

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**TESIS PARA OBTENER
EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERA AGROINDUSTRIAL**

**Desarrollo de bebida energizante natural a partir de guayusa
(*Ilex guayusa* Loes) y cocona (*Solanum sessiliflorum*)**

Autora: Bach. Rosa Mary Weepiu Samekash

Asesor: Mg. Segundo Grimaldo Chávez Quintana

Registro: (.....)

CHACHAPOYAS – PERU

2022

DATOS DEL ASESOR

Ms. Segundo Grimaldo Chavez Quintana

DNI: 44011631

ORCID N° 0000-0002-0946-3445

<https://orcid.org/0000-0002-0946-3445>

Campo de Investigación y Desarrollo según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE):

2.11.00—Otras ingenierías, Otras tecnologías

2.11.01—Alimentos y bebidas

DEDICATORIA

Esta tesis va dedicada a Dios por concederme la vida, la salud y por darme la fuerza para seguir luchando día a día en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la fe, y así lograr mis objetivos.

A mis padres Eduardo Weepiu Daekat y Sarita Samekah Wasum ya que son mi pilar fundamental en mi vida y por su apoyo incondicional en la formación académica, también por sus palabras de aliento, sus consejos, por inculcarme valores y fortalezas que los llevare por el resto de mi vida.

A mis hermanas (os) que son lo más preciados que tengo, que han estado siempre a mi lado alentándome con sus palabras para seguir adelante en mis metas y por ser un ejemplo de superación.

A mi novio Oswaldo Ananco Ahuananchi gracias por ser no solo mi novio, sino también mi mejor amigo, cómplice, confiar en mí y apoyarme en todos y cada uno de los pasos que doy en mi vida, siempre estás ahí para mí. Te agradezco y deseo compartir contigo este y muchos otros momentos más importantes de mi vida.

A mis amigas Sandy Rubith Chapa Gonza y Merbelita Yalta Chapa por brindarme su apoyo durante el desarrollo de mi tesis y por compartir esos momentos de alegría.

ROSA WEEPIU SAMEKASH

AGRADECIMIENTO

A mi alma mater la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza, la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial, por todos mis conocimientos adquiridos en todos esos años de estudios.

A los docentes por sus enseñanzas y prepararme para los retos de la vida profesional.

De manera especial a mi asesor de tesis, Mg. Segundo Grimaldo Chavez Quintana por dirigirme con sus conocimientos y su profesionalismo, al mismo tiempo por haberme tenido paciencia para guiarme durante todo el desarrollo de la tesis.

Finalmente, a cada una de las panelistas que colaboraron por su disposición en la obtención de los resultados de la tesis.

ROSA WEEPIU SAMEKASH

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRIGUEZ
DE MENDOZA DE AMAZONAS**

Dr. Policarpio Chauca Valqui

Rector

Dr. Miguel Ángel Barrena Gurbillón

Vicerrector Académico

Dra. Flor Teresa García Huamán

Vicerrectora de Investigación

Ing. Mg. Sc. Armstrong Barnard Fernández Jeri

Decano de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL

PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-K

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (x)/Profesional externo (), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada Desarrollo de bebida energizante natural a partir de guayusa (Ilex guayusa Loes) y cacao (Solanum sessiliflorum); del egresado Rosa Mary Weepiu Samekash de la Facultad de Ingeniería Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de esta Casa Superior de Estudios.

El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.


Chachapoyas, 23 de agosto del 2022

Firma y nombre completo del Asesor


Mig. Segundo G. Chaca Quintana




JURADO EVALUADOR DE LA TESIS



Ms. Grobert Amado Guadalupe Chuqui
Presidente



Mg. Roberto Carlos Mori Zabarruru
Secretario



Mg. Robert Javier Cruzalegui Fernández
Vocal

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS



ANEXO 3-O

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

Los suscritos, miembros del Jurado Evaluador de la Tesis titulada:

DESARROLLO DE BEBIDA ENERGIZANTE NATURAL A PARTIR DE
GUAYUSA (*Ilex guayusa* Loes) Y COCONA (*Solanum sessiliflorum*)

presentada por el estudiante ()/egresado (X) Bach. ROSA MARY WEEPIU SAMEKASH

de la Escuela Profesional de INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

con correo electrónico institucional 031012A082@untrm.edu.pe

después de revisar con el software Turnitin el contenido de la citada Tesis, acordamos:

- a) La citada Tesis tiene 29 % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es menor (X) / igual () al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM.
- b) La citada Tesis tiene % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es mayor al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM, por lo que el aspirante debe revisar su Tesis para corregir la redacción de acuerdo al Informe Turnitin que se adjunta a la presente. Debe presentar al Presidente del Jurado Evaluador su Tesis corregida para nueva revisión con el software Turnitin.



Chachapoyas, 15 de JUNIO del 2022

SECRETARIO

VOCAL

PRESIDENTE

OBSERVACIONES:

.....
.....

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL

PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-Q

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Chachapoyas, el día 22 de agosto del año 2022, siendo las 15:00 horas, el aspirante: Rosa Mary Weepiu Samekash, defiende en sesión pública presencial () / a distancia () la Tesis titulada: Desarrollo de bebida energizante natural a partir de guayusa (Ilex guayusa Loes) y cocona (Solarum sessiliflorum), teniendo como asesor Mg. Segundo Corimbaldo Chavez Quintana, para obtener el Título Profesional de Ingeniera Agroindustrial, a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; ante el Jurado Evaluador, constituido por:

Presidente: Mg. Robert A. Guadalupe Chuqui

Secretario: Mg. Roberto C. Mori Zababuru

Vocal: Mg. Robert Cruzalegui Fernandez

Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto de sustentación, para que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida a la sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado () Desaprobado ()

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en esta misma sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 16:12 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.

SECRETARIO

PRESIDENTE

VOCAL

OBSERVACIONES:

ÍNDICE O CONTENIDO GENERAL

DATOS DEL ASESOR.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO	iv
AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRIGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS	v
VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS.....	vi
JURADO EVALUADOR DE LA TESIS.....	vii
CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS.....	viii
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS.....	ix
ÍNDICE O CONTENIDO GENERAL.....	x
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT.....	xiv
I. INTRODUCCIÓN.....	15
II. MATERIAL Y MÉTODOS	18
III. RESULTADOS.....	23
IV DISCUSION	27
V. CONCLUSIONES.....	30
VI. RECOMENDACIONES	31
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32
ANEXOS.....	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Arreglo experimental para la definición de la técnica de extracción de cafeína.	20
Tabla 2. Fórmulaciones estudiadas.....	22
Tabla 3. Análisis de turbidez y absorbancia de extracto de I. guayusa	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Agrupación de frutas en función al color (posible estado de madurez)	19
Figura 2. Determinación del contenido de cafeína en los extractos de I. guayusa	24
Figura 3. Efecto de la temperatura de extracción en el contenido de cafeína de extractos de I. guayusa. Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes ($p < 0,05$)... 24	
Figura 4. Efecto del tiempo de extracción en el contenido de cafeína de extractos de I. guayusa. Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).....	25
Figura 5. Efecto del uso de ultrasonido en el contenido de cafeína de extractos de I. guayusa. Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).....	25
Figura 6. Evaluación sensorial de tres bebidas energéticas a base de guayusa y cocona.	26
Figura 7. Ensayo de titulación para determinación de índice de madurez.....	39
Figura 8. Extractos de guayusa con distintos tratamientos.	39
Figura 9. Sonicación del proceso de obtención de extractos con alto contenido cafeico de I. guayusa.	40
Figura 10. Limpieza y desinfección de frutos de cocona.	40
Figura 11. Zumo de cocona empleado en la elaboración de las bebidas energéticas.	41
Figura 12. Envasado de bebidas energéticas a partir de guayusa saborizadas con extracto de cocona.	42
Figura 13. Evaluación sensorial de bebidas energéticas a base de extracto de guayusa saborizadas con cocona.....	43

