento genético de este edulcorante natural ya que desde 1970 en su país fueron prohibidos los azúcares sintéticos (Sumida, 1997).

Rodríguez (1999), menciona que en 1980 en la Argentina se plantaron ejemplares de estevia. Se hizo estudios de multiplicación vegetativa por métodos convencionales y micro propagación “in vitro”.

En Bolivia en 1993 – 1994 la estevia fue introducida en Santa Cruz, Valles centrales de Tarija y los Yungas de La Paz donde fueron distribuidas a un pequeño número de agricultores (Fundación Bolivia Exporta, 1994).

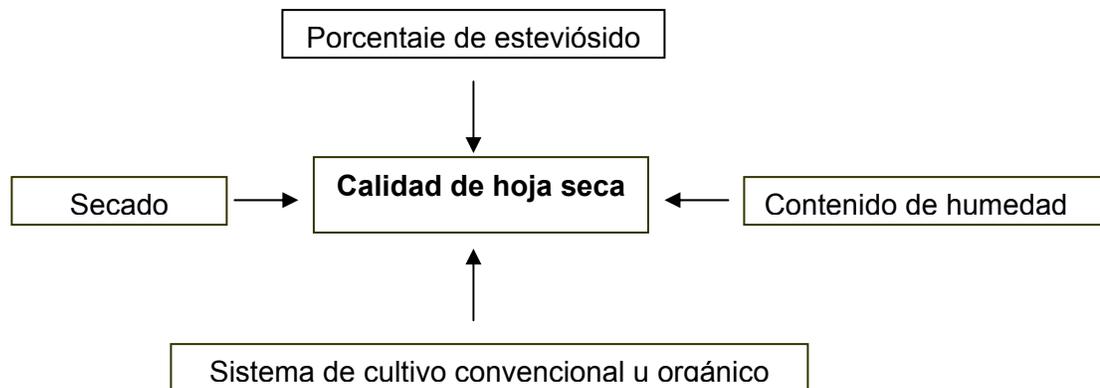
### 2.2. Importancia económica del cultivo

Paraguay esta exportando hojas secas de estevia a Estados Unidos de América a un precio de 3 a 3.5 \$us /kilo; a este precio, el ingreso bruto por hectárea en Bolivia estaría alrededor de los 5000 \$us. El costo de implantación de una hectárea se calcula en 2500 \$us y su costo de mantenimiento en 1000 \$us/año. De acuerdo a esto, la estevia se puede convertir en una buena alternativa económica (Villalobos, 1997).

Pinaya (1996), indica que por los intervalos de las cosechas, se puede llegar a obtener 4 cosechas por año a partir del segundo año. La relación beneficio/costo indica que por cada dólar invertido existe una ganancia de 1.85 \$us para el primer año, mejorando a partir del segundo año de producción como indica (Cardozo, 1986).

Actualmente, Japón es el mayor consumidor del esteviósido que es producido en su propio país. En el Mundo Occidental la única industria de obtención del esteviósido y rebaudiósido es Steviafarma Industrial S. A. (Candeira et al, 2002).

Zanon (1993), estima el precio de venta de hojas secas en función a la calidad, Figura 1



**Figura 1. Pilares de la calidad para el comercio de hojas (Exportación)**

El precio de esteviósido alcanza alrededor de 120 \$us/kilo. En los Estados Unidos el Departamento de Administración de Drogas y Alimentos Humanos (FDA) ha liberado al esteviósido para su consumo en ese país, lo que se constituye en mercados atractivos y provechosos para la producción y comercialización del producto a gran escala.

## 2.3. Características botánica, sistemática y agronómica de la estevia

### 2.3.1. Clasificación sistemática

Según Cronquist citado por Pajas (2000), se clasifica en:

**Sub reino:** Embryobionta.  
**División :** Magnoliophyta.  
**Clase :** Magnoliopsida.  
**Orden :** Asterales.  
**Familia :** Asteraceae (Compositae).  
**Tribu :** Eupatorieae  
**Género :** *Stevia*  
**Especie :** *Stevia rebaudiana Bert.*

### 2.3.2. Variedades

La *Stevia rebaudiana* y la *Stevia aristata* son las únicas especies de género de estevia. Esta última es poco conocida y solamente Brucher en 1974 mencionó la misma (Fujita, 1979).

La *Stevia rebaudiana Bert.* presenta numerosas variedades, que fueron desarrolladas “in vitro” en Japón las cuales presentan variación en el contenido de esteviósido entre 8.34 a 21 % (Candeira et al, 2002).

### 2.3.3. Características botánicas

La estevia (*Stevia rebaudiana Bert.*) es una planta herbácea semiperenne con desarrollo óptimo en climas tropicales (Cardozo, 1986).

**Raíz:**

Es una planta dicotiledónea, cuyo sistema radicular es pivotante al inicio del desarrollo, después del primer corte el sistema radicular aumenta de tamaño, después del corte en la primera cosecha se convierte en fasciculada y con mayor distribución en la capa del suelo (Candeira et al, 2002).

Sumida (1997), indica que la raíz es fibrosa, filiforme y fina formado por cepas cilíndricas de 10 a 15 cm de longitud, las más finas abundan en la superficie y las gruesas en las zonas mas profundas.

**Hoja:**

Bertonha citado por Pajas (2000), señala que las hojas son de forma lanceolada, elíptica u ovaladas cuyo borde es entero en la parte basal y aserrada en el ápice.

Estas hojas están dispuestas en forma opuesta con los verticilos alternos, cuyo tamaño varia de 2 a 10 cm de longitud y de 1 a 3 cm de ancho. Las hojas son pequeñas opuestas, sésiles la parte más ancha se encuentra en la mitad de la parte superior (Pajas, 2000).

**Tallo:**

Presenta un tallo pubescente, subleñoso de color verde a púrpura, generalmente durante su desarrollo inicial presenta un tallo principal, después del primer corte llegan a rebrotar mayor número de ramificaciones laterales desde la base del tallo, alcanzando alturas de 60 a 100 cm (Sumida, 1997).

Durante el primer corte se observa en su tamaño, un tallo principal con 25 ramas secundarias por planta, se observa ramificaciones de tercera, cuarta, quinta y sexto orden a pesar de que las tres últimas han ocurrido en menos número (Candeira et al, 2002).

## **Flor:**

Las flores son capítulos pequeños, terminales o axilares, agrupados en panículas corimbosas de lóbulos blancos en número de 2 a 6 flores cuyo tamaño es de 5 mm (Fujita, 1979).

La floración de estevia son del tipo corimbo en capítulos con 5 flores tubulares, características del género, corola con limbo claro y tubo púrpura claro y con vellosidades glandulares externas, siendo la floración desuniforme en cada planta (Candeira et al, 2002).

Zaidan (1980), señala que la estevia florece varias veces al año, tardando una planta más de un mes en producir todas sus flores.

## **Fruto:**

Según Randal citado por Pajas (2000), indica que el fruto es un aquenio, se clasifica en tres tipos de acuerdo a la fecundación, claro estéril y oscuro estéril. El aquenio es alargado, delgado (2 a 3 mm), coronado por pelos persistentes más claros en color, plumosos en forma de paracaídas de 2 a 5 mm, le facilita la dispersión por el viento. El aquenio es estéril cuando no hay polinización.

El aquenio es delgado y plumoso con 5 vértices intermedios con glándulas idénticas a las encontradas en la corola. El "pappus" tiene de 13 a 15 aristas<sup>2</sup>, el óvulo es de naturaleza anátropa<sup>3</sup> (Candeira et al, 2002).

---

<sup>1</sup> **Pappus:** Limbo del cáliz en un fruto procedente de ovario ínfero, transformado en pelos simples o plumosos esto sirve como aparato de vuelo, para la diseminación por medio del aire.

<sup>2</sup> **Aristas:** Extremidad sutil pero tiesa (punta larga y delgada) de las glumas o glúmulas de las gramíneas.

<sup>3</sup> **Anátropa:** Rudimento seminal (después de fecundado se forma la semilla)

### **2.3.4. Estudios agronómicos realizados en Bolivia**

Pinaya (1996), estudio el efecto de la densidad de siembra en el rendimiento de esteviósido, durante un año de evaluación en localidad de Palos Blancos, determinando las variables de respuesta: Altura de planta, peso fresco de la planta, peso seco de la planta, peso seco de las hojas, número de hojas y número de ramas.

Pajas (2000), Evaluó diferentes niveles de fertilizante orgánico en la localidad de San Buenaventura, determinando las variables de respuesta: Altura de planta, peso seco de la planta, peso seco de hojas, número de hojas por planta, diámetro de tallo y número de tallos.

Apaza (2003), realizó la evaluación agronómica de la estevia bajo tres niveles de fertilización nitrogenada en la localidad de Coroico, determinando las variables de respuesta: Peso hoja seca, peso planta fresco, número de hojas, altura de planta, longitud de hoja, ancho de hoja, número de nudos por tallo, número de tallos verticales, diámetro de tallo y número de ramas por tallo.

### **2.3.5. Características agronómicas**

#### **2.3.5.1. Altura de planta**

Pinaya (1996), menciona que la mayor altura, utilizando una densidad de (4 plantas/m<sup>2</sup>) presentó 59.25 cm seguido por las densidades (5 plantas/m<sup>2</sup>) con 54.75 cm, (6 plantas/m<sup>2</sup>) con 52.50 cm y finalmente (10 plantas/m<sup>2</sup>) con 50 cm. Los resultados difieren con Bertonha (1986), quien en ensayos sobre efecto del espaciamiento encontró alturas de 45.71 y 43.20 cm.

Pajas (2000), menciona que la incorporación de materia orgánica tratamiento (45000 kg/ha de abono orgánico vacuno) tiene un efecto significativo sobre la altura de la planta en la primera y segunda cosecha presentando la mayor altura de 47.7 y 54.45 cm.

Por otro lado Apaza (2003), para el tratamiento (60 kg N/ha/año), encontró alturas de 46.70 cm frente al tratamiento (0 kg N/ha/año) con 29.91 cm.

#### **2.3.5.2. Número de ramas/planta**

Pinaya (1996), obtuvo para la densidad (4 plantas/m<sup>2</sup>) un mayor número de ramas de 7.75 aunque es similar a las densidades (5 plantas/m<sup>2</sup>) con 5.75, (6 plantas/m<sup>2</sup>) con 5.25, y finalmente (10 plantas/m<sup>2</sup>) con 6 ramas respectivamente.

El tratamiento (45000 kg/ha de abono orgánico vacuno), obtuvo el mayor número de ramas tanto en la primera como segunda cosecha con 7 y 12 ramas respectivamente con respecto a los demás tratamientos (Pajas, 2000).

Por otro lado Apaza (2003), determinó para el tratamiento (60 kg N/ha/año) un mayor número de ramas de 9.44 con respecto al tratamiento (0 kg N/ha/año) con 7.77 ramas.

#### **2.3.5.3. Diámetro de tallo/planta**

Pajas (2000), determinó que con respecto al diámetro de tallo no existió diferencias significativas en la primera y segunda cosecha pero el tratamiento (45.000 kg/ha de abono orgánico vacuno) fue superior en ambas cosechas con 4.65 y 5.40 mm de diámetro.

Apaza (2003), al respecto determinó que con la incorporación del fertilizante químico el tratamiento (60 kg N/ha/año), obtuvo el mayor diámetro de 4.83 mm con respecto al tratamiento testigo (0 kg N/ha/año) con 35 mm.

#### **2.3.5.4. Número de hojas/planta**

Con respecto al número de hojas la densidad (4 plantas/m<sup>2</sup>) presentó la mayor producción de hojas por planta con 765 y 990.5 hojas que es superior a las demás densidades para la primera y segunda cosecha (Pinaya, 1996).

Por otra parte (Pajas, 2000), obtuvo un mayor número de hojas en el tratamiento (45.000 kg/ha de abono orgánico vacuno) con 233 a 260 hojas para la primera y segunda cosecha.

Apaza (2003), en el tratamiento (60 kg N/ha/año), obtuvo 410.7 hojas con respecto del tratamiento (0 kg/ha/año) con 215.6 hojas.

#### **2.3.5.5. Peso/planta a la cosecha**

La densidad (4 plantas/m<sup>2</sup>) presentó el mayor peso de 55.75 g frente a las densidades (5 plantas/m<sup>2</sup>), (6 plantas/m<sup>2</sup>), y (10 plantas/m<sup>2</sup>) con 50.0, 41.50 y 38 g respectivamente (Pinaya, 1996).

Pajas (2000), determinó que el tratamiento (45.000 kg/ha de abono orgánico vacuno) para la primera y segunda cosecha presentó un peso de 25.44 y 32.75 g.

La variable peso fresco de planta del tratamiento (60 kg N/ha/año) presentó el mayor peso con 141.11 g con respecto del tratamiento (0 kg N/ha/año) con 70.1 g (Apaza, 2003).

#### **2.3.5.6. Peso seco/planta**

Con respecto al peso seco planta (Pajas, 2000) encontró para la primera y segunda cosecha para el tratamiento (45000 kg/ha de abono orgánico vacuno), pesos de 10.55 y 15.98 g respectivamente.

Pinaya (1996), determinó que la densidad (4 plantas/m<sup>2</sup>) fue superior, con 23.25 g frente a las demás densidades (5 plantas/m<sup>2</sup>), con 19.75 g, (6 plantas/m<sup>2</sup>), y (10 plantas/m<sup>2</sup>) con 15.75 y 15.50 g

#### **2.3.5.7. Peso hoja seca/planta**

La densidad (4 plantas/m<sup>2</sup>), presentó el mayor peso seco de hojas con 70 g en la segunda cosecha y 14 g en la tercera cosecha (Pinaya, 1996).

Pajas (2000), determinó que el tratamiento (45.000 kg/ha de abono orgánico vacuno) para la primera y segunda cosecha, presentó un peso de 4.8 y 7.4 g.

Para esta variable el tratamiento (60 kg N/ha/año), presentó el mayor peso seco con 42.97 y 31.11 g con respecto del tratamiento (0 kg N/ha/año) con 26.07 y 19.65 g (Apaza, 2003).

#### **2.4. Ciclo biológico**

En la emergencia las plántulas emiten sus 2 hojas (cotiledones), entre los 8 a 10 días, la emisión de las 2 hojas verdaderas empieza a los 14 a 17 días, 4 hojas verdaderas es de 20 a 22 días, 6 hojas verdaderas a los 25 a 28 días, todo esto después de la siembra, la formación de botones florales es a los 77 a 81 días según (Pinaya, 1996).

Pajas (2000), observó que las semillas emergen de 7 a 10 días después de la siembra, la emisión de 2 hojas verdaderas es a los 5 a 7 días, de 10 a 13 días la emisión de 4 hojas verdaderas, de 16 a 19 días la emisión de 6 hojas verdaderas.

## 2.5. Ecología del cultivo

### 2.5.1. Clima

Jordán (1984), indica que la planta desarrolla mejor en estación de fotoperiodo largo, temperatura moderada y sin periodos de larga sequía Cuadro 1.

**Cuadro 1. Requerimiento de condiciones ambientales para el cultivo de estevia.**

CONDICIONES	CARACTERÍSTICAS
Región o zona para cultivo	Sub tropical semi húmedos
Precipitación	1400 a 1800 mm
Temperatura ideal	24 °C
Fotoperiodo	Largo
Intensidad de luz	16 horas
Altitud	300 a 1800 msnm.
Suelo	Franco areno húmifero
PH	5.5 a 7.5
Pendiente	5 %

Fuente: Cardozo citado por Pinaya (1996).

Los fotoperiodos largos por lapso de 16 horas de luz, aumentan la longitud de los entrenudos, área foliar, peso seco y acelera la aparición de hojas y aumenta el contenido de esteviósido. La materia seca, azúcares y proteínas se reducen a la mitad en fotoperiodos de días cortos. Cerca de 8 horas luz (días de fotoperiodos cortos) las plantas jóvenes crecen lentamente (Candeira et al, 2002).

### **2.5.2. Suelo**

CORDEPAZ (1992), indica que esta planta tiene la capacidad de adaptarse a diferentes tipos de suelos de buen drenaje, no tolera agua por varios días o prolongados, son moderadamente sensibles a la salinidad.

### **2.5.3. Altitud**

Según Sumida citado por Pinaya (1996), indica que la producción al nivel del mar presenta problemas fisiológicos a raíz de las altas temperaturas.

## **2.6. Propagación**

### Sexual: (Semilla)

Bertonha citado por Pinaya (1996), indica que la estevia a partir de semilla presenta bajo porcentaje de germinación de 40 %.

### Asexual:(Vegetativa)

Dada la variabilidad genética en la estevia ocasiona plantas de características muy diferentes es conveniente la reproducción asexual a partir de características deseadas, utilizando técnicas de selección para obtener plantas madres sobresalientes.

Por tratarse de una planta que se reproduce sexualmente por fecundación cruzada (alógama), existe una diversidad fenotípica que se observa en las poblaciones de plantas, esto provoca una gran diferencia de contenido de esteviósido entre las distintas plantas (Rodríguez, 1999),

## 2.7. Labores culturales

### Deshierbe:

No tolera competencia por nutrientes y se debe efectuar desde el inicio del desarrollo (Molinas, 1990).

### Aporque:

Sumida (1997), señala que las plantas necesitan aporcarse después de las lluvias como después de las cosechas, esto reduce el acame o caída de plantas.

### Riego:

Según Wolf citado por Pajas (2000), menciona que el riego no es imprescindible en zonas con buena distribución de lluvias y suelos con buena capacidad de retención de humedad. Se recomienda sistemas de riego por goteo en épocas secas para una plantación altamente rentable.

El riego y el abono son fundamentales para el crecimiento del cultivo como la iluminación, temperatura; la estevia no crece en la sombra.

## 2.8. Plagas y enfermedades

Según Jordán citado por Pajas (2000), las enfermedades que han sido detectadas en el cultivo de la estevia son:

***Alternaria steviae***, se desarrolla en la base de las plantas, cuyas hojas mas viejas son atacadas primero. También ocurre en el tallo, flores y frutos. Los síntomas en las hojas son detectados por la presencia de manchas oscuras y concéntricas. Plantas mal nutridas de bajo vigor sometidas a estrés y en condiciones ambientales desfavorables, son más sensibles a la enfermedad.

***Septoria steviae***, causa manchas irregulares en las hojas de color marrón oscuro. También el ataque comienza por las partes inferiores pero ocurre de manera generalizada sobre toda la planta.

Candeira, et al (2002), el suelo húmedo favorece el desarrollo de ***Sclerotium rolfsii***, los perjuicios causados por esta enfermedad son la reducción de densidad foliar. Han sido observadas también enfermedades causadas por hongos del género ***Rhizoctonia*** y por virus.

En cuanto a plagas que ocurren en la esteviacultura han sido registrados los siguientes: Pulgones o áfidos (***Aphis sp***), orugas de follaje, cortadores (***Atta sp***), cochinillas o chinches harinosos (***Pseudococcus sp***), minadores (***Liriomiza sp***).

## **2.9. Cosecha**

Fortuna Stevia del Paraguay S. R. L. (1992), manifiesta que se debe realizar el corte antes de que los brotes florales empiecen a abrirse, esta fase presenta una mayor concentración de esteviósido en sus hojas.

La cosecha debe efectuarse cuando la planta empieza a emitir botones florales, en esta etapa las hojas tienen el máximo contenido de esteviósido (Molinas, 1990).

Según Pajas (2000), indica que la cosecha de hojas se realiza cuando los primeros botones florales empiezan a abrirse.

La cosecha se realiza a los 90 días en promedio, por los intervalos de las cosechas (Pinaya, 1996) indica, que se puede llegar a obtener hasta 4 cosechas por año. La altura de corte sugerida es de 10 cm del suelo, en estas condiciones se pueden alcanzar una producción de hasta 3600 kg /ha /año.

## 2.10. Rendimiento

Pinaya (1996), señala que la densidad (4 plantas/m<sup>2</sup>), obtuvo un rendimiento de 2230 kg/ha/1er año, el tratamiento de densidad (5 plantas/m<sup>2</sup>), presentó el mayor rendimiento de 3800 kg/ha/1er año, con un contenido de esteviósido de 20 %.

Por otro lado Pajas (2000), determina que del tratamiento (45.000 kg/ha de abono orgánico vacuno) se obtuvo un mayor rendimiento de 3275 kg/ha/año con un contenido de esteviósido de 21 %.

Para esta variable el tratamiento (60 kg N/ha/año), presentó el mayor rendimiento de 14111 y 7010 kg/ha/año, frente al tratamiento (0 kg N/ha/año) con 2544 kg/ha/año (Apaza, 2003).

## 2.11. Manejo poscosecha

### 2.11.1. Secado

Silva (2002), menciona que el objetivo principal del secado en forma apropiada es para mantener sus características biológicas, químicas y físicas que posee el producto inmediatamente después de la cosecha.

Uno de los factores fisiológicos más críticos que asegura el proceso de secado del producto con éxito, en los trópicos es el contenido de humedad del producto (hoja). Un alto contenido de humedad propicia condiciones inadecuadas o problemas de almacenamiento por que crea condiciones favorables para el crecimiento de hongos e insectos; aumento en la respiración<sup>A</sup> del producto (Knolule, 1999).

---

<sup>A</sup> **Respiración.** Proceso químico de oxidación-reducción de sustancias orgánicas como los glúcidos, transformándolos en CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O durante el cual existe liberación de energía en forma de ATP.

Uno de los productos de la respiración es el calor, la reducción de la temperatura o del contenido de humedad de las hojas después de la cosecha puede ayudar a reducir la velocidad de respiración (Shoh, 1982).

La importancia del secado de productos agrícolas aumenta a medida que crece la producción, debido a las siguientes ventajas: Permite anticipar la cosecha, almacenar por periodos prolongados sin el peligro del deterioro del producto, disminuye la pérdida del producto en el campo (Silva, 2002).

