



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

TRABAJO DE TITULACIÓN

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

INGENIERO QUÍMICO

TEMA:

“Efecto del Calentamiento Óhmico sobre la inactivación microbiana y las propiedades físico-químico del extracto de Guayusa (*Ilex guayusa*) ”.

AUTORES:

KATHERINE KASANDRA MORA CARRERA

KEVIN JAVIER MACIAS CHIRIGUAYA

DIRECTOR DE TESIS:

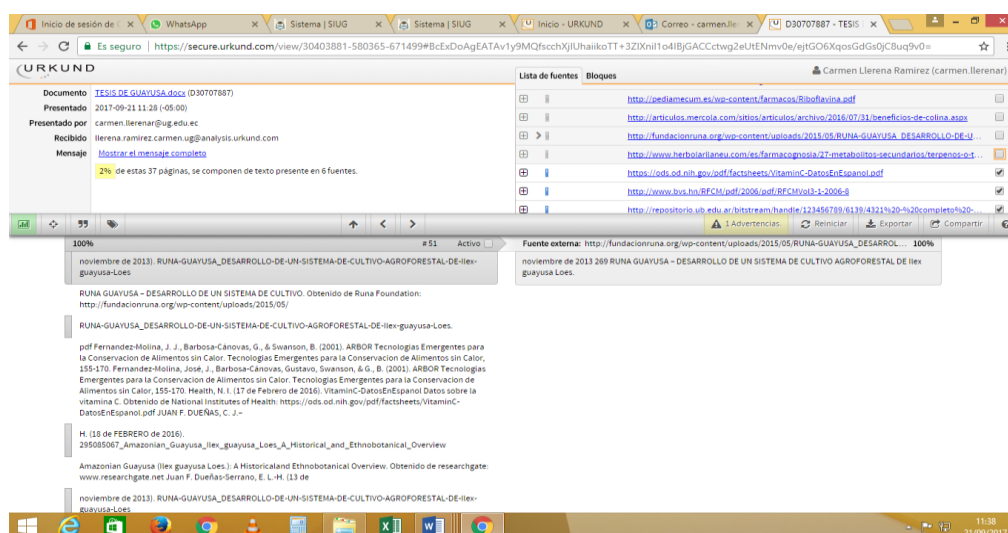
Ing. MANUEL FIALLOS CÁRDENAS Msc.

GUAYAQUIL, OCTUBRE 2017

CERTIFICADO SISTEMA ANTI PLAGIO

Habiendo sido nombrado **ING. MANUEL FIALLOS CÁRDENAS, MSc.**, tutor del trabajo de titulación, certifico que el presente proyecto ha sido elaborado por **KATHERINE KASANDRA MORA CARRERA, C.C.: 120638135-0**, y **KEVIN JAVIER MACIAS CHIRIGUAYA, C.C. 120711189-7**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de **INGENIERO QUÍMICO**.

Se informa que el proyecto: **“EFECTO DEL CALENTAMIENTO ÓHMICO SOBRE LA INACTIVACIÓN MICROBIANA Y LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICO DEL EXTRACTO DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*)”**, ha sido orientado durante todo el período de ejecución en el programa antiplagio (URKUND) quedando el 2% de coincidencias.



ING. MANUEL FIALLOS CÁRDENAS, MSc.

CERTIFICAIÓN DEL TUTOR

Habiendo sido nombrado al **ING. QCO. MANUEL ALEJANDRO FIALLOS CÁRDENAS, MSc.**, tutor del trabajo de titulación certifico que el presente proyecto ha sido elaborado por **KATHERINE KASANDRA MORA CARRERA** con C.C: **120638135-0** y **KEVIN JAVIER MACIAS CHIRIGUAYA** con C.C: **120711189-7** con mi respectiva revisión como requerimiento parcial para la obtención del título de **INGENIERO QUÍMICO**.

Tema: **“EFECTO DEL CALENTAMIENTO ÓHMICO SOBRE LA INACTIVACIÓN MICROBIANA Y LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICO DEL EXTRACTO DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*) ”**.

Certifico que he revisado y aprobado en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.

Docente Tutor

Ing. Manuel Alejandro Fiallos Cárdenas, MSc.

RENUNCIA DE DERECHOS DE AUTOR

Por medio de la presente certifico que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación son de absoluta propiedad, y responsabilidad de **KATHERINE KASANDRA MORA CARRERA** con C.C. **120638135-0** y **KEVIN JAVIER MACIAS CHIRIGUAYA** con C.C: **120711189-7**.

Cuyo título es “**EFFECTO DEL CALENTAMIENTO ÓHMICO SOBRE LA INACTIVACIÓN MICROBIANA Y LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICO DEL EXTRACTO DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*)**”.

Derechos que renuncio a favor de la Universidad de Guayaquil, para que haga uso de como bien tenga.

KATHERINE KASANDRA MORA CCARRERA

C.C. 120638135-0

KEVIN JAVIER MACIAS CHIRIGUAYA

C.C. 120711189-7

DEDICATORIA

Primeramente a Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme brindado salud a lo largo de mi carrera, ser el manantial de vida y darme lo necesario para continuar adelante día a día para poder lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres, Agustín Mora y Raquel Carrera, quienes han sido mi motor fundamental para seguir, darme la fortaleza, el ánimo necesario para continuar y además por brindarme su amor, su sabiduría, sus buenos ejemplos, han hecho todo lo posible para que yo logre esta meta, gracias por creer y confiar en mí son mi todo.

A mis hermanos Rosmery y Frank, que han sido incondicionales en las buenas y las malas siempre nos hemos brindado la mano, gracias por demostrarme siempre lo importante que soy para ustedes y como lo son ustedes para mí. Llegar a esta meta no solo ha sido un esfuerzo mío, sino de toda la familia, gracias por eso.

A mi mejor amiga Anahí Mosquera por su apoyo incondicional, por nunca haberme dejado vencer, por siempre tener las palabras correctas que decirme, serás alguien a quien querré por siempre.

A mis amigos, que han sido mi segunda familia en mi etapa universitaria a Katherine, Elena y Lissette que se convirtieron en mis hermanas gracias por haberme acompañado en esta aventura y cumplir una meta juntas y por ultimo a Billy, José, Ariana, Gabriel, Kevin, Bethsabe, Edison por su apoyo incondicional.

KATHERINE KASANDRA MORA CARRERA

DEDICATORIA

Dedico este proyecto de tesis a Dios, a mis padres y hermanas. A Dios porque ha estado conmigo a cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar, a mis padres, quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento. Depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad. Es por ellos que soy lo que soy ahora, y a mis hermanas porque a pesar de las adversidades siempre están en el momento indicado para ayudarme y guiarme cuando lo necesito.

KEVIN MACÍAS CHIRIGUAYA

AGRADECIMIENTO

Expreso mis más profundos y sinceros agradecimientos:

A Dios, por haberme dado el tiempo necesario para realizar este trabajo de titulación, por haberme permitido conocer a un sinnúmero de personas que colaboraron conmigo, le agradezco el haberme permitido hacer realidad uno de mis sueños.

A mis padres y hermanos, por haberme tenido paciencia, comprensión y confianza. Gracias por todo, familia los amo inmensamente.

A mi tutor el Ing. Manuel Fiallos, por su guía, su tiempo, sus conocimientos y sobre todo la confianza depositada en mí.

A la Ing. Lilia Casabona por su colaboración de los laboratorios centrales de física, así mismo al Ing. Wilfrido Terán por haberme prestado su ayuda en el proceso de experimentación, su amistad sincera y por estar presto ayudar con las inquietudes de momento.

A Jael Guerrero, Eduard Barreiro y Luis Proaño, por el apoyo que me brindaron en transcurso de este proceso de titulación, gracias por su ayuda incondicional para conmigo.

A mis amigos que siempre han estado predispuestos a brindarme su apoyo les agradecemos de corazón y en especial a José Soriano por todo el cariño y apoyo en el transcurso de todos estos años.

KATHERINE KASANDRA MORA CARRERA

AGRADECIMIENTO

En primer lugar a Dios por haberme guiado por el camino del bien y haber alcanzado esta meta; en segundo lugar a cada uno de los que son parte de mi familia a mí MADRE Nelly Chiriguaya, a mí PADRE Javier Macías, MIS HERMANAS Erika, Solange y Yamilec Macías Chiriguaya, mis segundas madres MI ABUELITA Elsa Placencio y TIA Gloria Placencio, mi ABUELO Vicente Chiriguaya,

Mis terceras madres y no menos importante, MIS TIA Cathy Chiriguaya y Claudia Chiriguaya;

Y a mis demás tías, tíos, familiares; por siempre haberme dado su fuerza y apoyo incondicional que me han ayudado y llevado hasta donde estoy ahora.

A mis AMIGOS que gracias a su apoyo nunca se perdía el ánimo de seguir adelante y alcanzar nuestras metas y por último a mi compañera de tesis porque gracias a su paciencia y entrega lo hemos logrado.

A la Ing. Lilia Casabona por su colaboración de los laboratorios centrales de física y al Ing. Wilfrido Terán por haberme prestado su ayuda en el proceso de experimentación y a mi director de tesis quién nos ayudó en todo momento, Ing. Manuel Fiallos. MSc

KEVIN MACÍAS CHIRIGUAYA

Tabla de contenido

CERTIFICADO SISTEMA ANTI PLAGIO	ii
CERTIFICAIÓN DEL TUTOR.....	iii
RENUNCIA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iv
DEDICATORIA.....	v
DEDICATORIA.....	vii
AGRADECIMIENTO	viii
AGRADECIMIENTO	ix
ÍNDICE DE TABLA.....	xiv
INDIE DE FIGURAS	xv
ÍNDICE DE GRAFICAS.....	xvi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xvii
RESUMEN	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN	3
CAPITULO I.....	5
EL PROBLEMA.....	5
1.1 TEMA	5
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
1.3 FORMULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	6
1.3.1 Formulación del problema.....	6
1.3.2 Sistematización del problema.....	6
1.4 OBJETIVOS	7
1.4.1 Objetivo General.....	7
1.4.2 Objetivos específicos.....	7
1.5 JUSTIFICACIÓN	7
1.5.1 Justificación Teórica.....	7
1.5.2 Justificación Metodológica.....	8

1.5.3	Justificación Práctica	9
1.6	LÍMITES DE LA INVESTIGACIÓN	9
1.7	HIPÓTESIS.....	10
1.8	VARIABLES	10
1.8.1	Variable dependiente	10
1.8.2	Variable independiente	10
1.9	OPERACIÓN DE VARIABLES	10
CAPÍTULO 2		13
2 MARCO TEÓRICO.....		13
2.1	Conservación de los alimentos.....	13
2.1.1	Técnicas de conservación	13
2.1.2	Tecnologías emergentes de conservación de alimentos.	14
2.1.3	Calentamiento Óhmico	14
2.1.4	Aplicación del Calentamiento óhmico en bebidas.....	17
2.1.5	Ventajas que ofrece el Calentamiento óhmico	17
2.2	Guayusa (<i>Ilex guayusa</i>).....	18
2.2.1	Taxonomía	19
2.2.2	Composición de la Guayusa	19
2.2.3	Propiedades de la guayusa y usos medicinales de la guayusa	20
2.2.4	Tipos y características de la guayusa.....	20
2.2.5	Utilidades de la guayusa.	21
2.3	Alimentos energéticos.....	22

2.3.1	Bebidas energéticas	22
2.3.2	Ventajas del consumo de bebidas energizantes	22
2.4	Cafeína	23
2.4.1	Estructura químicas de la cafeína	23
2.4.2	Propiedades farmacológicas de la cafeína	24
2.4.3	Efectos de la cafeína en el organismo.....	24
2.4.4	La cafeína en productos comerciales.....	27
CAPÍTULO 3		29
3 MARCO METODOLÓGICO.....		29
3.1	Tipo de investigación.....	29
3.2	Diseño de la Investigación	29
3.3	Metodología de la investigación	29
3.4	Metodología experimental	30
3.4.1	Factores de estudio	30
3.5	Recursos.....	32
3.5.1	Materia prima	32
3.5.2	Materiales y equipos	32
3.6	Diagrama de Flujo del proceso	34
3.7	Descripción del proceso.....	35
3.8	Balance de materia.....	38
	Balance de materia para la infusión	38
CAPITULO 4		39
4 PRUEBAS EXPERIMENTALES.....		39

4.1	Descripción de las variables.....	39
4.1.1	Determinación de sólidos solubles	39
4.1.2	pH	39
4.1.3	Densidad	40
4.1.4	Acidez titulable.....	41
4.1.5	Conductividad.....	42
4.1.6	Cromatografía de capa fina.....	42
4.1.7	Contenido de cafeína por el método de extracción con cloroformo	43
4.1.8	Análisis Microbiológico	44
4.1.9	Tiempo de vida útil.....	47
4.1.10	Descripción del análisis sensorial	47
CAPÍTULO 5		49
5 RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS		49
5.1	Análisis de resultados las propiedades organolépticas	49
5.2	Análisis de resultados físico-químicos del extracto de guayusa.	50
5.3	Análisis de la cafeína	52
5.4	Análisis de resultado microbiológico.....	53
5.5	Análisis de resultado sensorial.....	57
5.6	CONCLUSIONES	61
5.7	RECOMENDACIONES	62
6 BIBLIOGRAFIA		63
7 ANEXOS		70
	Determinación de acidez del extracto	84

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1 Operacionalización de Variables	11
Tabla 2 Taxinomía.....	19
Tabla 4 Principales Especies Del Genero Ilex En Relación A Sus Usos (2, 6 Y 7).....	21
Tabla 5 Principales Productos Ricos En Cafeína	27
Tabla 6 Variables en el diseño del experimento	30
Tabla 7 Determinación organoléptica del extracto de Guayusa antes de la aplicación del Calentamiento óhmico.....	49
Tabla 8 Determinación organoléptica del extracto de Guayusa después de la aplicación del Calentamiento óhmico en los diferentes tratamientos.....	49
Tabla 9 Determinación de los parámetros físico-químicas del extracto de guayusa, experimentales promedios antes del calentamiento óhmico	50
Tabla 10 Determinación de los parámetros físico-químicas del extracto de guayusa, experimentales promedios de las diferentes corridas.	50
Tabla 11: Detalle de las medias de los tratamientos.....	57
Tabla 12 Determinación de la cafeína en el extracto de guayusa antes de aplicar el calentamiento óhmico.....	70
Tabla 13 Determinación de la cafeína en el extracto de guayusa después de aplicar el calentamiento óhmico.....	70
Tabla 14 Análisis microbiológico.....	71
Tabla 15 Detalle de los tratamientos	71
Tabla 16 Esquema de análisis de varianza	72
Tabla 17: Datos de la prueba sensorial del producto	72
Tabla 18 Conservación A 45°C Equivalencia En Vida De Anaquel.....	93

INDIE DE FIGURAS

Figura 1: Mapa de Zona	9
Figura 2 Electroporación de una membrana celular mostrando zonas de hinchamiento, lisis e inactivación celular	16
Figura 3 Cuba contiene el electrólito.....	17
Figura 4 Hojas de guayusa Ilex en el cantón Archidona, Ecuador.....	18
Figura 5 Diagrama de flujo del proceso	34

ÍNDICE DE GRAFICAS

Gráfica 1 Efectos de las variaciones en los parámetros del Calentamiento Óhmico sobre la concentración de Cafeína en el extracto de Guayusa.	52
Gráfica 2 Efectos de las variaciones en los parámetros del Calentamiento Óhmico sobre la inactivación de Coliformes en el extracto de Guayusa	53
Gráfica 3 Efectos de las variaciones en los parámetros del Calentamiento Óhmico sobre la inactivación de Aerobios Mesofilos en el extracto de Guayusa.....	54
Gráfica 4 Efectos de las variaciones en los parámetros del Calentamiento Óhmico sobre la inactivación de Mohos en el extracto de Guayusa	55
Gráfica 5 Efectos de las variaciones en los parámetros del Calentamiento Óhmico sobre la inactivación de Levaduras en el extracto de Guayusa.....	56
Gráfica 6 Comportamiento sensorial del sabor	58
Gráfica 7 Comportamiento sensorial del color.....	59
Gráfica 8 Comportamiento sensorial del olor	60

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Tablas de determinación de cafeína y conteo microbiológico.....	70
Anexo 2 Análisis Sensorial	71
Anexo 3 Análisis de la varianza del sabor	78
Anexo 4 Análisis de la varianza del color	79
Anexo 5 Análisis de la varianza del olor.....	79
Anexo 6 Evaluación sensorial	80
Anexo 7 Fotográfico.....	81
Anexo 8 Validación de materia prima.....	88
Anexo 9 Análisis microbiológico.....	89
Anexo 10 Análisis de concentración de cafeína.....	91
Anexo 11 Tiempo de vida útil acelerado.....	93
Anexo 12 Permiso de reactivo controlado	95

RESUMEN

La guayusa (*Ilex guayusa*), es una planta medicinal presente en la región amazónica, la cual es conocida y utilizada por sus habitantes debido a sus propiedades curativas, además de ser un energizante natural, que ofrece múltiples beneficios en la parte física y mental. El desarrollo de una bebida a base de Guayusa, se ve limitada debido a que los tratamientos tradicionales de conservación, causan pérdidas de ciertas propiedades físicas y químicas importantes en el alimento. En este trabajo se evaluó el efecto del calentamiento Óhmico, como método para conservar un extracto a base de Guayusa, a distintos tiempos (50, 110 y 140 segundos) y voltajes (15, 25 y 40 V). Se determinó que, a 40 V y 140 segundos, se obtiene una reducción de carga microbiana importante para coliformes, mesófilos, mohos y levaduras. Además, los análisis demuestran que sus propiedades físicas (densidad y conductividad eléctrica) y químicas (pH y acidez) se reducen de manera no significativa, mientras que la concentración de cafeína se redujo en un 40%. También, se analizó su aceptación organoléptica mediante la prueba de Tukey al 0.05% de probabilidad demostrando que su aceptación presenta diferencia significativa entre los demás tratamientos.

Palabras claves: Calentamiento Óhmico, Extracto de guayusa, Reducción de carga microbiana.

ABSTRACT

The 'guayusa', scientifically known as *Ilex guayusa*, is a medical plant that is present in the Amazonian region of Ecuador, it is known and use for the habitants of this region due to its curative properties, it is also a natural energizing that offers a lot of benefits as much as in the mental part and in the physical part. The development of an energy drink made of Guayusa suffers limitations because the traditional treatments of its conservation cause the loose of certain chemical and physical properties who are mainly important in this plant. This paper evaluated the effect produced for the ohmic heating as a method to conserve an extract based of Guayusa. The ohmic heating process was realized in distinct periods of time (50, 110 and 140 seconds), and with different charges of voltages (15, 25 and 40 volts). The research gave us as results that with a charge of 40 volts and in a time-lapse of 140 second it is possible to obtain an important reduce of the microbial load for microorganisms such as; coliform bacteria, mesophile, mold and yeast. The analyses demonstrated that its physical properties (density and electrical conductivity) and chemical properties (pH and acid value) experienced a no significant reduction; meanwhile the caffeine concentration suffered a reduction of 40% in his original values. It was also analyzed his organoleptic acceptance through the Tukey's test with 0.05% of probability demonstrating that his acceptance present significant different between the other treatments.

Keywords: Óhmic Heating, Guayusa Extract, Reduction of microbial load.

INTRODUCCIÓN

La región amazónica de nuestro país contiene miles de especies vegetales unas madereras otras medicinales y otras simplemente ornamentales. Dentro de las plantas medicinales contamos con un pequeño arbusto al que se denomina guayusa su nombre científico es *Ilex guayusa*, mismo que es conocido y muy utilizado por los indígenas amazónicos por sus propiedades curativas y energizante natural. (Dueñas, Jarrett, Cummins, & Logan-Hines, 2016)

La demanda de bebidas energéticas que se expenden en el país y que en su mayoría contienen dosis exorbitantes de sustancias como son la cafeína, taurina e hidratos de carbono que son nocivas para la salud humana si son consumidas en exceso (Aldas., 2013) en vista a esto se ha ido desarrollando nuevos productos (bebidas energéticas) con base natural como lo es el Té verde.

Los alimentos pierden calidad desde el momento que son cosechados u obtenidos a través de cambios que son consecuencia de reacciones físicas, químicas o microbiológicas, la conservación de alimentos es una lucha continua contra los microorganismos y elementos que deterioran los alimentos o los hacen inseguros, tanto los microorganismos como las enzimas son los principales agentes responsables del deterioro y deben por tanto ser los objetivos de las técnicas de conservación.

Éste trabajo tiene como finalidad evaluar el extracto de guayusa (*Ilex guayusa*), que es considerada como una bebida energética natural utilizando el calentamiento Óhmico como un método de conservación alternativo e innovador de alimentos dejando así a un lado los métodos tradicionales.

Han tenido mayor aceptación la aplicación de los métodos de alta presión, calentamiento óhmico y el campo eléctrico pulsado, ya que no requieren la aplicación de calor, son tratamientos relativamente económicos, especialmente cuando se puede trabajar en sistema continuo y con volúmenes adecuados de producto, y no producen problemas de residuos peligrosos.

