

# UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA



DECANATO DE POSTGRADOS  
MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIA  
MENCIÓN DE SISTEMAS AGROINDUSTRIALES

PROYECTO DE TITULACIÓN CON COMPONENTES DE  
INVESTIGACIÓN Y/O DESARROLLO PREVIO A LA  
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE: MAGISTER EN  
AGROINDUSTRIA

## **TEMA:**

FORMULACIÓN Y ESTABILIDAD DE UN EXTRACTO SECO DE  
GUAYUSA PARA RECONSTITUIR COMO BEBIDA ANTIOXIDANTE Y  
ENERGÉTICA.

## **AUTOR**

STING BRAYAN LUNA FOX

## **TUTOR**

Dr. MATTEO RADICE, PhD.

**Puyo-Ecuador**

**2022**

---

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, Sting Brayan Luna Fox, con cédula de identidad 75698651, declaro ante las autoridades educativas de la Universidad Estatal Amazónica, que el contenido del Proyecto de titulación con componentes de investigación aplicada y/o desarrollo titulado "Formulación y estabilidad de un extracto seco de guayusa para reconstituir como bebida antioxidante y energética", es absolutamente original, auténtico y personal.

En tal virtud y según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente, certifico libremente que los criterios y opiniones que constan en el Proyecto de titulación son de exclusiva responsabilidad de la autora; y que los resultados expuestos pertenecen a la Universidad Estatal Amazónica.



Sting Brayan Luna Fox

CI. 75698651

## **EL TRIBUNAL DE EVALUACIÓN DEL TRABAJO FINAL DE TITULACIÓN**

### **CERTIFICA QUE:**

El presente trabajo “Formulación y estabilidad de un extracto seco de guayusa para reconstituir como bebida antioxidante y energética”, bajo la responsabilidad del maestrante Sting Brayan Luna Fox, ha sido meticulosamente revisado, autorizando su presentación:

#### **MIEMBROS DEL TRIBUNAL**

Dr. MANUEL LÁZARO PÉREZ QUINTANA, PhD

**PRESIDENTE DE TRIBUNAL EVALUADOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Dr. REINIER ABREU NARANJO, PhD

**MIEMBRO 1**

Dr. AMAURY PÉREZ MARTÍNEZ, PhD

**MIEMBRO 2**

---

**CERTIFICADO DE PORCENTAJE DE SIMILITUD EN EL SISTEMA  
ANTIPLAGIO**

Quien suscribe el presente Dr. Matteo Radice, PhD con CI: 1756928857, certifica que el Proyecto final de titulación con componentes de investigación aplicada y/o de desarrollo titulado: "Formulación y estabilidad de un extracto seco de guayusa para reconstituir como bebida antioxidante y energética" ha sido examinado a través del sistema Antiplagio Ouriginal y presenta un porcentaje de similitud del 5 %.

En el cantón Pastaza, a los 13 días del mes de Julio del 2022.







Dr. Matteo Radice, PhD

**DIRECTOR DEL PROYECTO DE TITULACIÓN**  
**DIRECTOR DEL PROYECTO DE TITULACIÓN**

### Document Information

Analyzed document	TESIS finalizada Sting Luna Fox 12-07-2022...pdf (D142023701)
Submitted	7/14/2022 12:56:00 AM
Submitted by	
Submitter email	sb.lunaf@uea.edu.ec
Similarity	5%
Analysis address	mradice.uea@analysis.orkund.com

### Sources included in the report

<b>SA</b>	<b>López Acuña, Proyecto final.docx</b> Document López Acuña, Proyecto final.docx (D138409855)	 4
<b>SA</b>	<b>PROYECTO DE TITULACIÓN_ López Acuña María_Original.pdf</b> Document PROYECTO DE TITULACIÓN_ López Acuña María_Original.pdf (D142014280)	 8
<b>SA</b>	<b>UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA / guyusa tesis completo (final) 03-01-2018.docx</b> Document guyusa tesis completo (final) 03-01-2018.docx (D46396736) Submitted by: mradice@uea.edu.ec Receiver: mradice.uea@analysis.orkund.com	 4
<b>SA</b>	<b>Art. Enríquez - ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y DIFERENCIACIÓN DE ACEITES ESENCIALES DE G UVIDUCA.docx</b> Document Art. Enríquez - ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y DIFERENCIACIÓN DE ACEITES ESENCIALES DE G UVIDUCA.docx (D40496256)	 2

## AVAL DEL DIRECTOR DE TRABAJO TITULACIÓN

MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIA MENCIÓN SISTEMAS AGROINDUSTRIALES	
COHORTE: III	FECHA ELABORACIÓN: 13/07/2022
<b>INFORME FINAL Y AVAL</b>	
<p>Quien suscribe, Matteo Radice, portador de la cédula de identidad número: 1756928857, en calidad de Director del trabajo de titulación denominado: "Formulación y estabilidad de un extracto seco de guayusa para reconstituir como bebida antioxidante y energética", opción Proyecto de titulación con componentes de investigación aplicada y/o desarrollo, a cargo del maestrante STING BRAYAN LUNA FOX portador del número de cédula de identidad: 75698651, certifico haber acompañado y revisado el documento entregado a mi persona, considero que cumple con los objetivos planteados, los lineamientos y orientaciones establecidas en la normativa vigente de la institución.</p> <p>Por lo antes expuesto se avala el trabajo de titulación para que sea presentado para la sustentación correspondiente.</p>	

**ELABORADO POR:**

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Matteo Radice, PhD  
**DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

## AGRADECIMIENTO

En primer lugar, a Dios por ser mi compañía en todo tiempo, por fortalecer mi corazón y alumbrar mi mente, por haber colocado en mi camino a personas que fueron mi apoyo y compañía en todo el proceso de estudio que hoy se ve expresado con la culminación de este proyecto.

A la Universidad Estatal Amazónica, por inculcarme un universo colmado de conocimientos.

Con gran amor, a mi querida madre Ines Editha Fox Pizarro y a mi padre Ubaldo Luna Zapata, quienes han sido pilares de gran importancia en mi vida.

Al Dr. Matteo Radice por brindarme su apoyo en toda la investigación desarrollada y por compartir conmigo sus conocimientos.

Al Dr. Luis Ramón Bravo Sánchez y al Dr. Yasiel Arteaga Crespo, por haberme guiado en la fase experimental de esta investigación.

A la Q.F. Andrea Tapuy, por haberme brindado su amistad y apoyo en los análisis del laboratorio de química.

Al Dr. Orestes López, por ayudarme con el proceso de Spray drying en la Universidad Técnica de Ambato.

## **DEDICATORIA**

*A mi familia.*



## RESUMEN EJECUTIVO Y PALABRAS CLAVES

La presente investigación tuvo como objetivo formular un extracto seco a partir de la decocción de las hojas de *I. guayusa*, como ingrediente principal de una potencial bebida antioxidante y energética tomando en cuenta su alto contenido en cafeína y polifenoles. Las condiciones óptimas para extraer la máxima cantidad de cafeína y polifenoles fueron: 15 g de hojas secas de guayusa en 100 mL de agua desmineralizada con 0 % de ácido cítrico llevadas a decocción por 30 min. La cuantificación de cafeína y polifenoles totales se realizó aplicando métodos espectrofotométricos obteniendo como resultados respectivamente 280-323.9 mg/L y 348.9-412.9 mg equivalentes al ácido gálico. Se aplicó la tecnología de *Spray drying* para obtener las muestras de extracto seco sobre las cuales se realizó la prueba de solubilidad obteniendo como resultado una disolución total en un tiempo menor a 30 segundos; el pH fue de 5.5 y la humedad de 3 %; estos resultados cumplieron con los rangos establecidos por la normativa del café soluble NTE INEN 1122:2000. La estabilidad a las tres semanas se realizó en recipientes de vidrio con tapa giratoria. Las muestras almacenadas a temperatura ambiente presentaron al finalizar las tres semanas una humedad superior a la requerida por la normativa mencionada anteriormente y un aspecto no conforme con el dato inicial. No obstante, las muestras de extracto seco almacenadas a 40 °C cumplieron estrictamente con los requerimientos establecidos por las normativas NTE INEN 1122:2000 y NTE INEN 1122:2013; considerándose, por lo tanto, apta para consumo luego de los 21 días. En este sentido, la presente investigación sienta las bases para futuras investigaciones relacionadas a extractos secos obtenidos a partir de extractos acuosos de la especie *I. guayusa*.

**PALABRAS CLAVES:** *Ilex guayusa*, Cafeína, Polifenoles, *Spray drying*, Estabilidad.

## ABSTRACT AND KEY WORDS

The objective of this research was to formulate a dry extract from the decoction of *I. guayusa* leaves as the main ingredient of a potential antioxidant and energy drink, taking into account its high content of caffeine and polyphenols. The optimal conditions to extract the maximum amount of caffeine and polyphenols were: 15 g of dried guayusa leaves in 100 mL of demineralized water with 0 % citric acid, decocted for 30 minutes. The quantification of caffeine and total polyphenols was carried out by applying spectrophotometric methods, obtaining as results, respectively, 280-323.9 mg/L and 348.9-412.9 mg equivalent to gallic acid. Spray drying technology was applied to obtain dry extract samples on which the solubility test was performed, resulting in total dissolution in less than 30 seconds; the pH was 5.5 and the humidity was 3 %; these results complied with the ranges established by the soluble coffee regulations NTE INEN 1122:2000. At the end of the three weeks, the samples stored at room temperature presented a higher humidity than that required by the regulations mentioned above and an aspect that does not conform to the initial data. However, the dry extract samples stored at 40 °C strictly complied with the requirements established by the NTE INEN 1122 regulations: 2000 and NTE INEN 1122:2013; considering, therefore, suitable for consumption after three weeks.

**KEYWORDS:** *Ilex guayusa*, Caffeine, Polyphenols, Spray drying, Stability

## TABLA DE CONTENIDO

<b>CAPÍTULO I</b> .....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. JUSTIFICACIÓN.....	2
1.2. PROBLEMA.....	2
1.3. HIPÓTESIS.....	2
1.4. OBJETIVOS.....	3
1.4.1. OBJETIVO GENERAL.....	3
1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>4</b>
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. METABOLITOS SECUNDARIOS DE LA GUAYUSA.....	4
2.2. ÁCIDO CÍTRICO.....	5
2.3. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO.....	6
2.4. ESTABILIDAD DE UN PRODUCTO.....	7
2.5. PRUEBAS ACELERADAS DE VIDA ÚTIL.....	7
2.6. BEBIDA ENERGIZANTE NATURAL Y SINTÉTICA.....	8
2.7. PARÁMETROS DE CALIDAD.....	9
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>11</b>
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
3.1. LOCALIZACIÓN.....	11
3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	11
3.3. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN.....	11
3.4. MATERIAL VEGETAL.....	11
3.5. DECOCCIÓN.....	12
3.6. EXTRACTO SECO DE GUAYUSA.....	12
3.7. EQUIPO SPRAY DRYING.....	14
3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	14
3.9. DETERMINACIÓN DE CAFEÍNA.....	15
3.10. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES.....	16
3.11. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.....	17

3.12.	DETERMINACIÓN DE pH .....	17
3.13.	DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD EN CALIENTE .....	17
3.14.	EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS .....	18
3.15.	ESTABILIDAD A LAS TRES SEMANAS .....	18
3.16.	RENDIMIENTO DEL EXTRACTO SECO.....	18
3.17.	RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES .....	19
<b>CAPÍTULO IV.....</b>		<b>20</b>
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
4.1.	FACTORES QUE AFECTAN LA EXTRACCIÓN DE METABOLITOS EN LAS HOJAS DE GUAYAUSA.....	20
4.1.1.	FACTORES QUE AFECTAN LA EXTRACCIÓN DE CAFEINA.....	20
4.1.2.	FACTORES QUE AFECTAN LA EXTRACCIÓN DE LOS COMPUESTOS POLIFENÓLICOS.....	32
4.2.	RENDIMIENTO DEL PROCESO DE SPRAY DRYING.....	42
4.3.	ESTUDIO DE ESTABILIDAD.....	43
4.4.	CONCLUSIONES .....	49
4.5.	RECOMENDACIONES .....	50
BILIOGRAFÍA.....		51
ANEXOS.....		58

## ÍNDICE DE TABLAS.

<b>Tabla 1:</b> Diseño experimental.....	<b>14</b>
<b>Tabla 2:</b> Combinaciones por triplicado entre los factores de estudio.....	<b>15</b>
<b>Tabla 3:</b> Recursos humanos y materiales. ....	<b>19</b>
<b>Tabla 4:</b> Valores por triplicado de cafeína en los distintos tratamientos. ....	<b>20</b>
<b>Tabla 5:</b> ANOVA para el modelo factorial seleccionado .....	<b>22</b>
<b>Tabla 6:</b> Valores por triplicado de cafeína en los distintos tratamientos. ....	<b>32</b>
<b>Tabla 7:</b> ANOVA para el modelo factorial seleccionado. ....	<b>34</b>
<b>Tabla 8:</b> Resultados del aspecto en el extracto seco de I. guayusa.....	<b>43</b>
<b>Tabla 9:</b> Resultados del color en el extracto seco de I. guayusa. ....	<b>43</b>
<b>Tabla 10:</b> Resultados del olor en el extracto seco de I. guayusa. ....	<b>44</b>
<b>Tabla 11:</b> Resultados del sabor en el extracto seco de I. guayusa. ....	<b>44</b>
<b>Tabla 12:</b> Resultados de solubilidad en el extracto seco de I. guayusa. ....	<b>45</b>

## ÍNDICE DE FIGURA

<b>Figura 1:</b> Estructura Molecular de cafeína .....	4
<b>Figura 2:</b> Etapas del proceso de decocción .....	12
<b>Figura 3:</b> Principales etapas del proceso de secado por Spray Drying. ....	13
<b>Figura 4:</b> Efecto de los factores significativos y no significativos en la extracción de cafeína sobre las hojas de I. guayusa. ....	21
<b>Figura 5:</b> Diagrama de Pareto para los t-valores de los efectos de los factores en la extracción de cafeína.....	23
<b>Figura 6:</b> Interacción del factor concentración de ácido cítrico y extracción de cafeína. ....	24
<b>Figura 7:</b> Interacción del factor tiempo y extracción de cafeína. ....	25
<b>Figura 8:</b> Interacción del factor relación sólido líquido y extracción de cafeína. ....	26
<b>Figura 9:</b> Interacción entre los resultados predichos y experimentales de la cantidad de cafeína. ....	28
<b>Figura 10:</b> Interacción de los factores tiempo y Ac. cítrico frente a la concentración de cafeína. ....	29
<b>Figura 11:</b> Interacción de los factores relación sólido-líquido y Ac. Cítrico frente a la concentración de cafeína. ....	30
<b>Figura 12:</b> Interacción de los factores relación sólido-líquido y tiempo frente a la concentración de cafeína. ....	31
<b>Figura 13:</b> Efecto de los factores significativos y no significativos en la cuantificación de polifenoles totales sobre las hojas de I. guayusa. ....	33
<b>Figura 14:</b> Diagrama de Pareto para los t-valores de los efectos de los factores en la extracción de polifenoles totales.....	35
<b>Figura 15:</b> Interacción del factor concentración de ácido cítrico y extracción de polifenoles totales. ....	36
<b>Figura 16:</b> Interacción del factor tiempo y extracción de polifenoles totales. ....	37
<b>Figura 17:</b> Interacción del factor relación sólido líquido y extracción de cafeína. ....	38
<b>Figura 18:</b> Interacción entre los resultados predichos y experimentales de la cantidad de polifenoles totales. ....	39
<b>Figura 19:</b> Interacción de los factores Ac. cítrico y tiempo en la concentración de polifenoles totales. ....	40
<b>Figura 20:</b> Interacción de los factores relación sólido-líquido Ac. cítrico y en la concentración de polifenoles totales. ....	41
<b>Figura 21:</b> Interacción de los factores tiempo y relación sólido-líquido frente a la concentración de polifenoles totales. ....	42
<b>Figura 22:</b> Resultados del pH en el extracto seco de I. guayusa. ....	46
<b>Figura 23:</b> Resultados de humedad en el extracto seco de I. guayusa.....	47

# CAPÍTULO I

## 1. INTRODUCCIÓN

La Amazonía es un área geográfica con una inmensa diversidad biológica que constituye un pilar esencial para mantener el equilibrio climático y la biodiversidad. Al poseer una enorme cantidad de plantas se ha convertido en una fuente de interés de investigación para el desarrollo de nuevas materias primas con uso en el mercado alimentario, cosmético y farmacéutico (Radice et al., 2017).

*Ilex guayusa* Loes, comúnmente llamada guayusa, es un arbusto oriundo de las regiones amazónicas de Colombia, Ecuador, Bolivia y Perú (Crespo et al., 2020). En Ecuador esta planta se produce entre 0 a 1500 m.s.n.m, principalmente en las provincias de Sucumbíos, Pastaza, Morona Santiago, Napo y Zamora Chinchipe. Los diferentes pueblos indígenas, usan sus hojas para preparar infusiones y fomentar la convivencia entre familia .

La guayusa es una de las plantas que, debido a sus propiedades energizantes y antioxidantes, ha despertado gran interés en el mundo; polifenoles, cafeína y teobromina son los principales compuestos que se encuentran en la hojas de esta planta. La Fundación Chankuap, (2014) y Pro-Ecuador, (2016), indican que esta planta contiene todos los aminoácidos esenciales, así mismo, la actividad antioxidante de esta es superior en comparación con el té verde.

En este sentido, la finalidad de la presente investigación fue formular un extracto seco de *Ilex guayusa* como ingrediente principal de una potencial bebida antioxidante y energizante, considerando que por su alto contenido de cafeína y polifenoles representa un ingrediente importante en la elaboración de alimentos funcionales.

## **1.1. JUSTIFICACIÓN**

La guayusa es una planta muy difundida en países como Ecuador, Perú y Colombia, y desde hace mucho tiempo hasta la actualidad se han aprovechado sus hojas para elaborar infusiones y decocciones. A esta planta se le atribuyen varias propiedades medicinales tales como estimulante del sistema nervioso y muscular, regulador de los niveles de glucosa, expectorante y digestivo (Villacís-Chiriboga, 2017).

Esta planta es rica en compuestos polifenólicos y cafeína, los cuales han sido ampliamente abarcados en investigaciones; estos principios activos han sido utilizados en la fabricación de alimentos funcionales, cosméticos y fármacos (Arteaga-Crespo et al., 2020). La justificación de la presente investigación se basa en la obtención de un producto elaborado a partir de guayusa que contenga todas las bondades que esta planta posee y que, al ser un extracto concentrado en estado sólido, garantice una mayor facilidad en su comercialización y una mayor estabilidad en el tiempo; al obtener el extracto seco de guayusa se estarían sentando las bases para futuros emprendimientos locales permitiendo de esta forma la industrialización y el trabajo comunitario con los productores de guayusa.

La guayusa, representa una gran oportunidad para el crecimiento económico local en muchos lugares de la región amazónica de Ecuador, asimismo permite la aplicación de nuevas prácticas agroindustriales que sean innovadoras y sostenibles como se evidencian en los criterios y principios del biocomercio (Wise & E. Santander, 2018b).

## **1.2. PROBLEMA**

¿Cómo influyen los parámetros de extracción: Concentración de ácido cítrico, tiempo y relación sólido líquido, en la estabilidad de un extracto seco de *I. guayusa* obtenido por *spray drying*?

## **1.3. HIPÓTESIS**

Una formulación en estado sólido a partir del extracto acuoso de guayusa aplicando los factores: Concentración de ácido cítrico, tiempo y relación sólido líquido, garantizará características de calidad y una estabilidad aceptable a las tres semanas al sólido pulverulento.



## **1.4. OBJETIVOS**

### **1.4.1. OBJETIVO GENERAL**

-Formular un extracto seco de guayusa como ingrediente principal de una potencial bebida antioxidante y energizante, estable y de calidad.

### **1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

-Desarrollar la formulación de un extracto seco a partir de la decocción acuosa de hojas de guayusa mediante la tecnología *spray drying*.

- Identificar los parámetros de calidad del producto final.

-Determinar la estabilidad a las 3 semanas y las condiciones del almacenamiento del producto final.

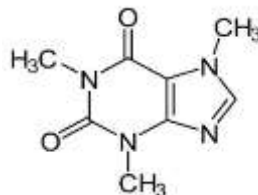
## CAPÍTULO II

### 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1. METABOLITOS SECUNDARIOS DE LA GUAYUSA

La planta cuyo nombre científico es *Ilex guayusa* Loes, es un arbusto aromático oriundo de la Amazonía ecuatoriana, que posee en sus hojas una elevada concentración de cafeína en comparación con otras plantas como la hierba mate. Las hojas de este arbusto poseen propiedades estimulantes y medicinales, y han sido utilizadas desde tiempos remotos por la tribu de los jíbaros para fines curativos tales como: antidiabético, dolor de riñones, fiebre, problemas digestivos, entre otros (Wise & E. Santander, 2018a). Por otro lado Cuasapud & Barrera, (2020) definen a la guayusa como una planta autóctona del noroeste de la amazonia donde diferentes culturas indígenas usan sus hojas para realizar rituales, aromatizar y brindar sabor distinto a las bebidas embriagantes oriundas de cada cultura.

La cafeína es uno de los metabolitos secundarios presentes en las hojas de guayusa, es un alcaloide que se encuentra dentro del grupo de las xantinas, su forma es sólida cristalina, color blanco y sabor amargo, que interactúa como un estimulante (Schuster & Mitchell, 2019a). Esta molécula puede estar presente en diferentes cantidades en algunos frutos, semillas y hojas de ciertos arbustos. El consumo de la cafeína por parte del ser humano es especialmente en infusiones obtenidas del café y hojas del té, de igual forma en muchas bebidas y alimentos que poseen productos procedentes de la nuez cola. Para muchos, la cafeína es un estimulador del sistema nervioso central que origina un efecto temporal en el nivel de alerta y elimina la somnolencia. La fórmula química de la cafeína es  $C_8H_{10}N_4O_2$  (Bega et al., 2021). En la figura 1 se muestra la estructura molecular de la cafeína:



**Figura 1:** Estructura Molecular de cafeína

Por otro lado, la guayusa también posee compuestos fenólicos, los cuales hacen más importante a esta planta. Una investigación realizada por Villacís-Chiriboga (2017) indica la presencia de 14 compuestos fenólicos, de estos nueve pertenecen a ácidos hidroxicinámicos cuyo representante principal es el ácido clorogénico, así los restantes cinco compuestos fenólicos pertenecen a flavonoides donde el más representativo es la quercetina-3-O-hexosa. Los compuestos fenólicos son de gran importancia debido a los efectos beneficiosos para la salud (Surco-Laos et al., 2020); por otro lado Cuasapud & Barrera, (2020) mencionan que, por la gran cantidad de carotenoides y compuestos fenólicos esta planta es una excelente oportunidad para estudiar sus propiedades terapéuticas que se relacionan con la prevención de diversas patologías.

