



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA E
INDUSTRIAS**

CARRERA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS

**ESTUDIO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO
DE POLIFENOLES EN LA EXTRACCIÓN ACUOSA DE LAS
HOJAS DE GUAYUSA (*Ilex Guayusa Loes*) DESHIDRATADA.**

**TRABAJO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERA DE ALIMENTOS**

STEFANY BELÉN VALLEJO SILVA

DIRECTORA: ING. ELENA BELTRÁN

Quito, Agosto, 2016

© Universidad Tecnológica Equinoccial. 2016
Reservados todos los derechos de reproducción

FORMULARIO DE REGISTRO BIBLIOGRÁFICO

PROYECTO DE TITULACIÓN

DATOS DE CONTACTO	
CÉDULA DE IDENTIDAD:	0502156714
APELLIDO Y NOMBRES:	VALLEJO STEFANY BELÉN
DIRECCIÓN:	SAN FERNANDO
EMAIL:	stefybvallejo@hotmail.com
TELÉFONO FIJO:	
TELÉFONO MOVIL:	0998930901

DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	Estudio de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en la extracción acuosa de las hojas de guayusa (Ilex guayusa Loes) deshidratada.
AUTOR O AUTORES:	Stefany Belén Vallejo Silva
FECHA DE ENTREGA DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	
DIRECTOR DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	Ing. Elena Beltrán
PROGRAMA	PREGRADO <input checked="" type="checkbox"/> POSGRADO <input type="checkbox"/>
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniera de Alimentos
RESUMEN:	En la presente investigación se utilizó hojas deshidratada de guayusa, en dos presentaciones, triturada y polvo; las muestras fueron tratadas con diferentes procesos para su obtención. Estas fueron

proporcionadas por la empresa Runatarpuna ubicada en la zona de Archidona, Tena. Para la obtención de los extractos acuosos de hojas trituradas y polvo de guayusa se realizaron a 20 °C y 50 °C; a diferentes formulaciones. Estas formulaciones se obtuvieron luego de realizar pruebas preliminares en las que se determinó que la cantidad de agua sea suficiente para hidratar la guayusa y que se produzca la extracción de los compuestos de interés, de esta manera se pudo realizar los diferentes análisis para la determinación de capacidad antioxidantes y contenido polifenoles por los métodos de ABTS y Folin-Ciocalteu respectivamente. Al ser sometidos los extractos a diferentes temperaturas y mediante los resultados expuestos, se puede concluir que los extractos realizados a 50 °C contienen una mayor estabilidad que los extractos sometidos a 20 °C, a excepción de los extractos de polvo de hojas deshidratadas de guayusa en donde su capacidad antioxidante va disminuyendo con el tiempo, esto se debe a que la temperatura ayuda a la saturación

	<p>rápida de los extractos y afecta negativamente a la extracción por la mayor exposición de las partículas a la superficie y los tiempos prolongados a los que fueron realizados.</p>
ABSTRACT:	<p>Guayusa dried leaves was used in two presentations, in this investigation crushed and dust; the samples were treated with various processes for their preparation. These were provided by the company Runatarpuna located in the area of Archidona, Tena. For obtaining aqueous extracts and ground leaf powder guayusa they were performed at 20 °C and 50 °C; different formulations. These formulations were obtained after preliminary trials in which it was determined that the amount of water sufficient to hydrate guayusa and extraction of compounds of interest, this menara occur could perform different analyzes for the determination of antioxidant capacity and polyphenol content by ABTS method and Folin-Ciocalteu respectively. When subjected extracts at different temperatures and using the results shown, it can be concluded</p>

that extracts made at 50 °C containing greater stability extracts subjected to 20 °C, except for dust extracts dried leaves guayusa where its antioxidant capacity decreases with forme time elapses, this is because the temperature helps rapid saturation of the extracts and negatively extraction affects the increased exposure of the particles to the surface and prolonged the they were made.

Se autoriza la publicación de este Proyecto de Titulación en el Repositorio Digital de la Institución.



STEFANY BELÉN VALLEJO SILVA

CI: 0502156714

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **VALLEJO SILVA STEFAN BELÉN**, CI 0502156714 autora del proyecto titulado: **"Estudio de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en la extracción acuosa de las hojas de guayusa (Ilex guayusa Loes) deshidratada"** previo a la obtención del título de **Ingeniera de Alimentos** en la Universidad Tecnológica Equinoccial.

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las Instituciones de Educación Superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la BIBLIOTECA de la Universidad Tecnológica Equinoccial a tener una copia del referido trabajo de graduación con el propósito de generar un Repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Quito, 9 de agosto de 2016



STEFANY BELÉN VALLEJO SILVA

CI: 0502156714

DECLARACIÓN

Yo **STEFANY BELÉN VALLEJO SILVA**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Tecnológica Equinoccial puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.



STEFANY BELÉN VALLEJO SILVA

CI. 0502156714

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo que lleva por título "**Estudio de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en la extracción acuosa de las hojas de guayusa (Ilex guayusa Loes) deshidratada**" que, para aspirar al título de **Ingeniera de Alimentos** fue desarrollado por **STEFANY BELÉN VALLEJO SILVA**, bajo mi dirección y supervisión, en la Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias; y cumple con las condiciones requeridas por el reglamento de Trabajos de Titulación artículos 19, 27 y 28.



Ing. Elena Beltrán

Ci: 1710472125

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico con todo mi amor a mi madre, ya que gracias a su apoyo, lucha y perseverancia pudo ayudarme a cumplir una más de mis metas, supo darme palabras de aliento en el momento preciso y apretar mi mano cuando estaba punto de caer. Se la dedico a ella, porque mis metas son nuestras metas y mis logros son nuestros logros, gracias madre mía por jamás abandonarme.

A toda mi familia que estuvo a lo largo de todo mi camino con su apoyo y paciencia.

AGRADECIMIENTO

A Dios por la salud y la sabiduría para culminar una más de mis metas.

A mis padres por apoyarme siempre a lo largo de todo mi camino.

Al Lic. Marcelo Tapia por darme el apoyo y la fuerza necesaria para seguir mi senda sin decaer.

A Eduardo Revelo por ser la persona quien estuvo a mi lado a lo largo de todo el trabajo, presente con su cariño, paciencia, comprensión y apoyo incondicional para culminar una más de mis metas.

A la Ing. Elena Beltrán por darme la oportunidad de desarrollar este trabajo de investigación y poder guiarme para lograr culminarlo.

A mis amigos, Rita; Daniel, Vanessa, Sarai, Xavier, Cinthia, y todos los que estuvieron a mi lado a lo largo de mi vida universitaria.

INDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1. GENERALIDADES	3
2.1.2. DATOS TAXONÓMICOS	4
2.1.3. DATOS MORFOLÓGICOS	4
2.1.3. VARIEDADES DE LA GUAYUSA	5
2.1.4. ZONAS DE PRODUCCIÓN	6
2.1.5. PROPIEDADES DE LA GUAYUSA	6
2.1.6. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL	7
2.2. EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS	8
2.2.1. MÉTODOS	9
2.2.2. TIPOS DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS	12
2.2.3. PARÁMETROS	14
2.3. RADICALES LIBRES	15
2.4. ANTIOXIDANTES	16
2.4.1. ANTIOXIDANTES PRESENTES EN LA GUAYUSA	17
2.4.2. CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES	17
2.4.3. FUNCIONES DE LOS ANTIOXIDANTES	18

	PÁGINA
2.4.4. FUENTES DE ANTIOXIDANTES EN ALIMENTOS	20
2.5. POLIFENOLES	21
2.6. CAFEÍNA	22
2.6.1. CAFEÍNA PRESENTE EN LA GUAYUSA	23
3. METODOLOGÍA	24
3.1. MATERIA PRIMA	24
3.2. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LA MATERIA PRIMA	24
3.3. PROCESO DE EXTRACCIÓN	25
3.4. DETERMINACIÓN DE ANTIOXIDANTES Y POLIFENOLES	26
3.4.1. MÉTODO ABTS	26
3.4.2. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES	26
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
4.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LAS HOJAS DESHIDRATADAS DE GUAYUSA	28
4.1.1. HOJAS DESHIDRATADAS Y TRITURADAS DE GUAYUSA	28
4.1.2. POLVO DE HOJAS DESHIDRATAS DE GUAYUSA	29
4.1.3. CONTENIDO DE CAFEÍNA DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS	30
4.2 ANÁLISIS DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE HOJAS DESHIDRATDAS Y TRITURADAS DE GUAYUSA	31
4.3 ANÁLISIS DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE POLVO DE HOJAS DE GUAYUSA DESHIDRATADA	36

	PÁGINA
4.4 ANÁLISIS DE CONTENIDO DE POLIFENOLES DE HOJAS DESHIDRATADAS Y TRITURADAS DE GUAYUSA	40
4.5 ANÁLISIS DE CONTENIDO DE POLIFENOLES DE POLVO DE HOJAS DE GUAYUA DESHIDRATADA	45
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	49
5.1. CONCLUSIONES	49
5.2. RECOMENDACIONES	50
BIBLIOGRAFÍA	51
ANEXOS	57

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla 1. Taxonomía de la guayusa	4
Tabla 2. Morfología de la planta de guayusa	5
Tabla 3. Principales variedades del género <i>ilex</i>	5
Tabla 4. Parámetros para realizar extracciones	14
Tabla 5. Función y localización de diferentes antioxidantes enzimáticos	19
Tabla 6. Función de antioxidantes no enzimáticos	19
Tabla 7. Fuentes de antioxidantes en los alimentos	20
Tabla 8. Principales fuentes alimenticias de polifenoles	22
Tabla 9. Análisis físico-químico y métodos realizados en la caracterización de hojas deshidratadas de guayusa trituradas y en polvo	24
Tabla 10. Formulación, porcentaje de peso y temperatura a las que las hojas deshidratadas de guayusa triturada y polvo fueron tratadas.	25
Tabla 11. Resultados de análisis físico-químicos de las hojas deshidratadas y trituradas de guayusa	28
Tabla 12. Resultados de análisis físico-químicos del polvo de hojas deshidratadas de guayusa	29
Tabla 13. Porcentaje de contenido de cafeína de los mejores extractos acuosos obtenidos	30

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. Hojas de guayusa	3
Figura 2. Obtención de extracto etanólico	9
Figura 3. Proceso de destilación simple	10
Figura 4. Extracción discontinua con disolvente	11
Figura 5. Extracción continua con disolvente	12
Figura 6. Neutralización del radical libre por un antioxidante	15
Figura 7. Fracción de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 20 °C con respecto al tiempo.	31
Figura 8. Valores de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 20 °C con respecto al tiempo.	32
Figura 9. Fracción de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de hojas deshidratadas y triturada de guayusa a 50 °C con respecto al tiempo.	33
Figura 10. Comparación de valores de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 50 °C con respecto al tiempo.	33
Figura 11. Fracción de capacidad antioxidante de extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa (10.1% peso de guayusa) entre 20 °C y 50 °C	34
Figura 12. Comparación de valores de capacidad antioxidante de extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa (10.1% peso de guayusa) entre 20 °C y 50 °C.	35
Figura 13. Fracción de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de polvo de hojas de guayusa deshidratadas a 20 °C con respecto al tiempo.	36

Figura 14. Comparación de los valores de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de polvo de hojas de guayusa deshidratadas a 20 °C con respecto al tiempo.	37
Figura 15. Fracción de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de polvo de hojas de guayusa deshidratadas a 50 °C con respecto al tiempo.	38
Figura 16. Comparación de los valores de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de polvo de hojas de guayusa deshidratadas a 50 °C con respecto al tiempo.	39
Figura 17. Fracción de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 20 °C con respecto al tiempo.	41
Figura 18. Comparación de los valores de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 20 °C con respecto al tiempo.	42
Figura 19. Fracción de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 50 °C con respecto al tiempo.	43
Figura 20. Comparación de los valores de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 50 °C con respecto al tiempo.	43
Figura 21. Contenido de polifenoles del extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa (8.1% peso de guayusa) entre 20 °C y 50 °C.	44
Figura 22. Comparación de los valores de contenido de polifenoles del extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa (8.1% peso de guayusa) entre 20 °C y 50 °C.	45
Figura 23. Fracción de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de polvo de hojas deshidratadas de guayusa a 20 °C con respecto al tiempo.	46

	PÁGINA
Figura 24. Comparación de valores de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de polvo de hojas deshidratadas de guayusa a 20 °C con respecto al tiempo.	47
Figura 25. Fracción de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de polvo de hojas deshidratadas de guayusa a 50 °C con respecto al tiempo.	47
Figura 26. Comparación de valores de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de polvo de hojas deshidratadas de guayusa a 50 °C con respecto al tiempo.	48

TABLA DE ANEXOS

	PÁGINA
ANEXO I	57
Análisis fisico-químico de las hojas deshidratadas y trituradas de guayusa	
ANEXO II	58
Contenido de cafeína de las hojas deshidratadas y trituradas de guayusa	
ANEXO III	59
Análisis fisico-químico del polvo de hojas de guayusa deshidratadas	
ANEXO IV	60
Contenido de cafeína del polvo de hojas de guayusa deshidratadas	
ANEXO V	61
Contenido de cafeína hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 20 °C	
ANEXO VI	62
Contenido de cafeína de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 50 °C	
ANEXO VII	63
Contenido de cafeína de polvo de hojas deshidratadas de guayusa a 20 °C	
ANEXO VIII	64
Contenido de cafeína de polvo de hojas deshidratadas de guayusa a 50 °C	

	PÁGINA
ANEXO IX	65
Tabla fracción de capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 20 °C	
ANEXO X	66
Tabla fracción de capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 50 °C	
ANEXO XI	67
Tabla fracción de capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de polvo de hojas deshidratadas de guayusa a 20 °C	
ANEXO XII	68
Tabla fracción de capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de polvo de hojas deshidratadas de guayusa a 50 °C	

RESUMEN

La Guayusa (*Ilex guayusa* Loes) es un árbol de hojas largas y anchas, dentelladas y sólidas. Los nativos pertenecientes a las zonas en las que se cultiva dicha planta la consideran como una planta sagrada que encierra mitos y diferentes tradiciones culturales amazónicas, que la idealizan como una fuente de vida, pues sus hojas contienen una gran variedad de propiedades energéticas y medicinales tales como: estimulante nervioso y muscular, digestivo y ayuda a limpieza de estómago e intestinos, actúa como anti inflamatorio y contra la infertilidad. En la presente investigación se utilizó hojas de guayusa deshidratada, en dos presentaciones, triturada y polvo; las muestras fueron tratadas con diferentes procesos para su obtención, estas fueron proporcionadas por la empresa Runatarpuna ubicada en la zona de Archidona, Tena. Para la obtención de los extractos acuosos de las hojas de guayusa trituradas y polvo se aplicaron dos temperaturas a 20 °C y 50 °C durante un transcurso de 4 horas y a diferentes formulaciones. Estas formulaciones se establecieron luego de realizar pruebas preliminares en las que se determinó que la cantidad de agua sea suficiente para hidratar la guayusa y que se produzca la extracción de los compuestos de interés. Una vez establecidos estos parámetros se procedió a determinar capacidad antioxidantes y contenido de polifenoles por los métodos de ABTS y Folin-Ciocalteu respectivamente. Concluyendo que los extractos con mayor capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en el caso de polvo de hojas deshidratadas de guayusa son los extractos con menor concentración, mientras que para las hojas deshidratadas y trituradas de guayusa los mejores extractos son los que tienen una mayor concentración; esto se estableció gracias a un análisis de varianza ANOVA simple con la prueba de comparación múltiple (LSD) con el 95 % de confiabilidad; las variables independientes fueron: concentración de guayusa, temperatura, tiempo; y las variables dependientes la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles, tanto para las hojas deshidratadas y trituradas como para el polvo de dichas

hojas. Al ser sometidos los extractos a diferentes temperaturas y mediante los resultados expuestos, se puede concluir que los extractos realizados a 50 °C contienen una mayor estabilidad que los extractos sometidos a 20 °C, a excepción de los extractos de polvo de hojas deshidratadas de guayusa en donde su capacidad antioxidante va disminuyendo con forme transcurre el tiempo, esto se debe a que la temperatura ayuda a la saturación rápida de los extractos y afecta negativamente a la extracción por la mayor exposición de las partículas a la superficie y los tiempos prolongados a los que fueron realizados.