El calentamiento óhmico por su lado es un tratamiento térmico en el cuál el calor que se genera a través de una corriente eléctrica atraviesa el alimento, ésta energía eléctrica se transforma en calor, que lo transfigura en un calentamiento rápido, manteniendo las propiedades organolépticas y la calidad de los alimentos de ésta manera se encuentran mejor conservados a diferencia de los métodos convencionales. (Pineda D. , 2014)

CAPITULO I

EL PROBLEMA

1.1 TEMA

Efecto del Calentamiento Óhmico sobre la inactivación microbiana y las propiedades físico-químico del extracto de guayusa (*Ilex guayusa*).

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Una de las bebidas más consumidas a nivel mundial son los energizantes comerciales, la bebida de Guayusa (*Ilex guayusa*) se encuentra en un importante apogeo por ser un energizante natural muy potente que ofrece múltiples beneficios físicos y mentales, también de ser un diurético que desintoxica el cuerpo da a los consumidores una sensación natural además es atractivo a simple vista.

Se trata de envasar extractos de Guayusa en latas o botellas para promover su consumo y cumplir con los estilos de vida cambiantes del consumidor, sin embargo se encontró que la producción de una bebida de Guayusa puede llegar a ser problemático por ser rico en nutrientes y múltiples fotoquímicos funcionales incluyendo a los polifenoles que este contiene, lo cual los hace susceptible a la contaminación microbiana por lo que se requiere implementar de un método adecuado para inactivar los microorganismos e implementarlos para productos de bebidas de té.

Sin embargo, la pérdida de las cualidades sensoriales (color, de sabor y gusto) durante el tratamiento térmico ha limitado el desarrollo de bebida de Guayusa (*Ilex guayusa*) en el

mercado; además, algunos investigadores han observado que los polifenoles (TP) son sensibles al calor, ya que son vulnerables a la descomposición y la isomerización durante el tratamiento térmico. (Pineda & David, 2014)

Poco se sabe sobre los efectos del Calentamiento óhmico en las bebidas de Guayusa (*Ilex guayusa*) por lo tanto en la actualidad la investigación en la industria alimentaria se dirige a remplazar técnicas de conservación de alimentos tradicionales como los tratamientos térmicos intensos, conservación química, etc; por técnicas innovadoras que garanticen la inocuidad de los alimentos para el consumo humano.

1.3 FORMULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 Formulación del problema

El efecto del Calentamiento Óhmico sobre el extracto de Guayusa pretende responder a la siguiente interrogante:

¿El efecto del Calentamiento Óhmico en el extracto de Guayusa reducirá de una forma confiable la carga microbiana sin afectar las propiedades nutricionales y físico-químicas que este contiene?

1.3.2 Sistematización del problema

- ¿Cuál será el tiempo y voltaje ideal para la inactivación microbiana en el extracto de Guayusa?
- ¿Cuál será el tiempo de vida útil al extracto de guayusa al que se le aplique calentamiento óhmico?
- ¿Cuánto se reducirá la carga microbiana al aplicar el Calentamiento Óhmico en el extracto de Guayusa?

- ¿Se mantendrán las propiedades físico-químicas del extracto de Guayusa al que se le aplico Calentamiento Óhmico?

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto del Calentamiento Óhmico sobre la inactivación microbiana y las propiedades físico-químico del extracto de Guayusa (*Ilex guayusa*).

1.4.2 Objetivos específicos

- Analizar la carga microbiana en el extracto de Guayusa antes y después de ser tratado por calentamiento óhmico.
- Determinar las propiedades físico-químicas y sensoriales del extracto de Guayusa (*Ilex guayusa*) antes y después de ser tratado por calentamiento óhmico.
- Cuantificar la cantidad de cafeína presente en el extracto de Guayusa (*Ilex guayusa*) antes y después de ser tratada por Calentamiento Óhmico.
- Determinar la conductividad eléctrica del extracto de Guayusa (*Ilex guayusa*) antes y después de ser tratada por Calentamiento Óhmico.

1.5 JUSTIFICACIÓN

1.5.1 Justificación Teórica

La presente investigación se enfocará en estudiar un tratamiento no convencional para eliminar e inactivar microorganismos en los productos alimenticios. Se trata de la aplicación del efecto Joule en una infusión de Guayusa con alto contenido de cafeína. Este proceso de esterilización se lo realiza debido a diferentes estudios, el paso de energía eléctrica por un

fluido afecta gravemente en la membrana celular de los Microbios patógenos, matándolos o inactivándolos, obteniendo así un producto inocuo listo para el consumo humano.

El procesamiento y comercialización de las hojas de Guayusa en la región amazónica del Ecuador las realiza la Fundación Runa y la empresa Runatarpuna (Coello 2013). En los países como EEUU, Canadá y Europa. La guayusa tiene un mercado muy exitoso debido a sus propiedades estimulantes. Aproximadamente 180 comunidades indígenas orientales se encuentran organizados para esta producción. (Dueñas, Jarrett, Cummins, & Logan–Hines, 2016)

A pesar de las tecnologías disponibles la industria alimentaria investiga cada vez más con la finalidad de modificar, o incluso sustituir, las técnicas de conservación tradicionales (tratamientos térmicos intensos, salado, acidificación, deshidratación y conservación química) por nuevas tecnologías.

1.5.2 Justificación Metodológica

Para lograr los objetivos de esta investigación se acude al empleo de técnicas de investigación, en las cuales se medirán ciertos parámetros físicos- químicos y microbiológicos en el extracto de guayusa antes y después de su tratamiento. Los parámetros a evaluar son: voltaje que se suministra al extracto de guayusa en un tiempo determinado, y las concentraciones de cafeína antes y después del proceso de esterilización. Con ello se pretende obtener un producto aceptable para el consumo humano.

1.5.3 Justificación Práctica

De acuerdo con los objetivos de estudio, su resultado permitirá abrir nuevas investigaciones del tratamiento óhmico en otros alimentos, como lo pueden ser lácteos, jugos y zumo de frutas, etc.

Considerando que la Guayusa (*Ilex guayusa*) es una planta nativa del Ecuador, se propone mediante esta investigación aplicar en el extracto un método de conservación alternativo e innovador para conservar los componentes de este, así mismo como darle un tiempo de vida útil más prolongado.

1.6 LÍMITES DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación tiene como fundamento principal la evaluación de calentamiento óhmico, el cual se llevará a cabo en el laboratorio de física; y por lo consiguiente el objetivo es la inactivación microbiana el cual se va a realizar en el laboratorio de microbiología. Ambos laboratorios ubicados en la facultad de Ingeniería Química de la Universidad de Guayaquil.

Figura 1: Mapa de Zona



Fuente: Google Maps, 2017

1.7 HIPÓTESIS

Se podrá reducir la carga microbiana presente en el extracto de Guayusa (*Ilex guayusa*) manteniendo las propiedades físico-químicas al ser procesado por calentamiento óhmico.

1.8 VARIABLES

1.8.1 Variable dependiente

- Carga microbiana presente en extracto de Guayusa (*Ilex guayusa*) procesado por calentamiento óhmico.
- Propiedades físico-químicas del extracto de Guayusa (*Ilex guayusa*) procesado por calentamiento óhmico.

1.8.2 Variable independiente

- Voltaje; (voltios).
- Tiempo; (segundos).

1.9 OPERACIÓN DE VARIABLES

En la Tabla 1 se observa la operacionalización de las variables que forman parte importante en la investigación en la evaluación del calentamiento óhmico sobre la inactivación microbiana y las propiedades físico-químico del extracto de guayusa (*Ilex guayusa*)

Tabla 1
Operacionalización de Variables

Variable	Subvariable	Definición	Instrumento de medición	Unidades de medición	Norma
DEPENDIENTES	Carga microbiana presente en extracto de Guayusa (<i>Ilex guayusa</i>) procesado por calentamiento óhmico.	Consiste en reducir la carga microbiana después de ser tratado por el calentamiento óhmico.	Placas Petrifilm 3M, para: ○ Coliformes ○ Aerobios totales ○ Mohos y Levaduras	UFC/ml	-AOAC método oficial 991.14 -AOAC Método Oficial 986.33 -AOAC Método Oficial 997.02
	Propiedades físico-químicas del extracto de Guayusa (<i>Ilex guayusa</i>) procesado por calentamiento óhmico.	Realizar los análisis correspondientes como acidez, grados brix, conductivida, pH.	Método de titulación ○ Refractómetro ○ Conductímetro ○ Peachimetro	% °Brix ppm pH	INEN 1091 ----- ----- -----

INDEPENDIENTES	Voltaje (voltios)	Cantidad de voltios que actúan en un aparato o sistema eléctrico.	○ Fuente de energía ○ Voltímetro	-Corriente Continua	----- -----
	Tiempo (segundos)	Periodo determinado durante el que se realiza una acción o se desarrolla un acontecimiento.	○ Cronómetro	-Segundos	-----

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

CAPÍTULO 2

2 MARCO TEÓRICO

Los métodos de conservación de alimentos alternativos como son: campos eléctricos pulsados, calentamiento óhmico, radiofrecuencias o microondas, son complementos potenciales o sustituyentes a la pasteurización térmica los cuales ya han sido sometidos a desarrollos sustanciales para la aplicación comercial.

El calentamiento óhmico recibe una importante atención por parte de la industria alimenticia en los cuales ya ha sido utilizados en varios productos líquidos como por ejemplo huevo líquido, zumos de naranja, maracuyá, manzana, tomate, sopa de guisantes, leche, etc.

2.1 Conservación de los alimentos

Los alimentos siempre serán más frescos al momento de cosecharlos, sin embargo si se los consumirá posteriormente a su cosecha o preparación es necesario tratarlos y conservarlos ya sea con frio, calor, deshidratándolos o con químicos.

2.1.1 Técnicas de conservación

Los productos alimenticios expendidos en diferentes centros comerciales son previamente tratados para su conservación y mantenerse frescos hasta llegar al consumidor, existen varios métodos y técnicas de conservación para los alimentos que se han ido desarrollando en la industria alimenticia como por ejemplo:

- Refrigeración.
- Congelación.
- Pasteurización.

- Secado (tradicional, congelado-secado, secado por atomización o spray).
- Procesos térmicos (alimentos enlatados de baja acidez).
- Alimentos acidificados.

2.1.2 Tecnologías emergentes de conservación de alimentos.

Según (Anzueto, 2012) las tecnologías emergentes son: “Métodos o procesos no térmicos de conservación, procesos alternativos o complementarios a los métodos tradicionales de conservación de alimentos”

Las tecnologías emergentes de conservación de alimentos no térmicas son las siguientes:

- Altas presiones hidrostáticas (APH)
- Pulso eléctricos
- Irradiación
- Pulsos luminosos
- Calentamiento óhmico
- Ultrasonido
- Campos magnéticos
- Usos de productos químicos (O₃, CO₂, ClO₂, agua electrolizada)
- Envases inteligentes. (Anzueto, 2012).

2.1.3 Calentamiento Óhmico

El calentamiento óhmico es un tratamiento térmico en el cual el calor que se genera a través de una corriente eléctrica atraviesa el alimento, esta energía eléctrica se transforma en calor, que lo transfigura en un calentamiento rápido, manteniendo las propiedades

organolépticas y la calidad de los alimentos de ésta manera se encuentran mejor conservados a diferencia de los métodos convencionales.

Los siguientes autores (Simpson R. Carevic G., Jimenez P., & Grancelli M., 2017) expresa “El calentamiento óhmico es un proceso térmico en el cual el calor es generado internamente en el alimento, el cual actúa como resistencia al paso de corriente alterna. ”

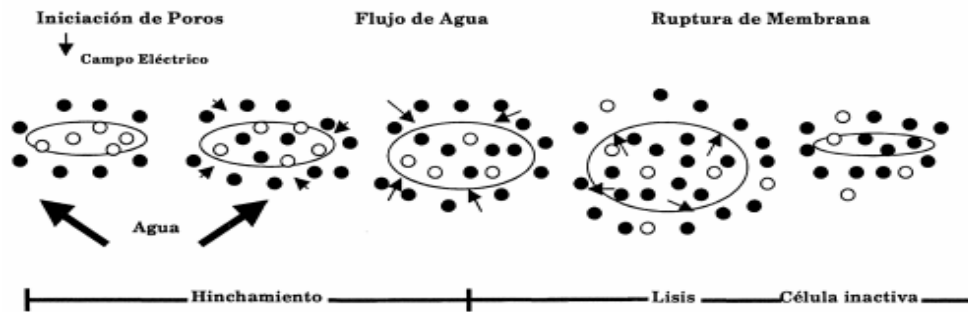
El mecanismo de inactivación microbiana en el calentamiento óhmico está en generar un daño sutil en la membrana celular debido a la presencia de los campos magnéticos generados, ocasionando que la pared celular forme poros en presencia de las cargas eléctricas en la pared celular conocido como electroporación, permeabilizando la membrana celular la misma que se encarga de la inactivación microbiana con este efecto. (Pineda & David, 2014).

2.1.3.1 *Electroporación*

Menciona (Fernandez-Molina, y otros, 2001) “El plasma de las membranas celulares hace permeable a pequeñas moléculas, después de haber sido expuesto a un campo eléctrico, y la permeabilidad causa hinchazón y una eventual ruptura de la membrana celular”.

“La electroporación es un pulso eléctrico de alto voltaje que se utiliza para inducir un estado eficaz de poración en una membrana.” (ADAC, 2010)

Figura 2 Electroporación de una membrana celular mostrando zonas de hinchamiento, lisis e inactivación celular



Fuente: (Calderón-Miranda, San Martín González, Barbosa-Cánovas, & Swanson, 1999)

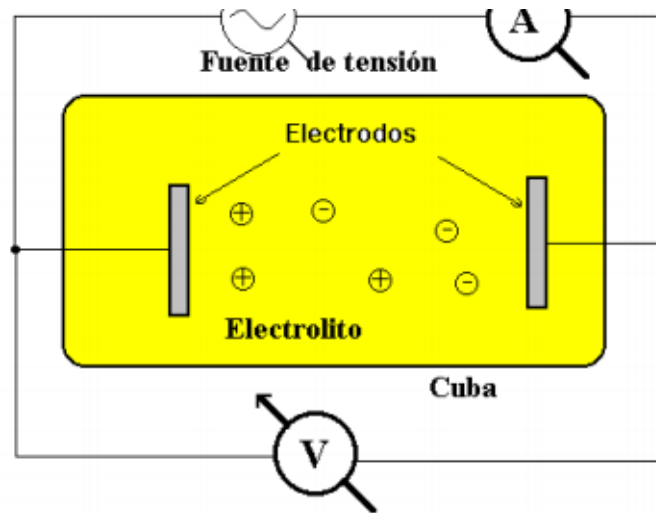
Según (Fernandez-Molina, y otros, 2001) la electroporación “Es un fenómeno que desestabiliza temporalmente la capa lipídica y las proteínas de la membrana celular al ser sometidas a campos eléctricos pulsantes de alto voltaje.” Y su objetivo es la eliminación de microorganismos.

2.1.3.2 Conductividad Eléctrica

La conductividad eléctrica es la medida de la capacidad (o de la aptitud) de un material para dejar circular libremente la corriente eléctrica.

La conductividad electrolítica en medios líquidos se encuentra relacionada con la presencia de sales en solución, cuya disociación genera iones positivos y negativos capaces de transferir la energía eléctrica si se expone el líquido a un campo eléctrico; a estos conductores iónicos se los llama electrolitos o conductores electrolíticos. (Gil, 2000)

Figura 3 Cuba contiene el electrolito



Fuente: Física Interactiva - S. Gil y E. Rodríguez

2.1.4 Aplicación del Calentamiento óhmico en bebidas

El uso de tecnologías alternativas que se basan con el principio de la utilización de energía eléctrica para procesar los alimentos se encuentra siendo atraído por la industria alimentaria en los últimos años. (Pineda D. , 2014)

En la actualidad algunos de los métodos utilizados para el procesamiento de alimentos como es la aplicación del calentamiento óhmico en bebidas están causando buenos resultados ya que permite dar un valor agregado al producto y a su vez se ven mejorados los atributos de calidad los cuales son de mayor preferencia para los consumidores.

2.1.5 Ventajas que ofrece el Calentamiento óhmico

La efectividad de la tecnología para inactivar microorganismos alteradores y patógenos, la ventaja obvia de tratamientos óhmicos sobre los métodos convencionales es la falta de

temperaturas de la pared de alta y limitar los requisitos de los coeficientes de transferencia de calor. (Mateos, s.f.)

Preserva en comparación con la tratamientos térmicos convencionales incluyen mantener el color y el valor nutritivo de los alimentos, el tiempo de proceso corto y un mayor rendimiento.

2.2 Guayusa (*Ilex guayusa*)

Guayusa (*Ilex guayusa*) Es un arbusto - pequeño que se encuentran en la región amazónica de Colombia, Ecuador y Perú. Los Pueblos de ésta región dentro de su folklore tienen tendencia a consumir un té o infusión de guayusa que se realiza con sus hojas. La guayusa corresponde al único espécimen que existe dentro de la familia Aquifoliaceae con alrededor de 600 especies, de las cuales 300 especies se encuentran en los Neotrópicos. (Dueñas, Jarrett, Cummins, & Logan–Hines, 2016).

Figura 4 Hojas de guayusa *Ilex* en el cantón Archidona, Ecuador



Fuente: Fundación Runa.

2.2.1 Taxonomía

Tabla 2 *Taxinomía*

CLASE	EQUISETIOPSIDA C. AGARDH
SUBCLASE	MAGNOLIIDAE NÓVAK EX. TAKHT
SUPERORDEN	ASTERANAE TAKHT
ORDEN	AQUIFOLIALES SENFT
FAMILIA	AQUIFOLIACEAE BERCHT. & J .PRESL
GÉNERO	ILEX L.
NOMBRE CIENTÍFICO	ILEX GUAYUSA LOES.
NOMBRE VERNÁCULO	GUAYUSA.

Fuente: Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil.

2.2.1.1 Descripción taxonómica

Árbol. Hojas simples, alternas; lámina elíptica, 8-13 x 4-7 cm, venas pinnadas, broquidródomas, base cuneada, margen suavemente dentada, revoluta, ápice acuminado, glabras en ambos lados; peciolo 0.5-1 cm, acanalado, glabro. Flores y frutos no vistos. Ver (ANEXO 7).

2.2.2 Composición de la Guayusa

Datos referenciales de (Fausto García., 2013) indica que la especie *Ilex guayusa* posee una composición rica en cafeína (2,90 al 3,28%), por lo que es considerada una planta energizante, otros estudios basados en extracciones con solventes, señalan como sustituyentes de la especie: quinonas, metilxantinas, teobromina, teofilina, taninos, compuestos

esteroidales, lactonasterpenicas, cumarinas, flavonoides, saponinas triterpénicas y aceites esenciales. También (Aldas., 2013) expresa que se ha señalado la presencia de alcaloides purínicos , triterpenos derivados del ácido clorogénico, riboflavina, piridoxina, ácido nicotínico, ácido ascórbico, colina y ácido isobutírico.

2.2.3 Propiedades de la guayusa y usos medicinales de la guayusa

Los kitchwas (Innerhofer and Bernhardt, 2011) y los Achuar (Lewis et al., 1991). Son unas de las tribus de la amazonia ecuatoriana que utilizan la guayusa por sus propiedades medicinales. Recolectan sus hojas para hervirlas y beberlas en la mañana siguiente. Para los Achuar, ésta es una bebida que purifica el cuerpo y que debe tomarse por las mañanas para eliminar las impurezas induciendo al vómito. (Dueñas-Serrano, Logan-Hines, Stimola, & Montagnini., 2013)

Entre las propiedades que resaltan en la guayusa tenemos:

- **Potente antioxidante:** Contiene antioxidantes con mayor capacidad de absorción de los radicales libres que el mismo té verde.
- **Rica en vitaminas y minerales:** Es rico en minerales como el magnesio, calcio, zinc, potasio y en las vitaminas D y C.
- **Contiene estimulantes:** A demás de la cafeína de la cual es muy rica la guayusa esta contiene estimulantes como teofilina y la teobromina.

2.2.4 Tipos y características de la guayusa

Se pueden encontrar varias especies dentro del género Ilex los mismos que se encuentran en la amazonia de Colombia, Ecuador y Perú; dentro de estas especies se toman en cuenta a

tres considerándolas como las más importantes que las encontraremos en la siguiente tabla.
(Aldas, Arias, & Gualli, 2013).

Tabla 3 Principales Especies Del Genero Ilex En Relación A Sus Usos (2, 6 Y 7)

TIPO	CARACTERISTICA	USOS
Ilex guayusa (2)	Color: verde oscuro Largo: 15-21 cm Ancho: 5-7,5 cm Forma: Oblonga-elíptica	Bebida estimulante del sistema nervioso central, emético
Ilex vomitoria (6)	Color: verde claro Largo:1-4,5 cm Ancho:1-2 cm Forma: Oval-elíptica	Emético
Ilex paraguariensis (7)	Color: verde oscuro Largo: 7-11cm Ancho:3-5,5 cm Forma: Oval	Bebida Estimulante del sistema nervioso central.