Wise & Negrin, (2019) mencionan que, cuando las hojas de guayusa poseen un contenido de humedad de  $5.4 \pm 0.7\text{g}/100\text{g}$  según el análisis de composición proximal, están lo suficientemente secas para reducir el riesgo de contaminación microbiana posterior a la fabricación. La guayusa está predominantemente constituida por carbohidratos ( $64,1 \pm 1,5\text{ g}/100\text{ g}$ ), siendo su principal componente fibra cruda ( $37,0 \pm 1,7\text{ g}/100\text{ g}$ ), y con bajos valores de energía, sal, grasa y azúcar. La guayusa tiene una composición proximal y nutricional casi similar a la del té, con la excepción de un contenido de fibra que es aproximadamente el doble.

## **2.2. ÁCIDO CÍTRICO**

Es un acidulante utilizado ampliamente en la industria alimentaria como aditivo cuyas funciones son antioxidante natural y acidificante; es amigable con el ambiente, su sabor es ácido agradable y a temperatura ambiente es soluble en etanol, éter y agua. Se encuentra presente en frutos cítricos como el limón (Yaillet et al., 2018).

La aplicación de este acidulante en la formulación de un nuevo alimento ayuda a uniformizar y a realzar el efecto de los componentes saborizantes que puedan estar incluidos en el producto, algunos componentes usados en nuevas formulaciones de productos, provocan un sabor poco agradable en la boca de quienes lo consumen, sin embargo, el ácido cítrico enmascara estos sabores sustituyéndolos por otros que dan una sensación de gusto ácido agradable (Quispe et al., 2021). Este producto posee un gran auge en la demanda internacional y se puede producir a

partir de distintos sustratos como almidón, melaza, glucosa, suero de leche, sacarosa, entre otros (Pingus et al., 2021).

### **2.3. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO.**

Los extractos líquidos, se pueden obtener mediante la técnica de decocción, donde se aplica una extracción discontinua al material vegetal que es sumergido en agua hirviendo por un tiempo determinado. Este método se aplica principalmente a sólidos de origen vegetal con el fin de conseguir un extracto rico en principios activos oriundos de la planta analizada (Guevara, 2018).

Según Leiram et al., (2021); la decocción es aplicada en aquellas plantas cuyos principios activos no son fáciles de extraer. Este método se fundamenta básicamente en hacer hervir la planta o algunas partes de la planta en agua por un tiempo definido, y posterior a ello de deja macerar para después filtrarlo.

Una investigación realizada por Martínez et al., (2021); indica que la decocción es utilizada para preparar tisanas de aquellas partes duras de una planta, tales como cortezas, semillas y raíces, las cuales necesitan de una ebullición para poder liberar sus principios activos, no obstante, una de las desventajas que esta técnica presenta, es que, debido a la acción del calor algunos principios activos pueden desintegrarse.

La técnica de decocción, da como resultado un extracto acuoso, el cual son productos que se pueden obtener de manera directa de las hojas, frutas, semillas, raíces o de cualquier otra parte de una planta haciendo uso agua como solvente (Antonio-Irineo et al., 2021). Alarcón et al., (2019) menciona que los extractos son preparaciones que pueden tener consistencia sólida, líquida o intermedia, las cuales pueden ser obtenidas por agotamiento en caliente o también en frío de alimentos vegetales o animales, donde se pueden usar disolventes los mismos que después pueden ser eliminados o no. Estos extractos, se pueden lograr por maceración, percolación o decocción.

En la planta de guayusa, se usa principalmente sus hojas para obtener un extracto acuoso, el cual es rico en compuestos polifenólicos y cafeína que son principios activos con efectos positivos en la salud de quienes lo consumen.

Por otro lado, existen tecnologías que pueden convertir un extracto acuoso en un material seco particulado, tal es el caso de la técnica de *Spray drying*; la cual consiste en convertir una solución o dispersión líquida en polvo. Se basa principalmente en disminuir en el menor tiempo el contenido de agua presente en un producto con el fin de evitar el deterioro (Cardona et al., 2021). El producto que se consigue es un material particulado el cual ha sido obtenido mediante un atomizador, y de manera simultánea se pone en contacto con corrientes de aire caliente, así las partículas sólidas caen por acción de la gravedad y son secadas en el recorrido en la cámara de secado para luego llegar al ciclón donde se origina la separación del producto con el aire saturado húmedo (Aragüez et al., 2020).

## **2.4. ESTABILIDAD DE UN PRODUCTO**

Es la capacidad que tiene un producto para poder conservar sus propiedades organolépticas y nutritivas en un determinado periodo de tiempo (Vázquez-Carrillo et al., 2018). David et al., (2019); define al estudio de estabilidad, como aquel conjunto de ensayos y experimentos que ayudan a predecir o estimar el tiempo de vida útil de un producto y a establecer las condiciones óptimas de almacenamiento.

Según Castañón-Rodríguez et al., (2020); los estudios o pruebas de estabilidad que se realizan en un producto sirven para conseguir información acerca de las condiciones de procesamiento y almacenamiento de los productos elaborados y materias primas, así mismo, estos estudios se realizan para estimar el tiempo de vida útil de un alimento que se quiera expender en el mercado.

Por otro lado, López et al., (2019); menciona que la estabilidad de un producto implica calidad, la misma que se halla determinada por el material del envase, el cual es el que mantiene en condiciones aceptables las características toxicológicas, químicas y microbiológicas que el producto fabricado tenía inicialmente.

## **2.5. PRUEBAS ACELERADAS DE VIDA ÚTIL**

Consiste en someter el alimento a ambientes de almacenamiento que aceleran las diferentes reacciones de deterioro, las cuales pueden ser contenido de humedad, temperatura, presión, entre otros (Puma-Isuiza et al., 2018).

Los estudios sobre la vida útil de los alimentos son cruciales para el sector alimentario y se utilizan tanto para la introducción de un nuevo producto como para la evaluación de los efectos del proceso de fabricación o las modificaciones de la formulación sobre la seguridad a largo plazo de un producto que ya se encuentra en el mercado (Abraham-Juárez, 2018). Factores como los métodos de saneamiento y conservación a los que se exponen los alimentos, el empaque y las condiciones de almacenamiento (incluidas la temperatura y la humedad) contribuyen a la eventual vida útil del producto (Paternina-Sierra et al., 2018). Existe una gran necesidad en la industria alimentaria, de obtener en periodos cortos información imprescindible que ayude a estimar la vida en anaquel de los productos. La premisa fundamental de las pruebas aceleradas es que, variando las condiciones de almacenamiento, se puede acelerar los distintos procesos físicos o químicos que llevan al deterioro a los productos (Camayo-Lapa et al., 2020).

## **2.6. BEBIDA ENERGIZANTE NATURAL Y SINTÉTICA**

Según Romero & Parra, (2019), las bebidas energizantes, son aquellas que se caracterizan por poseer cantidades determinadas de cafeína lo cual las diferencia de los otros tipos de bebidas, la presencia de este alcaloide es lo que produce efectos estimulantes como el aumento cognitivo y físico de quienes lo consumen, por otro lado, Malleapaza & Ramirez, (2020), definen las bebidas energizantes como aquellas sustancias analcohólicas, que tienen como fin incrementar las horas de sueño y potencializar la resistencia física; no obstante, el consumo exagerado de este tipo de bebidas está asociado con comportamientos negativos, equivalentes a los producidos por el consumo del alcohol, tabaco y marihuana.

El consumo de bebidas energizantes, en los últimos años se ha incrementado de manera significativa, esto es debido a que, las empresas dedicadas a la producción de este tipo de bebidas aseveran que su consumo brinda energía de manera inmediata, además reducen la fatiga y el cansancio, lo cual ha generado un aumento rápido de clientes adolescentes y adultos jóvenes (Madrid et al., 2019).

De manera general, las bebidas energizantes son vendidas por los efectos estimulantes que producen en el consumidor, en este sentido, la población universitaria acude a la ingesta de este tipo de bebidas con el propósito amenorar el agotamiento mental y físico, obtener energía rápida y reducir el estrés académico, no obstante, muchos de estos consumidores desconocen los efectos secundarios provocados (Ramirez et al., 2020). El consumo exagerado de bebidas

energizantes sintéticas, pueden traer una serie de problemas para la salud, según Ramirez et al., (2021), los efectos secundarios provocados son presencia de insomnio, taquicardia, diabetes debido a las elevadas concentraciones de azúcares tales como glucosa y fructuosa, incremento de la presión arterial, así mismo, puede producir dolor abdominal, náuseas y vómito, y en casos extremos puede generar convulsiones. Por otro lado, Romero & Parra, (2019); mencionan que el consumo desmedido de bebidas energizantes sintéticas pueden ocasionar daños en el ritmo cardíaco, incrementan la adrenalina, aparición de gastritis, deshidratación y alteraciones en los riñones y nervios.

Con el objetivo de reducir la mala fama sobre los efectos negativos de las bebidas energizantes sintéticas en la salud, las empresas productoras de este tipo de bebidas han desarrollado nuevos productos de bebidas con un enfoque más natural, ofreciendo a sus clientes una bebida energizante sin colorantes, preservantes, azúcares ni aditivos sintéticos (Mendoza et al., 2021).

## **2.7. PARÁMETROS DE CALIDAD**

Dentro de los parámetros que definen la calidad de un producto se encuentran las características organolépticas las cuales son definidas como un conjunto de descripciones de las propiedades físicas que tienen los alimentos, dentro de estas características está el color, olor, textura y sabor; todas estas propiedades producen al ingerir un alimento una sensación agradable o desagradable (Sosa et al., 2017).

Para valorar las características organolépticas se realiza una evaluación sensorial, la cual es una disciplina científica que se utiliza para poder medir, interpretar y analizar las diferentes reacciones relacionadas a las características de los alimentos que pueden ser percibidas por los sentidos del hombre (Severiano, 2019).

El gusto, olfato, tacto y la vista, son los sentidos clásicos que se usan para evaluar las propiedades organolépticas de los productos. Actualmente, son varios los criterios que la bibliografía reporta respecto a la importancia que posee cada una de las características sensoriales sobre la aprobación y calidad de un nuevo producto, por ello, se debe poner en consideración que la evaluación sensorial está proporcionada por la combinación de cada uno de los atributos organolépticos de un producto, por ello no se debe absolutizar que una característica en específico puede definir la calidad de un alimento (Cruz-Bacab et al., 2018).

Así mismo, la humedad contenida en los alimentos es otro de los parámetros importantes que influyen de manera directa en la calidad de nuevos productos alimenticios. El contenido de humedad que se encuentra en un alimento representa un índice de estabilidad; este parámetro es un elemento importante en la conservación, calidad, comercialización y formulación de nuevos productos (Acevedo-Correa et al., 2018). Por otro lado, Covarrubias et al., (2020), menciona que el contenido de humedad que se encuentra presente en los alimentos tiene gran importancia económica en la industria alimentaria. El agua en los alimentos está presente de dos formas, agua enlazada y agua libre, la primera está conformada por moléculas unidas químicamente o mediante puentes de hidrógeno a grupos polares, sin embargo, el agua libre no se encuentra fusionada físicamente a la matriz de los alimentos, se puede congelar y ser retirada fácilmente mediante el secado o evaporación (López & Gil, 2020). Determinar el contenido de humedad en un alimento constituye uno de los análisis más importantes, no obstante, obtener valores precisos y exactos puede ser difícil. Los sólidos totales, es la materia seca que permanece en los alimentos después que el agua ha sido retirada.

La cinética de sorción se puede utilizar para evaluar la higroscopicidad y la susceptibilidad a la pérdida de humedad en alimentos secos. Cuando el contenido de humedad de un alimento cae por debajo de su valor crítico, el producto pierde masa, se endurece y es más susceptible a la oxidación; cuando el contenido de humedad supera su valor límite, las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del producto pueden cambiar, lo que afecta la calidad y seguridad del producto (Guzmán-Hincapié et al., 2018).



## **CAPÍTULO III**

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. LOCALIZACIÓN**

El presente proyecto de investigación se realizó en la Universidad Estatal Amazónica (UEA) ubicada en el km 2 ½ vía al Tena, provincia Pastaza con una altitud de 940 m.s.n.m., latitud de 00 59' -1" y longitud de 77O 49' 0" W. Además, se contó con el apoyo del laboratorio de investigación de la Facultad de Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato, ubicada en el Campus Huachi en la avenida los Chasquis y Río Payamino ciudad de Ambato, Tungurahua, Ecuador; donde se llevó a cabo el proceso de *Spray drying*.

#### **3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

El presente proyecto es una investigación de tipo aplicada la cual se fundamentó en la experimentación. Se utilizaron como fuentes de información artículos científicos, libros e investigaciones de instituciones públicas relacionadas al tema, esto permitió obtener información sobre los distintos procesos y métodos que se utilizaron para la extracción de la cafeína y polifenoles de las hojas de guayusa.

#### **3.3. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN**

Se emplearon métodos cuantitativos que permitieron medir la cantidad de cafeína y polifenoles totales. Se aplicó la técnica de *spray drying* para obtener los extractos secos de las hojas de guayusa.

#### **3.4. MATERIAL VEGETAL**

Las hojas de guayusa fueron adquiridas secas en la fundación Chankuap ubicada en el barrio Simón Bolívar de la ciudad de Macas-Ecuador, empacadas en sobres de 1 kg.

### 3.5. DECOCCIÓN

Se realizó la decocción a partir de las hojas de guayusa adquiridas en la fundación Chankuap donde se controló el tiempo de decocción y temperatura de ebullición. A continuación, se muestra la figura 2 con las etapas de la decocción según lo describe Leiram et al., (2021).



**Figura 2:** Etapas del proceso de decocción

#### **Descripción del proceso de decocción:**

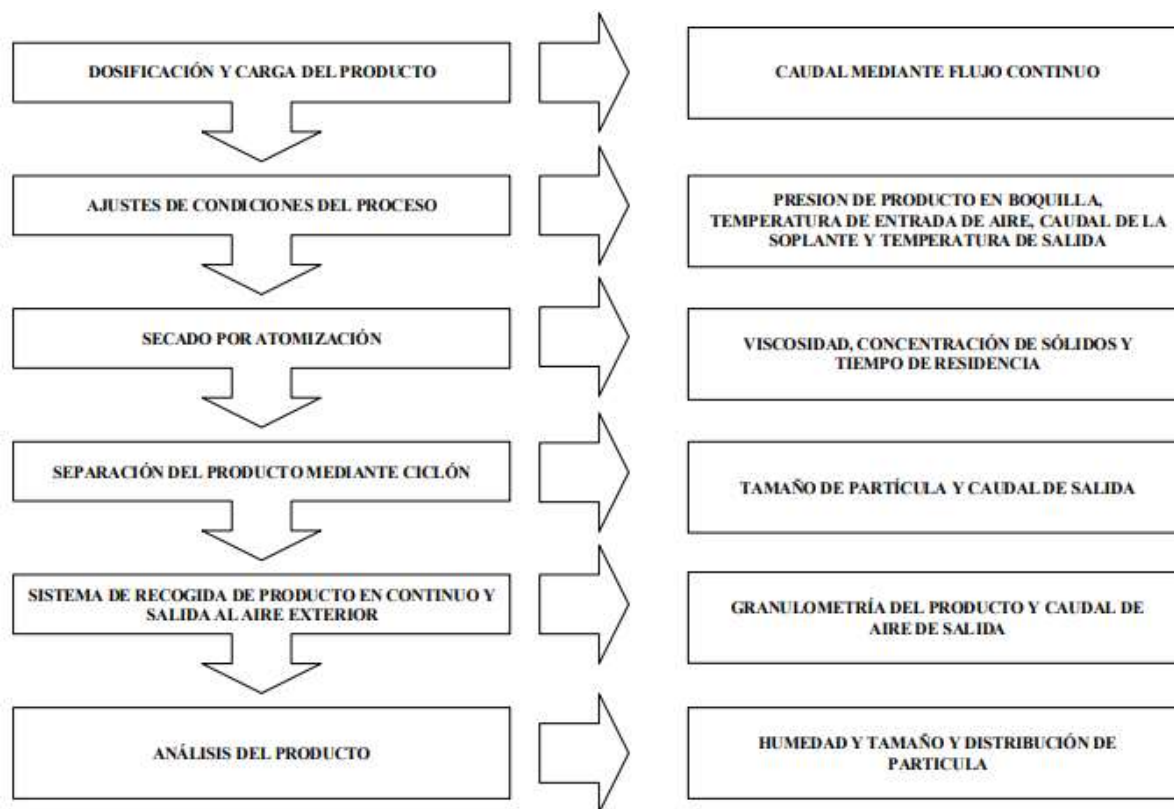
**Colocar la muestra en agua:** Las hojas de guayusa previamente pesadas según el diseño experimental, se colocaron en un balón aforado de 500 ml y se le adicionó 100 ml agua destilada para luego llevar a reflujo.

**Ebullición:** El balón con las hojas de guayusa en agua, fue colocado en un equipo de reflujo y se esperó que empiece a ebullición para controlar el tiempo según el diseño experimental planteado.

**Filtrado:** El extracto obtenido en el balón de vidrio, se filtró con la ayuda de una bomba al vacío.

### 3.6. EXTRACTO SECO DE GUAYUSA

El extracto seco de guayusa se obtuvo mediante la aplicación de la tecnología *spray drying*, donde las cantidades se expresaron en gramos. Posteriormente, se muestra la figura 3 con las principales etapas en el proceso de *Spray drying*.



**Figura 3:** Principales etapas del proceso de secado por *Spray Drying*.

Fuente: (Justus et al., 2020)

#### **Descripción del proceso Spray drying:**

El extracto en forma líquida se almacenó en el tanque de alimentación y se filtró antes de ser bombeado a través de los distintos tubos y accesorios en su camino hacia el atomizador. La cámara y el quemador del horno proporcionaron el calor necesario para secar la corriente de aire. El ventilador aspira el aire caliente hacia el dispersor y circula alrededor del disco del atomizador, arrastrando consigo el líquido de pulverización. El tamaño de este último hace que el secado sea prácticamente instantáneo cuando choca con el aire caliente. Debido a la naturaleza sólida del producto, parte del mismo caerá en forma de polvo dentro de la cámara de secado, y será aspirado por el ventilador y enviado por la tubería de conexión al ciclón, donde será removido. Finalmente, producto es un material seco particulado. Este último se envasa después de salir por una válvula rotativa.

### 3.7. EQUIPO SPRAY DRYING

Se usó un equipo con atomizador giratorio SL24-50/M02/B a flujo paralelo con velocidad de disco giratorio de 23000 rpm, flujo seco de aire de 80 kg/h y se utilizó agua desmineralizada a temperatura ambiente para el encendido y apagado del secador. Las condiciones para el secado por *spray drying* fueron las siguientes: La temperatura de entrada del aire será de 140 °C, la corriente de aire de atomización 600 litros por hora y el aspirador al 100 %.

### 3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL

La primera fase de la investigación enmarcó el diseño experimental aplicado a las muestras de decocción, donde se evaluó la concentración de cafeína y compuestos polifenólicos totales a través de un método espectrofotométrico, para ello se planteó un diseño experimental con tres factores y dos respuestas experimentales utilizando el software Design Expert. Seguidamente se muestra la tabla 1 con el diseño factorial  $2^3$  con punto intermedio.

**Tabla 1:** Diseño experimental.

Factor A: Concentración de ácido cítrico.	Factor B:Tiempo.	Factor C: Relación sólido líquido.
<b>A0:</b> 0 %	<b>B0:</b> 15 min	<b>C0:</b> 5 g de droga vegetal/ 100 ml de agua
<b>A1:</b> 0.15 %	<b>B1:</b> 22.5 min	<b>C1:</b> 10 g de droga vegetal/ 100 ml de agua
<b>A2:</b> 0.3 %	<b>B2:</b> 30 min	<b>C2:</b> 15 g de droga vegetal/ 100 ml de agua

Fuente: Elaboración propia

Seguidamente se muestra la tabla 2 con las combinaciones realizadas por el software Design Expert de los tres factores de estudio, concentración de ácido cítrico, tiempo y relación sólido líquido.

**Tabla 2:** Combinaciones entre los factores de estudio.

Exp	A	B	C
	Ac. cítrico (%)	Tiempo (min)	S-L (g/ml)
1	0	22.5	15/100
2	0.15	15	15/100
3	0.15	30	5/100
4	0	15	10/100
5	0.15	22.5	10/100
6	0.15	15	5/100
7	0	22.5	5/100
8	0.3	15	10/100
9	0.3	22.5	15/100
10	0.15	22.5	10/100
11	0.15	22.5	10/100
12	0.15	22.5	10/100
13	0.15	22.5	10/100
14	0.3	22.5	5/100
15	0.3	30	10/100
16	0.15	30	15/100
17	0	30	10/100

### 3.9. DETERMINACIÓN DE CAFEÍNA

Se pesaron, de acuerdo con el diseño experimental 5 g, 10 g y 15 g de muestra de hoja seca de *I. guayusa* y se colocaron en un balón aforado de 500 ml, seguidamente se agregaron 100 ml de agua destilada dejando en reflujo respectivamente por 15 min, 22.5 min y 30 min, dependiendo del diseño experimental. Luego se filtró en caliente y se dejó enfriar para después alcalinizar con NaOH 0.1 M (20 gotas), después se extrajo la cafeína con dos porciones de cloroformo de 15 ml cada una. Finalmente, se reunieron los extractos clorofórmicos y se evaporó hasta la sequedad en baño María; se disolvió la cafeína añadiendo 50 ml de agua destilada caliente (60°C-90°C), se enfrió, se colocó a un matraz aforado de 100 ml y se enrasó con agua destilada; de la disolución anterior, se tomaron 5 ml hacia un matraz aforado de 25 ml, se agregó 1 ml de HCl 0.01 M y se enrasó con agua destilada. Finalmente, la absorbancia de la muestra fue leída a una longitud de onda de 275 nm y se calculó la concentración de cafeína expresada en mg/L en la muestra por el método del patrón externo descrito por Álvarez & Luna, (2020) a partir de la siguiente ecuación:

$$\frac{C_m}{A_m} = \frac{C_p}{A_p} \quad (1)$$

Donde:

$C_m$ : Concentración de la muestra (que contiene la cafeína)

$A_m$ : Absorbancia de la muestra

$C_p$ : Concentración del patrón

$A_p$ : Absorbancia del patrón

### **3.10. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES**

Se pesaron, de acuerdo con el diseño experimental 5 g, 10 g y 15 g de muestra de hoja seca de I. guayusa y se colocaron en un balón aforado de 500 ml, seguidamente se agregaron 100 ml de agua destilada dejando en reflujo respectivamente por 15 min, 22.5 min y 30 min. Luego se filtró en caliente y se tomó 1 ml del extracto en un matraz aforado de 10 ml y se agregó 0.5 ml del reactivo Folin-Ciocalteu diluido a la mitad con agua destilada y se dejó en reposo por 5 min, posteriormente se adicionó 0.5 ml de carbonato de sodio al 20 % y se enrasó con agua destilada, se agitó, se cubrió de la luz por 30 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, la absorbancia se midió a 765 nm en el espectrofotómetro (Álvarez & Luna, 2020).