ABSTRACT

Guayusa (*Ilex guayusa* Loes) is a tree of long and wide, serrated and solid leaves. The natives belonging to the areas consider it a sacred plant that contains myths and different Amazonian cultural traditions which idealize it as a source of life, due to a variety of energy and medicinal properties such as nerve and muscle stimulant, digestive, stomach and intestines cleaning properties, also anti-inflammatory and infertility applications. In this research, guayusa dried leaves were used as samples in two forms, crushed and dust; the samples provided by the company Runatarpuna located in the area of Archidona, Tena were treated with different processes for their extraction. To obtaining leaves aqueous extracts of crushed powder guayusa leaves two temperatures were performed 20°C and 50°C, applied over a lapse of time of 4 hours in different formulations. These formulations were established after preliminary trials in which it was determined that the amount of water is sufficient to hydrate and guayusa extraction of compounds of interest is produced. Once these parameters we proceeded to determine antioxidant capacity and polyphenol content by the methods of ABTS and Folin-Ciocalteu respectively. Concluding that the extracts with higher antioxidant and polyphenol content in the case of powdered dried leaves of guayusa capacity are extracts with lower concentration, whereas for dehydrated and crushed guayusa leaves the best extracts are those with a higher concentration; this thanks to a single ANOVA analysis of variance with multiple comparison test (LSD) with 95% confidence was established; the independent variables were: guayusa concentration, temperature, time; and the dependent variables antioxidant capacity and polyphenol content for both dried and crushed to dust sheets such sheets. When subjected extracts at different temperatures and using the results shown, it can be concluded that extracts made at 50 ° C containing greater stability extracts subjected to 20 ° C, except for dust extracts dried leaves guayusa where its antioxidant capacity decreases with forme time elapses, this is because the temperature helps rapid saturation of the extracts and negatively extraction affects the

increased exposure of the particles to the surface and prolonged the they were made.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad las industrias han adoptado la idea de rescatar alimentos y productos autóctonos del Ecuador, con el fin de incrementar a su dieta diaria alimentos más saludables favoreciendo a una buena nutrición; para ello las empresas alimenticias se han basado en el conocimiento ancestral de las poblaciones indígenas amazónicas ya que son las poblaciones que se encuentran más íntimamente relacionadas con la naturaleza (Gallegos, 2014).

El género *Ilex* está presente en las regiones tropicales y subtropicales del continente americano e incluso en Oceanía, se calcula que posee más de 500 especies. El subgénero *Euilex* es el más extenso, puesto que incluye varias especies en las zonas tropicales distribuidas en Colombia, Ecuador, Brasil, Uruguay, Paraguay y el norte de Argentina (Caranqui & Humanante, 2010).

La guayusa (*Ilex guayusa* Loes) es una planta originaria de la selva de la Amazonia ecuatoriana, principalmente en las provincias de Sucumbíos, Napo, Pastaza, Morona Santiago y Zamora Chinchipe, presenta varias propiedades nutricionales y energéticas (Collaguazo, 2012).

Mediante estudios químicos realizados se ha determinado que las hojas de guayusa contienen aminoácidos esenciales necesarios para mantener una buena salud, cuentan con una alta actividad antioxidante incluso mayor al de té verde comercial, y cantidades de cafeína superiores a las del café y el té, además estas hojas contienen otros componentes como: Taninos derivados del catenol esteroides, quinonas, alcaloides tipo cafeína, flavonoides, aceites esenciales, triterpenos (Pacha, 2012).

Los antioxidantes a más de aportar con características organolépticas a los alimentos proporcionando el sabor que los identifica y ayudando a preservar

la calidad nutricional de los productos que los contienen, estos ayudan a que las personas que los consumen gocen de una buena salud (Marcillo, 2015).

Los polifenoles son compuestos bio-sintetizados por las partes de las plantas y confieren una propiedad antioxidante, los polifenoles que tienen mayormente esta actividad antioxidante se encuentran en alimentos como las frutas, verduras y ciertas infusiones y bebidas naturales (Valls, 2008).

Todos los derivados químicos propios de la planta adquieren el nombre de productos naturales, estos son explotados por las personas para combatir muchas enfermedades, dolencias e infecciones. Gracias a ello varias entidades interesadas por el desarrollo internacional proponen incrementar el estudio de productos naturales en países menos desarrollados con el fin de generar una mayor producción económica y social y ambiental (Fim, 2010).

De esta manera, el enfoque de la presente investigación es determinar los componentes nutricionales de las hojas de guayusa deshidratada, cultivada y procesada en la empresa Runatarpuna, con el fin de generar nuevos descubrimientos y nuevos productos alimenticios.

Se planteó como objetivo general estudiar la capacidad de antioxidantes y contenido de polifenoles en la extracción acuosa de hojas de guayusa (*Ilex guayusa* Loes) deshidrata. Para esto se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Determinar las características fisicoquímicas y el contenido de polifenoles y antioxidantes en la materia prima.
- Establecer el proceso de extracción acuosa a través de la determinación de contenido de antioxidantes y polifenoles.

2. MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO

2.1. GENERALIDADES

La Guayusa (*Ilex guayusa* Loes) es un árbol de hojas largas y anchas, dentelladas y sólidas, ver en la Figura 1. Varios autores le denominan té americano o mate ecuatoriano (Bottasso, 1993).



Figura 1. Hojas de guayusa

(Premo, 2011)

El género *Ilex* está presente en las regiones tropicales y subtropicales del continente americano e incluso en Oceanía, se calcula que posee más de 500 especies. El subgénero *Euilex* es el más extenso, puesto que incluye varias especies en las zonas tropicales distribuidas en Colombia, Ecuador, Brasil, Uruguay, Paraguay y el norte de Argentina (Caranqui & Humanante, 2010).

Ilex guayusa Loes pertenece a la familia Aquifoliaceae y es reconocida comúnmente como: guayusa, aguayusa, guañusa, guayusa, wayusa, huayusa. Dentro de la Amazonia ecuatoriana es identificada frecuentemente como guayusa (Radice & Vidari, 2000), una de las principales características

de las hojas de guayusa es su alto contenido en cafeína (Pacha, 2012; Bottasso, 1993).

Los nativos pertenecientes a las zonas en las que se cultiva dicha planta la consideran como una planta sagrada que encierra muchos mitos y tradiciones, las diferentes tradiciones culturales amazónicas la idealizan como una fuente de vida, pues sus hojas contienen una gran variedad de propiedades energéticas y medicinales, esto se remota desde épocas muy lejanas, por lo que constituye uno de los rituales más importantes para muchos pueblos amazónicos, un ejemplo es el caso de los jíbaros ya que suelen usar el agua de guayusa como bienvenida para turistas y para las diferentes festividades, pues tienen la creencia de que las personas que prueban esta bebida se quedarán eternamente en esas tierras amazónicas (Arias & Gualli, 2013; Quiroz, 2013).

2.1.2. DATOS TAXONÓMICOS

Los datos taxonómicos de la guayusa se exponen en la Tabla 1:

Tabla 1. Taxonomía de la Guayusa

Clase	Equisetopsida
Subclase	Magnoliidae
Superorden	Asteranae
Orden	Aquifoliales Senft
Familia	Aquifoliaceae Bercht. & J. Presl
Género	<i>Ilex</i> L.

(Caranqui & Humanante, 2010)

2.1.3. DATOS MORFOLÓGICOS

Los datos morfológicos de la planta en estudio se muestran en la Tabla 2:

Tabla 2. Morfología de la planta de guayusa

Morfología	Descripción
Nombre	Más usado en Ecuador como guayusa
Hábitat	Las zonas tropicales y subtropicales de la región andina
Tamaño	Promedio de hasta 10 m de altura y un diámetro a la altura del pecho de 50-80 cm.
Fruto	Baya globosa de casi 1 cm de ancho y color verde
Flor	Corola blanco verdosa, pétalos obtusos, estambre con mismo número de pétalos, anteras oblongas, ovario subgloboso y posee usualmente de 4 a 6 cavidades
Hojas	Color verde oscuro, de 15-21 cm de largo
Tronco	Cuentan con un fuste bifurcado con una corteza blanca y textura lisa, sus ramas son extendidas y flexibles

(Radice & Vidari, 2000)

2.1.3. VARIEDADES DE LA GUAYUSA

Dentro del género *Ilex* se presentan aproximadamente 500 especies a nivel de América. Ecuador es caracterizado por ser uno de los países de mayor producción de guayusa del género *Ilex* guayusa Loes, sin embargo, dentro de la región oriental amazónica existen también otras variedades, como se muestran en la Tabla 3 (Caranqui & Humanante, 2010).

Tabla 3. Principales variedades del género *Ilex*

Tipos	Características de las hojas	Usos
<i>Ilex guayusa</i>	Color: verde oscuro Largo: 15-21 cm Ancho: 5-7 cm Forma: oblonga-elíptica	Bebida Estimulante del sistema nervioso central, emético
<i>Ilex vomitoria</i>	Color: verde claro Largo: 1-4, 5 cm Ancho: 1-2 cm Forma: oval-elíptica	Emético
<i>Ilex paraguariensis</i>	Color: verde oscuro Largo: 7- 11 cm Ancho: 3-5.5 cm Forma: oval	Bebida Estimulante del sistema nervioso central

(Arias & Gualli, 2013)

2.1.4. ZONAS DE PRODUCCIÓN

El género *Ilex* está presente en las regiones tropicales y subtropicales del continente americano e incluso en Oceanía (Tuquinga, 2013), dentro del Ecuador, de acuerdo a los registros del Herbario Loja (1997), la guayusa se encuentra en las provincias de Sucumbíos, Napo, Morona Santiago y Zamora Chinchipe, además de estas provincias también se registran en Pichincha y Tungurahua (Collaguazo, 2012).

La guayusa tiene la capacidad de crecer en valles, laderas de montaña, terrenos planos, e incluso huertos y pastizales, esta se desarrolla a temperaturas entre 18 a 26 °C, a una altitud entre 400 y 600 msnm y una humedad de 70 % (Quiroz & Quishpe, 2013). En suelos jóvenes de meteorización reciente y de estado intermedio de textura arenosa con problemas de drenaje, adaptándose de esta manera a suelos húmedos como secos, tolera suelos compactos aunque prefiere suelos drenados y fértiles (Collaguazo, 2012).

Al género *Ilex* guayusa se la puede encontrar en los siguientes tipos de vegetación (Collaguazo, 2012):

- Bosques siempre verdes de tierras bajas
- Bosque siempre verde de tierras bajas inundable por aguas blancas
- Bosque inundable de palmas de tierras bajas
- Bosque siempre verde piemontano
- Bosque siempre verde montano bajo

2.1.5. PROPIEDADES DE LA GUAYUSA

Desde la antigüedad los nativos amazónicos ecuatorianos han consumido la guayusa en forma de infusión o te refrescante y tonificante, con efectos semejantes al té asiático o al mate paraguayo- argentino debido al contenido de xantinas en especial la cafeína (Pacha, 2012). La guayusa tiene

propiedades para mejorar la salud, como estimulante, afrodisiaco o a su vez para diferentes rituales, a continuación se citan algunas propiedades que atribuye esta planta (Arias & Gualli, 2013; Pacha, 2012; Tuquinga, 2013):

- Estimulante nervioso y muscular
- Digestivo y ayuda a limpieza de estómago e intestinos
- Expectorante
- Se ha evidenciado que es un posible reductor de glucosa
- Regulador de la presión arterial y fortificante de la sangre
- Diurético
- Actúa como anti inflamatorio
- Contra la infertilidad

2.1.6. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL

Mediante estudios químicos realizados se ha determinado que las hojas de guayusa cuentan con una alta actividad antioxidante incluso mayor al de té verde comercial, y cantidades de cafeína superiores a las del café y el té, según Tuquinga (2013) y Pacha (2012), han determinado que las hojas de guayusa contienen nutrientes necesarios para mantener una buena salud, tales como:

- Cafeína (hasta un 2 %)
- Derivados de ácido clorogénico
- Taninos derivados del catenol
- Esteroideos
- Quinonas
- Saponinas
- Triterpenos
- Lactonas
- Flavonoides
- Teobromina
- Piridoxina

- Riboflavina
- Ácido nicotínico
- Ácido ascórbico
- Colina
- Ácido isobutírico

2.2. EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

La extracción es la técnica más utilizada para separar un compuesto orgánico de una mezcla de reacción o para aislarlo de sus fuentes naturales, como se muestra en la Figura 2, al compuesto orgánico se lo puede distribuir entre dos líquidos inmiscibles, generalmente uno acuoso y otro orgánico, por lo que se distribuye en una fase extracto y una fase acuosa, los extractos pueden ser de tejido vegetal o animal (Corcuera & Eceiza, 2009).

El proceso de extracción se lo realiza con el propósito de obtener un concentrado de la muestra de interés, donde se consigue por lo menos dos componentes: una solución extraída en su disolvente (solución extractiva) y un residuo (Amaya, 2013).

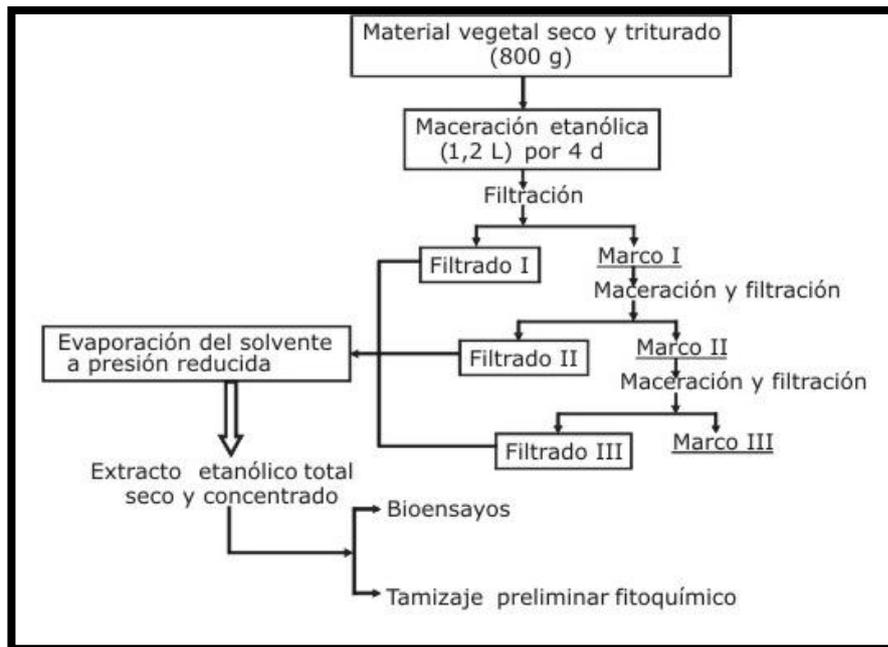


Figura 2. Obtención de extracto etanólico

(Espitia, 2011)

2.2.1. MÉTODOS

Existen diferentes métodos de extracción que se aplican dependiendo de la naturaleza del soluto que se desea obtener, a continuación se muestran los diferentes métodos de extracción para la obtención de extractos:

2.2.1.1. Extracción Mecánica

La extracción por método mecánico se la divide en dos tipos: por expresión, en el cual la planta fresca se introduce en una prensa hidráulica y se la exprime hasta obtener su jugo; y por incisiones, que se aplica para material vegetal exudados o productos que brotan en gran cantidad al realizar incisiones o cortes a la planta viva (Dominguez, 2013).

- Destilación

Este método se lo realiza por arrastre de vapor y permite la obtención de aceites esenciales, estos aceites son productos grasos concentrados por compuestos químicos aromáticos volátiles y de estructura compleja, en su mayoría contienen bajo peso molecular (Dominguez, 2013).

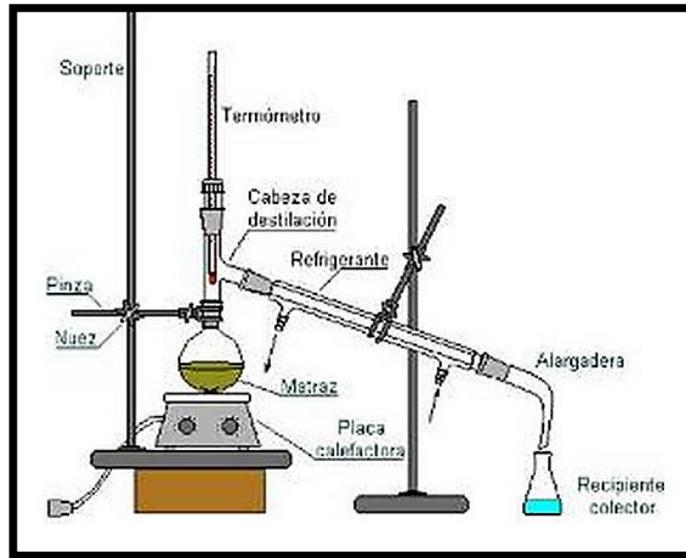


Figura 3. Proceso de destilación simple

(Fernández, 2012)

2.2.1.2. Extracción con Disolventes

La extracción con disolventes es el método más usado a nivel de laboratorio para la obtención de extractos de tejido animal y vegetal en estado seco, consiste en solubilizar el principio activo y obtener un extracto líquido y el material vegetal sobrante o bagazo (Dominguez, 2013).