RESUMEN

La tendencia creciente del consumo de bebidas energéticas ha propiciado la búsqueda de nuevos insumos para el desarrollo de nuevas alternativas. El objetivo de investigación fue desarrollar una bebida energética en base a extractos de guayusa (*Ilex guayusa*) y cocona (*Solanum sessiliflorum*). Para ello se caracterizó la pulpa de la fruta de cocona y se estandarizó el proceso de obtención de extracto de guayusa con elevado contenido de cafeína (relación hoja/agua, temperatura y tiempo de extracción, uso de ultrasonido). El contenido de cafeína de los extractos fue cuantificado por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-DAD). Se elaboraron bebidas con tres niveles de cafeína (272, 282 y 286 µg/L), saborizadas con extracto de cocona (2-7%). Luego se procedió a evaluar el grado de aceptación de las bebidas empleando una escala hedónica (puntuación 1-5). Todas las bebidas obtuvieron puntuaciones superiores a la media (>2,5) y no hubo diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. En conclusión, la guayusa y cocona son insumos potenciales para la elaboración de bebidas energéticas naturales.

Palabras clave: Guayusa, cocona, bebida energética, cafeína.

ABSTRACT

The growing trend in the consumption of energy drinks has led to the search for new inputs for the development of new alternatives. The objective of this research was to develop an energy drink based on guayusa (*Ilex guayusa*) and cocona (*Solanum sessiliflorum*) extracts. For this purpose, the cocona fruit pulp was characterized and the process for obtaining guayusa extract with high caffeine content was standardized (leaf/water ratio, extraction temperature and time, use of ultrasound). The caffeine content of the extracts was quantified by high performance liquid chromatography (HPLC-DAD). Beverages were prepared with three levels of caffeine (272, 282 and 286 µg/L), flavored with cocona extract (2-7%). The beverages were then evaluated for acceptability using a hedonic scale (score 1-5). All the beverages obtained scores above the mean (>2.5) and there were no significant statistical differences between treatments. In conclusion, guayusa and cocona are inputs with potential for the production of natural energy drinks.

Keywords: guayusa, cocona, energy drink, caffeine.

I. INTRODUCCIÓN

El consumo de bebidas energéticas se ha incrementado en la población adolescente en todo el mundo, ya sea para mantenerse despierto, mejorar la concentración e incluso reducir el estrés mental y la fatiga física (Galimov et al., 2019; Johnson et al., 2016; Nowak & Jasionowski, 2015; Vercammen et al., 2019; Visram et al., 2016). En la actualidad, la amplia gama de bebidas no alcohólicas disponibles, como las bebidas energizantes están hechas a base de altos niveles de cafeína, aminoácidos, azúcares, taurina, vitaminas y otros componentes, lo que ha generado preocupaciones sobre sus efectos adversos para la salud (Vercammen et al., 2019). De hecho, un estudio realizado por la International Journal of Cardiology en marzo de 2016, alertó sobre el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares debido al consumo excesivo de estas bebidas (Cote-Menéndez et al., 2011). También, un estudio reciente ha reportado que el 24 % de jóvenes estudiantes aumentó su consumo de bebidas energéticas, durante el periodo de cuarentena provocado por Covid-19. Siendo la razón principal los videojuegos (Mattioli & Sabatini, 2021).

Debido a lo expuesto anteriormente, la comercialización de bebidas etiquetadas como saludables o que mejoran la salud se ha vuelto una tendencia, sugiriendo además, su alto potencial funcional que maximiza el rendimiento deportivo (Brownbill et al., 2018). Una alternativa potente para la elaboración de bebidas saludables es el uso de extractos de *I. guayusa*, por ser una planta con excelente fuente de energía y beneficios curativos (Arteaga-Crespo et al., 2020; Paladines-Santacruz et al., 2021).

En la Amazonia Peruana, la población rural consume con frecuencia las hojas de *I. guayusa*, por su poder estimulante (Villacís, 2017), su uso como laxante (Dueñas et al., 2016), su elevado contenido de bioactivos y por combatir la fatiga física y mental (Swaroop et al., 2017). Estudios realizados en las hojas de *I. guayusa* han evidenciado su alto contenido de cafeína, teobromina, compuestos fenólicos como los ácidos clorogénicos y la quercetina. La combinación de estos metabolitos en cantidades adecuadas proporciona un elevado poder antioxidante y confiere actividad antiinflamatoria al organismo humano (Gan et al., 2018; Santana et al., 2018), con todo y lo anteriormente expuesto, la incorporación de extracto de *I. guayusa* en las formulaciones de alimentos energéticos, podría representar una alternativa tecnológica promisoría.

En ese sentido, varios autores vienen estudiando el uso tradicional de las hojas de *I. guayusa* como bebida ancestral por los pobladores amazónicos principalmente (Dueñas et al., 2016; Innerhofer & Bernhardt, 2011; Wise & E. Santander, 2018), su composición fitoquímica, bioactiva y nutricional (Gan et al., 2018; Wise & Negrin, 2020). Sequeda-Castañeda et al. (2016), también informaron sobre sus propiedades curativas frente a enfermedades venéreas y dolores corporales. Asimismo, ensayos preclínicos han confirmado de manera parcial el uso tradicional del té y bebidas de *I. guayusa*. De hecho, en la Unión Europea ya está regulado el uso de infusiones de *I. guayusa*, debido a que en los ensayos para determinar su perfil de toxicidad resultó ser un alimento seguro (European Union, 2018; Wise & E. Santander, 2018).

Por otro lado, la cocona (*Solanum sessiliflorum*) es otro producto amazónico muy promisorio (Rigano et al., 2013), por su valor nutricional, también por sus propiedades sensoriales y funcionales, debido a su elevado contenido de antioxidantes, carbohidratos, vitaminas y minerales (Sereno et al., 2018). También, como fuente de hierro y fósforo, es una fruta potencial para elaborar productos industriales (Sereno et al., 2018).

Todos estos hallazgos permiten suponer que los extractos de hojas de *I. guayusa* y de cocona, actúen como componentes prometedores en la industria de bebidas. En tal sentido, es fundamental disponer de técnicas que ayuden a mejorar la extracción de compuestos bioactivos. Técnicas como microondas, fluido supercrítico y ultrasonido son muy usadas en la extracción de compuestos fenólicos (Ali et al., 2018; Cadena-Carrera et al., 2019; Rodsamran & Sothornvit, 2019), sobre todo esta última que se ha descrito como un método eficiente y económico (Deng et al., 2017; Goldsmith et al., 2018). No obstante, la eficiencia de la tecnología de ultrasonido es un conjunto de parámetros que se deben tener en cuenta al momento de operar. La temperatura, el tiempo, la frecuencia de onda, e incluso características del solvente y tamaño de partícula de las muestras juegan un papel esencial en el proceso de extracción (Goldsmith et al., 2018).

