

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA FORESTAL

SEDE JAÉN



**“DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE
CAFEÍNA EN GUAYUSA (*Ilex guayusa* Loes), EN SAN
IGNACIO - CAJAMARCA”**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO FORESTAL

PRESENTADO POR LA BACHILLER:

GISELA SOLANGE SAAVEDRA ROJAS

JAÉN – PERÚ

2017

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación es la culminación de varios años de esfuerzo, sacrificio, constancia y responsabilidad, por tal motivo va dedicado en primer lugar a Dios por ser la guía en mi camino, a mis incondicionales padres por su esfuerzo y formación como persona, y a las personas que estuvieron conmigo en todo momento, que me enseñaron la fe y me motivaron en los momentos que más lo necesitaba.

Gisela Solange

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por guiar mis pasos, por darme salud, sabiduría y paciencia, por darme la vida y mantener siempre unida a mi familia, por permitirme culminar con éxitos esta anhelada carrera.

A mis padres y hermanas, por brindarme su comprensión, cariño y sobre todo por su apoyo incondicional en todo momento.

A la Universidad Nacional de Cajamarca, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela Académico Profesional de Ingeniería Forestal, por brindarme toda la enseñanza y prepararme para los retos de la vida profesional.

De manera especial a mis asesores de tesis Dr. Ing. Segundo Vaca Marquina y al Mg. Ing. Jorge Antonio Delgado Soto, quienes supieron dirigirme con sus conocimientos y su profesionalismo, fundamental para la culminación del presente trabajo de tesis.

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
ÍNDICE	
RESUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCIÓN	09
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	11
2.1. Cafeína	11
2.1.1. La cafeína en la historia	11
2.1.2. Frecuencia de la cafeína en la naturaleza	13
2.1.3. Mecanismos de acción de la cafeína	13
2.1.4. Propiedades curativas de la cafeína	14
2.1.5. La cafeína en el organismo	15
2.1.6. Tolerancia a la cantidad de cafeína por el ser humano	16
2.2. Método químico de extracción de la cafeína de una fuente natural	17
2.3. La guayusa	18
2.3.1. Taxonomía	19
2.3.2. Descripción morfológica	19
2.3.3. Fisiología	20
2.3.4. Usos medicinales	20
2.3.5. Composición química	21
2.3.6. Ventajas y desventajas	21
2.3.7. Distribución, hábitat, ecología y suelos	22
2.3.8. Fenología	23
2.3.9. Propagación	23
2.3.10. Importancia forestal	25
2.4. Especies del género <i>Ilex</i>	25
2.4.1. Yerba mate (<i>Ilex paraguayensis</i>)	25
2.4.2. Acebo (<i>Ilex aquifolium</i>)	26
2.4.3. Guayusa caspi (<i>Ilex nayana</i>)	27
2.5. Otras especies que contienen cafeína	28
III. MATERIALES Y MÉTODOS	30

3.1. Ubicación del área de estudio	30
3.2. Materiales	31
3.3. Metodología	31
3.3.1. Trabajo de campo	31
a) Reconocimiento del área de estudio	31
b) Datos dasométricos	31
c) Descripción de la planta	32
d) Codificación de la muestra	32
e) Datos del muestreo de las colecciones	32
f) Colecta de las muestras para análisis químico	32
3.3.2. Trabajo en laboratorio	33
Conservación de las muestras	33
Análisis de la cantidad de cafeína	34
1. Preparación de reactivos	34
2. Preparación de la muestra	34
3. Procedimientos para el análisis de la muestra	34
4. Calculo de resultados	35
5. Presentación de resultados	35
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4.1. Resultados	37
4.1.1. Determinación del contenido de cafeína en hojas	37
4.1.2. Determinación del contenido de cafeína en frutos y ramas	39
4.1.3. Contenido de cafeína en <i>Ilex guayusa</i> Loes	41
4.1.4. Comparación del contenido de cafeína de la guayusa con otras especies	43
4.2. Discusión	44
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	47
5.1. Conclusiones	47
5.2. Recomendaciones	48
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
ANEXO	

ANEXO

Anexo 1: Base de datos de las colectas realizadas

Anexo 2: Gráfico del contenido de cafeína de todas las muestras de hojas analizadas

Anexo 3: Formulario dendrológico

Anexo 4: Constancia de verificación de las muestras botánicas

Anexo 5: Panel fotográfico

RESUMEN

El objetivo de investigación fue determinar la concentración de cafeína en *Ilex guayusa* Loes en los árboles cultivados en las localidades de Nueva Esperanza, Marizagua y Chililique del distrito de San Ignacio, región Cajamarca – Perú. Las colectas fueron realizadas en las jurisdicciones de los caseríos Chililique (1160 msnm), Nueva Esperanza (1356 msnm) y Marizagua (1565 msnm). Se realizó el análisis químico para determinar la cantidad de cafeína mediante el método de Bailey y Andrews (AOAC 2014). Las muestras recolectadas consistieron en hojas, ramas y frutos. Para el estudio se analizó 40 muestras de hojas, 6 de frutos y 6 de tallos, obteniendo las siguientes cantidades máximas de cafeína: 2.834% en hojas a una altitud de 1562 msnm, 0.327% en frutos a una altitud de 1559 msnm y 0.462% en tallos a una altitud de 1559 msnm; determinándose que el mayor contenido fue la encontrada en Marizagua, lugar que se ubica a una altitud promedio de 1565 msnm. El mejor aprovechamiento de la cafeína en la guayusa es en las hojas; el consumo es positivo posee muchas propiedades; es energizante, digestiva, emético, diaforético, diuréticas, tónica, expectorante, hipoglucémico, desinflamatoria, emenagogo, reconstituyente, agua aromática, fortificante de la sangre, contra la infertilidad, contra las reumas, mejora el sueño. La determinación del contenido de cafeína se realizó en el Laboratorio de suelos de la Universidad Nacional de Cajamarca.

Palabras clave: Cafeína, análisis químico, muestras de *Ilex guayusa* Loes, hojas, ramas, frutos.

ABSTRAC

The objective of the research was to determine the concentration of caffeine in *Ilex guayusa* Loes in the trees grown in the communities of Nueva Esperanza, Marizagua and Chililique in the district of San Ignacio, Cajamarca - Peru. The collections were made in the jurisdictions of Chililique (1160 masl), Nueva Esperanza (1356 masl) and Marizagua (1565 masl). Chemical analysis was performed to determine the amount of caffeine by the method of Bailey and Andrews (AOAC 2014). The samples collected consisted of leaves, branches and fruits. For the study 40 leaves, 6 fruit and 6 stem samples were analyzed, obtaining the following maximum amounts of caffeine: 2.834% in leaves at an altitude of 1562 msnm, 0.327% in fruits at an altitude of 1559 msnm and 0.462% in stems to an altitude of 1559 msnm; Being determined that the greater content was the one found in Marizagua, place that is located to an average altitude of 1565 msnm. The best use of caffeine in the guayusa is in the leaves; Consumption is positive has many properties; Is energizing, digestive, emetic, diaphoretic, diuretic, tonic, expectorant, hypoglycemic, inflammatory, emmenagogue, reconstituent, aromatic water, blood fortifier, against infertility, against the rheuma, improves sleep. The determination of the caffeine content was carried out in the Soil Laboratory of the National University of Cajamarca.

Key words: Caffeine, chemical analysis, samples of *Ilex guayusa* Loes, leaves, branches, fruits.

I. INTRODUCCIÓN

La Amazonía tiene una gran biodiversidad de productos forestales no maderables, de los cuales se pueden obtener varios beneficios para el aprovechamiento del hombre como son: medicinales, alimenticios, construcción de casas, canoas, colorantes; otros sirven como protección de los recursos naturales. Uno de estos productos, es la guayusa "*Ilex guayusa* Loes", de la cual se recolectan las hojas, se secan y se elabora con ellas una bebida a la que se le atribuyen las siguientes propiedades: energizante, estimulante nervioso y muscular, digestivo, expectorante y reductor del nivel de glucosa en la sangre (Collahuazo 2012).

La planta de *Ilex guayusa* Loes fue descrita por primera vez en 1901 por Theodor Loesner a partir de material estéril recolectado en 1898 por Warszewic en el oriente de Perú. Loesner llamó al acebo *Ilex guayusa* Loes, porque los indígenas de la parte oriental de Colombia, Ecuador y Perú usaban estas hojas para preparar el té medicinal llamado guayusa. Según registros históricos, el Ecuador contiene la mayor parte de plantaciones ancestrales de esta planta entre los tres países que se han reportado (Radice y Vidari 2007).

Aunque la planta es bien conocida para las comunidades locales, pocos botánicos la han recogido, y está pobremente representada en el herbario mundial (Collahuazo 2012). Esto se puede explicar por qué la guayusa es una planta cultivada, lo que ha hecho menos atractiva para los investigadores que buscan la flora silvestre. Otra razón, es que *Ilex guayusa* Loes, no presenta flores frecuentemente, por lo que ha provocado que los botánicos, duden al momento de recolectar especímenes que no tienen flores ni frutos (Collahuazo 2012). Los botánicos interesados en especies económicamente importantes, son los que han recolectado la mayor parte de especímenes de esta planta (Radice y Vidari 2007). A través de investigaciones, se ha demostrado que la cafeína en las hojas secas puede alcanzar niveles de 2.9% (RENASE Cía Ltda, 2009), 3.28% (Chiriboga 2009), 3.33% (Lewis *et al.*, 1991) y hasta 3.66% (Arias y Gualli 2013) si se deja hervir la infusión con hojas secas durante una hora.