Fuente: (Aldas, Arias, & Gualli, 2013)

2.2.5 Utilidades de la guayusa.

La (Ilex guayusa) tiene múltiples usos ya que ésta depende de la manera y el lugar que se la cultive, se la emplea como: energizante, estimulante, para la lucidez, fortificante, desinflamatorio, reconstituyente, tonificante, expectorante, emenagoga, digestivo, aromática, emético, Contra el reuma. (Aldas, Arias, & Gualli, 2013)

2.3 Alimentos energéticos

(Portillo & García, 2005) Expresa en su investigación que:

“Cuando los alimentos son ricos en hidratos de carbono y/o grasas, se les clasifica como alimentos energéticos. Estas sustancias al ser metabolizadas, proporcionan la energía que el organismo necesita para mantener las funciones y realizar las actividades habituales.”.

2.3.1 Bebidas energéticas

Las bebidas compuestas a base de cafeína, taurina e hidratos de carbono son conocidas como bebidas energizantes y éstas son bebidas no alcohólicas las que en su mayoría son gasificadas, otros de los ingredientes que las componen son los aminoácidos, vitaminas, minerales, extractos vegetales, aditivos acidulares, conservantes, saborizantes y colorantes. Estas bebidas han sido diseñadas para suministrar vitalidad (SALTOS, 2014), además (Raúl A. Castellanos, 2017) manifiestan que fueron creadas para “incrementar la resistencia física, proveer reacciones más veloces, mayor concentración, aumentar el estado de alerta mental, evitar el sueño, proporcionar sensación de bienestar, estimular el metabolismo y ayudar a eliminar sustancias nocivas para el cuerpo .”.

2.3.2 Ventajas del consumo de bebidas energizantes

Las bebidas energizantes fueron diseñadas con la finalidad de brindar vitalidad en momentos específicos como desgaste físico y mental, estas no causarán riesgos al organismo si son consumidas con moderación.

2.4 Cafeína

La cafeína es una sustancia existente en algunas plantas naturales y también es producida sintéticamente en laboratorio. Se encuentran en el café, té, chocolate, cacao además de bebidas energéticas y gaseosas. La cafeína se localiza en pequeñas cantidades variando en la parte de la planta, ya sea: las semillas, hojas, frutos. La cafeína tiende también actuar como un pesticida natural paralizando y matando a los insectos que se alimentan de las plantas. Muy a menudo se encuentra esta sustancia como ingrediente de ciertos productos actuando como suplemento para la pérdida de peso, también en energizantes, analgésico, bebidas deportivas, y preparaciones herbales. (Aznar & Calle, 2011).

2.4.1 Estructura químicas de la cafeína

La cafeína es un alcaloide que está presente en más de 60 especies de plantas. Su estructura molecular pertenece a un grupo de xantinas trimetiladas con sus compuestos íntimamente relacionados: teobromina (presente en el cacao) y la teofilina (presente en el té).

Químicamente, esos alcaloides se parecen a las purinas, xantinas y al ácido úrico, que son compuestos metabólicamente importantes. Las fuentes más comunes de la cafeína son el café, el té, el chocolate y las bebidas derivadas de la cola. La cantidad de cafeína presente en esas bebidas varía a tono con la especie de la planta, el tipo de grano de café, cacao u hoja de té, la ubicación geográfica, el clima, las prácticas culturales y el tamaño de la porción consumida. (Tavares & Sakata, 2012, pág. 1).

2.4.2 Propiedades farmacológicas de la cafeína

Nos explica (Tagliafico & Gabriel, 2008) que:

“La teofilina, cafeína y teobromina comparten algunas acciones farmacológicas de interés terapéutico; relajan músculo liso, en particular el de bronquios, estimulan el sistema nervioso central, músculo cardíaco y actúan como diuréticos en los riñones”.

2.4.3 Efectos de la cafeína en el organismo

2.4.3.1 Efectos sobre el sistema nervioso central

Psicoestimulantes la cafeína produce de forma dosis dependiente una activación generalizada del Sistema Nervioso Central (SNC), posiblemente al aumentar la liberación de noradrenalina. Aumenta la alerta, Reduce la sensación de cansancio y fatiga, aumenta la capacidad de mantener un esfuerzo intelectual y mantiene el estado de vigilia a pesar de la privación de sueño.

Los efectos analgésicos que contiene la cafeína dosis-dependiente potenciada por los inhibidores de la serotonina y un efecto adyuvante en la analgesia. (Lozano, García, & Albaladejo, 2015, pág. 5).

2.4.3.2 Efecto de la cafeína sobre el sistema cardiovascular

Las acciones de las metilxantinas en el aparato circulatorio son complejas y a veces antagónicas, y los efectos dependen en gran medida de los cuadros que prevalecen en el momento de administración, la dosis utilizada y el antecedente de exposición a las metilxantinas. La cafeína y el ejercicio parecen tener efectos aditivos sobre la presión arterial sistólica, mientras que los efectos de la cafeína sobre la presión arterial diastólica se debilitan.

Corazón: Bastan 250 a 350 mg de cafeína administrados a individuos que no han recibido metilxantinas, para producir disminuciones leves de la frecuencia cardiaca e incrementos pequeños en las presiones sistólicas y diastólica, pero las dosis en cuestión casi nunca generan efecto alguno en dichos parámetros entre quienes consumen cafeína en forma regular a concentraciones mayores, la cafeína y teofilina ocasionan taquicardia neta; los individuos sensibles pueden sufrir otras arritmias, como contracciones ventriculares prematuras. También pueden surgir arritmias en personas que consumen bebidas cafeinadas en exceso. (Tagliafico & Gabriel, 2008, págs. 4, 5).

2.4.3.3 *Efecto de la cafeína sobre el aparato digestivo.*

La cafeína opera como un estimulante de la vesícula biliar, relajando la musculatura lisa de las vías biliares, disminuyendo los niveles de colesterol en la bilis estimulando la secreción ácida gástrica, tiene un efecto diurético con tolerancia a largo plazo. (Lozano, García, & Albaladejo, 2015).

2.4.3.4 *Efecto de la cafeína sobre el sistema muscular.*

La cafeína es la sustancia más activa para potenciar el rendimiento físico ya que sus componentes producen vasodilatación a nivel muscular, aumenta la respuesta contráctil al sistema nervioso disminuyendo también el cansancio y la fatiga. (Lozano, García, & Albaladejo, 2015).

2.4.3.5 *Efectos fisiológicos beneficiosos de la cafeína.*

La teofilina se utiliza en adultos como broncodilatador de tercera elección en el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. En Pediatría se emplea como broncodilatador y

estimulante del SNC. Las metilxantinas son el tratamiento de primera elección en la apnea del recién nacido prematuro. La cafeína se utiliza junto a analgésicos para potenciar la eficacia antiálgica y antimigrañosa. También está indicada en el tratamiento de la narcolepsia. La cafeína podría disminuir el riesgo de aparición de la enfermedad de Parkinson (EP) en hombres y en mujeres.

También se ha sugerido el uso de la cafeína en otras enfermedades neurodegenerativas: enfermedades de Alzheimer y de Huntington. Digestivas. Varios estudios caso-control han relacionado el consumo crónico de café con la reducción del riesgo de cáncer colorectal y de colon, pero ningún estudio de cohortes lo ha confirmado.

Endocrinas. Consumir café o chocolate negro podría aumentar la sensibilidad a la insulina y reducir el riesgo de diabetes tipo 2. Este efecto se atribuiría a sus diferentes componentes con capacidad antioxidante. Ginecológicas. La cafeína podría aumentar la motilidad de los espermatozoides por lo que sería útil en pacientes con astenozoospermia. (Lozano, García, & Albaladejo, 2015)

Cáncer. La cafeína presenta efectos supresores sobre células tumorales en metástasis experimentales. Esto sugiere que las metilxantinas podrían mejorar la clínica de la enfermedad metastásica reduciendo la morbilidad asociada. (Lozano, García, & Albaladejo, 2015, págs. 9, 10)

2.4.4 La cafeína en productos comerciales.

Existen una gran variedad de productos comerciales los cuales poseen su principio activo con base en la cafeína las mismas que se encuentran en más de 50 especies de plantas de las cuales se detallan las más importantes a continuación:

Tabla 4 *Principales Productos Ricos En Cafeína*

NOMBRE	DESCRIPCIÓN
CAFÉ	Es la planta que tiene a mayor cantidad de cafeína. Se obtiene la bebida de café mediante el secado, pilado, tostado y molido del grano del café se prepara una infusión, del mismo modo tiene otros usos en la gastronomía general.
Yoco o huarmi yoco	Contiene una cantidad similar a la del café, se lo prepara extrayendo su jugo y mezclándolo con agua
NUEZ DE COLA	Árbol originario de África Occidental, rico en cafeína, de la semilla del árbol se obtiene un extracto para refrescos rico en cafeína.
GUARANÁ	Planta originaria de las amazonas, las semillas del guaraná se debe realizar el secado y posteriormente el molido de las semillas para obtener un polvo y realizar la infusión.

HUITO O JAGUA	Árbol originario de las amazonas sulas semillas son ricas en cafeína pero su consumo es más apetecido por la fruta más que por su semilla por las tribus amazónicas quienes las utilizan como fuente de pintura.
MATE, LA HIERBA MATE O TÉ PARAGUAYO	Es un Arbusto cuyas hojas son ricas en cafeína, las mismas que se secan y se muelen para realizar una infusión con éstas.
CACAO	Planta de origen azteca, posee la mitad de teobromina una sustancia similar a la cafeína. El chocolate amargo tiene uso medicinal, pero pierde todos sus beneficios al mezclarlo con leche y azúcar.

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

CAPÍTULO 3

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 Tipo de investigación

El tipo de investigación realizada en este trabajo de titulación es experimental, centrándose en lo siguiente: exploración experimental cualitativa y cuantitativa empleando las variables que dependen del proceso como son el tiempo y el voltaje de la parte experimental.

3.2 Diseño de la Investigación

En la presente investigación se aplicó el siguiente diseño de investigación:

- Revisión bibliográfica
- Evaluación de los métodos y técnicas
- Experimentación
- Aplicación de estadística
- Experimentación empírica
- Conclusiones y recomendaciones

3.3 Metodología de la investigación

El trabajo de investigación se basa en el estudio de los efectos del calentamiento óhmico método de conservación de alimentos, que consiste en la inactivación microbiana en un extracto de Guayusa (*guayusa llex*) mediante la acción de corriente eléctrica directa con voltajes variables para el estudio de este proyecto.

En este proceso se busca inactivar Aerobios totales, Coliformes, Mohos y Levaduras que son los microorganismos que alteran y dañan al producto, además de mantener las propiedades físico-químicas y organolépticas del producto. Tiene esta investigación una base exploratoria y experimental además de un enfoque cualitativo y cuantitativo debido a que se obtendrán datos como es el tiempo, voltaje, temperatura, muerte microbiana, variación de la cafeína en el extracto las mismas que se realizaran en los laboratorios de microbiología y física de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad de Guayaquil.

3.4 Metodología experimental

3.4.1 Factores de estudio

El presente trabajo de investigación asume los siguientes factores de estudio:

Tabla 5 Variables en el diseño del experimento

Voltaje (voltios)	Tiempo (segundos)
15	50
	110
	140
25	50
	110
	140
40	50
	110
	140

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

3.4.1.1 *Factores experimentales*

- Voltaje (voltios)
 - 15
 - 25
 - 40
- Tiempo (segundos)
 - 50
 - 110
 - 140

3.4.1.2 *Factores respuesta*

- Inactivación microbiana
- Cambios en la cafeína
- Conductividad
- Color
- Acidez
- pH

3.4.1.3 *Calculo del número de experimentos*

$$\# \text{ de experimentos} = A \times B \times C$$

A= 2 duplicado para generar varianza estadística

B= 3 número de voltajes a estudiar

C= 3 número de tiempos a estudiar

de experimentos = 2 x 3 x 3

de experimentos = 18

3.5 Recursos

3.5.1 Materia prima

- Guayusa
- Agua

3.5.2 Materiales y equipos

Equipos

- | | |
|------------------------|----------------------|
| ▪ Calentador óhmico | ▪ Conductímetro |
| ▪ Fuente de energía | ▪ Termómetro |
| ▪ Voltímetro | ▪ Cronómetro digital |
| ▪ Peachímetro | ▪ Mufla |
| ▪ Rotavapor | ▪ Baño maría |
| ▪ Espectrofotómetro UV | ▪ Reverbero |
| ▪ Cámara de incubación | ▪ Balanza analítica |
| ▪ Refractómetro | |

Materiales

- | | |
|----------------------------------|-------------------------|
| ▪ Petrifilm Coliformes | ▪ Probeta de 100ml |
| ▪ Petrifilm Aerobios totales | ▪ Pipeta de 10 y 5ml |
| ▪ Petrifilm 3M Mohos y Levaduras | ▪ Soporte universal |
| ▪ Vaso precipitación (250ml) | ▪ Micro pipeta de 1ml |
| ▪ Vaso precipitación (500ml) | ▪ Capsulas de porcelana |

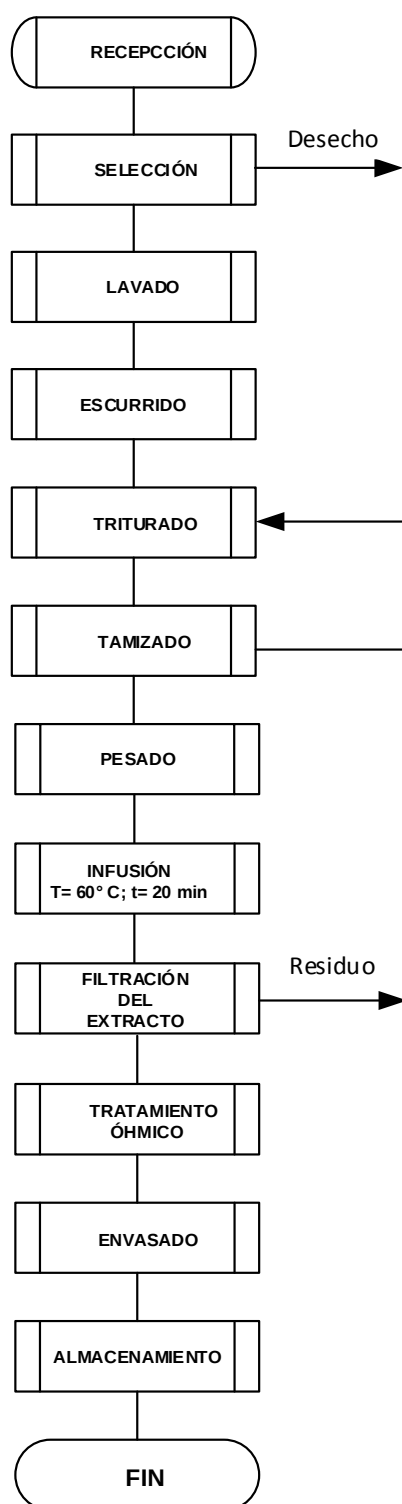
- Vidrio reloj
- Balón de 250ml
- Matraz Erlenmeyer
- Embudo de vidrio
- Papel filtro
- Tiras de pH
- Medidoras de litro
- Cedazo
- Ollas
- Tamiz
- Bandejas
- Botellas color ámbar de 500ml

Reactivos

- Triclorometano (Cloroformo)
- Sulfato de sodio anhidro
- Hidróxido de sodio 0,1N
- Fenolftaleína
- Cloro

3.6 Diagrama de Flujo del proceso

Figura 5 Diagrama de flujo del proceso



Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

3.7 Descripción del proceso

Recepción.

Las hojas secas de guayusa que fueron recibidas para el desarrollo de éste proyecto son provenientes de la provincia del Pastaza cantón Tena, que fueron sometidas a una inspección las mismas que fueron verificadas por la facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil. Ver (ANEXO N°7)

Selección de la materia prima.

Bajo una inspección rigurosa de selección, las hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) deben presentar buen aspecto, estar frescas y que no se contengan algún tipo de porosidad, manteniendo un buen olor. Esta selección se la realiza con el objetivo de descartar aquellas hojas que contengan hongos, mohos e insectos.

Lavado.

El lavado se lo realiza hoja por hoja, para retirar los posibles contaminantes de tierras o restos agrícolas que estén adheridas. A continuación se procede a realizar la desinfección en una solución de cloro al 0,5%; se sumerge las hojas y se deja reposar en la solución por 5 minutos, después se retiran del agua y se las enjuaga con abundante agua.

Acosta (2002) expresa que “El uso de sales clorinadas como el hipoclorito de sodio o de calcio para la reducción de población microbiana se emplean en dosis mínimas, entre 0,5 – 2,0% y el tiempo de inmersión es también breve, entre 5 y 10 minutos”.

Escurrido.

Las hojas de guayusa se las obtuvo secas, lo que se procede a realizar es a escurrir el exceso de agua en un cedazo metálico y se lo dejo por 24 horas hasta que el agua sea eliminada en su totalidad.

Triturado.

Las hojas secas de guayusa son trituradas en una licuadora totalmente limpia y libre de alguna impureza, obteniéndose de éste proceso unas hojas de guayusa finamente trituradas.

Tamizado.

Una vez obtenida la reducción de tamaño de la hoja de guayusa se procede a realizar el tamizado, obteniendo el tamaño de las hojas de 500 μm para realizar el extracto.

Pesado.

El pesado se realiza con la finalidad de recabar datos de la materia prima, una vez obtenidos el pesado se le agrega para realizar el extracto de guayusa un valor de 13,6 gramos de hojas de guayusa por cada litro de agua.

Extracción de la infusión.

Se coloca las hojas de guayusa trituradas en un recipiente, después se agrega agua a una temperatura de 60° C y se las deja reposar por 20 minutos. La relación de guayusa seca y agua es 13,6: 1.

Filtración del extracto.

Una vez transcurrido el tiempo de extracto se procede a filtrar el agua obtenida con papel filtro, con el objetivo de retirar las hojas de guayusa.

Tratamiento óhmico.

Una vez obtenido el extracto de guayusa se somete a calentamiento óhmico, el equipo para realizar las pruebas, este consta de una fuente de energía, un voltímetro y un temporizador en el cual se va a regular el voltaje y el tiempo establecido para la experimentación.

El experimento se realiza en tiempos de 50, 110 y 140 segundos y en voltajes de 15, 25 y 40 voltios. Las muestras obtenidas de este tratamiento son analizadas para determinar propiedades físico-químicas y microbiológicas del producto.

Envasado.

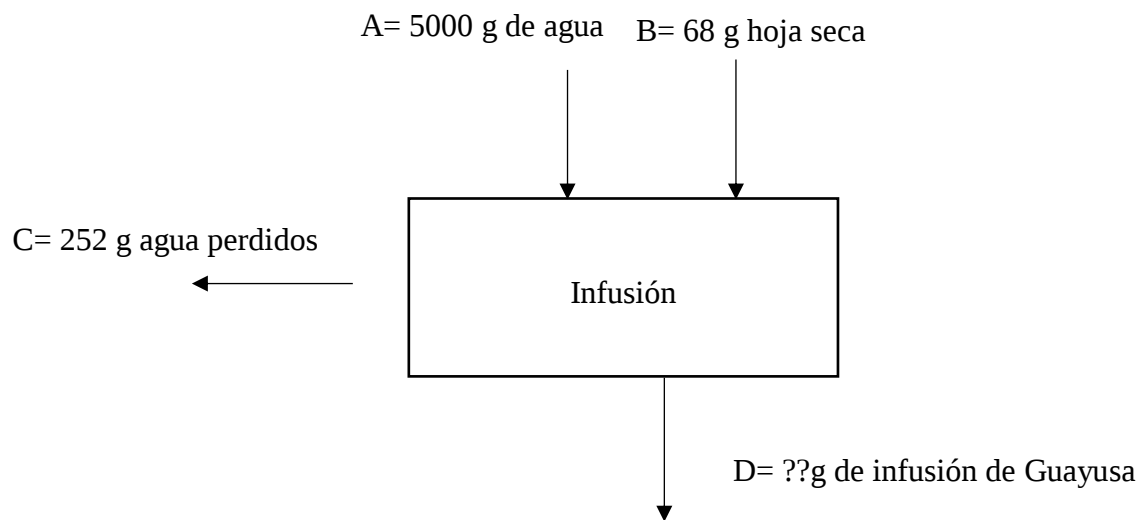
Una vez finalizado el proceso y habiendo obtenido los resultados deseados se procede al llenado de la bebida en envases de plástico color ámbar en presentaciones de 500ml.

Almacenado:

Se almacena la bebida en refrigeración a una temperatura aproximada de 10°C.

3.8 Balance de materia

Balance de materia para la infusión



Nomenclatura:

A= 5litros de agua = 5000g de agua

B= Hojas de Guayusa

C= Agua perdida en la filtración

D= Infusión de Guayusa en gramos

Balance General

$$E = S$$

$$A + B = C + D$$

$$5000g + 68g = 252g + D$$

$$D = 4816 \text{ g de infusión de Guayusa}$$

CAPITULO 4

4 PRUEBAS EXPERIMENTALES

Las muestras de guayusa (*Ilux guayusa*) fueron evaluadas través de instrumentos de laboratorio. Las pruebas experimentales que se realizó se las describe a continuación en cada una de las variables que se midieron.