### **2.11.2. Estudios del manejo post cosecha (secado) realizados en Bolivia**

Pinaya (1996), utilizó como referencia el método de secado a sol con un tiempo de secado (3 horas) para el estudio del efecto de la densidad de siembra en el rendimiento de esteviósido en localidad de Palos Blancos, determinando variables de respuesta: Peso seco de la planta, peso seco de las hojas.

Pajas (2000), de la misma manera utilizó la referencia de secado a sol con un tiempo de secado (5 horas) para la evaluación diferentes niveles de fertilizante orgánico en la localidad de San Buenaventura, determinando las variables de respuesta: Peso seco de la planta, peso seco de las hojas.

Apaza (2003), utilizó la referencia de secado a sol con un tiempo de secado (7 horas) para la evaluación agronómica de la estevia bajo tres niveles de fertilización nitrogenada en la localidad de Coroíco, determinando la variable de respuesta: Peso seco de las hojas.

### **2.11.3. Normas de calidad para la hoja seca de estevia**

Según Alvarez (1999), menciona las siguientes normas:

- Las hojas deben tener un color uniforme (verde claro).
- El contenido de humedad de las hojas del 10 %.
- Las hojas deben ser escogidas, separando las atacadas por hongos, decolorados, materias extrañas, etc.
- En lo posible no aplicar insecticidas, fungicidas y evitar el uso de productos sistémicos que tengan efectos residuales.
- Determinar el contenido de esteviósido para su venta.
- El control de plagas y enfermedades debe hacerse prefiriendo productos ecológicos.
- Debe existir uniformidad de secado.

### **2.11.4. Infraestructura de secado**

Según Alvarez (1999), señala que se puede utilizar los siguientes materiales: laminas de Nylon de color negro, cachi de piedra, bastidores de madera con malla milimétrica plástica tesada, bandejas con malla milimétrica.

### **2.11.5. Métodos de secado**

Secado en sol:

Fundación Bolivia Exporta (1994), indica que se debe extender una sola camada de ramas para que el sol tome a todas las hojas en forma uniforme, se debe remover 2 a 3 veces durante las horas de secado para obtener buena ventilación, la remoción ayuda a evaporar la humedad de las hojas.

El período de 4 a 6 horas de exposición al sol es suficiente para dejar las hojas cosechadas de estevia con 10 a 12 % de humedad en base seca (Candeira et al, 2002).

#### Secado en estufa:

Sumida (1997), sostiene que el secado reduce el contenido de agua del 77 % hasta el 10 %, originando una merma real del 68 %. Experimentos en Taiwán revelan que el secado al sol durante 4 a 7 horas logra 1 a 2 % de humedad disminuyendo en gran manera el contenido de esteviósido y rebaudiósido alcanzando pérdidas de hasta el 36 %

Es mejor secar durante 2 horas en secaderos industriales a temperaturas de 70 °C con aire circulante, para luego embolsar cuidadosamente sin presionar y se depositará en un lugar seco y ventilado para su posterior análisis (Sumida 1997).

#### Secado en sombra:

Rodríguez (1999), indica que el secado debe hacerse en la sombra, la humedad del follaje debe ser preferiblemente de 7 u 8 %, las hojas deben ser transportadas a un galpón en donde se esparcirán sobre grandes bandejas para su mejor aireación y secado, este es un método de secado natural y económico.

Columbus (1999), señala que necesita de 24 a 48 horas para secar a temperaturas de 40 a 50 °C.

### **2.11.6. Contenido de humedad en las hojas secas**

Según Arteaga (1996), el contenido de humedad del producto es expresado por la relación entre las cantidades de agua y la materia (fresca y seca). Para efectos de secado, almacenamiento y procesamiento se han considerado estos como los componentes más importantes.

Esta determinación es muy importante por que la regulación del agua en los productos, fue la primera forma de conservarlos teniendo en cuenta que la cantidad de agua presente en los productos influye en el desarrollo de los microorganismos al igual que en las reacciones químicas (R. S. de Alimentos, 1982).

El contenido de humedad es el factor de mayor importancia por encima del contenido de humedad ideal representa perdida para el comprador, por que la humedad de las hojas influye en el contenido de esteviósido y por ende en la calidad del producto (Arteaga, 1996).

#### **2.11.6.1. Determinación de la humedad:** (Para los métodos de secado)

El mecanismo del proceso de secado depende considerablemente de la forma de enlace (físico-químico<sup>4</sup> y mecánico) de la humedad con el material; cuando más sólido es dicho enlace, tanto mas difícil transcurre el secado durante el secado el enlace de la humedad con el material se altera (Sanchez, 1992).

El secado es una operación de transferencia de masa de contacto gas-sólido, donde la humedad contenido en el sólido se transfiere por evaporación hacia la fase gaseosa (Kasatkin, 2000).

---

<sup>4</sup>**Enlace físico-químico:** Une dos tipos de humedad, la que esta dentro de las células del material y la que esta en la superficie del material.

### 2.11.7. Envasado

Las hojas son higroscópicas (absorben humedad del aire) por cuya razón se envasan en bolsas de polietileno (Candeira et al, 2002),

### 2.12. Esteviósido

Schmidt (2002), lo define como un glucósido<sup>5</sup> diterpeno y cristalino, se trata de moléculas constituidas de una parte glucídica unida a una aglucona (estructuras químicas diferentes a los glúcidos).

#### 2.12.1. Principios activos

Bruneton (2002), indica textualmente que posee heterósidos diterpénicos: esteviósidos (6%), dulcósidos y rebaudiósidos A, B, C, D y E. aceites esenciales, alcohol bencílico, alfa-bergamoteno, beta-burboneno, alfa y gamma-cadineno, calacoreno, clameneno, carvacrol, cosmosiína. flavonoides: quercetósido, apigenol, austroinulina así lo muestra la Figura 2.

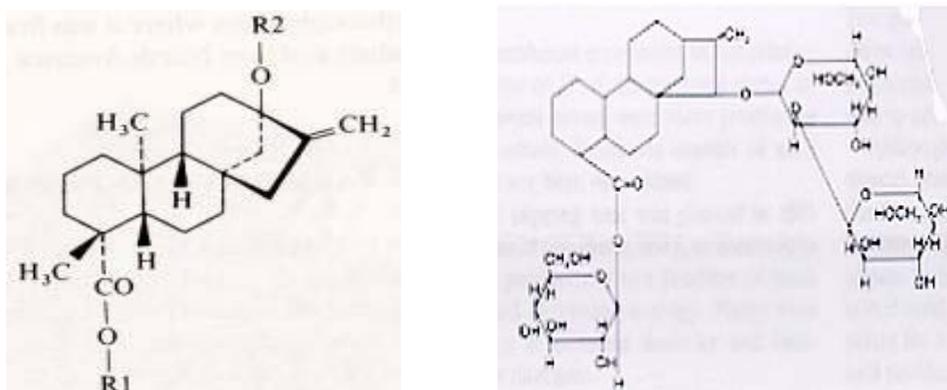


Figura 2. Estructura química del esteviósido

Se ubica dentro de la clasificación de edulcorantes Cuadro 2.

<sup>5</sup> **Glucósidos:** Compuestos orgánicos derivados de la glucosa, azúcar que se encuentra en la miel y en frutas maduras. Los glucósidos naturales son importantes en el metabolismo vegetal y generalmente se usan como colorantes y esencias.

**Cuadro 2. Clasificación de los edulcorantes.**

Edulcorantes	Naturales o calóricos <sup>6</sup>	Mono y oligosacáridos	Glucosa (Frutas y hortalizas) Fructosa (Frutas) Sacarosa (Caña de azúcar) Lactosa (Leche) Lactitol Licasin (Miel de abeja, almidón) Azúcar invertido (Miel de abeja) Jarabes de maíz
		Glucósidos	Filodulcina Esteviósido (Estevia) Osladina Glicirrina Edulcorante del fruto Lo-han (Fruto de la momordica)
		Alcoholes polihídricos	Sorbitol (Frutas) Manitol (Vegetales) Xilitol
		Proteínas	Miralina Monelina Tumatina
	No naturales <sup>7</sup>	Acesulfame k Aspartame L – azúcares Ciclamato Dihidrochalconas Dulcina Sacarina Antioximina de perrillaldehido D – Triptófano Ácido clorogénico	

Fuente: Bruneton (2002)

<sup>6</sup> **Edulcorantes naturales:** Se trata de extractos vegetales o modificados químicamente para que aparezca el poder edulcorante o se intensifique.

<sup>7</sup> **Edulcorantes no naturales o sintéticos:** Son productos no glucídicos, acalóricos, generalmente con fuerte sabor dulce. La toxicidad de estos productos limita las posibilidades de su empleo.

### 2.12.2. Características del esteviósido

El esteviósido es un polvo blanco, cristalino extraído de las hojas de estevia y sus ventajas están expresados en el Cuadro 3.

**Cuadro 3. Propiedades físico-químicas del esteviósido para los alimentos**

CONDICIONES	CARACTERÍSTICAS
Estado cristalino	Blanco marfil e inodoro
Solubilidad	En agua (mínimo 800 mg/l).
Punto de fusión	168 a 200 °C.
Fórmula química	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>8</sub>
Peso molecular	334.40

Fuente: Inga Stevia Industrial S.A. (1987)

El principal glucósido de este vegetal usado comercialmente, es el esteviósido. El esteviósido no es un producto artificial obtenido en ningún laboratorio, es un extracto totalmente natural de la hoja de la planta.

Inga Stevia Industrial S.A. (1987) indica, el esteviósido es un edulcorante natural, tiene una elevada estabilidad en procesos industriales, como se presenta en el Cuadro 4.

Las propiedades físico-químicas del esteviósido de interés en el procesado de alimentos son: Resistencia al calor, alteración de color, solubilidad, resistencia al pH, contenido de calorías, capacidad osmótica, fermentabilidad, así lo muestra el Cuadro 4.

**Cuadro 4. Ventajas comparativas frente a otros edulcorantes.**

<b>CONDICIONES</b>	<b>CARACTERÍSTICAS</b>
Dulzor	El edulcorante que se obtiene es 300 veces mas dulce que sacarosa a una concentración del 0.4 %.
Estabilidad Térmica	A temperaturas normales de procesamiento de los aliment
Estabilidad al pH	Es estable en un rango amplio de pH de 3 a 9 aun 100 °C. encima de pH 9 se produce una rápida perdida del dulzor.
Toxicidad	Es un edulcorante seguro y no se observan evidencias de toxicidad aguda y subaguda.
Metabolismo	No hay evidencia que el esteviósido se metabolice en el hombre por medio de las enzimas digestivas a esteviol y glucosa (el esteviol inhibe la fosforilación oxidativa in vitro)
Usos	En gomas de mascar, caramelos, premezclas de tortas, bebidas de bajo contenido calórico, productos medicinal de higiene bucal.

Fuente: Johann (1990),

### **2.12.3. Investigaciones sobre la extracción de esteviósido**

Caballero (2000), realizó la extracción purificación y caracterización del esteviósido, a partir de plantas en plena producción agrícola.

Brandle et al. (2001), realizó una investigación donde encontró que la biosíntesis de los glucósidos diterpenos ocurre generalmente en las plantas de las células vegetales y estableció la estructura química de los glucósidos edulcorantes diterpenos

Venek et al. (2001), realizó la extracción del esteviósido empleando dos diferentes solventes (metanol y agua destilada), obteniendo resultados semejantes, demostrando la eficiencia del agua en la extracción del esteviósido.

Kinghorn et al (1994), trabajó con 110 especies del género **Stevia** para detectar la presencia de los glucósidos empleando técnicas de HPLC y TLC contrastadas con pruebas organolépticas donde solamente se encontraron esteviol en **Stevia phlebophylla** en cantidades traza.

#### **2.12.4. Proporción del contenido de esteviósido en la planta**

En el primer corte el contenido de endulzante en hoja seca de estevia es de 22.5 % (hojas solubles 9 %, en los gajos 1.4 % y en hojas muertas 1.7 % (FORTUNA Stevia Del Paraguay S. R. L., 1992). Al respecto (Sumida, 1997), indica que el máximo contenido de esteviósido es obtenido en verano logrando un valor de 8.5 %.

Zaidan (1980), encontró 6.88 % de esteviósido en las hojas de plantas en época vegetativa contra 6.05 % en plantas floreciendo. La inflorescencia dio un promedio de 2.72 % de esteviósido.

Para Jordán (1984), de la materia seca en hojas se obtiene contenidos de esteviósido muy variable, dependiendo de la genética de la planta, época, temperatura, fotoperiodo, humedad, pureza de la muestra y muchos otros factores.

#### **2.12.5. Método de análisis químico del esteviósido**

**Fujita citado por Sumida (1997)**, determina que el esteviósido se puede extraer mediante dilución, con el método explicado a continuación:

Se divide en cuatro fases la extracción, separación de esteviósido, separación de impurezas y preparación para lectura por espectrofotómetro.

### **2.12.5.1. Curva de calibración para la muestra en estudio**

El trazado de la curva de calibración es a partir de la media de las lecturas obtenidas con las disoluciones de referencia. Obteniendo la ecuación de regresión lineal del gráfico para calcular la concentración del elemento en estudio (FARMACOPEA, 2002).

### **2.12.5.2. Lectura por espectrofotometría de absorción en el ultravioleta y en el visible (FARMACOPEA, 2002)..**

#### Determinación de la absorbancia:

La absorbancia  $A$  de una disolución es el logaritmo decimal de la inversa de la transmitancia  $T$  para una radiación monocromática

#### Equipo:

Los espectrofotómetros empleados para el estudio de las regiones del ultravioleta y visible del espectro están contruidos por un sistema óptico capaz de generar una luz monocromática, en la región de 200 nm a 800 nm y por un dispositivo apropiado para la medida de la absorbancia.

#### Control de longitudes de onda y absorbancia:

Verificando la escala de longitudes de onda se determina los máximos de absorción de la disolución.

Para cada longitud de onda se señalan el valor exacto y los valores límites de la absorbancia.

#### Límite de luz difusa:

La luz difusa se puede detectar a una longitud de onda dada mediante disoluciones o filtros apropiados.

### Resolución (para análisis cualitativo):

Cuando se prescriba en una monografía, medir la resolución del aparato.

### Cubetas:

Se admite una tolerancia en el espesor de las cubetas empleadas de 0.005 cm llenas con el mismo disolvente, las cubetas destinadas a contener la disolución problema y el líquido de compensación deben presentar la misma transmitancia. Si no fuera así, se debe emplear una corrección apropiada. Debe vigilarse cuidadosamente el mantenimiento y la limpieza de las cubetas

### **2.13. Usos**

Según Fugita citado por Pajas (2000) menciona las siguientes virtudes: Antiácida, antibacteriana bucal, cardiotónico, diurético, sedante suave, hipoglicémico, acción digestiva, antirreumático, anticaries, efecto dérmico.

Dentro de la industria se emplea el esteviósido para la elaboración de productos bajos en calorías, destinados principalmente a personas diabéticas debido a su efecto hipoglycemiante al reducir el nivel de azúcar en la sangre. Sus componentes no inducen a la formación de caries dental (Melillo s.f. citado por Montaña 1999).

Por otra parte, Melillo s.f. (1989), indica que aparte de sus propiedades edulcorantes son hipotensoras antimicrobianas contra: ***Candida albicans***, ***Saccharomyces cerevisiae***, ***Proteus vulgaris***, ***Pseudomonas aeruginosa***.

Silva et al (1997) y Geuns (2003), indican que los compuestos derivados de la planta (esteviósido) no tienen ningún efecto anticonceptivo ni mutagénico por lo que refutan los resultados obtenidos en anteriores trabajos de investigación y la creencia de los indígenas paraguayos sobre este tema.

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. LOCALIZACIÓN

##### 3.1.1. Ubicación geográfica

El presente trabajo se realizó en el periodo agrícola 2001 – 2002 en predios del Instituto Superior Técnico Agro - Industrial (ISTAIC) Fotografía 1, ubicado en la Colonia Broncini, Cantón Caranavi, Provincia Caranavi, del Departamento de La Paz, geográficamente se encuentra ubicada a 15°48'12'' latitud sur y a los 67°35'4'' de longitud oeste a una altitud de 686 msnm y situado a 152 Km. de la Sede de Gobierno (SENAMHI, 2003).

##### 3.1.2. Clima

Es una región subtropical sin cambio térmico invernal, las precipitaciones registradas con mas intensidad está entre los meses de enero y febrero con 232.9 y 217.8 mm/mes, variable en función a los años lluviosos a continuación el Cuadro 5 detalla las condiciones del lugar de estudio.

**Cuadro 5. Condiciones ambientales de la zona en estudio**

CONDICIONES	CARACTERÍSTICAS
Región o zona para cultivo	Sub tropical semi húmedos
Precipitación media anual	1458 mm
Temperatura ideal	21.9 °C
Fotoperiodo	Cortos y largos según la época
Intensidad de luz	16 horas
Altitud	300 a 1800 msnm.
Suelo	Franco arcilloso
PH	6.2
Pendiente	Varían según la topografía
Altitud	680 msnm

Fuente: SENAMHI (2003)

La temperatura media anual registrada en la localidad de Caranavi es variable según el año, registrándose temperaturas bajas en invierno en los meses (Junio, Julio, Agosto) y 12 meses húmedos con distribución de lluvias irregular (PDM – Caranavi, 2001).

### **3.1.3. Recursos hídricos**

En el área, se dispone de recursos hídricos suficientes para cubrir las necesidades. Existe la unión de los ríos Coroico y Yara, además es una área de inundación estacional a prolongados periodos de lluvia y zonas secas en el periodo de invierno (PDM – Caranavi, 2001).

### **3.1.4. Vegetación**

Esta zona consta de serranías medias y bajas fuertemente y levemente disectadas con bosque secundario y cultivos (PDM – Caranavi, 2001).

Estos terrenos una vez desmontados son chaqueados disminuyendo de esta forma las áreas boscosas para habilitar como terrenos para el cultivo de café (*Coffea arabica*), naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus deliciosa*), lima (*Citrus limetta*), plátano (*Musa balbisiana*), banano (*Musa acuminata*), achiote (*Bixa orellana*), arroz (*Oriza sativa*), palta (*Persea americana*), mango (*Mangifera indica*), papaya (*Carica papaya*), maíz (*Zea mais*), también existe la crianza de aves de granja y ganado menor;

### **3.1.5. Recursos forestales**

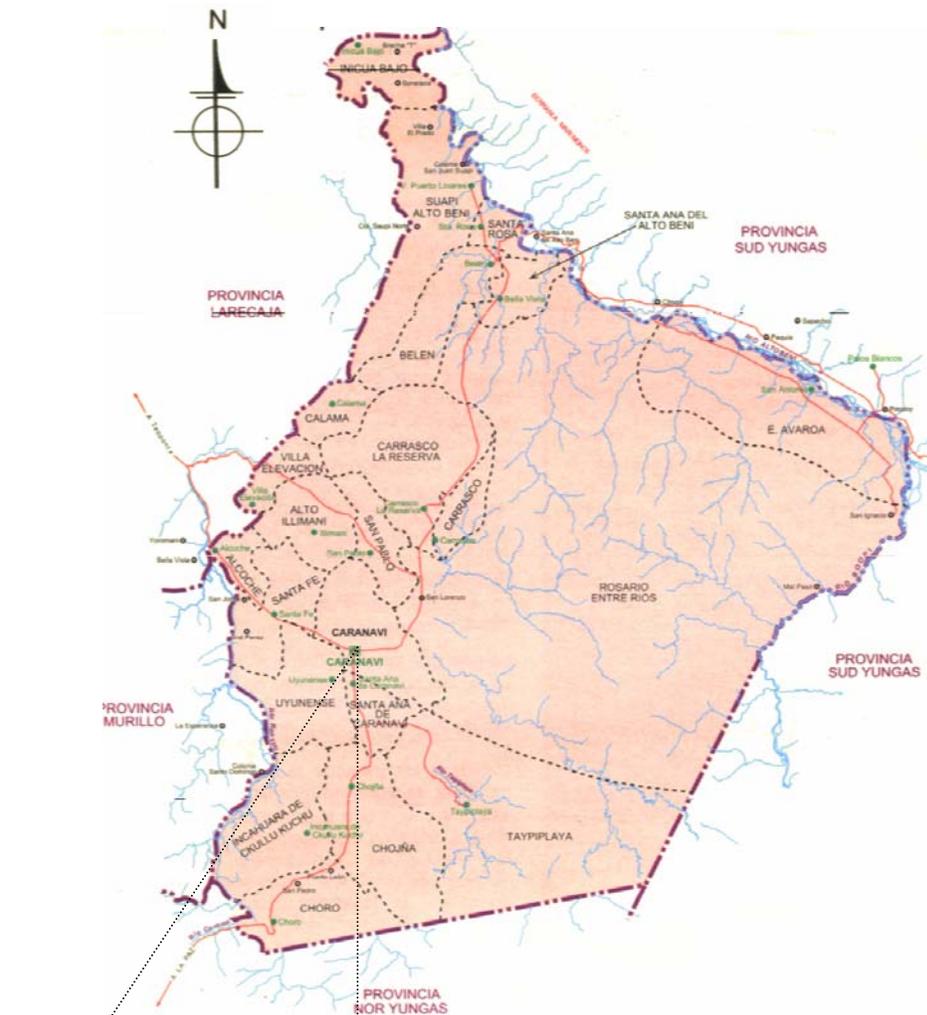
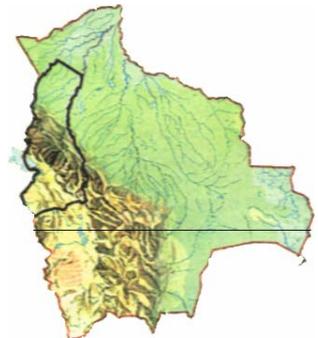
La parte forestal se caracteriza por la existencia de bosques livianos, puesto que la actividad maderera ha depredado los bosques. La riqueza en especies maderables es variada y se pueden encontrar especies maderables de gran importancia como: Mara (*Swietenia macrophylla*), cedro (*Cedrela odorata*), ambaibo (*Cecropia sciadophylla*) y otros, pero que son irracionalmente extraídos, destruyendo grandes ecosistemas de la zona.