Finalmente, debemos tener en cuenta que los insumos sintéticos usados en las bebidas energéticas son cada vez cuestionados por los consumidores, por lo que el uso de fuentes naturales son una alternativa que va ganando mercado, que además

aportan un gran contenido de compuestos bioactivos beneficiosos para la salud. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue determinar los parámetros de elaboración de una bebida energizante natural a partir *I. guayusa* y zumo de cocona.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

1.1. Material de estudio

1.1.1. Obtención de hojas de *I. guayusa* y frutos de cocona

Las hojas de *I. guayusa* y frutos maduros de *S. sessiliflorum* fueron adquiridos en el mercado del centro poblado Urakusa, provincia de Condorcanqui región Amazonas. Posteriormente, fueron transportados al Laboratorio de Tecnología Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

1.2. Caracterización de insumos

1.2.1. Acidez titulable

Se determinó por titulación siguiendo el procedimiento estándar de la AOAC 942,15 (AOAC, 2000). Para lo cual se colocó 10 ml de extracto acuoso de fruta fresca madura de cocona en un vaso de precipitación de vidrio y se agregó 3 gotas de fenolftaleína, y se procedió a titular con solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 1 N. Para expresar los resultados se utilizó la siguiente fórmula.

$$\% \text{ Acidez} = \frac{\text{gasto NAOH} \times \text{Peqv.} \times 100}{\text{volumen de la muestra}}$$

Peqv. = °n mili equivalente del ácido predominante (ácido cítrico)

1.2.2. Grados °Brix

Para los grados °Brix se colocó una gota de zumo de fruta fresca madura de cocona en un refractómetro digital (Milwaukee, MA871), el cual nos da los resultados directamente en la pantalla.

1.2.3. Índice de madurez

Debido a que las frutas presentaron variabilidad en el color, se separaron en tres grupos conforme se aprecia en la figura 1.

Se determinó mediante la fórmula:

$$\text{Índice de madurez} = \frac{\text{°Brix}}{\% \text{ acidez}}$$

Figura 1

Agrupación de frutas en función al color (posible estado de madurez)



1.2.4. Deshidratación de las hojas de *I. guayusa*

Para las hojas de *I. guayusa* se determinó la humedad, para luego ser secadas en una estufa a una temperatura de 40°C por 48 horas hasta obtener una humedad menor a 10 %. Las hojas secas se trituraron con la ayuda de una licuadora para posteriormente ser tamizadas y guardadas en recipientes de vidrio.

1.3. Estandarización del proceso de extracción de cafeína de las hojas de *I. guayusa*

Para encontrar la mejor técnica de extracción de hojas de *I. guayusa* se realizó un experimento tetra-factorial. Donde se manipularon valores en base a un trabajo desarrollado anteriormente por (Chillerón, 2020).

- Temperatura de infusión (85 -90 °C).
- Tiempo de infusión (8 – 10 minutos).
- Concentración de muestra (10 y 12 g/L de agua)
- Uso de ultrasonido (con y sin ultrasonido)

Tabla 1

Arreglo experimental para la definición de la técnica de extracción de cafeína.

Temperatura de infusión (°C)	85				90			
Tiempo de infusión (min)	8		10		8		10	
Concentración de la muestra (g/L de agua)	10	12	10	12	10	12	10	12
Uso de ultrasonido	CU	SU	CU	SU	CU	SU	CU	SU
Réplica 1								
Réplica 2								
Réplica 3								
Tratamientos	16							
Unidades experimentales	48							

Para obtener el extracto se pesó la cantidad de hojas de *I. guayusa* correspondiente al tipo de tratamiento (1 y 1,2 g) y se colocó en bolsitas filtrantes dentro de vasos de precipitación. Se añadió 100 mL de agua destilada previamente calentada a la temperatura correspondiente. El reposo de la infusión se realizó dentro de un baño de ultrasonido (Branson 5800, USA), con una capacidad de tanque de 10 L; frecuencia de 40 kHz y 160 W de potencia, durante el tiempo correspondiente al tipo de tratamiento. Después de obtener los extractos se dejó enfriar a temperatura ambiente y se almacenaron en tubos Falcon a 4 °C hasta su uso posterior.

1.3.1. Determinación de turbidez

Para medir la turbidez de los extractos de *I. guayusa* se usó un fotómetro digital (PF-12 Plus). La calibración del equipo se realizó con agua destilada. Posteriormente se colocó 4 mL de extracto en el tubo de análisis del equipo y se leyó el resultado en NTU.

1.3.2. Determinación de absorbancia

Para medir la absorbancia de los extractos de *I. guayusa* se usó un fotómetro digital (PF-12 Plus). La calibración del equipo se realizó con agua destilada. Posteriormente se colocó 4 mL de extracto en el

tubo de análisis del equipo y se leyó el resultado a una longitud de onda de 470 nanómetros.

1.3.3. Cuantificación de cafeína por HPLC

Para cuantificar cafeína se siguió el método descrito por Brunett et al. (2007), para ello se usó un cromatógrafo Hitachi-Chromaster, Tokio, Japón, (LC-20AD), equipado con un auto inyector SIL-20A/HT, un módulo de comunicación CBM-20A y un detector con arreglo de fotodiodos (PDA) SPD-M20A, la detección ultravioleta se registró a 278 nm. La separación se llevó a cabo en una columna Supelco-LiChrospher RC C-18 de 5 µm (25 cm x 4,6 mm). Como fase móvil se utilizó una mezcla de metanol/agua (30:70 v/v) en modo isocrático a un flujo de 1,0 mL.min⁻¹. La identificación de los picos se realizó comparando con estándares de teobromina y cafeína (98 % Sigma-Aldrich, USA).

1.4. Obtención de la bebida energética

1.4.1. Obtención de extracto de *I. guayusa*

Con base en el mejor tratamiento del experimento de estandarización (con 12 g/L de hoja de *I. guayusa*, a 85 °C durante 10 minutos), se obtuvo el extracto acuoso con alto contenido de cafeína. El extracto fue filtrado en papel Whatman n° 40 y almacenado en refrigeración (4-8 °C) hasta su posterior uso.

1.4.2. Obtención del zumo de cocona

Para obtener el extracto se utilizó 4 kg de fruta de cocona, inicialmente se cortó los frutos por la mitad con la ayuda de un cuchillo. Este procedimiento facilitó la extracción del zumo mediante presión utilizando un exprimidor. Mediante el uso de un tamiz se procedió a filtrar el extracto, eliminando los residuos sólidos como las semillas, con el objetivo de garantizar un extracto limpio.

Se almaceno en refrigeración hasta su incorporación a la bebida energizante.

1.4.3. Formulaciones de bebidas energéticas evaluadas

Tomando como base un contenido aproximado de 300 mg/L de contenido de cafeína, se formularon las bebidas de acuerdo a lo especificado en la Tabla 2.

Tabla 2

Formulaciones estudiadas.