4.1 Descripción de las variables

4.1.1 Determinación de sólidos solubles

Se realizó el análisis al inicio y al final del tratamiento óhmico, con la ayuda de un refractómetro marca BOECO VRB32 de escala 0 a 32% de °Brix; con el objetivo de registrar la variación del contenido de solidos solubles disueltos de cada tratamiento.

Procedimiento:

- Se calibra el refractómetro con agua destilada.
- Se coloca entre 2 a 3 gotas de la muestra en el lente del refractómetro.
- Se lee el dato obtenido.

4.1.2 pH

Se realizó el análisis de pH a cada una de las muestras de la infusión antes y después de aplicar el tratamiento con el calentador óhmico, para registrar los datos se utilizó un peachímetro de marca ATC.

Procedimiento:

- Se calibra el peachímetro con agua destilada según las especificaciones del instrumento y con las soluciones buffer que estas tienen para su respectiva calibración.

- Se coloca 15 ml de muestra en un vaso de precipitación.
- Se sumerge el peachímetro en la muestra y se deja reposar hasta que el lector digital me dé el dato a leer.
- Se lee el dato.

4.1.3 Densidad

Se empleó el método del picnómetro para determinar la densidad del extracto antes y después del tratamiento óhmico.

Procedimiento:

- Se pesa el picnómetro seco cuidadosamente en la balanza analítica, obteniendo con este nuestra primer medida o w1 que es el picnómetro vacío.
- Se llena con agua destilada el picnómetro y pesarlo en la balanza analítica, así obteniendo nuestra segunda medida o w2.
- A continuación se elimina el agua, se seca y se pesa de nuevo obteniendo la tercer medida w3.
- Y por último se introduce la muestra problema en el picnómetro y se lo pesa en la balanza analítica obteniendo el cuarto dato o w4.
- Se utiliza la siguiente fórmula para la determinación de la gravedad específica

$$\frac{W4 - W3}{W2 - W1}$$

Formula de la densidad de la muestra:

$$\rho \text{ de la muestra} = \text{gravedad específica} * \rho \text{ patrón}$$

Densidad patrón es: 1 g/ cm³

4.1.4 Acidez titulable

Se determinó a través de este análisis la variación del contenido de ácido cítrico de los tratamientos basados en la norma NTE INEN-ISO 750:2013.

Procedimiento:

- Ubicar la bureta en el soporte universal y aforar con hidróxido de sodio al 0,1N.
- Se coloca 50ml de muestra en un vaso de precipitación.
- Agregar de 4 a 5 gotas de fenolftaleína en el vaso de precipitación el cual contiene la muestra.
- Se procede a realizar la titulación con el hidróxido de sodio que fue colocado previamente en la bureta.
- Se observa cuanto de hidróxido de sodio fue consumido y se anota el valor para luego ser utilizado en la formula correspondiente.

Para obtener la acidez del extracto de guayusa se utilizó la siguiente fórmula:

$$A = \frac{V(OHNa) * N(OHNa) * 0,064 * 100}{Vm}$$

A: acidez

V (OHNa): Volumen del hidróxido de sodio consumido

N (OHNa): Normalidad del hidróxido de sodio

0,064: Factor del ácido cítrico

Vm: Volumen de la muestra

4.1.5 Conductividad

Se realizó el análisis de conductividad a cada una de las muestras de la infusión antes y después de aplicar el tratamiento con el calentador óhmico, para registrar los datos se utilizó un conductímetro de marca Liquiatec PM300.

Procedimiento:

- Se calibra el conductímetro con agua destilada según las especificaciones del instrumento.
- Se coloca 15 ml de muestra en un vaso de precipitación.
- Se sumerge el conductímetro en la muestra y se deja reposar hasta que el lector digital me dé el dato a leer.
- Se lee el dato.

4.1.6 Cromatografía de capa fina

Este es un método cualitativo en el que consiste determinar si la muestra contiene colorante.

Procedimiento:

- Se colocó en la placa cromatográfica una pequeña cantidad del extracto de guayusa.
- Después se introdujo la placa con la muestra ya integrada en un vaso de precipitación, el cual contiene 15ml de agua (muestra blanca).
- Se espera a que la muestra corra hasta el otro extremo de la placa cromatográfica.
- Se retiró la placa y se deja que la muestra seque.

- Para finalizar se lleva la placa a una cámara de luz UV en el cual se determina si la muestra contiene colorantes.

4.1.7 Contenido de cafeína por el método de extracción con cloroformo

Se determinó la cafeína por un método de extracción con cloroformo antes y después de cada tratamiento.

Procedimiento:

- Se colocó la infusión de guayusa una cantidad de 250ml.
- Para realizar el proceso de extracción se coloca la infusión en un embudo de decantación, y después agregar dosis de cloroformo 15 ml, seguido realizar una pequeña agitación y abriendo la llave para dejar escapar los gases volátiles que en este se forman (dos extracciones sucesivas pueden ser suficientes).
- Se separa la fase orgánica extracción de cafeína con cloroformo (triclorometano) y la fase acuosa del extracto de guayusa, colocando la fase orgánica en un vaso de precipitación.
- A continuación se precede a realizar un lavado de la fase orgánica con hidróxido de sodio (0,1N) existiendo una nueva solución de la fase orgánica.
- Luego, se deshidrata con sulfato de sodio anhidro (1 cucharada es suficiente para la deshidratación, al realizar esta acción la fase orgánica se vuelve transparente la cual nos indica que esta quedo deshidratada).
- Por último se decanta la fase orgánica deshidratada.
- Para la recuperación del cloroformo se coloca la fase orgánica deshidratada en un matraz el cual va a ser llevado a una destilación en el rota vapor.

- Se determina la masa de la cafeína tarando previamente el matraz del rota vapor.

4.1.8 Análisis Microbiológico

Se realizó un análisis microbiológico para determinar la reducción microbiana tanto antes y después de aplicar el tratamiento óhmico en el extracto de guayusa.

Las pruebas que se realizaron en el extracto fueron las siguientes:

- Método de conteo de aerobios mesofilos totales en placas 3M
- Determinación de coliformes totales en placas 3M
- Método de conteo de mohos y levaduras en placas 3M

4.1.8.1 Método de conteo de aerobios mesofilos totales en placas 3M

Para realizar el ensayo se realizó por duplicado cada muestra utilizando placas petrifilm 3M.

Procedimiento:

- Se dispone de la placa petrifilm en una superficie plana, en el cual se levanta el film superior para agregar la muestra.
- Se pipetea 1ml de muestra colocándolo en el centro aproximadamente del interior del film, manteniendo la pipeta en posición vertical sin tocar el film del interior mientras se está pipeteando.
- Luego se suelta el film superior y se deja caer sin deslizar el film hacia abajo.
- Se coloca el aplicador sobre el film superior que este se debe encontrar bien centrado sobre el inóculo.

- Se aplica una presión leve sobre el aplicador para distribuir el inóculo por toda la zona circular sin mover ni girar el aplicador.
- Se deja por 1 minuto la placa para que se solidifique el gel que este tiene.
- Se lleva las placas petrifilm a incubación con la cara hacia arriba y aplicadas en grupos no más de 20 placas.
- Se las incuba a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 72 horas para cualquier tipo de alimento.
- Leer las placas consultando la guía de interpretación para leer los resultados.

4.1.8.2 *Determinación de coliformes totales en placas 3M*

Para realizar el ensayo se realizó por duplicado por cada muestra utilizando placas petrifilm 3M.

Procedimiento:

- Se dispone de la placa petrifilm en una superficie plana, en el cual se levanta el film superior para agregar la muestra.
- Se pipetea 1ml de muestra colocándolo en el centro aproximadamente del interior del film, manteniendo la pipeta en posición vertical sin tocar el film del interior mientras se está pipeteando.
- Luego se suelta el film superior y se deja caer sin deslizar el film hacia abajo.
- Se coloca el aplicador sobre el film superior que este se debe encontrar bien centrado sobre el inóculo.
- Se aplica una presión leve sobre el aplicador para distribuir el inóculo por toda la zona circular sin mover ni girar el aplicador.
- Se deja por 1 minuto la placa para que se solidifique el gel que este tiene.
- Se lleva las placas petrifilm a incubación con la cara hacia arriba y aplicadas en grupos no más de 20 placas.

- Se las incubó a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas para cualquier tipo de alimento.
- Posteriormente se realizó el recuento de unidades formadoras de colonias que se presentaron de color rojo con presencia de gas.

4.1.8.3 Método de conteo de mohos y levaduras en placas 3M

Para realizar el ensayo se realizó por duplicado por cada muestra utilizando placas petrifilm 3M.

Procedimiento:

- Se dispone de la placa petrifilm en una superficie plana, en el cual se levanta el film superior para agregar la muestra.
- Se pipetea 1ml de muestra colocándolo en el centro aproximadamente del interior del film, manteniendo la pipeta en posición vertical sin tocar el film del interior mientras se está pipeteando.
- Luego se suelta el film superior y se deja caer sin deslizar el film hacia abajo.
- Se coloca el aplicador sobre el film superior que este se debe encontrar bien centrado sobre el inóculo.
- Se aplica una presión leve sobre el aplicador para distribuir el inóculo por toda la zona circular sin mover ni girar el aplicador.
- Se deja por 1 minuto la placa para que se solidifique el gel que este tiene.
- Se lleva las placas petrifilm a incubación con la cara hacia arriba y aplicadas en grupos no más de 20 placas.
- Se las incubó a $22^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 3-5 días para cualquier tipo de alimento.

- Posteriormente se realizó el recuento de hongos quienes se observan como colonias grandes, difusas y de color variantes, mientras que las levaduras forman colonias pequeñas con borde definido y de color azul-verdoso.

4.1.9 Tiempo de vida útil

Se realizó la prueba de tiempo de vida útil acelerada a cada una de las muestras de la infusión antes y después de aplicar el tratamiento con el calentador óhmico

Procedimiento:

- ✓ Se colocó las muestras en la incubadora a una temperatura de 45°C
- ✓ Se fue evaluando cada 24 horas como iba evolucionando los productos.
- ✓ Se anotaron los parámetros de color, olor, °Brix, pH y observaciones de cómo se encontraban las muestras.
- ✓ A través de una tabla guía se puede definir el tiempo de vida útil en percha del extracto. VER (ANEXO N°10)

4.1.10 Descripción del análisis sensorial

El producto desarrollado por la presente investigación fue analizado sensorialmente por 30 participantes semientrenados, con los datos extraídos de la prueba de catación se midió la aceptación del producto, donde se utilizó un diseño completamente al azar compuesto por 9 tratamientos cada uno a través de 30 repeticiones, además la comparación de sus medias se analizó por medio de la prueba de Tukey al 5% de probabilidad. Para el estudio se utilizó una tabla hedónica detallada en la Evaluación sensorial.

Factor A: Tiempo (segundos)

A1: 50

A2: 110

A3: 140

Factor B: Voltaje

B1: 15

B2: 25

B3: 40

CAPÍTULO 5

5 RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

5.1 Análisis de resultados las propiedades organolépticas

Tabla 6 *Determinación organoléptica del extracto de Guayusa antes de la aplicación del Calentamiento óhmico.*

Parámetro	Resultado
Color	Café oscuro fuerte
Olor	Característico, agradable
Sabor	Medio amargo característico
Aspecto	Uniforme y no translucido.

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

Tabla 7 *Determinación organoléptica del extracto de Guayusa después de la aplicación del Calentamiento óhmico en los diferentes tratamientos.*

VOLTAJE (voltios)	15			25			40		
TIEMPO (segundos)	50	110	140	50	110	140	50	110	140
PARÁMETROS	Color			Café oscuro débil					
	Sabor			Medio amargo característico					
	Olor			Característico agradable.					
	Aspecto			Uniforme y no translucido.					

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

En la determinación organoléptica del extracto de guayusa (*Ilex guayusa*) los parámetros en la tabla 10, son característicos de la planta, al igual que el sabor color, olor y el aspecto del extracto, sin embargo en la tabla 11 se observa la determinación organoléptica del extracto de

guayusa (*Ilex guayusa*) que fue sometida al proceso del calentamiento óhmico, el cual nos demuestra que en todos los tratamientos tanto en los tres diferentes tiempos y voltajes los parámetros de olor, sabor, aroma y aspecto del producto no tuvieron cambio alguno, mientras que el color se estimó una disminución gradual de un café oscuro fuerte a un café oscuro débil.

5.2 Análisis de resultados físico-químicos del extracto de guayusa.

En las siguientes tablas se establecieron los parámetros físicos- químicos del extracto de guayusa antes y después de ser sometidos al proceso del calentamiento óhmico.

Tabla 8 *Determinación de los parámetros físico-químicas del extracto de guayusa, experimentales promedios antes del calentamiento óhmico*

Parámetros antes de aplicar el Calentamiento Óhmico				
Densidad (g/cm ³)	pH	Conductividad (ppm)	Sólidos Solubles (°Brix)	Acidez (%)
0,99	5,3	526	0,2	0,023

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

Tabla 9 *Determinación de los parámetros físico-químicas del extracto de guayusa, experimentales promedios de las diferentes corridas.*

Parámetros después de ser tratados con Calentamiento Óhmico						
Voltaje	Tiempo (segundos)	Densidad (g/cm ³)	pH	Conductividad (ppm)	Sólidos Solubles (°Brix)	Acidez (%)
15	50	0,99	5,7	438	0,2	0,014
	110	0,99	5,8	477	0,2	0,010
	140	0,99	5,9	438	0,2	0,008
25	50	0,99	5,7	401	0,2	0,009

	110	0,99	5,6	444	0,2	0,008
	140	0,99	5,6	406	0,2	0,009
40	50	0,99	5,7	367	0,1	0,009
	110	0,99	5,9	429	0,1	0,008
	140	0,99	5,7	440	0,1	0,007

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

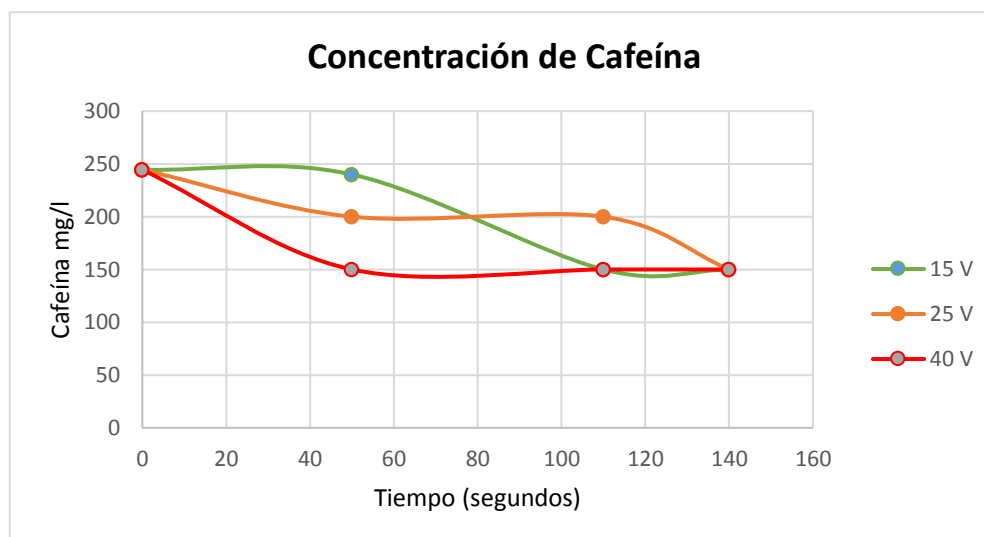
La tabla 12 nos indica las propiedades físico – químicas del extracto de guayusa (*Ilex guayusa*) en las condiciones iniciales que este se presentó, teniendo como resultado una densidad de 0,99 g/cm³, un pH ligeramente ácido de 5.3, la conductividad relativa que presentó el extracto fue de 526 ppm, mientras que los sólidos solubles presentes fueron de 0,2 °Brix indicándonos una escasa presencia de estos sólidos en el extracto y por ultimo obtenemos el porcentaje de acidez que fue de 0,023%.

En la tabla 13 se nota las diferencias de cada tiempo y voltaje utilizado en cada tratamiento observado como la densidad no varió después de la aplicación del calentamiento óhmico, el pH a su vez aumentó ligeramente, la cual es representativa debido al margen de error que posee el medidor de pH y la conductividad del extracto disminuyó sutilmente.

Los sólidos solubles se mantuvieron constante en los dos primeros voltajes y en el voltaje de 40 voltios en los tiempos 50,110 y 140 segundos este disminuyó de 0.2 a 0.1 viéndose parcialmente afectado por el calentamiento óhmico y por último la acidez disminuye gradualmente en cada tratamiento.

5.3 Análisis de la cafeína

Gráfica 1 Efectos de las variaciones en los parámetros del Calentamiento Óhmico sobre la concentración de Cafeína en el extracto de Guayusa.



Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

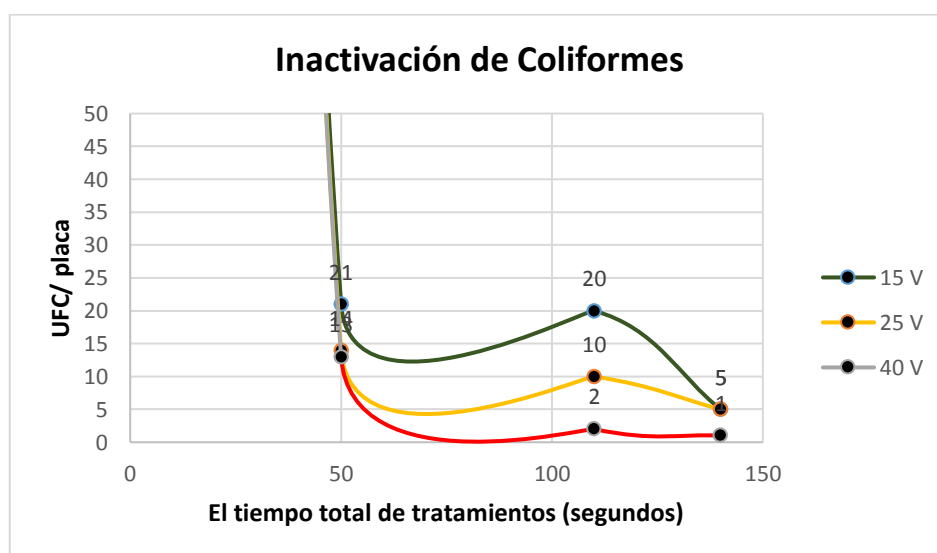
La gráfica 1 nos indica la concentración del extracto de guayusa (*Ilex guayusa*), se observa que inicialmente posee 224,44 mg/l de cafeína, antes de ser sometido al calentamiento óhmico, mientras que en los tratamientos aplicados nos da como resultado la disminución gradual de la concentración de cafeína después de someterlos a calentamiento óhmico. Analizando los resultados de la concentración de cafeína en el primer voltaje que fue de 15 voltios en tres diferentes tiempos se observa una disminución leve de cafeína en el primer intervalo de tiempo de 240,00 mg/l, mientras que en los siguientes dos intervalos de tiempo se mantienen constantes las concentraciones de cafeína a 150,00 mg/l. El segundo voltaje fue de 25 voltios en tres diferentes intervalos de tiempo se observa una disminución más gradual de la concentración de cafeína a diferencia de la que fue inicialmente siendo de 200,00 mg/l, así mismo en los dos últimos intervalos de tiempo las concentraciones se mantuvieron en 150,00

mg/l. Y por último la concentración de cafeína en el tercer voltaje de 40 voltios en tres intervalos de tiempo se mantuvo en 150,00 mg/l, manteniéndose constante la concentración.

Estos estudios realizados experimentalmente con el método de extracción utilizando cloroformo, fueron corroborados estos resultados de la disminución gradual de la concentración de cafeína aplicando el tratamiento óhmico, se escogió el tercer voltaje que fue de 40 voltios y el ultimo intervalo de tiempo de 140 segundos para enviar a analizar dos muestras a un laboratorio acreditado para determinar la cafeína presente antes y después de ser sometido el extracto a calentamiento óhmico en cual se puede observar en el Anexo No 9.