### **3.1.6. Suelo**

Los suelos son de color pardo amarillo oscuro con riesgos de erosión, deslizamientos, lavado de nutrientes; son suelos ácidos, poco profundos con buen drenaje, moderada fertilidad, con porcentaje de grava y piedra de 5 a 15 % en los horizontes superiores y de 15 a 80 % en los horizontes inferiores (PDM – Caranavi, 2001), como lo describe el Cuadro 5.

# Provincia CARANAVI

**BOLIVIA**  
UBICACION DEL DEPARTAMENTO



**LA PAZ**  
UBICACION DE LA PROVINCIA



Límite Internacional	Capital de Departamento	Río
Límite Departamental	CAPITAL PROVINCIA	Lago o Laguna
Límite Provincial	Capital de Canton	Salar
Límite Sección de Provincia	Localidad	Pista de Aterrizaje
Límite Cantonal	Comiso	Via Férrea
Camino Principal o Carretera	<b>NOMBRE DEL CANTON</b>	Punto de Control o Mojon
Camino Secundario	<b>NOMBRE DEL MUNICIPIO</b>	

## **3.2. MATERIALES**

### **3.2.1. Material vegetal**

Se utilizó semilla de estevia de la especie *Stevia rebaudiana* (Fujita, 1979), procedente de la colonia Santa Fe de Caranavi.

**Ciclo vegetativo:** 90 días para cosecha de hoja.

**Hábito de crecimiento:** Vertical.

**Tipo de propagación:** Sexual, Asexual.

**Enfermedades:** No presenta incidencia en la zona.

**Plagas:** No presenta incidencia en la zona.

### **3.2.2. Material de campo**

Se utilizó: cinta métrica, calibrador vernier, estacas, tijeras de podar y balanza.

### **3.2.3. Material de laboratorio**

Para el análisis químico se utilizaron los equipos y materiales de vidrio necesarios del Área de Bromatología del Laboratorio de SELADIS como ser:

#### Equipos:

- Baño maría.
- Balanza analítica de precisión
- Espectrofotómetro con cubierta de 1 cm de espesor
- Centrifugadora.
- Molino Wiley con colador de 40 mesh.

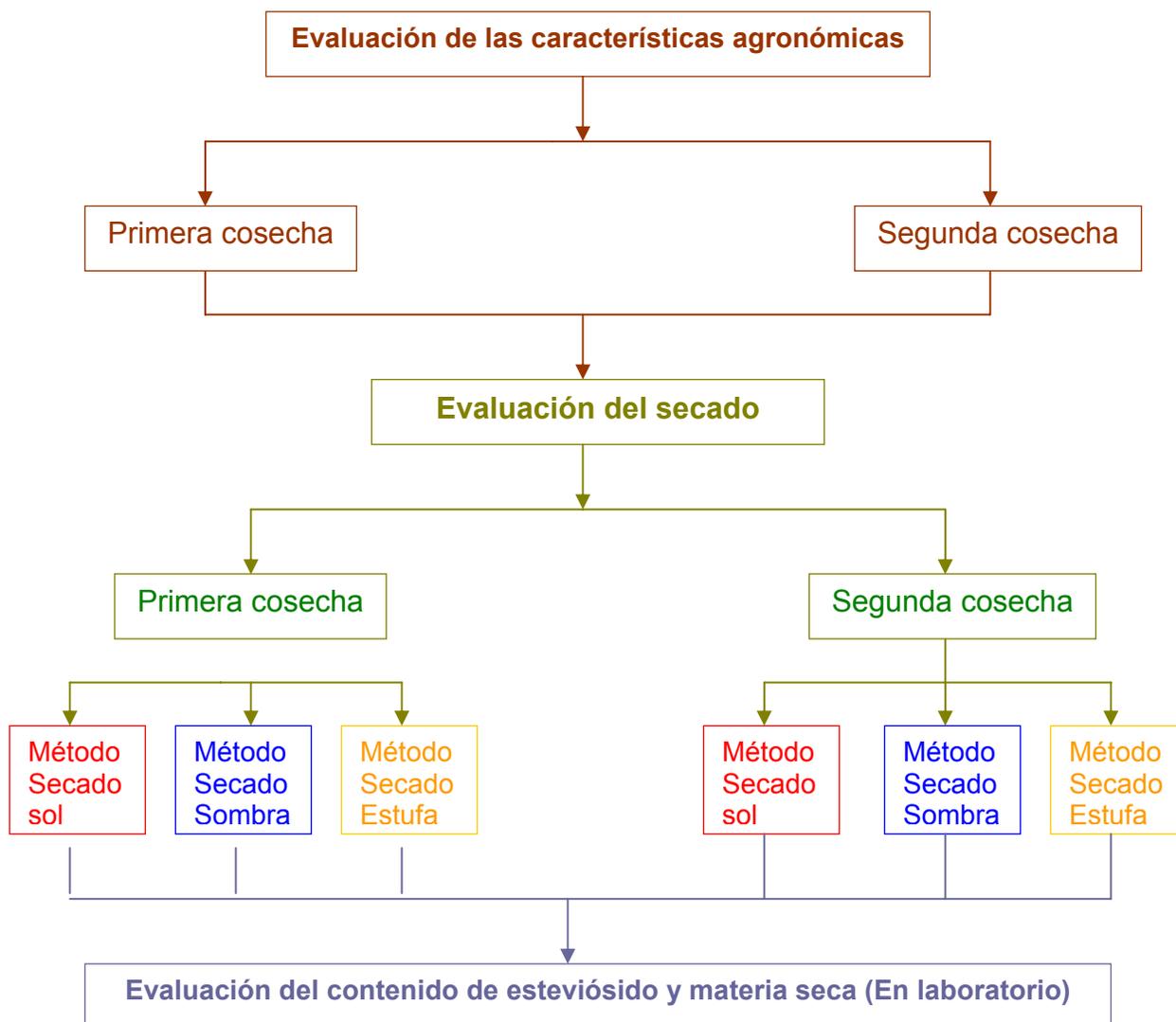
#### Reactivos:

- Metanol p. a.
- Éter etílico p. a.

- Solución patrón de glucosa (50.00 mg de glicose p. A/l<sup>8</sup>).
- Solución antrona (0.2 g/100 ml de ácido sulfúrico 96 % p. A.).
- Solución de acetato de zinc.
- Solución de ferrosianato de potasio.

### 3.3. METODO

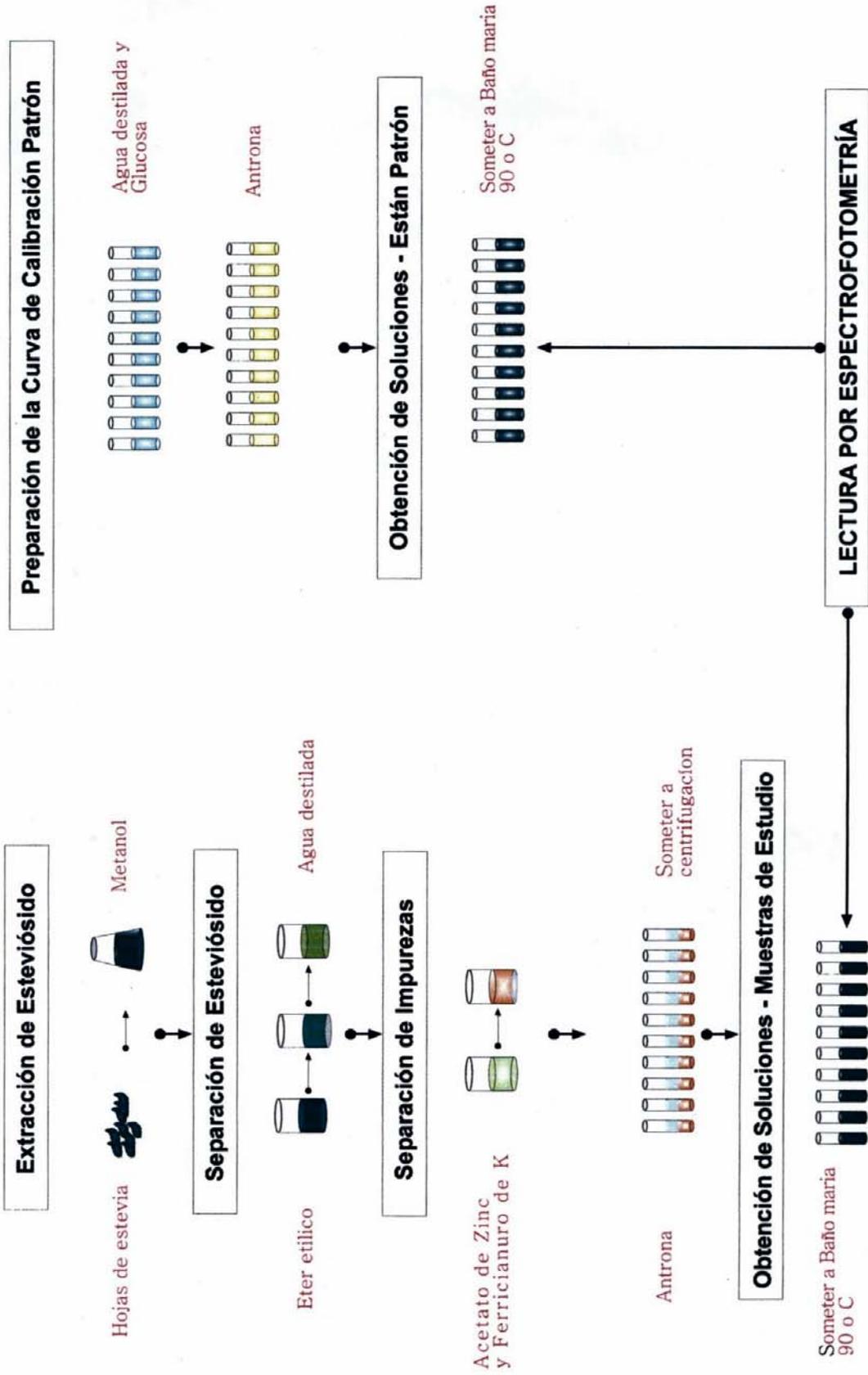
Para la ejecución del trabajo de campo, investigación y laboratorio se siguieron las siguientes etapas que se muestra en las Figuras 2 y 3:



**Figura 3. Flujograma de investigación del efecto de las características agronómicas y secado en el contenido de esteviosido**

<sup>8</sup> p. A/l: Principio activo por litro

Figura 4. Cuantificación de esteviósido por espectrofotometría.



### 3.3.1. Evaluación de las características agronómicas y secado

El presente trabajo de investigación se realizó en parcela de cultivo establecido en la etapa de floración (aparición de botones florales), Fotografía 1 y 2.



**Fotografía 1.** Parcela experimental primera cosecha



**Fotografía 2.** Parcela experimental segunda cosecha

#### 3.3.1.1. Muestreo

Se realizó un muestreo simple al azar de 100 plantas, haciendo un total de 200 plantas, para la primera y segunda cosecha, la identificación y codificación fue por planta.

##### 3.3.1.1.1. Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra para una media poblacional finita se determinó con la fórmula (Mira et al.1997), la cual es:

$$n = Z_{\alpha}^2 \frac{N \cdot p \cdot q}{i^2 (N - 1) + Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot q}$$

## Donde:

**n** = Tamaño muestral

**N** = Total de individuos de la población.

**Z** = Valor correspondiente a la distribución de Gauss 1,96 para  $\alpha=0,05$  y 2,58 para  $\alpha=0,01$ .

**p** = Prevalencia esperada del parámetro a evaluar. En caso de desconocerse, aplicar la opción más desfavorable ( $p = 0,5$ ), que hace mayor el tamaño muestral.

**q** =  $1-p$  (Si  $p=30\%$ ,  $q=70\%$ )

**i** = Error que se prevé cometer. Por ejemplo, para un error del 10%, introduciremos en la fórmula el valor 0,1. Así, con un error del 10%, si el parámetro estimado resulta del 80%, tendríamos una seguridad del 95% (para  $\alpha =0,05$ ) de que el parámetro real se sitúa entre el 70% y el 90%. Vemos, por tanto, que la amplitud total del intervalo es el doble del error que introducimos en la fórmula.

### 3.3.1.2. Análisis estadístico

#### 3.3.1.2.1. Análisis estadístico descriptivo (Para las características agronómicas)

Los parámetros estadísticos de tendencia central y de dispersión Anexo 1 se determinaron para hallar la descripción distribución y grado de dispersión o variabilidad existente en el grupo de la colección de valores de las variables cuantitativas (Steel y Torrie 1996).

- **Media**

Se determinó los valores de las observaciones por grupo (primera y segunda cosecha) de acuerdo a las variables de respuesta en estudio.

- **Desvío estándar**

Se determinó para caracterizar la dispersión de los individuos con respecto a la media observando si estos individuos están próximos a la media o están diseminados:

- **Coeficiente de variación**

Facilitó la comparación de la variabilidad respecto a medias de diferentes tamaños (medias grandes y pequeñas de una población) de las características agronómicas, determinando el porcentaje de variabilidad.

- **Rangos de variación**

Se determinó en función a los valores de mínimos y máximos encontrados para cada variable de la población de individuos con respecto a la media.

### **3.3.1.2.2. Descripción de las variables de respuesta**

#### **Altura de planta (Apl):**

Se tomó la medición en cm de las 200 muestras al azar para la primera y segunda cosecha, en la fase (aparición de botón floral) desde la base hasta el ápice, utilizando para tal propósito una regla graduada.

#### **Número de ramas/planta (Nra):**

Se realizó un conteo de número de ramas en cada planta (muestra al azar) para la primera como segunda cosecha.

#### **Diámetro de tallo/planta (Dta):**

Este dato se registró en mm, considerando el promedio de 3 mediciones por planta con la ayuda con la ayuda de un calibrador (vernier) en el tercio medio inferior de la planta (muestra al azar) en la primera y segunda cosecha.

**Número de hojas/planta (Nho):**

Para la determinación de esta variable se hizo un conteo por planta (muestra al azar) para ambas cosechas.

**Área foliar/planta (Afo):**

Se tomaron medidas del ancho y largo de las hojas de la parte apical, media y basal de cada planta (muestra al azar) luego se clasificaron por tamaños para la primera y segunda cosecha de cada una de estas se tomaron 10 hojas las cuales se calcularon sobre papel milimetrado determinando el área foliar en cm<sup>2</sup> para las demás.

**Peso/planta a la cosecha (Ppl):**

Este dato fue registrado en g por planta (muestra al azar), al momento de la cosecha con la ayuda de una balanza de precisión para la primera y segunda cosecha de hoja en verde.

**Peso hoja/planta a la cosecha (Pho):**

Esta variable se determinó extrayendo las hojas de cada planta (muestra al azar), que se utilizó para la determinación de las anteriores variables de respuesta, primera y segunda cosecha.

**Peso rama/planta a la cosecha (Pra):**

Luego de obtener datos de las variables: peso/planta a la cosecha y peso de las hojas a la cosecha, por diferencia se encontró el peso de las ramas a la cosecha, registrándose en g.

### **Rendimiento promedio peso/planta a la cosecha:**

La medición de esta variable (kg/ha) se determinó en función a la variable peso fresco/planta.

### **Rendimiento promedio peso hoja/planta a la cosecha:**

De la misma manera la medición de esta variable (kg/ha) se determinó en función a la variable peso hoja fresca/planta.

#### **3.3.1.2.3. Análisis estadístico descriptivo de medias: (Para el secado).**

- **Media**

Se determinó los valores de las observaciones por grupo (primera y segunda cosecha) de acuerdo a las variables de respuesta en estudio.

- **Desvío estándar**

Se determinó para caracterizar la dispersión de los individuos con respecto a la media observando si estos individuos están próximos a la media o están diseminados.

#### **3.3.1.2.4. Método de secado**

Luego de la cosecha, las muestras fueron sometidas a los diferentes métodos de secado que se seleccionaron de acuerdo a técnicas internacionales mencionados en el texto, tomando en cuenta los siguientes parámetros de referencia Cuadro 6:

## Cuadro 6. Referencias de las técnicas de secado

Método de Secado	Tiempo de Secado (hrs)	% de Humedad en las hojas
Secado a sol	4 – 5	10 - 12
Secado en sombra	24	7 - 8
Secado en estufa	2 – 3	7 - 8

Fuente: Fundación Bolivia Exporta (1994), Sumida (1997), Rodríguez (1999).

### 3.3.1.2.5. Proceso de secado

Se utilizó una estufa, mesas de secado de área 8 m<sup>2</sup> Fotografía 3 y 4 en las cuales se procedió a secar las hojas frescas/planta (muestras al azar) recién cosechadas.



Fotografía 3. Mesa de secado a sol



Fotografía 4. Mesa de secado en sombra

### 3.3.1.2.6. Variables de respuesta

#### Determinación del peso en seco de las hojas/planta

Esta variable se determinó, mediante la pérdida en peso en función al método de secado (a sol, en sombra y estufa), humedad y tiempo de secado

#### Determinación de la humedad. (Método de desecación)

Se determinó mediante el método: pérdida de peso de las hojas debido a la evaporación de agua de acuerdo a los métodos de secado. Para calcular la humedad se usó la siguiente fórmula:

$$\%Humedad = \frac{(P_i - P_f)}{(P_i - P_o)} * 100$$

Donde:

*P<sub>o</sub>* : *Peso del cristalizador*

*P<sub>i</sub>* : *Peso del cristalizador + muestra fresca*

*P<sub>f</sub>* : *Peso del cristalizador + muestra seca*

### **Determinación de la materia seca:**

La materia seca fue medida en términos de porcentaje (%) dependiendo del tratamiento aplicado, bajo determinado tiempo de secado y la cantidad de pérdida de humedad (contenido de humedad, base seca).

$$\%MS = \frac{P_s}{P_f} * 100$$

Donde:

*%MS* : *Porcentaje de materia seca*

*P<sub>s</sub>* : *Peso seco/planta (g)*

*P<sub>f</sub>* : *Peso fresco/planta (g)*

### 3.3.2. Relación de las características agronómicas con el contenido de esteviósido

#### 3.3.2.1. Análisis de regresión y correlación simple

Se determinó el porcentaje de variabilidad de una o varias variables independientes frente a otra variable dependiente como la relación y el grado de relación de las variables en estudio (Steel y Torrie 1996).

- **Coefficiente de correlación**

Para medir el grado de asociación de segundo grado entre las variables se utilizó la siguiente fórmula:

$$r = \frac{(\sum xy)^2}{\sum x^2 \cdot \sum y^2}$$

Donde:

- $r$ : Coeficiente de regresión
- $\sum xy$ : Sumatoria total de las variables independientes ( $x$ ) por variables dependientes ( $y$ )
- $\sum x^2 \cdot \sum y^2$ : Sumatoria individual de las variables independientes ( $x$ ) y dependiente ( $y$ )

- **Coefficiente de regresión:**

Para entender como están relacionadas las variables agronómicas con el contenido de esteviósido, fue necesario encontrar la línea o recta en particular que se ajusta mas estrechamente a los datos Anexo 2.

Esa línea es la curva parabólica que se ajusta a los datos del presente estudio, este tipo de curva esta representada por la ecuación de segundo grado o cuadrática

La cantidad de cambio de una variable asociado a un cambio único de otra variable se refiere a la naturaleza de relación se determinó a través de la fórmula de la ecuación de segundo grado:

$$y = a + bx + cx^2$$

Donde:

$y$ : Media aritmética de ( $y$ )

$a$ : Valor del intercepto

$b$ : Coeficiente de regresión

$x$ : Variable independiente

- **Coeficiente de determinación**

Para calcular la proporción de la variación total en  $Y$  que corresponde a la regresión se utilizo la siguiente fórmula:

$$R = r^2 \cdot 100$$

Donde:

$R$ : Coeficiente de determinación

$r$ : Coeficiente de correlación

### 3.3.2.2. Variables dependientes

- Altura de planta
- Número de ramas/planta
- Diámetro de tallo/planta
- Número de hojas/planta
- Area foliar/planta
- Peso/planta a la cosecha
- Peso hoja/planta a la cosecha
- Peso rama/planta a la cosecha

### 3.3.2.3. Variable independiente

- Contenido de esteviósido

### 3.3.3. Evaluación del contenido de esteviósido y materia seca (Laboratorio).

#### 3.3.3.1. Diseño experimental

El diseño experimental utilizado en el presente estudio fue de Completamente al Azar (Calzada, 1980), para la evaluación de los diferentes métodos de secado que se aplicaron a los grupos primera y segunda cosecha, donde el modelo estadístico es el siguiente:

#### Modelo lineal aditivo.

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  : Una observación cualquiera

$\mu$  : Media poblacional

$\alpha_i$  : Efecto del  $i$  - ésimo método de secado

$\varepsilon_{ij}$  : Error experimental

### 3.3.3.1.1. Formulación de los tratamientos

#### Factor de estudio

**A:** Método de secado.

#### Niveles:

A1 : Secado en sol

A2 : Secado en sombra

A3 : Secado en estufa

La repetición consistió en 7 muestras seleccionadas al azar dentro de cada grupo (primera y segunda cosecha).

### 3.3.3.2. Análisis estadístico.

#### 3.3.3.2.1. Comparación entre métodos de secado

- **Análisis de varianza (ANOVA)**

En función al modelo de diseño Completamente al Azar con arreglo factorial (Calzada, 1980), se realizó el ANVA correspondiente de las variable de estudio con un nivel de significancia del  $\alpha = 0.05$  o 5 %.