El contenido total de polifenoles se determinó utilizando una curva de calibración del ácido gálico y se expresó en gramos de equivalentes de ácido gálico, para ello se empleó la siguiente ecuación:

$$A = 0.0734C - 0.0028 \quad (2)$$

Donde:

**A**: Absorbancia de la muestra

**C**: Concentración de la muestra

### **3.11. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD**

Se llevó a cabo mediante el secado en estufa descrito por Ortiz López et al., (2019) donde se determinó la pérdida de peso de la muestra después de ser sometida a calentamiento a una temperatura de 105 °C por 2 h . La determinación de humedad se realizó por triplicado y se expresó en porcentaje mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de humedad} = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100 \quad (3)$$

Donde:

Pi: Peso inicial en gramos

Pf: Peso final en gramos

### **3.12. DETERMINACIÓN DE pH**

El pH indica qué tan alcalina o ácida es una disolución y se usa para cuantificar la disponibilidad de iones de hidrógeno en una sustancia (Rakić & Poklar, 2021). Los valores de pH varían de 0 a 14 en la escala numérica estándar utilizada para describirlos, las sustancias cercanas a cero son las más ácidas, mientras que las cercanas a 14 son las más alcalinas o básicas (Archbold Taylor et al., 2019).

En la presente investigación se utilizó el procedimiento descrito por Álvarez & Luna, (2020). Se pesó por triplicado un gramo de muestra y se disolvió en 15 ml de agua desmineralizada para luego medir el pH con la ayuda de un pH-metro.

### **3.13. DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD EN CALIENTE**

La solubilidad se define como la capacidad de una sustancia (soluto) para disolverse en otra denominada solvente, es decir, representa la mayor cantidad de soluto que puede ser absorbida por el solvente bajo ciertas condiciones (Cardona et al., 2019).

Para el desarrollo del presente estudio, se pesaron por triplicado 0.5 g de muestra en un vaso de precipitación de 30 ml y se disolverán en 10 ml de agua desmineralizada acabada de hervir. Se agitó moderadamente durante 30 segundos y se controló visualmente la presencia de sólidos no disueltos (Ramirez-Tixe, 2021).

### **3.14. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS**

Las características organolépticas son aquellas que se pueden experimentar directamente a través de los sentidos sin el uso de herramientas o equipos de medición (Sirgo et al., 2020).

En este estudio, se pesó por triplicado 0.5 g de muestra en un vaso de precipitación de 30 ml y se disolvió en 15 ml de agua desmineralizada acabada de hervir, seguidamente se evaluó el olor, sabor y color.

### **3.15. ESTABILIDAD A LAS TRES SEMANAS**

Se almacenó las muestras de extracto seco en recipientes de vidrio con tapa giratoria, las cuales fueron expuestas a dos condiciones de temperatura, 40 °C y temperatura ambiente, luego se evaluó el color, olor, sabor, aspecto, solubilidad, pH y humedad a los 7, 14 y 21 días con el fin de verificar la aceptabilidad del producto en base a los requisitos propuestos por las normativas del café soluble NTE INEN 1122:2000 y NTE INEN 1122:2013.

### **3.16. RENDIMIENTO DEL EXTRACTO SECO**

Para el cálculo del rendimiento del extracto seco obtenido por *Spray drying* se empleó la siguiente ecuación:

$$\%R = \frac{m}{M} * 100 \quad (4)$$

donde:

R: rendimiento expresado en porcentaje.

m: masa en gramos del extracto seco obtenido.

M: masa en gramos del extracto acuoso llevada a *Spray drying*.



### 3.17. RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES

Seguidamente se presenta la tabla 3 con los equipos, materiales y reactivos utilizados en el presente estudio.

**Tabla 3:** Recursos humanos y materiales.

EQUIPOS E INSTRUMENTOS	MATERIALES	REACTIVOS Y DISOLVENTES	RECURSOS HUMANOS	ACTIVIDAD
Espectrofotómetro UV-Vis.	-Soporte universal	-Reactivo Folin Ciocalteu	Dr. Matteo Radice	Tutor de tesis.
-Balanza analítica	-Pinzas de metal	-Cloroformo	Dr. Yasiel Arteaga	Procesamiento estadístico.
-Mufla	-Vasos de precipitación	-ácido clorhídrico 0.01M	Dr. Orestes López	Proceso de <i>Spray drying</i> .
-Planchas calentamiento	de -Matraz Erlenmeyer	de -Hidróxido sodio 1M	de Q.F. Andrea Tapuy	Análisis físico-químicos.
-Campana extracción	de -Papel filtro		Dr. Luis Bravo	Estudio de estabilidad.
-pHmetro	-Embudos separadores		Ing. Sting Luna	Elaboración del documento final de tesis.
-Bomba al vacío	-Pipetas graduadas			
	-Celdas de cuarzo y vidrio para lectura			
	Equipo de reflujo			
	Pipetas graduadas			

Fuente: Elaboración propia.

## CAPÍTULO IV.

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. FACTORES QUE AFECTAN LA EXTRACCIÓN DE METABOLITOS EN LAS HOJAS DE GUAYAUSA

Los factores que afectan la extracción de cafeína y compuestos polifenólicos en las hojas de *I. guayusa* son: ácido cítrico, tiempo y la relación sólido líquido.

##### 4.1.1. FACTORES QUE AFECTAN LA EXTRACCIÓN DE CAFEINA

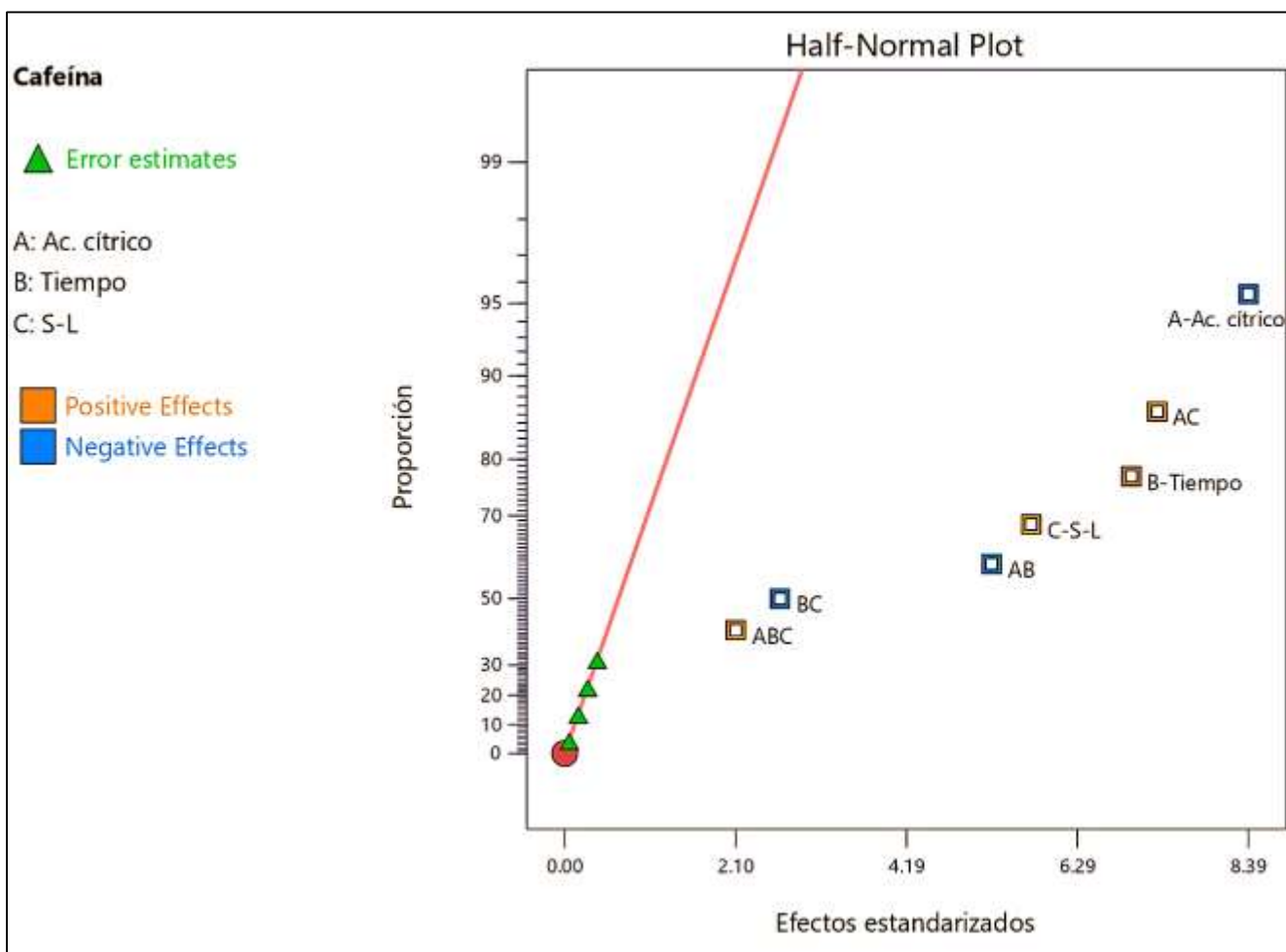
En la presente investigación se han estudiado el efecto de tres factores: concentración de ácido cítrico, tiempo y relación sólido-líquido, en la cuantificación de cafeína de la decocción de hojas secas de *I. guayusa*. Los valores de cafeína obtenidos variaron entre 280 – 323.9 mg/L, en base seca. Los resultados de cada combinación se reportan en la tabla 4.

**Tabla 4:** Valores de cafeína en los distintos tratamientos.

Exp	A	B	C	Cafeína
	Ac. Cítrico (%)	Tiempo (min)	S-L (g/ml)	mg/L
1	0	22.5	15/100	289.1
2	0.15	15	15/100	265.3
3	0.15	30	5/100	323.9
4	0	15	10/100	256.9
5	0.15	22.5	10/100	289.9
6	0.15	15	5/100	288.4
7	0	22.5	5/100	284.4
8	0.3	15	10/100	279.8
9	0.3	22.5	15/100	280.1
10	0.15	22.5	10/100	299.1
11	0.15	22.5	10/100	301.1
12	0.15	22.5	10/100	302.3
13	0.15	22.5	10/100	282.9
14	0.3	22.5	5/100	318.3
15	0.3	30	10/100	311.7
16	0.15	30	15/100	318.2
17	0	30	10/100	317.4

Seguidamente se muestra la figura 4, en la cual se puede visualizar los efectos positivos y negativos de los factores de estudio mediante una línea de tendencia. Los factores que son estadísticamente significativos corresponden a valores más elevados de efectos estandarizados,

aquellos que no los son, presentaron una distribución normal con varianza constante y media igual a cero.



**Figura 4:** Efecto de los factores significativos y no significativos en la extracción de cafeína sobre las hojas de *I. guayusa*.

La figura anterior muestra que los factores: tiempo (B), y relación sólido líquido (C) se muestran como efectos positivos en la cuantificación de cafeína, sin embargo, el factor concentración de ácido cítrico (A), se presentó como efecto negativo. La interacción entre los tres factores brindó un efecto positivo frente a la respuesta experimental.

Los efectos positivos indican un comportamiento proporcional frente a la cantidad de cafeína, es decir, en la medida que el efecto positivo se incrementa, lo hace también la variable de

respuesta, cafeína. Por otro lado, los efectos negativos demuestran un comportamiento inverso, o sea, al aumentar el nivel del efecto negativo la variable de respuesta tiende a disminuir.

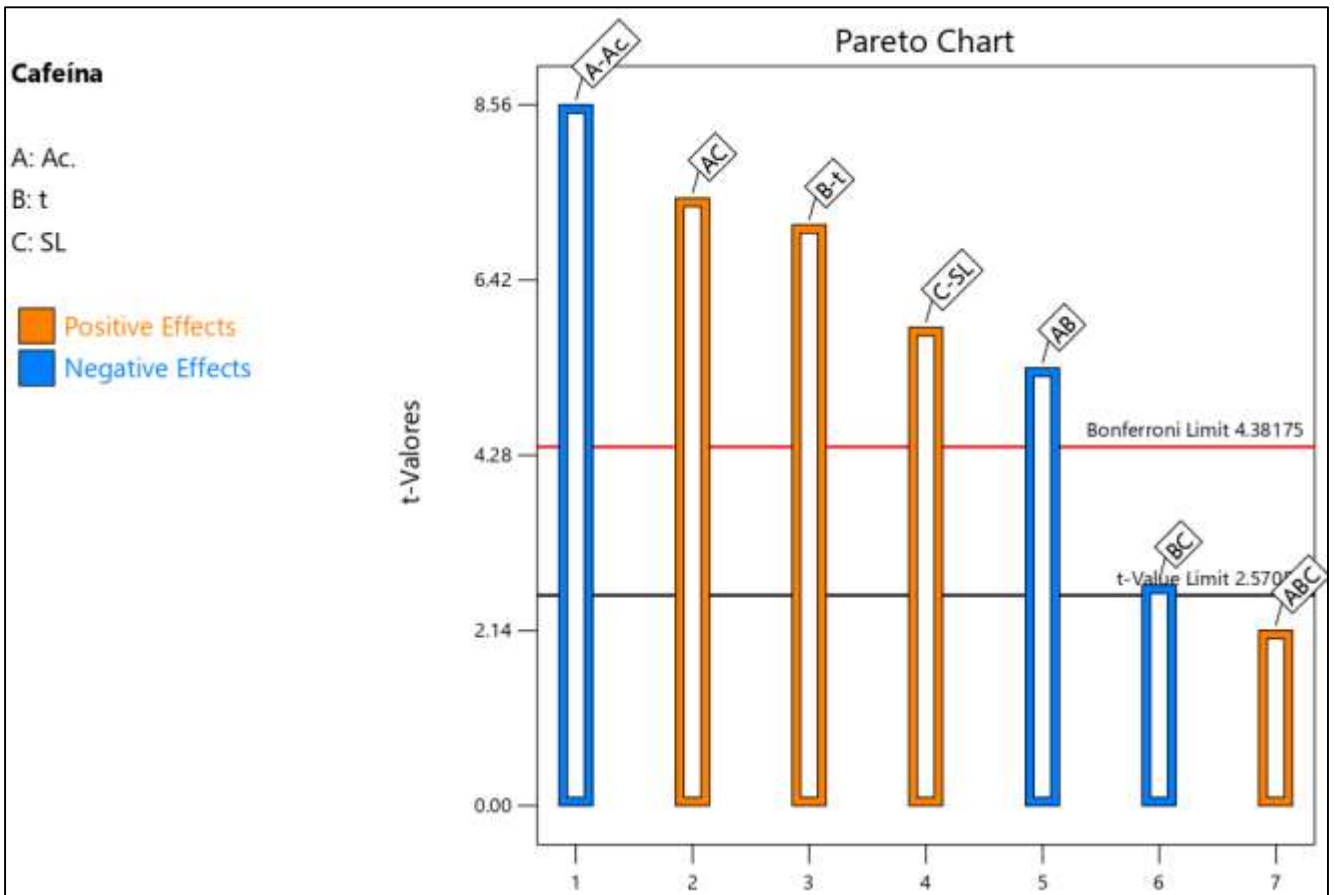
Seguidamente, se presenta la tabla 5 con el modelo factorial seleccionado.

**Tabla 5:** ANOVA para el modelo factorial seleccionado

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados Medios	Valor F	p-valor	
Modelo	5566.87	6	927.81	21.91	< 0.0001	significativo
A-Ac.Cítrico	219.08	1	219.08	5.17	0.0462	
B-tiempo	4122.18	1	4122.18	97.33	< 0.0001	
C-S-L	476.37	1	476.37	11.25	0.0073	
AB	462.79	1	462.79	10.93	0.0079	
AC	204.33	1	204.33	4.82	0.0528	
BC	82.12	1	82.12	1.94	0.1940	
Residual	423.53	10	42.35			
Falta de ajuste	145.16	6	24.19	0.3477	0.8803	no significativo
Error puro	278.36	4	69.59			
Total corregido	5990.40	16				

El valor F de 21.91 del ANOVA que se presenta en la tabla anterior, indica que el modelo seleccionado es significativo; así mismo, se muestra los factores que tienen diferencia estadística para  $p < 0.05$ . En este caso se puede apreciar que todos los factores de estudios A, B y C son estadísticamente significativos con un p-valor  $< 0.05$ .

A continuación, se presenta la figura 5, donde se muestra el gráfico de Pareto con el límite de Bonferroni. Este gráfico permite de manera visual comparar los efectos que producen los factores de estudios en la respuesta experimental, con el fin de averiguar cuál es significativo; este gráfico se fundamenta en un test de hipótesis que contrasta entre sí las medias de los efectos de cada factor con sus interacciones.

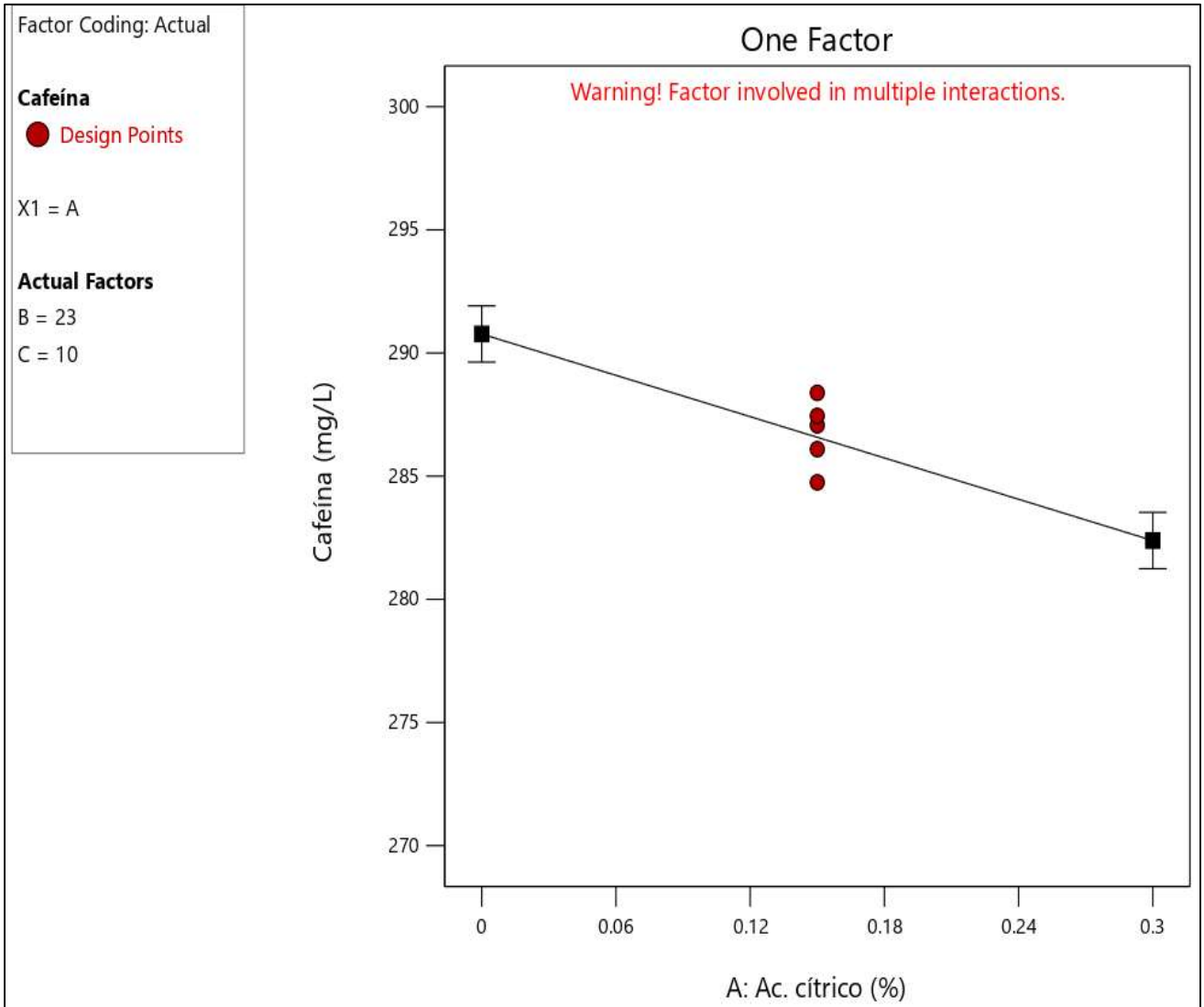


**Figura 5:** Diagrama de Pareto para los t-valores de los efectos de los factores en la extracción de cafeína.

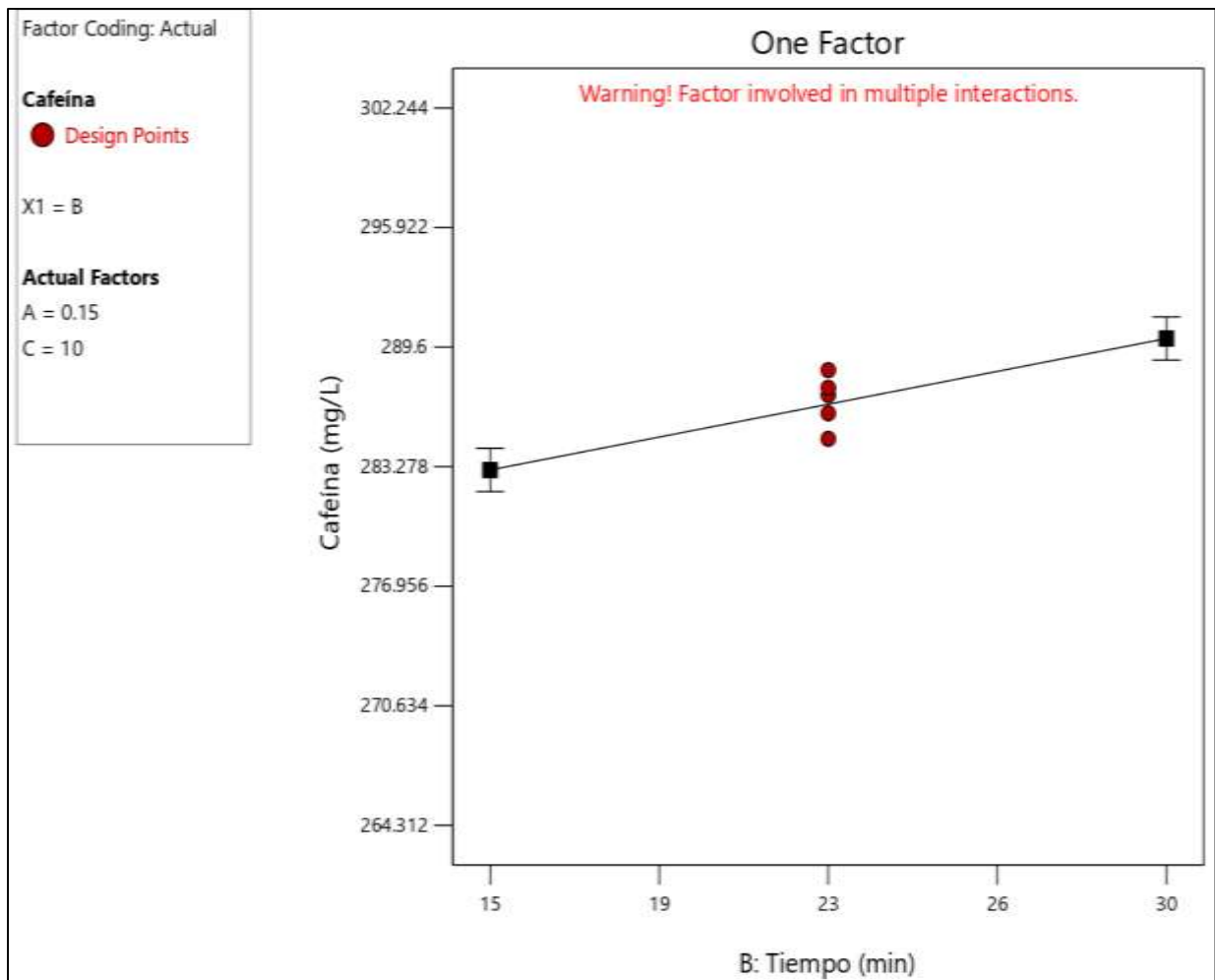
El gráfico anterior muestra las barras que pertenecen a las interacciones y efectos de los factores, también muestra dos líneas horizontales de corte, las cuales pertenecen a un valor de corte estadístico, donde el límite de Bonferroni es la más conservadora. Todos aquellos factores que se encuentren por encima de la línea t-value son estadísticamente significativos y aquellos que están por encima de la línea de Bonferroni son altamente significativos para  $p < 0.05$ . Cada factor tiene un signo que corresponde al de la pendiente de la curva formada por el efecto generado y se indica en el color de la barra; cuando el efecto es positivo la respuesta se aumenta al incrementar el nivel del factor y viceversa. Las interacciones de los factores serán positivas cuando sus niveles posean igual signo, y será negativa cuando ocurra lo contrario.