Generalmente tienen un disolvente que puede ser:

- Agua
- Mezclas hidroalcohólicas
- Propilenglicol
- Disolventes orgánicos

Extracción Discontinua con disolventes.- En donde se sumerge el componente en el disolvente, difundiendo por todo el disolvente los principios activos del componente hasta lograr un equilibrio, los métodos que se realizan mediante este tipo de extracción son (Dominguez, 2013):

- Maceración
- Digestión
- Infusión
- Decocción

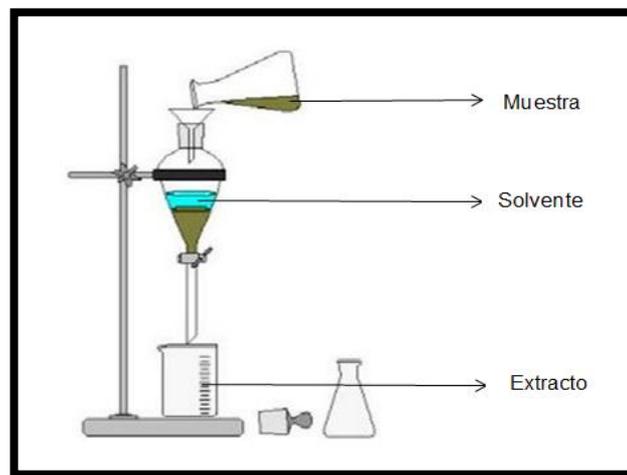


Figura 4. Extracción discontinua con disolvente

(General, 2012)

Extracción continúa con disolventes.- En este caso el disolvente que se usa para la extracción se hace pasar por la muestra, de esta manera arrastra los principios activos que se encuentran a su paso, este método permite extraer casi por completo todos los compuestos químicos presentes en el componente en estudio (Dominguez, 2013).

Los solventes más usados para este tipo de extracción son los siguientes (NCEPI, 1996):

- Dióxido de carbono líquido
- Butano
- Acetona

- Hexano
- Propano
- Trietilamina
- Metanol
- Éter dimetílico

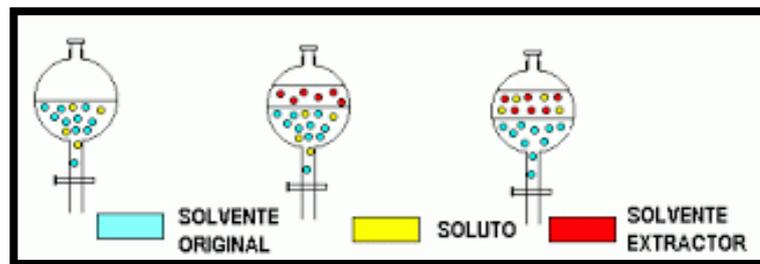


Figura 5. Extracción continua con disolvente

(Escobar, 2011)

2.2.2. TIPOS DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

Según Amaya (2013), existen extractos que pueden actuar solos o mezclados entre sí en proporciones determinadas, entre estos tenemos: extractos acuosos, alcohólicos, hidroalcohólicos y etéreos.

2.2.2.1. Extracción acuosa

La extracción acuosa se refiere al material soluble que se extrae de la muestra mediante la aplicación de agua en punto de ebullición, la extracción del material soluble se lo realiza mediante reflujo, filtración, evaporación del filtrado de sequedad y pesaje del residuo (Covenin, 2002).

Una de las desventajas de los extractos acuosos es la limitación en la estabilidad la misma que es corregida mediante el empleo de otras sustancias disolventes tales como alcohol etílico. Mediante investigaciones se ha determinado que las mezclas de alcohol etílico y agua consiguen

extractos que conservan sus propiedades durante un tiempo más prolongado, a este tipo de extractos se los llama “extractos Alcohólicos” (Mendive, 2011).

2.2.2.2. Método de Cocción

Mediante el método por cocción se realiza una mezcla del componente a realizar la extracción con agua y se lo lleva a ebullición por un determinado tiempo, generalmente por 10 minutos, obteniéndose así el extracto acuoso en donde se encuentran todos los metabolitos solubles que contiene el componente a extraer (Venegas, 2012).

2.2.2.3. Método de Infusión

En el caso del método por infusión primero se prepara la muestra y después se vierte agua caliente sobre esta y se deja en reposo durante 5 minutos, una vez culminado este proceso se obtiene el extracto acuoso con los metabolitos solubles (Venegas, 2012).

En base a estudios realizados se determinó que el extracto de la yerba mate (familia de *Ilex guayusa Loes*) se puede realizar mediante dos diferentes métodos infusión, tomando como base los métodos habituales para su consumo, el primer método se lo determina como mate cocido, procedimiento que fue explicado en el punto sobre método de cocción y el segundo método es por cebadura, que se lo explican con más detalle a continuación (Chaves, Maiocchi, Sgroppo, & Avanza, 2002):

- **Infusión cebadura.-** Este tipo de infusión se realiza de la manera más similar a la preparación común del mate, en donde se toma 50 g de yerba con 50 ml de agua destilada a 80°C durante un minuto y por último se filtra al vacío y se mide el volumen de la cebadura (Chaves,

Maiocchi, & Avanza, Actividad Antioxidante de infusiones de Ilex dumosa, 2001)

- **Infusión total.-** Para este método se toma 1 g del material de la infusión por cebadura con 250 ml de agua destilada y se deja en ebullición durante 15 minutos, una vez transcurrido este tiempo se filtra y se toma el volumen resultante (Chaves, Maiocchi, Sgroppo, & Avanza, 2002).

2.2.3. PARÁMETROS

En la obtención de extractos es muy importante establecer parámetros para lograr una estandarización del proceso garantizando de esta manera la calidad, rendimiento, seguridad y eficacia del producto (Pérez, 2015). En la Tabla 4 se muestran ciertos de estos parámetros para realización de extractos:

Tabla 4. Parámetros para realizar extracciones

Parámetros	Condiciones
Naturaleza química de la materia prima vegetal	Saber las características del metabolito o compuesto químico a extraer
Selección del solvente	Determinar el tipo de solvente a emplear, el solvente optimo será el que logre un mayor rendimiento del compuesto a extraer
Relación sólido- líquido	Será la cantidad adecuada en la que se logre mayores rendimientos de extracción
Tamaño de la partícula del sólido	El tamaño de la partícula depende del éxito del proceso de lixiviación, a mayor superficie mayor contacto entre la muestra y el disolvente
Temperatura	Temperaturas elevadas favorece la extracción, teniendo en cuenta si la muestra es termolábil o volátil
Velocidad de agitación y tiempo de extracción	Los valores óptimos son aquellos que logran extraer un mayor rendimiento del producto. El tiempo de contacto es directamente proporcional a la capacidad del disolvente para alcanzar el equilibrio de concentraciones
Viscosidad del medio	No es conveniente seleccionar solventes de viscosidad relativamente alta

(Pérez, 2015)

2.3. RADICALES LIBRES

El cuerpo humano está formado por células, y estas compuestas de moléculas, las mismas que están conformadas por átomos unidos por enlaces químicos. Estos enlaces químicos se dan gracias a los protones y electrones pertenecientes a los átomos que orbitan a su alrededor, los electrones pueden compartirse con otros átomos para conseguir una estabilidad máxima, tal como se muestra en la Figura 6. Al momento que se forma un enlace débil (electrón sin pareja), se forma un radical libre (Vasquez, 2013).

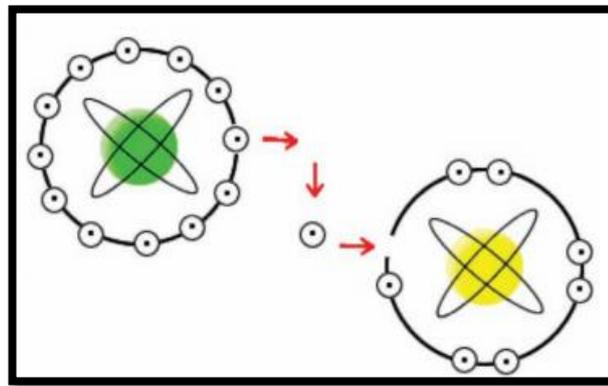


Figura 6. Neutralización del radical libre por un antioxidante

(Criado & Moya, 2009)

Los radicales libres son muy inestables, por lo que reaccionan con otras moléculas para captar o ceder electrones, solo así logran estabilidad, pero a su vez desequilibran a la otra molécula de la cual roban el electrón faltante, produciendo una cascada de radicales libres, hasta que invaden una célula viva. El radical libre más abundante es el oxígeno que tiene dos electrones no apareados, afortunadamente este radical a pesar de ser el más común es muy débil (Hernandez & Sastre, 1999).

Los radicales libres se pueden producir tanto en el interior de las células como en el exterior, diseminándose por todo el organismo, dañando principalmente el tejido conjuntivo, proteínas, enzimas, lípidos, membranas celulares, fibras de colágeno, ADN y ARN; produciendo enfermedades

degenerativas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares (Zamora, 2007).

La acumulación de radicales libres dentro del organismo puede ocasionar problemas en la salud, estos son producidos por contaminantes externos como humo de cigarrillo, mala alimentación, hidrocarburos aromáticos polinucleares, aldehídos, o a su vez por el consumo de ácidos grasos trans (Finkel, 2003).

2.4. ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son un grupo muy amplio de sustancias presentes de manera natural en alimentos de origen vegetal en especial frutas, vegetales, nueces, vino tinto y jugos presentes en la dieta, estos ayudan a evitar la oxidación de sustancias que puedan provocar alteraciones fisiológicas, sus bajos niveles pueden inhibir las enzimas antioxidantes causando estrés oxidativo y produciendo reacciones creadoras de radicales libres, lo cual pueden dañar o matar células (Padilla, Rincón, & Rached, 2008).

Los antioxidantes presentes en los diferentes alimentos son los portadores del sabor y características organolépticas que los identifican, así como también contribuyen a la preservación de la calidad nutricional. El consumo de estos alimentos ayudan a mantener una buena salud convirtiéndose en una de las formas más efectivas de minorar el riesgo de desarrollo de enfermedades crónicas que afectan la calidad de vida de la población mundial (Zamora, 2007).

2.4.1. ANTIOXIDANTES PRESENTES EN LA GUAYUSA

Según Marcillo (2015) se ha demostrado que los antioxidantes y polifenoles presentes en la guayusa cuentan con diferentes características, entre ellas tenemos:

- Tanto la piridoxina, riboflavina, ácido ascórbico, colina y teobromina, presentan solubilidad en agua, una estabilidad frente a exposiciones al aire y calor, siempre que se proteja de la luz y humedad, excepto el ácido ascórbico el cual presenta sensibilidad a exposiciones elevadas de temperatura, otra característica fundamental de estos antioxidantes es que presentan una baja toxicidad.
- Los polifenoles presentes en la guayusa tales como flavonoides y taninos presentan una alta solubilidad en agua, bajo peso molecular y una estructura de carácter polifenólico.

2.4.2. CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES

- **Endógenos**

Los antioxidantes endógenos son normalmente bio-sintetizados por el organismo, es decir fabricados por la misma célula con una actividad enzimática, dentro de este grupo se tiene (Criado & Moya, 2009):

- Glutación
- Coenzima Q
- Ácido tioctico
- Enzimas:
 - Superóxidodismutasa (SOD)
 - Catalasa
 - Glutación peroxidasa

- **Exógenos**

Los antioxidantes exógenos son aquellos que ingresan en el organismo a través de la dieta o de suplementos con formulaciones antioxidantes, estos tienen una actividad no enzimática y son (Criado & Moya, 2009):

- Vitamina E
- Vitamina C
- Betacaroteno
- Flavonoides
- Licopeno

2.4.3. FUNCIONES DE LOS ANTIOXIDANTES

Las defesas antioxidantes consiste en evitar la reducción del oxígeno mediante sistemas enzimáticos y no enzimáticos, estos evitan la oxidación de sustancias que ocasionan alteraciones fisiológicas (Hicks, Torres, & Sierra, 2006).

2.4.3.1. Función antioxidante enzimático

Los sistemas enzimáticos son establecidos por un grupo de enzimas especializadas en inactivar por diferentes mecanismos a las especies reactivas de oxígeno en la Tabla 5 se describen las funciones los diferentes antioxidantes enzimáticos (Hicks, Torres, & Sierra, 2006):

Tabla 5. Función y localización de diferentes antioxidantes enzimáticos

Antioxidante enzimático	Localización	Función Fisiológica
Superóxido Dismutasa	Citoplasma y mitocondria	Dismuta radicales superóxido
Glutation Peróxidasa	Citoplasma y mitocondria	Elimina el peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos orgánicos
Catalasa	Citoplasma y mitocondria	Elimina peróxido de hidrógeno

(Zamora, 2007)

2.4.3.2. Función antioxidante no enzimático

Las funciones de los antioxidantes no enzimáticos son esenciales para la defensa contra el daño oxidante debido a que actúan como cofactores de las enzimas antioxidantes (Hicks, Torres, & Sierra, 2006), en la Tabla 6 se muestran las funciones de los antioxidantes no enzimáticos:

Tabla 6. Función de antioxidantes no enzimáticos

Antioxidantes no enzimáticos	Función Fisiológica
Vitamina E	Principal antioxidante presente en la membrana celular
Vitamina C	Efecto eliminador de radicales y recicla la vitamina E
Ácido úrico	Su efecto es eliminar los radicales hidroxilo
Glutation	Tiene varios efectos con la defensa antioxidante celular
Ácido lipoico	Antioxidante eficaz, y es un sustituto eficaz del glutati6n
Carotenoides	Antioxidante de lípidos
Bilirrubina	Producto del metabolismo del grupo hem de la hemoglobina y tiene un efecto antioxidante a nivel extracelular
Ubiquinonas	Derivado de quinonas lipídicas solubles, cuyas formas reducidas tienen efectos como antioxidantes

(Zamora, 2007)

2.4.4. FUENTES DE ANTIOXIDANTES EN ALIMENTOS

Existe una gran variedad de alimentos que cuentan con una fuente rica en antioxidantes, estos alimentos se muestran en la Tabla 7:

Tabla 7. Fuentes de antioxidantes en los alimentos

Antioxidantes	Fuente alimentaria	
Vitamina E	Fuentes más importantes	Aceites vegetales, germen de trigo, almendras, avellanas, nuez, maní
	Otras fuentes importantes	Papas frescas, aguacate, apio, frutas, pollo, pescado
Vitamina C	Frutas	Limón, naranja, guayaba, mango, kiwi, fresa, papaya, piña, mora
	Verduras	Tomate, verduras de hojas verdes, brócoli, coliflor, repollo, lechuga
Carotenoides	Betacaroteno	Verduras y frutas amarillas y anaranjadas, verduras verde oscuro
	Alfacaroteno	Zanahoria
	Licopeno	Tomate
	Luteína y Zeaxantina	Verduras de hoja verde oscuro, brócoli
	Beta criptoxantina	Frutas cítricas
Selenio		Carnes, pescados y mariscos. Cereales, ajo, champiñones y espárragos
Zinc		Carne, embutidos, paté, hígado, almendras, avellanas, huevos, leche y derivados lácteos, cereales y legumbres
Hierro		Melocotones, sésamo, legumbres, cereales, germen de trigo, hígado, almendras, mejillones y almendras
Magnesio		Frutos secos, cereales y legumbres
Coenzima Q10		Carne, vísceras, pescado, sardinas, cacao, aceite de soja y cacahuates
Glutatión		Frutas y verduras
Cobre		Cerdo, pato, salmón, hígado, corazón, riñón, leche de soja, semillas, leche chocolatada

(Criado & Moya, 2009)

2.5. POLIFENOLES

Los polifenoles cuentan con una estructura básica en la que confiere su capacidad para actuar como captadores de radicales libres. El tipo de compuesto, el grado de metoxilación y el número de grupos hidroxilo son alguno de los parámetros que determinan esta actividad antioxidante, los compuestos con mayor actividad son aquellos que tienen una estructura flavonoidea, según Valls (2008), hoy en día se conocen más de 5000 flavonoides, entre ellos tenemos a los más importantes:

- Flavonoles
- Antiocianinas
- Flavonas
- Flavononas

Los compuestos fenólicos son uno de los grupos más grandes de sustancias no energéticas presentes en los alimentos de origen vegetal, la capacidad de los polifenoles de modificar la actividad enzimática, para interferir en mecanismos de señalización y en distintos procesos celulares, se debe a las características fisicoquímicas de este tipo de compuestos, lo que permiten interactuar en las diferentes reacciones metabólicas celulares de óxido-reducción (Quiñones, 2012).

Los flavonoides y antiocianinas se encuentran en grandes cantidades en bayas como son los arándanos, flavonoles presentes en frutos, vegetales y flores, flavonas en perejil y tomillo, flavononas en cítricos, isoflavonas en soja y flavonoles mono y poliméricos en el té, proantocianidinas de las bayas, en el vino y chocolate (Jing, Bomser, Schwartz, Magnuson, & Giusti, 2008)

En el reino vegetal podemos distinguir cuatro grupos de compuestos fitoquímicos: sustancias fenólicas, sustancias terpénicas, sustancias azufradas y sustancias nitrogenadas (alcaloides). Entre estos constituyentes los polifenoles tienen mayor importancia como constituyentes de frutas y

hortalizas, los alimentos derivados con relevancia en la alimentación humana, por lo general los polifenoles se encuentran en todos los alimentos de origen vegetal (Barberán, 2003). En la Tabla 8 se muestra las principales fuentes de polifenoles:

Tabla 8. Principales fuentes alimenticias de polifenoles

Flavonoides/ Grupo	Compuestos	Principales fuentes alimentarias
Antocianinas	Cianidina, delphinida, malvidina, pelargonidina, peonidina, petunidina	Los berries de color rojo, azul y púrpura; las uvas rojas y moradas; manzana roja, el vino tinto.
Flavonoides	Monómeros (catequinas): catequina, epicatequina, apigalocatequina, apicatequingalato, apigalocatequingalato.	Catequinas: té verde, cacao, uvas, berries, manzanas. Teaflavinas, tearubiginas: Té negro y Oolong. Proantocianidinas: cacao. Manzanas, berries, uvas rojas, vino tinto
	Dímeros y polímeros: Teaflavinas, tearubiginas, proantocianidinas.	
Flavanonas	Hesperetina, naringenina, eriodictiol.	Frutas cítricas y sus jugos (naranjas, pomelos, limones)
Flavonoles	Quercetina, quempferol, miricetina, isoramnetina	Cebolla amarilla, cebollín, col rizada, brócoli, manzanas, berries, té.
Flavonas	Apigenina, luteolina	Perejil, tomillo, apio, ají, orégano.
Isoflavonas	Daidzeina, genisteina, gliciteína	Soja, alimentos de soja, las leguminosas.