- **Coeficiente de variación (CV).**

Para determinar la confiabilidad de los análisis, se obtiene el CV en función a:

$$CV = \left( \frac{\sqrt{CME}}{\bar{x}} \right) * 100$$

Donde

*CV* : Coeficiente de variación (%)

*CME* : Cuadrado medio del error para método de secado :

$\bar{x}$  : Media poblacional

- **Regla de decisión.**

La regla de decisión que interpretará el ANOVA es la siguiente:

$Pr > 0.05$  : No existen diferencias significativas = Se acepta la hipótesis nula (***H<sub>0</sub>***)

$Pr < 0.05$  : Existen diferencias significativas = Se acepta la hipótesis alterna (***H<sub>a</sub>***)

$Pr < 0.01$  : Existen diferencias altamente significativa = Se acepta la hipótesis alterna (***H<sub>a</sub>***)

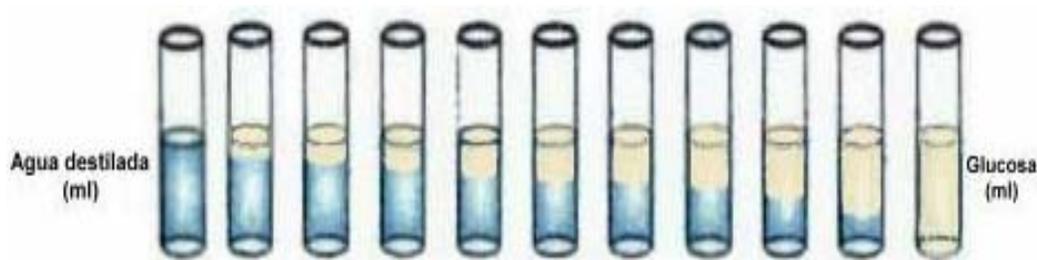
- **Comparación de medias.**

Se utilizó la prueba de comparaciones de Rango Múltiple Duncan (Steel y Torrie 1996). Esto, para comparar entre medias cuando el resultado es significativo en el análisis de varianza.

### 3.3.3.3. Cuantificación de esteviósido por espectrofotometría

#### 3.3.3.3.1. Curva de calibración

- Se preparó la curva de calibración, a partir de diferentes concentraciones de glucosa como parámetro de referencia Figura 5.



**Figura 5. Concentraciones de la solución estándar patrón**

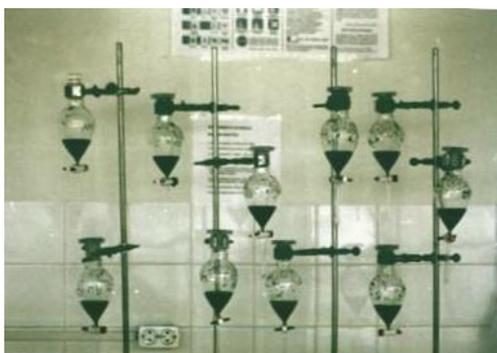
- Se añadió agua destilada y glucosa en las siguientes cantidades:  
5; 4.5; 4; 3.5; 3; 2.5; 2; 1.5; 1; 0.5; 0 ml de H<sub>2</sub>O destilada  
0; 0.5; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 3.5; 4; 4.5; 5 ml de Glucosa.
- Se adicionó 10 ml de solución de antrona.
- Se llevó a baño maría a 90 °C por 16 minutos.
- Se realizó la lectura en espectrofotómetro a 625 nm.

- Se determinó la linealidad de la curva (Ley de Lambert y Beer).

### 3.3.3.3.2. Preparación de la muestra

#### a) Extracción del esteviósido

- Se pesó 3 gramos de cada muestra seca molida, luego se llevó a extraer el esteviósido con 80 ml de metanol por un periodo de 8 a 10 horas Fotografía 5 y 6.



**Fotografía 5.** Extractos de la muestra por método de secado.



**Fotografía 6.** Muestras en embudo de separación por cosecha..

#### b) Precipitación del esteviósido

- A una alícuota de cada extracto obtenido en (a) se añadió 50 ml de éter etílico Fotografía 7 y 8.



**Fotografía 7.** Extracto 1ra cosecha

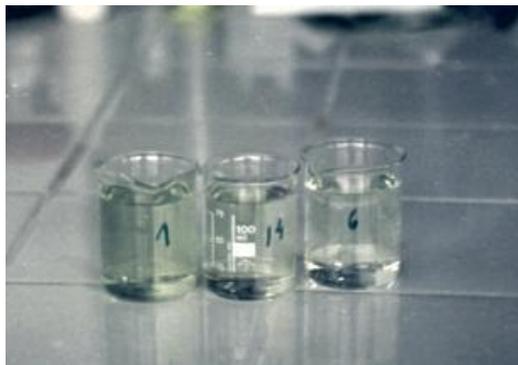


**Fotografía 8.** Extracto 2da cosecha

- Se separó el precipitado por filtración y se desecho el sobrenadante. Fotografía 8 y 9.



**Fotografía 9.** Filtración



**Fotografía 10.** Solubilización

- El precipitado se resuspendió por solubilización en agua destilada (a balón de 100 ml).
- Se añadió acetato de zinc y ferricianuro de potasio.
- De los extractos se obtuvo 48 muestras (incluido repeticiones) para la primera y segunda cosecha
- A un volumen de 10 ml de las soluciones anteriores se añadió 10 ml de solución de antrona.
- Posteriormente se llevó las muestras a tratamiento de Baño Maria a 90 °C por 16 minutos.
- Se realizó la lectura en espectrofotómetro a 625 nm.

### **3.3.3.3. Cálculo de la concentración de esteviósido según la curva de calibración**

$$[C] = \frac{L_c}{M_f} \cdot M_i \cdot 1.49$$

Donde:

$[C]$  : Concentración de Esteviósido

$L_c$  : Lectura corregida de la muestra

$M_i$  : Muestra inicial

$M_f$  : Muestra final

1.49 : Factor Esteviósido

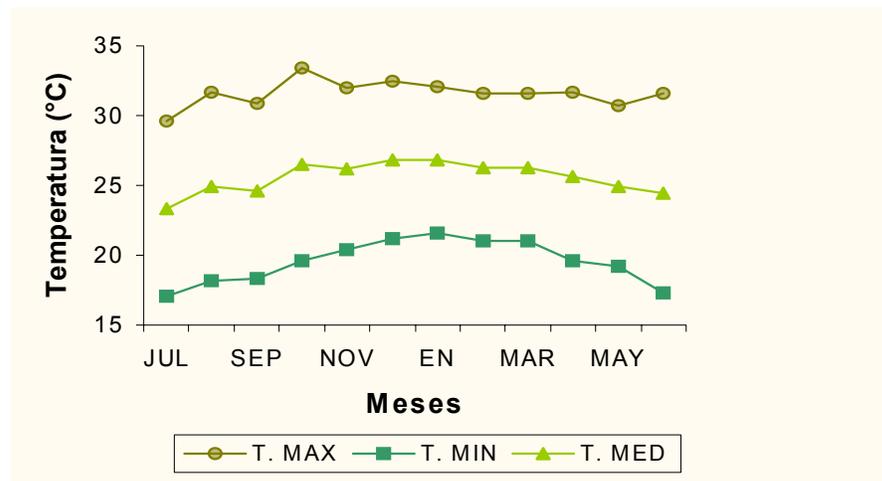
## IV. RESULTADOS Y DISCUSION

La presente investigación fue realizada en cultivo establecido de la cual se registró datos en la fase inicio de floración (*formación de botón floral*), en tiempo de recolección o cosecha de hojas.

Es importante mencionar que se ha observado en el cultivo una alta diversidad fenotípica así lo muestra los datos recopilados de la primera y segunda cosecha Anexo 1. Esto asociado a la textura del suelo además de las condiciones climáticas gestión 2002- 2003 (presencia del fenómeno del niño), que provocó cambios y condiciones difíciles para el buen desarrollo del cultivo (Características agronómicas y rendimiento del cultivo).

### 4.1. Características metereológicas de la zona en estudio

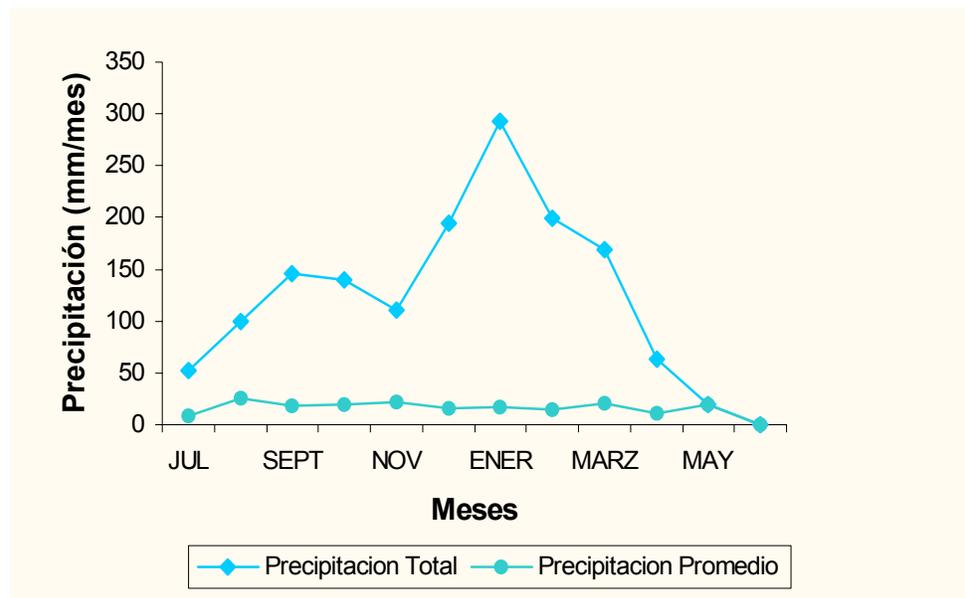
Con los datos de temperatura y precipitación que se registraron durante la realización del ensayo Anexo 3, se elaboró el clima diagrama como se muestra en la Figura 6.



**Figura 6. Distribución de las temperaturas máximas, mínimas y medias, gestión (2002-2003) Colonia Broncini Provincia Caranavi.**

Apaza (2003), menciona que la temperatura es un factor importante debido a que afecta el desarrollo de la planta, soporta temperaturas extremas de 6 a 43 °C pero estas temperaturas ocasionan una baja en el incremento y producción de hojas, por tanto para un buen desarrollo de la planta se requiere temperaturas óptimas de 21 a 23 °C.

Se puede observar que las temperaturas registradas durante el desarrollo del experimento se hallan entre los rangos descritos Apaza (2003); la mínima temperatura fue registrada en el mes de Julio con 17.1 °C y la máxima en el mes de octubre con 33.4 °C.



**Figura 7. Distribución de las precipitaciones total, media y mensual gestión (2002-2003) Colonia Broncini Provincia Caranavi.**

Considerando que el ciclo del cultivo es de 4 cosechas/año; es decir 1 cosecha/3-4 meses se puede apreciar para la primera cosecha cuyo ciclo se extendió hasta finales del mes de octubre, una precipitación promedio regular de 109 mm. Para la segunda cosecha el ciclo se extendió hasta finales del mes de enero con una precipitación promedio mayor de 199.3 mm Figura 7.

#### 4.2. Características edafológicas de la zona en estudio

Antes del ensayo se realizó un muestreo de suelo, cuyos resultados se detallan en el cuadro 7.

**Cuadro 7. Análisis, físico-química del suelo  
Colonia Broncini Provincia Caranavi**

CARACTERISTICAS	ANALISIS
Textura	Arcilloso
pH	6.10
CE mmhos	0.109
Cationes de cambio	
Aluminio	0.05
Calcio	3.6
Magnesio	0.87
Sodio	0.06
Potasio	0.18
TBI	4.71
CIC	4.75
MO %	2.81
N total	0.16
P asimilable ppm	0.32

Fuente: Servicio de laboratorio y diagnostico SELADIS

En el Cuadro 7 se puede apreciar que la textura del suelo es arcillosa, lo que no es muy recomendable para el cultivo de la estevia que requiere suelos franco areno húmifero con buena capacidad de retención de humedad por que son sensibles a la salinidad (Cardozo citado por Pinaya 1996).

El suelo presenta un pH ácido de 6.10 el cual no se halla dentro de los parámetros descritos por (Cardozo citado por Pinaya 1996) que indica que los suelos aptos para el cultivo de estevia deben tener un pH neutro de 7.5.

### **4.3. Evaluación de las características agronómicas y secado**

#### **4.3.1. Características agronómicas**

El resumen de los parámetros estadísticos de tendencia central y de dispersión para cada variable cuantitativa Anexo 4 se presenta en los Cuadros 8 y 9 para la primera y segunda cosecha con la descripción y discusión de cada una de ellas:

##### **4.3.1.1. Altura de planta**

Esta variable fue caracterizada en forma escalonada Fotografía 11, en los Cuadros 8 y 9 se evidencia que la altura de planta registró un promedio de  $29.58 \pm 4.96$  cm, primera cosecha y  $34.26 \pm 5.69$  cm segunda cosecha, con coeficientes de variación de 12.54 y 11.65 % respectivamente. El rango de variación (mínimo – máximo) de esta variable oscila entre 20 a 39 cm (primera cosecha) y de 26 a 44 cm (segunda cosecha).



**Fotografía 11.** Característica de la Altura de planta

Demostrando así la existencia de plantas de estevia de tamaño variable, esto contradice a lo descrito por Pajas (2000), quien afirma la existencia de tamaño 47.7 y 54.45 cm de altura en la primera y segunda cosecha.

**Cuadro 8. Parámetros estadísticos de tendencia central y de dispersión para 8 variables cuantitativas (primera cosecha)**

Característica agronómica	Media	Rango (Min - Max)	SD*	CV** (%)
Altura de planta	29.58	20.00 - 39.00	4.96	12.54
Número de ramas/planta	5.25	3.00 - 7.00	1.12	12.77
Diámetro de tallo/planta	2.27	1.00 - 3.00	0.54	14.08
Número de hojas/planta	110.24	74.00 - 153.00	19.62	22.89
Area foliar/planta	9.32	4.00 - 17.00	3.08	21.99
Peso/planta la cosecha	14.17	8.10 - 26.20	3.25	23.98
Peso rama/planta a la cosecha	2.53	2.00 - 3.50	0.49	19.06
Peso hoja/planta a la cosecha	11.63	6.10 - 24.20	3.35	30.08

\* Desviación estándar

**Cuadro 9. Parámetros estadísticos de tendencia central y de dispersión para 8 variables cuantitativas (segunda cosecha).**

Característica agronómica	Media	Rango (Min - Max)	SD*	CV** (%)
Altura de planta	34.26	26.00 - 44.00	5.69	11.65
Número de ramas/planta	12.85	2.00 - 40.00	8.75	15.08
Diámetro de tallo/planta	2.37	1.00 - 4.00	0.60	15.06
Número de hojas/planta	161.54	110.00 - 241.00	33.03	25.01
Area foliar/planta	12.11	4.00 - 22.91	3.91	25.06
Peso/planta la cosecha	27.87	11.10 - 51.30	9.50	34.78
Peso rama/planta a la cosecha	4.09	2.60 - 6.10	0.94	17.06
Peso hoja/planta a la cosecha	23.68	5.30 - 47.70	9.35	39.55

\* Desviación estándar

Esta característica fue estudiada por Pinaya (1996), menciona que la altura, varía de 59.25 a 50 cm. Por su parte Apaza (2003) registró alturas de 46.70 y 29.91 cm este último sin aplicación del fertilizante nitrogenado.

En consecuencia el cultivo de la estevia del área de estudio en la Colonia Broncini, Provincia Caranavi, mostraron ser de menor altura, comparativamente a las evaluaciones de otros autores en los Yungas de La Paz.

#### **4.3.1.2. Número de ramas/planta**

De acuerdo a los Cuadros 8 y 9, esta variable registro promedios de  $5.25 \pm 1.12$  y  $12.85 \pm 8.75$  ramas/planta con coeficientes de variación de 12.77 y 15.08 % para la primera y segunda cosecha Fotografía 12. El rango de variación (mínimo – máximo) esta entre 3 a 7 y 2 a 40 ramas/planta en la primera y segunda cosecha.



**Fotografía 12.** Característica del número de ramas/planta

Los resultados que se reportan en el presente trabajo son similares a los registrados por Pinaya (1996), quien obtuvo 7.75; 5.75; 5.25, y 6 ramas respectivamente.

Por su parte Pajas (2000), obtuvo con la incorporación de materia orgánica (abono orgánico vacuno), el mayor número de ramas tanto en la primera como segunda cosecha con 7 y 12 ramas.

Por otro lado Apaza (2003), reportó un mayor número de ramas de 9.44 con respecto al testigo sin fertilización con 7.77 ramas. Demostrando que este carácter es altamente dependiente de la materia orgánica, densidad de siembra.

El factor suelo (textura, estructura, pH, Conductividad eléctrica, contenido de materia orgánica) es fundamental para los requerimientos del cultivo de la estevia, los análisis realizados demuestran condiciones deficientes de textura y por ende estructura (arcilloso), por otro lado bajas cantidades de minerales (nitrógeno y potasio) de 0.16; 0.18 %, y bajo contenido de materia orgánica del 2.81 %

El contenido de materia orgánica fue bajo de 2.81 % con cantidades mínimas de nitrógeno y potasio (0.16 – 0.32 – 0.18), (Orsag, 1999) indica que porcentajes mayor a: 1 % nitrógeno (N), 3 % potasio (K) y fósforo (P) se considera como suelos ricos, aptos para cultivo.

#### **4.3.1.3. Diámetro de tallo/planta**

El promedio registrado para esta variable fue de  $2.27 \pm 0.54$  mm primera cosecha y  $2.37 \pm 0.60$  mm segunda cosecha, con coeficientes de variación de 14.08 y 15.06 % para ambas cosechas; mientras que el rango de variación (mínimo – máximo), fluctuó entre 1 a 3 mm primera cosecha y 1 a 4 mm segunda cosecha Cuadro 8 y 9.

Las plantas de estevia de menor diámetro de tallo se encontró en plantas de menor altura a diferencia de aquellas de mayor diámetro en plantas de mayor altura.

Estos datos difieren de lo encontrado por Pajas (2000), que obtuvo en la primera y segunda cosecha, diámetros superiores de 4.65 y 5.40 mm respectivamente.

Apaza (2003), al respecto obtuvo, mayor diámetro de 4.83 mm con respecto al testigo sin fertilizante con 3.55 mm. Demostrando así que las condiciones de materia orgánica tiende a desarrollar un mayor diámetro de tallo.

#### **4.3.1.4. Número de hojas/planta**

La descripción estadística para este carácter se muestra en los Cuadros 8 y 9, encontrándose promedios de  $110.24 \pm 19.62$  hojas/planta primera cosecha y  $161.54 \pm 33.03$  hojas/planta segunda cosecha, se observa también que el coeficiente de variación para ambas cosechas es de 22.89 y 25.01 %, el número de hojas varía entre 74 a 153 hojas/planta primera cosecha y 110 a 241 hojas/planta segunda cosecha.

La diferencia en número de hojas de las cosechas, depende del número de ramas que desarrolle la planta. A pesar que se ha observado en algunas plantas la presencia de tallos de mayor diámetro con menor número de hojas y otras con tallo de menor diámetro con mayor número de hojas.

Con relación a la misma variable Pinaya (1996), obtuvo 671 hojas/plantas por cosecha. Por otro lado Pajas (2000), encontró 233, 260 hoja y 168 hojas esta última con la incorporación de materia orgánica,

Apaza (2003), obtuvo un número de hojas de 410.7 respecto del testigo sin fertilizante con 215.6 hojas.

#### **4.3.1.5. Area foliar/planta**

Los promedios que se muestra en los Cuadros 8 y 9, para esta variable fueron de  $9.32 \pm 3.08$  cm<sup>2</sup> primera cosecha y  $12.11 \pm 3.91$  cm<sup>2</sup> segunda cosecha, presentando coeficientes de variación de 21.99 y 25.06 %. El área foliar varía entre 4 a 17 cm<sup>2</sup> para la primera cosecha y de 4 a 22.91 cm<sup>2</sup> segunda cosecha.



**Fotografía 13.** Características del área foliar/planta

Esta variable presentó diferencias en tamaño Fotografía 13, se identificó de acuerdo a la ubicación en la planta, la presencia de hojas pequeñas en la parte apical, hojas medianas en la altura base y hojas grandes en la altura media de la planta. Al respecto no se reportan datos en anteriores trabajos para esta variable.

#### **4.3.1.6. Peso/planta a la cosecha**

Esta característica de estudio alcanzo promedios de  $14.17 \pm 3.25$  g y  $27.87 \pm 9.50$  g en la primera y segunda cosecha, el coeficiente de variación para ambas cosechas fue de 23.98 y 34.78 %. El rango de variación fluctuó entre 8.10 a 26.20 g y 11.10 a 51.30 g para la primera y segunda cosecha respectivamente Cuadro 8 y 9.

Estos resultados, difieren de lo encontrado por (Pinaya, 1996), quien reportó pesos de 55.75; 50.0; 38; 41.50 g respectivamente. (Pajas, 2000) por su parte obtuvo para la primera y segunda cosecha, pesos de 25.44 y 32.75 g en promedio.

De la misma manera Apaza (2003), registró el mayor peso con 141.11 g con respecto del testigo sin fertilización con 70.1 g. En consecuencia condiciones como suelo (textura arcillosa) con bajo contenido de materia orgánica influyó notablemente en el peso.

#### **4.3.1.7. Peso rama/planta a la cosecha**

En los Cuadros 8 y 9 se observa que el promedio de peso rama/planta fue de  $2.53 \pm 0.49$  g y  $4.09 \pm 0.94$  g para la primera y segunda cosecha con coeficientes de variación de 19.06 y 17.06 %. El rango de variación entre 2 a 3.50 g y 2.60 a 6.10 g para ambas cosechas.