No se cuenta con información de trabajos realizados en Perú, por lo que el objetivo de trabajo fue determinar la concentración de cafeína en la especie *Ilex guayusa* Loes en los árboles cultivados en las localidades de Nueva Esperanza, Marizagua y Chililique del distrito de San Ignacio, región Cajamarca – Perú.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Cafeína

Cafeína es un alcaloide del grupo de las xantinas, sólido cristalino, blanco y de sabor amargo, que actúa como una droga psicoactiva y estimulante. Es la sustancia psicoactiva más popular del mundo y, sin duda, una de las más aceptadas y toleradas a nivel social. La cafeína fue descubierta en 1819 por el químico alemán Friedrich Ferdinand Runge fue él quien acuñó el término *Koffein*, un compuesto químico presente en el café, término que pasaría posteriormente al español como cafeína. Este alcaloide es aceptado legalmente, y es culturalmente admitido en todas las sociedades del mundo, siendo la fuente de consumo más común el café y diferentes productos elaborados en base a éste que son muy populares (Radice y Vidari 2007).

Desde el punto de vista químico, la cafeína es un alcaloide xantínico (1, 3, 7 trimetilxantina) y su acción farmacológica se expresa principalmente a nivel de los sistemas nervioso central, cardiovascular y respiratorio, así como en la función renal por actuar como diurético (Radice y Vidari 2007).

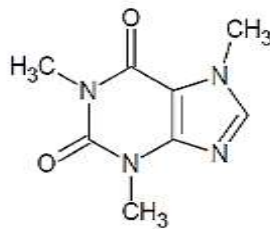


Figura 1. Molécula de cafeína (Radice y Vidari 2007)

2.1.1. La cafeína en la historia

Los humanos han consumido cafeína desde la Edad de Piedra. Los pueblos antiguos descubrieron que masticar la corteza y hojas de ciertas plantas tenía el efecto de aliviar la fatiga, estimular el estado de alerta y elevar el ánimo. Solo mucho después se descubrió que el efecto de la cafeína se incrementaba al remojar tales plantas en agua caliente. Muchas culturas tienen leyendas

que atribuyen el descubrimiento de tales plantas a personas que habrían vivido muchos miles de años antes (Arias y Gualli 2013).

La historia del café ha sido registrada desde el siglo IX, durante ese periodo, los granos de café solo estaban disponibles en su hábitat natural, Etiopía. Una leyenda popular atribuye su descubrimiento a un criador de cabras llamado Kaldi, el cual aparentemente habría observado que las cabras se tornaban eufóricas y perdían el sueño por las noches después de haber pastado junto a los arbustos de café y, habiendo probado los frutos que las cabras habían estado comiendo, experimento la misma vitalidad. Cerca del final del siglo XVI, el uso del café fue registrado por un europeo residente en Egipto, y alrededor de este periodo se introduce su uso general en el Oriente próximo. La apreciación del café como una bebida en Europa, donde fue conocido inicialmente como "vino árabe", data del siglo XVII. Durante este periodo se establecieron "casas de café", abriéndose las primeras en Constantinopla y Venecia (Carpintero y Salazar 2014).

La nuez de cola, como el fruto del café y la hoja de té, al parecer tienen orígenes antiguos. Es masticada en varias culturas africanas occidentales, de forma individual o en formación social, para restaurar la vitalidad y aplacar la sensación de hambre. En 1911, la cola se tornó en el centro de atención de uno de los primeros temores sobre la salud documentados, cuando el gobierno de los Estados Unidos incauto 40 toneles y 20 barriles de sirope de Coca-Cola en Chattanooga, Tennessee, alegando que la cafeína en su bebida era "perjudicial para la salud". El 13 de marzo de 1911, el gobierno inicio el caso de Los Estados Unidos versus cuarenta toneles y 20 barriles de Coca-Cola, esperando forzar a Coca-Cola para que eliminara la cafeína de su fórmula alegando argumentos, como que el uso excesivo de Coca-Cola en un colegio de señoritas condujo a "desenfrenos nocturnos, violaciones de las reglas de la escuela y los modales femeninos, e incluso inmoralidades". A pesar de que el juez fallo a favor de Coca-Cola, dos iniciativas de ley fueron introducidas a la Cámara de Representantes en 1912 con el fin de enmendar el Acta de Alimentos Puros y Drogas, agregando la cafeína a la lista de

sustancias "creadoras de hábito" y "dañinas" que deben listarse en la etiqueta de los productos (Pacha 2012).

2.1.2. Frecuencia de la cafeína en la naturaleza

La cafeína se encuentra en muchas especies de plantas, donde actúa como pesticida natural. Según ciertos estudios, los altos niveles de cafeína presentes en plantas jóvenes que aún están desarrollando follaje pero carecen de protección mecánica logran paralizar y matar ciertos insectos que se alimentan de la planta. Altos niveles de cafeína también han sido encontrados en los suelos alrededor de los vástagos en los granos de café germinados. Se deduce de ello que la cafeína tiene una función natural no solo como pesticida natural sino también en calidad de sustancia inhibidora de la germinación de otros granos cercanos de café dando por lo tanto mejor oportunidad de supervivencia a las plantas en crecimiento (Calle 2011).

Las fuentes de cafeína más comúnmente usadas son el café, el té y en menor medida el cacao. Otras fuentes de cafeína usadas con menor frecuencia incluyen a las plantas de yerba mate y guaraná, las cuales a veces son utilizadas en la preparación de infusiones y bebidas energéticas. Dos de los nombres alternativos de la cafeína, mateína y guaranina, son derivados de los nombres de estas plantas. La disparidad en la experiencia y los efectos entre las variadas fuentes naturales de cafeína podría deberse al hecho de que las plantas que son fuente de cafeína también contienen mezclas ampliamente variables de otros alcaloides xantínicos, incluyendo los estimulantes cardíacos teofilina y teobromina, así como otras sustancias que junto a la cafeína pueden formar complejos insolubles, como los polifenoles (Pacha 2012).

2.1.3. Mecanismos de acción de la cafeína

El principal modo de acción de la cafeína es como un antagonista de los receptores de adenosina que se encuentran en las células del cerebro. La cafeína cruza fácilmente la barrera hematoencefálica que separa a los vasos sanguíneos del encéfalo. Una vez en el cerebro, el principal modo de acción es como un antagonista no selectivo del receptor de adenosina. La molécula

de cafeína es estructuralmente similar a la adenosina y por lo tanto se une a los receptores de adenosina en la superficie de las células sin activarlos (un mecanismo de acción "antagonista"). Entonces, tenemos que la cafeína actúa como un inhibidor competitivo (Calle 2011).

La adenosina se encuentra en casi cualquier parte del cuerpo, debido a que desempeña un papel fundamental en el metabolismo energético relacionado al ATP, pero en el cerebro, la adenosina desempeña funciones especiales. La adenosina cerebral actúa protegiendo el cerebro mediante la supresión de la actividad neuronal y también mediante el incremento del flujo sanguíneo a través de los receptores A_{2A} y A_{2B} ubicados en el musculo liso vascular. Al contrarrestar a la adenosina, la cafeína reduce el flujo cerebral de reposo en 22 a 30%. La cafeína también posee un efecto desinhibitorio general sobre la actividad neuronal (Pacha 2012).

2.1.4. Propiedades curativas de la cafeína

Según Pacha (2012), las propiedades curativas de la cafeína son las siguientes:

- Remedio para el dolor leve crónico: la cafeína posee propiedades miorrelajantes, es decir ayuda a relajar la musculatura, lo cual puede ayudar a tolerar dolores musculares, dolor de espalda, etc. La cafeína posee propiedades vasoconstrictoras pericraneales, que son responsables de la migraña o dolor de cabeza, por eso se utiliza la cafeína en la confección de medicamentos para el dolor de cabeza dado que este componente potencia los efectos analgésicos.
- Remedio para la fatiga física: la capacidad estimulante de la cafeína puede utilizarse para estimular el organismo en general, lo cual disminuye la sensación de cansancio.
- La cafeína en el deporte: su consumo mejora el rendimiento físico de los ciclistas, corredores de fondo, esquiadores, etc. La cafeína produce la liberación de la adrenalina en la sangre lo cual estimula la liberación de la

grasa depositada en los músculos. De esta manera, el organismo puede utilizar esta reserva extra sin necesidad de consumir los hidratos de carbono que se mantienen como reserva. Todo ello permite prolongar el esfuerzo durante mucho más tiempo.

- Remedio para evitar la somnolencia: la cafeína ayuda a mantenernos despiertos, evitando la somnolencia.
- Remedio para perder peso: la cafeína posee propiedades diuréticas. La capacidad que le otorgan estos principios para aumentar la diuresis favorece el tratamiento de la retención de líquidos. De esta manera se utiliza como un remedio habitual en regímenes adelgazantes para combatir la obesidad.
- Propiedades antioxidantes: la cafeína posee propiedades antioxidantes, capaces de eliminar los radicales libres, causantes de numerosas enfermedades degenerativas, entre las que se encuentra el cáncer.
- Estimulante digestivo: utilizado en dosis bajas, la cafeína favorece la digestión de los alimentos ya que incrementa los jugos digestivos y biliares. Por lo tanto una pequeña taza de café podría resultar conveniente en aquellas personas que presenten “estómagos perezosos”.