	C1	C2	C3
Contenido final de cafeína	286	282	272
Extracto de <i>I. guayusa</i>	1000	1000	1000
Zumo de cocona	29	45	80
Cantidad de azúcar	103	105	108

Con base en el tratamiento que permitió obtener el extracto de *I. guayusa* con el mayor contenido de cafeína (324 mg/L), se prepararon 3 diluciones con sumo de cocona conforme se muestra en la tabla 2, a estos extractos también se agregó el 10 % de azúcar blanca. Posteriormente las bebidas fueron pasteurizadas a 95 °C por 50 segundos, y embotelladas y almacenadas a temperatura de refrigeración (4 °C) (Lamo et al., 2019).

1.5. Evaluación sensorial de la bebida

Las bebidas fueron evaluadas mediante el grado de satisfacción de los consumidores. Se evaluó atributos como olor, color, sabor y aceptación general, utilizando una escala hedónica de 5 puntos con las siguientes descripciones: 0 = Me desagradó mucho, 1 = Me desagradó, 2 = Me es indiferente, 3 = Aceptable y 4 = Me gusta mucho. El panel de evaluadores estuvo conformado por 23 participantes, y las muestras fueron servidas en vasos de 2 onzas (García-Mogollon et al., 2015).

1.6. Análisis de datos

Para las variables cuantitativas se aplicó la prueba de análisis de varianza y la prueba de comparaciones de Tukey, con un nivel de significancia de 0,05. Los resultados de las pruebas sensoriales fueron comparados con el test de Friedman utilizando el paquete estadístico SPSS versión 25.

III. RESULTADOS

Características fisicoquímicas del zumo de cocona

Las tres frutas de cocona seleccionadas por su color, tuvieron similar contenido de acidez que osciló entre $0,414 \pm 0,0092$ y $0,448 \pm 0,025$ %. El contenido de sólidos solubles en la fruta estuvieron expresados en °Brix en el rango de $5,6 \pm 0,082$ y $6,73 \pm 0,25$. Con estos valores se pudo calcular el índice de madurez de las frutas que estuvo entre $12,55 \pm 0,689$ y $15,084 \pm 1,437$.

Tabla 3

Análisis de turbidez y absorbancia de extracto de I. guayusa

Dilución (g/100 mL)	Temperatura de infusión (°C)	Tiempo de infusión (min)	Uso de ultrasonido	Turbidez (NTU)	Absorbancia a 470 nm
10	85	8	Con ultrasonido	$5,67 \pm 0,58ab$	$1,85 \pm 0,03ab$
			Sin ultrasonido	$3,00 \pm 1,00b$	$1,49 \pm 0,24abc$
		10	Con ultrasonido	$4,67 \pm 0,58ab$	$1,89 \pm 0,02ab$
			Sin ultrasonido	$4,33 \pm 0,58ab$	$1,20 \pm 0,16bcd$
	92	8	Con ultrasonido	$4,67 \pm 1,53ab$	$1,86 \pm 0,04ab$
			Sin ultrasonido	$6,00 \pm 1,00ab$	$1,09 \pm 0,51cd$
		10	Con ultrasonido	$4,00 \pm 1,00ab$	$1,86 \pm 0,04ab$
			Sin ultrasonido	$5,33 \pm 0,58ab$	$1,20 \pm 0,28bcd$
12	85	8	Con ultrasonido	$7,00 \pm 1,73a$	$1,83 \pm 0,03ab$
			Sin ultrasonido	$4,67 \pm 1,53ab$	$0,67 \pm 0,13d$
		10	Con ultrasonido	$6,00 \pm 1,00ab$	$1,89 \pm 0,01ab$
			Sin ultrasonido	$5,67 \pm 0,58ab$	$0,85 \pm 0,36cd$
	92	8	Con ultrasonido	$6,00 \pm 1,00ab$	$1,86 \pm 0,04ab$
			Sin ultrasonido	$4,00 \pm 1,00ab$	$0,55 \pm 0,17d$
		10	Con ultrasonido	$4,67 \pm 0,58ab$	$1,98 \pm 0,05a$
			Sin ultrasonido	$5,67 \pm 2,08ab$	$0,69 \pm 0,52d$

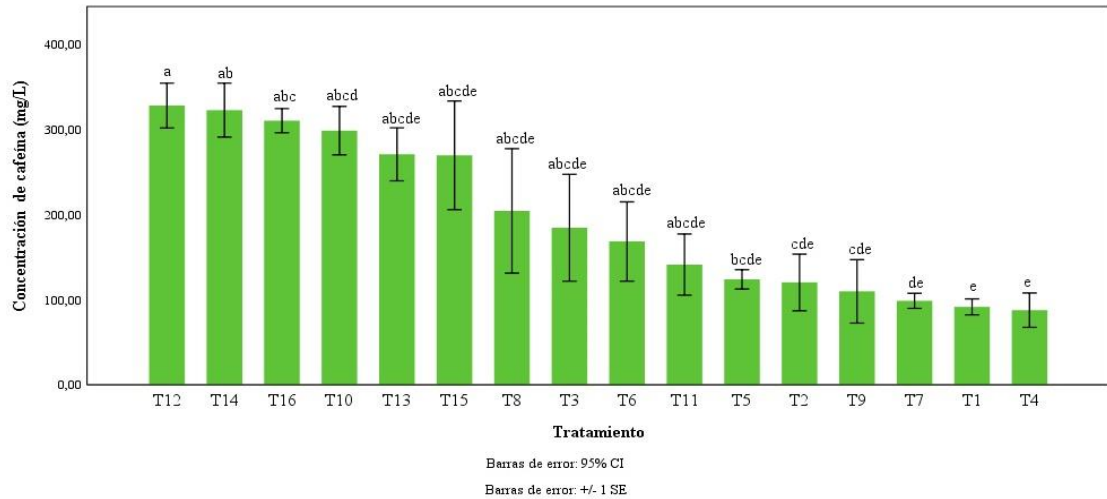
*Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes con la prueba Tukey, sig. = 0.05, n=3.

La turbidez y absorbancia de los extractos de *I. guayusa* estuvieron en el rango de 3,00- 7,00 y 0,55- 1,98; respectivamente. Como se aprecia en la tabla 3 la relación de hojas de guayusa/agua tuvo un efecto positivo en la turbidez, a mayor concentración de hojas (12 g) la calidad del extracto mejora. El uso de ultrasonido

también incrementa la turbidez en los extractos. Sin embargo, tanto el tiempo de extracción como la temperatura no tienen efecto alguno en los extractos de *I. guayusa*.

Figura 2

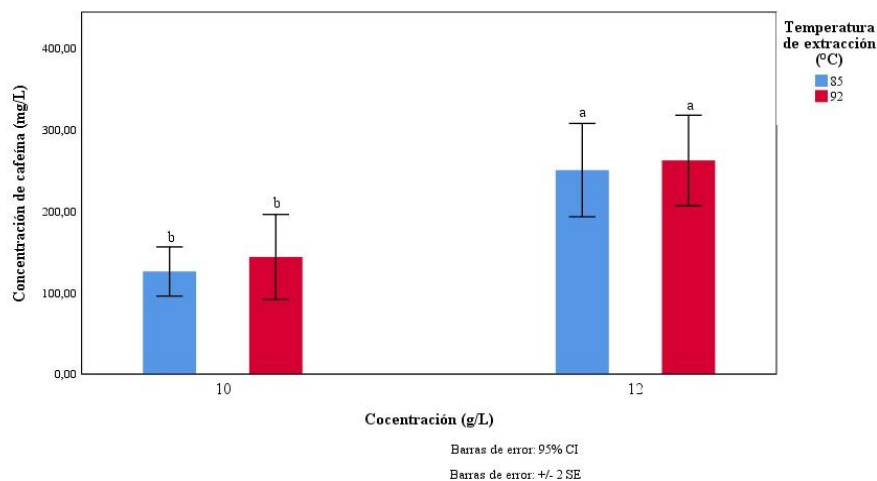
Determinación del contenido de cafeína en los extractos de I. guayusa



El mayor contenido de cafeína se encontró en el tratamiento 12, seguido por el tratamiento 14 y 16. El rango de cafeína de los extractos estuvo entre 100 y 350 mg/L aproximadamente.