Esta característica no reporta datos en anteriores trabajos de investigación para los Yungas de La Paz.

#### **4.3.1.8. Peso hoja/planta a la cosecha**

El rango de variación de esta variable fue de 6.10 a 24.20 g primera cosecha y 5.30 a 47.70 g segunda cosecha; registrando promedios de  $11.63 \pm 3.35$  g y  $23.68 \pm 9.35$  g para ambas cosechas con coeficientes de variación de 30.08 y 39.55 %, así lo muestra los Cuadros 8 y 9.

Pinaya (1996), obtuvo pesos de 55.75, 50, 41.50 y 38 g como promedio para esta característica. Pajas (2000), registró para la primera y segunda cosecha pesos de 25.44 y 32.75 g. Por su parte Apaza (2003), registró el mayor peso de 141.11 g respecto del testigo sin fertilizante con 70.1 g.

En consecuencia, el cultivo de estevia evaluada en esta área de estudio (Provincia Caranavi) no desarrolló un buen peso, superando lo registrado por los autores en otras zonas de Los Yungas de La Paz.

Basándonos en los coeficientes de variación de los parámetros (características agronómicas) como: Peso/planta, peso hoja/planta a la cosecha, área foliar/planta y número de hojas/planta de mayor porcentaje (primera y segunda cosecha) determina que a mayor porcentaje la presión de selección es deficiente.

Se ha identificado, características morfológicas con una mayor presión de selección y heredabilidad (condición morfofisiológica del individuo seleccionado) para la primera generación de esta zona (Provincia Caranavi), pero esta puede variar para la siguiente generación y esto se explica a través de los ciclos de selección incluyendo la población original en estudio.

La predicción de la respuesta genética a la selección, depende de la heredabilidad del carácter y de la presión de selección medida con el diferencial de selección. La magnitud del diferencial de selección depende de factores como: la desviación estándar fenotípica del carácter por medio de esta se puede comparar diferentes poblaciones.

#### **4.3.1.9. Rendimiento promedio peso/planta a la cosecha**

En función a las variables de estudio descritas anteriormente se ha estimado el rendimiento por planta para una hectárea según cosecha, utilizando como parámetro de referencia la densidad de siembra propuesta por Pinaya (1996), Cuadro 10.

**Cuadro 10. Rendimiento peso/planta/hectárea para las cosechas**

Cosecha	Peso/planta (g)	Densidad de siembra (ha)	Peso planta (kg/ha)
Primera	14.17	10 <sup>5</sup> plantas / ha	1417
Segunda	27.87	10 <sup>5</sup> plantas / ha	2787

Los rendimientos de la primera y segunda cosecha para la variable peso/planta, difiere de los altos rendimiento obtenidos por Pinaya (1996) con 3800 kg/ha; Pajas (2000) con 3275 kg/ha y Apaza (2003) con 14111 y 7010 kg/ha. Pero concuerda con los mismos autores en los rendimientos bajos de 2230 y 2544, kg/ha.

#### **4.3.1.10. Rendimiento promedio peso hoja/planta a la cosecha**

De la misma manera se puede observar en el Cuadro 11, la variable peso hoja/planta muestra un rendimiento total (primera y segunda cosecha) de 3561 kg/ha

**Cuadro 11. Rendimiento peso hoja/planta/hectárea para las cosechas**

Cosecha	Peso hoja/planta (g)	Densidad de siembra (ha)	Peso hoja/planta (kg / ha)
Primera	11.63	10 <sup>5</sup> plantas / ha	1163
Segunda	23.68	10 <sup>5</sup> plantas / ha	2368

Al respecto los anteriores autores citados no reportan datos para esta variable.

Las variables de estudio difieren de los trabajos en referencia, esto se expresa en los rendimientos por planta y hoja, esto hace suponer que el lugar en estudio no reunió las condiciones que requiere el cultivo así lo demuestra los análisis de suelo realizados.

Además durante la evaluación se pudo observar en las cosechas que algunas plantas llegaban a florecer antes de tiempo con características de altura menores a 30 cm. Esto puede deberse a otras condiciones como el fotoperiodos (horas luz/día) variable en función a la época.

Candeira et al, (2002), afirma que las condiciones ambientales como fotoperíodos largos de 16 horas luz/día, acelera la aparición de hojas, las condiciones de suelo y materia orgánica es determinante para el buen desarrollo morfofisiológico de la estevia. Condiciones que para el presente trabajo de investigación no fueron consideradas como variables de estudio.

#### 4.3.2. Secado

El resumen de los parámetros estadísticos de tendencia central para las variables en estudio durante y después del secado, se presenta a continuación con la descripción y discusión de cada una de ellas:

Luego de realizar la evaluación de las características agronómicas se procedió a someter a secado con peso/planta a la cosecha promedio Cuadro 12.

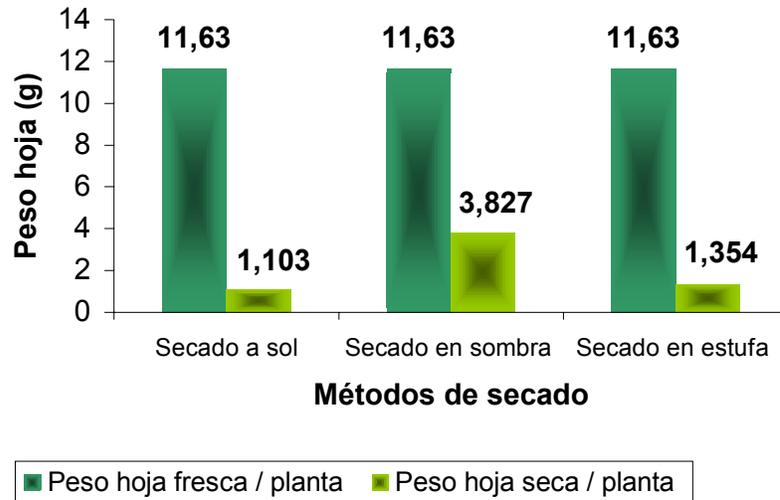
**Cuadro 12. Determinación del peso fresco inicial antes del secado**

Característica agronómica	Media	SD*
<b>Primera Cosecha</b>		
Peso hoja fresca / planta (g)	11.63	3.35
<b>Segunda Cosecha</b>		
Peso hoja fresca / planta (g)	23.68	9.35

##### 4.3.2.1. Determinación de peso hoja seca/planta en función al tiempo de secado

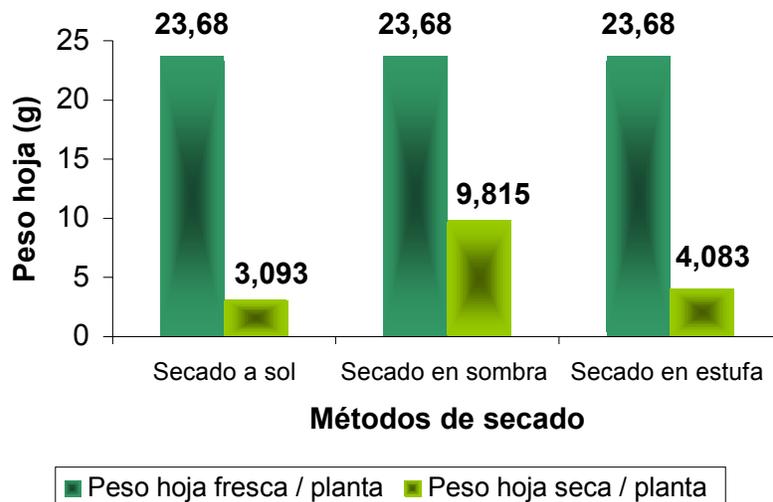
Los métodos de estudio seleccionados fueron: secado a sol, secado en sombra y secado en estufa los cuales, en función al peso promedio hoja fresca/planta de  $11.63 \pm 3.35$  g, a tiempos de secado 5, 24 (un día), y 3 horas, obtuvieron pesos promedios de hoja seca/planta, de 3.827; 1.354 y 1.103 g, Figura 8.

El secado en sombra (24 horas), redujo el peso fresco/planta inicial de 11.63 g hasta 3.83 g de peso seco/planta. Originando una merma real de 7.80 g que es mayor con relación al secado a sol (5 horas) que redujo de un peso fresco/planta inicial de 11.63 g hasta 1.10 g de peso seco/planta, originando una merma real de 10.53 g para la primera cosecha.



**Figura 8. Efecto del método de secado en el peso seco/planta (primera cosecha)**

De la misma manera para la segunda cosecha se observó que para un peso promedio hoja fresca/planta de  $23.68 \pm 9.35$  g. luego de someter a los diferentes secados sombra, estufa y sol y a los tiempos de secado 5, 24 (un día), y 3 horas el peso promedio hoja seca / planta fue de 9.815; 4.083 y 3.093 g Figura 9.



**Figura 9. Efecto del método de secado en el peso seco/planta (segunda cosecha).**

Para la segunda cosecha se puede observar que de un peso fresco/planta inicial de 23.68 g se redujo hasta 9.82 g de peso seco/planta. Originando una merma real de 13.86 g para el secado en sombra (24 horas) que es mayor con relación al secado a sol (5 horas) que reduce de un peso fresco/planta inicial de 23.68 g hasta 3.09 g de peso seco/planta, originando una merma real de 20.59 g respectivamente.

Esto difiere de (Pajas, 2000) que obtuvo peso seco/planta de 10.55 y 15.98 g para la primera y segunda cosecha. Por otra parte (Pinaya, 1996) determino para esta variable pesos de 23.25; 19.75; 15.75; 15.50 g.

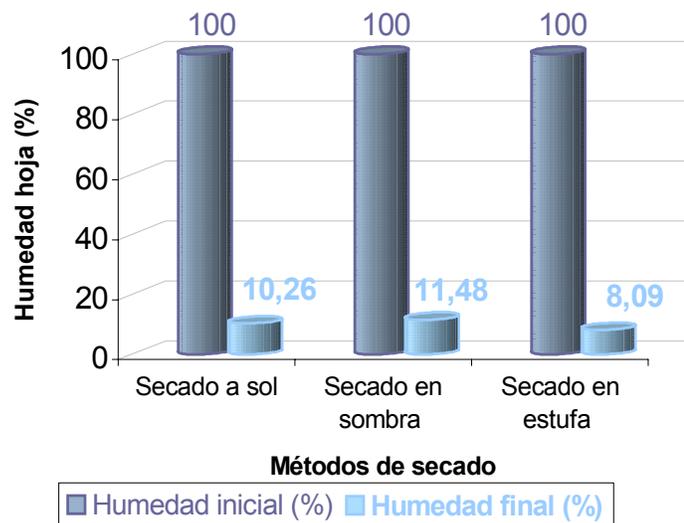
Apaza (2003), con respecto a esta variable obtuvo pesos promedios de 42.97 y 31.11 g frente al testigo sin fertilizante con pesos promedios de 26.07 y 19.65 g.

Los resultados del presente trabajo indican que existe una diferencia en peso seco/planta para los diferentes métodos de secado a determinadas referencias de tiempo de secado para el producto.

#### 4.3.2.2. Determinación del porcentaje de humedad en función al peso para los diferentes métodos de secado.

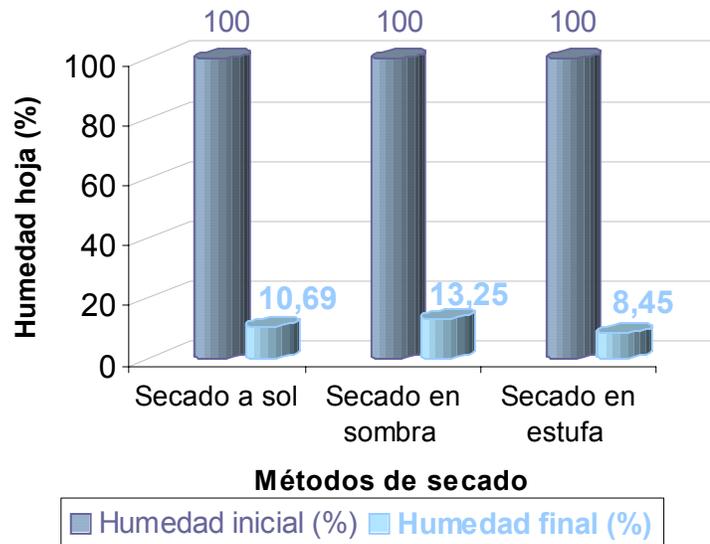
Uno de los factores fisiológicos más críticos que asegura el proceso de secado del producto con éxito, es el contenido de humedad del producto hoja.

Se puede apreciar en la Figura 10 que el contenido de humedad inicial fue del 100 % luego de someter a diferentes secados sol, sombra y estufa, la humedad final descendió a porcentajes de 10.26, 11.48 y 8.09 % de acuerdo a las recomendaciones propuestas. Para secado en sol por (Candeira et al, 2002) Brasil; sombra (Rodríguez, 1999) Paraguay y estufa (Sumida, 1997) Japón.



**Figura 10. Efecto del método de secado en el contenido de humedad para el peso seco/planta (primera cosecha).**

De la misma manera en la Figura 11 se aprecia el contenido de humedad inicial fue del 100 % luego de someter a diferentes secados sol, sombra y estufa la humedad final, descendió a valores de 10.69, 13.25 y 8.45 %.



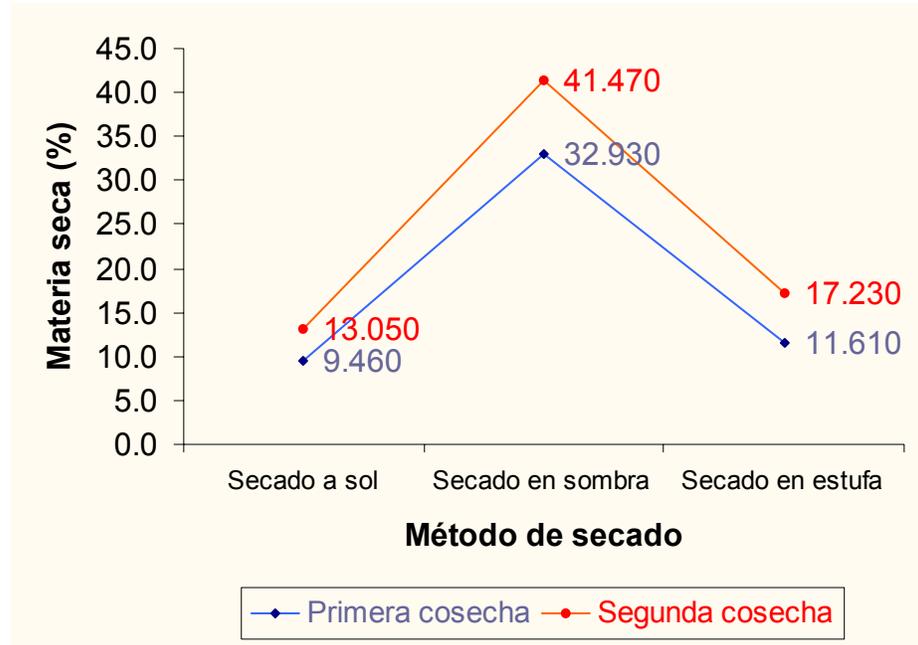
**Figura 11. Efecto del método de secado en el contenido de humedad para el peso seco/planta (segunda cosecha).**

Esta reducción del contenido de humedad del producto (hoja) después de la cosecha puede ayudar a reducir la velocidad de respiración y así aumentar el periodo de almacenamiento.

#### **4.3.2.3. Determinación del porcentaje de materia seca en función al peso**

Fundamentalmente el secado se realiza para disminuir el peso y el volumen de los alimentos y por ende influye en la materia seca.

Se puede apreciar en la Figura 12 que el porcentaje de materia seca, final luego de someter a diferentes secados sombra (24 horas), estufa (3 horas) y sol (5 horas), descendió a valores de 32.93, 11.61 y 9.46 % para la primera cosecha



**Figura 12. Efecto del método de secado en el contenido de materia seca para el peso seco/planta (primera y segunda cosecha)**

De la misma manera, para la segunda cosecha se puede apreciar un contenido de materia fresca inicial del 100 % que luego de someter a diferentes secados sombra (24 horas), estufa (3 horas) y sol (5 horas) la materia seca final descendió a valores de 41.47, 17.23 y 13.05 %.

Se observa que el mayor contenido de materia seca este presente en el producto (hoja), secado en sombra (24 horas) con 32.93 y 41.47 % para ambas cosechas, que es mayor a la materia seca del secado a sol (5 horas) con 9.46 y 13.05 % para la primera y segunda cosecha. dicho de otra manera se perdió un 67.07 y 58.3 % de agua contenido en el producto (hoja) que es menor a la perdida del secado a sol con 90.54 y 86.9 %

Esta reducción del contenido de materia seca del producto final (hoja seca) después de la cosecha ayuda a reducir la velocidad de respiración y así aumentar el periodo de almacenamiento, pero influye en la composición química del mismo.

Pueden existir diferentes métodos de secado Fotografías 14 y 15, pero es necesario conocer, experimentar su metodología en el presente trabajo de investigación se pudo constatar las dificultades que presentan los métodos de secado seleccionados por referencia.



**Fotografía 14.** Secado de hojas en sol



**Fotografía 15.** Secado de hojas en sombra

Un secado a sol presenta dificultades como ser: La radiación solar puede ser dañina para el componente principal del producto (hoja), además el tiempo de secado no se puede controlar sufriendo variación de temperatura, lo cual provocaría un mayor o menor descenso de la humedad del producto.

Un alto contenido de humedad propicia condiciones inadecuadas de almacenamiento (presencia de hongos en las hojas, aumento en la respiración del producto), por otro lado es difícil secar al sol en épocas de lluvia.

Un secado en sombra no presenta las mismas dificultades mencionadas anteriormente, pero en época de lluvia la humedad ambiente se satura lo cual no permite el flujo de aire o ventilación, esto hace que se prolongue el tiempo de secado.

#### **4.4. Relación de las características agronómicas con el contenido de esteviósido:**

##### **4.4.1. Análisis de correlación simple**

La matriz de correlación simple del Cuadro 13 (primera cosecha), muestra la estrechez de relación entre las variables independientes como: altura de planta (Apl), número de ramas/planta (Nra), diámetro de tallo/planta (Dta), número de hojas/planta (Nho), área foliar (Afo), peso/planta (Ppl), peso rama/planta (Pra) y peso hoja/planta (Phof), con la variable dependiente contenido de esteviósido (CE).

Se puede advertir una alta correlación entre el contenido de esteviósido (CE) con las variables; área foliar (Afo) de  $r = 0.849$ ; peso/planta (Ppl) de  $r = 0.788$ ; peso hoja/planta (Phof) de  $r = 0.795$ , y número de hojas/planta (Nho) de  $r = 0.576$ .

De la misma manera en el Cuadro 14 para la segunda cosecha se puede observar la siguiente correlación:

Una alta correlación entre el contenido de esteviósido (CE) con las variables; altura de planta (Apl) de  $r = 0.785$ ; número de hojas/planta (Nho) de  $r = 0.753$ ; área foliar (Afo) de  $r = 0.621$ ; peso/planta (Ppl) de  $r = 0.835$  y peso hoja/planta (Phof) de  $r = 0.828$ .

Se observó que en ambas cosechas existe una alta correlación positiva entre las variables: altura de planta (Apl), número de hojas (Nho), área foliar (Afo), peso/planta (Ppl), peso hoja/planta (Phof), con el contenido de esteviósido (CE) .

**Cuadro 13. Matriz de correlación en 9 variables cuantitativas (n = 100) primera cosecha**

VAR*	Apl	Nra	Dta	Nho	Afo	Ppl	Pra	Phof	CE
Apl	1.000								
Nra	0.839	1.000							
Dta	0.595	0.916	1.000						
Nho	0.991	0.887	0.609	1.000					
Afo	0.822	0.674	0.689	0.791	1.000				
Ppl	0.747	0.468	0.773	0.750	0.508	1.000			
Pra	0.549	0.349	0.411	0.419	0.444	0.745	1.000		
Phof	0.792	0.495	0.799	0.784	0.524	0.997	0.743	1.000	
CE	0.438	0.377	0.423	0.576	0.849	0.788	0.421	0.795	1.000

**Apl** : Altura de planta  
**Nra** : Número de ramas/planta  
**Dta** : Diámetro de tallo/planta  
**Nho** : Número de hojas/planta  
**Afo** : Área foliar/planta

**Ppl** : Peso/planta a la cosecha  
**Pra** : Peso rama/planta a la cosecha  
**Phof** : Peso hoja/planta a la cosecha  
**CE** : Contenido de estevósido

**\*Var** : Variable cuantitativa  
**\*** : Significativo a nivel del 5 %  
**n** : Número de observaciones por variable  
**0.25** : r crítico al 5 % para GL n – 2

**Cuadro 14. Matriz de correlación en 9 variables cuantitativas (n = 100) segunda cosecha**

VAR*	Apl	Nra	Dta	Nho	Afo	Ppl	Pra	Phof	CE
Apl	1.000								
Nra	0.851	1.000							
Dta	0.970	0.792	1.000						
Nho	0.999	0.815	0.890	1.000					
Afo	0.715	0.363	0.904	0.803	1.000				
Ppl	0.935	0.758	0.691	0.930	0.771	1.000			
Pra	0.810	0.691	0.539	0.787	0.446	0.939	1.000		
Phof	0.933	0.752	0.682	0.928	0.766	0.999	0.960	1.000	
CE	0.785	0.399	0.433	0.753	0.621	0.835	0.374	0.828	

**Apl** : Altura de planta  
**Nra** : Número de ramas/planta  
**Dta** : Diámetro de tallo/planta  
**Nho** : Número de hojas/planta  
**Afo** : Área foliar/planta

**Ppl** : Peso/planta a la cosecha  
**Pra** : Peso rama/planta a la cosecha  
**Phof** : Peso hoja/planta a la cosecha  
**CE** : Contenido de estevióside

**\*Var** : Variable cuantitativa  
**\*** : Significativo a nivel del 5 %  
**n** : Número de observaciones por variable  
**0.25** : r crítico al 5 % para GL n – 2

A medida que aumenta o disminuye las variables: Apl, Nho, Afo, Ppl, Phof, también se modifica el comportamiento de la variable CE.