En el gráfico de Pareto, se puede apreciar que el factor A es altamente significativo con un efecto negativo, de igual manera, los factores B y C se encuentran por encima del límite de Bonferroni mostrándose altamente significativos para  $p < 0.05$  con efecto positivo para ambos. La

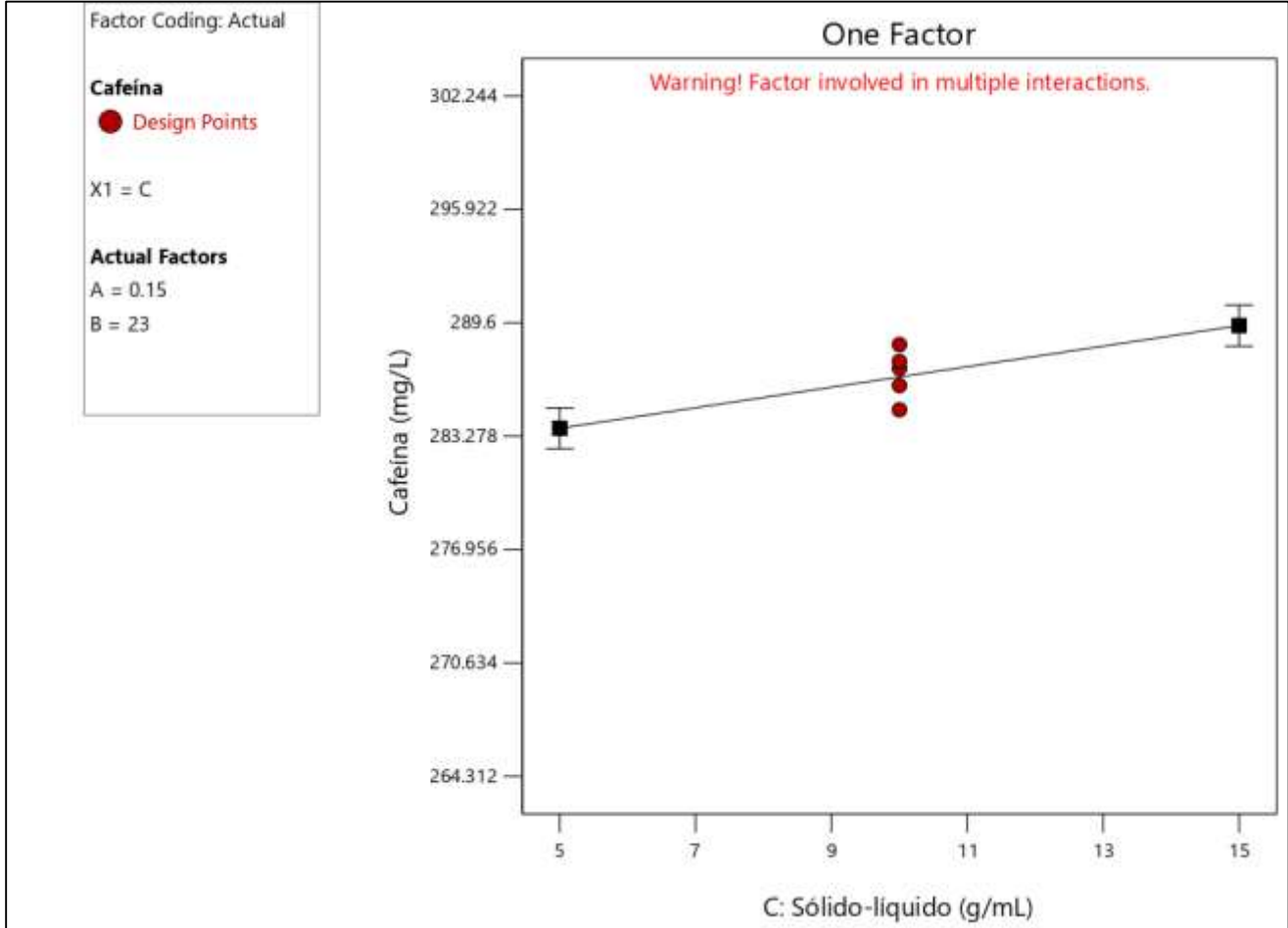
interacción de los tres factores se encuentra por debajo de la línea t-value siendo por lo tanto no significativo. La interacción de cada factor con la concentración de cafeína se muestran las figuras 6, 7 y 8.



**Figura 6:** Interacción del factor concentración de ácido cítrico y extracción de cafeína.



**Figura 7:** Interacción del factor tiempo y extracción de cafeína.



**Figura 8:** Interacción del factor relación sólido líquido y extracción de cafeína.

En la figura 6 se evidencia que, al aumentar la concentración de ácido cítrico, disminuye el rendimiento en la determinación de cafeína, sin embargo, la figura 7 y 8 indican que al incrementar el tiempo y la relación sólido líquido la cantidad de cafeína se incrementa. En las tres figuras anteriores se puede identificar que el extracto que contiene el mayor contenido de cafeína, es aquel que se ha obtenido con el tratamiento que prevé 0 % de ácido cítrico, 15 g de hojas secas de guayusa en 100 ml de agua con un tiempo de 30 min.

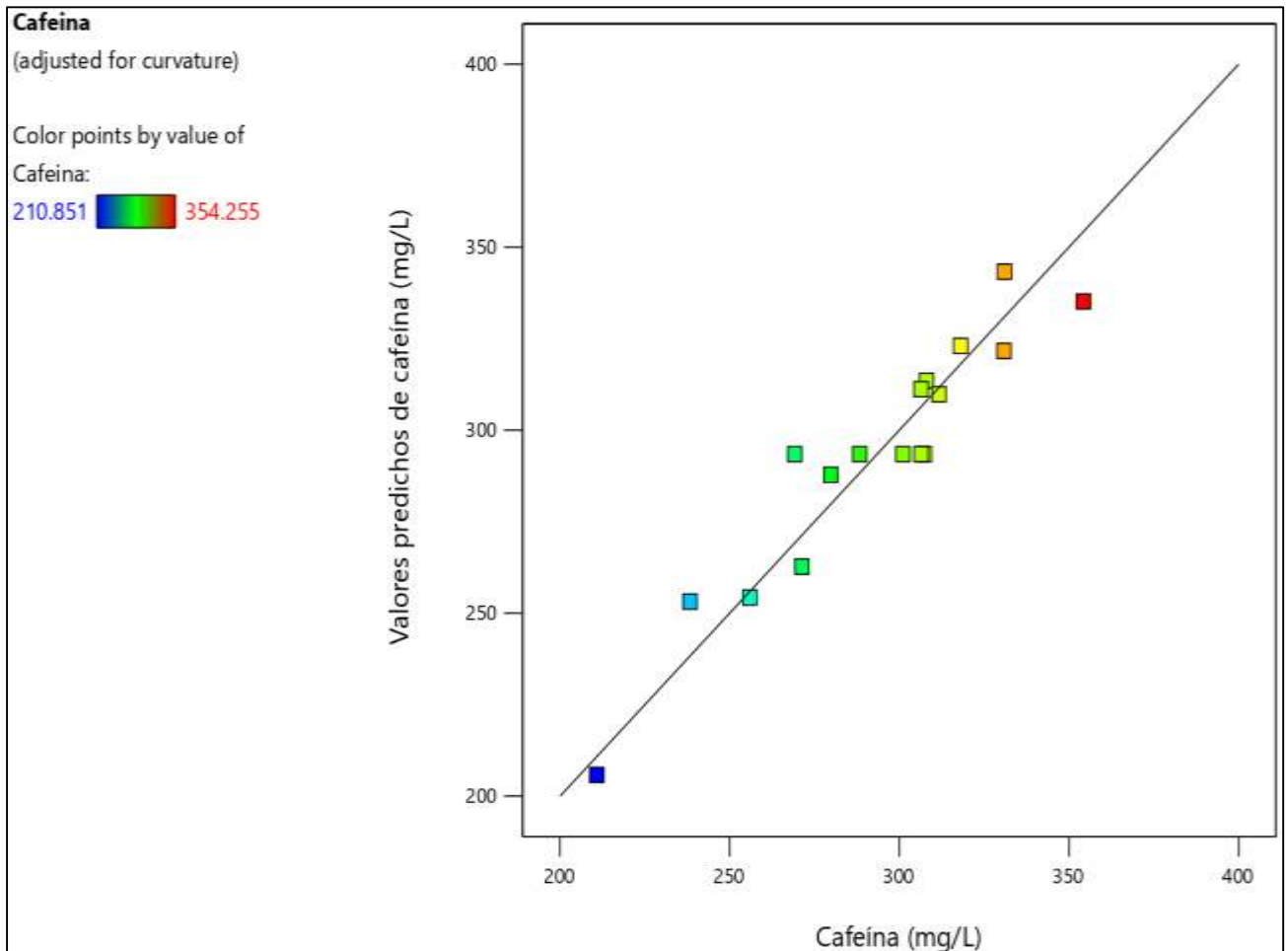
Una investigación realizada por Schuster & Mitchell, (2019b) manifiesta que la cafeína al ser ingerida en dosis que oscilan entre 50 -250 mg se absorbe en su totalidad en un tiempo de 45 min. En lo que respecta a los efectos pro-cognitivos (tiempo de reacción, efectos agudo y crónico en la memoria), las dosis más provechosas son de 100 a 300 mg de cafeína. Las hojas de *I*



*guayusa* proveen metabolitos secundarios, los cuales contribuyen en forma positiva de dos maneras en formulaciones de bebidas que poseen alcaloides como la metilxantina; en primer lugar, debido al efecto de sinergismo con la teobromina y cafeína son los responsables de originar efectos beneficiosos en la salud; y en segundo lugar estos metabolitos podrían atenuar los efectos antagonistas que la cafeína podría provocar.

En la presente investigación considerando los diferentes tratamientos se obtuvo un valor de cafeína de 323.91 mg/L, que es igual a 6.46 mg/g. Una investigación desarrollada por Wise & E. Santander, (2018b), determinó una concentración de cafeína de 19.08 mg/g, resultado muy superior al obtenido en la presente investigación; la misma investigación manifiesta que diferentes autores en sus estudios desarrollados sobre la *I. guayusa* presentan una amplia gama de resultados que van desde 8.13- 75.8 mg/g de contenido de cafeína, la variabilidad de la cafeína puede verse afectada por muchos factores, por ejemplo: la forma en que se recolecta la hoja, edad de la planta, condiciones geográficas y climáticas, entre otros.

Según Anderson & Whitcomb, (2016), para que el modelo factorial seleccionado en una investigación sea adecuado, debe existir una diferencia menor a 0.2 entre el  $R^2$  predicho y ajustado. En la presente investigación el modelo obtenido posee un buen ajuste con valores de  $R^2=0.8987$ ,  $R^2$ -ajustado=0.8380 y  $R^2$ -predicho=0.6797, estos valores cumplen con el requisito de tener una diferencia menor a 0.2. Seguidamente en la figura 9 se presenta la interacción entre los resultados predichos y experimentales de la cantidad de cafeína.



**Figura 9:** Interacción entre los resultados predichos y experimentales de la cantidad de cafeína.

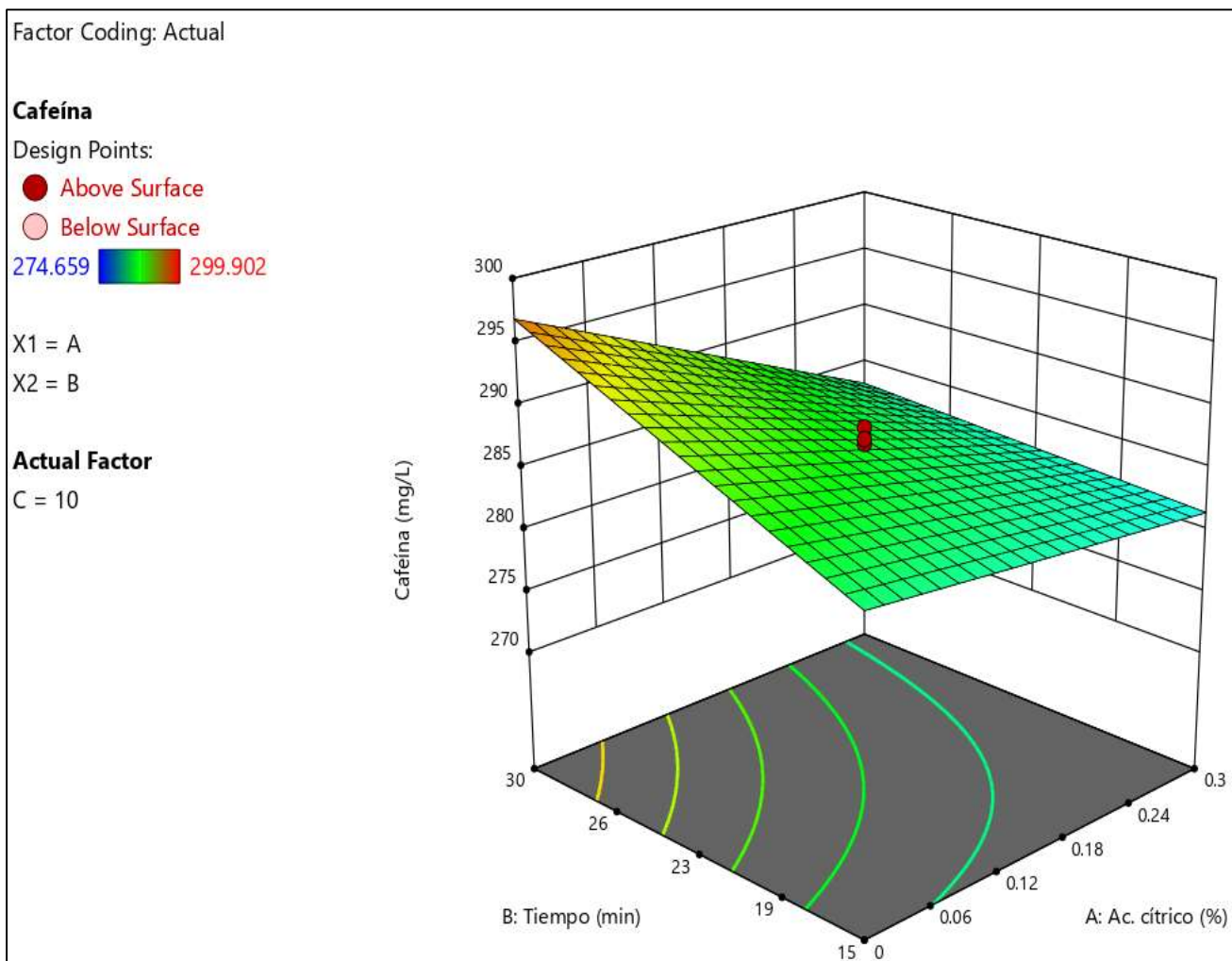
A partir de los valores experimentales que se muestran en la figura anterior, se ha generado el siguiente modelo matemático.

$$\text{Cafeína} = 293.458 + 5.3484 * A + 34.9548 * B + 22.9787 * C + 9.57979 * AB - 11.9681 * AC - 29.734 * BC$$

Donde A, B y C son respectivamente los factores concentración de ácido cítrico, tiempo y relación sólido líquido. El modelo matemático es útil para predecir concentraciones de cafeína a diferentes niveles de cada factor.

A continuación, se presentan las figuras 10, 11 y 12 donde se muestran gráficos bidimensionales que relacionan una vez más el comportamiento de los factores de estudio con la concentración de cafeína.

También se presentan las figuras 10, 11 y 12 con gráficos tridimensionales, evidenciando los efectos de los factores frente a la concentración de cafeína.



**Figura 10:** Interacción de los factores tiempo y Ac. cítrico frente a la concentración de cafeína.


Factor Coding: Actual

**Cafeína**

Design Points:

● Above Surface

○ Below Surface

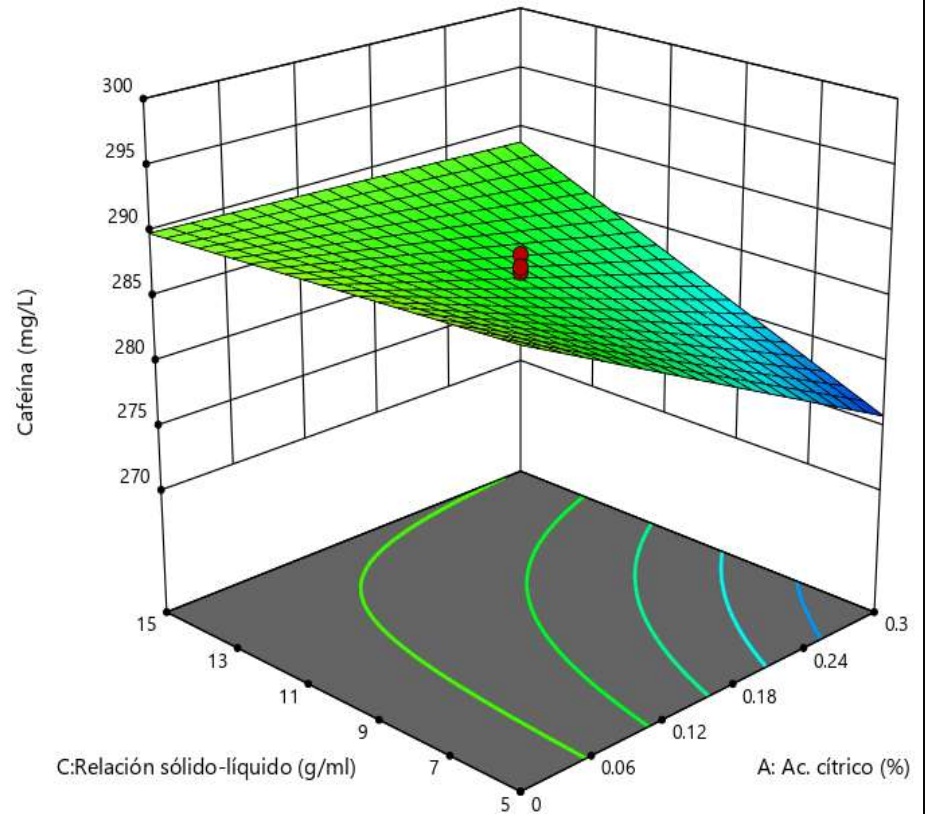
274.659  299.902

X1 = A

X2 = C

**Actual Factor**

B = 23



**Figura 11:** Interacción de los factores relación sólido-líquido y Ac. Cítrico frente a la concentración de cafeína.

Factor Coding: Actual

### Cafeína

Design Points:

● Above Surface

○ Below Surface

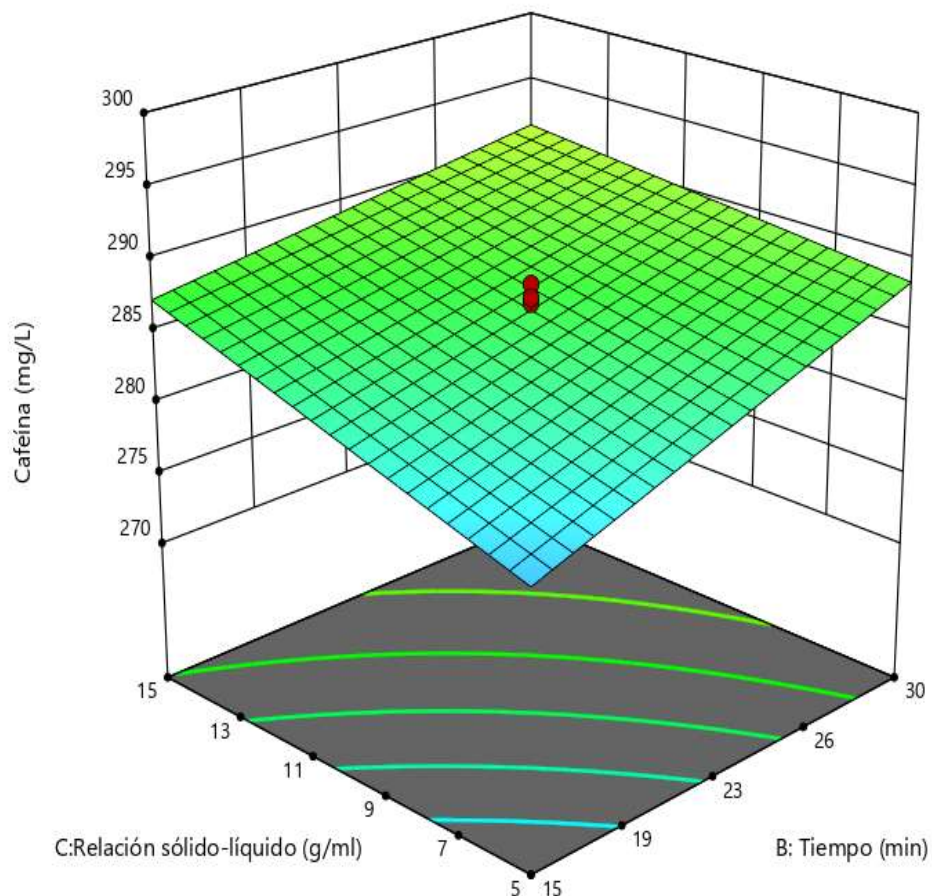
274.659  299.902

X1 = B

X2 = C

### Actual Factor

A = 0.15



**Figura 12:** Interacción de los factores relación sólido-líquido y tiempo frente a la concentración de cafeína.

#### 4.1.2. FACTORES QUE AFECTAN LA EXTRACCIÓN DE LOS COMPUESTOS POLIFENÓLICOS.

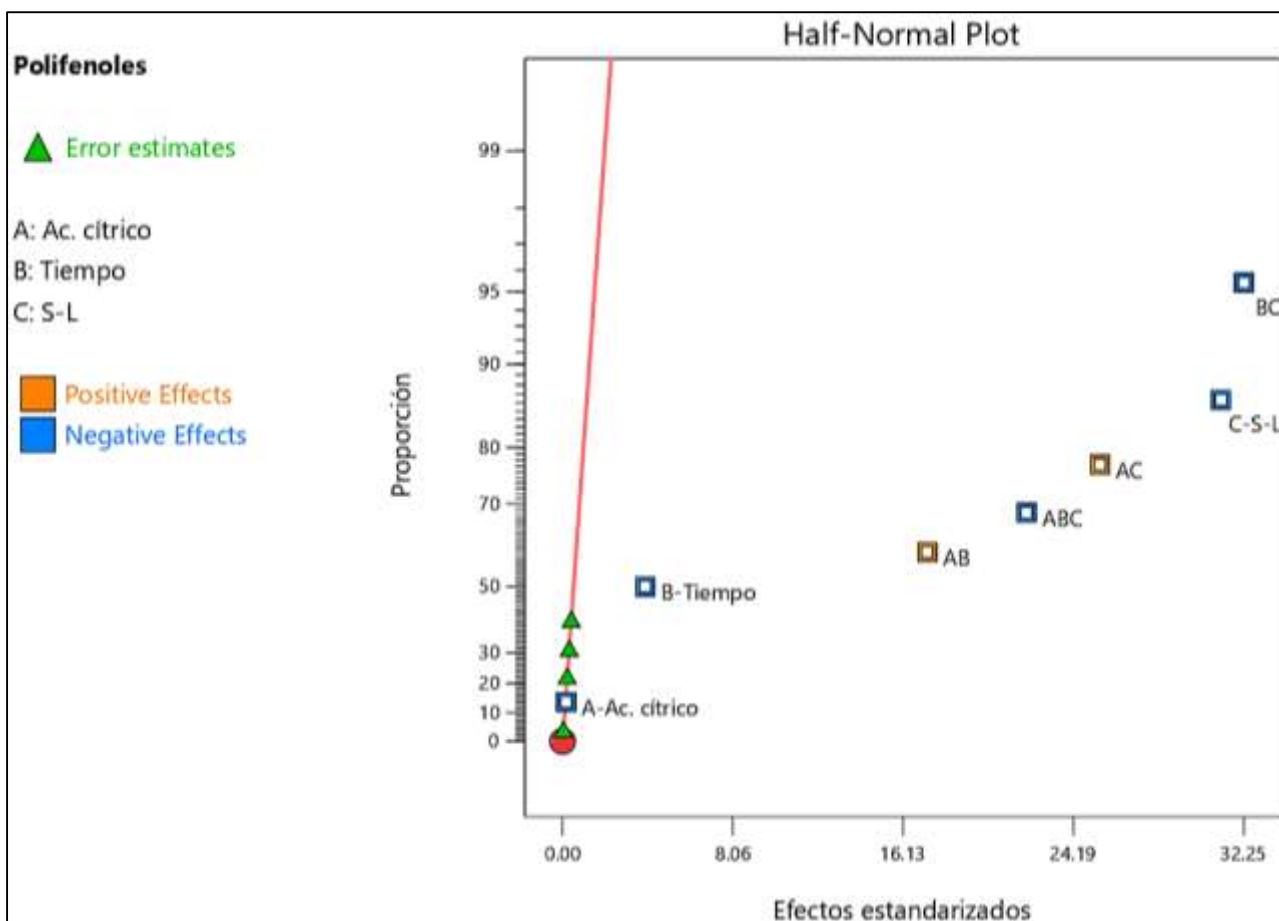
Los compuestos polifenólicos fueron determinados en extractos acuosos de la especie *I. guayusa* por el método Folin-Ciocalteu, para ello se empleó el siguiente modelo matemático:

$A = 0.0734C - 0.0028$ ; siendo A la absorbancia de la muestra medida en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm, y C representa la concentración de polifenoles totales en la muestra analizada. Las constantes 0.0734 y 0.0028 representan respectivamente la pendiente y el intercepto con el eje de las ordenadas. Los resultados de polifenoles totales variaron entre 348.871-412.944 y fueron expresados en mg de equivalentes de ácido gálico. Seguidamente, se muestra la tabla 6 con los resultados obtenidos en los diferentes tratamientos.

**Tabla 6:** Valores de cafeína en los distintos tratamientos.

Exp	A	B	C	Polifenoles totales
	Ac. Cítrico (%)	Tiempo (min)	S-L (g/ml)	mg eq ácido gálico
1	0	22.5	15	402.565
2	0.15	15	15	410.998
3	0.15	30	5	381.989
4	0	15	10	397.176
5	0.15	22.5	10	368.501
6	0.15	15	5	412.944
7	0	22.5	5	348.871
8	0.3	15	10	411.381
9	0.3	22.5	15	366.866
10	0.15	22.5	10	368.501
11	0.15	22.5	10	365.504
12	0.15	22.5	10	368.501
13	0.15	22.5	10	365.504
14	0.3	22.5	5	387.565
15	0.3	30	10	383.215
16	0.15	30	15	410.463
17	0	30	10	407.933

A continuación, se muestra la figura 13, en la cual se puede apreciar los efectos positivos y negativos de los factores de estudio mediante una línea de tendencia. Los factores significativos para  $p < 0.05$  son aquellos que están en una posición alejada de la línea de normalidad, y aquellos que no son significativos tienden a formar una línea recta.



**Figura 13:** Efecto de los factores significativos y no significativos en la cuantificación de polifenoles totales sobre las hojas de *I. guayusa*.

La figura anterior indica que los tres factores de estudio (A, B y C) muestran un efecto negativo frente a la extracción de polifenoles totales, a sí mismo, el factor A no presenta significancia para  $p < 0.05$ . La interacción entre los tres factores resultó significativa, aunque con efecto negativo.

Los efectos positivos demuestran un comportamiento proporcional frente al contenido de polifenoles totales, es decir, en la medida que el efecto positivo se incrementa, lo hace también

la variable de respuesta. Por otro lado, los efectos negativos indican un comportamiento inverso, o sea, al aumentar el efecto negativo la variable de respuesta tiende a disminuir.

A continuación, se presenta la tabla 7 con el modelo factorial seleccionado.

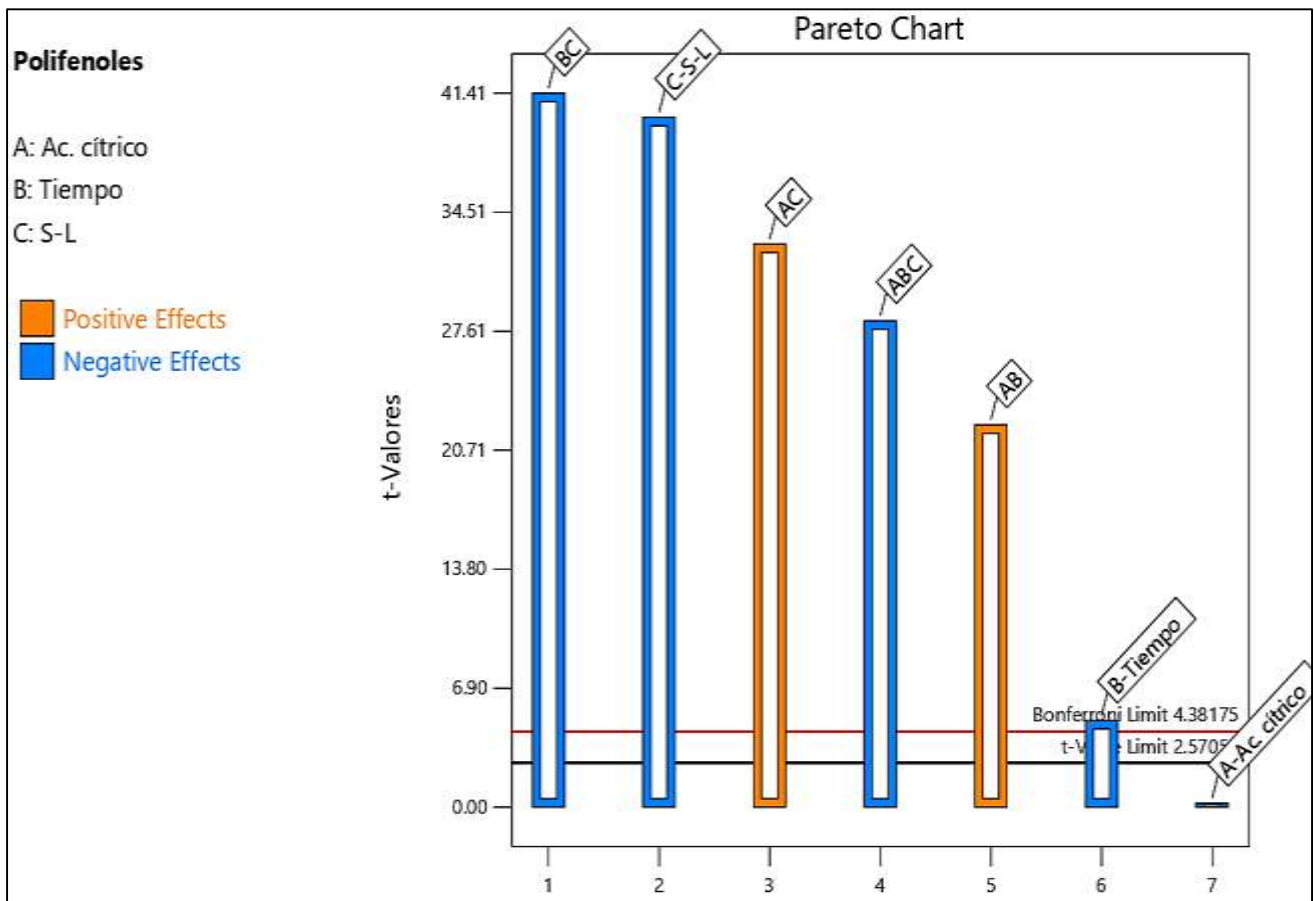
**Tabla 7:** ANOVA para el modelo factorial seleccionado.

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados medios	Valor F	P-valor	
Modelo	6939.27	9	771.03	84.86	< 0.0001	significativo
A Ac. cítrico	7.06	1	7.06	0.7774	0.4072	
B-Tiempo	298.88	1	298.88	32.89	0.0007	
C-SL	442.88	1	442.88	48.74	0.0002	
AB	1383.56	1	1383.56	152.27	< 0.0001	
AC	378.74	1	378.74	41.68	0.0003	
BC	231.35	1	231.35	25.46	0.0015	
A <sup>2</sup>	26.23	1	26.23	2.89	0.1331	
B <sup>2</sup>	187.23	1	187.23	20.61	0.0027	
C <sup>2</sup>	3821.82	1	3821.82	420.63	< 0.0001	
Residual	63.60	7	9.09			
Falta de ajuste	52.82	3	17.61	6.53	0.0507	No significativo
Error puro	10.78	4	2.70			
Total corregido	7002.87	16				

El valor F de 84.84 del ANOVA que se presenta en la tabla anterior, indica que el modelo seleccionado es significativo; así mismo, se muestra los factores que muestran diferencia estadística para  $p < 0.05$ . En este caso se puede apreciar que el factor B (tiempo) y C (relación sólido-liquido) son significativos con un p-valor de 0.0007 y 0.0002 respectivamente, sin embargo, el factor A (ác. cítrico) no presenta significancia debido a que el valor P es  $0.4072 > 0.05$ .

Seguidamente, se presenta la figura 14, donde se muestra el gráfico de Pareto con el límite de Bonferroni. Este gráfico permite comparar los efectos que producen los factores de estudios en la respuesta experimental (polifenoles totales), con el fin de saber cuál es significativo; el gráfico de Pareto se fundamenta en un test de hipótesis que contrasta entre sí las medias de los efectos de cada factor con sus interacciones.





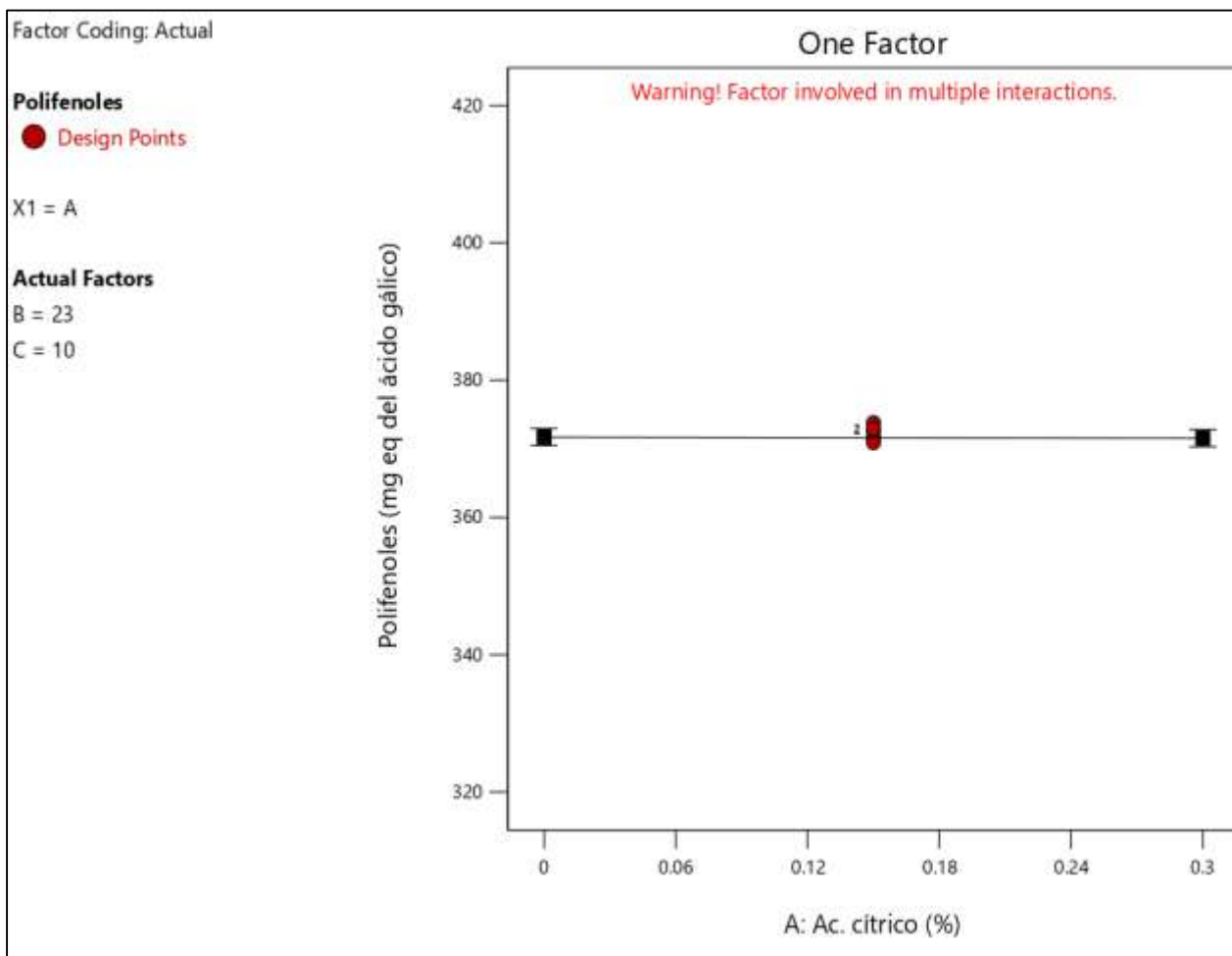
**Figura 14:** Diagrama de Pareto para los t-valores de los efectos de los factores en la extracción de polifenoles totales.

El gráfico anterior muestra las barras que pertenecen a las interacciones y efectos de los factores, también muestra dos líneas horizontales de corte, estas pertenecen a un valor de corte estadístico, donde el límite de Bonferroni es la más conservadora. Todos aquellos factores que se encuentren por encima de la línea t-value son estadísticamente significativos y aquellos que están por encima de la línea de Bonferroni son altamente significativos para  $p < 0.05$ . Cada efecto tiene un signo que corresponde al de la pendiente de la curva formada por el efecto y se indica en el color de la barra; cuando el efecto es positivo la respuesta experimental se aumenta al incrementar el nivel del factor y viceversa. Las interacciones de los factores serán positivas cuando sus niveles posean igual signo, y será negativa cuando ocurra lo contrario.

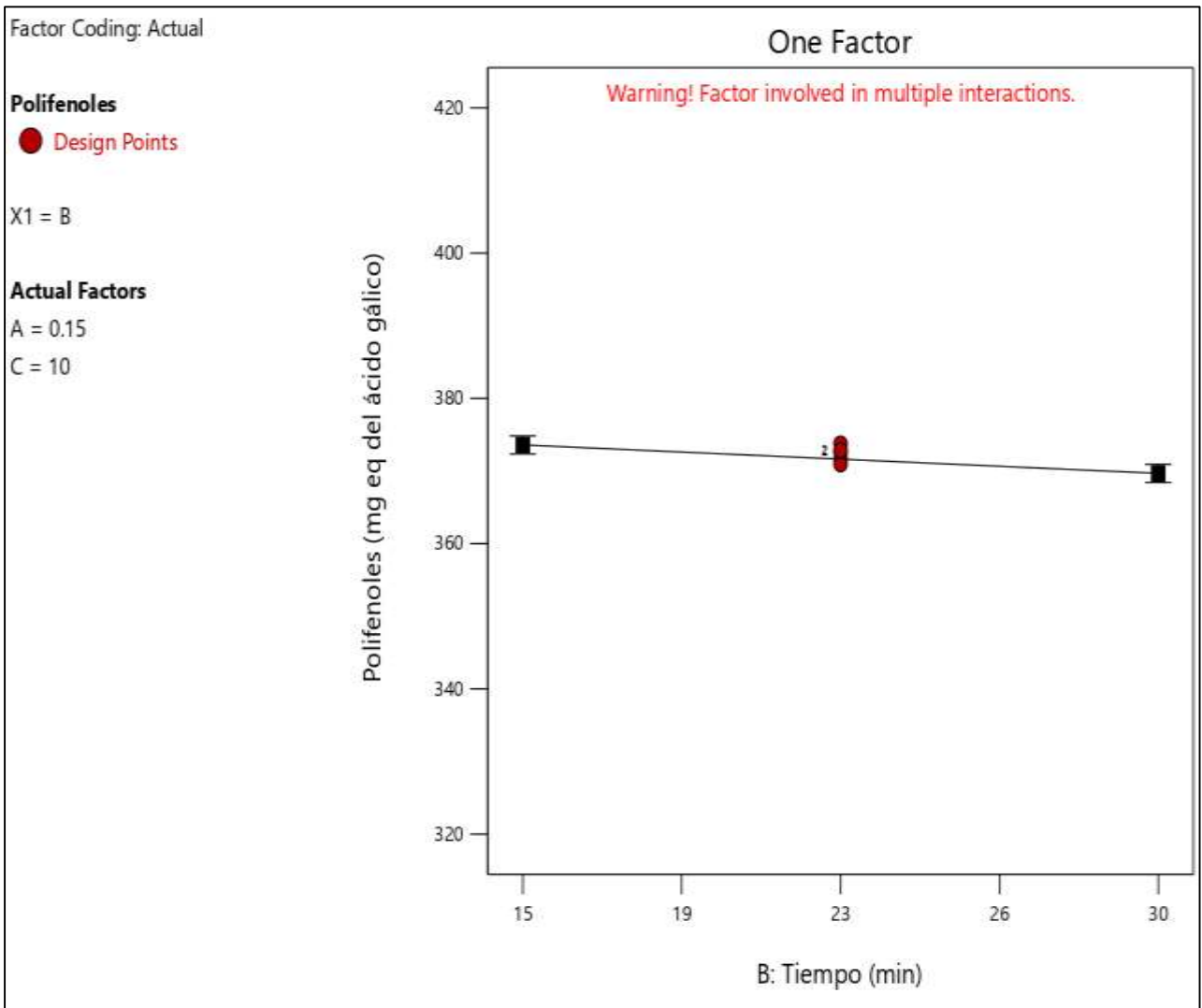
En el gráfico de Pareto, se puede apreciar que el factor C (Relación sólido-líquido) es altamente significativo con efecto negativo, de igual manera, el factor B (tiempo) presenta un efecto negativo y se ubica de manera ligera por encima de la línea de Bonferroni, siendo por lo tanto

altamente significativo, sin embargo, el factor A (ác. cítrico) no mostró significancia para  $p < 0.05$ .

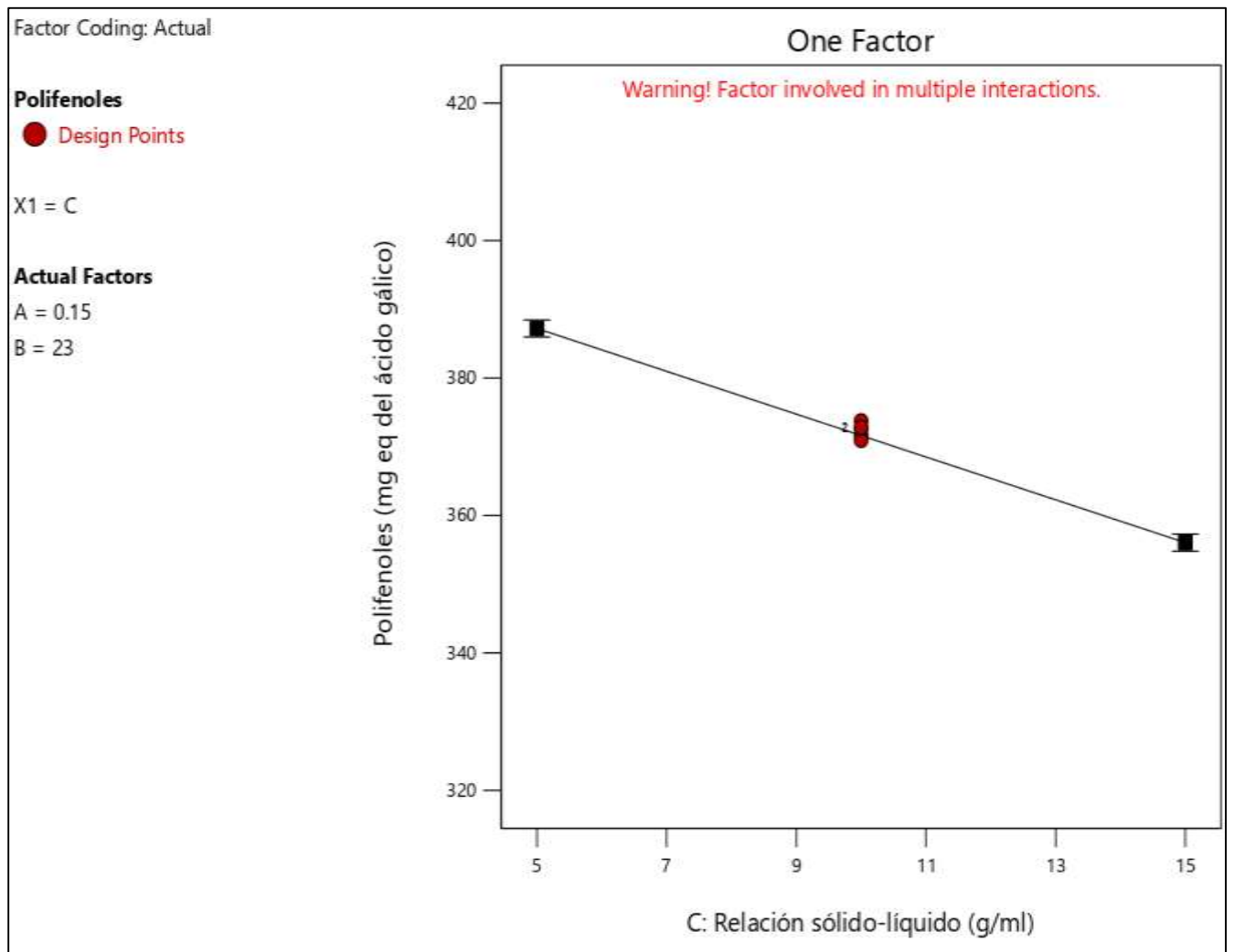
Las interacciones de cada factor con la variable de respuesta se muestran en las figuras 15, 16 y 17; en las cuales se puede evidenciar una vez más el efecto negativo de los factores A, B y C en la extracción de polifenoles totales.