Figura 3

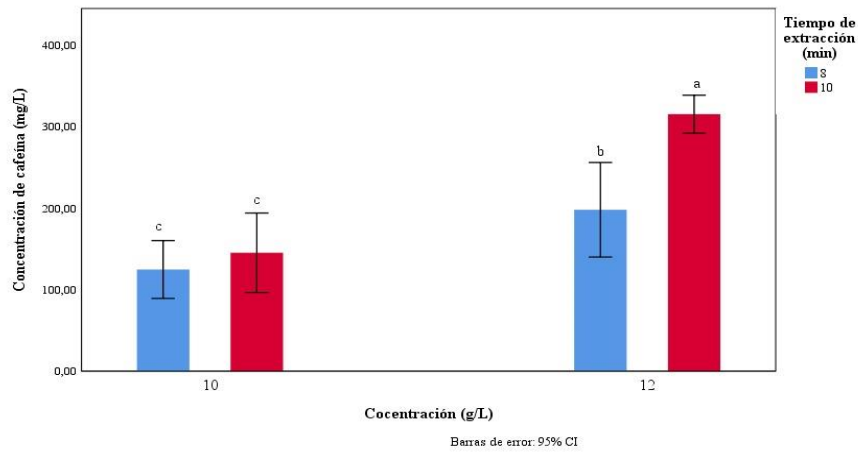
Efecto de la temperatura de extracción en el contenido de cafeína de extractos de I. guayusa. Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).



Las temperaturas usadas para obtener el extracto de no tienen efecto en el contenido de cafeína, sin embargo, cuando se trabaja con mayor cantidad de hojas de *I. guayusa* la concentración de cafeína aumenta.

Figura 4

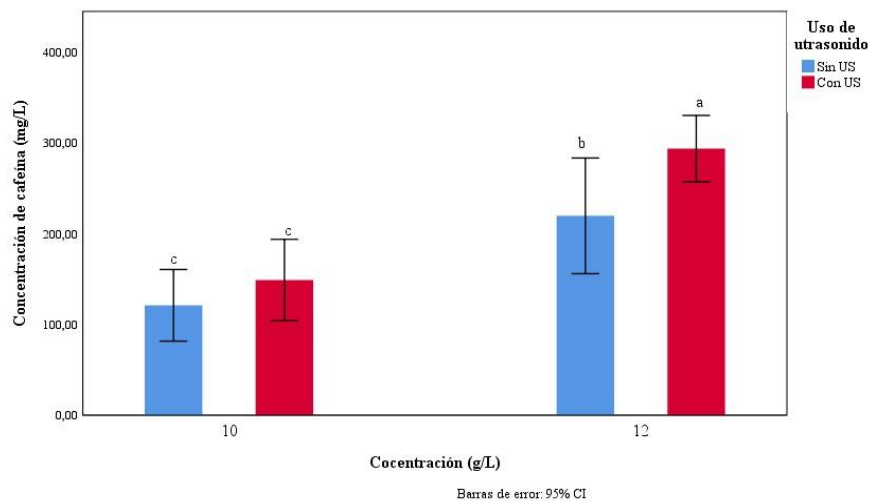
Efecto del tiempo de extracción en el contenido de cafeína de extractos de *I. guayusa*. Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes ($p < 0,05$)



Cuando la relación hojas/solvente es mayor, es necesario realizar la extracción de cafeína por más tiempo.

Figura 5.

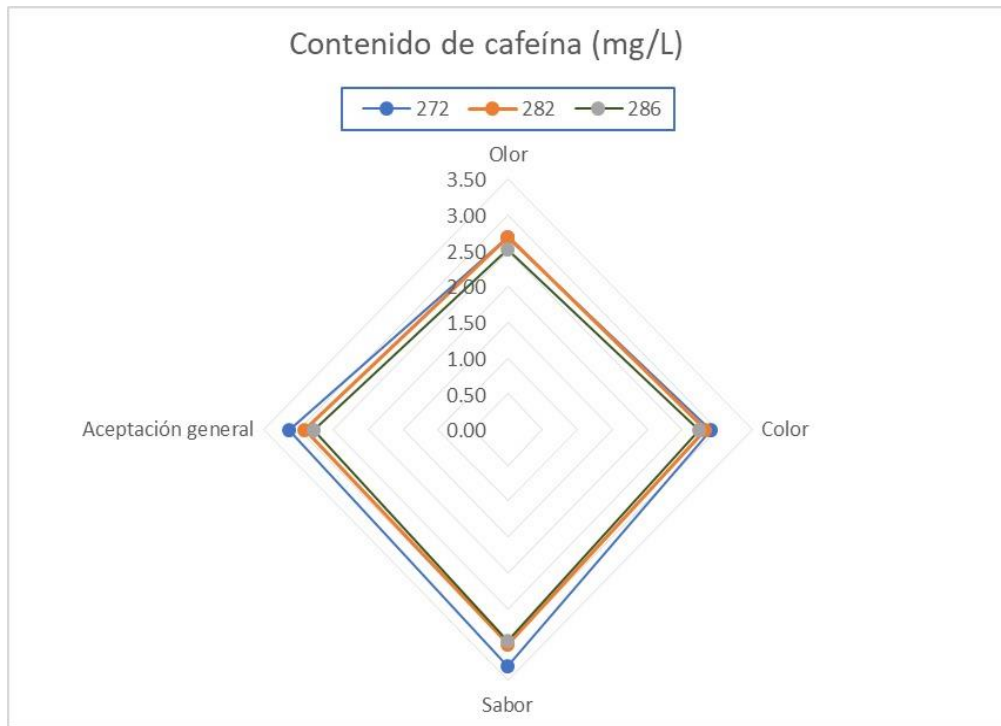
Efecto del uso de ultrasonido en el contenido de cafeína de extractos de *I. guayusa*. Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).



El uso de ultrasonido mejora la extracción de cafeína en los extractos de *I. guayusa*, y es más evidente a mayor relación hoja/solvente.

Figura 1

Evaluación sensorial de tres bebidas energéticas a base de guayusa y cocona.



De forma general los panelistas prefieren una bebida que tiene menor contenido de cafeína. En cuanto al atributo olor, los panelistas prefieren una bebida con contenido de cafeína intermedio. Sin embargo, ninguno de los tratamientos difiere significativamente ($p > 0,05$) en todos atributos estudiados.