Es importante observar en los Cuadros 13 y 14 que estas variables número de hojas (Nho), área foliar (Afo), peso/planta (Ppl) y peso hoja/planta (Phof) están correlacionadas positivamente entre si mismas y con las variables restantes para la primera y segunda cosecha

#### 4.4.2. Análisis de determinación

De acuerdo al Cuadro 15 las variables: Área foliar (Afo), peso hoja/planta (Phof), peso/planta (Ppl), explican el mayor porcentaje de varianza de 72.12, 63.26 y 62.12 %. Para el contenido de esteviósido (CE), primera cosecha.

**Cuadro 15. Relación del contenido de esteviósido con las características agronómicas (primera cosecha)**

Modelo Matemático	Coefficiente de determinación $r^2$
$CE = -0.0038 Nho^2 + 3.0601 Nho + 35.764$	14.21
$CE = 0.9412 Afo^2 - 18.146 Afo + 30.399$	72.12
$CE = 0.4208 Ppl + 12.541 Ppl + 27.775$	62.12
$CE = 0.3917 Phof^2 + 9.7735 Phof + 36.261$	63.26

CE = Contenido de esteviósido %

(<sup>2</sup>) = Función exponencial

En el Cuadro 16 se puede observar que las variables; peso hoja/planta (Phof), peso/planta (Ppl), y número de hojas/planta (Nho), explican el mayor porcentaje de varianza con 94.79, 68.56 y 61.58 % para el contenido de esteviósido.

**Cuadro 16. Relación del contenido de esteviósido con las características agronómicas (segunda cosecha).**

Modelo Matemático	Coefficiente de determinación $r^2$
$CE = - 0.312 Apl^2 + 21.691Apl + 41.339$	38.64
$CE = - 0.004 Nho + 8.7006 Nho + 41.339$	61.58
$CE = - 0.3848 Afo^2 - 8.5747 Afo + 37.985$	56.70
$CE = 0.0498 Ppl^2 + 3.0601 Ppl + 53.162$	68.56
$CE = 0.053 Phof^2 + 2.8077 Phof + 68.355$	94.79

CE = Contenido de esteviósido %

(<sup>2</sup>) = Función exponencial

Al observar estos resultados (primera y segunda cosecha) se hizo una selección de las variables importantes que más influyeron en el contenido de esteviósido (CE), como el área foliar (Afo) y peso hoja/planta (Phof) con coeficientes de variación de 72.12 y 94.79 %

#### 4.4.3. Análisis de regresión simple

.Analizando las variables; área foliar (Afo), número de hojas/planta (Nho), peso/planta (Ppl), Número de hojas (Nho), peso hoja/planta (Phof), que registraron mayor coeficiente de determinación para la primera y segunda cosecha Cuadro 17.

De la misma manera se observó en el Cuadro 17, pendiente negativa para la variable: área foliar (Afo), pendiente positiva para las variables: número de hojas/planta (Nho), peso/planta (Ppl), número de hojas (Nho) y peso hoja/planta (Phof), para la primera y segunda cosecha.

**Cuadro 17. Grado de relación del contenido de esteviósido con las características agronómicas (primera y segunda cosecha)**

Variables de estudio	Modelo Matemático $y = a + bx + cx^2$
<b>Primera cosecha</b>	
Área foliar/planta	CE = $0.9412 Afo^2 - 18.146 Afo + 30.399$
Peso hoja/planta a la cosecha	CE = $0.3917 Phof^2 + 9.7735 Phof + 36.261$
Peso/planta a la cosecha	CE = $0.4208 Ppl^2 + 12.541 Ppl + 27.775$
<b>Segunda cosecha</b>	
Peso hoja/planta a la cosecha	CE = $0.053 Phof^2 + 2.8077 Phof + 68.355$
Peso/planta a la cosecha	CE = $0.0498 Ppl^2 + 3.0601 Ppl + 53.162$
Número de hojas/planta	CE = $- 0.004 Nho^2 + 8.7006 Nho + 41.339$

$y = a + bx + cx^2$  (Ecuación de segundo grado) de una función parabólica  
**b** = Coeficiente de regresión (naturaleza de relación).

Esto indica que a medida que disminuya la variable área foliar (Afo), y aumente las variables; peso hoja/planta (Phof), peso/planta (Ppl), Número de hojas (Nho); el contenido de esteviósido para la primera y segunda cosecha aumenta.

Esto puede deberse a que el cultivo por provenir de reproducción por semilla de fecundación cruzada (alógama) tiene presencia de alta diversidad genética en la población, lo cual se demostró a través del análisis descriptivo de las características agronómicas, provocando una gran diferencia de contenido de esteviósido.

La proporción de diferencia es difícil de cuantificar, además estas características agronómicas están encubiertas por otros factores como ser: La época de cosecha, suelo (textura, estructura y materia orgánica) y fotoperiodo, así lo menciona (Candeira et al, 2002), azúcares y proteínas se reducen a la mitad en fotoperiodos de días cortos y las condiciones de manejo post cosecha (secado), etc.

#### 4.5. Evaluación del contenido de estevióside y materia seca

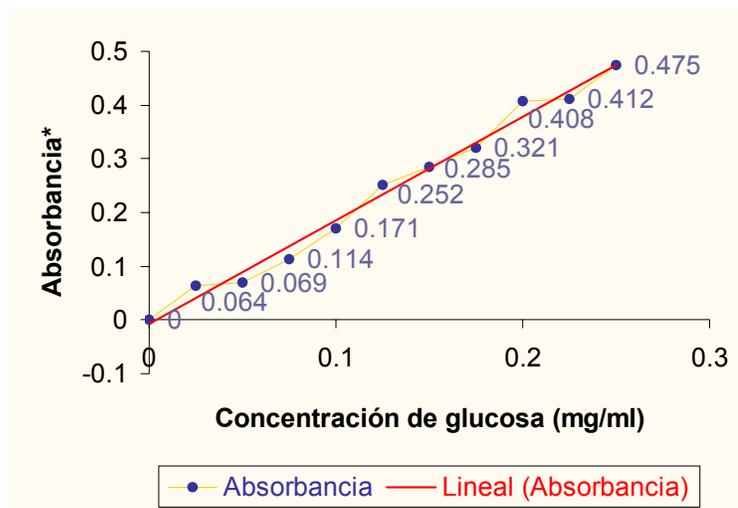
##### 4.5.1. Determinación de la concentración de estevióside según la curva de calibración

Colocando las concentraciones de 0.025 mg 0.25 mg de glucósido/tubo contra las lecturas de absorvancia óptica, se confeccionó la curva de calibración a partir de la solución estándar de glucosa Cuadro 18.

**Cuadro 18. Tabla de concentraciones de la solución estándar vs absorvancia**

Absorbancia	C  de Solución estándar
0.00	0
0.06	0.025
0.07	0.05
0.11	0.075
0.17	0.1
0.25	0.125
0.29	0.15
0.32	0.175
0.41	0.2
0.41	0.225
0.48	0.25

Se determinó la linealidad de la curva de calibración según la Ley de Lamber y Beer. Figura 13 Anexo 5.



**Figura 13. Curva de calibración para el estevióside**

La curva tiende a ser lineal lo cual se demuestra mediante su coeficiente de correlación de  $r = 0.994$ ; determinando por regresión lineal la ecuación de la recta  $Y = a + bx$  el valor del intercepto es de  $a = 0.0077$  y pendiente positiva  $b = 1.9316$  respectivamente.

#### 4.5.2. Resultados de las concentraciones de esteviósido en las muestras de estudio

Para la lectura del contenido de esteviósido de los tratamientos (métodos de secado), se trazó la curva patrón de calibración de la solución estándar en función a la concentración de glucosa Cuadros 19 y 20.

**Cuadro 19. Tabla de la concentración de esteviósido (primera cosecha).**

Método de secado	Absorbancia *	C  de esteviósido mg/ml	Esteviósido %
Secado a sol	0.129	2.356	3.510
	0.130	2.376	3.540
	0.135	2.705	4.030
	0.417	2.463	3.670
	0.480	5.604	8.350
	0.208	3.946	5.880
Secado en sombra	0.264	4.691	6.990
	0.388	6.825	10.170
	0.180	6.859	10.220
	0.114	3.242	4.830
	0.030	5.255	7.830
	0.309	4.013	5.980
Secado en estufa	0.123	2.255	3.360
	0.260	4.617	6.880
	0.075	4.067	6.060
	0.055	1.429	2.130
	0.032	2.027	3.020
	0.075	2.054	3.060

**Absorvancia\*** = Lectura por espectrofotómetro a 625 nm

**|C|** = Concentración mg/ml

**Cuadro 20. Tabla de la concentración de esteviósido (segunda cosecha)**

Método de secado	Absorbancia *	C  de esteviósido mg/ml	Esteviósido %
Secado a sol	0.123	7.323	10.920
	0.456	8.416	12.540
	0.256	6.698	9.980
	0.433	3.725	5.550
	0.122	3.879	5.780
	0.275	4.087	6.090
Secado en sombra	0.155	5.463	8.140
	0.168	8.584	12.790
	0.173	7.879	11.740
	0.114	2.101	3.130
	0.115	5.825	8.680
	0.309	6.081	9.060
Secado en estufa	0.123	4.087	6.090
	0.260	4.792	7.140
	0.178	4.718	7.030
	0.084	2.544	3.790
	0.099	5.134	7.650
	0.067	4.684	6.980

**Absorbancia\*** = Lectura por espectrofotómetro a 625 nm

**|C|** = Concentración mg/ml

Las determinaciones del contenido de esteviósido, en términos de porcentaje para las muestras en estudio de los métodos de secado, se presenta a continuación para su respectivo análisis:

#### **4.5.3. Análisis del efecto del secado en el contenido de esteviósido**

Primera cosecha:

El análisis de varianza Cuadro 21 Anexo 6, muestra para el factor (Métodos de secado), diferencias significativas sobre el contenido de esteviósido de la estevia a un nivel del 5 % con un coeficiente de variación de 18.5 %.

**Cuadro 21. Análisis de varianza para el contenido de esteviósido (%).**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Pr &gt;F</b>
<b>Métodos de secado</b>	2	42.946	21.473	5.255	0.018
<b>Error</b>	15	61.292	4.086		
<b>Total</b>	17	104.238			

C. V. = 18.5

La prueba de rango múltiple Duncan, muestra que la media del contenido de esteviósido del tratamiento (Secado en sombra) es mayor con 7.670 % y estadísticamente diferente, respecto de las medias de los tratamientos (Secado en estufa) con 4.850 % y (Secado a sol) con 4.085 % de esteviósido, Cuadro 22.

**Cuadro 22. Prueba de Duncan (5 %) para el contenido de esteviósido por métodos de secado.**

<b>Método de secado</b>	<b>Contenido de esteviósido (%)</b>	<b>Duncan</b>
Secado en sombra	7.670	<b>a</b>
Secado en estufa	4.850	<b>b</b>
Secado a sol	4.085	<b>b</b>

Por otra parte el contenido de esteviósido de los tratamientos (Secado en estufa) y (Secado a sol) no presentan diferencias significativas pero si las medias de los tratamientos (Secado en sombra) y (Secado a sol).

Segunda cosecha:

El análisis de varianza Cuadro 23 Anexo 7 nos muestra para el factor (Métodos de secado), diferencias significativas para el contenido de esteviósido de la estevia a un nivel del 5 % con un coeficiente de variación de 14.79 %.

**Cuadro 23. Análisis de varianza para el contenido de esteviósido (%).**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Pr &gt;F</b>
<b>Métodos de secado</b>	2	40.260	20.130	4.280	0.033
<b>Error</b>	15	70.556	4.704		
<b>Total</b>	17	110.817			

C. V. = 14.79

Según la prueba de rango múltiple Duncan, los tratamientos de (Secado en sombra) y (Secado en estufa) no presentan diferencias estadísticas significativas, tampoco se detectó diferencias significativas entre los tratamientos (Secado en estufa) y (Secado a sol). La prueba también indica que existe diferencias entre los tratamientos (Secado en sombra) y (Secado a sol), presentando el mayor contenido de esteviósido de 10.090 % que es superior al tratamiento (Secado a sol) con 6.435 % de esteviósido Cuadro 24.

**Cuadro 24. Prueba de Duncan (5 %) para el contenido de esteviósido por métodos de secado.**

<b>Método de secado</b>	<b>Contenido de esteviósido (%)</b>	<b>Duncan</b>
Secado en sombra	10.090	<b>a</b>
Secado en estufa	8.477	<b>ab</b>
Secado a sol	6.435	<b>b</b>

Por otra parte el contenido de esteviósido de los tratamientos (Secado en estufa) y (Secado a sol), presentan diferencias significativas. Las medias de los tratamientos (Secado en sombra) y (Secado a sol) también presentan diferencias significativas.

Se puede observar que existe una gran influencia de los diferentes secados sobre el componente químico (Esteviósido). De acuerdo a las recomendaciones de secado en sol por (Candeira et al, 2002), sombra (Rodríguez, 1989), y estufa (Sumida, 1997), llega a destacarse el método de secado en sombra que presenta un alto contenido de esteviósido.

Esto concuerda con (Abucci, 1990) quien observó que secado en sombra evita la pérdida de las sustancias activas de los productos sean (Hoja, flor, fruto, semilla). Por otro lado determina que cuando se seca a la sombra el producto conserva su color natural como sus componentes, así permite obtener un producto de alta calidad.

Es necesario evitar el secado a pleno sol, dado que las sustancias activas se reducen o alteran por efecto de los rayos solares, así las plantas pierden un quinto y una tercera parte de sus componentes (Fujita, 1997).

Es importante mencionar que desde el punto de vista técnico el manejo post cosecha (secado), puede influir en el mantenimiento de aspectos como componentes (contenido de esteviósido) del producto de la estevia (hoja) y la proliferación de microorganismos.

#### 4.5.4. Análisis del efecto del secado en la materia seca

De la misma manera se ha determinado la cantidad de materia seca en las muestras los mismos que son expresados en el Anexo 7 y 8.

Primera cosecha:

El análisis de varianza Cuadro 25 Anexo 8 nos muestra para el factor (Métodos de secado), diferencias altamente significativas sobre la materia seca de la estevia a un nivel del 1 % con un coeficiente de variación de 3.77 %.

**Cuadro 25. Análisis de varianza para la materia seca.**

FV	GL	SC	CM	F	Pr >F
<b>Método de secado</b>	2	2028.170	1014.085	2199.583	0.0001
<b>Error</b>	15	6.916	0.461		
<b>Total</b>	17	2035.086			

C. V. = 3.77

La prueba de rango múltiple Duncan, Cuadro 26 muestra que existe diferencias altamente significativas en el porcentaje de materia seca.

La media del porcentaje de materia seca del tratamiento (Secado en sombra) es mayor con 32.083 % y estadísticamente diferente, respecto de las medias de los tratamientos (Secado en estufa) con 11.635 % y (Secado a sol) con 9.455 % de materia seca.

Además la media del porcentaje de materia seca del tratamiento (Secado en estufa) con 11.635 % es estadísticamente superior al tratamiento (Secado a sol) que alcanzo el menor contenido de materia seca.

**Cuadro 26. Prueba de Duncan (5%) para el contenido de materia seca por métodos de secado**

Método de secado	Materia seca (%)	Duncan
Secado en sombra	32.983	a
Secado en estufa	11.635	b
Secado a sol	9.455	c

Segunda cosecha:

El análisis de varianza Cuadro 27 Anexo 9 muestra para el factor (Métodos de secado), diferencias altamente significativas sobre el contenido de materia seca de la estevia a un nivel del 1 % con un coeficiente de variación de 5.29 %.

**Cuadro 27. Análisis de varianza para la materia seca.**

FV	GL	SC	CM	F	Pr >F
Métodos de secado	2	2855.732	1427.866	877.737	0.0001
Error	15	24.401	1.627		
Total	17	2880.134			

C.V. = 5.29 %

La prueba de rango múltiple Duncan, muestra que la media de la materia seca del tratamiento (Secado en sombra) es mayor con 41.783 % y estadísticamente diferente, respecto de las medias de los tratamientos (Secado en estufa) con 17.220 % y (Secado a sol) con 13.333 %, Cuadro 28.

Además la media del porcentaje de materia seca del tratamiento (Secado en estufa) con 41.783 % es estadísticamente superior al tratamiento (Secado a sol) que alcanzo el menor contenido de materia seca.

Por otra parte el contenido de esteviósido de los tratamientos (Secado en estufa) y (Secado a sol), presentan diferencias significativas.

**Cuadro 28. Prueba de Duncan (5%) para el contenido de materia seca por métodos de secado.**

Método de secado	Materia seca (%)	Duncan
Secado en sombra	41.783	a
Secado en estufa	17.220	b
Secado a sol	13.333	c

Se puede observar el mismo comportamiento que en la primera cosecha, si bien es importante conocer el peso de la materia seca a diferentes métodos de secado para un determinado tiempo de secado y un contenido de humedad ideal del producto como lo recomienda (Rodríguez, 1999), (Candeira et al. 2002) y (Sumida, 1997), es importante relacionar con el contenido de esteviósido.

Se observa que el factor Método tiene influencia en el rendimiento de materia seca. Fundamentalmente el secado se realiza para disminuir el peso y el volumen de los alimentos. El peso puede llegar a disminuir 8 veces mas su peso original (Sanchez, 1992).

Por lo general el secado produce cambios físicos, químicos y sensoriales en los alimentos. Entre los cambios físicos está la pérdida en peso. Los cambios químicos contribuyen a la calidad final, tanto del producto seco como de sus equivalentes color, sabor, textura, viscosidad, velocidad de reconstitución, valor nutritivo y estabilidad en el almacenamiento.

Con frecuencia estos cambios ocurren en todos los productos (hoja, fruto, raíces, etc.), sometidos a secado, y el grado en que ocurren depende de la composición del producto y la severidad del método de secado (Knoule, 1999).

## V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planteados y los resultados obtenidos se tiene las siguientes conclusiones.

Para el cultivo de la estevia (*Stevia rebaudiana Bert.*) en la región (Provincia Caranavi), la descripción identificó en la fase inicio de floración (aparición de botón floral), las características agronómicas de mayor variabilidad genética/planta como: Número de hojas/planta (Nho), área foliar/planta (Afo), peso/planta a la cosecha (Ppl), peso hoja/planta a la cosecha (Phof), permitiéndonos observar lo siguiente:

- Para el número de hojas/planta la segunda cosecha presentó 161.54 hojas a diferencia de la primera cosecha de 100.24 con una variación de 25.01 y 22.89 % para ambas cosechas.
- Para el área foliar la segunda cosecha presentó 12.11 cm<sup>2</sup> con respecto a la primera cosecha de 9.32 cm<sup>2</sup>, presentando la segunda cosecha la mayor variación de 25.06 % frente a 21.99 % primera cosecha.
- Se registró un peso/planta para la segunda cosecha de 27.87 g con relación a la primera cosecha de 14.17 g, de variación 34.78 y 23.98 % en ambas cosechas.
- La segunda cosecha registró un peso hoja de 23.68 g con respecto a la primera cosecha de 11.63 g con coeficientes de variación del 39.55 y 30.08 % para ambas cosechas.
- La segunda cosecha presento el mayor rendimiento peso/planta de 2787 kg/planta/ha a diferencia de la primera cosecha con 1417 kg/planta/ha.

- De la misma manera para el rendimiento peso hoja/planta se observó que el mayor rendimiento se obtuvo en la segunda cosecha con 2368 kg/planta/ha con relación a la primera cosecha con 1163 kg/planta/ha.

La diferencia de peso seco/planta se debe al método, tiempo y humedad de secado que tienen un papel fundamental en la desecación del producto (hoja).

- Se puede observar que el método de secado en sombra durante 24 horas (un día) muestra un peso seco/planta de 3.83 g con 32.93 % de materia seca y humedad del 11.48 % para la primera cosecha y 9.82 g con 41.47 % de materia seca y humedad del 13.25 % para la segunda cosecha.

Las características agronómicas estudiadas permitieron identificar los siguientes patrones de asociación.

- Las variables agronómicas que explicaron la mayor proporción de variación y correlación con el contenido de esteviósido fueron: Peso hoja fresca/planta ( $Phof$ ) de  $r = 0.828$  y 94.79 % de variación (segunda cosecha), área foliar ( $Afo$ ) de  $r = 0.849$  y 72.12 % de variación (primera cosecha), en función al modelo de regresión simple de la ecuación de segundo grado: Peso hoja fresca/planta ( $Phof$ ) de  $CE = 0.053 Phof^2 + 2.8077 Phof + 68.355$  y área foliar ( $Afo$ ) de  $CE = 0.9412 Afo^2 - 18.146 Afo + 30.399$ .

Las variables que explican la mayor variación del contenido de esteviósido en ambas cosechas son área foliar ( $Afo$ ) y peso hoja ( $Phof$ ), ambas de asociación positiva y negativa alta: es decir a medida que disminuya el área foliar aumenta el contenido de esteviósido, por otro lado a medida que aumenta el peso hoja fresca / planta aumenta el contenido de esteviósido.

Estas variables área foliar y peso hoja a la vez dependen de las demás variables agronómicas y de otros factores como: Clima, época, fotoperiodo, suelo (textura), fertilidad (Materia orgánica), cultivo (densidad de siembra, edad del cultivo), que para el presente trabajo no fueron variables de estudio, pero si de referencia.