2.1.5. La cafeína en el organismo

Para Chiriboga (2009), la cafeína produce principalmente unos efectos estimulantes y diuréticos en el cuerpo humano. Al ingerir cafeína esta se absorbe y va a parar al torrente sanguíneo que la transporta al cerebro. Una vez allí, la cafeína actúa sobre el sistema nervioso central produciendo una serie de efectos:

- Hipertensivas: Aumenta la tensión arterial.
- Diuréticas: Estimula la producción de orina.

- Estimulantes: Estimula el organismo incrementando la función de los pulmones y el corazón.
- Euforizantes: Produce una sensación de bienestar.
- Broncodilatadoras: Produce dilatación de los bronquios.
- Coronariodilatadoras: Produce la dilatación de las arterias coronarias.
- Vasodilatadoras: Produce una dilatación de los vasos sanguíneos en general.
- Vasoconstrictoras pericraneales: Conстриe los vasos sanguíneos pericraneales.
- Antioxidantes: Previene la oxidación del organismo por parte de los radicales libres.
- Antieméticas: Previene la aparición del vomito.
- Coleréticas: Estimulan la producción de bilis.
- Miorrelajantes: Relaja la actividad muscular.
- Hipoglicémicas: Disminuye el contenido de azúcar.
- Adictivas: El uso de la cafeína crea adicción.
- Vomitivas: Dosis elevadas de cafeína ocasionan la aparición de vómitos.
- Tremorigénicas: Dosis elevadas de cafeína ocasionan la aparición de temblores.
- Ansiogénico: Dosis elevadas de cafeína ocasionan ansiedad.
- Agrinóptico: Dosis elevadas de cafeína ocasionan insomnio.

2.1.6. Tolerancia a la cantidad de cafeína por el ser humano

Entre las consecuencias más comunes del consumo de altas dosis de cafeína diarias (más de 600 mg u 8 tazas comunes de café en 100 ml de H₂O) se encuentran los dolores de cabeza, el estado de nerviosismo, el insomnio, problemas estomacales y la posibilidad de diarreas. La mayoría de los adultos pueden tolerar en promedio unos 300 mg de cafeína diarios, es decir, unas 4 tazas de café por día sin sufrir ningún efecto negativo, es decir 36 mg de cafeína en 100 ml de H₂O. La dosis sin efecto de cafeína es de 300 mg diarios, en el caso de una infusión de guayusa (*Ilex guayusa* Loes) en 100 ml de agua por cinco minutos de lixiviación se tendría una dosis máxima de 13 tazas diarias. 1g de infusión de guayusa en 100 ml de agua por cinco minutos para que la persona no sufra un efecto negativo (Chiriboga 2009).

2.2. Método químico de extracción de la cafeína de una fuente natural

La extracción (separación) líquido-líquido, también conocida como extracción con solventes o extracción con disolventes, es un proceso químico empleado para separar una mezcla de líquidos aprovechando la diferencia de solubilidad de sus componentes entre dos líquidos inmiscibles o parcialmente miscibles por ejemplo: agua y cloroformo, o éter etílico y agua). Suele ser una operación muy habitual en los primeros pasos de un tratamiento de reacción que permite eliminar excesos de reactivos utilizados, así como de algunas impurezas formadas en la reacción. También es una técnica muy utilizada para llevar a cabo la extracción de compuestos orgánicos que se encuentran en fuentes naturales. Por ejemplo, una extracción líquido-líquido muy utilizada ha sido la extracción de la cafeína del café para obtener café descafeinado. Este tipo de técnica se suele llevar a cabo mediante la utilización de una fase acuosa (agua, disolución acuosa saturada de cloruro de sodio, disoluciones acuosas ácidas, disoluciones acuosas básicas, disoluciones acuosas de bisulfito de sodio, etc.) y una fase orgánica, de modo que generalmente el compuesto deseado suele extraerse a la fase orgánica dejando muchas de las impurezas (reactivos inorgánicos u orgánicos polares, impurezas polares, etc.) en la fase acuosa (Marcilla 1999).

2.3. Guayusa

Guayusa es una planta amazónica del género *Ilex*, nativa de la selva de la Amazonía ecuatoriana. Es uno de los tres acebos que contienen cafeína; las hojas de la planta de guayusa se secan y se elabora con ellas un té con muchas propiedades (Melo 2014).

Las hojas de guayusa son consideradas estimulantes tónicas y medicinales, usadas por los Jíbaros de la Alta Amazonía desde los tiempos inmemorables, de muchos propósitos curativos: dolor de riñones, fiebres malarias, digestivo y antidiabético (Correa y Bernal 1989).

García Barriga (1992), señala que los indios Sionas, Sibundoy y otros del Putumayo, emplean tradicionalmente la decocción de las hojas secas de guayusa como “nervínico, digestivo y especialmente como un gran expectorante; también se han usado sus hojas como antidiabético”.



Figura 2. Ramas de guayusa

2.3.1. Taxonomía

Según Trópicos. 2016, la especie se clasifica de la manera siguiente:

División:	Angiospermae
Clase:	Equisetopsida C. Agardh
Subclase:	Magnoliidae Novák ex Takht
Superorden:	Asteranae Takht
Orden:	Aquifoliales Senft
Familia:	Aquifoliaceae Bercht. & J. Presl
Género:	<i>Ilex</i> L.
Especie:	<i>Ilex guayusa</i> Loes
Nombre común:	Guayusa

2.3.2. Descripción morfológica

Nombre común: Es reconocida en castellano como guayusa en la mayoría de localidades de Perú y Ecuador. De acuerdo a Patiño (1968) los nombres comunes tanto del árbol como de la infusión son: aguayusa, guayusa, huayusa, guañusa, guayyusa, wayusa, en el oriente de Ecuador. Para los Jíbaros el árbol se llama weisa, y kopíniak, en el idioma Záparo (Melo 2014).

Hábitat: Árbol perenne nativo de la región amazónica, donde es silvestre, pero también está presente en ciertos lugares subtropicales de la región andina en estado cultivado (Jorgensen y Leon-Yanez 1999).

Tamaño de la especie: Los individuos de esta especie alcanzan un tamaño promedio de hasta 10 m de altura, poseen un diámetro a la altura del pecho (DAP) de 50-80 cm, copa irregular y follaje denso (Melo 2014).

Tronco: A menudo bifurcado a la altura del pecho, corteza blanca y textura lisa, las ramas son extendidas y flexibles.

Hojas: De textura coriácea, verde oscuro, oblongo-elípticas, simples, alternas sin estípulas, dentadas, sin pubescencias en el haz y envés, ápice acuminado,

base aguda, 15-21 cm de largo, 5- 7,5 cm de ancho, peciolo corto de 1.0 cm de largo (Barriga 1992).

Flor: De corola blanco verdosa con pétalos obtusos, estambres en igual número que los pétalos, anteras oblongas, ovario sésil subgloboso y usualmente con 4-6 cavidades (García 1992).

Fruto: Baya globosa de casi 1 cm de ancho y verde.

2.3.3. Fisiología

Fisiológicamente, es una especie de lento crecimiento y desarrollo foliar, pudiendo ser aprovechado el árbol para la recolección de hojas alrededor de los 4 a 10 años. Descomposición foliar rápida (3 meses aprox.). No se observa acumulación de hojarasca en la base del árbol (Collahuazo 2012).

La producción de frutos es desconocida, no obstante la parte aprovechable de este árbol, para la elaboración de té son las hojas (Collahuazo 2012). Para su aprovechamiento se realiza una poda drástica de uno de los troncos de la planta (toda el área foliar). Se reportan producciones promedio de 45 kg/árbol de follaje fresco (Uwi 2006).

2.3.4. Usos medicinales

El uso más difundido según su uso, es en forma de té, ha sido como bebida refrescante y tonificante, con efectos semejantes al té asiático o al mate paraguayo-argentino, cosa explicable por el contenido de xantinas, en especial cafeína (Pacha 2012). Se le atribuye diferentes propiedades como la de afrodisiaco y propiciador de éxito en ciertas empresas. Por ejemplo, los Shuar del Sur del Ecuador han acostumbrado a tomar té de guayusa antes de salir a sus expediciones de cacería o de pesca. También se considera que tiene un efecto péptico, ayuda a mejorar la digestión, se le atribuyen propiedades hipoglucemiantes en los pacientes diabéticos. El té se prepara agregando a un litro de agua hirviente 4 a 5 hojas y de este se toma una o dos tazas al día.

La infusión de guayusa se lo utiliza como: Estimulante nervioso y muscular, se ha evidenciado que es un posible reductor de la glucosa, digestivo, expectorante, favorece la digestión del estómago. Al uso médico se suma otro muy generalizado: esta planta, preparada como té, es muy energizante. Esta cualidad ayuda a los indígenas a realizar largas caminatas por los senderos selváticos (Melo 2014).

2.3.5. Composición química

Las hojas contienen cafeína en cantidades variables, superiores a las del café y el té; contiene además cantidades menores de teofilina y otras xantinas, esteroides, terpenoides y lactonas terpénicas (Pacha 2012).