5.4 Análisis de resultado microbiológico

Gráfica 2 Efectos de las variaciones en los parámetros del Calentamiento Óhmico sobre la inactivación de Coliformes en el extracto de Guayusa

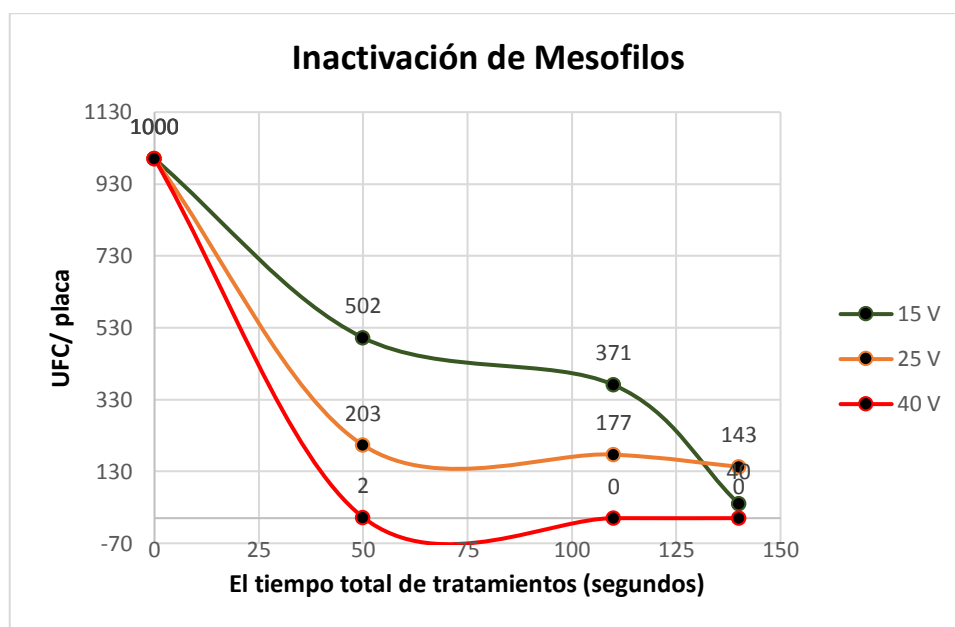


Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

El efecto de los cambios en los parámetros del calentamiento óhmico sobre la inactivación de Coliformes en el extracto de guayusa se muestra en gráfica 2. La intensidad del campo eléctrico y el tiempo de tratamiento varió de 15, 25 hasta 40 voltios y de 50, 110 y 140 segundos, respectivamente el cual el calentamiento óhmico tuvo un efecto significativo en la inactivación de Coliformes, inicialmente el tiempo del tratamiento de 50 segundos en tres intensidades de campo eléctrico (15, 25 y 40 voltios) resultó una reducción de (21, 14 y 13 UFC/placa) en el aumento del tiempo en el tratamiento de 110 segundos en tres intensidades de campo eléctrico (15, 25 y 40 voltios) resultó una reducción pronunciada de (20, 10 y 2 UFC/placa) mientras que en el aumento del tiempo en 140 segundos tres intensidades de campo eléctrico (15, 25 y 40 voltios) resultó una reducción de (5, 5 y 1 UFC/placa).

Los resultados obtenidos demuestran que los Coliformes son sensibles a los tratamientos de Calentamiento óhmico, especialmente en alimentos ácidos bajos como los extracto de té.

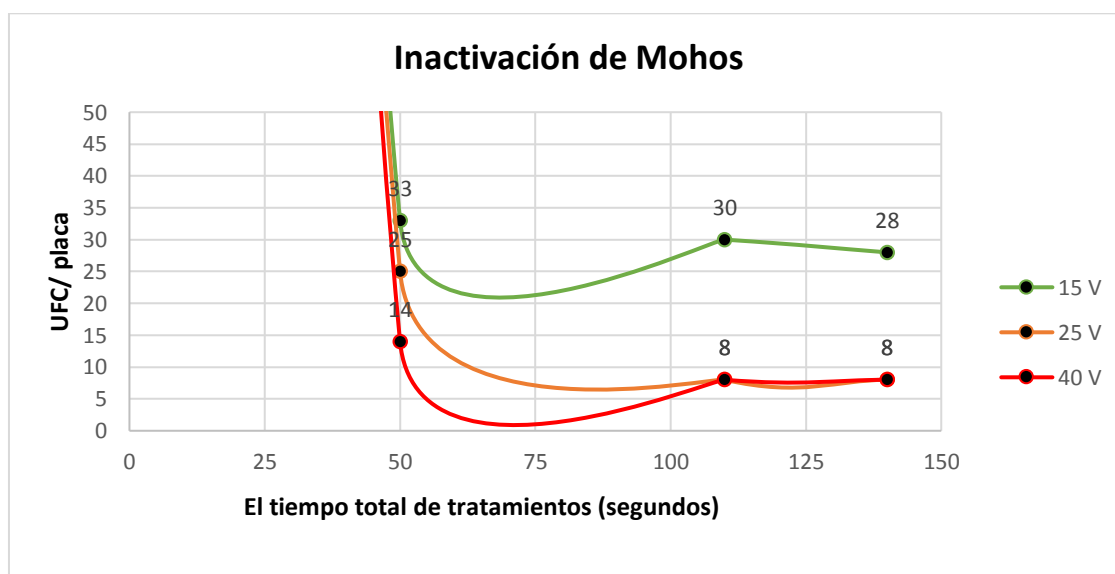
Gráfica 3 Efectos de las variaciones en los parámetros del Calentamiento Óhmico sobre la inactivación de Aerobios Mesófilos en el extracto de Guayusa.



Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

El efecto de los cambios en los parámetros del calentamiento óhmico sobre la inactivación de aerobios mesofilos en el extracto de guayusa se muestra en gráfica 3. La intensidad del campo eléctrico y el tiempo de tratamiento varió de 15, 25 hasta 40 voltios y de 50,110 y 140 segundos, respectivamente el cual el calentamiento óhmico tuvo un efecto significativo en la inactivación de aerobios mesofilos, inicialmente el tiempo del tratamiento de 50 segundos en tres intensidades de campo eléctrico (15, 25 y 40 voltios) resultó una reducción de (502, 207 y 2 UFC/placa); en el aumento del tiempo en el tratamiento de 110 segundos en tres intensidades de campo eléctrico (15, 25 y 40 voltios) resultó una reducción pronunciada de (371, 177 y 0 UFC/placa) mientras que en el aumento del tiempo en 140 segundos tres intensidades de campo eléctrico (15, 25 y 40 voltios) resultó una reducción de (40, 143 y 0 UFC/placa).

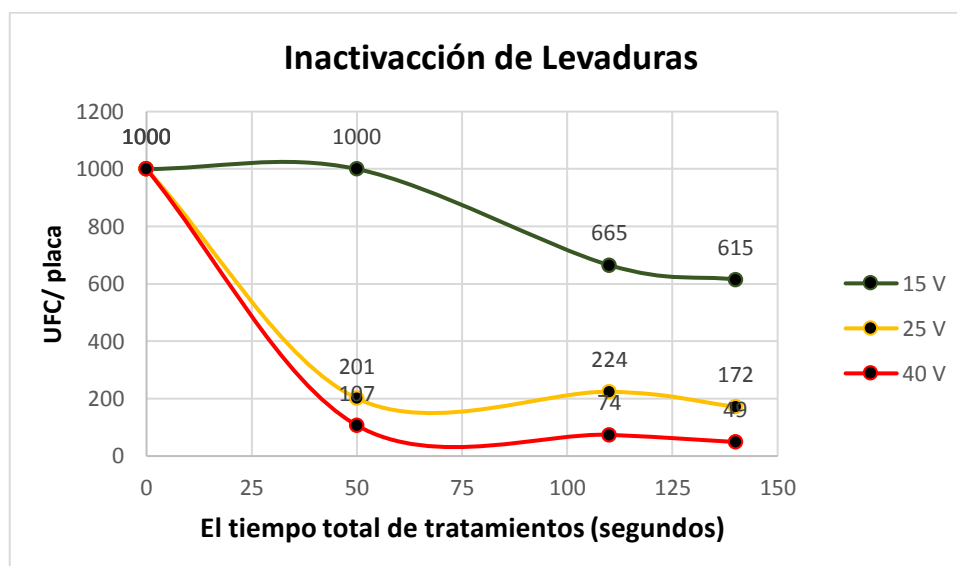
Gráfica 4 Efectos de las variaciones en los parámetros del Calentamiento Óhmico sobre la inactivación de Mohos en el extracto de Guayusa



Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

El efecto de los cambios en los parámetros del calentamiento óhmico sobre la inactivación de Mohos en el extracto de guayusa se muestra en gráfica 4. La intensidad del campo eléctrico y el tiempo de tratamiento varió de 15, 25 hasta 40 voltios y de 50, 110 y 140 segundos, respectivamente el cual el calentamiento óhmico tuvo un efecto significativo en la inactivación de Mohos, inicialmente el tiempo del tratamiento de 50 segundos en tres intensidades de campo eléctrico (15, 25 y 40 voltios) resultó una reducción de (33, 25 y 14 UFC/placa); en el aumento del tiempo en el tratamiento de 110 segundos en tres intensidades de campo eléctrico (15, 25 y 40 voltios) resultó una reducción pronunciada de (30, 8 y 8 UFC/placa) mientras que en el aumento del tiempo en 140 segundos tres intensidades de campo eléctrico (15, 25 y 40 voltios) resultó una reducción de (28, 8 y 8 UFC/placa).

Gráfica 5 Efectos de las variaciones en los parámetros del Calentamiento Óhmico sobre la inactivación de Levaduras en el extracto de Guayusa



Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

El efecto de los cambios en los parámetros del calentamiento óhmico sobre la inactivación de Levaduras en el extracto de guayusa se muestra en gráfica 5. La intensidad del campo

eléctrico y el tiempo de tratamiento varió de 15, 25 hasta 40 voltios y de 50,110 y 140 segundos, respectivamente el cual el calentamiento óhmico tuvo un efecto significativo en la inactivación de Levaduras, inicialmente el tiempo del tratamiento de 50 segundos en tres intensidades de campo eléctrico (15, 25 y 40 voltios) resultó una reducción de (TNTC, 201 y 107 UFC/placa); en el aumento del tiempo en el tratamiento de 110 segundos en tres intensidades de campo eléctrico (15, 25 y 40 voltios) resultó una reducción pronunciada de (665, 224 y 74 UFC/placa) mientras que en el aumento del tiempo en 140 segundos tres intensidades de campo eléctrico (15, 25 y 40 voltios) resultó una reducción de (615, 172 y 49UFC/placa).

5.5 Análisis de resultado sensorial

Tabla 10: Detalle de las medias de los tratamientos

N°	TRATAMIENTOS	MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS					
		SABOR		COLOR		OLOR	
1	50 Segundos + 15 Voltios	2,63	B	3,17	B	3,1	B
2	50 Segundos + 25 Voltios	3,13	B	3,37	B	3,2	B
3	50 Segundos + 40 Voltios	2,87	B	3,13	B	3,37	B
4	110 Segundos + 15 Voltios	2,77	B	3,27	B	3,03	B
5	110 Segundos + 25 Voltios	2,97	B	2,93	B	3	B
6	110 Segundos + 40 Voltios	2,83	B	2,87	B	3,1	B

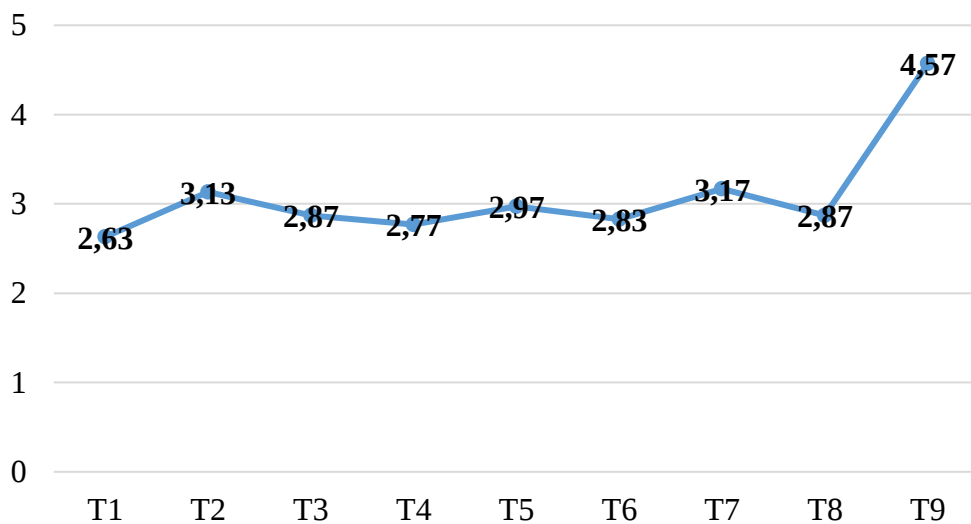
7	140 Segundos + 15 Voltios	3,17	B	3,13	B	3,07	B
8	140 Segundos + 25 Voltios	2,87	B	3	B	3,13	B
9	140 Segundos + 40 Voltios	4,57	A	4,77	A	4,63	A
Coefficiente de Variación		30,77		26,31		29,24	

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

- **Interpretación del sabor**

De acuerdo con el anexo 2 del análisis de la varianza del sabor se puede apreciar el comportamiento sabor, en la cual el tratamiento nueve presenta una media de 4,57 y un coeficiente de variación de 30,77 concluyendo que éste tratamiento fue el de mejor aceptación, presentando diferencia significativa entre los demás tratamientos en estudio.

Gráfica 6 *Comportamiento sensorial del sabor*

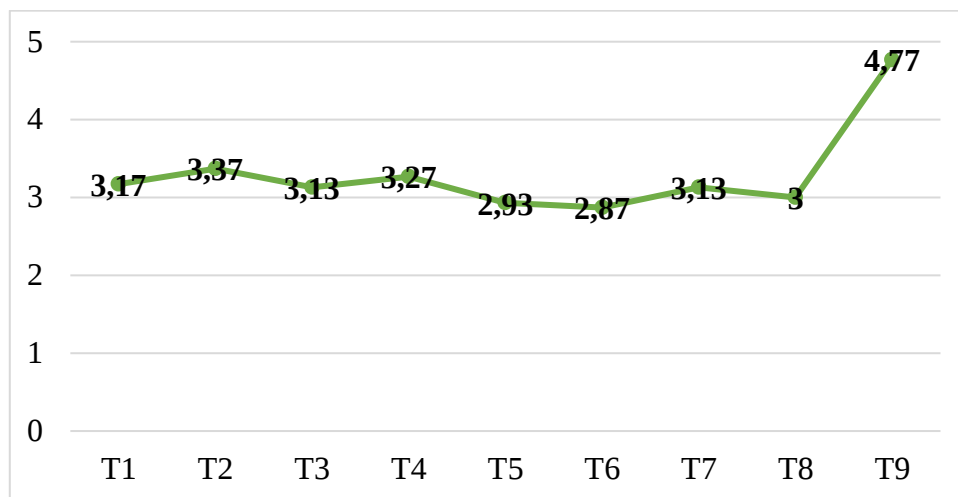


Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

- **Interpretación del color**

De acuerdo con el anexo 3 del análisis de la varianza del color se puede apreciar el comportamiento sabor, en la cual el tratamiento nueve presenta una media de 4,77 y un coeficiente de variación de 26,31 concluyendo que éste tratamiento fue el de mejor aceptación, presentando diferencia significativa entre los demás tratamientos en estudio.

Gráfica 7 *Comportamiento sensorial del color*

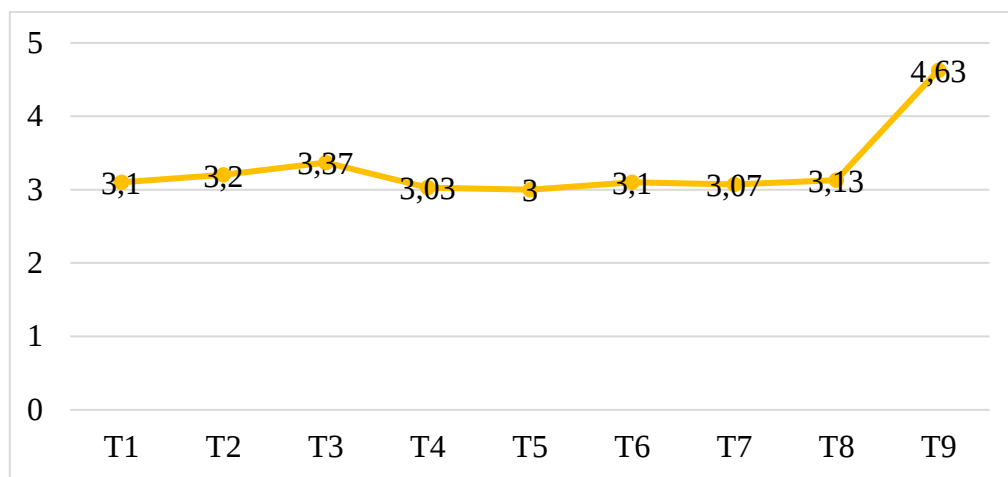


Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

- **Interpretación del olor**

De acuerdo con el anexo 4 análisis de la varianza del olor se puede apreciar el comportamiento sabor, en la cual el tratamiento nueve presenta una media de 4,63 y un coeficiente de variación de 29,24 concluyendo que éste tratamiento fue el de mejor aceptación, presentando diferencia significativa entre los demás tratamientos en estudio.

Gráfica 8 *Comportamiento sensorial del olor*



Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

5.6 CONCLUSIONES

- En cuanto a la reducción microbiana del extracto de guayusa (*Ilex guayusa*) se obtuvo inicialmente TNTC ufc/placa sin aplicar ningún tipo de tratamiento, después con la aplicación del calentamiento óhmico se logró una reducción significativa en el tiempo de 140 segundos y un voltaje de 40voltios en los microorganismos estudiados. Los cuales fueron en coliformes (1 ufc/placa), mesofilos (0 ufc/placa), mohos y levaduras (8 y 49 ufc/placa).
- Se determinó las propiedades físico-químicas y sensoriales del extracto de Guayusa (*Ilex guayusa*) antes y después de ser tratado por calentamiento óhmico el cual se reducen de manera no significativa manteniéndose en cuanto a sabor, color y aroma característico del extracto.
- La cafeína en el extracto de guayusa al ser sometido a calentamiento óhmico se obtuvo una disminución de 40% en su concentración, en la aplicación de los tratamientos.
- La conductividad del extracto disminuyó de forma no significativa después de ser sometido al calentamiento óhmico.
- La cromatografía de capa fina determino la presencia de colorantes en el extracto.
- Se estableció un tiempo de vida útil en percha de 2 meses al extracto de guayusa con el tiempo de 140 segundos y voltaje de 40voltios.
- Se analizó su aceptación organoléptica mediante la prueba de Tukey al 0.05% de probabilidad demostrando que su aceptación presenta diferencia significativa entre los demás tratamientos.

5.7 RECOMENDACIONES

- Realizar más estudios en cuanto a la reducción microbiana a extractos de guayusa por calentamiento óhmico aplicando tiempos y voltajes más elevados y variados para poder llegar a una exactitud en la reducción microbiana.
- Establecer un parámetro más exacto para que no exista esa variación mínima de cafeína en el extracto cuando se aplica el tratamiento.
- Las hojas de guayusa debe ser seleccionada y lavadas debido a que pueden presentar mohos o picaduras de insectos lo que pueden ser perjudiciales para la salud.
- Realizar otro tipo de análisis para determinación de otros compuestos que están presentes en el extracto de guayusa.
- Limpiar y desinfectar el equipo de Calentamiento Óhmico.
- El volumen a ocupar en el equipo de calentamiento óhmico debe ser de 75% en su capacidad.
- Al trabajar con las placas petrifilm es importante realizar los análisis en un ambiente estéril.

6 BIBLIOGRAFIA

Sánchez, J. C., Romero, C. R., Arroyave, C. D., García, A. M., Giraldo, F. D., & Sánchez, L. V. (s.f.).

ADAC. (2010). *ADAC MEDICAL*. Obtenido de <http://www.adacmedical.com/ADAC%20estudio%20electroporacion.pdf>

Aldas, Arias, R. V., & Gualli, A. E. (28 de febrero de 2013). *TESIS%20caracteristicas%20de%20la%20guayusa Estudio Comparativo del Té de la especie (Ilex guayusa) procedente de la Region Amazonica y el producto comercial de la empresa "Aromas del Tungurahua"*. Obtenido de REPOSITORIO DE ESPOL: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/25225/1/TESIS.pdf>

Aldas, Arias, R. V., & Gualli, A. E. (28 de Febrero de 2013). *TESIS%20caracteristicas%20de%20la%20guayusa Estudio Comparativo del Té de la especie (Ilex guayusa) procedente de la Region Amazonica y el producto comercial de la empresa "Aromas del Tungurahua"*. Obtenido de REPOSITORIO DE ESPOL: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/25225/1/TESIS.pdf>

Aldas, R. V. (28 de febrero de 2013). *TESIS%20caracteristicas%20de%20la%20guayusa Estudio Comparativo del Té de la especie (Ilex guayusa) procedente de la Region Amazonica y el producto comercial de la empresa "Aromas del Tungurahua"*. Obtenido de REPOSITORIO DE ESPOL : <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/25225/1/TESIS.pdf>

Aldas, R. V. (28 de Febrero de 2013). *TESIS%20caracteristicas%20de%20la%20guayusa Estudio Comparativo del Té de la especie (Ilex guayusa) procedente de la Region*

Amazonica y el producto comercial de la empresa "Aromas del Tungurahua".