La descripción de los métodos de secado como son: secado a sol, secado en sombra y secado en estufa presentaron los siguientes resultados frente a las variables de estudio contenido de esteviósido y materia seca.

- El efecto de los diferentes métodos de secado sobre la variable de estudio contenido de esteviósido para la primera y segunda cosecha fue significativo a un nivel de confianza del 5 % con coeficientes de variación del 18.55 y 14.79 %. Donde el método de secado en sombra a un tiempo de secado de 24 horas (1 día) con un contenido de humedad de 11.48 y 13.25 % para ambas cosechas logró el mayor contenido de 7.67 y 10.09 % para la primera y segunda cosecha.
- El efecto del secado sobre la variable materia seca fue altamente significativo a un nivel de confianza del 1 % para la primera y segunda cosecha con coeficientes de variación de 3.77 y 5.29 %. Donde el método de secado en sombra a un tiempo de secado de 24 horas (1 día) con un contenido de humedad de 11.48 y 13.25 % logró el 32.08 y 41.78 % de materia seca que son mayores a los demás métodos de secado en la primera y segunda cosecha.

De la replica de los diferentes métodos de secado recomendado por autores de sus experiencias en otros países, los resultados demuestran que el método de secado en sombra presenta la forma de conservación del producto (hoja seca) manteniendo su componente principal esteviósido mas alto a diferencia de los otros métodos de secado.

## VI. RECOMENDACIONES

- Para futuros trabajos se recomienda tomar en cuenta los patrones de variación encontrados en el material genético de la zona en estudio (Provincia Caranavi), de tal forma que las investigaciones tengan parámetros comparativos específicos con los que se pueda comprender mejor el comportamiento de la estevia.
- Se recomienda continuar con los trabajos de caracterización y evaluación en función de los factores y sus parámetros de estudio: clima (época, fotoperiodo, precipitación), suelo (textura), fertilidad (Materia orgánica), cultivo (ciclo fonológico, edad del cultivo), que en el presente trabajo no fueron variables de análisis, pero si de referencia, para la zona de estudio, esto para efectos de estabilidad geográfica cuyos resultados muestren la expresión estable para identificar individuos promisorios y disímiles que representan con mayor precisión la variabilidad genética
- Para el manejo post cosecha es necesario realizar un estudio minucioso de los mejores métodos de secado que presentaron un alto contenido de esteviósido, para lo cual el presente trabajo ha reunido la información de las variables básicas de evaluación (tiempo de secado, contenido de humedad) las cuales deben ser tomadas en cuenta como referencia.
- Basándose en estos parámetros o variables se podrá determinar la grafica de la ecuación cinética de diseño para la construcción de una secadora de hojas de estevia para diferentes capacidades.
- Los parámetros básicos de manejo (lavado de hojas) pueden ser fundamentales antes del secado para mejorar el manejo poscosecha y conocer su influencia en el contenido de esteviósido.

- Existen muchos métodos de extracción de estevióside como referencia pero algunos de estos presentan inconvenientes acerca de ciertos materiales que fácilmente no se pueden disponer para su utilización por lo tanto es necesario conocer un método accesible para la extracción de estevióside.

## VII. BIBLIOGRAFÍA DE CONSULTA

- ABUCCI, S. 1990. El secado en las unidades de química fina. Ediciones Bilbao Urno N° 2 New York EE.UU. pp. 78 – 82.
- ALVAREZ, L. 1999. Programa de diversificación de cultivos. Producción de KA´A HE´E. Asunción Paraguay pp. 45.
- ARTEAGA, M, S. 1996. Modelación del proceso de secado (Modelling the drying process). Seminario de Secado. Instituto General de Investigación, Lima Perú p. 51 – 56.
- APAZA, A. 2003. Evaluación agronómica de la estevia (*Stevia rebaudiana Bert.*) bajo tres niveles de fertilización nitrogenada en los Yungas de La Paz Tesis de Ing. Agrónomo. Universidad Mayor De San Andrés Facultad de Agronomía. La Paz, Bolivia, pp. 80 – 90.
- BERTONHA, A. 1986. Informaciones básicas sobre la *Stevia rebaudiana Bert.* Universidad Estatal de Maringa, Brasil pp. 70.
- BRANDLE, JE; YAO, Y; RECLEDER R; BEYAERT, R; GIJAEN M. 2001. Stevia, Nature´s low calorie sweetener. (en línea) CA. Consultado Oct. 2001 Disponible en: <http://res2agr.ca/london/pmrc/english/faq/Stevia.html>.
- CABALLERO, RE. 2000. Extracción, purificación y caracterización del esteviósido presente en la *Stevia rebaudiana Bert.* Tesis. Lic. Ing. Qmc. Santa Cruz de la Sierra, BO. U.G.R.M. 166 p.
- CALZADA, J. 1980. Métodos Estadísticos para la Investigación, 3ra ed. Editorial Jurídica Lima, Perú, pp. 190.

- CANDEIRA, et al. 2002. Promoción, Cultivo, Industrialización y Comercialización de la *Stevia rebaudiana* Bert. Maringa, Brasil.
- CARDOZO, V. 1986. Estudio de Posibilidades de Desarrollo de la *Stevia rebaudiana* Bert. En el Paraguay informe preparado para el Centro internacional de Comercio GATT / UNCTAD Asunción, Paraguay, pp. 35.
- COLUMBUS, M. 1999. Alternative Crop Specialist. OMAFRA [columbu@omafra.gov.on.ca](mailto:columbu@omafra.gov.on.ca). Ontario, Canadá pp. 1-6
- CORPORACIÓN REGIONAL DE LA PAZ. 1992. Apoyo a la introducción de Cultivos Agroindustriales. Junio informe del proyecto.
- CRONQUIST, A. 1997. Introducción a la botánica. CECSA. México D.F. pp. 603 – 650.
- FARMACOPEA NACIONAL ARGENTINA (2002). Espectrofotometría. Sexta Edición VOL II Codex Mediezzmentarius Buenos Aires, Argentino p. 600
- FERREIRA, CL 1980. Obtención de variantes genotípicas de *Stevia rebaudiana* Bert. A partir de cultivo de tejidos, Resumos Ital Campinas, Sao Paulo – Brasil, pp. 60.
- FORTUNA *Stevia* Del Paraguay S. R. L. 1992. Promoción – Cultivo – Industrialización y Comercialización de la *Stevia rebaudiana* Bert. Asunción, Paraguay, pp. 5 - 8.
- FUGITA, H. 1979. Utilizacion of *Stevia*, Japanese Journal of Tropical Agriculture. Tokio, Japón, pp. 28.

- FUNDACIÓN BOLIVIA EXPORTA. 1994. Manual para el Productor de Hoja de Stevia, La Paz, Bolivia, pp. 1 – 6.
- GEUNS, JMC. 2003. Molecules of Interest Steviósides Phytochemistry u 64: 913 – 921.
- GARCIA, E. 1990. Proyecto Piloto Stevia (*Stevia rebaudiana Bert.*), La Paz. Bolivia, pp.185.
- INGA STEVIA INDUSTRIAL S. A. 1987. Características químicas del esteviósido y su uso Folleto informativo No 7, 1ra impresión Maringa, Brasil, pp.9.
- JOHANN, W. 1990. New methods of processing and drying of pharmaceutical stevioside. Science. Moscow p.218. [http://www. fpolar. Info/ue/agrotrop/u 351-3/u 353 a 003. html.](http://www.fpolar.info/ue/agrotrop/u351-3/u353a003.html)
- JORDAN, F. 1984. El Ka' a – He' e (*Stevia rebaudiana Bert.*), Análisis Bibliográfico y Anotaciones Hortícolas. Asunción, Paraguay, pp. 63.
- KASATKIN, A. 2000. Operaciones básicas y aparatos en la tecnología química 6ta Edición M.C. Graw Hill, pp. 262 – 366.
- KINGHORN, AD; SOEJERATO, DD; NAMAYAKKARA, NPD; MEDON, PJ; KANATH SK. 1994. A phytochemical screening procedure for sweet Ent – Kaurene glycosides in the Genus Stevia. Journal of Natural Products. 47 (3): 439 – 444.
- KNOULE, F. 1999. El secado. Bilbao. Ediciones Umo. Pp. 50 - 150

- LEE, J. And KANG, E. 1979. Studies on New sweetening Resource Plant Estevia (*Stevia rebaudiana Bert.*) Corea, Vol. 21 pp. 138 – 144. <http://www.Litap.lastate.edu/gccourse/issues/plant/vegilecture es.html>.
- LOETZ, E. 1999. Número Apropriado de Muestras. 2da Edición Seminario Taller La Paz, Bolivia, pp. 55.
- MELILLO, P. s:f: 1989. Fundamentos de agroindustria de cultivo de plantas medicinales iberoamericanas: Agrotecnología para el cultivo de estevia o hierba dulce. s.l.s.n.t. p. 442 – 450.
- MIRA, et al, 1997. Muestreo. Ed. Americana, Buenos Aires, Argentina, p. 17
- MOLINAS, S. 1990. Promoción, Cultivo, Industrialización y Comercialización de la *Stevia rebaudiana Bert.* Asunción, Paraguay, pp. 12 – 38.
- MONTAÑO, R. 1999. Diagnostico del comportamiento y potencialidades de la estevia en el Chapare. Cochabamba. Bo. IBTA / Chapare. p. 16.
- ORSAG, V. 1999. 1er Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo La Paz – Bolivia pp. 6 – 20.
- PAJAS, G. 2000. Niveles de Fertilización Orgánica en el Cultivo de la Estevia. En La Localidad de San Buenaventura Tesis de Ing. Agrónomo. Universidad Mayor De San Andrés. Facultad de Agronomía. La Paz, Bolivia, pp. 80 – 90.
- PDM (Plan de Desarrollo Municipal de Caranavi, BO), 2001. IBIS Consultores Caranavi, La Paz, Bolivia. pp. 10 – 45.

- PINAYA, A. 1996. Densidades de Siembra en el Cultivo de Stevia en la Localidad de Palos Blancos. Tesis de Ing. Agrónomo. Universidad Mayor de San Andrés Facultad de Agronomía. La Paz, Bolivia, pp. 60 – 75.
- PITA, D.1998. Variación del contenido de humedad crítica y de equilibrio. Revista Tecnología Química. T – I./ pp. 653.
- RODRÍGUEZ, M. 1999. Hierba Dulce (Stevia rebaudiana Bert.). Secretaría de la Producción de Salta, pp. 39.
- R. S. De Alimentos, 1982. La estevia y la importancia del contenido de esteviósido. Vol. 7 N 3./ Quito. Ecuador pp. 56 – 70. <http://www.imn.ac.cr/educa/cam-clim2.html>.
- SAKAGUCHI, M. 1982. As pesquisas japonesas con Stevia rebaudiana Bert. Bertoi eo Esteviósideo ciencia e cultura No 34, pp. 235 – 248.
- SANCHEZ, B. 1992. Estudio del mecanismo de secado. tesis en Ingeniería Química No 1. Sept.
- SCHMIOT, B. 2002. Introduction to industrial drying operations. Pergamun Press, Oxford EE.UU. Vol. 2. No 1 pp. 56 – 79.
- SELADIS (Instituto de Servicios de Laboratorio de Diagnostico e Investigación en Salud). , 2003. Análisis químico. La Paz, Bolivia E-mail: seladis@farbio.edu.bo
- SENAMHI (Servicio Nacional de Metereología e Hidrología, Bolivia), 2003. Informe Datos Climáticos. La Paz, Bolivia

- SILVA, AR; SALDAÑA, CM; BOELTER, R; CHAGAS, AM. 1997. Fertility of rats: aqueous extract of *Stevia rebaudiana* (BERT) BERTONI and Stevioside. (en línea) BR. Consultado Sep. Disponible en: <http://www.fastlane.net/-petro/stevia/doc007.html>.
- SILVA, S, J. 2002. Contenido de Humedad de los Productos. Seminario Universidad Federal De Vicosa, Centro de Ciencias Agrarias, Agencia Brasileira De Cooperacao MG Brasil pp. 40 – 50.
- SIVERMAN, L; MUKUNDAN, U. 2003. *In vitro* Culture Studies on *Stevia rebaudiana*. In vitro cell. Boil – Plant. 39: pp. 520 – 523. <http://www.querataro.gou.mx/SEDEA/PUBLICACIONES/DOCUMENTOS/Pdfs/cultivos.html>.
- STEEL, RG; TORRIE; J.H. 1996. Bioestadística, Principios y Procedimientos. 2° Ed. Mac Graw Hill. México D.F. p. 622.
- SHOH, B. 1982. Influencia delos parámetros de secados sobre la calidad de los productos Vol. 6. No 2 pp. 56 – 64.
- SUMIDA, T. 1997. Posibilidades de Desarrollo Agro – Industrial de la *Stevia rebaudiana Bert*. En Bolivia IICA, La Paz, Bolivia pp. 165 – 168.
- SHOCK, CI. 1982. C. Experimental cultivation of Rebaudi's *Stevia* in California, Agronomy. Progress Report. No 122 April.
- VENEK, T; NOPOVIM, A; VALICAK, P. 2001. Determination of Stevioside in plant. Material and frut teas. Journal of food composition and analysis. U pp. 383 – 388. <http://www.Amc.unam.mk/Noticias/carta/carta30 htm/carta30-35 html>.

- VILLALOBOS M. 1997. Potencialidades agroindustriales de la estevia. Vol. 2. Ministerio de Agricultura, Cooperación Internacional JICA p. 80.
- WOLF, M.1983. Primer simposio nacional de la stevia (Ka´a He´e), Corporativa de producción Ka´a He´e Ltda. 29 – 30 de julio. Asunción, Paraguay.
- ZAIDAN, L. 1980. Effect on Photoperiod on Flowerin and Stevioside content in plants of *Stevia rebaudiana Bert.* Japan Jour, pp. 569 – 570.
- ZANON, A. 1993. Informe agronómico sobre el cultivo de *Stevia rebaudiana Bert* Yerba dulce. Consultora Agro Stevia. Bs. As. Buenos Aires Argentina. pp. 1–10. Posibilidades de Desarrollo Agro – Industrial de la *Stevia*

# ANEXO

## ANEXO 1. Análisis estadístico descriptivo

- **Media**

La media de la población de los análisis se determino por:

$$x = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Donde:

$x_i$  : El valor observado de la uidad  $i^{\text{ésimo}}$  en la muestra

$n$  : El número de unidades en la muestra

$\sum_{i=1}^n x$  : Significa que y que sumar todas las  $n$  de los valores de  $x$  en la muestra

- **Desvío estándar:**

Para caracterizar la dispersión de los individuos con respecto a la media (si estos individuos están próximos a la media o están diseminados) esto se determino por:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (\bar{x} - x)^2}{n}}$$

Donde:

$s$  : Desvio estandar

$\bar{x}$  : Media aritmetica

$n$  : Número de unidades en la muestra

- **Coeficiente de variación:**

Para determinar la confiabilidad de los análisis, se obtiene el CV en función a

$$C = \left( \frac{s}{\bar{x}} \right) \cdot 100$$

Donde:

C: Coeficiente de variación

s: Desviación estándar

$\bar{x}$ : Media aritmética de la población

- **Rangos de variación**

Se determino en función a los valores de mínimos y máximos encontrados para cada variable de la población de individuos con respecto a la media, se determino en función a la formula:

$$R_{\text{de variación}} = V_{\text{mínimo}} - V_{\text{máximo}}$$

Donde:

$R_{\text{de vaariación}}$  : Rango de variación de una medición individual de la media de todas las poblaciones

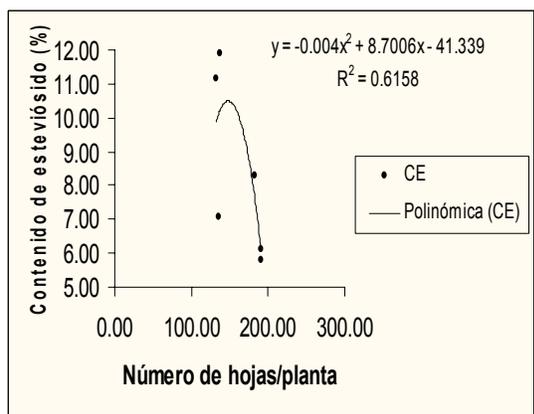
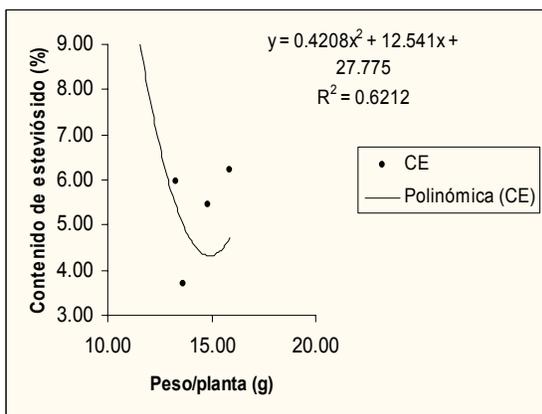
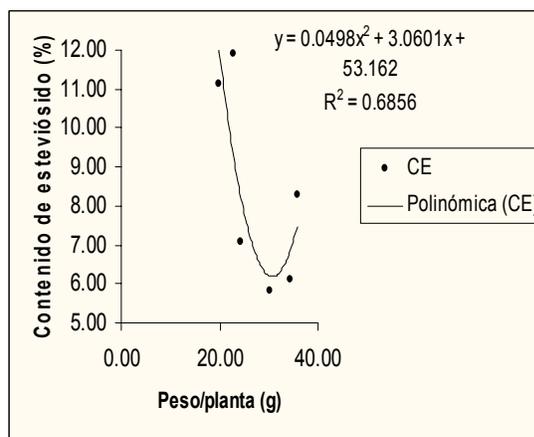
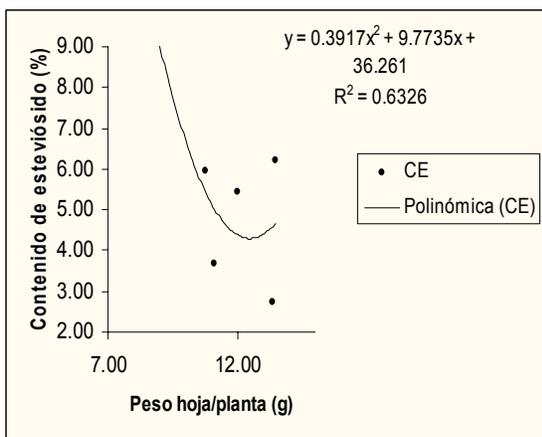
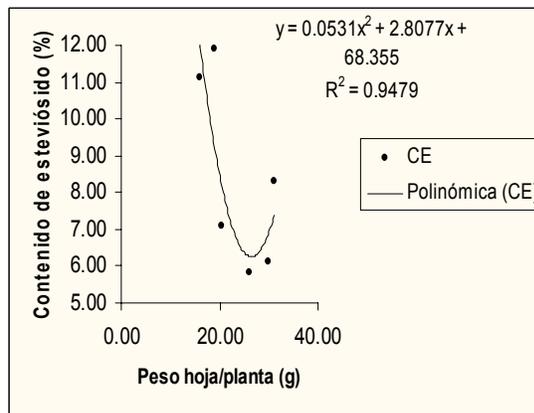
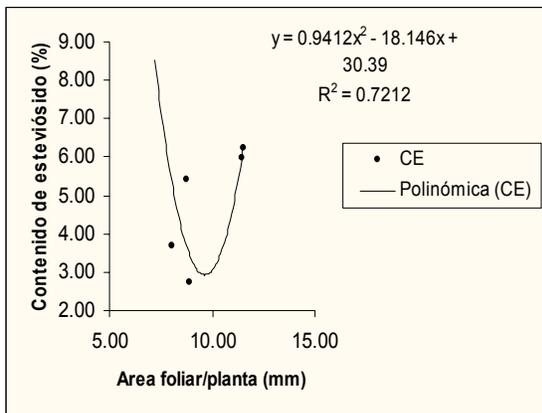
$V_{\text{mínimo}}$  : Es el valor mínimo observado de una medición individual de la media

$V_{\text{máximo}}$  : Es el valor máximo observado de una medición individual de la mediaa

**ANEXO 2. Gráficos (XY) de dispersión para las variables cuantitativas con alto coeficiente de determinación y mayor correlación con el contenido de estevósido.**

**Primera cosecha**

**Segunda cosecha**



### ANEXO 3. DATOS CLIMATICOS DE CARANAVI GESTION (2002 – 2003)

MES	T. MAX	T. MIN	T. MED	PP total mm/mes	PP media mm/mes
Julio	29.6	17.1	23.35	52	8.7
Agosto	31.7	18.2	24.95	100	25
Septiembre	30.9	18.3	24.6	146	18.25
Octubre	33.4	19.6	26.5	139.5	19.93
Noviembre	32	20.4	26.2	111	22.2
Diciembre	32.5	21.2	26.85	194	16.2
Enero	32.1	21.6	26.85	293	17.2
Febrero	31.6	21	26.3	199	14.21
Marzo	31.6	21	26.3	169	21.12
Abril	31.7	19.6	25.65	63	10.5
Mayo	30.7	19.2	24.95	19	19
Junio	31.6	17.31	24.45	0	0

T. MAX = Temperatura máxima °C.  
 T MIN = Temperatura mínima °C  
 T. MED = Temperatura media °C.  
 PP total = Precipitación total mm/mes.  
 PP MED = Precipitación media mm/mes.