Los análisis químicos en 2009 y 2010 han mostrado que el contenido en cafeína en la guayusa es de 2,90 - 3,28 % en peso seco. La guayusa contiene todos los aminoácidos esenciales para el ser humano y tiene una alta actividad antioxidante, con una capacidad de absorción de radicales de oxígeno de 58 μM por gramo, comparada con los 28-29 μM por gramo del té verde comercial. Otro componente importante de la guayusa es la teobromina, un estimulante que generalmente se encuentra en el chocolate, y L - teanina un ácido glutámico análogo que se encuentra en el té verde que ha demostrado reducir la fatiga física y mental y combatir el estrés (Martínez *et al.* 2013).

2.3.6. Ventajas y desventajas

Según Arias y Gualli (2013), se considera especial a la guayusa porque suprime la fatiga y brinda agilidad física y mental, es un antioxidante y regulador de la presión arterial; además posee una amplia gama de ventajas medicinales; entre éstas se destaca la reducción de los dolores de cabeza y del cuerpo también sirve para las afecciones gripales. La mezcla única de teofilina, teobromina y cafeína hace exclusiva a la guayusa, esto facilita la sensación de conciencia y presencia en todo el cuerpo.

Entre las ventajas de la guayusa, se mencionan las siguientes: energizante, digestiva, diaforético, diuréticas, tónica, expectorante, hipoglucémica, desinflamatoria, emenagogo, reconstituyente, agua aromática, fortificante de la sangre, contra la infertilidad, contra las reumas, mejora el sueño.

Entre las desventajas de la guayusa, se mencionan las siguientes: emético y narcótico.

2.3.7. Distribución, hábitat, ecología y suelos

El género *Ilex* está presente en todo el continente e incluso en Oceanía con más de 500 especies, ubicados desde los 5° (norte) - 35° (sur) de latitud.

La guayusa es una planta que se desarrolla bien desde los 200 hasta los 1500 msnm, con temperaturas que van desde los 18° a 28° centígrados y precipitaciones desde los 1500 hasta los 4000 milímetros anuales (Torres 2013).

Es nativa de la selva de la Amazonía ecuatoriana, se encuentran presentes en los bosques secundarios y en las huertas; de acuerdo a los registros del Herbario Loja, la guayusa está presente en las provincias de Sucumbíos, Napo, Pastaza, Morona Santiago y Zamora Chinchipe. Además, de estas provincias Jorgensen y León – Yáñez (1999) la registran en las provincias de Pichincha y Tungurahua. Se la encuentra desde el nivel del mar hasta los 1500 msnm. (Jorgensen y León – Yáñez 1999). En Perú se encuentra de manera muy escasa en la zona norte del departamento de Cajamarca, en la provincia San Ignacio y al norte del departamento Amazonas en la provincia de Condorcanqui. Por ser de gran potencial sería importante incentivar su cultivo, considerando la industrialización, como una bebida energizante.

La planta de guayusa crece en las colinas de los Andes en una variedad de hábitats, desde valles, laderas de montaña, terrenos planos, e incluso huertos y pastizales (Uwi 2006). Es considerada en muchas regiones como una especie subarbórea, por lo que se encuentra generalmente en bosques secundarios y no en bosques densos. La zona de vida según la clasificación

de Holdridge, para la especie es de bosque húmedo tropical (bh T) y bosque seco premontano (bs PM) (Barriga 1992, Jorgensen y León – Yáñez 1999). En el Ecuador se la encuentra en los siguientes tipos de vegetación: bosque siempre verde de tierras bajas, bosque siempre verde de tierras bajas inundable por aguas blancas, bosque inundable de palmas de tierras bajas, bosque siempre verde premontano y bosque siempre verde montano bajo (Collahuazo 2012).

De acuerdo a su distribución geográfica, se observa que crece en suelos jóvenes (*Entisoles*) de meteorización reciente y de estado intermedio (*Inceptisoles*) de textura franco a franco arenoso con problemas de drenaje - drenaje superficial imperfecto (ECORAE 2001, Valarezo 2004). Se adapta tanto a suelos húmedos como a secos, tolera suelos compactados aunque prefiere los suelos drenados y fértiles, por lo que se presume que tolera pH ácidos (5,0 - 5,5). Tiene un buen crecimiento en terrenos planos, de pendiente entre 0 y 5 % y en partes onduladas e inclinadas, con pendientes entre 6 y 15 % (Collahuazo 2012).

Es una especie que demanda luz, resistente al fuego, a las plagas y a las exposiciones al viento (Uwi 2006).

2.3.8. Fenología

La fenología de guayusa es poco conocida; sin embargo, se ha observado que el follaje aumenta si las podas se las hace en luna nueva, florece de noviembre a enero y sus frutos maduran desde febrero a marzo (Uwi 2006).

2.3.9. Propagación

En cuanto a experiencias de propagación de la planta de guayusa, existen muy pocas; sin embargo, es un árbol que se lo encuentra disperso en potreros y presente en el huerto familiar (Uwi 2006).

Aparentemente presenta dificultades para propagarse por semilla e incluso por estacas. Se ha reportado varias formas de propagación por estacas:

1. Se toma las ramas largas del árbol, se corta la base y ápice y se siembra en forma de arco, hundiendo ambos extremos en el suelo.
2. Se siembra dos estacas colocadas en cruz o equis.
3. Se siembra las estacas acostadas al igual que la yuca, con buenos resultados y de fácil propagación por acodos, en donde se hunde una rama del árbol en la tierra y se espera hasta que broten las raíces para el trasplante. No se observa regeneración natural. Tiene buena capacidad de rebrote (3 a 5 meses) y este atributo la convierte en una especie ideal para ser manejada en los potreros (Collahuazo 2012).

La distancia de siembra depende del área a sembrar, y de las plantas con las que se la va asociar. Como guayusa, es una planta que desarrolla una copa media, se puede considerar una distancia entre planta de 4 metros. Cabe señalar que en ningún caso se debe considerar realizar plantaciones con el sistema de monocultivo, o destruir bosque primario o secundario para sembrar la planta. Se debe sembrar utilizando terrenos subutilizados, pastizales sin manejo, como cerca o en áreas comunitarias (Torres 2013).

Collahuazo (2012), también menciona que para sembrar guayusa por estacas es necesario que la planta madre tenga ramas con brotes o a su vez de la planta sacar nuevas plántulas que están al contorno y de esta manera sacar estacas. Se prepara el sustrato con arena, tierra negra fina y materia orgánica, se llena las fundas con esta mezcla y luego se coloca las estacas. Se observa un buen crecimiento en las plantas sembradas en hileras a espaciamientos de siembra entre plantas de 5 m. Se recomienda deshierbar de 2 a 3 veces durante el primer año.

La época de siembra debe ser de preferencia en los meses de abril y mayo. Si se cuenta con riego se puede sembrar durante todo el año. Los enemigos naturales de la planta que deterioran la calidad de la hoja, son la pudrición y marchitamiento por hongos y los daños por insectos (Torres 2013).

2.3.10. Importancia forestal

Guayusa es una especie que en estado silvestre tiene una población baja, por lo que se debe considerar la siembra de plantas. La producción de plantas de guayusa como de otras plantas importantes (maderables, frutales, medicinales, etc.), se debe realizar las siembras en sistemas agroforestales, silvopastoriles o enriquecimiento de bosque, con plantas de la zona, ya sea frutales, maderables o de ciclo medio o largo. Se debe evitar sembrar esta planta en el sistema de monocultivo, para evitar problemas fitosanitarios (Torres 2013).

2.4. Especies del género *Ilex*

2.4.1. Yerba mate (*Ilex paraguayensis*)

La yerba mate (*Ilex paraguayensis* o *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.), comúnmente denominada yerba, es una planta arbustiva o arbórea neotropical originaria de las cuencas del Alto Paraná, Alto Uruguay y algunos afluentes del Río Paraguay donde crece en estado silvestre, sobre todo formando parte del sotobosque o del estrato mediano de los montes ay (Lezcano 2015).

La especie *Ilex paraguariensis* es un árbol perennifolio, de hasta 15 m de altura en estado salvaje. Tiene un fuste recto y cilíndrico, de hasta 3 dm de diámetro, recubierto de una fina corteza pardogrisácea acanalada. Las ramas brotan del árbol en ángulo recto, dando lugar a una copa apicada. La raíz es pivotante. Las hojas son alternas, obovadas, con el margen dentado y el ápice obtuso, de unos 11 cm de largo y 5 de ancho, coriáceas; no presentan nunca pelos ni estomas por el haz, de color verde oscuro, y estomas pequeños en el envés. Las nervaduras primarias y secundarias son de color amarillento y muy marcadas (Calle 2011).

Entre octubre y noviembre, la época de floración, produce inflorescencias en forma de haces corimboides de 40 a 50 flores, que se desarrollan axilarmente. Es dioico; los ejemplares masculinos presentan dicasios de entre 3 y 11 flores,

mientras que en los femeninos aparecen solitarias o en grupos de tres. Las flores son simples, pequeñas, polígamas, de color blancuzco; el cáliz y la corola suelen ser tetrámeros o excepcionalmente pentámeros. Entre los pétalos presenta igual número de estambres. La polinización es entomófila, siendo tanto abejas como dípteros los vehículos de la fecundación. Entre los meses de enero y marzo madura el fruto, una núcula indehisciente de unos siete mm de diámetro, de color violáceo, rojizo o negruzco cuando madura, con un estigma poco prominente. Contiene 4 a 8 propágulos rugosos, de color amarillo. La diseminación se produce por lo general endozoicamente, siendo aves sus principales vectores (Lezcano 2015).