**Figura 15:** Interacción del factor concentración de ácido cítrico y extracción de polifenoles totales.



**Figura 16:** Interacción del factor tiempo y extracción de polifenoles totales.



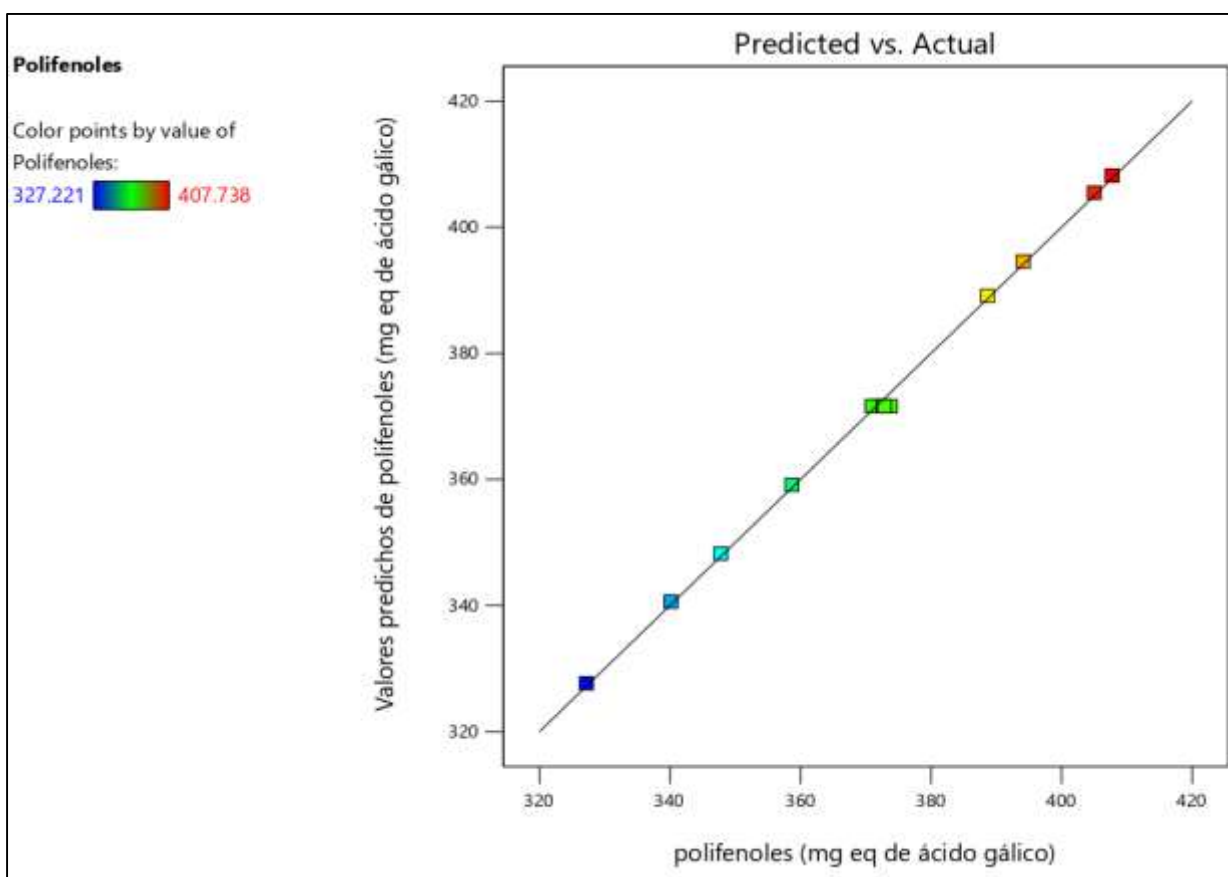
**Figura 17:** Interacción del factor relación sólido líquido y extracción de cafeína.

La figura 15, revela que el factor A no tiene significancia, es decir, que los diferentes niveles no afectaron de manera evidente a la variable de respuesta. Las figuras 16 y 17, indican nuevamente el comportamiento inverso de los factores B y C, al aumentar los niveles de cada factor la respuesta experimental disminuye de manera significativa. Una investigación realizada por Chianese et al., (2019), mencionan que el aislamiento de un amplio número de triterpenoides y pentacíclicos presentes en las hojas de *I guayusa* ofrecen mecanismos de acción y una inmensa variedad de principios activos. Otro estudio llevado a cabo por García-Ruiz et al., (2017), indican que en las hojas de *I. guayusa* se encuentran presentes 14 compuestos polifenólicos aproximadamente, de igual manera, en la misma investigación empleando dos técnicas analíticas (ORAC y DPPH), demostraron la alta capacidad antioxidante que esta planta posee.

Por otro lado, Villacís-Chiriboga et al., (2018), aplicando la técnica DPPH encontraron 7 clases de carotenoides, siendo el más particular la luteína, y 14 tipos de compuestos polifenólicos; así mismo, Pardau et al., (2017), en su investigación indica que los polifenoles totales que se encuentran en las hojas de *I. guayusa* pueden variar entre 54.39-67.23 mg/g, además, aplicando un método espectrofotométrico hallaron que los derivados del ácido cafeoil-quinico son los principales compuestos presentes en esta planta amazónica.

Considerando nuevamente lo propuesto por Anderson & Whitecomb, (2016), para que el modelo factorial seleccionado en una investigación sea adecuado, debe existir una diferencia menor a 0.2 entre el  $R^2$  predicho y ajustado. En la presente investigación el modelo obtenido posee un buen ajuste con valores de  $R^2=0.9987$ ,  $R^2$ -ajustado=0.9968 y  $R^2$ -predicho=0.8908, estos valores cumplen con el requisito de tener una diferencia menor a 0,2.

Seguidamente en la figura 18 se presenta la interacción entre los resultados predichos y experimentales de la cantidad de polifenoles totales.



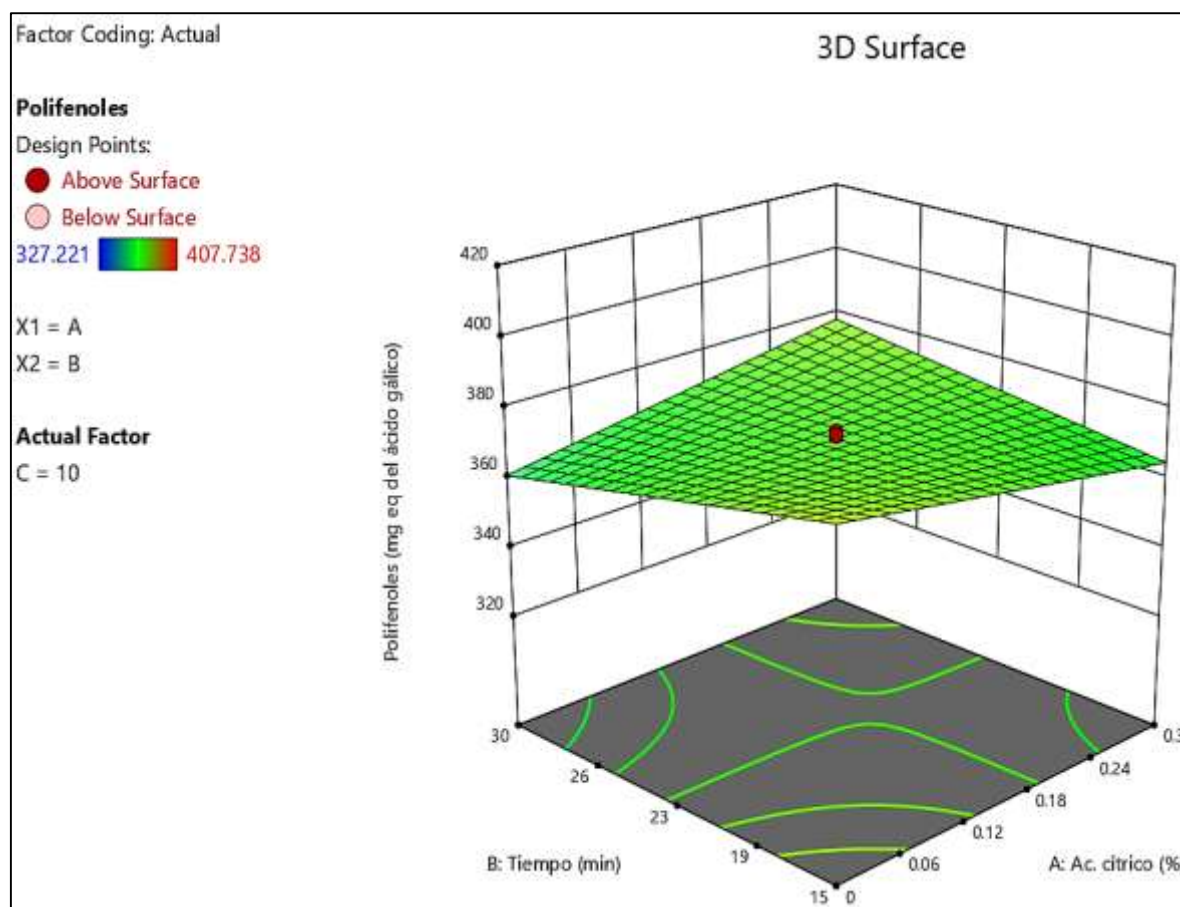
**Figura 18:** Interacción entre los resultados predichos y experimentales de la cantidad de polifenoles totales.

A partir de los valores experimentales que se muestran en la figura anterior, se ha generado el siguiente modelo matemático.

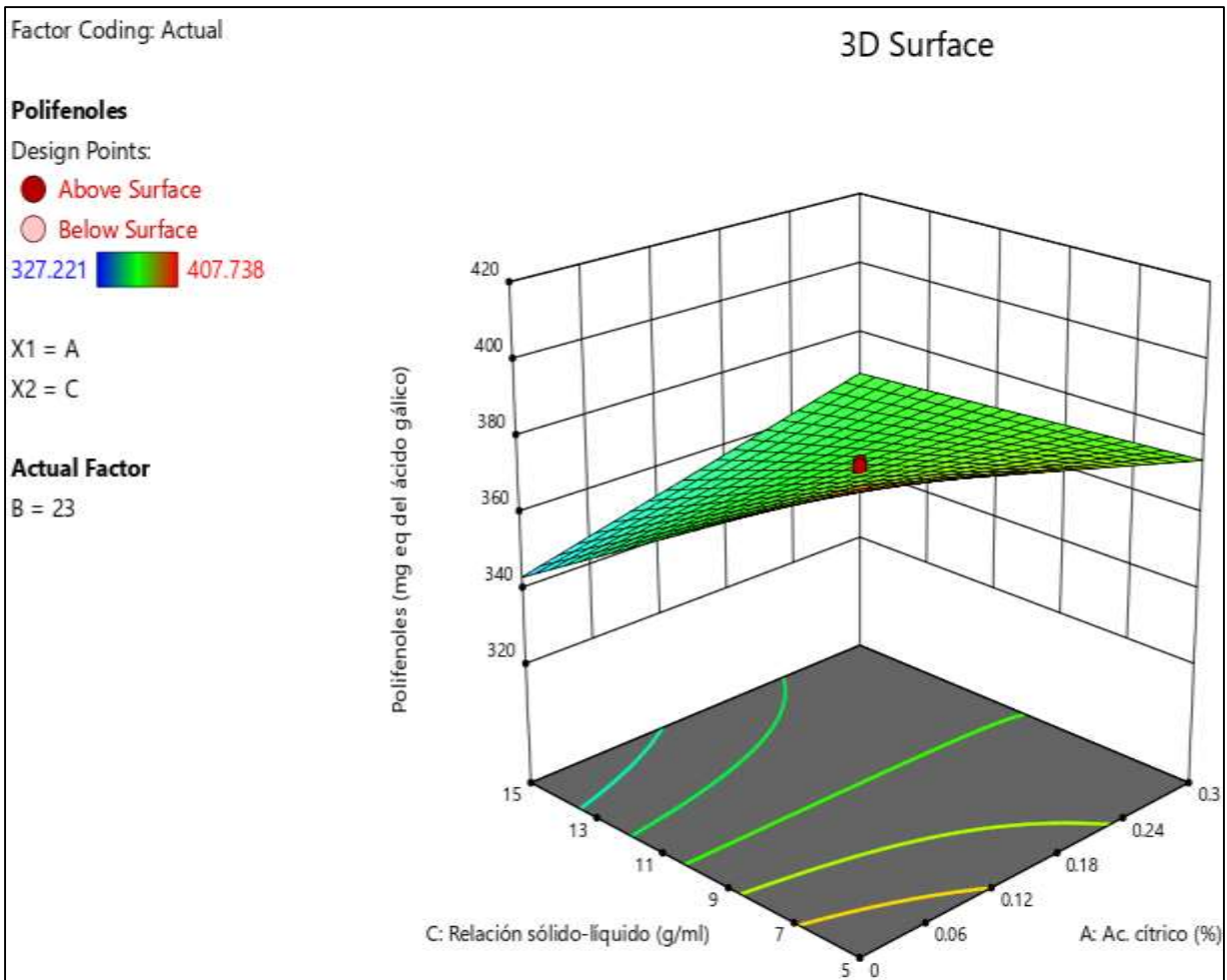
$$\text{Polifenoles Totales} = 429.252 - 782.243 * A - 0.0408719 * B - 2.57493 * C + 27.2025 * AB + 60.8992 * AC - 0.137148 * BC - 1.95277 * ABC$$

Donde A, B y C son respectivamente los factores concentración de ácido cítrico, tiempo y relación sólido líquido. El modelo matemático es útil para predecir concentraciones de polifenoles totales a diferentes niveles de cada factor.

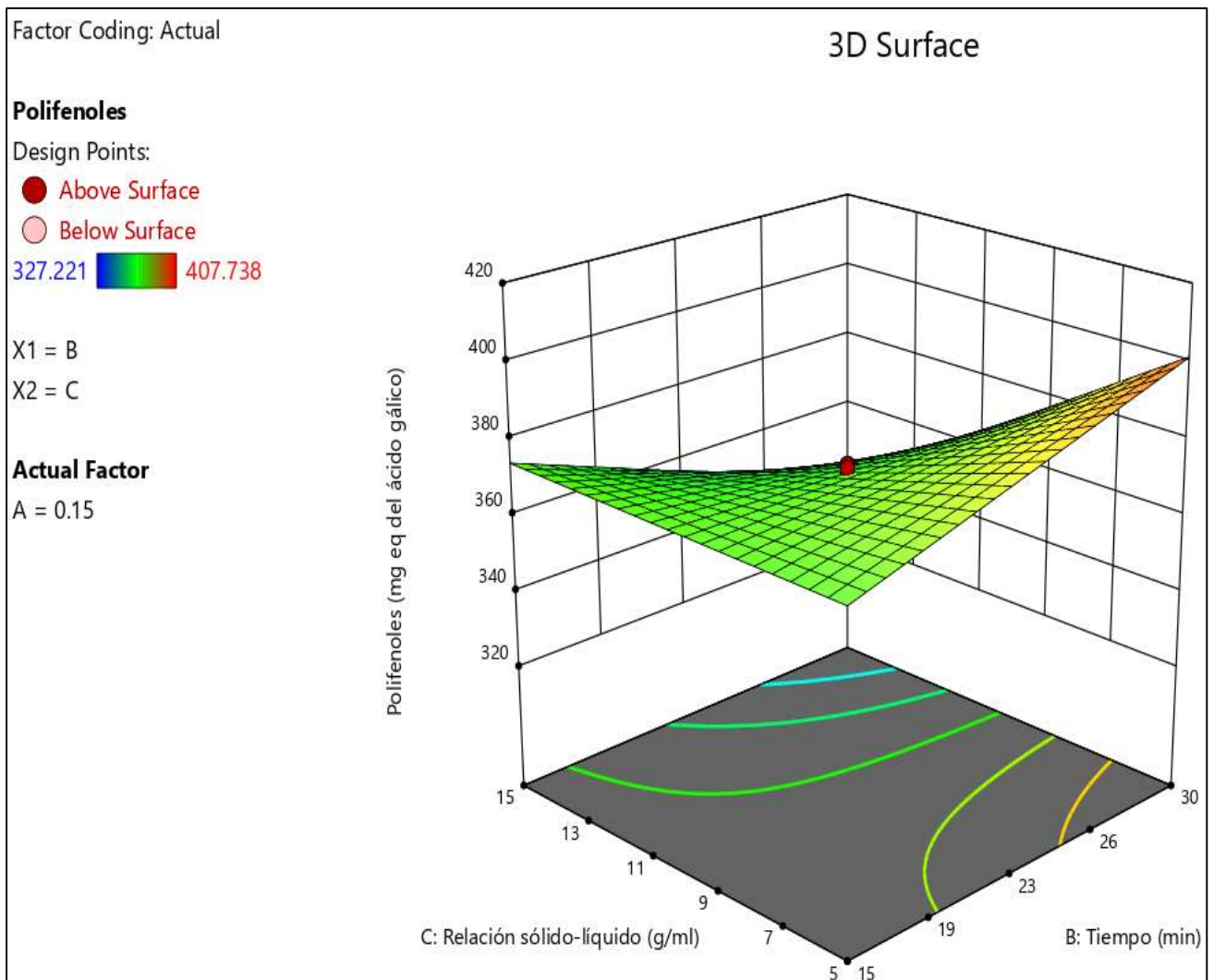
Paralelamente se han desarrollado gráficos tridimensionales evidenciando los efectos de los factores frente a la concentración de polifenoles totales. (Figura 19, 20 y 21)



**Figura 19:** Interacción de los factores Ac. cítrico y tiempo en la concentración de polifenoles totales.



**Figura 20:** Interacción de los factores relación sólido-líquido Ac. cítrico y en la concentración de polifenoles totales.



**Figura 21:** Interacción de los factores tiempo y relación sólido-líquido frente a la concentración de polifenoles totales.

## 4.2. RENDIMIENTO DEL PROCESO DE SPRAY DRYING

El extracto seco obtenido por *Spray drying* arrojó un rendimiento 3.18 %. Una investigación realizada por Álvarez & Luna, (2020), donde elaboró un sólido pulverulento a partir de extractos acuosos de la especie *I. guayusa*, obtuvo un rendimiento 7.99 % por *spray drying*, este resultado es superior al valor obtenido en la presente investigación. Las diferencias entre los dos rendimientos deberían justificarse con condiciones de desarrollo de los metabolitos secundarios que varían en relación a factores ambientales (edad de la planta, tipo de poda, suelos, entre otros.)



### 4.3. ESTUDIO DE ESTABILIDAD

Se llevó a cabo el estudio de estabilidad en el extracto seco obtenido por *Spray drying*, las muestras fueron colocadas en recipientes de vidrio con tapa giratoria y se evaluó la influencia de dos temperaturas, ambiente y 40 °C, sobre el color, olor, sabor, aspecto, solubilidad, pH y humedad a los 7, 14 y 21 días. Seguidamente se muestra la tabla 8 con los resultados obtenidos.

**Tabla 8:** Resultados del aspecto en el extracto seco de I. guayusa.

Temperatura	Tiempo en días			
	0	7	14	21
Ambiente	Polvo	Polvo	Grumoso	Grumoso
40 °C	Polvo	Polvo	Polvo	Polvo

Fuente: Elaboración propia

Se puede apreciar en la tabla 9, que el aspecto en las muestras almacenadas al ambiente no sufrió ninguna alteración a los siete días, sin embargo, a partir del día 14 hasta el día 21 existieron ligeras variaciones, pasando de polvo a un aspecto grumoso. Esto puede deberse a la ganancia de humedad del extracto seco. No obstante, las muestras almacenadas a 40 °C no presentaron cambios en el aspecto a los 21 días.

Según la normativa del café soluble NTE INEN 1122:2013; el aspecto de un extracto seco obtenido por *Spray drying* debe ser típico al producto fresco, de lo contrario se considera un producto que ha sufrido alteraciones en su textura. En esta investigación las muestras que cumplen con este requerimiento son las que se almacenaron a 40 °C.

A continuación, se muestran los resultados obtenidos para el color.

**Tabla 9:** Resultados del color en el extracto seco de I. guayusa.

Temperatura	Tiempo en días			
	0	7	14	21
Ambiente	Café claro	Café claro	Café claro	Café claro
40 °C	Café claro	Café claro	Café claro	Café claro

Fuente: Elaboración propia

En la tabla anterior se puede evidenciar que las dos temperaturas evaluadas no afectaron el color del extracto seco de *I. guayusa* manteniéndose estable por 21 días.

Seguidamente se presenta la tabla 10 con los resultados del olor obtenidos a los 21 días.

**Tabla 10:** Resultados del olor en el extracto seco de *I. guayusa*.

Temperatura	Tiempo en días			
	0	7	14	21
Ambiente	Típico a guayusa	Típico a guayusa	Típico a guayusa	Típico a guayusa
40 °C	Típico a guayusa	Típico a guayusa	Típico a guayusa	Típico a guayusa

Fuente: Elaboración propia

La tabla 10 indica que el olor típico a guayusa, no presentó variaciones a los 21 días indicando, por lo tanto, que las dos temperaturas estudiadas no tuvieron influencia sobre este atributo organoléptico.

Posteriormente, se indican los resultados del sabor obtenido a los 21 días en el extracto seco de *I. guayusa*.

**Tabla 11:** Resultados del sabor en el extracto seco de *I. guayusa*.

Temperatura	Tiempo en días			
	0	7	14	21
Ambiente	Típico a guayusa	Típico a guayusa	Típico a guayusa	Típico a guayusa
40 °C	Típico a guayusa	Típico a guayusa	Típico a guayusa	Típico a guayusa

Fuente: Elaboración propia

En la tabla anterior se puede evidenciar que el sabor típico a guayusa del extracto obtenido por *Spray drying* no presentó variaciones bajo la influencia de las dos temperaturas de estudio, es decir, este atributo organoléptico se mantuvo estable durante 21 días.

Según las normativas del café soluble, NTE INEN 1122:2000 y NTE INEN 1122:2013, los parámetros de color, olor y sabor deben ser característicos del producto fresco, de lo contrario se considera que el producto ha sufrido cambios significativos y por lo tanto se debería evaluar si es apto o no para el consumo humano.

Posteriormente, la tabla 12 revela los resultados de solubilidad en agua caliente del extracto seco de *I. guayusa*.