Obtenido de REPOSITORIO DE ESPOL:

<https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/25225/1/TESIS.pdf>

Alejandra, Azucena, Q. F., & Mayra, Q. G. (30 de Mayo de 2014). 3450 *Elaboración de una bebida energizante a base de guayusa (Ilex guayusa) y naranjilla (solanum quitoense) edulcorada con panela*. Obtenido de Repositorio Digital Univesidad Técnica del Norte.: <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/3450>

Alejandra, Q. F. (30 de Mayo de 2014). 3450 *Elaboración de una bebida energizante a base de guayusa (Ilex guayusa) y naranjilla (solanum quitoense) edulcorada con panela*. Obtenido de Repositorio Digital Univesidad Técnica del Norte.: <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/3450>

Anzueto, C. R. (30 de Agosto de 2012). *10-tecnologas-emergentes-para-la-conservacin-de-alimentos* *Tecnologías emergentes para la conservación de alimentos*. Obtenido de SlideShare: <https://es.slideshare.net/FUSADESORG/10-tecnologas-emergentes-para-la-conservacin-de-alimentos>

Aznar, & Calle, S. (12 de Junio de 2011). *PFC1 "Determinación analítica de la cafeína en diferentes productos comerciales"*. Obtenido de Portal de acceso abierto al conocimiento de la UPC: <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/11148/PFC1.pdf>

Calderón-Miranda, M. L., San Martín González, M. F., Barbosa-Cánovas, G., & Swanson, B. (02 de 09 de 1999). *Metodos no Térmicos para procesamiento de Alimentos: Variables e Inactivacion Microbiana*. págs. 1-9.

Dueñas, J. F., Jarrett, C., Cummins, I., & Logan-Hines, A. (18 de FEBRERO de 2016).

295085067_Amazonian_Guayusa_Ilex_guayusa_Loes_A_Historical_and_Ethnobotan

ical_Overview Amazonian Guayusa (Ilex guayusa Loes.): A Historical and Ethnobotanical Overview. Obtenido de researchgate: www.researchgate.net

Dueñas-Serrano, J. F., Logan-Hines, E., Stimola, M., & Montagnini, F. (13 de noviembre de 2013). *RUNA-GUAYUSA_DESARROLLO-DE-UN-SISTEMA-DE-CULTIVO-AGROFORESTAL-DE-Ilex-guayusa-Loes RUNA GUAYUSA – DESARROLLO DE UN SISTEMA DE CULTIVO*. Obtenido de Runa Foundation: http://fundacionruna.org/wp-content/uploads/2015/05/RUNA-GUAYUSA_DESARROLLO-DE-UN-SISTEMA-DE-CULTIVO-AGROFORESTAL-DE-Ilex-guayusa-Loes.pdf

Fernandez-Molina, J. J., Barbosa-Cánovas, G., & Swanson, B. (2001). ARBOR Tecnologías Emergentes para la Conservación de Alimentos sin Calor. *Tecnologías Emergentes para la Conservación de Alimentos sin Calor*, 155-170.

Fernandez-Molina, José, J., Barbosa-Cánovas, Gustavo, Swanson, & G., B. (2001). ARBOR Tecnologías Emergentes para la Conservación de Alimentos sin Calor. *Tecnologías Emergentes para la Conservación de Alimentos sin Calor*, 155-170.

Gil, S. (12 de 03 de 2000). *liquidos Conductividad electrica en líquidos*. Obtenido de Física re-Creativa: <http://www.fisicarecreativa.com/guias/liquidos.pdf>

Health, N. I. (17 de Febrero de 2016). *VitaminC-DatosEnEspanol Datos sobre la vitamina C*. Obtenido de National Institutes of Health: <https://ods.od.nih.gov/pdf/factsheets/VitaminC-DatosEnEspanol.pdf>

JUAN F. DUEÑAS, C. J.–H. (18 de FEBRERO de 2016). *295085067_Amazonian_Guayusa_Ilex_guayusa_Loes_A_Historical_and_Ethnobotanical_Overview Amazonian Guayusa (Ilex guayusa Loes.): A Historical and Ethnobotanical Overview*. Obtenido de researchgate: www.researchgate.net

- Juan F. Dueñas-Serrano, E. L.-H. (13 de noviembre de 2013). *RUNA-GUAYUSA_DESARROLLO-DE-UN-SISTEMA-DE-CULTIVO-AGROFORESTAL-DE-Ilex-guayusa-Loes* RUNA GUAYUSA – DESARROLLO DE UN SISTEMA DE CULTIVO. Obtenido de Runa Foundation: http://fundacionruna.org/wp-content/uploads/2015/05/RUNA-GUAYUSA_DESARROLLO-DE-UN-SISTEMA-DE-CULTIVO-AGROFORESTAL-DE-Ilex-guayusa-Loes.pdf
- Lozano, R. P., García, Y. A., & Albaladejo, D. B. (24 de Marzo de 2015). 289122084002 *Cafeína: un nutriente, un fármaco, o una droga de abuso*. Obtenido de Sistema de Información Científica Redalyc Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal: <http://www.redalyc.org/pdf/2891/289122084002.pdf>
- Mateos, D. P. (s.f.). *CONTROL DE LAS POBLACIONES MICROBIANAS: ESTERILIZACION Y DESINFECCION*. Obtenido de Servidor educativo. Dto. de Microbiología y Genética: <http://webcd.usal.es/Web/educativo/micro2/tema08.html#anchor136196>
- Mercola, D. (31 de Julio de 2016). *beneficios-de-colina Colina: Por Qué Debería Comer Yemas de Huevo y Tomar Kril*. Obtenido de Mercola tome control de su salud.: <http://articulos.mercola.com/sitios/articulos/archivo/2016/07/31/beneficios-de-colina.aspx>
- Mercola, D. (31 de Julio de 2016). *beneficios-de-colina Colina: Por Qué Debería Comer Yemas de Huevo y Tomar Kril*. Obtenido de Mercola tome control de su salud.: <http://articulos.mercola.com/sitios/articulos/archivo/2016/07/31/beneficios-de-colina.aspx>

MORENO, & TOCA, S. (14 de DICIEMBRE de 2015). *triterpenos triterpenos*. Obtenido de Herbolari LA NEU: <http://www.herbolarilaneu.com/es/farmacognosia/27-metabolitos-secundarios/terpenos-o-terpenoides/triterpenos>

MORENO, S. T. (14 de DICIEMBRE de 2015). *triterpenos triterpenos*. Obtenido de Herbolari LA NEU: <http://www.herbolarilaneu.com/es/farmacognosia/27-metabolitos-secundarios/terpenos-o-terpenoides/triterpenos>

nutri-facts. (22 de marzo de 2016). *Vitamina_B3 resumen*. Obtenido de nutri-facts : http://www.nutri-facts.org/content/dam/nutrifacts/pdf/nutrients-pdf-es/Vitamina_B3.pdf

Pediamécum. (13 de octubre de 2015). *Piridoxina (Vitamina B6)*. Obtenido de Pediamécum: <http://pediamecum.es/wp-content/farmacos/Piridoxina.pdf>

Pediamécum. (13 de Octubre de 2015). *Riboflavina Riboflavina*. Obtenido de Pediamécum: <http://pediamecum.es/wp-content/farmacos/Riboflavina.pdf>

Pineda, & David. (16 de Septiembre de 2014).

CALENTAMIENTO_OHMICO%20DE%20LOS%20ALIMENTOS Calentamiento óhmico de los alimentos. Obtenido de Dirección de Innovación y Calidad: http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/6544/CALENTAMIENTO_OHMICO%20DE%20LOS%20ALIMENTOS.pdf

Pineda, D. (16 de Septiembre de 2014).

CALENTAMIENTO_OHMICO%20DE%20LOS%20ALIMENTOS Calentamiento óhmico de los alimentos . Obtenido de Dirección de Innovación y Calidad : http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/6544/CALENTAMIENTO_OHMICO%20DE%20LOS%20ALIMENTOS.pdf

Portillo, & García, A. (05 de Diciembre de 2005). *ALIMENTOS Dietética y Nutrición - Agua*.

Obtenido de Educagua:

<http://www.educagua.com/apuntesde/nutricion/ALIMENTOS/LOSALIMENTOS.pdf>

Portillo, A. G. (05 de Diciembre de 2005). *ALIMENTOS Dietética y Nutrición - Agua*.

Obtenido de Educagua:

<http://www.educagua.com/apuntesde/nutricion/ALIMENTOS/LOSALIMENTOS.pdf>

Raúl A. Castellanos, R. M. (28 de marzo de 2017). *RFCMVol3-1-2006-8 Efectos fisiológicos de las bebidas energizantes*. Obtenido de Biblioteca Virtual en Salud Honduras:

<http://www.bvs.hn/RFCM/pdf/2006/pdf/RFCMVol3-1-2006-8>

SALTOS, Q. F. (26 de FEBRERO de 2014). *Pablo%20AntonioD.%20C “ESTUDIO*

COMPARATIVO DE LAS DISTINTAS BEBIDAS ENERGIZANTES QUE SE

EXPANDEN ACTUALMENTE EN GUAYAQUIL. Obtenido de Repositorio

Institucional de la Universidad de Guayaquil:

<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/3309/1/Pablo%20AntonioD.%20Ch..pdf>

Tagliafico, & Gabriel, D. (26 de octubre de 2008). *aparato-circulatorio-relacion-consumo-*

cafeina El Aparato Circulatorio en relación al consumo de cafeína. Obtenido de

monografías.com El centro de tesis, documentos, publicaciones y recursos educativos

más amplio de la Red.: [http://www.monografias.com/trabajos-pdf/aparato-](http://www.monografias.com/trabajos-pdf/aparato-circulatorio-relacion-consumo-cafeina/aparato-circulatorio-relacion-consumo-cafeina.pdf)

[circulatorio-relacion-consumo-cafeina/aparato-circulatorio-relacion-consumo-](http://www.monografias.com/trabajos-pdf/aparato-circulatorio-relacion-consumo-cafeina/aparato-circulatorio-relacion-consumo-cafeina.pdf)

[cafeina.pdf](http://www.monografias.com/trabajos-pdf/aparato-circulatorio-relacion-consumo-cafeina/aparato-circulatorio-relacion-consumo-cafeina.pdf)

Tavares, C., & Sakata, R. K. (23 de Mayo de 2012). *es_v62n3a11 Cafeína para el*

Tratamiento del Dolor. Obtenido de The Scientific Electronic Library Online:

http://www.scielo.br/pdf/rba/v62n3/es_v62n3a11.pdf

Wilson, D. S. (28 de Agosto de 2015). *Odebenedetti Farmacognosia Clases Teóricas y*

Presentaciones. Obtenido de Repositorio Universidad de Belgrano:

[http://repositorio.ub.edu.ar/bitstream/handle/123456789/6139/4321%20-](http://repositorio.ub.edu.ar/bitstream/handle/123456789/6139/4321%20-%20completo%20-%20%20Farmacognosia%20-%20debenedetti.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

[%20completo%20-%20%20Farmacognosia%20-](http://repositorio.ub.edu.ar/bitstream/handle/123456789/6139/4321%20-%20completo%20-%20%20Farmacognosia%20-%20debenedetti.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

[%20debenedetti.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.ub.edu.ar/bitstream/handle/123456789/6139/4321%20-%20completo%20-%20%20Farmacognosia%20-%20debenedetti.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Wilson, Debenedetti, S., & Erica. (28 de Agosto de 2015). *Odebenedetti Farmacognosia*

Clases Teóricas y Presentaciones. Obtenido de Repositorio Universidad de Belgrano:

[http://repositorio.ub.edu.ar/bitstream/handle/123456789/6139/4321%20-](http://repositorio.ub.edu.ar/bitstream/handle/123456789/6139/4321%20-%20completo%20-%20%20Farmacognosia%20-%20debenedetti.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

[%20completo%20-%20%20Farmacognosia%20-](http://repositorio.ub.edu.ar/bitstream/handle/123456789/6139/4321%20-%20completo%20-%20%20Farmacognosia%20-%20debenedetti.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

[%20debenedetti.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.ub.edu.ar/bitstream/handle/123456789/6139/4321%20-%20completo%20-%20%20Farmacognosia%20-%20debenedetti.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

7 ANEXOS

Anexo 1 *Tablas de determinación de cafeína y conteo microbiológico*

Tabla 11 *Determinación de la cafeína en el extracto de guayusa antes de aplicar el calentamiento óhmico*

Tabla de promedios de tratamientos No Tratados por calentamiento óhmico		
Parámetro	Unidad	Resultado
Cafeína	ml/l	244,44

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

Tabla 12 *Determinación de la cafeína en el extracto de guayusa después de aplicar el calentamiento óhmico*

Tabla de promedios de tratamientos tratados por calentamiento óhmico		
Voltaje (voltios)	Tiempo (segundos)	Tratados(mg/l)
15	50	240,00
	110	150,00
	140	150,00
25	50	200,00
	110	200,00
	140	150,00
40	50	150,00
	110	150,00
	140	150,00

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

Tabla 13 *Análisis microbiológico*

Tabla de promedios microbiológicos de tratamientos tratados con calentamiento óhmico					
VOLTAJE (voltios)	TIEMPO (segundos)	COLIFORMES	MESOFILOS	MOHOS	LEVADURAS
15	50	21	502	33	1000
	110	20	371	30	665
	140	5	40	28	615
25	50	14	203	25	201
	110	10	177	8	224
	140	5	143	8	172
40	50	13	2	14	107
	110	2	0	8	74
	140	1	0	8	49

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

Anexo 2 *Análisis Sensorial*

Tabla 14 *Detalle de los tratamientos*

N° TRATAMIENTOS	COMBINACIÓN	DETALLE
1	A1B1	50 Segundos + 15 Voltios
2	A1B2	50 Segundos + 25 Voltios
3	A1B3	50 Segundos + 40 Voltios
4	A2B1	110 Segundos + 15 Voltios
5	A2B2	110 Segundos + 25 Voltios
6	A2B3	110 Segundos + 40 Voltios
7	A3B1	140 Segundos + 15 Voltios
8	A3B2	140 Segundos + 25 Voltios
9	A3B3	140 Segundos + 40 Voltios

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

Tabla 15 *Esquema de análisis de varianza*

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
TOTAL	269
REPETICIONES	29
TRATAMIENTOS	8
ERROR EXPERIMENTAL	232

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

DATOS

Tabla 16: *Datos de la prueba sensorial del producto*

TRATAMIENTOS	REPETICIONES	SABOR	COLOR	OLOR
50 Segundos + 15 Voltios	1	2	1	1
50 Segundos + 25 Voltios	1	3	1	2
50 Segundos + 40 Voltios	1	3	3	3
110 Segundos + 15 Voltios	1	2	2	2
110 Segundos + 25 Voltios	1	3	2	3
110 Segundos + 40 Voltios	1	2	4	3
140 Segundos + 15 Voltios	1	2	2	2
140 Segundos + 25 Voltios	1	3	3	3
140 Segundos + 40 Voltios	1	4	4	5
50 Segundos + 15 Voltios	2	3	3	3
50 Segundos + 25 Voltios	2	2	3	1
50 Segundos + 40 Voltios	2	1	3	3
110 Segundos + 15 Voltios	2	1	3	3
110 Segundos + 25 Voltios	2	3	3	3
110 Segundos + 40 Voltios	2	3	3	3
140 Segundos + 15 Voltios	2	1	3	3
140 Segundos + 25 Voltios	2	1	1	1
140 Segundos + 40 Voltios	2	4	5	4
50 Segundos + 15 Voltios	3	2	2	2
50 Segundos + 25 Voltios	3	3	4	1

50 Segundos + 40 Voltios	3	2	2	1
110 Segundos + 15 Voltios	3	3	2	2
110 Segundos + 25 Voltios	3	5	3	3
110 Segundos + 40 Voltios	3	3	3	3
140 Segundos + 15 Voltios	3	3	3	3
140 Segundos + 25 Voltios	3	3	4	4
140 Segundos + 40 Voltios	3	4	5	4
50 Segundos + 15 Voltios	4	2	1	1
50 Segundos + 25 Voltios	4	2	2	2
50 Segundos + 40 Voltios	4	2	2	1
110 Segundos + 15 Voltios	4	2	2	1
110 Segundos + 25 Voltios	4	3	3	2
110 Segundos + 40 Voltios	4	2	2	4
140 Segundos + 15 Voltios	4	3	3	2
140 Segundos + 25 Voltios	4	3	2	3
140 Segundos + 40 Voltios	4	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	5	2	2	2
50 Segundos + 25 Voltios	5	3	3	3
50 Segundos + 40 Voltios	5	1	2	4
110 Segundos + 15 Voltios	5	2	3	3
110 Segundos + 25 Voltios	5	2	2	2
110 Segundos + 40 Voltios	5	2	2	2
140 Segundos + 15 Voltios	5	1	2	2
140 Segundos + 25 Voltios	5	2	3	3
140 Segundos + 40 Voltios	5	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	6	3	3	3
50 Segundos + 25 Voltios	6	2	3	4
50 Segundos + 40 Voltios	6	1	2	3
110 Segundos + 15 Voltios	6	2	3	3
110 Segundos + 25 Voltios	6	3	2	3
110 Segundos + 40 Voltios	6	1	1	1
140 Segundos + 15 Voltios	6	4	4	4
140 Segundos + 25 Voltios	6	1	1	1
140 Segundos + 40 Voltios	6	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	7	2	4	1
50 Segundos + 25 Voltios	7	2	4	1
50 Segundos + 40 Voltios	7	4	2	1
110 Segundos + 15 Voltios	7	2	4	1
110 Segundos + 25 Voltios	7	2	2	1
110 Segundos + 40 Voltios	7	4	2	4
140 Segundos + 15 Voltios	7	5	5	2
140 Segundos + 25 Voltios	7	2	2	2
140 Segundos + 40 Voltios	7	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	8	2	2	2
50 Segundos + 25 Voltios	8	2	3	2
50 Segundos + 40 Voltios	8	2	3	5
110 Segundos + 15 Voltios	8	3	3	4
110 Segundos + 25 Voltios	8	3	4	3

110 Segundos + 40 Voltios	8	3	4	3
140 Segundos + 15 Voltios	8	5	3	3
140 Segundos + 25 Voltios	8	2	3	3
140 Segundos + 40 Voltios	8	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	9	4	5	5
50 Segundos + 25 Voltios	9	4	5	5
50 Segundos + 40 Voltios	9	4	4	5
110 Segundos + 15 Voltios	9	4	4	4
110 Segundos + 25 Voltios	9	2	2	2
110 Segundos + 40 Voltios	9	2	2	2
140 Segundos + 15 Voltios	9	2	2	2
140 Segundos + 25 Voltios	9	4	4	4
140 Segundos + 40 Voltios	9	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	10	4	4	4
50 Segundos + 25 Voltios	10	4	4	4
50 Segundos + 40 Voltios	10	5	5	5
110 Segundos + 15 Voltios	10	5	5	5
110 Segundos + 25 Voltios	10	5	5	5
110 Segundos + 40 Voltios	10	2	2	3
140 Segundos + 15 Voltios	10	3	2	3
140 Segundos + 25 Voltios	10	3	2	3
140 Segundos + 40 Voltios	10	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	11	3	3	4
50 Segundos + 25 Voltios	11	2	2	3
50 Segundos + 40 Voltios	11	3	3	3
110 Segundos + 15 Voltios	11	3	4	4
110 Segundos + 25 Voltios	11	3	4	3
110 Segundos + 40 Voltios	11	2	4	4
140 Segundos + 15 Voltios	11	4	2	4
140 Segundos + 25 Voltios	11	5	5	5
140 Segundos + 40 Voltios	11	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	12	2	3	3
50 Segundos + 25 Voltios	12	3	3	4
50 Segundos + 40 Voltios	12	3	3	4
110 Segundos + 15 Voltios	12	2	2	2
110 Segundos + 25 Voltios	12	3	4	3
110 Segundos + 40 Voltios	12	4	3	4
140 Segundos + 15 Voltios	12	3	4	4
140 Segundos + 25 Voltios	12	3	3	4
140 Segundos + 40 Voltios	12	5	5	4
50 Segundos + 15 Voltios	13	3	3	3
50 Segundos + 25 Voltios	13	3	3	3
50 Segundos + 40 Voltios	13	3	3	3
110 Segundos + 15 Voltios	13	3	3	3
110 Segundos + 25 Voltios	13	3	3	3
110 Segundos + 40 Voltios	13	3	3	3
140 Segundos + 15 Voltios	13	1	1	1
140 Segundos + 25 Voltios	13	3	3	2