Los estudios sobre el mate, aunque muy limitados, han mostrado evidencia preliminar de que por las xantinas que contiene, la infusión de yerba mate es una fuente natural de energía que estimula el esfuerzo intelectual y físico.

Las xantinas (cafeína y teobromina) son compuestos que estimulan el Sistema Nervioso Central (SNC). Dicha estimulación se traduce en excitación, dominando y regulando el esfuerzo intelectual y muscular, por lo que es ideal para personas que realizan deportes, tanto actividades físicas como mentales. Las tres xantinas presentes en el mate han mostrado tener efecto relajante en los tejidos musculares lisos, y efectos estimulantes miocárdicos. El mate es una bebida saludable porque contiene polifenoles que funcionan como antioxidantes. La infusión de yerba mate se reveló como un antioxidante más potente que el ácido ascórbico (vitamina C). El mate contiene xantinas, que son alcaloides; como son la cafeína, teofilina, y teobromina. El contenido de cafeína varía entre 0,2% a 2% de peso seco (Calle 2011).

2.4.2. Acebo (*Ilex aquifolium*)

El acebo es un pequeño arbusto que puede alcanzar fácilmente los 10 m de altura. Lo más característico de esta especie son sus hojas, muy duras y tiesas, onduladas y con espinosos dientes en su contorno; son lampiñas y bastante relucientes. Es un arbusto que permanece verde todo el año. El fruto es globuloso, del tamaño de un guisante, pero liso y brillante; se trata de un fruto carnoso muy tóxico, que suele ocasionar problemas en niños que lo

comen atraídos por su atractivo color, lo que da lugar a intoxicaciones que en muchos casos devienen mortales. Las hojas de esta planta leñosa contienen teobromina, que es una sustancia parecida a la cafeína en cuanto a sus virtudes; también tienen rutina, taninos, resina, ilicina y ácidos iléxico y ursólico. Estas hojas se consideran desde hace tiempo diuréticas, aperitivas y sudoríficas. La toxicidad de sus frutos supera a las virtudes de las hojas, no es difícil concluir que su uso se halla muy limitado. Las hojas están indicadas en reumatismo, gota, inapetencia, fiebre y gripe. Las bayas del acebo que resultan tan atractivos para los niños en dosis relativamente bajas actúan como purgantes drásticos; si la dosis consumida es mayor, entonces aparecen diarreas, vómitos y convulsiones. En el caso de los niños, esto puede ser mortal, por lo que conviene conocer bien el arbusto para evitar su consumo (Rednaturaleza 2017).

2.4.3. Guayusa Caspi (*Ilex nayana*)

Son árboles o arbustos de corteza más o menos lisas, algunas contienen alcaloides como la cafeína. Poseen pelos simples, hojas alternas y en espiral, simples, enteras y/o aserradas, los dientes con glándulas deciduas hasta ápice espinoso, con venación pinnada. Inflorescencia axilar algunas se reducen a una flor solitaria. Ampliamente distribuida, pero especialmente común en los trópicos montañosos, característico en suelos ácidos. Las flores son visitadas por varios insectos especialmente abejas, algunas especies pueden ser polinizadas por el viento. Los frutos son dispersados por los pájaros. La germinación de la semilla es lenta y requiere entre 1 a 3 años (Silva y Panduro 2014).

Según la investigación de Silva y Panduro 2014, el rendimiento porcentual del alcaloide de cafeína de las hojas de *Ilex nayana* (Guayusa Caspi), se obtuvo 0.95% de rendimiento.

2.5. Otras especies que contienen cafeína

Según investigaciones de Calle 2011, La cafeína se encuentra en diferentes productos comerciales. Existen más de 50 plantas que contienen este principio activo. Las más importantes son:

- El café (*Coffea sp*) que lo contiene en sus semillas.
- El yoco o huarmiyoco (*Paullina yoco*) le sigue en proporción. El yoco contiene cafeína en su corteza en una proporción casi tan elevada como el café. La preparación se realiza raspando la corteza y exprimiéndola para extraer su jugo que se mezcla con agua.
- La Nuez de cola (*Cola nitida Vent*) es originaria de África y su droga está constituida por las semillas, desecadas y desprovistas de los tegumentos, de varias especies del género Cola, especialmente *Cola nitida* y *Cola acuminata*. *Cola acuminata* es un árbol africano de cuyas semillas se extrae la cafeína. Su proporción es muy similar al café o al yoco, aunque esta se libera más lentamente por lo que tiene un efecto más prolongado aunque menos fuerte. En su composición química destacan bases xánticas como la cafeína y la teobromina.
- El guaraná (*Paullinia cupana HBK*) es una especie tropical sudamericana. La droga está constituida por las semillas, desprovistas de tegumento y habitualmente tostadas y pulverizadas. En su composición química destaca su contenido de bases xánticas, especialmente cafeína, teofilina y teobromina.
- El huito o jagua (*Genipa americana*) Es un árbol americano que contiene una cantidad muy elevada de este componente en sus semillas. Aunque este árbol no se usa por sus frutos secos, no se utiliza la cafeína de sus semillas.
- El cacao (*Theobroma cacao*) Las semillas del árbol del cacao contienen más o menos la mitad de cafeína que las plantas anteriores. Este alimento contiene una serie de componentes entre los que destaca la feniletilamina,

un componente que en realidad pertenece a la familia de las anfetaminas. Además el cacao es rico en alcaloides, como la cafeína y la teobromina.

- El té (*Camellia sinensis Kuntze*), la droga está constituida por las hojas. Sus principales principios activos son bases xánticas, mayoritariamente cafeína, teofilina, teobromina, adenina y xantina. Contiene cafeína en toda la planta.

Otras plantas con dosis mucho más pequeñas de cafeína son: el limón (*Citrus limon*), el pomelo (*Citrus paradisi*) y el naranjo (*Citrus sinensis*). Estos contienen cafeína en sus flores.

Copoazú (*Theobroma grandiflorum*): Es una especie de familia Malvaceae, considerada en términos económicos, como el segundo cacao más importante. En las semillas se encontró xantina, cafeína y teobromina. En granos se reporta buena actividad antioxidante; y flavonoides como catequina, epicatequina, quercetina y kaempferol (Galeano y Paladines 2012).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del área de estudio

La investigación de campo se realizó en los caseríos Chillique (1160 msnm), Nueva Esperanza (1356 msnm) y Marizagua (1565 msnm), distrito y provincia de San Ignacio, departamento de Cajamarca (Figura 3), la segunda parte se realizó en el Laboratorio de Suelos de la Universidad Nacional de Cajamarca - Sede Jaén.