**Tabla 12:** Resultados de solubilidad en el extracto seco de *I. guayusa*.

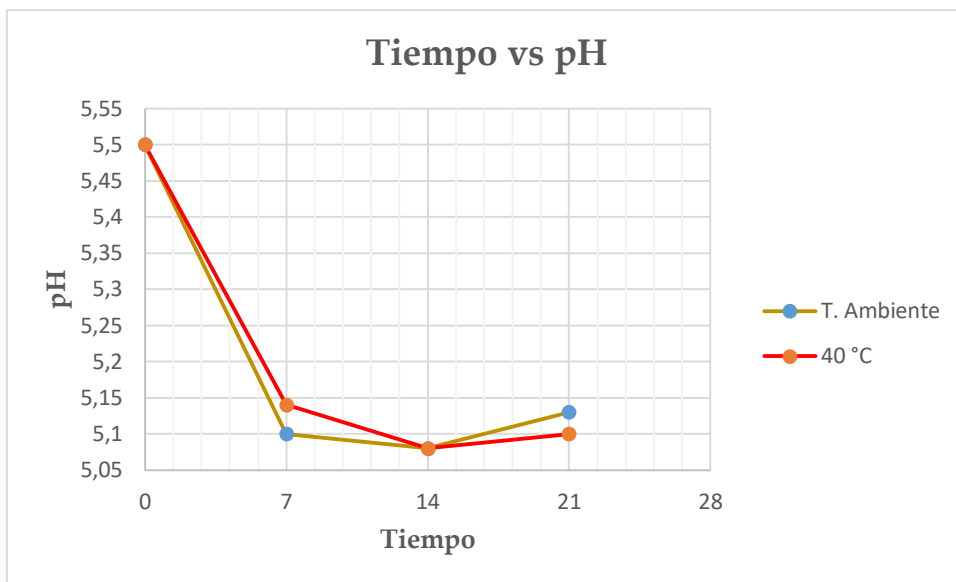
Temperatura	Tiempo en días			
	0	7	14	21
Ambiente	Total	Total	Total	Total
40 °C	Total	Total	Total	Total

Fuente: Elaboración propia

Se puede evidenciar en la tabla anterior que la solubilidad en agua caliente del extracto seco no sufrió alteraciones, mostrando una solubilidad completa a los 21 días, esto revela una vez más que las temperaturas de estudio no influyeron sobre la capacidad que tiene el extracto seco de disolverse en agua caliente.

Según la normativa del café soluble NTE INEN 1122:2000, la solubilidad en agua caliente del extracto seco no debe tardar más 30 segundos; las muestras analizadas en el estudio de estabilidad cumplieron con este requisito. Una investigación realizada por Álvarez & Luna, (2020), donde desarrollaron un preparado hidrosoluble a partir de extractos acuosos de *I. guayusa*, realizaron la prueba de solubilidad en agua caliente demorando menos de 30 segundos en disolverse completamente, este resultado concuerda con los datos obtenidos en el presente estudio.

La figura 28 que se presenta a continuación indica la influencia de las temperaturas de estudio sobre el pH del extracto seco.

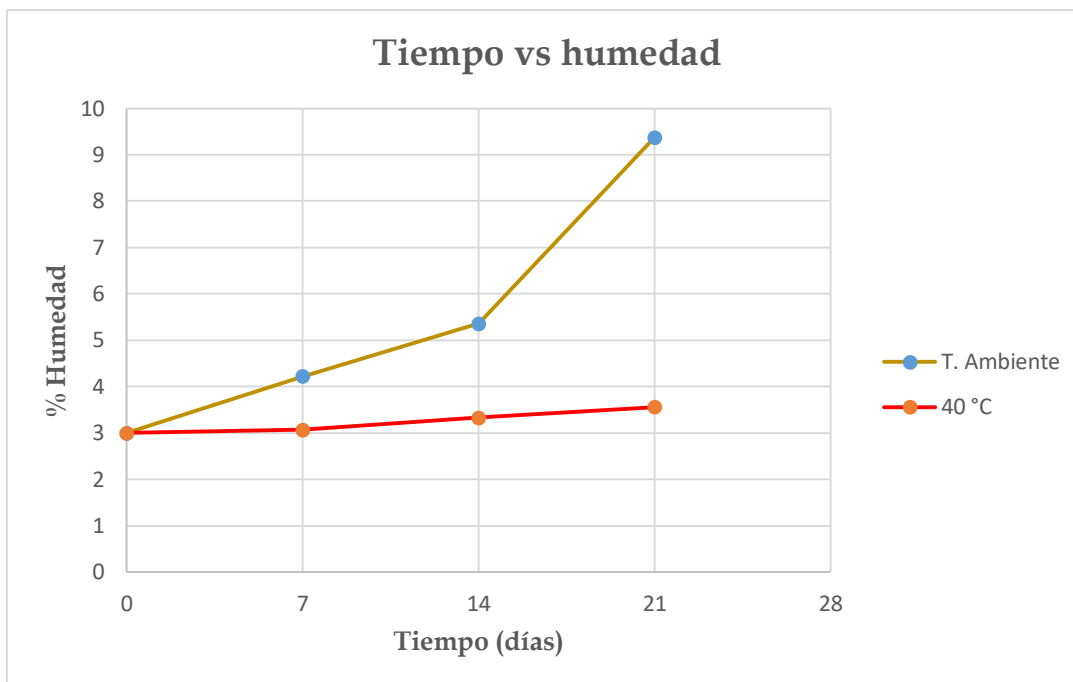


**Figura 22:** Resultados del pH en el extracto seco de *I. guayusa*.

El pH inicial del extracto seco fue de 5.5; y disminuyó de manera paulatina a lo largo del tiempo; a los 21 días el pH fue de 5.13 y 5.10 para las muestras almacenadas a temperatura ambiente y 40 °C respectivamente.

La normativa del café soluble NTE INEN 1122:2000, establece que el rango de pH para el café secado por *Spray drying* es de 4.7-5.5; en este contexto, los resultados de pH obtenidos para las muestras almacenadas a las dos temperaturas de estudio se encuentran dentro del rango admitido por la normativa que se menciona anteriormente. Los resultados obtenidos en la presente investigación coinciden con los reportados por Álvarez & Luna, (2020), donde obtuvieron valores de pH de 5.5 en un sólido pulverulento obtenido por *Spray drying*.

A continuación, se presenta la figura 29 donde se muestra la influencia de la temperatura sobre la humedad del extracto seco a los 21 días.



**Figura 23:** Resultados de humedad en el extracto seco de *I. guayusa*

La humedad inicial del extracto seco fue de 3 %. La gráfica anterior muestra que la ganancia de humedad fue mayor para las muestras almacenadas a temperatura ambiente, con una humedad a los 21 días de 9.37 %; sin embargo, la ganancia de humedad para las muestras almacenadas a 40 °C fue menor, con humedad de 3.56 % a los 21 días, esto puede deberse a que las muestras almacenadas a temperatura ambiente se encontraron expuestas de manera directa con la humedad del ambiente, sin embargo, las muestras a 40 °C estuvieron dentro de una estufa cerrada completamente y la humedad relativa no afectó directamente.

En productos como el café soluble secado por *Spray drying*, los envases de vidrio utilizados para su conservación poseen un sello de seguridad que los protege de la humedad relativa, no obstante, los recipientes de vidrio utilizados en este estudio no contaron con este sello.

La normativa del café soluble NTE INEN 1122:2000, indica que el contenido máximo de humedad que puede presentar el café secado por *Spray drying* es de 3.8 %. En este estudio las muestras almacenadas a temperatura ambiente no cumplen con este requerimiento, sobrepasando el límite máximo de humedad que se propone en esta normativa; por otro lado, las muestras almacenadas a 40 °C se encuentran dentro del rango admisible que propone la normativa mencionada anteriormente.

Una investigación realizada por Ocampo, (2018), donde estudió la vida en anaquel del café secado por *Spray drying*, aplicando un modelo probabilístico, obtuvo como resultado un tiempo de vida útil de 59 días, almacenando las muestras en recipientes de vidrio a una temperatura de 40 °C y 90 % de humedad relativa; la misma investigación menciona que el vidrio es el material que otorga más esperanza de vida útil a los productos.

#### 4.4. CONCLUSIONES

-Se obtuvo un extracto seco mediante la decocción de las hojas de *I. guayusa* aplicando la tecnología de *Spray drying*, con un rendimiento de 3.18 %; el bajo rendimiento obtenido se debió a la baja concentración de sólidos en el extracto acuoso. Considerando el efecto negativo de los factores tiempo y relación sólido líquido sobre la extracción de polifenoles totales, las condiciones óptimas para maximizar el contenido de cafeína fueron 0 % de ácido cítrico y 15 g de hojas secas de guayusa en 100 ml de agua llevadas a decocción por 30 minutos. La concentración de ácido cítrico resultó ser no significativa en la extracción de polifenoles totales, y significativo con efecto negativo en la extracción de cafeína.

- Los parámetros iniciales de olor, sabor, color y aspecto del extracto seco obtenido por *Spray drying* fueron típicos a guayusa, en lo que se refiere a los parámetros físico-químicos, los valores de pH, solubilidad y contenido de humedad se encontraron dentro del rango aceptable propuesto por la norma NTE INEN 1122:2013 perteneciente al café soluble. Los valores más altos de cafeína y polifenoles totales fueron respectivamente 323.91 mg/L y 411.381 mg equivalentes al ácido gálico por cada 100 ml de extracto acuoso.

- En la estabilidad del extracto seco, el olor, sabor, color y solubilidad total en agua caliente no sufrieron ningún cambio bajo la influencia de la temperatura ambiente y 40 °C por el tiempo de 21 días; no obstante, el aspecto, pH y contenido de humedad tuvieron leves variaciones. La humedad relativa afectó las muestras almacenadas a temperatura ambiente, por ello, el contenido de humedad y el aspecto en el extracto seco después de los 21 días no cumplieron con los requerimientos especificados en las normativas NTE INEN 1122:2013 y NTE INEN 1122:2000 pertenecientes al café soluble, no obstante, las muestras almacenadas a 40 °C cumplieron estrictamente con los rangos aceptables propuestos por las normativas mencionadas anteriormente, considerando por lo tanto, que las muestras son aptas para ser consumidas en este periodo de tiempo.

#### **4.5. RECOMENDACIONES**

- Profundizar con nuevas investigaciones el estudio de estabilidad considerando importante realizar un sellado el envase de vidrio utilizado con el fin de proteger el producto de la humedad relativa.
- Investigar la influencia de factores relacionados a la botánica de la planta y condiciones del entorno de la planta (altitud, suelo, entre otros) sobre la extracción de cafeína y polifenoles totales.
- Realizar un estudio sobre costos de producción con el fin de determinar la rentabilidad del proceso *Spray drying*.



## BILIOGRAFÍA

- Abraham-Juárez M R, M.-S. G. (2018). Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos estimación de la vida de anaquel mediante pruebas aceleradas en fresa entera en bolsa de polietileno y pulpa de fresa congelada. *Investigación y Desarrollo En Ciencia y Tecnología de Alimentos.*, 1(1), 636–640.
- Acevedo Correa, D., Montero Castillo, P., & Torres Díaz, S. (2018). pérdida de humedad y absorción de aceite en la fritura a vacío de un producto cárnico tipo chorizo con incorporación de harina de garbanzo (*cicer arietum*). *@limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 15(2), 5. <https://doi.org/10.24054/16927125.v2.n2.2017.2964>
- Alarcón, M. E. T., Conde, C. G., & Mendez, G. L. (2019). Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill. *Revista Cubana de Farmacia*, 52(1), 12. <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/266/206>
- Álvarez, R., & Luna, S. (2020). UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA. *Facultad de Ciencias de La Tierra*, 61. <https://repositorio.uea.edu.ec/bitstream/123456789/864/1/T.AGROIN.B.UEA.2102.pdf>
- Anderson, M. J., & Whitcomb, P. J. (2016). Rsm simplified: Optimizing processes using response surface methods for design of experiments. *RSM Simplified: Optimizing Processes Using Response Surface Methods for Design of Experiments, Second Edition*, 1–295. <https://doi.org/10.1201/9781315382326/RSM-SIMPLIFIED-MARK-ANDERSON-PATRICK-WHITCOMB>
- Antonio-Irineo, N., Flota-Bañuelos, C., Hernández-Marín, A., Arreola-Enríquez, J., Fraire-Cordero, S., Antonio-Irineo, N., Flota-Bañuelos, C., Hernández-Marín, A., Arreola-Enríquez, J., & Fraire-Cordero, S. (2021). Estudio preliminar sobre la inhibición in vitro de nematodos gastrointestinales de ovinos con extractos acuosos de plantas forrajeras. *Abanico Veterinario*, 11(3), 1–15. <https://doi.org/10.21929/ABAVET2021.10>
- Aragüez, Y., Pino, J. A., & Fundora-Quijada, S. (2020). Desarrollo de un saborizante microencapsulado de caramelo mediante secado por aspersion. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 30(1), 1–6. <https://www.revcitecal.iiia.edu.cu/revista/index.php/RCTA/article/view/81>
- Archbold Taylor, G., Beltran Torres, H., Ruiz, F., Narducci Marin, M., Mendez Chaves, Di., Trujillo Arboleda, L., Parra, C., Carrillo, H., & Mouazen, A. M. (2019). PH Measurement IoT System for Precision Agriculture Applications. *IEEE Latin America Transactions*, 17(5), 823–832. <https://doi.org/10.1109/TLA.2019.8891951>
- Arteaga-Crespo, Y., Radice, M., Bravo-Sanchez, L. R., García-Quintana, Y., & Scalvenzi, L. (2020). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic antioxidants from *Ilex guayusa* Loes. leaves using response surface methodology. *Heliyon*, 6(1), e03043. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e03043>

- Bega, J. M. M., de Oliveira, J. N., Albertin, L. L., & Isique, W. D. (2021). Use of caffeine as an indicator of pollution by domestic sewage in urban water bodies. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 26(2), 381–388. <https://doi.org/10.1590/s1413-415220190084>
- Camayo-Lapa, B. F., Quispe-Solano, M. Á., Cruz-Porta, E. A. D. La, Manyari-Cervantes, G. M., Espinoza-Silva, C. R., Cruz, A. R. H.-D. La, Camayo-Lapa, B. F., Quispe-Solano, M. Á., Cruz-Porta, E. A. D. La, Manyari-Cervantes, G. M., Espinoza-Silva, C. R., & Cruz, A. R. H.-D. La. (2020). Compota de zapallo (Cucúrbita máxima Dutch.) para infantes, funcional, de bajo costo, sin conservantes y de considerable tiempo de vida útil: características reológicas, sensoriales, fisicoquímicas, nutritivas y microbiológicas. *Scientia Agropecuaria*, 11(2), 203–212. <https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2020.02.07>
- Cardona, L. F., Faúndez, C. A., Valderrama, J. O., Cardona, L. F., Faúndez, C. A., & Valderrama, J. O. (2019). Concepto de Similitud Geométrica para la Correlación de la Solubilidad Mutua en Mezclas Parcialmente Miscibles de Líquidos Iónicos + Alcohol. *Información Tecnológica*, 30(3), 307–318. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642019000300307>
- Cardona Tangarife, D. P., Patiño Arias, L. P., & Ormaza Zapata, A. M. (2021). Aspectos tecnológicos de la microencapsulación de compuestos bioactivos en alimentos mediante secado por aspersion. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 22(1), 1–21. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol22\\_num1\\_art:1899](https://doi.org/10.21930/rcta.vol22_num1_art:1899)
- Castañón-Rodríguez, J. F., Soto-Gómez, M. G., Uresti-Marín, R. M., Castañón-Rodríguez, J. F., Soto-Gómez, M. G., & Uresti-Marín, R. M. (2020). Evaluación de la estabilidad de cápsulas de jugo de naranja obtenidas mediante gelificación iónica. *CienciaUAT*, 14(2), 117–132. <https://doi.org/10.29059/CIENCIAUAT.V14I2.1285>
- Chankuap, F. (2014). *Manual de buenas practicas de la Guayusa*. <https://aprenderly.com/doc/1800702/manual-de-buenas-practicas-de-la-guayusa>
- Chianese, G., Golin-Pacheco, S. D., Tagliatalata-Scafati, O., Collado, J. A., Munoz, E., Appendino, G., & Pollastro, F. (2019). Bioactive triterpenoids from the caffeine-rich plants guayusa and maté. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 115, 504–510. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2018.10.005>
- Covarrubias, N., Sandoval, S., Vera, J., Núñez, C., Alfaro, C., Lutz, M., Covarrubias, N., Sandoval, S., Vera, J., Núñez, C., Alfaro, C., & Lutz, M. (2020). Contenido de humedad, proteínas y minerales en diez variedades de quínoa chilena cultivadas en distintas zonas geográficas. *Revista Chilena de Nutrición*, 47(5), 730–737. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182020000500730>
- Cruz-Bacab, L., Baeza-Mendoza, L., Pérez-Robles, L., & Martínez-Molina, I. (2018). Evaluación sensorial de embutido tipo chorizo a base de carne de conejo. *Abanico Veterinario*, 8(1), 102–111. <https://doi.org/10.21929/ABAVET2018.81.10>

- Cuasapud, L. A. G., & Barrera, M. G. (2020). reconocimiento de metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Ilex guayusa* Loes. @*limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 18(1), 22–33. <https://doi.org/10.24054/16927125.V1.N1.2020.4145>
- David, J., Felipe, A., Marcela, Y., & Luna, Y. (2019). Estudio de estabilidad acelerado en café verde: una aproximación sensorial. *Revista Lasallista de Investigación*, 16(1), 93–102. <https://doi.org/10.22507/rli.v16n1a13>
- García-Ruiz, A., Baenas, N., Benítez-González, A. M., Stinco, C. M., Meléndez-Martínez, A. J., Moreno, D. A., & Ruales, J. (2017). Guayusa (*Ilex guayusa* L.) new tea: phenolic and carotenoid composition and antioxidant capacity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(12), 3929–3936. <https://doi.org/10.1002/JSFA.8255>
- Guevara, D. I. (2018). Elaboración de una bebida potencialmente funcional a partir de la hoja de aguacate (*Persea americana*). *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias*, 4(1). <http://www.rcfa.uh.cu/index.php/RCFA/article/view/126>
- Guzmán-Hincapié, J. C., Zapata, J. E., Guzmán-Hincapié, J. C., & Zapata, J. E. (2018). Propiedades Termodinámicas e Isotermas de Sorción de Sales con Interés Alimentario. *Información Tecnológica*, 29(3), 105–120. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642018000300105>
- Inen. (2000). *NTE INEN 1122:2000* - *Buscar*. <https://www.bing.com/search?q=NTE+INEN+1122%3A2000&cvid=8e8e449eb4794588a11e82f3adb7dd82&aqs=edge..69i57.367j0j4&FORM=ANAB01&PC=HCTS>
- INEN. (2013). *NTE INEN 1122:2013* - *Buscar*. [https://www.bing.com/search?q=NTE+INEN+1122%3A2013&qsn=n&form=QBRE&msb\\_srank=0\\_0\\_0&sp=-1&pq=nte+inen+1122%3A2013&sc=0-18&sk=&cvid=B3B791B2FC964FEE84623FE36CF809B3](https://www.bing.com/search?q=NTE+INEN+1122%3A2013&qsn=n&form=QBRE&msb_srank=0_0_0&sp=-1&pq=nte+inen+1122%3A2013&sc=0-18&sk=&cvid=B3B791B2FC964FEE84623FE36CF809B3)
- Justus, A., de Toledo Benassi, M., Ida, E. I., & Kurozawa, L. E. (2020). Physical and chemical stability of microencapsulated okara protein hydrolysate by spray drying. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.13519>
- Leiram, L. S., Ángel Francisco, L. A., & Juan Antonio, F. M. (2021). Utilización de plantas medicinales por tutores de residentes de Medicina General Integral municipio Arroyo Naranjo. *I Jornada Científica de Farmacología y Salud. Farmaco Salud Artemisa 2021*. <https://farmasalud2021.sld.cu/index.php/farmasalud/2021/paper/view/173>
- López-Gálvez, F., & Gil, M. I. (2020). La importancia del agua en la industria de alimentos vegetales. *Arbor*, 196(795), e547–e547. <https://doi.org/10.3989/ARBOR.2020.795N1011>
- López, C., González Gallardo, C., Guerrero Ochoa, M. J., Mariño, G., Jácome, B., Beltrán Sinchiguano, E., López, C., González Gallardo, C., Guerrero Ochoa, M. J., Mariño, G., Jácome, B., & Beltrán Sinchiguano, E. (2019). estudio de la estabilidad de los antioxidantes del vino de flor de jamaica (*hibiscus sabdariffa* l) en el almacenamiento. *la granja. revista de ciencias de la vida*, 29(1), 105–118. <https://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.09>

- Madrid, C. T., Romero, H. A., Carrascal, M. R., Petro, K. G., Ortíz, M. R., & Martínez, M. P. (2019). Prevalencia y patrones de consumo de bebidas energizantes en estudiantes en una universidad colombiana. *Revista Salud Bosque*, 9(1), 7–15. <https://doi.org/10.18270/RSB.V9I1.2637>
- Malleapaza, J., & Ramires, E. (2020). Conocimiento y consumo de bebidas energizantes, en estudiantes de la escuela Profesional de Ingeniería Ambiental de una universidad privada de Lima Este. *Revista Científica de Ciencias de La Salud*, 13(1), 73–78. [https://revistas.upeu.edu.pe/index.php/rc\\_salud/article/view/1349/1690](https://revistas.upeu.edu.pe/index.php/rc_salud/article/view/1349/1690)
- Martínez, G., Audisio, C., Luján, M. C., & Martinez, G. (2021). Boletín latinoamericano y del caribe de plantas medicinales y aromáticas las plantas medicinales, patrimonio natural y cultural de la reserva hídrica natural y recreativa bamba, la calera, córdoba, argentina [medicinal plants, natural and cultural heritag. *BLACPMA*, 3(2), 33. <https://doi.org/10.37360/blacpma.21.20.3.21>
- Mendoza, L., Marco, G., Gonzalo, C. V., Ali, A. K. C., Rosales, A., Chávez, R., Bruno, S., & Alvarado, G. F. (2021). Uso de bebidas energizantes y síntomas de insomnio en estudiantes de medicina de una universidad peruana. *Revista Chilena de Neuro-Psiquiatría*, 59(4), 289–301. <https://doi.org/10.4067/S0717-92272021000400289>
- Ocampo, J. (2018). *Determinación de la vida de anaquel del café soluble elaborado por la empresa Decafé S.A. y evaluación del tipo de empaque en la conservación del producto*. [https://www.researchgate.net/publication/38975495\\_Determinacion\\_de\\_la\\_vida\\_de\\_anaquel\\_del\\_cafe\\_soluble\\_elaborado\\_por\\_la\\_empresa\\_Decafe\\_SA\\_y\\_evaluacion\\_del\\_tipo\\_de\\_empaque\\_en\\_la\\_conservacion\\_del\\_producto](https://www.researchgate.net/publication/38975495_Determinacion_de_la_vida_de_anaquel_del_cafe_soluble_elaborado_por_la_empresa_Decafe_SA_y_evaluacion_del_tipo_de_empaque_en_la_conservacion_del_producto)
- Ortiz López, M., Delgado-Alvarado, A., Herrera-Cabrera, B. E., Árevalo-Galarza, M. de L., & Barrera-Rodríguez, A. I. (2019). Efecto de dos métodos de secado en los compuestos fenólicos totales, L-DOPA y la actividad antioxidante de Vicia faba L. *Nova Scientia*, 11(23), 198–219. <https://doi.org/10.21640/ns.v11i23.2093>
- Pardau, M. D., P Pereira, A. S., Apostolides, Z., Serem, J. C., & Bester, M. J. (2017). Antioxidant and anti-inflammatory properties of Ilex guayusa tea preparations: a comparison to Camellia sinensis teas. *Food & Function*, 4601–4610.
- Paternina-Sierra, K., Acevedo-Correa, D., Montero-Castillo, P. M., Paternina-Sierra, K., Acevedo-Correa, D., & Montero-Castillo, P. M. (2018). Evaluación de la Vida Útil de una Pasta de Ajonjolí Azucarada mediante Pruebas Aceleradas. *Información Tecnológica*, 29(4), 3–12. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642018000400003>
- Pingus, J. E., Silva, E. A. A., & Armas, E. A. T. (2021). Efecto del porcentaje de ácido cítrico sobre los cambios fisicoquímicos de Cyphomandra betacea s. en poscosecha. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 3(2), 41–46. <https://doi.org/10.25127/UCNI.V3I2.613>