#### ANEXO 4. Planilla de evaluación: Características Agronómicas.

**Evaluado por** : Milena Amparo Gutiérrez Casas  
**Muestras de** : Estevia (*Stevia rebaudiana Bert.*)  
**Cosecha** : Primera  
**Fecha de evaluación** : 24 - 10 - 02  
**Lugar** : ISTAIC Caranavi

Altura de Planta cm	Numero de ramas	Diámetro de Tallo mm		Ancho de hoja			Largo de hoja			Peso Plant/Cosch gr.	Peso Hoja/Cosch gr.	Peso Rama/Cosch gr.	PESO Plant/Seco gr
				Ap mm	Med mm	Bas mm	Ap mm	Med mm	Bas mm				
24	5	3		8	15	10	20	31	21	10	7	3	0.89
29	5	3	3	9	12	10	21	30	21	8.1	6.1	2	0.73
23	6	3		10	15	10	20	32	21	12.1	10.1	2	1.09
28	4	2		8	10	8	31	25	21	14.3	12.3	2	1.28
29	5	1.5		8	11	9	20	33	22	14.2	12.2	2	1.27
22	6	1.7	2	10	26	10	36	45	35	10.1	8.1	2	0.91
25	3	2	2	10	22	9	40	36	40	12.4	9.4	3	1.11
20	5	2		10	24	10	22	36	25	12.3	9.5	2.5	1.1
23	5	2		12	25	11	35	40	36	12.2	9.5	2.5	1.09
24	6	3		15	19	14	22	26	22	10.3	7.3	3	0.92
21	6	3		15	20	14	26	20	20	10.2	7.2	3	0.91
28	6	2		14	20	12	24	35	24	10	6.5	3.5	0.89
21	5	3		12	19	12	31	40	36	10	7.5	2.5	0.89
28	5	3		8	18	9	30	42	30	15.6	13.1	2.5	1.4
28	4	2	2	9	16	9	45	55	40	12.3	9.3	3	4.13
24	4	2	2	12	19	12	26	20	19	15.2	12.2	3	0.11
25	5	3	3	12	20	13	38	40	36	16.9	13.9	3	5.68
29	5	1.5		10	22	11	29	30	29	15.8	12.8	3	5.31
28	5	1.5	1.5	9	23	9	30	41	30	15.3	11.8	3.5	5.14
21	4	1.5		9	26	8	36	45	37	16.7	13.2	3.5	5.61
28	5	2		9	24	9	38	30	25	16.3	13.8	2.5	5.47
28	5	3		8	15	9	40	53	39	14	11.5	2.5	4.7
25	4	2		10	20	11	42	54	40	14.3	12.3	2	4.8
22	4	1.5	1.5	11	20	12	35	40	38	15.8	13.8	2	5.31
29	5	2		12	22	12	28	30	26	12	9.5	2.5	4.3
29	5	2	2	15	20	15	27	25	20	10	7.5	3	3.36
28	5	3		10	19	11	32	45	32	18	14.5	3.5	6.5
26	5	2		10	18	10	32	39	32	15.4	12.4	3	5.17
25	3	1.5		11	18	12	25	29	25	10.4	7.5	2.5	1.07
22	4	2.5		8	15	8	30	28	25	14.2	12.2	2	1.46
25	3	3		8	16	8	26	30	26	14.2	12.2	2	1.46
24	3	2		10	20	11	45	56	40	14.2	11.5	2.5	1.46
22	5	2	2	11	20	12	40	55	40	10.2	7.5	2.5	1.05
25	3	2		12	20	12	41	50	40	14.3	11.3	3	1.47
21	3	1		12	21	13	23	30	25	10.2	7.2	3	1.05
29	4	2		9	14	9	22	30	22	12.2	9.2	3	1.2
28	4	1		8	16	9	20	30	20	12.1	9.5	2.5	1.24
29	4	2		9	16	10	21	29	21	14.2	12.2	2	1.46
23	5	3		10	20	10	25	20	18	26.2	24.2	2	2.69
26	3	2		9	17	10	28	36	30	12.1	10.1	2	1.24
25	4	2		12	20	13	28	32	28	16.2	13.5	2.5	1.66
28	4	1		16	26	17	44	56	40	10.1	7.5	2.5	1.04

### ANEXO 4.1. Planilla de evaluación: Características Agronómicas.

**Evaluado por** : Milena Amparo Gutiérrez Casas  
**Muestras de** : Estevia (*Stevia rebaudiana Bert.*)  
**Cosecha** : Primera  
**Fecha de evaluación** : 24 - 10 - 02  
**Lugar** : ISTAIC Caranavi

Altura de Planta cm	Numero de ramas	Diámetro de Tallo mm		Ancho de hoja			Largo de hoja			Peso Plant/Cosch gr.	Peso Hoja/Cosch gr.	Peso Rama/Cosch gr.	PESO Plant/Seco gr
				Ap mm	Med mm	Bas mm	Ap mm	Med mm	Bas mm				
39	5	2		15	25	16	44	55	40	17.2	15.2	2	4.72
31	6	2.5	2.5	10	22	10	37	48	35	18.9	15.9	3	5.18
32	6	2.5	2	14	20	14	38	30	25	10.5	8.5	2	2.88
32	6	2		13	20	12	26	30	26	15.3	12.3	3	4.2
34	7	2.5		12	26	12	25	30	25	10.9	8.9	2	2.99
35	7	2.5	2	10	20	11	20	30	19	15.2	12.7	2.5	4.17
34	5	2	2	12	25	12	23	36	28	13.3	10.3	3	3.65
34	6	2.5	2	13	20	14	21	30	25	16.3	13.8	2.5	4.47
32	5	2	2	10	20	11	21	33	21	15.6	13.6	2	4.28
32	6	2		15	22	16	34	45	34	18.6	15.6	3	5.1
32	6	2.5		12	22	12	26	30	26	17.9	15.9	2	4.91
34	6	2.5	2.5	10	26	10	27	36	30	16.9	14.4	2.5	4.64
34	7	2.5	2	8	15	8	36	49	30	16.8	14.3	2.5	4.61
32	6	2.5	2	8	14	9	39	45	38	12	9.5	2.5	1.23
31	6	2	2	10	20	11	39	46	38	10	8	2	1.03
32	7	2		11	24	12	41	56	38	10	8	2	1.03
31	7	2		10	20	10	42	60	42	10	7	3	1.03
32	6	2		12	23	12	35	60	39	12	9	3	1.23
31	6	2		10	22	11	25	39	20	14	11	3	1.44
33	5	2.5	2.5	9	16	10	36	59	37	10	6.5	3.5	1.03
31	5	3	3	14	26	14	39	68	32	12	8.5	3.5	1.23
32	6	3		13	25	14	40	59	38	14	12	2	1.44
31	6	2.5		11	27	11	29	45	29	16	13.5	2.5	1.64
31	6	2		12	20	14	28	45	28	14	12	2	1.44
32	7	2.5	2	9	16	10	35	58	30	16	14	2	1.64
33	7	2	2	10	20	9	37	58	34	18	16	2	1.85
34	7	2.5		15	20	15	33	48	33	18	16	2	1.85
36	7	1.5		12	20	12	22	20	19	14	11.5	2.5	1.4
38	7	2	2	16	23	16	20	26	20	14	12	2	1.4
33	6			14	22	13	35	40	35	14	12	2	1.4
33.5	6	3		14	22	15	37	45	38	14	11	3	1.4
38	6	3	3	15	20	16	39	55	33	14	11	3	1.4
36	5	3	2.5	15	26	16	33	30	25	26	24	2	2.6
33	5	2.5	2	15	23	16	35	49	30	16	13	3	1.6
38	5	3		15	25	16	33	40	32	14	11.5	2.5	1.4
37	6	3		14	24	14	36	45	35	14	12	2	1.4
36	5	2.5	2.5	14	24	13	38	55	40	16	13.5	2.5	1.6
33	6	2	2.5	15	25	16	40	56	40	14	12	2	1.4
33	7	2		12	19	13	37	48	40	16	14	2	1.6
38	5	3	2.5	15	20	16	39	55	33	18	16	2	1.8
36	6	3	2.5	15	26	16	33	30	25	18	15	3	1.8

## ANEXO 4.2. Planilla de Resultados: Características Agronómicas.

**Evaluado por** : Milena Amparo Gutiérrez Casas  
**Muestras de** : Estevia (*Stevia rebaudiana Bert.*)  
**Cosecha** : Segunda  
**Fecha de evaluación** : 24 - 1 - 03  
**Lugar** : ISTAIC Caranavi

Altura de Planta cm	Numero de ramas	Diámetro de Tallo mm			Ancho de hoja			Largo de hoja			Peso Plant/Cosch gr.	Peso Hoja/Cosch gr.	Peso Rama/Cosch gr.	Peso Plant/Seco gr.
					Ap mm	Med mm	Bas mm	Ap mm	Med mm	Bas mm				
26	12	2	1	1	16	15	10	36	37	20	18.2	14.7	3.5	2.66
26	9	3	2	2	21	20	12	56	47	31	19.1	15.1	4	2.79
27	8	2	2	2	17	23	20	36	51	35	19.1	16.1	3	2.79
28	10	3	2	2	22	14	11	35	34	23	22.4	15	5.8	3.27
29	9	2	2		13	18	10	35	45	20	18.7	14.7	4	2.73
29	9	2	2	2	15	17	20	31	39	36	29	24.5	4	4.24
30	8	2	2	2	14	28	16	37	51	33	19.6	16.5	3.1	2.86
30	7	2.5	2.5	1.5	8	20	12	56	47	5	26.3	22.6	3.7	3.84
30	8	1.5	1.5	1.5	15	18	21	44	45	20	21.2	17.7	3.5	3.1
27	9	2.6	2.6	2	18	19	19	30	66	64	19.8	16.7	3.1	2.89
27	8	2	2	1	11	15	22	27	46	37	21.5	18.5	3	3.14
29	9	2.5	2	2.5	17	21	18	48	70	35	22.3	19.7	2.6	3.26
30	21	1.6	1.6	1.5	18	11	22	31	51	32	28.2	24	4.2	4.12
30	9	2	1.5	1.5	18	18	19	27	74	40	32.4	27.8	4.6	4.73
30	9	1.5	1	1.5	18	15	8	47	31	14	18.1	15.1	3	6.13
30	21	3	1.5	1.5	18	21	12	55	54	22	20.4	15.9	4.5	6.91
30	9	2	2	1	20	19	10	40	41	20	38.2	33	5.2	12.93
30	9	2	2	1	14	12	8	45	35	15	18.6	13.6	5	6.3
28	8	2	2	1.5	14	24	17	39	47	33	30.5	26.9	3.6	10.33
28	8	2	2	1.5	13	13	10	32	27	21	20.4	16.4	4	6.91
30	22	2	1.5	2	12	20	15	26	36	27	30.6	26.1	4.5	10.36
30	15	2	2	1	15	16	11	31	32	16	31.8	28.5	3.3	1.77
28	10	3	2	2	16	24	17	37	47	31	21.2	15.9	5.9	7.18
28	8	2	2	2	11	15	15	23	45	38	19.8	16.8	3	6.7
27	10	3			12	20	10	32	49	20	23.9	18.9	5	8.09
28	10	2	2	2	13	19	12	25	33	17	26.8	23.8	3	9.7
28	12	2	2	1	12	22	17	30	66	33	21.6	18.8	2.8	7.31
30	9	3	3	1.5	17	22	18	45	49	48	18.4	15.3	3.1	6.23
30	12	2.5	1		8	15	10	20	30	21	18.6	15.1	3.5	2.05
27	11	2	2	2	11	13	13	35	35	36	18.6	15.6	3	2.05
28	10	2.1	1	1	21	21	13	40	40	25	20.5	17	3.5	2.26
29	9	3	2	1	13	15	9	34	27	15	20.5	16.4	4.1	2.26
30	10	2	2	1.5	20	18	12	46	41	21	21.5	18.5	3	2.37
30	10	2	1.5	1.5	12	13	12	40	35	28	21	16.4	3.8	2.31
30	10	1.5	2	1	12	17	14	26	42	30	21	18	3	2.31
28	9	2	2	2	29	16	15	48	36	27	19.1	14.1	5	2.11
30	10	3	2.5	2	23	26	17	45	50	31	22.2	19.1	3.1	2.45
30	9	1.5	2	1.5	11	19	15	41	35	31	11.2	7.5	3.7	1.23
30	11	4	4		8	10	8	31	25	21	28.9	24.9	4	3.19
27	15	2	1	1.5	18	16	13	47	41	28	12.8	6.1	5.9	1.41
30	11	2	2.5		19	18	13	48	46	35	21.1	18.1	3.1	2.33
29	25	2	1	1.5	21	15	11	52	35	23	19.3	15.8	3.5	2.13
40	11	2.5	2	2.5	15	17	22	21	63	49	28.7	24.7	4	10.67

### ANEXO 4.3. Planilla de evaluación: Características Agronómicas.

**Evaluado por** : Milena Amparo Gutiérrez Casas  
**Muestras de** : Estevia (*Stevia rebaudiana Bert.*)  
**Cosecha** : Segunda  
**Fecha de evaluación** : 24 - 1 - 03  
**Lugar** : ISTAIC Caranavi

Altura de Planta cm	Número de ramas	Diámetro de Tallo mm			Ancho de hoja			Largo de hoja			Peso Plant/Coschgr.	Peso Hoja/Coschgr.	Peso Rama/Coschgr.	Peso Plant/Seco gr.
		Apmm	Md	Bas	Apmm	Md	Bas	Apmm	Md	Bas				
40	10	3	2	3	18	14	20	69	76	40	30.1	24.6	5.5	11.19
40	15	1.8	1.5	1.8	17	21	21	44	43	30	30.5	26.6	3.9	11.34
40	3	2.5	2	2	18	15	15	27	74	40	29.9	24	5.9	11.12
36	17	2	2	1.5	12	18	11	42	55	23	18.6	15.1	3.5	6.92
38	5	2.5	2	2	12	15	15	23	45	38	36.7	33.7	3	13.65
38	10	3.5	3		16	22	23	31	51	32	33	27.8	5.2	12.27
39	25	2	1.5	2	19	20	15	56	52	23	36.6	30.9	5.7	13.61
39	3	2.5	2	2.5	17	21	18	51	58	28	38.5	34.3	4.2	14.32
40	39	1.5	1	2	16	19	14	42	28	25	51.3	46.1	5.2	19.08
40	20	2.5	2	2	19	15	20	31	51	32	32.1	28.8	3.3	11.94
40	10	2.5	2.5	2	11	16	24	68	76	40	40.5	35.3	5.2	15.06
44	3	2.5	2	2.5	17	21	18	51	58	28	38.5	34.3	4.2	14.32
40	10	2.5	2.5	2	17	18	21	24	45	38	32.5	28.9	3.6	3.58
42	30	2.5	2	2.5	19	23	19	69	76	40	35.3	32.3	3	3.89
43	4	2	2	2	12	22	17	44	44	20	28.2	24.7	3.5	3.11
36	12	3.5	3.5	3.5	16	18	17	68	75	39	30.6	25.7	4.9	3.37
36	12	3.5	2.5	2	15	17	20	45	49	48	35.2	31.4	3.8	3.88
37	5	3.5	3		16	22	23	31	51	32	18.6	15.1	3.5	2.05
37	14	1.5	1	2	18	15	11	46	31	25	20.9	16.5	3	2.3
39	28	2	2	1.5	15	17	9	30	42	23	28.9	25.4	3.5	3.19
40	56	2	1	1	20	19	16	49	47	26	17.7	11.2	5.6	1.95
40	11	3.5	3.5	3	18	19	20	69	70	40	50.1	45.2	4.9	5.52
40	19	3	3	3	17	18	19	38	50	51	48.9	44	4.9	5.39
40	9	2.8	2.8	2	11	16	22	45	72	38	40.2	35.3	4.9	4.43
41	2	3	4		11	23	11	41	70	23	25.9	22.9	3	2.86
43	2	3	3		11	18	17	39	50	51	11.1	5.3	3.5	1.22
40	18	2.5	2.5	2.5	11	15	21	27	46	36	28.9	23.2	5.7	3.48
40	30	2.5	2.5		19	23	19	69	76	40	33	28.4	4.6	3.98
40	35	1.5	1.5	1.5	19	18	8	36	45	28	40.3	34.2	6.1	4.86
37	19	3.5	3	3	16	11	19	27	46	36	29.6	25.1	4.5	3.57
38	17	2	1.5	1	18	14	9	25	24	13	35.3	30.7	4.6	4.25
39	12	2	2	2	18	21	21	32	49	20	38.7	34.5	4.2	4.66
39	25	2	3	2	14	20	17	44	43	30	36.8	32.8	4	4.43
40	10	2	1	2	12	14	16	25	34	17	30.0	24	6	3.61
40	23	2	2	2	16	13	12	42	30	27	27.5	24.5	3	3.31
40	10	3.5	3.5	3.5	18	20	20	44	40	30	48.6	44.1	4.5	5.86
40	14	3.0	2.5	2.5	18	20	20	48	70	35	50.5	45.4	5.1	6.09
41	4	2	2	2	19	15	18	21	62	49	25.1	20.3	4.8	3.02
42	4	2	2	2	19	15	18	21	62	49	25.1	20.3	4.8	3.02
43	12	3	3	3	9	20	20	27	46	36	51.2	47.7	3.5	6.17

**ANEXO 5. Tabla de información para el computo de la ecuación de regresión para la curva patrón (Lectura de esteviósido)**

<b>X</b>	<b>Y</b>	<b><math>\Sigma X^2</math></b>	<b><math>\Sigma Y^2</math></b>	<b>XY</b>
0	0	0	0	0
0.025	0.064	0.0006	0.004	0.0016
0.05	0.069	0.0025	0.005	0.0034
0.075	0.114	0.0056	0.013	0.0085
0.1	0.171	0.01	0.029	0.0171
0.125	0.252	0.0156	0.064	0.0315
0.15	0.285	0.0225	0.081	0.0427
0.175	0.321	0.0306	0.103	0.0562
0.2	0.408	0.04	0.166	0.0816
0.225	0.412	0.0506	0.17	0.0927
0.25	0.475	0.0625	0.226	0.1062
<b>1.375</b>	<b>2.571</b>	<b>0.2405</b>	<b>0.861</b>	<b>0.4415</b>

*Ecuación de regresión:*

$$Y = a + bX$$

Donde:

- Y = Valor estimado
- a = Intercepto
- b = Coeficiente de regresión
- X = Variable independiente

*Ecuación de la curva patrón:*

$$Y = - 0.0077 + 1.93X$$

*Coeficiente de correlación:*

$$r = 0.994$$

## ANEXO 6. Planilla de Resultados: Contenido de Estevióside

**Evaluado por** : Milena Amparo Gutiérrez Casas  
**Muestras de** : Estevia (*Stevia rebaudiana Bert*).  
**Lugar de muestreo** : ISTAIC Caranavi  
**Cosecha** : Primera  
**Fecha de evaluación** : 5 - 5 - 03  
**Laboratorio** : SELADIS Área Bromatología

Método de Secado	Repetición	Contenido de Estevióside (%)
Secado a sol	I	3.51
	II	3.54
	III	4.03
	IV	3.67
	V	8.35
	VI	5.88
Secado en sombra	I	6.99
	II	10.17
	III	10.22
	IV	4.83
	V	7.83
	VI	5.98
Secado en estufa	I	3.36
	II	6.88
	III	6.06
	IV	2.13
	V	3.02
	VI	3.06

## ANEXO 7. Planilla de Resultados: Contenido de Estevióside

**Evaluado por** : Milena Amparo Gutiérrez Casas  
**Muestras de** : Estevia (*Stevia rebaudiana Bert*).  
**Lugar de muestreo** : ISTAIC Caranavi  
**Cosecha** : Segunda  
**Fecha de evaluación** : 5 - 5 - 03  
**Laboratorio** : SELADIS Área Bromatología

Método de Secado	Repetición	Contenido de Estevióside (%)
Secado a sol	I	10.92
	II	12.54
	III	9.98
	IV	5.55
	V	5.78
	VI	6.09
Secado en sombra	I	8.14
	II	12.79
	III	11.74
	IV	3.13
	V	8.68
	VI	9.06
Secado en estufa	I	6.09
	II	7.14
	III	7.03
	IV	3.79
	V	7.65
	VI	6.98

**ANEXO 8. Planilla de Resultados: Contenido de Materia Seca (%)**

**Evaluado por** : Milena Amparo Gutiérrez Casas  
**Muestras de** : Estevia (*Stevia rebaudiana Bert*).  
**Lugar de muestreo** : ISTAIC Caranavi  
**Cosecha** : Primera  
**Fecha de evaluación** : 5 - 5 - 03  
**Laboratorio** : SELADIS Área Bromatología

<b>Método de Secado</b>	<b>Repetición</b>	<b>Materia Seca %</b>
Secado a sol	I	8.93
	II	8.92
	III	8.88
	IV	10
	V	10
	VI	10
Secado en sombra	I	33.93
	II	33.89
	III	33.89
	IV	32.09
	V	32.06
	VI	32.04
Secado en estufa	I	11.73
	II	11.72
	III	11.73
	IV	11.53
	V	11.54
	VI	11.56

**ANEXO 9. Planilla de Resultados: Contenido de Materia Seca (%)**

**Evaluado por** : Milena Amparo Gutiérrez Casas  
**Muestras de** : Estevia (*Stevia rebaudiana Bert*).  
**Lugar de muestreo** : ISTAIC Caranavi  
**Cosecha** : Segunda  
**Fecha de evaluación** : 5 - 5 - 03  
**Laboratorio** : SELADIS Área Bromatología

<b>Método de Secado</b>	<b>Repetición</b>	<b>Materia Seca %</b>
Secado a sol	I	14.63
	II	14.62
	III	14.59
	IV	12.06
	V	12.05
	VI	12.05
Secado en sombra	I	43.33
	II	43.32
	III	43.31
	IV	40.25
	V	40.24
	VI	40.25
Secado en estufa	I	16.91
	II	17.13
	III	16.88
	IV	17.48
	V	17.46
	VI	17.46