(Asturnatura, 2015)

2.6. CAFEÍNA

La cafeína es una sustancia alcaloide que se encuentra en el grupo de las xantinas, tiene un sabor amargo y de color blanco, una de sus características principales es que sirve como estimulante nervioso y eliminación de somnolencia en el cuerpo humano, así como también sirve de

diurética, relajante muscular y antioxidante en personas que consumen dosis racionadas de este componente (Pacha, 2012).

Las plantas que tienen con este componente, tanto en semillas, hojas y frutos, la cafeína actúa como pesticida natural paralizando y matando a insectos que se alimentan de las mismas (Pacha, 2012).

2.6.1. CAFEÍNA PRESENTE EN LA GUAYUSA

Una de las características principales de la cafeína es la solubilidad en disolventes orgánicos y poca solubilidad en agua fría. Gracias a este comportamiento tanto la cafeína, taninos y derivados de flavona pueden ser sometidos a métodos de extracción a elevadas temperaturas (Carral, 2011).

Estudios realizados en hojas de guayusa demuestran que tienen un contenido de cafeína hasta un 2 % en peso seco, lo que significa que posee un contenido de cafeína más elevado que en el café y té (Torres, 2013).

3. METODOLOGÍA

3. METODOLOGÍA

3.1. MATERIA PRIMA

Se utilizó hojas deshidratada de guayusa, en dos presentaciones, triturada y polvo; las muestras fueron tratadas con diferentes procesos para su obtención. Estas fueron proporcionadas por la empresa Runatarpuna ubicada en la zona de Archidona, Tena.

Las hojas deshidratadas fueron procesadas y analizadas en el laboratorio de química analítica de la Facultad de Ciencias de la Ingeniera.

3.2. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LA MATERIA PRIMA

Para determinar la caracterización físico-química de las hojas deshidratadas de guayusa trituradas y en polvo, se realizaron los análisis mostrados en la Tabla 9, dichos análisis fueron realizados en el laboratorio MULTIANALÍTYCA.

Tabla 9. Análisis físico-químico y métodos realizados en la caracterización de hojas deshidratadas de guayusa trituradas y en polvo

PARÁMETRO	MÉTODO
Humedad (%)	AOAC 920.10
Cenizas (%)	AOAC 923.03
Cenizas insolubles en ácido (%)	INEN 1118
Cenizas solubles en agua (%)	INEN 1119
Alcalinidad de las cenizas solubles en agua (como KOH), (%)	INEN 821

3.3. PROCESO DE EXTRACCIÓN

Los extractos acuosos de hojas trituradas y polvo de guayusa se realizaron a 20 °C y 50 °C; con las formulaciones que se presentan en la Tabla 10. Estas formulaciones se obtuvieron luego de realizar pruebas preliminares en las que se determinó que la cantidad de agua sea suficiente para hidratar la guayusa y que se produzca la extracción de los compuestos de interés.

Se colocó la muestra de guayusa y el agua a la temperatura correspondiente y se agitó durante 10 minutos para permitir la hidratación de las hojas y se tomó la primera alícuota de 10 ml; el extracto se colocó en un baño maría con agitación y se tomaron alícuotas de 10 ml a los tiempos 0, 30, 60, 120, 180, 240 minutos y se centrifugó durante 15 minutos a 4000 rpm y 4 °C. Luego se recogió el sobrenadante y se procedió a realizar los análisis.

Tabla 10. Formulación, porcentaje de peso y temperatura a las que las hojas deshidratadas de guayusa triturada y polvo fueron tratadas.

MUESTRA	FORMULACION	PORCENTAJE (PESO)	TEMPERATURA
Hojas deshidratadas y trituradas de guayusa	HT 1.1	8.1	20
	HT 1.2	8.8	20
	HT 1.3	9.5	20
	HT 1.4	10.1	20
	HT 2.1	8.1	50
	HT 2.2	8.8	50
	HT 2.3	9.5	50
	HT 2.4	10.1	50
Polvo de hojas deshidratada de guayusa	HP 1.1	6.2	20
	HP 1.2	6.7	20
	HP 1.3	7.2	20
	HP 1.4	7.7	20
	HP 2.1	6.2	50
	HP 2.2	6.7	50
	HP 2.3	7.2	50
	HP 2.4	7.7	50

3.4. DETERMINACIÓN DE ANTIOXIDANTES Y POLIFENOLES

3.4.1. MÉTODO ABTS

La capacidad antioxidante se determinó según la metodología desarrollada por Re et al (1999) se utilizó el radical catiónico ABTS. Se realizó la curva patrón con soluciones de TROLOX. Se realizó en un espectrofotómetro marca Thermo Spectronic GENESIS 20.

En las muestras solidas se realizó una extracción con solución de metanol: agua (50:50); mientras de las muestras liquidas se midieron directamente y en algunos casos realizando diluciones con agua.

3.4.2. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES

El contenido de polifenoles se determinó aplicando el método desarrollado por Géorge, S. et al. (2005) utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu y ácido Gálico para realizar la curva de calibración. Se realizó en un espectrofotómetro marca Thermo Spectronic GENESIS 20.

En las muestras solidas se realizó una extracción con solución de acetona: agua (70:30); mientras de las muestras liquidas se midieron directamente y en algunos casos realizando diluciones con agua.

3.5. DETERMINACIÓN DE CAFEÍNA

Para la determinación de cafeína primero se obtuvo el mejor extracto, y se lo llevó a analizar en el laboratorio MULTIANALÍTYCA, mediante el método HPLC.

3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

Los resultados fueron analizados utilizando el análisis de varianza ANOVA simple con la prueba de comparación múltiple (LSD) con el 95% de confiabilidad; las variables independientes fueron: concentración de guayusa, temperatura y tiempo; y las variables dependientes la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles. El análisis estadístico se realizó en el programa Statgraphics versión 16.1.15 (32-bits).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LAS HOJAS DESHIDRATADAS DE GUAYUSA

4.1.1. HOJAS DESHIDRATADAS Y TRITURADAS DE GUAYUSA

Los datos de la Tabla 11 muestran los resultados de los análisis físico-químicos realizados a las hojas deshidratadas y trituradas de guayusa, estos datos son mostrados con los parámetros mínimos y máximos que establece la Norma INEN 2381:2005 para cada ítem.

Tabla 11. Resultados de análisis físico-químicos de las hojas deshidratadas y trituradas de guayusa

Parámetro	Método	Min	Max	Resultado
Humedad (%)	AOAC 925.10	--	12	5.67
Ceniza (%)	AOAC 923.03	4	8	9.15
Ceniza insoluble en ácido (%)	INEN 1118	--	1	0.64
Ceniza soluble en agua (%)	INEN 1119	45	--	97.34
Alcalinidad de las cenizas solubles en agua (como KOH), %	INEN 637	1	3	1.83
Cafeína (%)	HPLC	1	--	2.38

Las hojas deshidratadas y trituradas de guayusa de la empresa Runatarpuna cumplieron con los requerimientos establecidos en la norma INEN relacionadas con el té, norma que se estableció como referencia ya que no existe actualmente una norma específica para hojas de guayusa. Todos los requisitos físico-químicos se encontraron dentro de los parámetros establecidos excepto el porcentaje de ceniza, el cual se encuentra ligeramente elevado, esto se debe a las características morfológicas que

posee la guayusa y el método de deshidratación de las hojas. Los resultados se pueden apreciar en el Anexo I.

Torres (2013) menciona que las hojas de guayusa poseen hasta un 2 % de cafeína, referencia que fue confirmada con los datos obtenidos acerca de los análisis de contenido de cafeína, dando como resultado 2.38 % en las hojas trituradas y deshidratadas de guayusa. Los resultados se presentan en el Anexo II.

4.1.2. POLVO DE HOJAS DESHIDRATAS DE GUAYUSA

En la Tabla 12 se presentan los resultados de los análisis físico-químicos realizados al polvo de hojas de guayusa deshidratadas, con los parámetros mínimos y máximos que establece la Norma INEN 2381:2005 para cada ítem.

Tabla 12. Resultados de análisis físico-químicos del polvo de hojas deshidratadas de guayusa

Parámetro	Método	Min	Max	Resultado
Humedad (%)	AOAC 925.10	--	12	3.07
Ceniza (%)	AOAC 923.03	4	8	6.09
Ceniza insoluble en ácido (%)	INEN 1118	--	1	0.73
Ceniza soluble en agua (%)	INEN 1119	45	--	99.67
Alcalinidad de las cenizas solubles en agua (como KOH), %	INEN 637	1	3	1.69
Cafeína (%)	HPLC	1	--	2.57

El polvo de las hojas deshidratadas de guayusa obtenidas por la empresa Runatarpuna cumplió con todos los requerimientos físico-químicos establecidos en la norma INEN 2381:2005. Los resultados se pueden observar en el Anexo III.

En los resultados obtenidos se aprecia que existe un 2.57 % de contenido de cafeína en el polvo de hojas deshidratadas de guayusa, resultado que

concuerta con los datos obtenidos en los estudios químicos realizados por Tuquinga (2013), en los que se establece que la cantidad de cafeína presente en las hojas de guayusa es superior al café o al té. Estos resultados se pueden apreciar en el Anexo IV.

4.1.3. CONTENIDO DE CAFEÍNA DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS

El contenido de cafeína se determinó en extractos acuosos con mayor contenido de polifenoles, los mejores extractos se basaron en la temperatura y concentración de hojas de guayusa, de esta manera se los llevo a analizar el contenido de cafeína y se obtuvo los resultados se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Porcentaje de contenido de cafeína de los mejores extractos acuosos obtenidos

Muestra	Temperatura (°C)	Contenido de cafeína (%)
HT 1.4.	20	0.18
HT 2.4.	50	0.24
HP 1.1.	20	0.17
HP 2.2.	50	0.20

Estos resultados muestran que el contenido de cafeína disminuye significativamente después de ser sometida a diferentes condiciones las hojas de guayusa, sin embargo los extractos que fueron sometidos a 50 °C contienen un mayor porcentaje de cafeína que los extractos expuestos a 20 °C. Arias y Gualli (2013) realizaron un estudio comparativo en donde determinan que el aumento de temperatura contribuye a una mayor extracción de cafeína, referencia que concuerda con los resultados obtenidos. Melo (2014) menciona que la diferencia de contenido de cafeína entre la materia prima y el extracto obtenido se debe a la metodología utilizada y el envejecimiento de la hoja, ya que estudios han demostrado que

las hojas jóvenes contienen un mayor contenido de cafeína. Otro factor que puede explicar el comportamiento de los resultados obtenidos es la temperatura y el tiempo de extracción. Los resultados se aprecian del Anexo V al Anexo VIII.

4.2 ANÁLISIS DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE HOJAS DESHIDRATDAS Y TRITURADAS DE GUAYUSA

En la Figura 7 se presenta la fracción de capacidad antioxidante de los extractos acuosos de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa, la base de cálculo fue el resultado de capacidad antioxidante en el tiempo cero, aquí se observa que al minuto 240 las formulaciones 2 y 4 presentan una mayor fracción de capacidad antioxidante con diferencia significativa ($p < 0.05$) con las formulaciones 1 y 3 que no presentan diferencia significativa entre ellas. La formulación 4 presenta la mayor fracción de capacidad antioxidante (4.03), esto puede deberse a que posee un mayor contenido de guayusa.

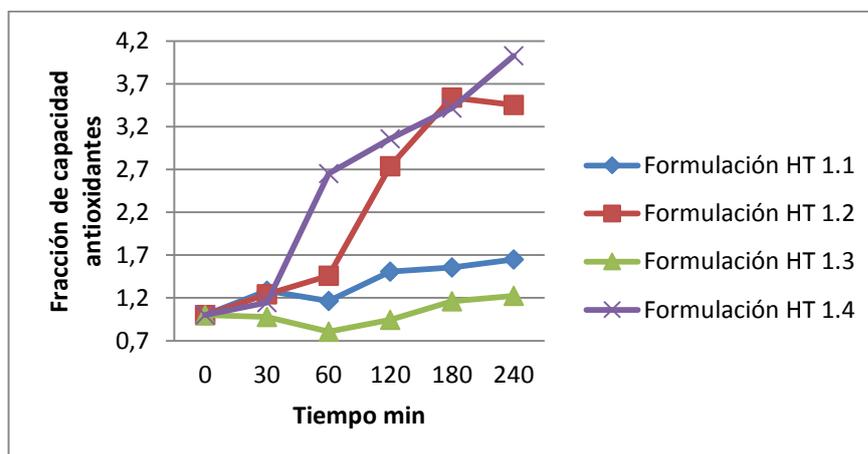


Figura 7. Fracción de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 20 °C con respecto al tiempo.

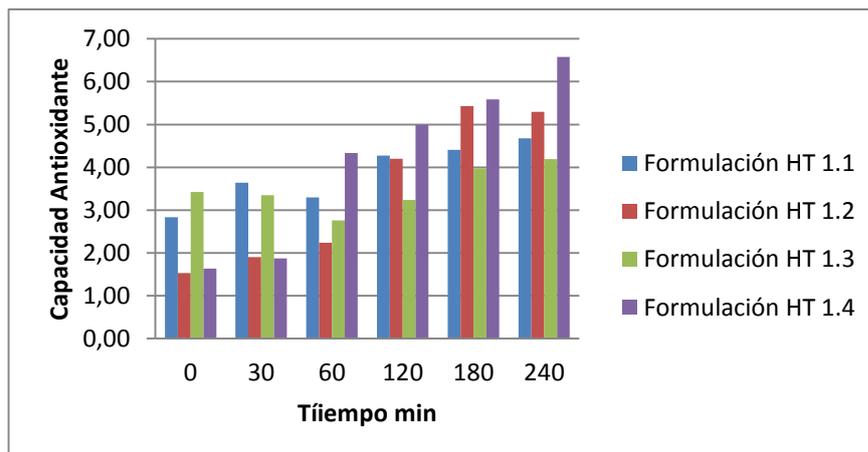


Figura 8. Valores de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 20 °C con respecto al tiempo.

En la Figura 8 se muestra los valores de la capacidad antioxidante de las diferentes formulaciones de los extractos acuosos de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 20 °C, dichos datos se muestran en el Anexo IX. Valdés. et al. (2012) en su investigación sobre actividad antioxidante de algas y plantas marinas de la plataforma insular cubana mencionan que el tipo de extracto así como también la concentración y la composición influye en la obtención de las propiedades de la planta, datos que confirman con los resultados obtenidos en el trabajo, ya que la capacidad antioxidante va aumentando con forme aumenta el tiempo y la concentración, la formulación HT 1.4 representa la mayor capacidad antioxidante debido a que es la formulación más concentrada.

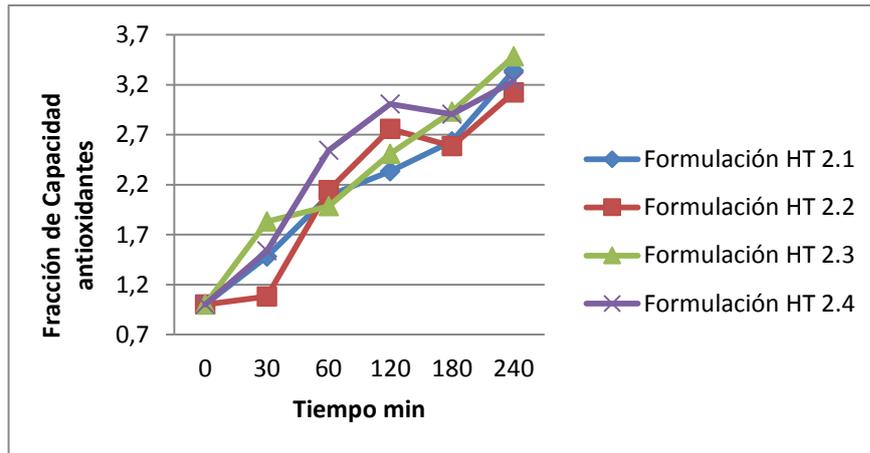


Figura 9. Fracción de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 50 °C con respecto al tiempo.

En la Figura 9 se presenta la fracción de la capacidad antioxidante de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 50 °C, se puede observar a lo largo del proceso las diferentes formulaciones se incrementan y presentan un comportamiento similar sin presentar diferencia significativa entre ellas a lo largo de todo el proceso.