IV. DISCUSIÓN

La fruta de cocona presentó baja acidez (0,414 – 0,448 %) con respecto a lo reportado por Sereno et al. (2018) (1,8 %). En cuanto a los sólidos solubles se obtuvo valores entre 5,6 y 6,73, similares a los reportados por Sereno et al. (2018). La relación de estos valores es importante para indicar el equilibrio entre el sabor dulce y ácido que se asocia con el índice de madurez que dio como resultado rangos de entre 12,55 y 15,084. Estos valores representan un alto índice de madurez, ya que según Da Silva et al. (2011) proporciones por debajo de 2 sugiere bajo índice de madurez y por encima de 7,55 son frutos sobre maduros.

Los resultados sugieren que el incremento de temperatura de extracción no tiene ningún efecto en el contenido de cafeína de extractos de *I. guayusa*, esto podría deberse a la pequeña diferencia que existe entre las temperaturas usadas (85 y 92 °C) lo que resulta no significativo. Sin embargo, existe suficiente evidencia en la literatura que demuestra lo contrario. Se ha demostrado que en la mayoría de casos el incremento de temperatura favorece la obtención de polifenoles en una extracción sólido/líquido (Karacabey et al., 2012). No obstante, el incremento de temperatura no puede ser infinita, ya que dependiendo del soluto y disolvente se logra alcanzar una temperatura optima que si va más allá de cierto limite el proceso es ineficaz (Chan et al., 2014; Lakka et al., 2020).

Con respecto al tiempo de extracción, este parámetro tiene efecto en el incremento del contenido de cafeína siempre que la relación hojas/solvente sea mayor (12 g/L). Pero es de esperar que al igual que la temperatura, también exista un tiempo óptimo de extracción que defina de manera eficiente la duración del proceso, ya que después de un tiempo transcurrido se pueden registrar rendimientos insignificantes (Morsli et al., 2021; Seikova et al., 2004).

El uso de ultrasonido mejoró la extracción de cafeína en los extractos de *I. guayusa*, y esto era de esperar, debido a que esta técnica es eficiente para extraer metabolitos secundarios de plantas (Dias et al., 2021; Luengo et al., 2014; Vinatoru et al., 2017). Existe un sin número de evidencias que demuestran que el uso de ultrasonido mejora de manera notable la extracción de compuestos bioactivos como en el caso del té verde (Menezes Maciel Binde et al., 2019), tomillo (Jovanović et al., 2017), guaraná (Carciochi et al., 2021), arándanos (Jiang et al., 2017), chile (Sricharoen et

al., 2017), achicoria (Pradal et al., 2016), palma (Dal Prá et al., 2017) y te amarillo (Horžić et al., 2012). También, Qiao et al., (2013) han encontrado mayor eficiencia en la extracción asistida por ultrasonido de ácidos fenólicos de naturaleza química.

Hasta el momento solo hay una investigación que ha estudiado los componentes de los extractos de guayusa usando las técnicas de Soxhlet y Extracción con fluidos supercríticos con CO₂. La concentración de los componentes dependió de los parámetros de cada técnica usada, y también del tipo de solvente. El mayor valor de cafeína se obtuvo por la técnica de Soxhlet y etanol como solvente (Cadena-Carrera et al., 2019).

Por otro lado, la extracción de cafeína asistida por ultrasonido a partir de semillas de guaraná presento mayor rendimiento a comparación de una extracción convencional. También, se reportó que el tipo de solvente es fundamental para mejorar la extracción de cafeína, y al menos en semillas de guaraná el agua pura es claramente eficiente (Carciochi et al., 2021). Rahimi et al. (2018) observaron el efecto del tiempo y la temperatura en el proceso de extracción de cafeína asistida por ultrasonido en diferentes alimentos. Los resultados mostraron una relación directa entre estos parámetros y la cantidad de cafeína extraída. Sin embargo, existe un tiempo y temperatura de extracción optima (15 min a 45 °C), y por encima de estos parámetros la cafeína se mantiene constante.

Por último, la evaluación sensorial de las bebidas energéticas elaboradas a base de extracto de *I. guayusa* y cocona mostró de forma general que los panelistas prefieren una bebida que tiene menor contenido de cafeína. Esto no es sorprendente, ya que se sabe que la cafeína provoca un sabor amargo intenso y a una mayor concentración altera el perfil sensorial de las bebidas, que será fácilmente detectable e impactará en el gusto (Keast et al., 2015; Morris & Elgar, 2020). Se conoce que esta preferencia por lo dulce y rechazo por el amargo es innata de los seres humanos, a consecuencia de la selección evolutiva que estuvo favorecida por el consumo de la leche materna (Simmen & Hladik, 1998).

También, se ha demostrado que las bebidas energéticas con altas concentraciones de cafeína (220-1034 mg/L) tuvieron menos aceptación por un panel entrenado, y esto se debió a que el amargor redujo el dulzor y el sabor afrutado de la bebida que estuvo a base de ingredientes funcionales como cafeína, ginseng y taurina

(Tamamoto et al., 2010). Dependiendo de la categoría del producto habrá excepciones con respecto a la percepción del sabor amargo, como en el caso del café. Por el contrario, las bebidas energéticas no suelen estar asociadas con este sabor, esto explicaría la tendencia de tener mayor contenido de azúcar en su composición (Hashem et al., 2017).

V. CONCLUSIONES

El mejor tratamiento del experimento de estandarización (12 g/L de hoja de *I. guayusa*, a 85 °C durante 10 minutos), obtuvo un extracto acuoso con alto contenido de cafeína (324 mg/L), al cual se le adicionó zumo de cocona para hacer las formulaciones de tres bebidas energéticas.

El uso de ultrasonido y el tiempo de extracción mejoraron el rendimiento del contenido de cafeína en los extractos de *I. guayusa*.

La evaluación sensorial mostró de forma general que los panelistas prefieren una bebida con bajo contenido de cafeína (272 mg/L), sin embargo, no las diferencias no fueron significativas (sig.<0,05) cuando se incrementó la dosis hasta 286 mg/L.

En consecuencia, el extracto acuoso obtenido por infusión de *I. guayusa* puede ser empleado en el desarrollo de bebidas energéticas con insumos de origen natural.

VI. RECOMENDACIONES

A la luz de los resultados obtenidos se recomienda lo siguiente:

- Realizar ensayos analíticos más sofisticados que permitan cuantificar otros compuestos presentes en el extracto que podrían tener algún efecto en la salud del consumidor.
- Realizar ensayos de sinergia con otros insumos energéticos y bioestimulantes para mejorar el desarrollo de formulaciones de bebidas energéticas.
- Testear las bebidas en consumidores específicos de bebidas energéticas.
- Evaluar formulaciones con zumos y extractos de otras frutas.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ali, A., Lim, X. Y., Chong, C. H., Mah, S. H., & Chua, B. L. (2018). Optimization of ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from Piper betle using response surface methodology. *Lwt*, 89(September 2017), 681–688. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.033>
- Antonio, J., Da Silva, A., Kitagawa Grizotto, R., Bergantini Miguel, F., & Marino Bárbaro, I. (2011). CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE FRUTOS DE CLONES DE DOVIÁLIS (*Dovyalis abyssinica* Warb) 1 PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION OF FRUITS OF DOVYALIS CLONES (*Dovyalis abyssinica* Warb). *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal-SP*, 17, 466–472.
- AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis of AOAC International*.
- Arteaga-Crespo, Y., Radice, M., Bravo-Sanchez, L. R., García-Quintana, Y., & Scalvenzi, L. (2020). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic antioxidants from *Ilex guayusa* Loes. leaves using response surface methodology. *Heliyon*, 6(1), 0–7. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e03043>
- Brownbill, A. L., Miller, C. L., & Braunack-Mayer, A. J. (2018). Industry use of “better-for-you” features on labels of sugar-containing beverages. *Public Health Nutrition*, 21(18), 3335–3343. <https://doi.org/10.1017/S1368980018002392>
- Cadena-Carrera, S., Tramontin, D. P., Bella Cruz, A., Bella Cruz, R. C., Müller, J. M., & Hense, H. (2019). Biological activity of extracts from guayusa leaves (*Ilex guayusa* Loes.) obtained by supercritical CO₂ and ethanol as cosolvent. *Journal of Supercritical Fluids*, 152. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.104543>
- Carciochi, R. A., Dieu, V., Vauchel, P., Pradal, D., & Dimitrov, K. (2021). Reduction of environmental impacts of caffeine extraction from guarana by using ultrasound assistance. *Food and Bioproducts Processing*, 127, 266–275. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.02.014>
- Chan, C. H., Yusoff, R., & Ngoh, G. C. (2014). Modeling and kinetics study of conventional and assisted batch solvent extraction. *Chemical Engineering Research and Design*, 92(6), 1169–1186.

<https://doi.org/10.1016/j.cherd.2013.10.001>

- Cote-Menéndez, M., Rangel-Garzón, C. X., Sánchez-Torres, M. Y., & Medina-Lemus, A. (2011). Bebidas energizantes: ¿hidratantes o estimulantes? *Revista Facultad de Medicina (Colombia)*, *59*(3), 255–266.
- Dal Prá, V., Lunelli, F. C., Vendruscolo, R. G., Martins, R., Wagner, R., Lazzaretti, A. P., Freire, D. M. G., Alexandri, M., Koutinas, A., Mazutti, M. A., & da Rosa, M. B. (2017). Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from palm pressed fiber with high antioxidant and photoprotective activities. *Ultrasonics Sonochemistry*, *36*, 362–366. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.12.021>
- Deng, J., Xu, Z., Xiang, C., Liu, J., Zhou, L., Li, T., Yang, Z., & Ding, C. (2017). Comparative evaluation of maceration and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from fresh olives. *Ultrasonics Sonochemistry*, *37*, 328–334. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.01.023>
- Dias, A. L. B., de Aguiar, A. C., & Rostagno, M. A. (2021). Extraction of natural products using supercritical fluids and pressurized liquids assisted by ultrasound: Current status and trends. *Ultrasonics Sonochemistry*, *74*(April), 105584. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105584>
- Dueñas, J. F., Jarrett, C., Cummins, I., & Logan-Hines, E. (2016). Amazonian Guayusa (*Ilex guayusa* Loes.): A Historical and Ethnobotanical Overview. *Economic Botany*, *70*(1), 85–91. <https://doi.org/10.1007/s12231-016-9334-2>
- European Union. (2018). The Echinacea Paradox: Case Note on implementing regulation EU 2019/1272. *Food & Feed L. Rev.*, *459*.
- Galimov, A., Hanewinkel, R., Hansen, J., Unger, J. B., Sussman, S., & Morgenstern, M. (2019). Energy drink consumption among German adolescents: Prevalence, correlates, and predictors of initiation. *Appetite*, *139*(April 2019), 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2019.04.016>
- Gan, R. Y., Zhang, D., Wang, M., & Corke, H. (2018). Health benefits of bioactive compounds from the genus *ilex*, a source of traditional caffeinated beverages. *Nutrients*, *10*(11). <https://doi.org/10.3390/nu10111682>
- García-Mogollon, C., Alvis-Bermudez, A., & Romero, P. (2015). Aplicación del mapa de preferencia externo en la formulación de una bebida saborizada de lactosuero y pulpa de maracuy. *Informacion Tecnologica*, *26*(5), 17–

24. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000500004>

- Goldsmith, C. D., Vuong, Q. V., Stathopoulos, C. E., Roach, P. D., & Scarlett, C. J. (2018). Ultrasound increases the aqueous extraction of phenolic compounds with high antioxidant activity from olive pomace. *LWT - Food Science and Technology*, 89, 284–290. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.065>
- Hashem, K. M., He, F. J., & MacGregor, G. A. (2017). Cross-sectional surveys of the amount of sugars, calories and caffeine in energy drinks in the UK between 2015 and 2017. *BMJ Open*.
- Horžić, D., Jambrak, A. R., Belščak-Cvitanović, A., Komes, D., & Lelas, V. (2012). Comparison of Conventional and Ultrasound Assisted Extraction Techniques of Yellow Tea and Bioactive Composition of Obtained Extracts. *Food and Bioprocess Technology*, 5(7), 2858–2870. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0791-z>
- Innerhofer, S., & Bernhardt, K. G. (2011). Ethnobotanic garden design in the Ecuadorian Amazon. *Biodiversity and Conservation*, 20(2), 429–439. <https://doi.org/10.1007/s10531-010-9984-9>
- Jiang, H. L., Yang, J. L., & Shi, Y. P. (2017). Optimization of ultrasonic cell grinder extraction of anthocyanins from blueberry using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 325–331. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.003>
- Johnson, S. J., Alford, C., Verster, J. C., & Stewart, K. (2016). Motives for mixing alcohol with energy drinks and other non-alcoholic beverages and its effects on overall alcohol consumption among UK students. *Appetite*, 96, 588–597. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.10.007>
- Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Gođevac, D. M., & Bugarski, B. M. (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. *Separation and Purification Technology*, 179, 369–380. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.01.055>
- Karacabey, E., Mazza, G., Bayındırlı, L., & Artık, N. (2012). Extraction of Bioactive Compounds from Milled Grape Canes (*Vitis vinifera*) Using a Pressurized Low-Polarity Water Extractor. *Food and Bioprocess*

- Technology*, 5(1), 359–371. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0286-8>
- Keast, R. S. J., Swinburn, B. A., Sayompark, D., Whitelock, S., & Riddell, L. J. (2015). Caffeine increases sugar-sweetened beverage consumption in a free-living population: A randomised controlled trial. *British Journal of Nutrition*, 113(2), 366–371. <https://doi.org/10.1017/S000711451400378X>
- Lakka, A., Grigorakis, S., Kaltsa, O., Karageorgou, I., Batra, G., Bozinou, E., Lalas, S., & Makris, D. P. (2020). The effect of ultrasonication pretreatment on the production of polyphenol-enriched extracts from *Moringa oleifera* L. (drumstick tree) using a novel bio-based deep eutectic solvent. *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/app10010220>
- Lamo, C., Shahi, N. C., Singh, A., & Singh, A. K. (2019). Pasteurization of guava juice using induction pasteurizer and optimization of process parameters. *Lwt*, 112(June), 108253. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108253>
- Luengo, E., Condón-Abanto, S., Condón, S., Álvarez, I., & Raso, J. (2014). Improving the extraction of carotenoids from tomato waste by application of ultrasound under pressure. *Separation and Purification Technology*, 136, 130–136. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.09.008>
- Mattioli, A. V., & Sabatini, S. (2021). Changes in energy drink consumption during the COVID-19 quarantine. *Clinical Nutrition ESPEN*, 45, 516–517. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2021.06.034>
- Menezes Maciel Binde, M., Hespanhol Miranda Reis, M., Luiz Cardoso, V., & Boffito, D. C. (2019). Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from green tea leaves and clarification with natural coagulants (chitosan and *Moringa oleifera* seeds). *Ultrasonics Sonochemistry*, 51(September 2018), 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.10.014>
- Morris, C., & Elgar, J. (2020). Impact of caffeine and information relating to caffeine on young adults' liking, healthiness perception and intended use of model energy drinks. *Lwt*, 132(July), 109879. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109879>
- Morsli, F., Grigorakis, S., Halahlah, A., Poulianiti, K. P., & Makris, D. P. (2021). Appraisal of the combined effect of time and temperature on the total polyphenol yield in batch stirred-tank extraction of medicinal and