140 Segundos + 40 Voltios	13	5	5	4
50 Segundos + 15 Voltios	14	2	1	1
50 Segundos + 25 Voltios	14	2	1	1
50 Segundos + 40 Voltios	14	1	1	3
110 Segundos + 15 Voltios	14	1	3	1
110 Segundos + 25 Voltios	14	1	1	1
110 Segundos + 40 Voltios	14	1	1	1
140 Segundos + 15 Voltios	14	3	3	1
140 Segundos + 25 Voltios	14	3	1	2
140 Segundos + 40 Voltios	14	4	4	5
50 Segundos + 15 Voltios	15	4	2	5
50 Segundos + 25 Voltios	15	3	2	4
50 Segundos + 40 Voltios	15	4	2	3
110 Segundos + 15 Voltios	15	2	2	4
110 Segundos + 25 Voltios	15	3	2	4
110 Segundos + 40 Voltios	15	2	2	3
140 Segundos + 15 Voltios	15	4	2	3
140 Segundos + 25 Voltios	15	4	2	5
140 Segundos + 40 Voltios	15	4	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	16	2	5	5
50 Segundos + 25 Voltios	16	2	5	5
50 Segundos + 40 Voltios	16	3	4	5
110 Segundos + 15 Voltios	16	4	3	3
110 Segundos + 25 Voltios	16	3	4	4
110 Segundos + 40 Voltios	16	4	4	2
140 Segundos + 15 Voltios	16	3	4	2
140 Segundos + 25 Voltios	16	2	5	2
140 Segundos + 40 Voltios	16	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	17	3	4	3
50 Segundos + 25 Voltios	17	4	2	4
50 Segundos + 40 Voltios	17	2	4	3
110 Segundos + 15 Voltios	17	2	3	4
110 Segundos + 25 Voltios	17	3	4	4
110 Segundos + 40 Voltios	17	2	4	4
140 Segundos + 15 Voltios	17	3	4	4
140 Segundos + 25 Voltios	17	3	4	4
140 Segundos + 40 Voltios	17	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	18	3	3	3
50 Segundos + 25 Voltios	18	3	3	2
50 Segundos + 40 Voltios	18	2	2	1
110 Segundos + 15 Voltios	18	3	2	2
110 Segundos + 25 Voltios	18	3	2	2
110 Segundos + 40 Voltios	18	4	3	3
140 Segundos + 15 Voltios	18	5	5	5
140 Segundos + 25 Voltios	18	3	4	4
140 Segundos + 40 Voltios	18	3	4	4
50 Segundos + 15 Voltios	19	2	4	4
50 Segundos + 25 Voltios	19	4	4	4

50 Segundos + 40 Voltios	19	3	3	4
110 Segundos + 15 Voltios	19	4	5	4
110 Segundos + 25 Voltios	19	3	3	4
110 Segundos + 40 Voltios	19	3	3	4
140 Segundos + 15 Voltios	19	4	3	4
140 Segundos + 25 Voltios	19	5	5	5
140 Segundos + 40 Voltios	19	3	3	3
50 Segundos + 15 Voltios	20	3	3	3
50 Segundos + 25 Voltios	20	4	4	3
50 Segundos + 40 Voltios	20	4	3	4
110 Segundos + 15 Voltios	20	3	4	3
110 Segundos + 25 Voltios	20	3	4	4
110 Segundos + 40 Voltios	20	4	4	5
140 Segundos + 15 Voltios	20	5	3	4
140 Segundos + 25 Voltios	20	3	4	5
140 Segundos + 40 Voltios	20	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	21	2	4	4
50 Segundos + 25 Voltios	21	4	3	4
50 Segundos + 40 Voltios	21	3	4	3
110 Segundos + 15 Voltios	21	1	2	2
110 Segundos + 25 Voltios	21	1	1	1
110 Segundos + 40 Voltios	21	3	2	3
140 Segundos + 15 Voltios	21	4	4	4
140 Segundos + 25 Voltios	21	3	3	3
140 Segundos + 40 Voltios	21	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	22	3	3	3
50 Segundos + 25 Voltios	22	4	4	4
50 Segundos + 40 Voltios	22	4	3	3
110 Segundos + 15 Voltios	22	1	3	3
110 Segundos + 25 Voltios	22	3	3	3
110 Segundos + 40 Voltios	22	3	3	3
140 Segundos + 15 Voltios	22	1	3	3
140 Segundos + 25 Voltios	22	1	1	1
140 Segundos + 40 Voltios	22	1	3	1
50 Segundos + 15 Voltios	23	2	4	4
50 Segundos + 25 Voltios	23	3	4	4
50 Segundos + 40 Voltios	23	2	4	4
110 Segundos + 15 Voltios	23	4	4	4
110 Segundos + 25 Voltios	23	5	3	3
110 Segundos + 40 Voltios	23	4	3	3
140 Segundos + 15 Voltios	23	4	4	4
140 Segundos + 25 Voltios	23	4	4	4
140 Segundos + 40 Voltios	23	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	24	2	5	5
50 Segundos + 25 Voltios	24	4	4	4
50 Segundos + 40 Voltios	24	4	5	5
110 Segundos + 15 Voltios	24	4	4	3
110 Segundos + 25 Voltios	24	3	3	4

110 Segundos + 40 Voltios	24	4	4	4
140 Segundos + 15 Voltios	24	3	3	3
140 Segundos + 25 Voltios	24	3	3	3
140 Segundos + 40 Voltios	24	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	25	2	2	2
50 Segundos + 25 Voltios	25	3	3	3
50 Segundos + 40 Voltios	25	4	4	4
110 Segundos + 15 Voltios	25	5	5	5
110 Segundos + 25 Voltios	25	2	2	2
110 Segundos + 40 Voltios	25	2	2	2
140 Segundos + 15 Voltios	25	1	2	2
140 Segundos + 25 Voltios	25	2	3	3
140 Segundos + 40 Voltios	25	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	26	3	3	3
50 Segundos + 25 Voltios	26	4	4	4
50 Segundos + 40 Voltios	26	1	2	3
110 Segundos + 15 Voltios	26	2	3	3
110 Segundos + 25 Voltios	26	3	2	3
110 Segundos + 40 Voltios	26	1	1	1
140 Segundos + 15 Voltios	26	4	4	4
140 Segundos + 25 Voltios	26	1	1	1
140 Segundos + 40 Voltios	26	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	27	2	4	1
50 Segundos + 25 Voltios	27	2	4	1
50 Segundos + 40 Voltios	27	4	4	1
110 Segundos + 15 Voltios	27	4	4	1
110 Segundos + 25 Voltios	27	4	4	4
110 Segundos + 40 Voltios	27	4	4	4
140 Segundos + 15 Voltios	27	2	2	2
140 Segundos + 25 Voltios	27	2	2	2
140 Segundos + 40 Voltios	27	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	28	5	5	5
50 Segundos + 25 Voltios	28	5	5	5
50 Segundos + 40 Voltios	28	5	5	5
110 Segundos + 15 Voltios	28	3	4	4
110 Segundos + 25 Voltios	28	3	4	4
110 Segundos + 40 Voltios	28	4	4	5
140 Segundos + 15 Voltios	28	5	5	5
140 Segundos + 25 Voltios	28	5	5	5
140 Segundos + 40 Voltios	28	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	29	4	5	5
50 Segundos + 25 Voltios	29	4	5	5
50 Segundos + 40 Voltios	29	4	4	5
110 Segundos + 15 Voltios	29	4	4	4
110 Segundos + 25 Voltios	29	4	4	3
110 Segundos + 40 Voltios	29	4	4	4
140 Segundos + 15 Voltios	29	4	4	4
140 Segundos + 25 Voltios	29	4	4	4

140 Segundos + 40 Voltios	29	5	5	5
50 Segundos + 15 Voltios	30	1	2	3
50 Segundos + 25 Voltios	30	4	4	4
50 Segundos + 40 Voltios	30	2	3	4
110 Segundos + 15 Voltios	30	2	3	4
110 Segundos + 25 Voltios	30	2	3	4
110 Segundos + 40 Voltios	30	3	3	3
140 Segundos + 15 Voltios	30	3	3	3
140 Segundos + 25 Voltios	30	3	3	3
140 Segundos + 40 Voltios	30	5	5	5

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

Anexo 3 Análisis de la varianza del sabor

Análisis de la varianza

SABOR

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
SABOR	270	0,45	0,36	30,77

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	168,33	37	4,55	5,04	<0,0001
TRATAMIENTOS	80,47	8	10,06	11,14	<0,0001
REPETICIONES	87,87	29	3,03	3,35	<0,0001
Error	209,53	232	0,90		
Total	377,87	269			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,76278

Error: 0,9032 gl: 232

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
140 Segundos + 40 Voltios	4,57	30	0,17	A
140 Segundos + 15 Voltios	3,17	30	0,17	B
50 Segundos + 25 Voltios	3,13	30	0,17	B
110 Segundos + 25 Voltios	2,97	30	0,17	B
50 Segundos + 40 Voltios	2,87	30	0,17	B
140 Segundos + 25 Voltios	2,87	30	0,17	B
110 Segundos + 40 Voltios	2,83	30	0,17	B
110 Segundos + 15 Voltios	2,77	30	0,17	B
50 Segundos + 15 Voltios	2,63	30	0,17	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

Anexo 4 Análisis de la varianza del color

COLOR

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
COLOR	270	0,52	0,45	26,31

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	189,80	37	5,13	6,84	<0,0001
TRATAMIENTOS	79,25	8	9,91	13,20	<0,0001
REPETICIONES	110,55	29	3,81	5,08	<0,0001
Error	174,08	232	0,75		
Total	363,89	269			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,69526

Error: 0,7504 gl: 232

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
140 Segundos + 40 Voltios	4,77	30	0,16	A
50 Segundos + 25 Voltios	3,37	30	0,16	B
110 Segundos + 15 Voltios	3,27	30	0,16	B
50 Segundos + 15 Voltios	3,17	30	0,16	B
50 Segundos + 40 Voltios	3,13	30	0,16	B
140 Segundos + 15 Voltios	3,13	30	0,16	B
140 Segundos + 25 Voltios	3,00	30	0,16	B
110 Segundos + 25 Voltios	2,93	30	0,16	B
110 Segundos + 40 Voltios	2,87	30	0,16	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

Anexo 5 Análisis de la varianza del olor

OLOR

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
OLOR	270	0,49	0,41	29,24

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	206,89	37	5,59	6,03	<0,0001
TRATAMIENTOS	63,45	8	7,93	8,56	<0,0001
REPETICIONES	143,44	29	4,95	5,34	<0,0001

Error	214,99	232	0,93
Total	421,89	269	

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,77265

Error: 0,9267 gl: 232

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
140 Segundos + 40 Voltios	4,63	30	0,18	A
50 Segundos + 40 Voltios	3,37	30	0,18	B
50 Segundos + 25 Voltios	3,20	30	0,18	B
140 Segundos + 25 Voltios	3,13	30	0,18	B
50 Segundos + 15 Voltios	3,10	30	0,18	B
110 Segundos + 40 Voltios	3,10	30	0,18	B
140 Segundos + 15 Voltios	3,07	30	0,18	B
110 Segundos + 15 Voltios	3,03	30	0,18	B
110 Segundos + 25 Voltios	3,00	30	0,18	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

Anexo 6 Evaluación sensorial

EVALUACIÓN SENSORIAL										
1. Deguste las siguientes muestras de extracto de Guayusa e indique su nivel de aceptación para la característica sensorial sabor.										
	Marque con un (x)	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6	T 7	T 8	T 9
	1. Me disgusta mucho									
	2. Me disgusta moderadamente									
	3. No me gusta ni me disgusta									
	4. Me gusta moderadamente									
	5. Me gusta muchísimo									
2. Deguste las siguientes muestras de extracto de Guayusa e indique su nivel de aceptación para la característica sensorial color.										

	Marque con un (x)	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6	T 7	T 8	T 9
	1. Me disgusta mucho									
	2. Me disgusta moderadamente									
	3. No me gusta ni me disgusta									
	4. Me gusta moderadamente									
	5. Me gusta muchísimo									

3. Deguste las siguientes muestras de extracto de Guayusa e indique su nivel de aceptación para la característica sensorial olor.

	Marque con un (x)	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6	T 7	T 8	T 9
	1. Me disgusta mucho									
	2. Me disgusta moderadamente									
	3. No me gusta ni me disgusta									
	4. Me gusta moderadamente									
	5. Me gusta muchísimo									

Elaborado por: (Mora & Macias, 2017)

Anexo 7 Fotográfico

Preparación de infusión y aplicación del Calentamiento óhmico	
	

Reducción de tamaño de la materia
prima



Reducción de tamaño de la materia prima



Preparación del extracto en el
digestor



Filtración del extracto



Filtración con papel filtro



Aplicación de calentamiento óhmico



Almacenamiento del extracto para ser analizadas



Medición de pH



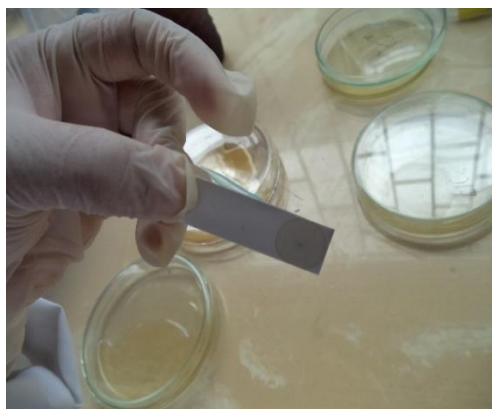
Medición de la conductividad



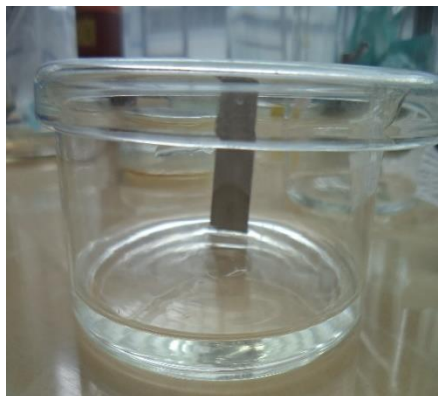
Medición de °Brix



Análisis Cualitativo de Capa Fina de la infusión



Cromatografía de capa fina (Agua)

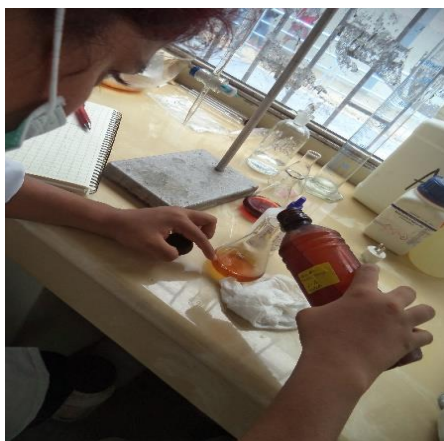


Resultado de la Cromatografía en capa fina



Determinación de acidez del extracto

Muestra a titular



Fenolftaleína en la muestra



Titulación con NaOH al 0.1N



Determinación y extracción de Cafeína

Extracción de la cafeína con Cloroformo



Lavado de la fase orgánica con hidróxido de sodio al 0.1N



Deshidratación de la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro



Destilación en el rotavapor



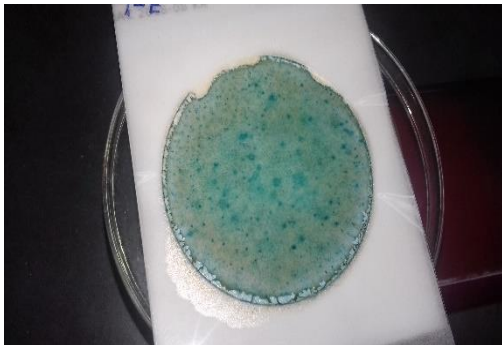
Cafeína extraída



Análisis Microbiológico



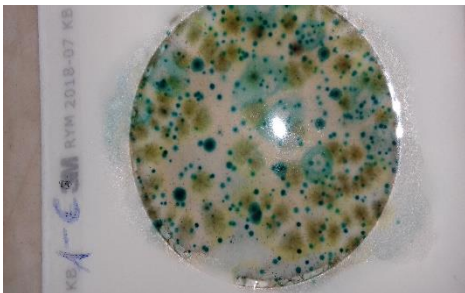
Análisis de Mesofilos



Análisis de Mesofilos



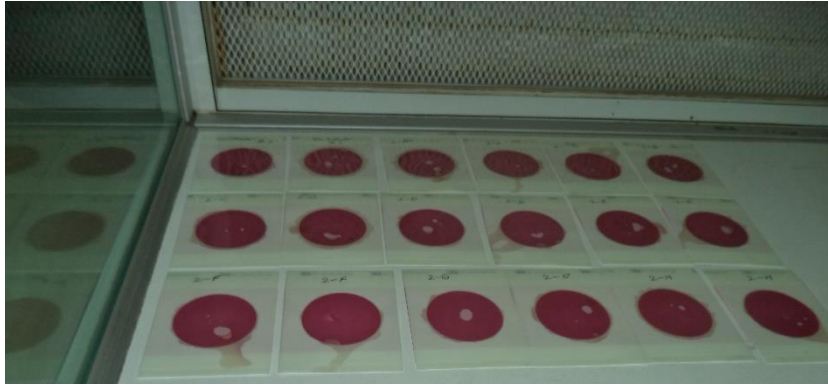
Análisis de Mohos y Levaduras



Análisis de Mohos y Levaduras



Análisis de Coliformes



Determinación del tiempo útil de vida acelerada



Anexo 8 Validación de materia prima

Herbario GUAY

Facultad de Ciencias Naturales
Universidad de Guayaquil

Clase: Equisetiopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Nývák ex. Takht.

Superorden: Asteranae Takht.

Orden: Aquifoliales Senft

Familia: Aquifoliaceae Bercht. & J. Presl

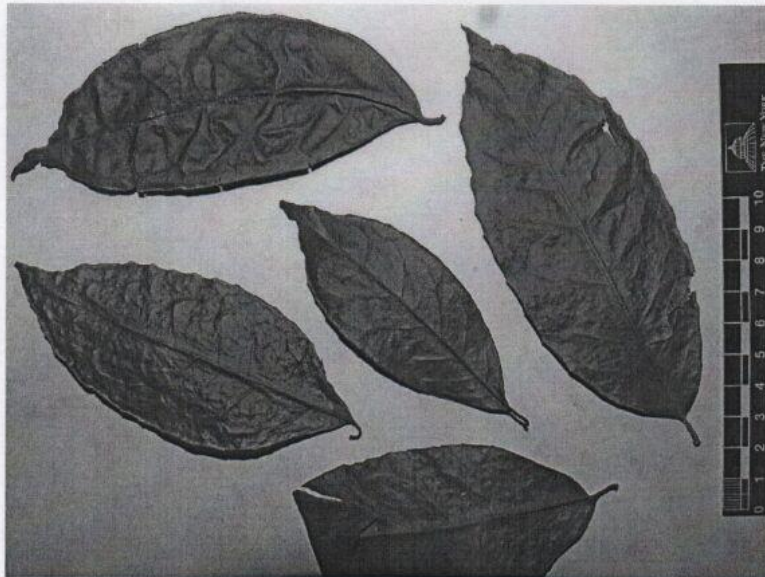
Género: *Ilex* L.

Nombre científico: *Ilex guayusa* Loes.

Nombre vernáculo: Guayusa

Descripción taxonómica:

Árbol. Hojas simples, alternas; lámina elíptica, 8-13 x 4-7 cm, venas pinnadas, broquidródomas, base cuneada, margen suavemente dentada, revoluta, ápice acuminado, glabras en ambos lados; peciolo 0.5-1 cm, acanalado, glabro. Flores y frutos no vistos.

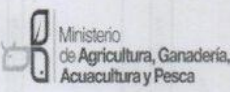


Av. Juan Tanca Marengo y Av. Gómez Lince s.n.
P.O. Box 09-01-10634
Guayaquil-Ecuador

Anexo 9 Análisis microbiológico

Muestra no tratada





LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

Pag 1/1

ORIGINAL

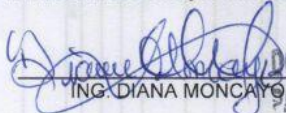
CÓDIGO ÚNICO No. 7844-803-M109		Reporte No. 17178	
EMPRESA	NOMBRE	EDUARD BARREIRO CRIOLLO	
	DIRECCIÓN	CDLA. LA FRAGATA MZ 16 VILLA 8,	
TIPO DE PRODUCTO	INFUSION DE GUAYUSA MUESTRA 1-A NO TRATADA		
FACTURA	CODIGO/LOTE	FECHA DE RECEPCION	28/08/2017
PESO DECLARADO	MARCA	FECHA FINALIZACION DE ANALISIS	05/09/2017
ORDEN DE TRABAJO	30424	CLASIFICACION	N/A
CONDICIONES AMBIENTALES	Temperatura(°C) 19-26	HUMEDAD RELATIVA	Humedad Relativa: (%) 49-70

RESULTADO DE ANÁLISIS			
PARAMETRO	METODO REFERENCIA	RESULTADO	UNIDAD
*Aerobios	MLM_09 AOAC 990.12 Cap. 17, Ed. 20, 2016	67x10^3ufc/	ml
*Coliformes totales	MLM_14 AOAC 991.14 Cap. 17, Ed. 20, 2016	62x10^2ufc/	ml
*Hongo y Levaduras	MLM_16 AOAC 997.02 Ed. 20, 2016	<10upc/	ml

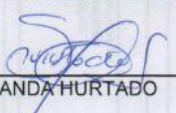
CONTROL INTERNO MULTIDISCIPLINARIO

Muestreo realizado por	CLIENTE
Observaciones	

NOTA: Este reporte solamente puede ser reproducido de forma integral y con la autorización por escrito del INP. Está totalmente prohibida su reproducción de forma parcial. Los resultados emitidos en éste reporte se refieren exclusivamente al material ensayado y no son relacionados directamente a productos no ensayados. Los registros de los análisis son archivados en el laboratorio por 5 años. Se analizó bajo las condiciones de temperatura de recepción de la muestra. Los ensayos marcado con (*) NO estan incluidos en el alcance de la acreditación del SAE.