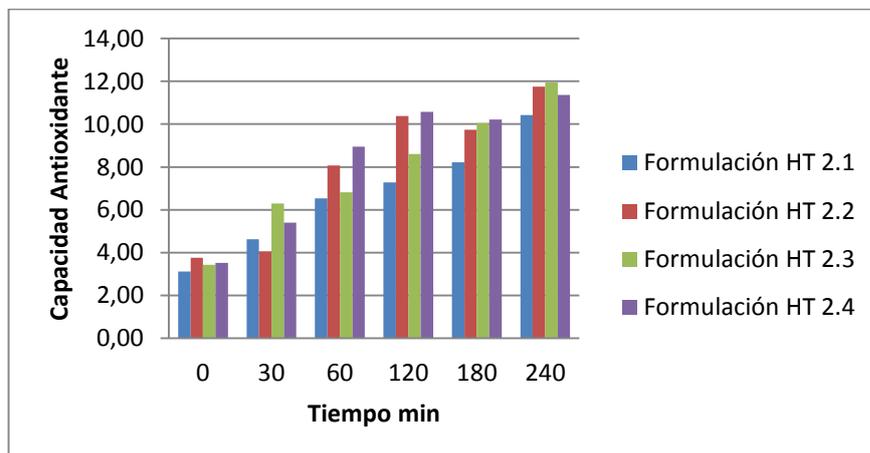


Figura 10. Comparación de valores de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 50 °C con respecto al tiempo.

La Figura 10 presentan los valores obtenidos de la capacidad antioxidante del extracto acuoso de las hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 50

°C dichos valores se expresan en el Anexo X. Monroy. et al. (2007) en su investigación sobre antioxidantes I. chile ancho (*Capsicum annum* L. Grossum sendt.) y romero (*Rosmarinus officinalis* L.) como fuentes naturales de antioxidantes mencionan que la temperatura es una de las condiciones importantes para obtener una mejor extracción de la muestra, estos datos concuerdan con los valores obtenidos ya que existe un aumento progresivo de la capacidad antioxidante con forme transcurre el tiempo y la concentración de las formulaciones.

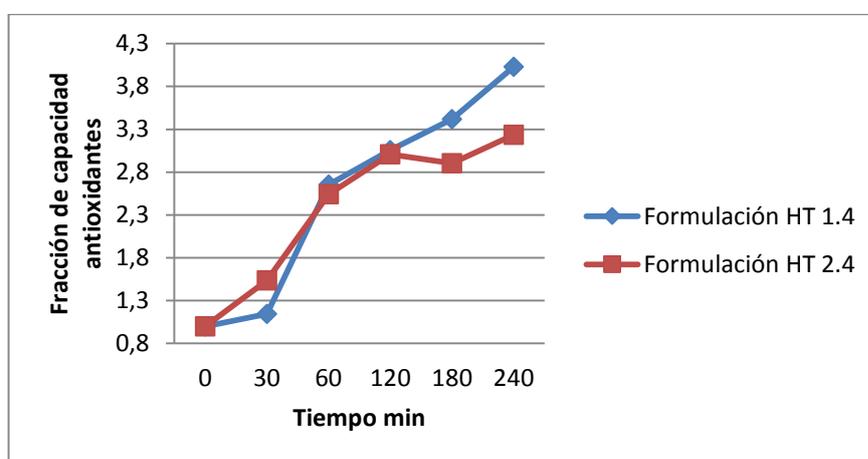


Figura 11. Fracción de capacidad antioxidante de extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa (10.1% peso de guayusa) entre 20 °C y 50 °C

En base a los datos obtenidos sobre la capacidad antioxidante de los extractos de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa tanto a los 20 °C como a los 50 °C se establece que con forme aumenta el tiempo y el porcentaje de concentración, existe una mayor obtención de la capacidad antioxidante, tal como se muestra en la Figura 11, en donde al minuto 30 la capacidad antioxidante no presenta diferencia significativa entre las diferentes temperaturas, mientras que en el minuto 240 los extractos si presentan diferencia significativa ($p < 0.05$), sin embargo su capacidad antioxidante sigue aumentando con forme transcurre el tiempo. En la Figura 11 se puede observar que el extracto de mayor capacidad antioxidante es el de mayor porcentaje de guayusa a 20 °C, ya que al minuto 30 presenta una

fracción de 1.15 y sigue aumentando hasta llegar al minuto 240 que presenta una fracción de 4.03; mientras que el extracto realizado a 50 °C a mayor concentración al minuto 30 contiene una fracción de 1.54 y sigue aumentando hasta el minuto 240 con una fracción de 3.23. Monroy. et al. (2007) en su investigación sobre antioxidantes I. chile ancho (*Capsicum annum* L. *Grossum sendt.*) y romero (*Rosmarinus officinalis* L.) como fuentes naturales de antioxidantes, mencionan que la temperatura es una de las variantes para obtención de su capacidad antioxidante del extracto de la planta, llevandolas a temperaturas no mayores de 35 °C. Datos que concuerdan con el trabajo realizado ya que la mayor fracción de capacidad antioxidante se obtuvo a menor temperatura (20 °C), tomando como base el resultado del tiempo cero, como se muestra en la Figura 11; sin embargo los datos brutos sobre capacidad antioxidante reflejan que posee una mayor capacidad antioxidante la formulación a 50 °C, esto se debe a que existió una mayor concentración en el tiempo cero y continuó progresivamente hasta el tiempo final, tal como se muestra en la Figura 12.

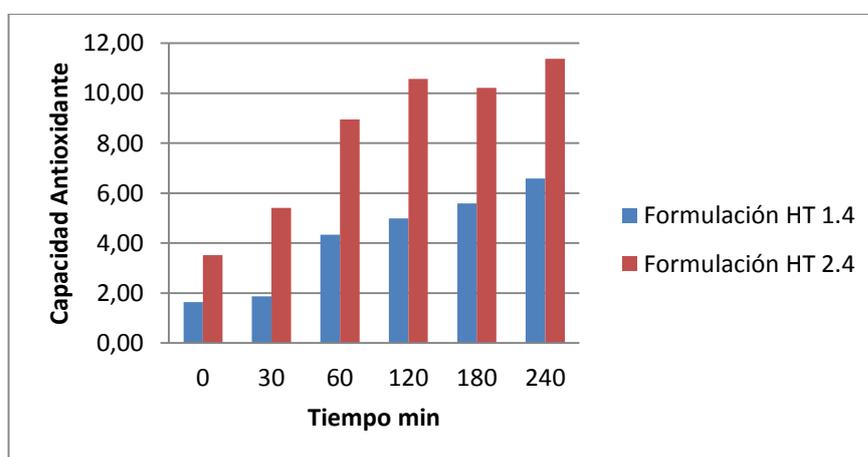


Figura 12. Comparación de valores de capacidad antioxidante de extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa (10.1% peso de guayusa) entre 20 °C y 50 °C.

4.3 ANÁLISIS DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE POLVO DE HOJAS DE GUAYUSA DESHIDRATADA

En la Figura 13 se muestra el comportamiento de las formulaciones de polvo de guayusa deshidratada en agua a 20 °C, como base se tomó el resultado obtenido en el tiempo cero. Se observa que existe un aumento de la capacidad antioxidante a lo largo de toda la extracción, al minuto 180 es posible que exista una saturación de los extractos por lo que la capacidad antioxidante empieza a decaer. Sin embargo las formulaciones HP 1.2, HP 1.3 y HP 1.4 no muestran diferencia significativa entre ellas pero la formulación HP 1.1 si muestra diferencia significativa ($p < 0.05$) con una capacidad antioxidante mayor al resto.

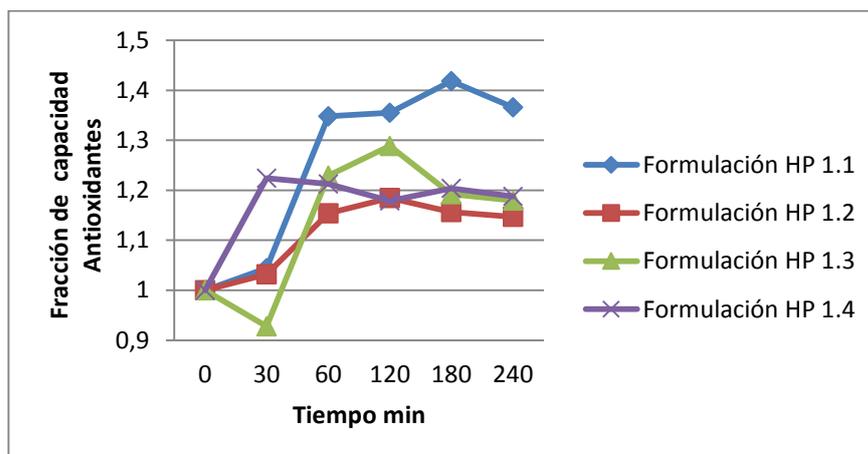


Figura 13. Fracción de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de polvo de hojas de guayusa deshidratadas a 20 °C con respecto al tiempo.

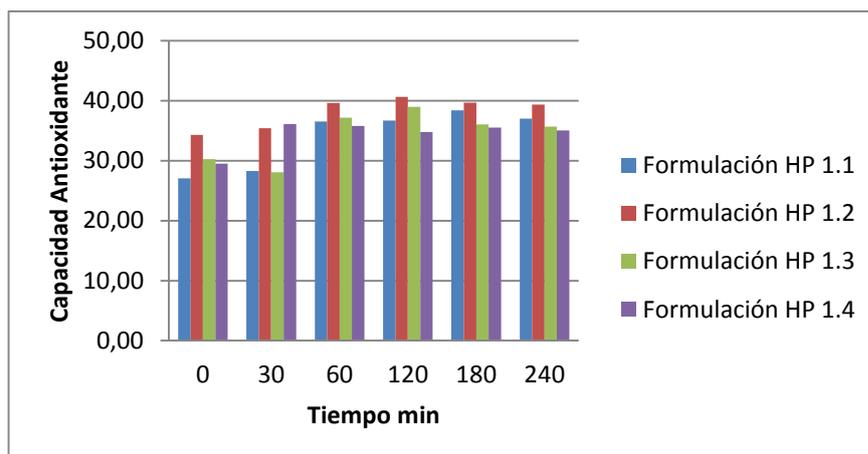


Figura 14. Comparación de los valores de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de polvo de hojas de guayusa deshidratadas a 20 °C con respecto al tiempo.

La Figura 14 muestra los valores de capacidad antioxidante de extracto acuoso de polvo de guayusa deshidratada a 20 °C. Datos que se encuentran en Anexo XI. La formulación HP 1.1 representa los valores con mayor capacidad antioxidante en comparación al resto de formulaciones obteniendo así una mayor capacidad antioxidante, estos datos concuerdan con los resultados obtenidos de Burneo (2010) en su investigación sobre 12 especias vegetales nativas del sur de Ecuador entre ellas I. guayusa, donde recalca que para obtener una mayor capacidad antioxidante y concentraciones elevadas de extracto, se debe utilizar una temperatura de 35 °C y las hojas reducidas en fracciones mucho más pequeñas con el fin de lograr una penetración de los solventes.

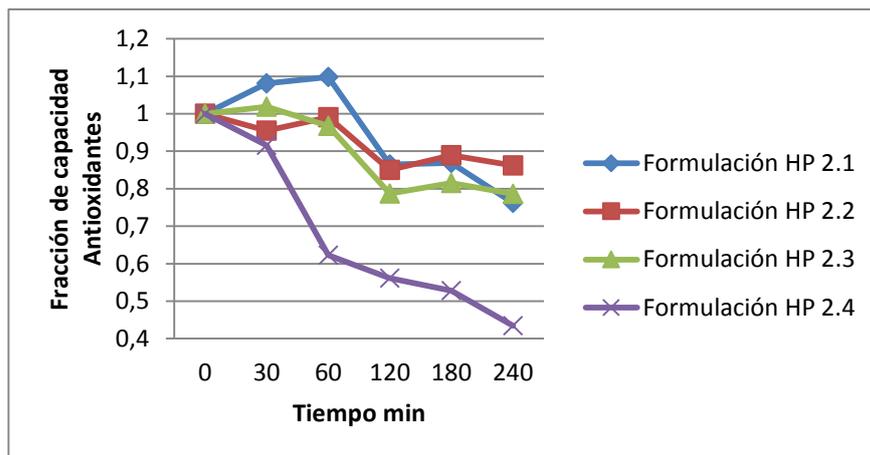


Figura 15. Fracción de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de polvo de hojas de guayusa deshidratadas a 50 °C con respecto al tiempo.

En la Figura 15 se muestra la fracción de capacidad antioxidante del extracto de polvo de guayusa sometido a 50 °C, donde existe un comportamiento diferente de los extractos realizados a 20 °C. Como base se tomó el resultado obtenido en el tiempo cero, aquí se observa que la capacidad antioxidante de todos los extractos va disminuyendo significativamente, sin embargo la formulación HP 2.2 es la que posee mayor capacidad antioxidante y presenta diferencia significativa ($p < 0.05$) con el resto de formulaciones al igual que la formulación HP 2.4, excepto que esta contiene una capacidad antioxidante inferior al resto. En este caso se puede decir que la temperatura influyó en la disminución de la capacidad antioxidante de los extractos, ya que como mencionan Monroy. et al. (2007) en su investigación sobre antioxidantes I. chile ancho (*Capsicum annum* L. Grossum sendt.) y romero (*Rosmarinus officinalis* L.) como fuentes naturales de antioxidantes, que la temperatura es una de las variantes para la obtención de las propiedades naturales de la planta, llevándolas a temperaturas no mayores de 35 °C, y de esta manera mantenga todas sus propiedades nutricionales, dato que se confirmó con los datos obtenidos en la Figura 15, donde la formulación 4 al minuto 30 posee una fracción de 0.92 hasta llegar minuto 240 que tiene una fracción de 0.43, así como también en la Figura 16 se puede apreciar los valores brutos obtenidos a 50 °C donde se observa

facilmente que los valores van disminuyendo indicando una disminucion de las propiedades del extracto. Datos que se encuentran en el Anexo XII.

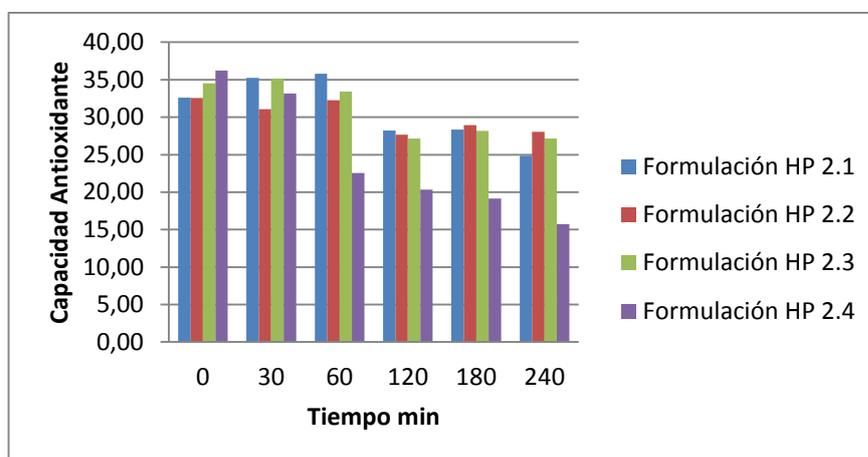


Figura 16. Comparación de los valores de la capacidad antioxidante de extracto acuoso de polvo de hojas de guayusa deshidratadas a 50 °C con respecto al tiempo.

Los extractos de polvo de guayusa tanto a 20 °C como a 50 °C muestran comportamientos diferentes al momento de obtener su capacidad antioxidante, se puede observar que los extractos sometidos a 20 °C aumentan su capacidad antioxidante durante la extracción, pero a partir del minuto 60 esta tiene a ser constante. En la Figura 13 se aprecia que al minuto 30 la formulación HP 1.1 presenta una fracción de 1.04 mientras que al minuto 240 contiene una fracción de 1.37, datos que demuestran que la formulación HP 1.1 es la que contiene mayor capacidad antioxidante. Mientras que en el extracto realizado a 50 °C, refleja que las concentraciones son afectadas por la temperatura lo cual van perdiendo su capacidad antioxidante con forme transcurre el tiempo. En la Figura 15 se muestra que la formulación HP 2.4 es la que sufre mayor pérdida, ya que al minuto 30 contiene una fracción de 0.92 y sigue disminuyendo hasta llegar al minuto 240 con una fracción de 0.43. Burneo (2010) en su investigación sobre 12 especies vegetales nativas del sur de Ecuador entre ellas I. guayusa, menciona que para obtener una mayor una capacidad antioxidante

y concentraciones elevadas de extracto, reduce a las hojas en fracciones mucho más pequeñas con el fin de lograr una penetración de los solventes con mayor facilidad a una temperatura de 35° C. Esta información corrobora datos obtenidos, ya que el tamaño de las hojas es reducido hasta llegar a polvo pero la temperatura de obtención no es la adecuada, provocando una saturación de los extractos y por consiguiente una disminución de la capacidad antioxidante, lo que explica el comportamiento de los extractos sometidos a 50 °C.