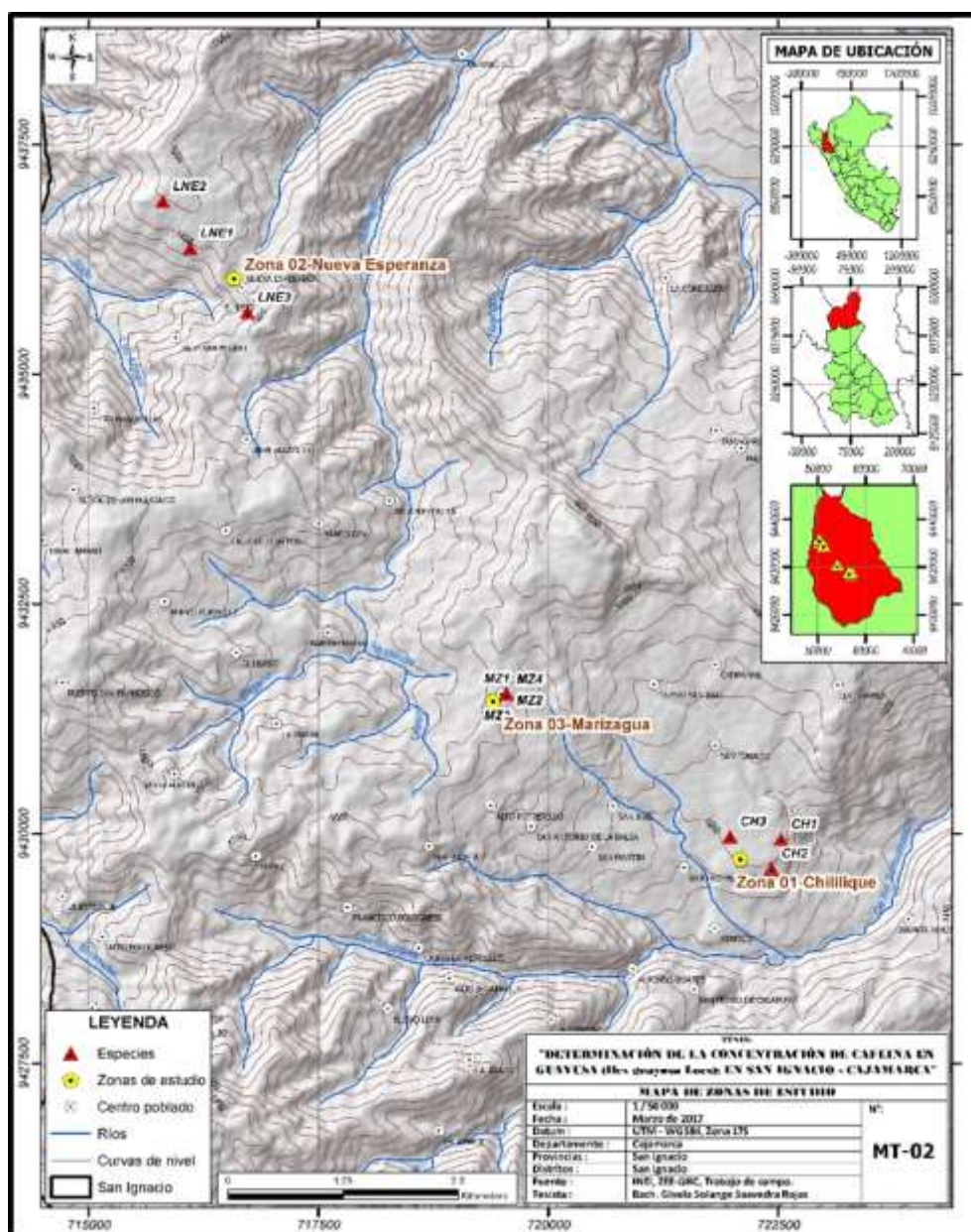


Figura 3. Ubicación del trabajo de campo de la investigación

3.2. Materiales

- **Material biológico:** hojas, ramas y frutos de *Ilex guayusa* Loes.
- **Reactivos:** Ácido sulfúrico, cloroformo, óxido de magnesio, sulfato de sodio anhidro, hidróxido de potasio.
- **Materiales y equipos de campo:** Formatos de campo, útiles de escritorio (libretas de campo, lapiceros, plumón indeleble, cinta makestape, etc.), GPS, tijera de podar, tijera telescópica, cámara fotográfica, material para recolección (alcohol 96°, saco de fibra plástica, papel periódico, cordel de nylon, agua, etc.).
- **Material y equipo de laboratorio:** Prensa botánica, horno de secado, balanza analítica sensibilidad 0,01 g, baño de agua termorregulador temperatura de ebullición, estufa 105 °C, campana de extracción química, matraz Erlenmeyer 500 ml, papel filtro Whatman N° 1, material de vidrio utilizado en el laboratorio de química orgánica y química forestal, embudo decantación 500 ml, computador e impresora.

3.3. Metodología

3.3.1. Trabajo en campo

a) Reconocimiento del área de estudio

Se hizo el reconocimiento del área de estudio, a través del recorrido identificando las parcelas con cultivo de guayusa en producción, en los caseríos Chililique, Nueva Esperanza y Marizagua, en el ámbito territorial del distrito de San Ignacio.

b) Datos dasométricos

El diámetro a la altura del pecho de los árboles (DAP), se tomó utilizando una cinta métrica a 1.30 m de altura desde la base del árbol. La altura total, se determinó mediante una aproximación visual desde la base del árbol hasta el ápice del mismo. La altura comercial, se determinó de la

misma manera que para la altura total, se calculó desde la base del suelo hasta donde empieza la primera ramificación (Anexo 2).

c) Descripción de la planta

Se hicieron anotaciones de las características dendrológicas en el formulario dendrológico como: hábitat, tipo de raíz, tipo de fuste, forma de copa, corteza externa, corteza interna, características organolépticas, que se pierde durante el secado, tales como olor, color, sabor (Anexo 3).

d) Codificación de la muestra

Los códigos de las muestras botánicas se registraron con las iniciales del nombre del caserío (CH-01, CH-02; NE-01, NE-02; MZ-01, etc.), esta información ayudó para ordenar los datos y la identificación de las muestras botánicas.

e) Datos del muestreo de las colecciones

Se hicieron anotaciones de los diferentes datos de las colecciones en campo (Anexo 1).

N°	Fecha	Coordenadas UTM		Altitud (msnm)	Sector	DAP	Altura Total
		Este	Oeste				

f) Colecta de las muestras para análisis químico

La metodología de la colección de muestra para el análisis químico, se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Aizpurua *et al.* (1996). Esta metodología se detalla a continuación:

Muestreo por zona. En cada zona de estudio se hizo la selección de los árboles con mejores condiciones y características.

Número de árboles. Se eligieron 3 árboles dentro de cada una de las zonas de estudio y se colectaron 20 hojas de cada árbol, 20 gramos de frutos y 20 gramos de ramas.

Zona del árbol muestreada. Las muestras de hojas fueron colectadas de la parte externa del árbol a la altura correspondiente al tercio central (Figura 4), en todas las orientaciones del árbol. Las muestras de ramas fueron colectadas del tercio central del árbol, usando tijeras telescópica, se cortó aquellas de crecimiento vertical y de preferencia de aproximadamente un año de edad, de entre 25 a 30 cm de largo y de 0.6 a 1.0 cm de diámetro (Cascante 2008). La colecta de frutos se realizó utilizando la tijeras telescópica, las que se encontraban aproximadamente desde la mitad del árbol hacia arriba (Robbins *et al.* 1981).



Figura 4. División del árbol para toma de muestras (Aizpurua *et al.* 1996)

Formación y posición de las hojas en la rama. Se colectaron las hojas de la parte media de la rama, en un total de 20 hojas por árbol.

3.3.2. Trabajo en laboratorio

Conservación de las muestras. Las muestras de hojas, frutos y ramas frescas de guayusa fueron secadas en estufa a una temperatura de 40 °C por un tiempo de 48 horas. Luego del secado, se pulverizaron en un mortero de

porcelana, se tamizó 0.8 mm, se almacenó en envases de plástico; en un lugar fresco, seco, aislado de la luz y el aire, evitando de esta manera la alteración y degradación de los componentes químicos. Este procedimiento se realizó en el Laboratorio de suelos de la Universidad Nacional de Cajamarca.

Análisis de la cantidad de cafeína. Se determinó el contenido de cafeína en hojas, ramas y frutos de guayusa por el método Bailey y Andrews (AOAC 2014), que consiste en el procedimiento siguiente:

1. Preparación de reactivos

Solución de ácido sulfúrico al 10 % (1+9): Se disolvió una parte de ácido sulfúrico concentrado (d: 1.83) en nueve partes de agua.

Solución de hidróxido de potasio al 1.0 %: Se disolvió 1.0 g de hidróxido de potasio y enrasó a 100 ml de agua.

2. Preparación de la muestra

Se homogenizaron las muestras de hojas, ramas y frutos; se pulverizó en un mortero de porcelana y se tamizó en un tamiz de 0.8 mm.

3. Procedimiento para el análisis de la muestra

Se pesó 5.0 g de muestra pulverizada y tamizada en el matraz Erlenmeyer de 1 litro, luego se agregó 400 ml de agua destilada, se mezcló y calentó a ebullición (100 °C).

Luego se agregó 10 g de óxido de magnesio, se hirvió lentamente por un tiempo de 2 horas haciendo agitaciones ocasionales.

Luego se le adicionó agua para prevenir la formación de espuma y lavar las paredes del matraz. Se enfrió y se filtró con papel filtro Whatman N° 1.

En material filtrado se acidificó con 10 ml de ácido sulfúrico (1+9), luego se puso nuevamente a hervir hasta que el volumen se redujo a un tercio.

Luego se puso a enfriar, se filtró y se extrajo en un embudo de decantación con 3 cantidades de cloroformo (30, 25 y 20 ml).

La fase orgánica se pasó a otro embudo de decantación. Para luego extraer la fase clorofórmica con 5.0 ml de solución de hidróxido de potasio al 1.0 % y se pasó la fase orgánica a una cápsula previamente tarada a través de sulfato de sodio anhidro.

La solución alcalina se lavó por 2 veces con 10 ml de cloroformo cada una y se reunió estas porciones en la cápsula.

Después se evaporó los extractos clorofórmicos en baño de agua hirviendo por un espacio de tiempo de 10 minutos aproximadamente.

Por último el producto obtenido se secó en la estufa a 105 °C hasta que obtuvo su peso constante.

4. Cálculo de resultados:

C = % Cafeína

$$C = \frac{(a - b) \times 100}{p}$$

Donde:

a = peso de la cápsula más residuo (g)

b = peso de la cápsula sin residuo (g)

p = peso de la muestra seca (g)

5. Presentación de resultados:

Los resultados se sistematizaron en tablas comparativas entre las diferentes zonas de estudio como:

- Zona de estudio
- Altura (msnm)
- Porcentaje de concentración de cafeína (%)
- Gráficos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Determinación del contenido de cafeína en hojas

Tabla 1. Contenido de cafeína en muestras de hojas de *Ilex guayusa* Loes.