- aromatic plants: The extraction efficiency factor. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 25(March), 100340. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100340>
- Nowak, D., & Jasionowski, A. (2015). Analysis of the consumption of caffeinated energy drinks among Polish adolescents. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(7), 7910–7921. <https://doi.org/10.3390/ijerph120707910>
- Paladines-Santacruz, G., Orellana-Manzano, A., Sarmiento, G., Piloza, G., Iñiga, E., Zaruma-Torres, F., Ortíz-Ulloa, J., Quijano-Avilés, M., Di Grumo, D., Orellana-Manzano, S., Villacrés, M. del C., Manzano, P., & Vanden Berghe, W. (2021). Acute oral toxicity of a novel functional drink based on *Ilex guayusa*, *Vernonanthura patens*, and cocoa husk. *Toxicology Reports*, 8, 747–752. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.03.026>
- Pradal, D., Vauchel, P., Decossin, S., Dhulster, P., & Dimitrov, K. (2016). Kinetics of ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from food by-products: Extraction and energy consumption optimization. *Ultrasonics Sonochemistry*, 32, 137–146. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.03.001>
- Qiao, L., Ye, X., Sun, Y., Ying, J., Shen, Y., & Chen, J. (2013). Sonochemical effects on free phenolic acids under ultrasound treatment in a model system. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(4), 1017–1025. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.12.007>
- Rahimi, A., Zanjanchi, M. A., Bakhtiari, S., & Dehsaraei, M. (2018). Selective determination of caffeine in foods with 3D-graphene based ultrasound-assisted magnetic solid phase extraction. *Food Chemistry*, 262(April 2017), 206–214. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.035>
- Rigano, M. M., De Guzman, G., Walmsley, A. M., Frusciante, L., & Barone, A. (2013). Production of pharmaceutical proteins in Solanaceae food crops. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(2), 2753–2773. <https://doi.org/10.3390/ijms14022753>
- Rodsamran, P., & Sothornvit, R. (2019). Extraction of phenolic compounds from lime peel waste using ultrasonic-assisted and microwave-assisted extractions. *Food Bioscience*, 28(March 2018), 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.01.017>

- Santana, P. M., Quijano-Avilés, M., Chóez-Guaranda, I., Lucas, A. B., Espinoza, R. V., Martínez, D., Camacho, C., & Martínez, M. M. (2018). Effect of drying methods on physical and chemical properties of *ilex guayusa* leaves. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, *71*(3), 8617–8622. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v71n3.71667>
- Seikova, I., Simeonov, E., & Ivanova, E. (2004). Protein leaching from tomato seed-Experimental kinetics and prediction of effective diffusivity. *Journal of Food Engineering*, *61*(2), 165–171. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00083-9](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00083-9)
- Sequeda-Castañeda, L. G., Modesti Costa, G., Celis, C., Gamboa, F., Gutiérrez, S., & Luengas, P. (2016). *Ilex guayusa* loes (Aquifoliaceae): Amazon and andean native plant. *Pharmacologyonline*, *3*(December), 193–202.
- Sereno, A. B., Bampi, M., dos Santos, I. E., Ferreira, S. M. R., Bertin, R. L., & Krüger, C. C. H. (2018). Mineral profile, carotenoids and composition of cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal), a wild Brazilian fruit. *Journal of Food Composition and Analysis*, *72*(October 2017), 32–38. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.06.001>
- Simmen, B., & Hladik, C. M. (1998). Sweet and Bitter Taste Discrimination in Primates: Scaling Effects across Species. *Folia Primatologica*, *69*(3), 129–138. <https://doi.org/10.1159/000021575>
- Sricharoen, P., Lamaiphan, N., Patthawaro, P., Limchoowong, N., Techawongstien, S., & Chanthai, S. (2017). Phytochemicals in *Capsicum* oleoresin from different varieties of hot chilli peppers with their antidiabetic and antioxidant activities due to some phenolic compounds. *Ultrasonics Sonochemistry*, *38*, 629–639. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.08.018>
- Swaroop, A., Bagchi, M., Moriyama, H., & Bagchi, D. (2017). Salient Features for Designing a Functional Beverage Formulation to Boost Energy. In *Sustained Energy for Enhanced Human Functions and Activity*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805413-0.00025-9>
- Tamamoto, L. C., Schmidt, S. J., & Lee, S. Y. (2010). Sensory profile of a model energy drink with varying levels of functional ingredients - caffeine, ginseng, and taurine. *Journal of Food Science*, *75*(6). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01655.x>

- Vercammen, K. A., Koma, J. W., & Bleich, S. N. (2019). Trends in Energy Drink Consumption Among U.S. Adolescents and Adults, 2003–2016. *American Journal of Preventive Medicine*, 56(6), 827–833. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2018.12.007>
- Villacís, J. (2017). ETNOBOTÁNICA Y SISTEMAS TRADICIONALES DE SALUD EN ECUADOR. ENFOQUE EN LA GUAYUSA (*Ilex guayusa* Loes). *Etnobiología*, 15(3), 83–84. <http://asociacionetnobiologica.org.mx/revista/index.php/etno/article/view/217/213>
- Vinatoru, M., Mason, T. J., & Calinescu, I. (2017). Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 97, 159–178. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.002>
- Visram, S., Cheetham, M., Riby, D. M., Crossley, S. J., & Lake, A. A. (2016). Consumption of energy drinks by children and young people: A rapid review examining evidence of physical effects and consumer attitudes. *BMJ Open*, 6(10). <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2015-010380>
- Wise, G., & E. Santander, D. (2018). Assessing the History of Safe Use of Guayusa. *Journal of Food and Nutrition Research*, 6(7), 471–475. <https://doi.org/10.12691/jfnr-6-7-8>
- Wise, G., & Negrin, A. (2020). A critical review of the composition and history of safe use of guayusa: a stimulant and antioxidant novel food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(14), 2393–2404. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1643286>

ANEXOS

Figura 7

Ensayo de titulación para determinar de índice de madurez.



Figura 8

Extractos de guayusa con distintos trabajos.



Figura 9

Sonicación del proceso de obtención de extractos con alto contenido cafeico de I. guayusa.



Figura10

Limpieza y desinfección de frutos de cocona.



Figura 11

Zumo de cocona empleado en la elaboración de las bebidas energéticas.



Figura 12

Envasado de bebidas energéticas a partir de guayusa saborizadas con extracto de cocona.



Figura 13

Evaluación sensorial de bebidas energéticas a base de extracto de guayusa saborizadas con cocona.