4.4 ANÁLISIS DE CONTENIDO DE POLIFENOLES DE HOJAS DESHIDRATADAS Y TRITURADAS DE GUAYUSA

La Figura 17 muestra el contenido de polifenoles del extracto acuoso de las hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 20 °C, tomando como base el resultado del tiempo cero. En donde se observa que todas las concentraciones tienden a aumentar el contenido de polifenoles conforme transcurre el tiempo, sin embargo se puede observar que el mayor contenido de polifenoles y con una diferencia significativa ($p < 0.05$) es el extracto de menor concentración (formulación HT 1.1). En base a estos datos se puede determinar que existe una constante concentración de polifenoles sin llegar a su saturación o mantenerse estable, esto se debe a que el tratamiento fue sometido a 20 °C.

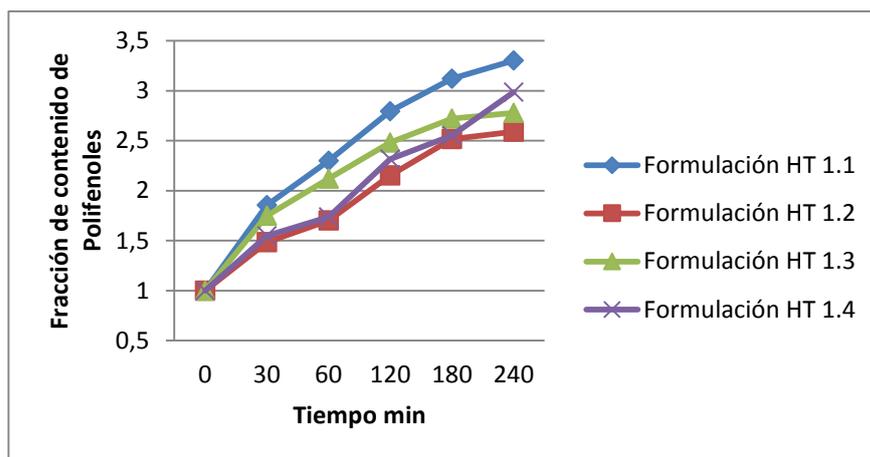


Figura 17. Fracción de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 20 °C con respecto al tiempo.

En la figura 18 se muestra los valores de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 20 °C. Se puede apreciar que el contenido de polifenoles va aumentando conforme transcurre el tiempo sin llegar a un tiempo de saturación del extracto, sin embargo el extracto con formulación HT 1.1 es el que contiene en mayor proporción a lo largo de todo el proceso. Este comportamiento se explica mediante la investigación realizada por Jensen. Et. al. (2007) extracción rápida de polifenoles de uvas verdes, en la cual determina que la temperatura de extracción es un factor importante para mejorar la extracción, realizándolo entre 40 °C y 60 °C, de esta manera extrajo todos los nutrientes optimizando a su máximo nivel la materia prima; los resultados de esta investigación confirman los datos obtenidos, ya que los extractos no mostraron saturación en ninguna extracción. Datos que se encuentran en el Anexo IX.

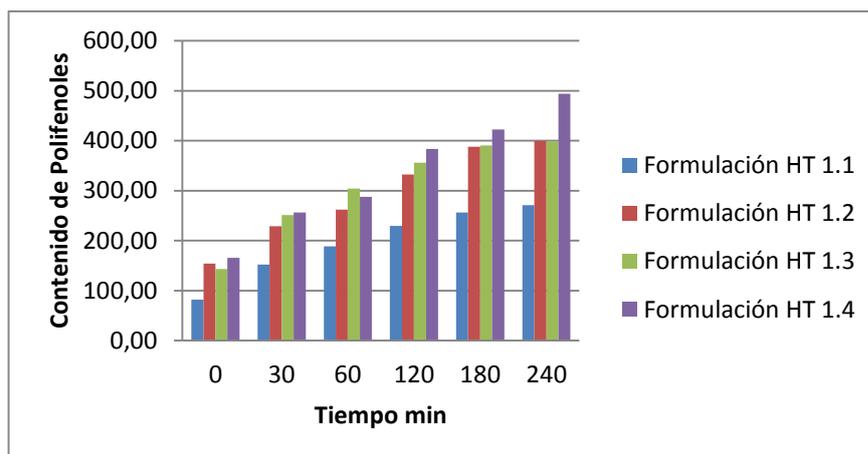


Figura 18. Comparación de los valores de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 20 °C con respecto al tiempo.

En la Figura 19 se observa el contenido de polifenoles a 50 °C del extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa, tomando como base el resultado del tiempo cero, donde se aprecia que tanto la formulación HT 2.1 como HT 2.2 presentan diferencia significativa ($p < 0.05$) entre ellas y son las que poseen mayor contenido de polifenoles, mientras que las formulaciones HT 2.3 y HT 2.4 no tienen diferencia significativa entre ellas y su contenido de polifenoles es menor, indicando una concentración continua del contenido de polifenoles, sin embargo, se puede apreciar en la Figura 20 que la formulación HT 2.4 en el minuto 180 empieza a estabilizar sus valores debido a una posible saturación del extracto. Gómez, Corral & Amajano (2013) en su investigación sobre extracción de compuestos polifenólicos del residuo de aguacate menciona que el contenido polifenólico aumenta hasta un tiempo de 386 minutos a una temperatura de 60 °C, a estas condiciones el extracto comienza a saturarse obteniendo menor contenido de polifenoles, esta referencia concuerda con los datos obtenidos ya que el extracto fue sometido a 50 °C pero en un tiempo mucho menor al aplicado por Gómez, Corral y Amajano, de esta manera se logró una mejor extracción de la materia prima sin llegar a la saturación. Los valores obtenidos de contenido de polifenoles a 50 °C se encuentran en el Anexo X.

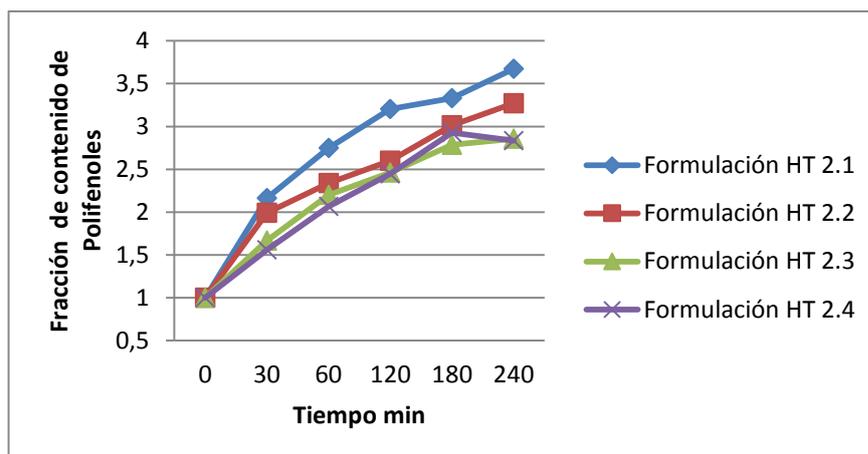


Figura 19 Fracción de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 50 °C con respecto al tiempo.

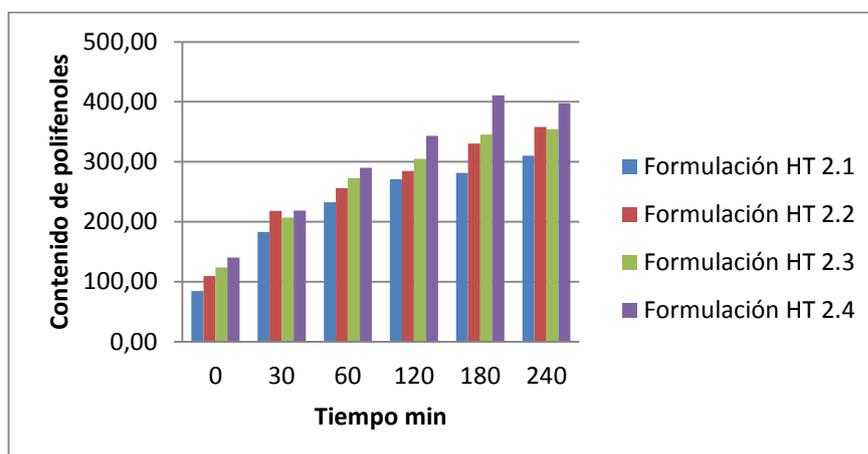


Figura 20. Comparación de los valores de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa a 50 °C con respecto al tiempo.

En base a los datos obtenidos de contenido de polifenoles tanto para los extractos realizados a 20 °C y 50 °C se puede determinar que las mejores extracciones son las que presentan menor porcentaje (8.1%), estos datos fueron obtenidos en base a los resultados del tiempo cero. En la Figura 21 se muestra que tanto al minuto 30 como al minuto 240 no presenta diferencia significativa entre ellas, y su contenido de polifenoles sigue aumentando conforme transcurre el tiempo, a su vez se puede observar que tampoco fueron afectadas por la temperatura (50 °C), ya que en el extracto realizado a 20 °C, presenta una fracción de 1.86, y al minuto 240 con una

fracción de 3.30 mientras que los extractos a 50 °C al minuto 30 presenta una fracción de 2.16 y al minuto 240 tiene una fracción de 1.56. Gómez, Corral, & Almajano (2013) mencionan que en la extracción de compuestos polifenólicos del residuo de aguacate va aumentando conforme transcurre el tiempo hasta llegar al minuto 386 y a una temperatura hasta de 60 °C, condiciones óptimas para la mayor obtención posible de contenido de polifenoles totales. Referencia que también resalta Jensen. Et. al. (2007) en su investigación sobre extracción rápida de polifenoles de uvas verdes, lo cual determina que la temperatura de extracción es un factor importante para mejorar el comportamiento del extracto, realizandolo entre 40 °C y 60 °C, de esta manera se extrae todos los nutrientes optimizando a su máximo nivel la materia prima. Estos datos dan como referencia a los resultados obtenidos en la Figura 22 ya que los extractos fueron realizados a una menor temperatura y en un periodo de tiempo mas corto obteniendo asi cada vez más contenido de polifenoles sin llegar a una saturación a lo largo de todo el proceso, sin embargo en la formulación HT 2.4 ya se empezaba a ver un ligero desenso del contenido de polifenoles debido a la concentración de hojas en el agua, la temperatura y tiempo de extracción.

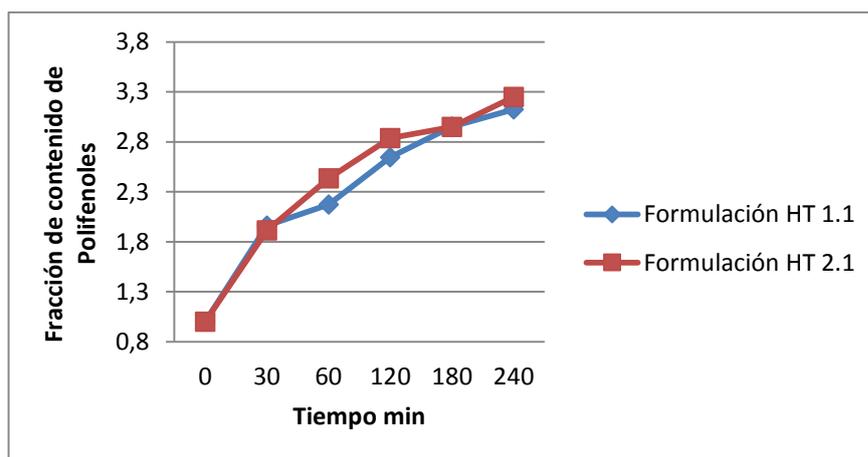


Figura 21. Contenido de polifenoles del extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa (8.1% peso de guayusa) entre 20 °C y 50 °C.

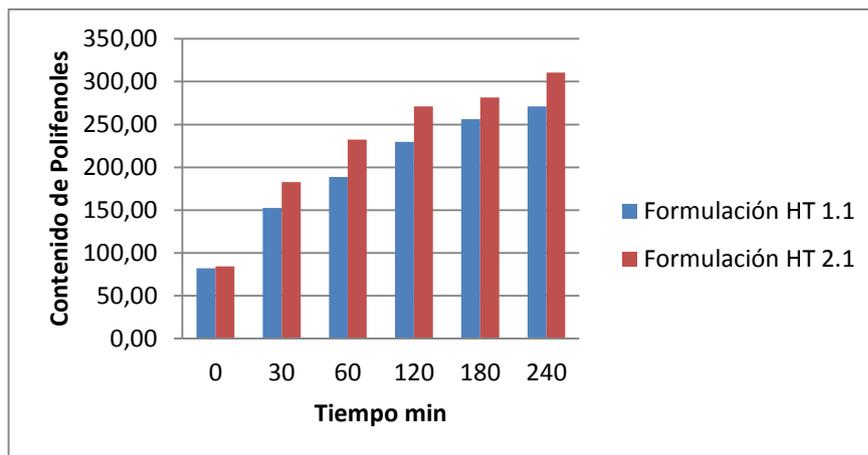


Figura 22. Comparación de los valores de Contenido de polifenoles del extracto acuoso de hojas deshidratadas y trituradas de guayusa (8.1% peso de guayusa) entre 20 °C y 50 °C.

4.5 ANÁLISIS DE CONTENIDO DE POLIFENOLES DE POLVO DE HOJAS DE GUAYUSA DESHIDRATADA

En la Figura 23 se determina la fracción de contenido de polifenoles de polvo de hojas deshidratadas de guayusa a 20 °C, tomando como base el resultado del tiempo cero, donde se puede observar que no existe estabilidad durante todo el proceso de extracción, como es en el caso del minuto 30 donde todas las formulaciones reflejan una diferencia significativa ($p < 0.05$) hasta llegar al minuto 240 donde todas las concentraciones empiezan a tener estabilidad y no presentan diferencia significativa entre ellas, sin embargo el contenido de polifenoles disminuye significativamente manifestando una saturación de los extractos.

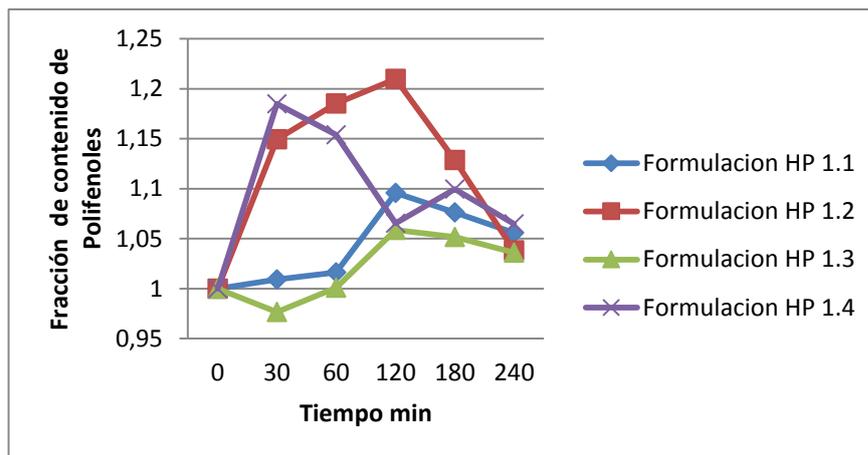


Figura 23. Fracción de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de polvo de hojas deshidratadas de guayusa a 20 °C con respecto al tiempo.

En la figura 24 se muestran los valores de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de polvo de hojas deshidratadas de guayusa a 20 °C. Datos que se muestran en el Anexo XI. Aquí se muestra que los valores tienen un ligero aumento de su contenido de polifenoles. Burneo (2010) en su investigación sobre 12 especies vegetales nativas del sur de Ecuador entre ellas I. guayusa, menciona que el tamaño de la partículas de las hojas tiene directa relación con la absorción y concentración de los extractos para obtener un extrato con un mayor contenido nutricional. Estos datos concuerdan con los resultados obtenidos ya que el tamaño de la partícula influye en la extracción de nutrientes de las diferentes formulaciones, obteniendo así solamente un aumento del contenido de polifenoles.

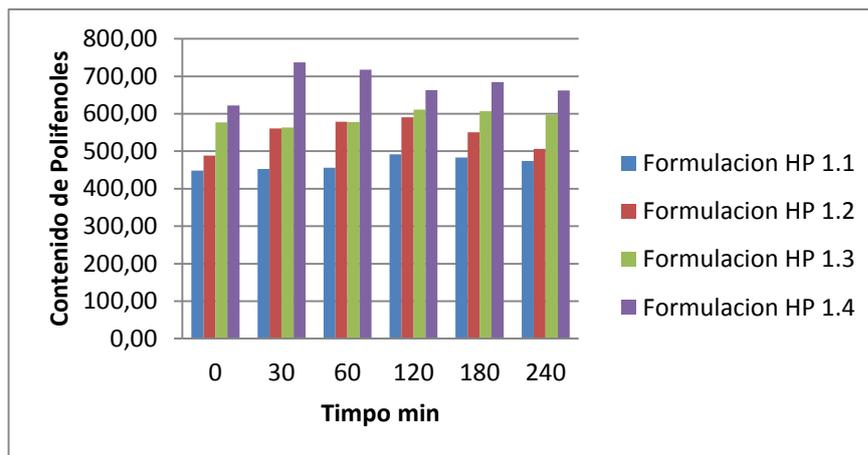


Figura 24. Comparación de valores de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de polvo de hojas deshidratadas de guayusa a 20 °C con respecto al tiempo.