Zona de estudio	Código	Altitud (msnm)	% Cafeína por muestra				% Cafeína promedio
			1	2	3	4	
Chililique	CH2	1157	1.283	1.222	1.209	1.183	1.224
	CH1	1172	1.504	1.432	1.390	1.410	1.434
	CH3	1182	1.510	1.589	1.602	1.550	1.563
Nueva Esperanza	NE1	1400	1.686	1.699	1.675	1.700	1.690
	NE2	1441	1.632	1.701	1.789	1.755	1.719
	NE3	1443	1.810	1.810	1.800	1.822	1.811
Marizagua	MZ3	1558	1.926	1.908	1.938	1.999	1.943
	MZ2	1559	1.900	2.320	1.970	2.297	2.122
	MZ1	1560	2.564	2.410	2.680	2.760	2.604
	MZ4	1562	2.806	2.751	2.798	2.981	2.834

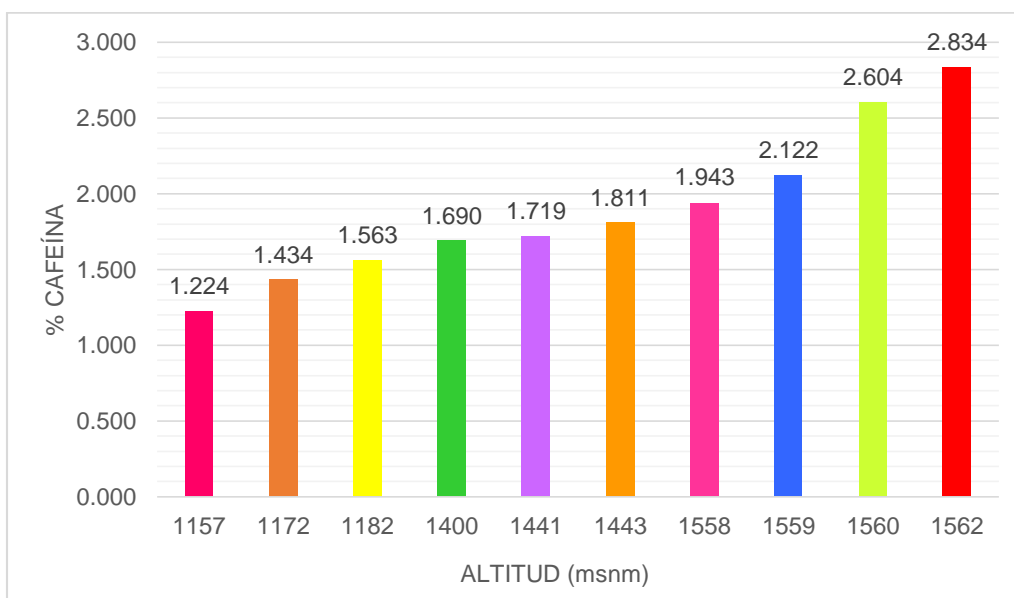


Gráfico 1. Porcentaje de cafeína en las muestras por altitud.

Se analizó 40 muestras de *Ilex guayusa* Loes de 10 colectas realizadas a diferentes altitudes en las 3 zonas de estudio elegidas (Anexo 2).

La tabla 1 muestra los valores obtenidos en el análisis de cafeína ordenados de menor a mayor. Así mismo, en el gráfico 1 se observa una gran variabilidad entre las diferentes muestras.

Como se puede apreciar en el gráfico 1, los contenidos de cafeína obtenidos en la zona de estudio 1 (Chililique) donde la altura oscila entre 1157 y 1182 msnm, fueron de 1.224 % como mínimo y 1.563 % como máximo. En la zona de estudio 2 (Nueva Esperanza) el porcentaje de cafeína mínimo fue 1.690 % a una altitud de 1400 msnm y se obtuvo un máximo de 1.811 % a una altitud de 1443 msnm. Por último en la zona 3 (Marizagua) el porcentaje de cafeína a una altura de 1558 msnm es 1.943 % y a 1562 msnm es de 2.834 %. Habiéndose encontrado los mayores porcentajes de cafeína en la zona 3 (Marizagua).

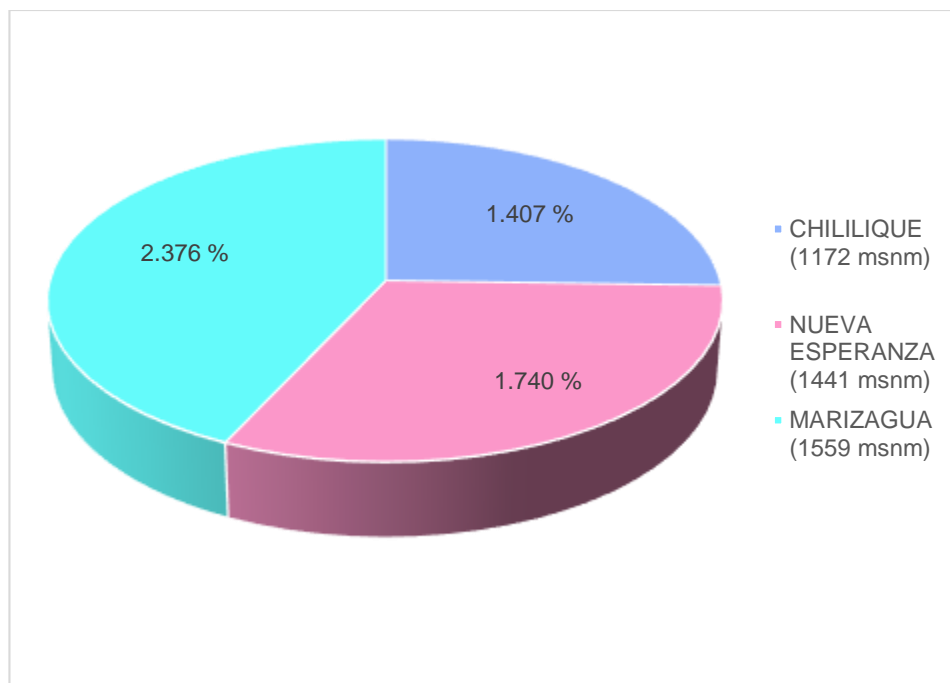


Gráfico 2. Promedio de cafeína en *Ilex guayusa* Loes por zona de estudio.

Como se puede apreciar en el gráfico 2, el promedio de cafeína contenido en *Ilex guayusa* Loes por zona de estudio en base a los análisis realizados es de 1.407 % en la zona 1 (Chililique); 1.740 % en la zona 2 (Nueva Esperanza) y de 2.376 % en la zona 3 (Marizagua).

4.1.2. Determinación del contenido de cafeína en frutos y ramas

Tabla 2. Contenido de cafeína en muestras de frutos de *Ilex guayusa* Loes por zona

Zona de estudio	Código	Altitud (msnm)	% Cafeína por muestra		% Cafeína promedio
			1	2	
Chililique	CH1	1172	0.200	0.198	0.199
Nueva Esperanza	NE1	1441	0.264	0.221	0.243
Marizagua	MZ1	1559	0.360	0.294	0.327

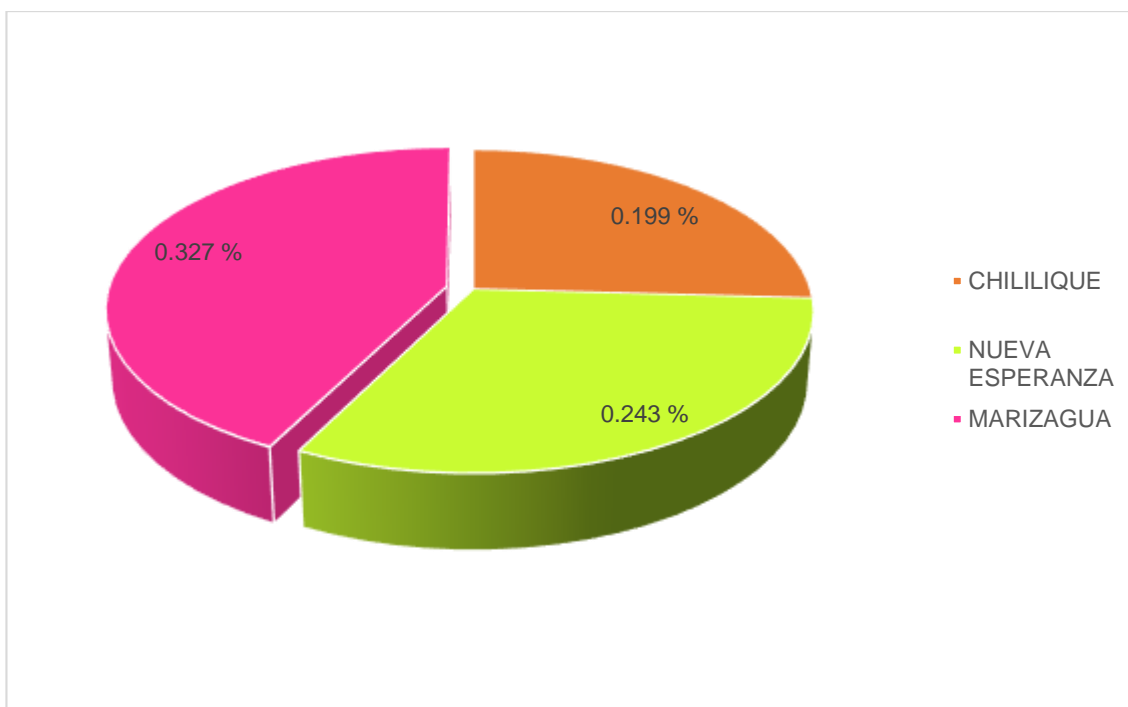


Gráfico 3. Contenido de cafeína en frutos de guayusa

En la tabla 2 y gráfico 3, se muestran los resultados del análisis de cafeína en los frutos de guayusa. En este caso solo se analizaron 6 muestras de frutos; de 3 colectas realizadas, una por zona a una altura promedio de las plantas obteniendo la cafeína de estas.