- Pro-Ecuador. (2016). *Boletín de Comercio Exterior Agosto- Septiembre by PRO ECUADOR - Issuu*. [https://issuu.com/pro-ecuador/docs/proec\\_ic\\_06\\_67](https://issuu.com/pro-ecuador/docs/proec_ic_06_67)
- Puma Isuiza, G., Liñan Perez, J., Coavoy Sánchez, I., Coronado Olano, J., Salas, W., & Vargas Delgado, L. (2018). Vida en anaquel de galletas saladas utilizando pruebas aceleradas. *Anales Científicos*, 79(1), 218–225. <https://doi.org/10.21704/ac.v79i1.1166>
- Quispe, F., Villa, Y., Bravo, N., Castro, O., Santiago, J., Guerrero, M., Quispe, F., Villa, Y., Bravo, N., Castro, O., Santiago, J., & Guerrero, M. (2021). Evaluación de la actividad sinérgica entre quitosano de pluma de pota (*Dosidicus Gigas*) y ácido cítrico en el pardeamiento de la pulpa de chirimoya (*Annona Cherimola* Mill.). *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 87(3), 261–277. <https://doi.org/10.37761/RSQP.V87I3.352>
- Radice, M., Bravo, L., Perez, M., Cerda, J., Tapuy, A., Riofrío, A., Neill, D., & Chiurato, M. (2017). Determinación de polifenoles en cinco especies amazónicas con potencial antioxidante. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 6(1), 55–64. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6145606&info=resumen&idioma=SPA>
- Rakić, V., & Poklar Ulrih, N. (2021). Influence of pH on color variation and stability of cyanidin and cyanidin 3-O- $\beta$ -glucopyranoside in aqueous solution. *Http://Mc.Manuscriptcentral.Com/Tcyt*, 19(1), 174–182. <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1874539>
- Ramirez-Tixe, E. E. (2021). Efecto del diámetro de partícula en las propiedades funcionales del polvo de peciolo de brócoli (*Brassica oleracea* L.). *Revista Nor@ndina*, 4(1), 4–13. <https://doi.org/10.37518/2663-6360x2021v4n1p4>
- Ramirez, J. E., Polanco, A. R., & Vallejos, A. M. O. (2021). determinación de la composición química del abono orgánico tipo bocashi a base de estiércoles y residuos de cosecha para uso agrícola en el palmar, municipio de yacuiba. *Odontología Actual*, 2(3). <http://dicyt.uajms.edu.bo/revistas/index.php/odontologia/article/view/94>
- Ramirez, L. A. R., Moreno, E. R., Ortíz, A. I. V., Ruvalcaba, J. C., & Rico, J. A. (2020). Revisión de la composición de las bebidas energizantes y efectos en la salud percibidos por jóvenes consumidores. *Journal of Negative and No Positive Results*, 6(1), 177–188. <https://doi.org/10.19230/JONNPR.3800>
- Romero, D. H., & Parra, G. G. (2019). Bebidas energizantes y sus efectos adversos en la población universitaria. *LOGINN Investigación Científica y Tecnológica 2019, Vol. 3, Pages 8-25, 3(2)*, 8–25. <https://doi.org/10.23850/25907441.2632>
- Schuster, J., & Mitchell, E. S. (2019a). More than just caffeine: psychopharmacology of methylxanthine interactions with plant-derived phytochemicals. In *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* (Vol. 89, pp. 263–274). Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2018.09.005>
- Schuster, J., & Mitchell, E. S. (2019b). More than just caffeine: psychopharmacology of methylxanthine interactions with plant-derived phytochemicals. *Progress in Neuro-*

- Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 89, 263–274.  
<https://doi.org/10.1016/J.PNPBP.2018.09.005>
- Severiano-Pérez, P., & Severiano-Pérez, P. (2019). ¿Qué es y cómo se utiliza la evaluación sensorial? *Inter Disciplina*, 7(19), 47–68.  
<https://doi.org/10.22201/CEIICH.24485705E.2019.19.70287>
- Sirgo Rodríguez, P., Álvarez Menéndez, S., Fernández Gutiérrez, M. J., Barroso Rodilla, J. M., Álvarez Marcos, C. A., Sirgo Rodríguez, P., Álvarez Menéndez, S., Fernández Gutiérrez, M. J., Barroso Rodilla, J. M., & Álvarez Marcos, C. A. (2020). Espesantes comerciales clásicos y de nueva generación. Cualidades organolépticas y utilidad en las pruebas diagnósticas de la disfagia. *Nutrición Hospitalaria*, 37(6), 1201–1208.  
<https://doi.org/10.20960/NH.02934>
- Sosa, Á., Cabrera, M., & Álvarez, M. (2017). Parámetros físicos y características organolépticas de propóleos provenientes de la Provincia de Misiones, Argentina Physical parameters and organoleptic characteristics of propolis from the province of Misiones. *Revista Selva Andina Research Society*, 5(8), 51–58.  
[http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/11587/1/TESIS\\_FINAL\\_DAVID.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/11587/1/TESIS_FINAL_DAVID.pdf)
- Surco Laos, F., Ayquipa Paucar, H., Quispe Gamboa, W., García Ceccarelli, J., & Valle Campos, M. (2020). determinación de polifenoles totales y actividad antioxidante de extracto de semillas de uvas residuos de la producción de piscos. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 86(2), 123–131. <https://doi.org/10.37761/rsqp.v86i2.282>
- Vázquez-Carrillo, M. G., Preciado-Ortíz, R. E., Santiago-Ramos, D., Palacios-Rojas, N., Terrón Ibarra, A., Hernández-Calette, A., Vázquez-Carrillo, M. G., Preciado-Ortíz, R. E., Santiago-Ramos, D., Palacios-Rojas, n., terrón ibarra, a., & hernández-calette, a. (2018). estabilidad del rendimiento y calidad de grano y tortilla de nuevos híbridos de maíz con valor agregado para el subtrópico de méxico. *revista fitotecnica mexicana*, 41(4a), 509–518.  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=s0187-73802018000500509&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0187-73802018000500509&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Villacís-Chiriboga, J., García-Ruiz, A., Baenas, N., Moreno, D. A., Meléndez-Martínez, A. J., Stinco, C. M., Jerves-Andrade, L., León-Tamariz, F., Ortiz-Ulloa, J., & Ruales, J. (2018). Changes in phytochemical composition, bioactivity and in vitro digestibility of guayusa leaves (*Ilex guayusa* Loes.) in different ripening stages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(5), 1927–1934. <https://doi.org/10.1002/JSFA.8675>
- Villacís Chiriboga, J. (2017). Etnobotánica y Sistemas Tradicionales de Salud en Ecuador. Enfoque en la Guayusa (*Ilex Guayusa* Loes). *Etnobiología*, 15(3), 79–88.  
<https://revistaetnobiologia.mx/index.php/etno/article/view/129>
- Wise, G., & E. Santander, D. (2018a). Comparative Composition Analysis of the Dried Leaves of *Ilex guayusa* (Loes.). *Journal of Food and Nutrition Research*, 6(10), 638–644.  
<https://doi.org/10.12691/jfnr-6-10-4>

- Wise, G., & E. Santander, D. (2018b). Assessing the History of Safe Use of Guayusa. *Journal of Food and Nutrition Research*, 6(7), 471–475. <https://doi.org/10.12691/jfnr-6-7-8>
- Wise, G., & Negrin, A. (2019). A critical review of the composition and history of safe use of guayusa: A stimulant and antioxidant novel food. *CRITICAL REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND NUTRITION*, 59(15), 13. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1643286>
- Yaillet, E. :, Carvajal, A., Guerra, L. E., Guerra Rodríguez, L. E., Guadalupe, M., Muñoz, V., Carbajal Arízaga, G. G., Matas, C. R., & González Suárez, E. (2018). ALUMINUM HYDROXIDE NANOPARTICLES WITH BAYERITE STRUCTURE IN A CITRIC ACID PRODUCTION PROCESS. *Centro Azúcar*, 45(2), 8–8. <http://centroazucar.uclv.edu.cu>

## ANEXOS



Figura 1: Pesado de guayusa.



Figura 2: Proceso de decocción.



Figura 3: Filtrado en caliente del extracto acuoso.



Figura 4: Desprendimiento de la cafeína.



Figura 5: Determinación de polifenoles totales.



Figura 6: Extracto acuoso rico en cafeína y polifenoles totales.





Figura 7: Proceso de spray drying.



Figura 8: Estudio de estabilidad.



Figura 9: Evaluación de la apariencia, color y olor.

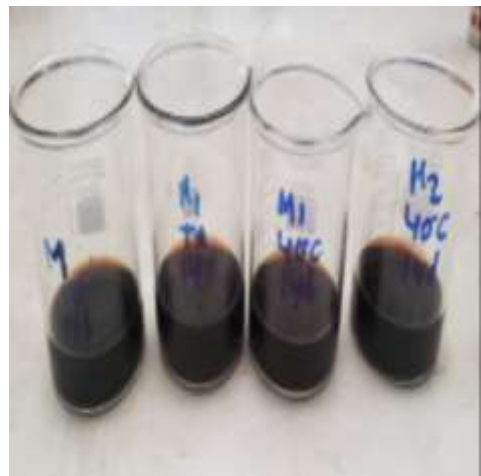


Figura 10: Solubilidad en caliente.



Figura 11: Medición de pH.

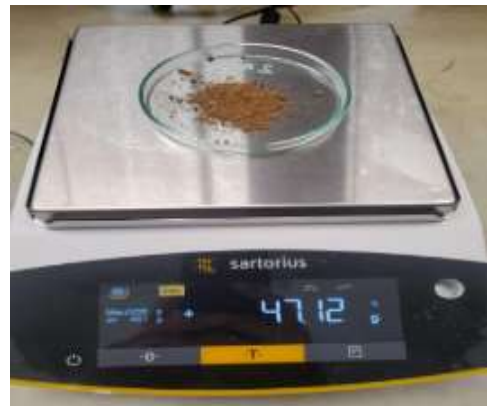


Figura 12: Determinación de humedad por diferencia de peso.

Factor Coding: Actual

**Cafeina**

● Design Points

274.659  299.902

X1 = B

X2 = A

**Actual Factor**

C = 10

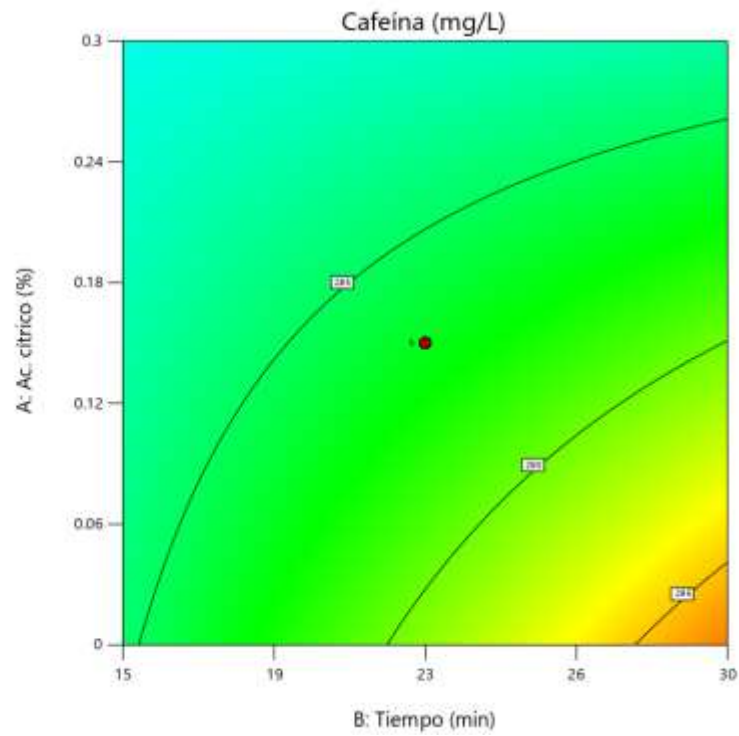


Figura 13: Interacción de los factores Ac. cítrico y tiempo en la extracción de cafeína.

Factor Coding: Actual

**Cafeina**

● Design Points

274.659  299.902

X1 = A

X2 = C

**Actual Factor**

B = 23

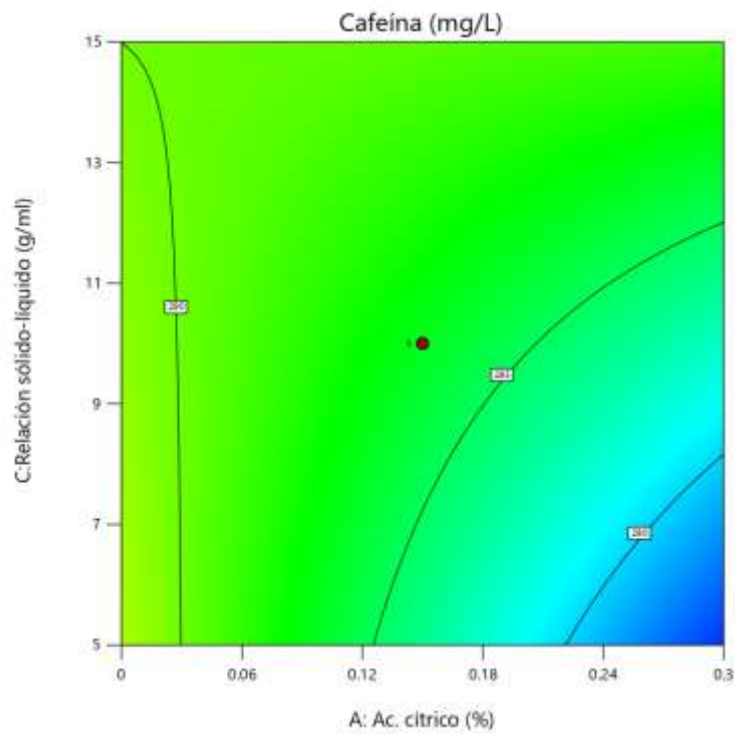


Figura 14: Interacción de los factores Ac. cítrico y relación sólido-líquido en la extracción de cafeína.

Factor Coding: Actual

**Cafeína**

● Design Points

274.659  299.902

X1 = B

X2 = C

**Actual Factor**

A = 0.15

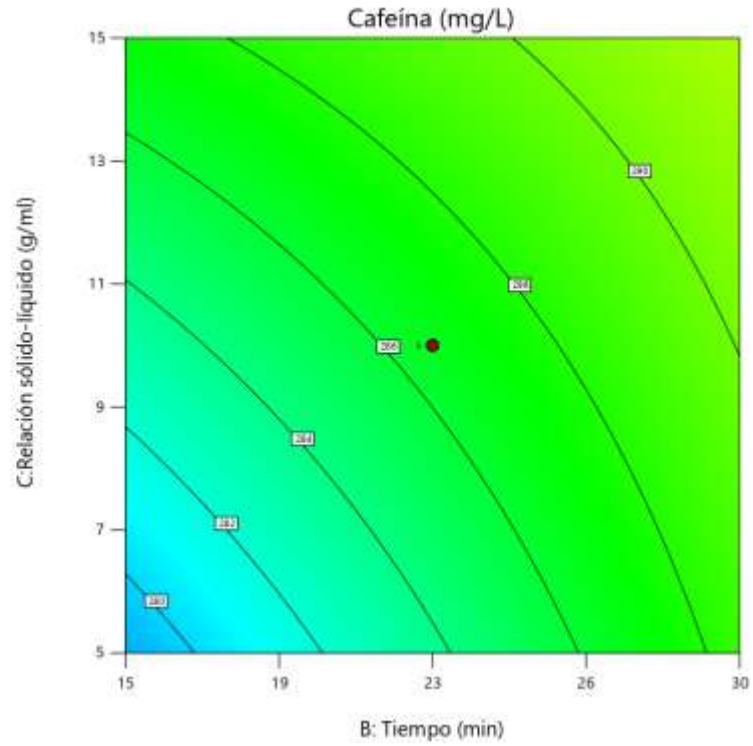


Figura 15: Interacción de los factores tiempo y relación sólido-líquido en la extracción de cafeína.

Factor Coding: Actual

**Polifenoles**

● Design Points

327.221  407.738

X1 = A

X2 = B

**Actual Factor**

C = 10

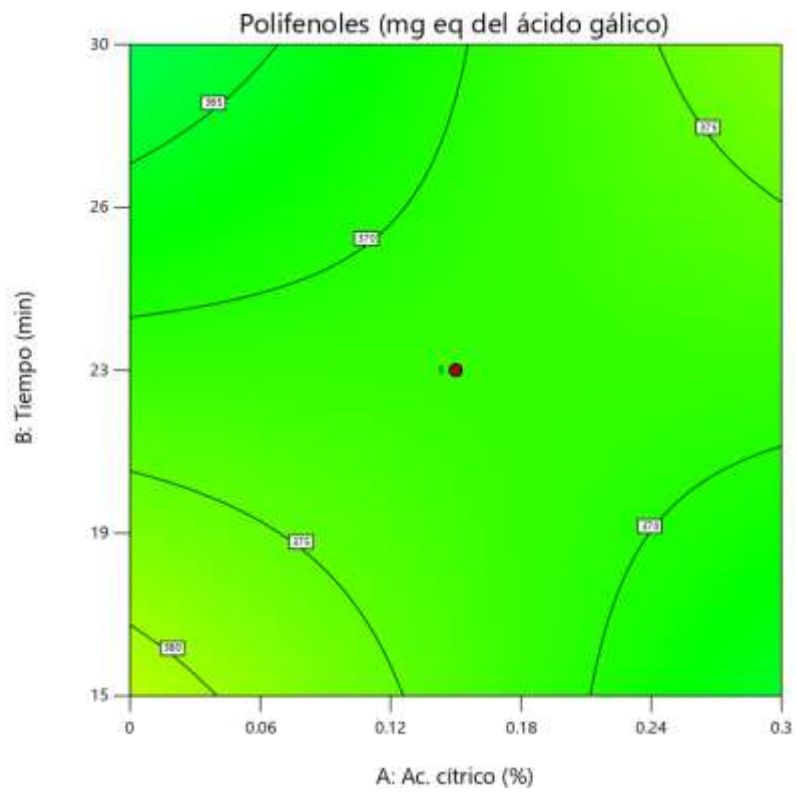


Figura 16: Interacción de los factores Ac. cítrico y tiempo en la extracción de polifenoles.

Factor Coding: Actual

**Polifenoles**

● Design Points

327.221  407.738

X1 = A

X2 = C

**Actual Factor**

B = 23

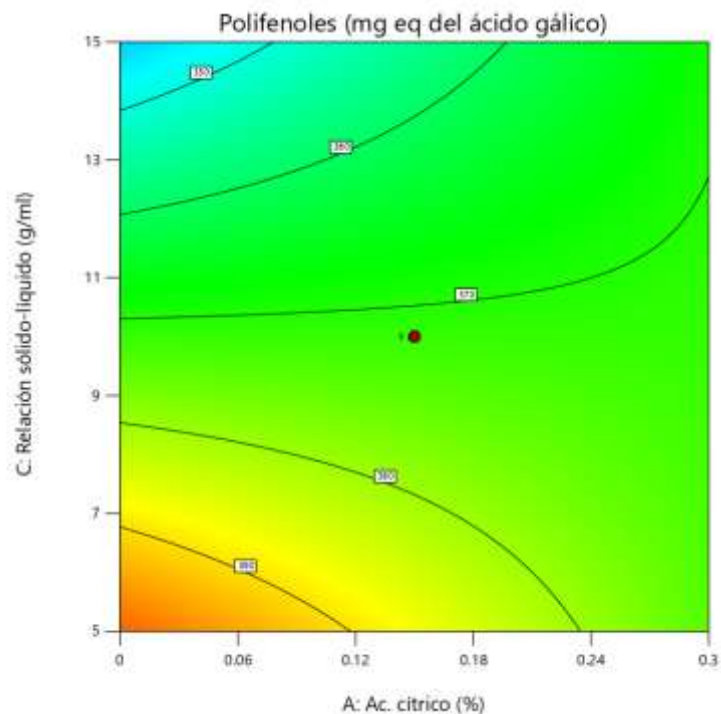


Figura 17: Interacción de los factores Ac. cítrico y relación-sólido líquido en la extracción de polifenoles.

Fa

**Polifenoles**

● Design Points

327.221  407.738

X1 = B

X2 = C

**Actual Factor**

A = 0.15

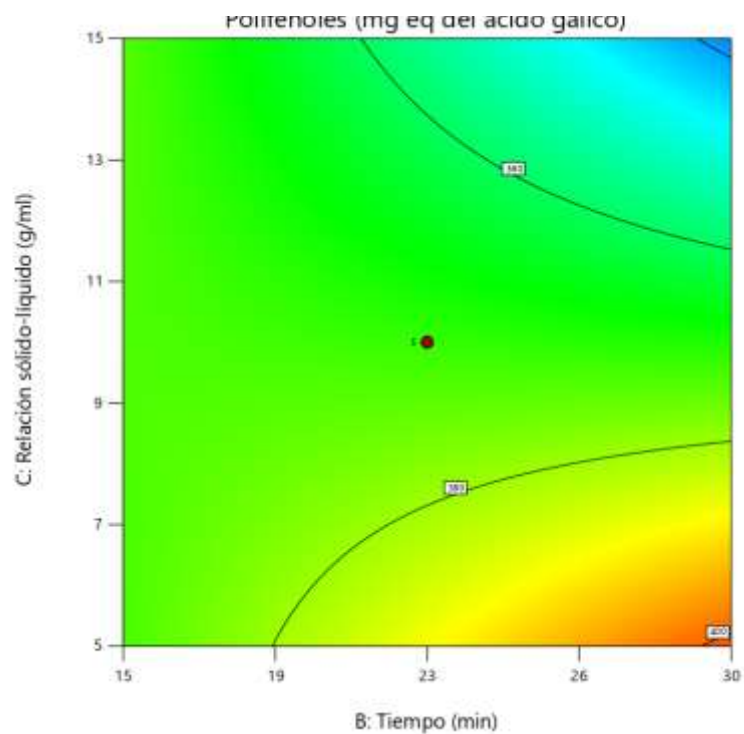


Figura 18: Interacción de los factores tiempo y relación sólido-líquido en la extracción de polifenoles.