En la Figura 25 se determina la fracción de contenido de polifenoles del extracto de polvo de hojas deshidratada de guayusa a 50 °C, tomando como base el resultado del tiempo cero. Se refleja un comportamiento diferente a las formulaciones sometidas a 20 °C, aquí se observa que el mayor contenido de polifenoles presentan las formulaciones HP 2.3 y HP 2.4 sin diferencia significativa entre ellas, al igual que las formulaciones HP 2.1 y HP 2.2 pero con un contenido de polifenoles menor a las anteriores. Datos que demuestran que los extractos sometidos a 50 °C presentan mayor contenido de polifenoles que los sometidos a 20 °C.

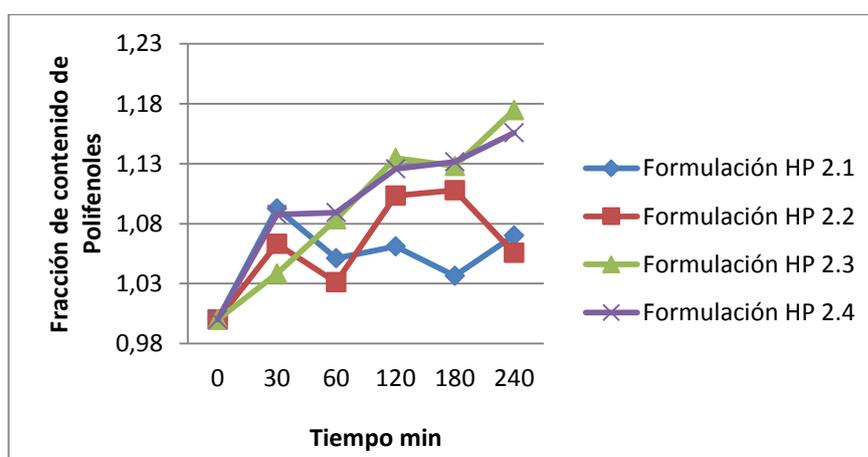


Figura 25. Fracción de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de polvo de hojas deshidratadas de guayusa a 50 °C con respecto al tiempo.

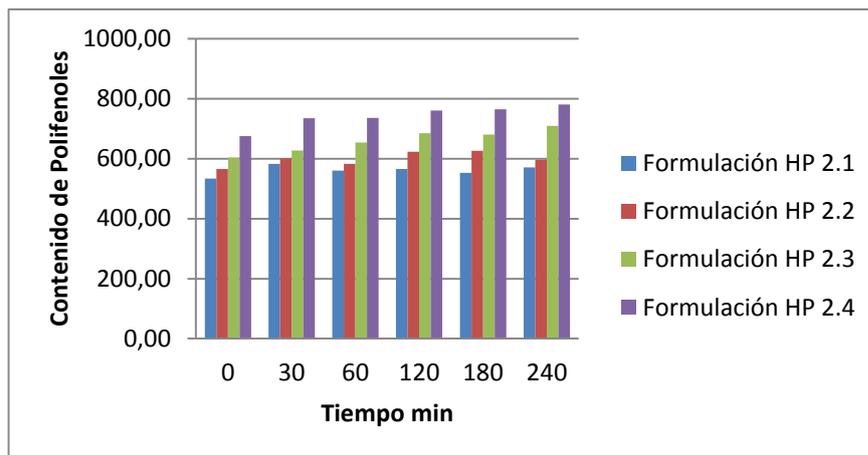


Figura 26. Comparación de valores de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de polvo de hojas deshidratadas de guayusa a 50 °C con respecto al tiempo.

En la Figura 26 se muestran los valores de contenido de polifenoles en el extracto acuoso de polvo de hojas deshidratadas de guayusa a 50 °C. Datos que se muestran en el Anexo XII. Aquí se muestra que existe un ligero contenido de polifenoles semejante a los resultados de los extractos sometidos a 20 °C, sin embargo estos datos son menores a los obtenidos en las hojas deshidratadas y trituradas de guayusa. Según Hartwig (2015) en su estudio sobre extractos secos de yerba mate establece que existe un alto contenido de polifenoles y capacidad antioxidante, siendo I. guayusa parte de la familia del mate, se establece que el contenido de polifenoles es alto, sin embargo la metodología utilizada y las condiciones a las que fueron sometidas las diferentes formulaciones no favorecieron a su completa extracción de los componentes de la planta.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Los resultados físico-químicos de las hojas deshidratadas y trituradas como el polvo de hojas deshidratadas de guayusa se encuentran dentro de los límites permisibles de las normas INEN, sin embargo las hojas deshidratadas y trituradas presentaron un ligero aumento con respecto al porcentaje de ceniza, esto puede deberse a que las muestras provienen de diferentes lotes de cosecha.
- La variación del contenido de cafeína entre la materia prima y los extractos obtenidos varían significativamente, ya que la materia prima cuenta con porcentajes altos de cafeína 2.5 % y 2.38 % para polvo y hojas trituradas de guayusa, mientras que los extractos acuosos presentan porcentajes significativamente bajos con valores menores a 0.24 %, con lo que se puede concluir que los tratamientos provocaron que el contenido de cafeína disminuya.
- Los extractos con mayor capacidad antioxidante fueron las formulaciones HT 1.4 y HT 2.4 para hojas deshidratadas y trituradas de guayusa y las formulaciones HP 1.1 y HP 2.2 para polvo de guayusa deshidratada.
- Los extractos con mayor contenido de polifenoles fueron las formulaciones HT 1.1 y HT 2.1 para las hojas deshidratadas y trituradas de guayusa y las formulaciones HP 1.4 y HP 2.4 para polvo de guayusa deshidratada.

5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda que para las futuras investigaciones relacionadas con este tema se realice mediante solventes orgánicos para determinar el mejor extracto en base a capacidad antioxidante y contenido de polifenoles.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Alomar, M. (2011). *Antioxidantes: Captadores de radicales libres ó sinónimo de salud*. Recuperado el 22 de marzo de 2015, de:
<http://www.soarme.com/archivos/1324143195.pdf>
- Amaya, T. (2013). *Extracción*. Recuperado el 18 de marzo de 2015, de:
<http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/tecnofarma/wp-content/uploads/2013/02/Extracci%C3%B3n.pdf>
- Arias, R., & Gualli, A. (2013). Estudio comparativo del Té de la especie (*Ilex guayusa*) procedente de la region amazónica y el producto comercial de la empresa "Aromas de Tungurahua". Guayaquil, Guayas, Ecuador: Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Asturnatura. (23 de Febrero de 2015). *Los polifenoles. Aditivos*. Recuperado el 22 de marzo de 2015, de:
<http://www.asturnatura.com/articulos/nutricion/energia-nutrientes-componentes-dieta/aditivos-polifenoles.php>
- Barberán, T. (2003). *los polifenoles de los alimentos y la salud*. Murcia: Grupo de Investigación en calidad, Seguridad y Bioactividad de alimentos de origen vegetal.
- Bottasso, J. (1993). *Los Salesianos y la Amazonía* (Vol. Tomo II). Quito, Ecuador: Abya-Yala.
- Burneo, Z. (1 de Junio de 2010). Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de los extractos totales de doce especies vegetales nativas del sur del ecuador: *adiantum poiretti* (culantrillo), *neonelsonia acuminata* (zanahoria blanca), *siparuna egger*. Loja, Loja, Ecuador: Universidad Técnica Particular de Loja.

- Caranqui, J., & Humanante, A. (2010). *Estudio sobre la Taxonomía y Estado de Conservación de la Guayusa (Ilex guayusa Loess.) del Cantón Pastaza*. Pastaza: Fundación Runa Tarpuna.
- Carral, E. (12 de junio de 2011). Determinación analítica de la cafeína en diferentes productos comerciales. Barcelona, España: Universidad Politécnica de Catalunya. Departamento de química industrial.
- Carrasco, R., & Encina, C. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruana. Perú.
- Chaves, M., Maiocchi, M., Sgroppo, S., & Avanza, J. (2002). *Actividad antioxidante de infusiones de yerba mate (Ilex paraguayensis St. Hil)*. Recuperado el 25 de mayo de 2015, de:
https://books.google.com.ec/books?id=XjpYk7--EBgC&pg=PA4&lpg=PA4&dq=metodos+de+infusion+de+la+yerba+m+ate&source=bl&ots=29_bGF-QkU&sig=4Ndla0WVxgu7nl90mxo2LgBy3TQ&hl=es-419&sa=X&ei=GMNjVZrvCliqggTj44GQDA&ved=0CC0Q6AEwAw#v=onepage&q=metodos%20de%20infusion%20de
- Collaguazo, P. (2012). Plan de Manejo de la especie guayusa (Ilex guayusa L.). Macas, Ecuador.
- Corcuera, M., & Eceiza, A. (2009). Experimentación Química. Escuela Politécnica Donostia San Sebastián.
- Covenin. (2002). Café elaborado. Determinación del extracto ACUOSO. Venezuela: Comisiín venezolana de Normas Institucionales Ministerio de Fomento.
- Criado, C., & Moya, M. (2009). Vitaminas y Antioxidantes. Madrid, España: Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid.
- Dominguez, R. (Febrero de 2013). *Extracción de Principios Activos de la planta*. Recuperado el 18 de marzo de 2015, de:

<http://es.slideshare.net/Rennie533/extraccin-de-principios-activos-de-planta>

Escobar, M. (2011). *Clase de Química, Portafolio de Milton Escobar Contreras*. Recuperado el 20 de marzo de 2015, de: <http://guitarleito.blogspot.com/>

Espitia, J. D. (2011). *Química y biología del extracto etanólico del epicarpio de Crescentia cujete L. (totumo)*. Recuperado el 14 de abril de 2016, de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962011000400005

Fernández, G. (2012). *destilación sencilla, fraccionada y al vacío*. Recuperado el 19 de marzo de 2015, de: <http://www.quimicaorganica.net/destilacion.html>

Finkel, T. (2003). *Oxidants signals and oxidative stress*. USA: Current Opinion in cell Biology.

Gallegos, V. M. (2014). *Composición y Análisis Químico de la Especie Ilex guayusa Loes*. Quito, Pichincha, Ecuador: Universidad San Francisco De Quito.

General, L. d. (2012). *Química general de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Antioquia*. Colombia: Universidad de Antioquia .

Georgé, S., Pierre, B., Alter, P., & Amiot, M. (2005). *Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products*.

Gómez, F., Corral, J., & Almajano, M. (2013). *Estudio cinético de la extracción Sólido-Líquido de los compuestos polifenólicos del Residuo del Aguacate*. España: Universidad Politécnica de Cataluña.

Hartwig, V. (23 de Septiembre de 2015). *Obtención de extractos secos de yerba mate con alto contenido de polifenoles y alta capacidad antioxidante*. Buenos Aires, Argentina.

- Hernandez, M., & Sastre, A. (1999). *Tratado de Nutrición*. Madrid: Díaz de santos S. A.
- Hicks, J., Torres, Y., & Sierra, M. (2006). Estrés Antioxidante. Concepto y clasificación. *Revista de Endocrinología y nutrición*.
- Jing, P., Bomser, J., Schwartz, S. H., Magnuson, B., & Giusti, M. (2008). *Polifenoles: Antioxidantes por Excelencia*. USA: Profitocoop.
- Marcillo, F. (2015). *Vitaminas*. Guayaquil: Escuela Politécnica del Litoral.
- Mendive, F. (2011). *Extractos de Plantas Medicinales*. Recuperado el 19 de Marzo de 2015, de <http://www.laboratorio.takiwasi.org/esp/extract.php>
- NCEPI. (1996). Guia del Ciudadano: La Extracción con Solventes. *Ficha Tecnológica*. National Center For Environmental Publications and Information.
- Pacha, A. (2012). *“comprobación del efecto adelgazante de la tintura de guayusa (Ilex guayusa) en ratones (Mus musculus) con sobrepeso inducido*. Riobamba.
- Padilla, F., Rincón, A., & Rached, L. (2008). contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. Venezuela: Organo Oficial de Sociedad Latinoamericana de Nutrición.
- Pérez, T. (2015). *Obtención de extracto a partir de plantas medicinales*. Recuperado el 19 de marzo de 2015, de: http://www.academia.edu/4975688/Obtenci%C3%B3n_de_extractos_a_partir_de_plantas_medicinales
- Quiñones, M. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Madrid, España: Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad Complutense .

- Quiroz S, Q. M. (2013). Elaboración de una bebida energizante a base de guayusa (*Ilex guayusa*) edulcorada con panela. Ibarra, Imbabura, Ecuador: Universidad Técnica del Norte.
- Quiroz, S., & Quishpe, M. (2013). Elaboración de una bebida energizante a base de guayusa (*ilex guayusa*) y naranjilla (*Solanum quitoense*) edulcorada con panela. Ibarra, Imbabura, Ecuador: Universidad Técnica del Norte.
- Radice, M., & Vidari, G. (2000). *Caracterización fitoquímica de la especie Ilex guayusa Loes. y elaboración de un prototipo de fitofármaco de interés comercial*. Italia: Università degli Studi di Pavia.
- Sandoval, B., López, A., Martínez, B., Bermúdez, K., & Trejo, G. (2012). Advances in the phytochemistry of *Cuphea aequipetala*, *C. aequipetala* var. *hispida* and *C. lanceolata*: extraction and quantification of phenolic compounds and antioxidant activity. México: Departamento de Biotecnología, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional.
- Torres, G. J. (2013). El Aprovechamiento De La guayusa. Morona santiago, Macas, Ecuador: Macías & Ávila Comunicaciones.
- Tuquinga, M. (2013). Efecto Estrogénico de las hojas de guayusa (*Ilex guayusa* Loes) en ratas (*Rattus norvegicus*). Riobamba , Chimborazo, Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Valls, V. (2008). *El papel Antioxidante de los Alimentos de Origen Vegetal. Vitaminas y polifenoles*. Recuperado el 22 de marzo de 2015, de Facultad de Medicina. Universidad de Valencia: http://revista.nutricion.org/hemeroteca/revista_agosto_03/Funcionales/vegetales,vitaminas,polifenoles.pdf
- Vasquez, L. (20 de Abril de 2013). *Los Radicales Libres* . Recuperado el 21 de marzo de 2015, de: <http://curiosidades.batanga.com/4335/que-son-los-radicales-libres>

Venegas, E. (2012). Cuantificación de Flavonoides totales y Taninos presentes en el extracto acuoso de Hojas de *Thea sinensis* L. y su capacidad antioxidante. Universidad Nacional de Trujillo.

Zamora, J. (Marzo de 2007). Antioxidantes: Micronutrientes en lucha por la Salud. Costa Rica: Universidad de COsta Rica.

ANEXOS

ANEXO I

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE LAS HOJAS DESHIDRATADAS Y TRITURADAS DE GUAYUSA



Laboratorio de Análisis y Aseguramiento de Calidad

INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-FQ.24690

Reemplaza al INF.DIV-FQ.24654

SA 29578a'

Cliente:	VALLEJO SILVA STEFANY BELEN	Lote:	---
Dirección:	SAN FERNANDO	Fecha Elaboración:	---
Muestreado por:	El Cliente	Fecha Vencimiento:	---
Muestra de:	ALIMENTO	Fecha Recepción:	15/06/2016
Descripción:	GUAYUSA TRITURADA	Hora Recepción:	12:03
		Fecha Análisis:	16/06/2016
		Fecha Entrega:	28/06/2016
		Código:	----

Características Muestra	
Color:	Característico
Olor:	Característico
Estado:	Sólido
Contenido Declarado:	80g
Contenido Encontrado:	----
Observaciones:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio

RESULTADO FÍSICO-QUÍMICO

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO INTERNO	METODO DE REFERENCIA
HUMEDAD	%	5.67	MFQ-04	AOAC 925.10
INSOLUBILIDAD DE CENIZAS EN HCL	%	0.64	MFQ-200	INEN 1118
CENIZA	%	9.15	MFQ-03	AOAC 923.03
ALCALINIDAD CENIZAS	%	1.83	MFQ-54	INEN 637
SOLU. CENIZA EN AGUA	%	97.34	MFQ-334	INEN 1119




Dra. Pamela Jácome
GERENTE TÉCNICO

ANEXO II

CONTENIDO DE CAFÉINA DE LAS HOJAS DESHIDRATADAS Y TRITURADAS DE GUAYUSA



Laboratorio de Análisis y Aseguramiento de Calidad

INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-IN.19849

Reemplaza al INF.DIV-IN.19823

SA 29579a'

Cliente:	VALLEJO SILVA STEFANY BELEN	Lote:	---
Dirección:	SAN FERNANDO	Fecha Elaboración:	---
Muestreado por:	El Cliente	Fecha Vencimiento:	---
Muestra de:	ALIMENTO	Fecha Recepción:	15/06/2016
Descripción:	GUAYUSA TRITURADA	Hora Recepción:	12:04
		Fecha Análisis:	16/06/2016
		Fecha Entrega:	28/06/2016
		Código:	-----

Características Muestra

Color:	Característico
Olor:	Característico
Estado:	Sólido
Contenido Declarado:	80g
Contenido Encontrado:	-----
Observaciones:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio

RESULTADO INSTRUMENTAL

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO INTERNO	MÉTODO DE REFERENCIA
CAFÉINA	%	2.38	MIN-17	HPLC




Ing. Teresa Ramirez
DIRECTORA DE CALIDAD

ANEXO III

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL POLVO DE HOJAS DE GUAYUSA DESHIDRATADAS



INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-FQ.24691
Reemplaza al INF.DIV-FQ.24655
SA 29578b'

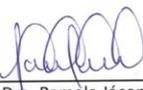
Cliente:	VALLEJO SILVA STEFANY BELEN	Lote:	---
Dirección:	SAN FERNANDO	Fecha Elaboración:	---
Muestreado por:	El Cliente	Fecha Vencimiento:	---
Muestra de:	ALIMENTO	Fecha Recepción:	15/06/2016
Descripción:	POLVO DE GUAYUSA	Hora Recepción:	12:03
		Fecha Análisis:	16/06/2016
		Fecha Entrega:	28/06/2016
		Código:	----

Características Muestra	
Color:	Característico
Olor:	Característico
Estado:	Solido
Contenido Declarado:	80g
Contenido Encontrado:	----
Observaciones:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio

RESULTADO FÍSICO-QUÍMICO

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO INTERNO	METODO DE REFERENCIA
HUMEDAD	%	3.07	MFQ-04	AOAC 925.10
INSOLUBILIDAD DE CENIZAS EN HCL	%	0.73	MFQ-200	INEN 1118
CENIZA	%	6.09	MFQ-03	AOAC 923.03
ALCALINIDAD CENIZAS	%	1.69	MFQ-54	INEN 821
SOLU. CENIZA EN AGUA	%	99.67	MFQ-334	INEN 1119




Dr. Pamela Jácome
GERENTE TECNICO

ANEXO IV

CONTENIDO DE CAFÉINA DEL POLVO DE HOJAS DE GUAYUSA DESHIDRATADAS



Multianalityca

Laboratorio de Análisis y Aseguramiento de Calidad

INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-IN.19850

Reemplaza al INF.DIV-IN.19824

SA 29579b'

Cliente:	VALLEJO SILVA STEFANY BELEN	Lote:	---
Dirección:	SAN FERNANDO	Fecha Elaboración:	---
Muestreado por:	El Cliente	Fecha Vencimiento:	---
Muestra de:	ALIMENTO	Fecha Recepción:	15/06/2016
		Hora Recepción:	12:04
		Fecha Análisis:	16/06/2016
Descripción:	POLVO DE GUAYUSA	Fecha Entrega:	28/06/2016
		Código:	-----

Características Muestra	
Color:	Característico
Olor:	Característico
Estado:	Sólido
Contenido Declarado:	80g
Contenido Encontrado:	-----
Observaciones:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio

RESULTADO INSTRUMENTAL

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO INTERNO	MÉTODO DE REFERENCIA
CAFÉINA	%	2.57	MIN-17	HPLC



Teresa Ramírez
Ing. Teresa Ramírez
DIRECTORA DE CALIDAD



ANEXO V

CONTENIDO DE CAFEÍNA HOJAS DESHIDRATADAS Y TRITURADAS DE GUAYUSA A 20 °C



Laboratorio de Análisis y Aseguramiento de Calidad

INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-IN.19848

Reemplaza al INF.DIV-IN.19822

SA 29546d'

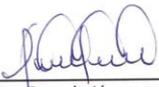
Cliente:	VALLEJO SILVA STEFANY BELEN	Lote:	---
Dirección:	SAN FERNANDO	Fecha Elaboración:	---
Muestreado por:	El Cliente	Fecha Vencimiento:	---
Muestra de:	PRODUCTO TERMINADO EXTRACTOS	Fecha Recepción:	14/06/2016
Descripción:	HTC4 A 20°C	Hora Recepción:	9:57
		Fecha Análisis:	14/06/2016
		Fecha Entrega:	28/06/2016
		Código:	-----

Características Muestra	
Color:	Característico
Olor:	Característico
Estado:	Líquido
Contenido Declarado:	50ml
Contenido Encontrado:	-----
Observaciones:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio

RESULTADO INSTRUMENTAL

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO INTERNO	MÉTODO DE REFERENCIA
CAFEÍNA	%	0.18	MIN-17	HPLC




 Dra. Pamela Jácome
 GERENTE TECNICO

ANEXO VI

CONTENIDO DE CAFEÍNA DE HOJAS DESHIDRATADAS Y TRITURADAS DE GUAYUSA A 50 °C



Laboratorio de Análisis y Aseguramiento de Calidad

INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-IN.19847

Reemplaza al INF.DIV-IN.19821

SA 29546c'

Cliente:	VALLEJO SILVA STEFANY BELEN	Lote:	---
Dirección:	SAN FERNANDO	Fecha Elaboración:	---
Muestreado por:	El Cliente	Fecha Vencimiento:	---
Muestra de:	PRODUCTO TERMINADO EXTRACTOS	Fecha Recepción:	14/06/2016
Descripción:	HTC4 A 50°C	Hora Recepción:	9:57
		Fecha Análisis:	14/06/2016
		Fecha Entrega:	28/06/2016
		Código:	----

Características Muestra

Color:	Característico
Olor:	Característico
Estado:	Líquido
Contenido Declarado:	50ml
Contenido Encontrado:	-----
Observaciones:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio

RESULTADO INSTRUMENTAL

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO INTERNO	MÉTODO DE REFERENCIA
CAFEÍNA	%	0.24	MIN-17	HPLC




Dra. Pamela Jácome
GERENTE TÉCNICO

ANEXO VII

CONTENIDO DE CAFÉINA DE POLVO DE HOJAS DESHIDRATADAS DE GUAYUSA A 20 °C



Laboratorio de Análisis y Aseguramiento de Calidad

INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-IN.19846

Reemplaza al INF.DIV-IN.19820

SA 29546b'

Cliente:	VALLEJO SILVA STEFANY BELEN	Lote:	---
Dirección:	SAN FERNANDO	Fecha Elaboración:	---
Muestreado por:	El Cliente	Fecha Vencimiento:	---
Muestra de:	PRODUCTO TERMINADO EXTRACTOS	Fecha Recepción:	14/06/2016
Descripción:	HPC1 A 20°C	Hora Recepción:	9:57
		Fecha Análisis:	14/06/2016
		Fecha Entrega:	28/06/2016
		Código:	-----

Características Muestra	
Color:	Característico
Olor:	Característico
Estado:	Líquido
Contenido Declarado:	50ml
Contenido Encontrado:	-----
Observaciones:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio

RESULTADO INSTRUMENTAL

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO INTERNO	MÉTODO DE REFERENCIA
CAFÉINA	%	0.17	MIN-17	HPLC



Dra. Pamela Jácome
GERENTE TÉCNICO

ANEXO VIII

CONTENIDO DE CAFEÍNA DE POLVO DE HOJAS DESHIDRATADAS DE GUAYUSA A 50 °C



Laboratorio de Análisis y Aseguramiento de Calidad

INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-IN.19845

Reemplaza al INF.DIV-IN.19819

SA 29546a¹

Cliente:	VALLEJO SILVA STEFANY BELEN	Lote:	---
Dirección:	SAN FERNANDO	Fecha Elaboración:	---
Muestreado por:	El Cliente	Fecha Vencimiento:	---
Muestra de:	PRODUCTO TERMINADO EXTRACTOS	Fecha Recepción:	14/06/2016
Descripción:	HPC2 A 50°C	Hora Recepción:	9:57
		Fecha Análisis:	14/06/2016
		Fecha Entrega:	28/06/2016
		Código:	-----

Características Muestra	
Color:	Característico
Olor:	Característico
Estado:	Líquido
Contenido Declarado:	50ml
Contenido Encontrado:	-----
Observaciones:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio

RESULTADO INSTRUMENTAL

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO INTERNO	MÉTODO DE REFERENCIA
CAFEÍNA	%	0.20	MIN-17	HPLC




Dra. Pamela Jácome
GERENTE TÉCNICO

ANEXO IX

TABLA FRACCIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE POLIFENOLES DE HOJAS DESHIDRATADAS Y TRITURADAS DE GUAYUSA A 20 °C

Tiempo (min)	Código	Capacidad Antioxidante			Contenido de Polifenoles		
		Cn media	Desv	% Error	Cn media	Desv	% Error
0	HT 1.1.1	2.84	0.10	3.59	86.8	5.35	6.51
30	HT 1.1.2	3.64	0.28	7.56	170.3	3.92	2.57
60	HT 1.1.3	3.30	0.23	7.11	188.7	15.04	7.97
120	HT 1.1.4	4.27	0.24	5.64	229.6	11.54	5.03
180	HT 1.1.5	4.41	0.31	7.04	256.2	14.40	5.62
240	HT 1.1.6	4.68	0.31	6.56	271.2	19.00	7.01
0	HT 1.2.1	1.53	0.12	7.65	168.5	9.89	6.41
30	HT 1.2.2	1.91	0.13	6.61	228.9	7.04	3.08
60	HT 1.2.3	2.24	0.08	3.50	262.4	10.21	3.89
120	HT 1.2.4	4.20	0.24	5.68	332.2	6.44	1.94
180	HT 1.2.5	5.43	0.28	5.19	388.3	10.21	2.63
240	HT 1.2.6	5.30	0.35	6.61	399.2	10.29	2.58
0	HT 1.3.1	3.42	0.32	7.65	143.5	10.30	7.18
30	HT 1.3.2	3.35	0.28	6.61	251.2	13.05	5.19
60	HT 1.3.3	2.76	0.14	3.50	304.5	6.63	2.18
120	HT 1.3.4	3.24	0.27	5.68	356.2	6.50	1.82
180	HT 1.3.5	3.97	0.28	5.19	390.7	7.83	2.00
240	HT 1.3.6	4.19	0.31	6.61	398.6	4.40	1.10
0	HT 1.4.1	1.63	0.10	6.33	165.6	7.70	4.65
30	HT 1.4.2	1.87	0.15	8.06	256.6	9.48	3.69
60	HT 1.4.3	4.33	0.27	6.31	287.8	14.10	4.90
120	HT 1.4.4	4.99	0.44	8.84	383.5	11.11	2.90
180	HT 1.4.5	5.58	0.49	8.78	422.7	11.10	2.63
240	HT 1.4.6	6.58	0.57	8.59	494.4	19.49	3.94

ANEXO X

TABLA FRACCIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE POLIFENOLES DE HOJAS DESHIDRATADAS Y TRITURADAS DE GUAYUSA A 50 °C

Tiempo (min)	Código	Capacidad Antioxidante			Contenido de Polifenoles		
		Cn media	Desv	% Error	Cn media	Desv	% Error
0	HT 2.1.1	3.12	0.22	7.20	84.54	2.80	3.31
30	HT 2.1.2	4.62	0.32	7.00	182.78	9.69	5.30
60	HT 2.1.3	6.53	0.54	8.33	232.43	2.88	1.24
120	HT 2.1.4	7.28	0.54	7.39	270.95	8.45	3.12
180	HT 2.1.5	8.22	0.71	8.62	281.63	5.99	2.13
240	HT 2.1.6	10.42	0.81	7.80	310.46	17.25	5.56
0	HT 2.2.1	3.76	0.23	6.15	109.55	5.22	4.76
30	HT 2.2.2	4.06	0.21	5.10	218.36	5.42	2.48
60	HT 2.2.3	8.08	0.72	8.86	256.03	10.12	3.95
120	HT 2.2.4	10.38	0.88	8.45	284.74	16.52	5.80
180	HT 2.2.5	9.73	0.29	3.02	330.24	8.01	2.42
240	HT 2.2.6	11.75	0.86	7.29	358.16	34.83	9.72
0	HT 2.3.1	3.43	0.29	8.48	123.99	5.76	4.65
30	HT 2.3.2	6.29	0.24	3.75	206.77	5.50	2.66
60	HT 2.3.3	6.81	0.33	4.89	272.95	24.66	9.03
120	HT 2.3.4	8.61	0.45	5.22	305.17	11.35	3.72
180	HT 2.3.5	10.05	0.91	9.07	345.20	18.58	5.38
240	HT 2.3.6	11.95	0.95	7.99	354.33	34.28	9.67
0	HT 2.4.1	3.52	0.23	6.47	140.25	6.09	4.34
30	HT 2.4.2	5.41	0.37	6.80	218.83	10.28	4.70
60	HT 2.4.3	8.94	0.66	7.33	290.10	11.28	3.89
120	HT 2.4.4	10.58	0.91	8.65	343.08	8.80	2.56
180	HT 2.4.5	10.21	0.80	7.81	410.83	17.73	4.32
240	HT 2.4.6	11.37	0.97	8.55	397.38	36.58	9.21

ANEXO XI

TABLA FRACCIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE POLIFENOLES DE POLVO DE HOJAS DESHIDRATADAS DE GUAYUSA A 20 °C

Tiempo (min)	Código	Capacidad Antioxidante			Contenido de Polifenoles		
		Cn media	Desv	% Error	Cn media	Desv	% Error
0	HP 1.1.1	27.09	1.99	7.36	448.73	14.23	3.17
30	HP 1.1.2	28.29	1.77	6.25	452.91	19.96	4.41
60	HP 1.1.3	36.53	2.01	5.50	456.06	22.49	4.93
120	HP 1.1.4	36.72	2.73	7.44	491.76	26.72	5.43
180	HP 1.1.5	38.43	0.51	1.32	482.95	26.35	5.46
240	HP 1.1.6	37.02	2.67	7.22	473.86	33.38	7.04
0	HP 1.2.1	34.32	1.25	3.65	488.02	25.37	5.20
30	HP 1.2.2	35.43	1.20	3.37	560.90	20.08	3.58
60	HP 1.2.3	39.62	1.10	2.77	578.49	21.19	3.66
120	HP 1.2.4	40.66	1.41	3.48	590.43	33.50	5.67
180	HP 1.2.5	39.71	3.29	8.28	550.90	21.37	3.88
240	HP 1.2.6	39.37	1.99	5.06	506.74	35.69	7.04
0	HP 1.3.1	30.26	2.50	8.25	576.94	21.51	3.73
30	HP 1.3.2	28.08	0.57	2.04	563.43	31.68	5.62
60	HP 1.3.3	37.19	1.49	4.01	577.54	20.00	3.46
120	HP 1.3.4	39.00	1.95	5.00	610.84	32.95	5.39
180	HP 1.3.5	36.07	2.48	6.88	606.80	25.13	4.14
240	HP 1.3.6	35.69	2.01	5.64	597.68	25.70	4.30
0	HP 1.4.1	29.50	1.60	5.43	622.14	28.06	4.51
30	HP 1.4.2	36.12	1.50	4.16	737.25	37.01	5.02
60	HP 1.4.3	35.78	1.07	2.98	717.93	55.06	7.67
120	HP 1.4.4	34.78	1.19	3.41	662.85	17.04	2.57
180	HP 1.4.5	35.52	1.36	3.82	684.04	26.47	3.87
240	HP 1.4.6	35.05	1.33	3.79	662.42	10.85	1.64

ANEXO XII

TABLA FRACCIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE POLIFENOLES DE POLVO DE HOJAS DESHIDRATADAS DE GUAYUSA A 50 °C

Tiempo (min)	Código	Capacidad Antioxidante			Contenido de Polifenoles		
		Cn media	Desv	% Error	Cn media	Desv	% Error
0	HP 2.1.1	32.61	1.32	4.06	533.57	49.14	9.21
30	HP 2.1.2	35.25	2.77	7.86	582.96	29.37	5.04
60	HP 2.1.3	35.80	1.53	4.27	560.93	31.10	5.54
120	HP 2.1.4	28.20	2.65	9.41	566.15	34.83	6.15
180	HP 2.1.5	28.34	1.48	5.23	552.98	46.94	8.49
240	HP 2.1.6	24.87	0.93	3.74	570.95	27.88	4.88
0	HP 2.2.1	32.56	2.73	8.38	565.30	14.31	2.53
30	HP 2.2.2	31.09	2.53	8.13	600.99	9.13	1.52
60	HP 2.2.3	32.25	2.48	7.70	582.88	2.44	0.42
120	HP 2.2.4	27.67	2.41	8.69	623.71	4.17	0.67
180	HP 2.2.5	28.96	2.05	7.07	626.25	26.50	4.23
240	HP 2.2.6	28.06	1.71	6.10	596.70	20.83	3.49
0	HP 2.3.1	34.53	2.99	8.67	603.90	13.89	2.30
30	HP 2.3.2	35.18	2.48	7.05	627.08	11.02	1.76
60	HP 2.3.3	33.42	0.49	1.48	654.44	10.49	1.60
120	HP 2.3.4	27.17	0.53	1.96	685.28	28.49	4.16
180	HP 2.3.5	28.16	0.53	1.88	681.20	22.96	3.37
240	HP 2.3.6	27.14	1.03	3.78	709.40	18.82	2.65
0	HP 2.4.1	36.21	3.42	9.43	675.71	39.49	5.84
30	HP 2.4.2	33.17	0.63	1.90	734.86	9.70	1.32
60	HP 2.4.3	22.54	1.24	5.51	736.08	20.53	2.79
120	HP 2.4.4	20.34	1.18	5.83	760.65	32.48	4.27
180	HP 2.4.5	19.13	0.94	4.91	764.60	46.69	6.11
240	HP 2.4.6	15.74	1.28	8.11	781.03	70.83	9.07