ING. DIANA MONCAYO



ING. FERNANDA HURTADO

RESPONSABLE DE AUTORIZACIÓN

DIRECTOR(A) TÉCNICO(A)

Letamendi 102 y la Ría * Telefax: (593-4) 2401 773 - 2401 776 - 2401 779 * Fax(593-4) 2402 304

P.O. Box: 09-01-15131 * E-mail: inp@institutopesca.gob.ec * Guayaquil - Ecuador

Muestra tratada





LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

Pag 1/1

ORIGINAL

CÓDIGO ÚNICO No.	7844-804-M109	Reporte No.	17179
EMPRESA	NOMBRE EDUARDO BARREIRO CRIOLLO DIRECCIÓN CDLA. LA FRAGATA MZ 16 VILLA 8,		
TIPO DE PRODUCTO	INFUSION DE GUAYUSA MUESTRA 2-A TRATADA		
FACTURA	CODIGO/LOTE	FECHA DE RECEPCION	28/08/2017
PESO DECLARADO	MARCA	FECHA FINALIZACION DE ANALISIS	05/09/2017
ORDEN DE TRABAJO	30424	CLASIFICACION	N/A
CONDICIONES AMBIENTALES	Temperatura(°C) 19-26	HUMEDAD RELATIVA	Humedad Relativa: (%) 49-70

RESULTADO DE ANÁLISIS			
PARAMETRO	METODO REFERENCIA	RESULTADO	UNIDAD
*Aerobios	MLM_09 AOAC 990.12 Cap. 17, Ed. 20, 2016	10x10 ⁴ ufc/	ml
*Coliformes totales	MLM_14 AOAC 991.14 Cap. 17, Ed. 20, 2016	<10ufc/	ml
*Hongo y Levaduras	MLM_16 AOAC 997.02 Ed. 20, 2016	<10upc/	ml

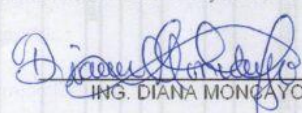
CONTROL INTERNO MULTIDISCIPLINARIO

Muestreo realizado por

Observaciones

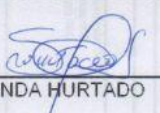
CLIENTE

NOTA: Este reporte solamente puede ser reproducido de forma integral y con la autorización por escrito del INP. Está totalmente prohibida su reproducción de forma parcial. Los resultados emitidos en éste reporte se refieren exclusivamente al material ensayado y no son relacionados directamente a productos no ensayados. Los registros de los análisis son archivados en el laboratorio por 5 años. Se analizó bajo las condiciones de temperatura de recepción de la muestra. Los ensayos marcado con (*) NO estan incluidos en el alcance de la acreditación del SAE.



ING. DIANA MONGAYO

DOCUMENTO NO VALIDO PARA LA EXPORTACIÓN



ING. FERNANDA HURTADO

RESPONSABLE DE AUTORIZACIÓN

DIRECTOR(A) TÉCNICO(A)

Letamendi 102 y la Ría * Telefax: (593-4) 2401 773 - 2401 776 - 2401 779 * Fax(593-4) 2402 304

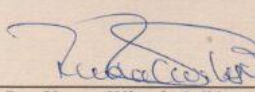
P.O. Box: 09-01-15131 * E-mail: inp@institutopesca.gob.ec * Guayaquil - Ecuador

Anexo 10 Análisis de concentración de cafeína

Muestra no tratada



INFORME DE ENSAYOS

Fecha de Informe:	04/09/2017	Orden:	5664	N° de Informe:	4746-17	Página:	1/1
INFORMACION DEL CLIENTE:							
Nombre:	MORA CARRERA KATHERINE KASANDRA						
Dirección:	SAN EDUARDO AV. BARCELONA SOL. 272 MX. 9						
Teléfono:	0996447862	Fax:	--	E. Mail:	--		
DATOS DE LA MUESTRA:							
Tipo de Muestra:	Productos Naturales						
Nombre:	INFUSION DE GUAYUSA 1-A NO TRATADA						
Descripción:	Bebida						
Lote:	--	Fecha de Elab.	--	Fecha de Exp.	--		
Contenido Declarado:	--	Cantidad Recibida:	2 de 500ml	Condición:	Normales, envase plástico		
Fecha de Recepción:	31/08/2017	Cód. Laboratorio:	PN-C-21-31-08-17	Forma de conservación:	Refrigeración 5°C		
Muestreo:	Realizado por el cliente						
RESULTADOS							
ANÁLISIS QUÍMICO							
Fecha de Análisis	01/09/2017	Página R 3B-5.10:	HPLC-1316				
Condiciones ambientales:		Temperatura:	20°C - 30°C	Humedad Relativa:	45% - 65%		
Parámetros	Unidad	Resultados	Requisitos	Método de Referencia			
Cafeína	mg/l	150,29	--	MMQ-HPLC-02			
OBSERVACIONES							
Se podrán realizar modificaciones a este documento, hasta 6 meses después de su emisión, las mismas que deberán ser respaldadas, por un requerimiento de las autoridades de salud o por un sustento técnico válido, de acuerdo al criterio del laboratorio.							
Estos resultados corresponden exclusivamente a la muestra analizada.							
La contra muestra se almacena en el laboratorio por 1 semana.							
Prohibida su reproducción total o parcial, sin previa autorización de LABORATORIOS AVVE S.A.							
Las observaciones y opiniones no se encuentran dentro del Alcance de Acreditación							
Los registros generados por el análisis de la(s) muestra(s) son mantenidas en los archivos del laboratorio por 5 años							
Válido sólo el Informe original							
							
Dra. Margot Vélez de Avilés Gerente Técnico & Calidad							
							
Datos de Contacto: Dirección Laboratorio Matriz: Parque Industrial California 1, Calle Arg. Modesto Luque Rivadeneira, Edificio Comercial 3 Local 4 A Km. 11 1/2 vía a Daule. PBX. Matriz: (5934) 2103206. Teléfonos Parque California 1: 2103017 / 2103026 ext. 235 Cel: 0998078518 Dirección Laboratorio de Microbiología: Parque Industrial California 2, Bodega D44 Km. 11 1/2 vía a Daule. Teléfono: (5934) 2 103365 ext. 101. Teléfonos Parque California 2: 2 103199 ext. 443 E-mail: margot.aviles@laboratoriosavve.com colizaciones.compras@laboratoriosavve.com paola.aviles@laboratoriosavve.com lorena.aviles@laboratoriosavve.com www.laboratoriosavve.com  Laboratorios AVVE							
R02-5.10 Rev.01 06/03/15							

REV 08/09-11

Muestra tratada



LABORATORIOS
ave
Garantizamos su confianza

INFORME DE ENSAYOS

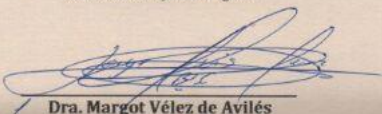
Fecha de Informe:	05/09/2017	Orden:	5665	N° de Informe:	4770-17	Página:	1/1
-------------------	------------	--------	------	----------------	---------	---------	-----

INFORMACION DEL CLIENTE:							
Nombre:	MORA CARRERA KATHERINE KASANDRA						
Dirección:	SAN EDUARDO AV. BARCELONA SOL. 272 MX. 9						
Teléfono:	0996447862	Fax:	--	E. Mail:	--		

DATOS DE LA MUESTRA:							
Tipo de Muestra:	Productos Naturales						
Nombre:	INFUSION DE GUAYUSA 2-A TRATADA						
Descripción:	Bebida						
Lote:	--	Fecha de Elab.	--	Fecha de Exp.	--		
Contenido Declarado:	--	Cantidad Recibida:	2 de 500 ml	Condición:	Normales, envase plástico		
				Forma de conservación:	Refrigeración 5°C		
Fecha de Recepción:	31/08/2017	Cód. Laboratorio:	PN-C-22-31-08-17	Muestreo:	Realizado por el cliente		

RESULTADOS							
ANÁLISIS QUÍMICO							
Fecha de Análisis	01/09/2017	Página R 38-5.10:	HPLC-1316				
Condiciones ambientales:			Temperatura:	20°C - 30°C	Humedad Relativa:	45% - 65%	
Parámetros	Unidad	Resultados	Requisitos	Método de Referencia			
Cafeína	mg/l	146,16	--	MMQ-HPLC-02			

OBSERVACIONES							
Este informe reemplaza al # 4747-17 del 04/09/2017, se corrige nombre del producto. Se podrán realizar modificaciones a este documento, hasta 6 meses después de su emisión, las mismas que deberán ser respaldadas, por un requerimiento de las autoridades de salud o por un sustento técnico válido, de acuerdo al criterio del laboratorio. Estos resultados corresponden exclusivamente a la muestra analizada. La contra muestra se almacena en el laboratorio por 1 semana. Prohibida su reproducción total o parcial, sin previa autorización de LABORATORIOS AVVE S.A. Las observaciones y opiniones no se encuentran dentro del Alcance de Acreditación Los registros generados por el análisis de la(s) muestra(s) son mantenidas en los archivos del laboratorio por 5 años <i>Válido sólo el Informe original</i>							



Dra. Margot Vélez de Avilés
Gerente Técnico & Calidad



Datos de Contacto:
 Dirección Laboratorio Matriz: Parque Industrial California 1, Calle Arg. Modesto Luque Rivadeneira,
 Edificio Comercial 3 Local 4 A Km. 11 1/2 vía a Daule.
 PBX. Matriz: (5934) 2103206. Teléfonos Parque California 1: 2103017 / 2103026 ext. 235 Cel.: 0998078518
 Dirección Laboratorio de Microbiología: Parque Industrial California 2, Bodega D44
 Km. 11 1/2 vía a Daule.
 Teléfono: (5934) 2103365 ext. 101. Teléfonos Parque California 2: 2103199 ext. 443
 E-mail: margot.aviles@laboratoriosavve.com
 cotizaciones.compras@laboratoriosavve.com
 pacila.aviles@laboratoriosavve.com
 lorena.aviles@laboratoriosavve.com
 www.laboratoriosavve.com
 Laboratorios AVVE

R02-5.10 Rev.01 06/03/15

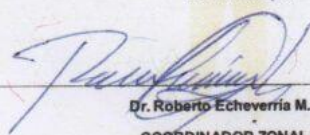
Anexo 11 *Tiempo de vida útil acelerado*

Tabla 17 *Conservación A 45°C Equivalencia En Vida De Anaquel*

A 45°C	HORAS	DÍAS
1 hora	12	0,5
2 horas	24	1
3 horas	36	1,5
4 horas	48	2
5 horas	60	2,5
6 horas	72	3
7 horas	84	3,5
8 horas	96	4
9 horas	108	4,5
10 horas	120	5
11 horas	132	5,5
12 horas	144	6
13 horas	156	6,5
14 horas	168	7
15 horas	180	7,5
16 horas	192	8
17 horas	204	8,5
18 horas	216	9
19 horas	228	9,5
20 horas	240	10
21 horas	252	10,5
22 horas	264	11
23 horas	276	11,5
1 día	288	12
2 días	300	24

3 días	312	1,2 meses
4 días	324	1,6 meses
5 días	336	2 meses
6 días	348	2,4 meses
7 días	360	2,8 meses
8 días	372	3,2 meses
9 días	384	3,6 meses
10 días	396	4 meses
11 días	408	4,4 meses
12 días	420	4,8 meses
13 días	432	5,2 meses
14 días	444	5,6 meses
15 días	456	6 meses
16 días	468	6,4 meses
17 días	480	6,8 meses
18 días	492	7,2 meses
19 días	504	7,6 meses
20 días	516	8 meses
21 días	528	8,4 meses
22 días	540	8,8 meses
23 días	552	9,2 meses

Anexo 12 Permiso de reactivo controlado

 REPÚBLICA DEL ECUADOR	SECRETARÍA TÉCNICA DE DROGAS SETED	 Secretaría Técnica de Drogas								
<u>DIRECCION DE CONTROL DE SUSTANCIAS CATALOGADAS</u>										
AUTORIZACIÓN OCASIONAL DE SUSTANCIAS CATALOGADAS SUJETAS A FISCALIZACIÓN										
3657	Permiso No.	P09-006776-1								
	Fecha:	20/06/2017								
	Recibo No.	9984								
La Dirección de Control de Sustancias Catalogadas autoriza a: MORA CARRERA KATHERINE KASANDRA										
Con dirección : AVENIDA BARCELONA COOP JUNTA DE BENEFICENCIA SAN EDUARDO MZ 279 S 9										
Con Céd / RUC: 1206381350										
La compra de:										
<table border="1"><thead><tr><th>Sustancia</th><th>Cantidad</th><th>Unid.</th><th>Uso</th></tr></thead><tbody><tr><td>SULFATO DE SODIO</td><td>1.00</td><td>kg</td><td>EXTRACCIÓN Y DEESHIDRATACIÓN PARA LA OBT. CAFÉINA</td></tr></tbody></table>	Sustancia	Cantidad	Unid.	Uso	SULFATO DE SODIO	1.00	kg	EXTRACCIÓN Y DEESHIDRATACIÓN PARA LA OBT. CAFÉINA		
Sustancia	Cantidad	Unid.	Uso							
SULFATO DE SODIO	1.00	kg	EXTRACCIÓN Y DEESHIDRATACIÓN PARA LA OBT. CAFÉINA							
A la empresa: LABSUPPLY CIA. LTDA.										
Calificación: 09-5103J-L Código: 5103										
comprometiéndose legalmente a controlar, mediante un registro de ingresos y egresos, la utilización de estas sustancias para los fines constantes en la solicitud y autorización.										
Autorizado por										
 Dr. Roberto Echeverría M. COORDINADOR ZONAL 8										
										
NOTA: Este documento caducará en el término de 8 días después de la fecha de emisión, el mismo que le facilitará adquirir por UNA SOLA VEZ y cuyo original retendrá la empresa comercializadora como documento de descargo.										



Secretaría Técnica
de Drogas

SECRETARIA TECNICA DE DROGAS

Dirección Matriz: Robles E4-54 Y Av. Amazonas

Dirección Sucursal: Av. Plaza Daftin Y Francisco Boloña,
Sector Social Joaquín Gallegos 2do Piso

OBLIGADO A LLEVAR CONTABILIDAD: SI

R.U.C.: 1768185570001

FACTURA

No. 006-001-000009984

NUMERO DE AUTORIZACION:

2006201701176818557000120060010000099841234567811

AMBIENTE: PRODUCCION

EMISIÓN: NORMAL



2006201701176818557000120060010000099841234567811

Razón Social / Apellidos y Nombres: MORA CARRERA KATHERINE KASANDRA

RUC/CI: 1206381350

Fecha Emisión: 20/06/2017

Código Principal	Cantidad	Descripción	Precio Unitario	Precio Total
03	1	Autorizaciones Ocasionales: para fin científico no médico o adiestramiento X	22,50	22,50

Información Adicional:

Dirección: AV. BARCELONA COOP. SAN EDUARDO MZ. 297 SOLAR 9

Teléfono: 0996447862

E-mail: katherine.moraca@ug.edu.ec

Forma Pago	Valor	Plazo	Tiempo
sin Utilización Del Sistema Financiero	22,50		

Cheque o Transferencia:

Banco:

No. Cuenta:

No. Cheque:

No. Transferencia:

Fecha Transferencia:

Valor Cheque: 0,00

SUBTOTAL 12%	0,00
SUBTOTAL 0%	22,50
SUBTOTAL No objeto IVA	0
SUBTOTAL	22,50
TOTAL Descuento	0
IVA 12%	0,00
VALOR TOTAL	22,50

Responsable Caja: FELIPE ALCIVAR



LABSUPPLY CIA. LTDA.

Su mejor aliado

Reactivos • Equipos para Laboratorio
Materias Primas • Medios de Cultivo

Urdesa Central, Av. Las Monjas 129,
Intersección Av. V. Emilio Estrada - Acacias,
Piso 1, Oficina 3B,
(Diagonal al Restaurante El Manantial)
Teléfono: 046010868
Guayaquil - Ecuador

www.labsupply.com.ec

R.U.C. 0992792906001

FACTURA

001-001-00 **0006759**

Nº AUT. S.R.L. 1120601902
Fecha Aut. 20/ABRIL/2017

SEÑORES

KASANDRA MORA

DIR: SAN EDUARDO AV. BARCELONA

TLF: 0996447862

RUC: 1206381350

VENDEDOR:

300

FECHA DE EMISIÓN:

23/06/2017

FECHA DE VENCIMIENTO:

23/06/2017

CONDICIÓN DE PAGO:

CONTADO

ARTÍCULO	LOTE	CANT.	DESCRIPCIÓN	V. UNITARIO	V. TOTAL
54211		1	SODIO SULFATO ANHIDRO GRANULAR ACS, 1KG	45.000	45.000

LABSUPPLY CIA. LTDA.
Su mejor aliado
www.labsupply.com.ec

SEGUN LRT, ART.50.- SE RECIBIRAN RETENCIONES HASTA 5 DIAS POSTERIORES A LA FECHA DE EMISION DE LA FACTURA, EN CASO DE NO EFECTUARSE, SOLICITAMOS CANCELAR EL VALOR TOTAL DE LA FACTURA.

NO SE ACEPTAN DEVOLUCIONES.

FAVOR REALIZAR RECLAMOS DENTRO DE LOS 8 DIAS DE RECIBIDA LA MERCADERÍA.
DEBO Y PAGARE AL EMISOR SIN PROTESTO EL TOTAL DE ESTA FACTURA, EN CASO DE MORA PAGARE
LA TASA MÁXIMA AUTORIZADA PARA EL EMISOR.

RECIBI CONFORME - Nombre Firma

RECIBI AUTORIZADA

FORMA DE PAGO	SUBTOTAL \$	45.00
EFFECTIVO	DESCUENTO \$	0.00
TRANSFERENCIA	SUBTOTAL NETO \$	45.00
CHEQUE	12 % I.V.A.	5.40
DINERO ELECTRONICO	TOTAL \$	50.40
OTROS 50.40		

CODGRAF S.A. • R.U.C. 0992385587001 • AUT. # 4111 • 5 BLOCK 100x3 • # 6352 • # 51 • Caduca: 20/ABRIL/2018

ORIGINAL: CLIENTE 1era. COPIA: EMISOR 2da. COPIA: SIN VALOR TRIBUTARIO



1 Reagent Lane
Fair Lawn, NJ 07410
201.796.7100 tel
201.796.1329 fax

Certificate of Analysis

Fisher Scientific's Quality System has been found to conform to Quality Management System
Standard ISO9001:2008 standard by SAI Global Certificate Number CERT - 0064970

This is to certify that units of the lot number below were tested and found to comply with the specifications of the grade listed. Certain data have been supplied by third parties. Fisher Scientific expressly disclaims all warranties, expressed or implied, including the implied warranties of merchantability and fitness for a particular purpose. Certain products (USP/FCC/NF/EP/BP/JP grades) are sold for use in food, drug, or medical device manufacturing. Fisher does not claim regulatory coverage under 21 CFR nor maintain DMFs with the FDA. The following are the actual analytical results obtained:

Catalog Number	S421	Quality Test / Release Date	3/10/2016
Lot Number	157517		
Description	SODIUM SULFATE, ANHYDROUS, A.C.S.		
Country of Origin	India	* Suggested Retest Date	Mar-2021
Chemical Origin	Inorganic-non animal		
BSE/TSE Comment	No animal products are used as starting raw material ingredients, or used in processing, including lubricants, processing aids, or any other material that might migrate to the finished product.		

Result name	Units	Specifications	Test Value
APPEARANCE		REPORT	White Granules.
ASSAY	%	>= 99.0	99.9
CALCIUM	%	<= 0.01	0.010
CHLORIDE	%	<= 0.001	<0.0010
HEAVY METALS (as Pb)	ppm	<= 5	<5
IDENTIFICATION	PASS/FAIL	= PASS TEST	PASS TEST
INSOLUBLE MATTER	%	<= 0.01	<0.010
IRON (Fe)	%	<= 0.001	<0.0010
LOSS ON IGNITION	%	<= 0.5	0.2
MAGNESIUM	%	<= 0.005	<0.001
NITROGEN COMPOUNDS	ppm	<= 5	<5
PH 5% SOLUTION @ 25 DEG C		Inclusive Between 5.2 - 9.2	5.8
PHOSPHATE (PO4)	%	<= 0.001	<0.0001
POTASSIUM (K)	%	<= 0.01	0.002



CERTIFIED BY

Jane Almon
Quality Control Manager Fair Lawn

Note: The data listed is valid for all package sizes of this lot of this product, expressed as an extension of this catalog number listed above. If there are any questions with this certificate, please call Chemical Services at (800) 227-6701.
*Based on suggested storage condition.