En cuanto al análisis de los frutos la cafeína obtenida en las zonas de estudio fueron: En la zona 1 (Chililique) a una altitud de 1172 msnm el porcentaje obtenido fue de 0.199 %; en la zona 2 (Nueva Esperanza) a una altitud de 1441 msnm, la cafeína promedio es 0.243 % y para la zona 3 (Marizagua) a una altitud de 1559 msnm fue de 0.327 %. Obteniendo el mayor porcentaje del contenido de cafeína en la zona 3 (Marizagua).

Tabla 3. Contenido de cafeína en muestras de ramas de *Ilex guayusa* Loes por zona de estudio

Zona de estudio	Código	Altitud (msnm)	% Cafeína por muestra		% Cafeína promedio
			1	2	
Chililique	CH1	1172	0.400	0.369	0.385
Nueva Esperanza	NE1	1441	0.414	0.445	0.430
Marizagua	MZ1	1559	0.525	0.399	0.462

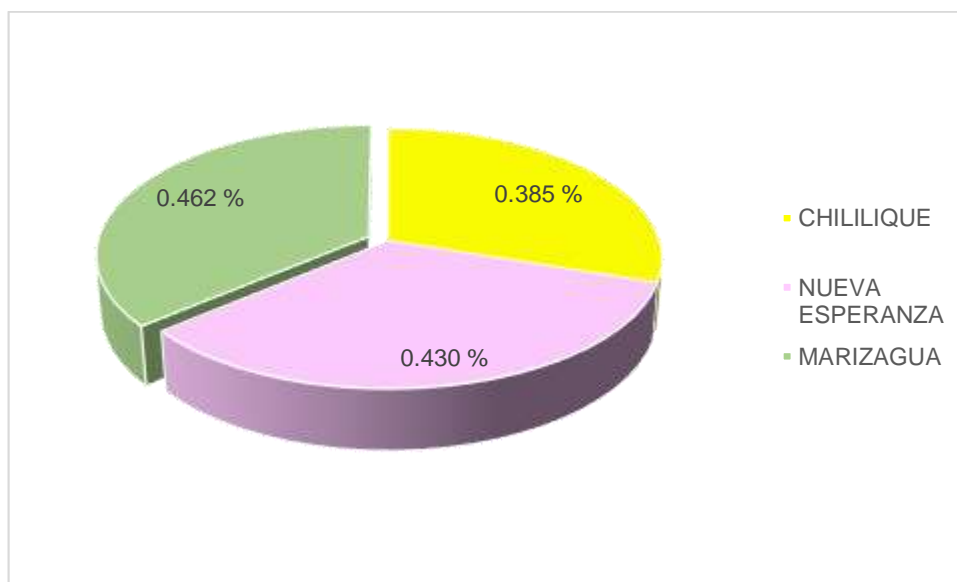


Gráfico 4. Contenido de cafeína en ramas de guayusa

En la tabla 3 y gráfico 4, se muestran los resultados del análisis de cafeína en ramas de guayusa. Se analizaron 6 muestras de ramas; de 3 colectas realizadas.

De las muestras colectadas de ramas se analizaron y determinaron el porcentaje de cafeína, teniendo como resultado de las colectas realizadas a una altura de 1172 msnm (Chililique) la cafeína obtenida es de 0.385 %; a 1441 msnm (Nueva Esperanza) el porcentaje es de 0.430 % y por último a una altitud de 1559 msnm (Marizagua) se obtuvo 0.462 % de cafeína. Obteniendo el mayor porcentaje del contenido de cafeína en Marizagua.

4.1.3. Contenido de cafeína en guayusa *Ilex guayusa* Loes

Tabla 4. Contenido de cafeína en muestras de guayusa - *Ilex guayusa* Loes por zona

Lugar	Hojas (%)	Ramas (%)	Frutos (%)	Promedio (%)	Altitud (msnm)
Chililique	1.407	0.385	0.199	0.6635	1172
Nueva Esperanza	1.740	0.430	0.243	0.804	1441
Marizagua	2.376	0.462	0.327	1.055	1559

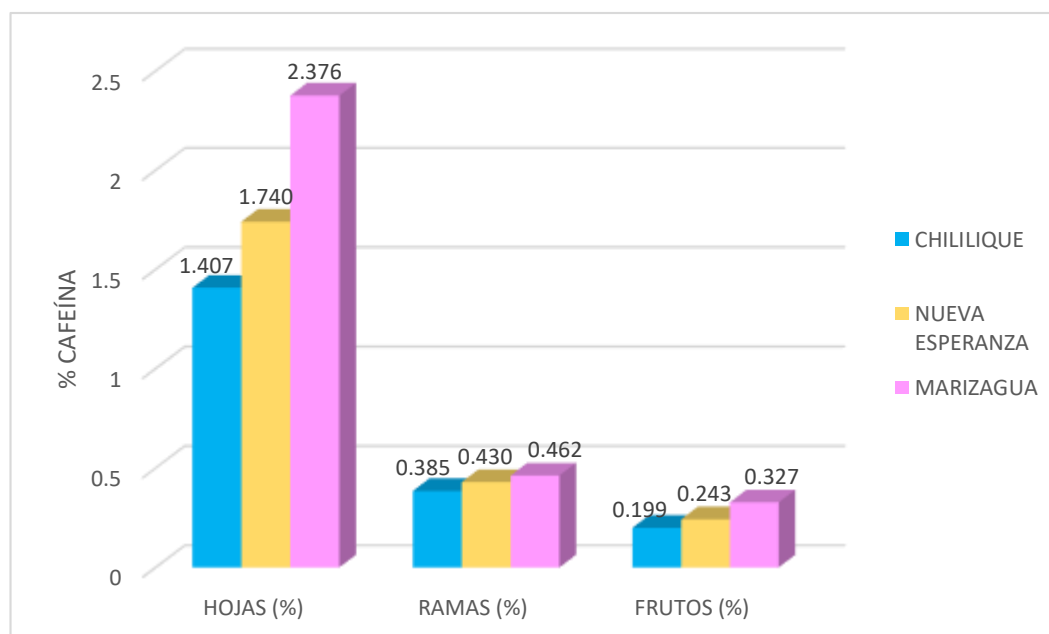


Gráfico 5. Contenido de cafeína en *Ilex guayusa* Loes

En la tabla 4 y gráfico 5, se muestra el consolidado total de los porcentajes promedios de cafeína obtenidos en hojas, ramas y frutos.

Como podemos apreciar en el gráfico 5, los contenidos de cafeína obtenidos en hojas fueron: en Chililique (1172 msnm) el porcentaje de cafeína fue de 1.407 %, en Nueva Esperanza (1441 msnm) el porcentaje fue 1.740 % y en Marizagua (1559 msnm) fue de 2.376 %.

En el análisis de ramas la cafeína obtenida fue la siguiente: en Chililique (1172 msnm) el porcentaje de cafeína fue de 0.385 %, en Nueva Esperanza (1441 msnm) el porcentaje fue 0.430 % y en Marizagua (1559 msnm) fue de 0.462 %.

En frutos, el promedio de cafeína por zona de estudio en base a los análisis realizados es de 0.199 % en Chililique (1172 msnm), 0.243 % en Nueva Esperanza (1441 msnm) y 0.327 % en Marizagua (1559 msnm).

Tabla 5. Contenido de cafeína en muestras de guayusa - *Ilex guayusa* Loes por zona

Lugar	Altitud (msnm)	Contenido de Cafeína (g)			Contenido de Cafeína (%)		
		Hojas	Ramas	Frutos	Hojas	Ramas	Frutos
Chililique	1172	0.070	0.019	0.010	1.407	0.385	0.199
Nueva Esperanza	1441	0.087	0.021	0.012	1.740	0.430	0.243
Marizagua	1559	0.112	0.023	0.016	2.376	0.462	0.327

En la tabla 5, se muestra la comparación de los resultados de cafeína obtenidos en gramos y en porcentaje.

Para la zona 1 (Chililique) se obtuvo 0.070 g en hojas, 0.019 g en ramas y 0.010 g en frutos; en la zona 2 (Nueva Esperanza) la cantidad de cafeína en hojas es de 0.087 g, en ramas es de 0.021 g y en frutos es de 0.012 g; en la zona 3 (Marizagua) en hojas se obtuvo 0.112 g, en ramas 0.023 g y en frutos 0.016 g.

4.1.4. Comparación del contenido de cafeína de la guayusa con otras especies

Tabla 6. Contenido de cafeína en diferentes especies

Especie	Nombre Comun	% Cafeína	Parte de la planta
<i>Ilex guayusa</i> Loes	Guayusa	2.8	Hojas
<i>Camelia sinensis</i>	Te	2.0	Hojas
<i>Ilex paraguayensis</i>	Yerba mate	2.0	Hojas
<i>Theobroma cacao</i>	Cacao	0.3	Fruto
<i>Coffea canephora</i>	Café variedad robusta	2.2	Fruto
<i>Coffea arabica</i>	Café variedad arábica	1.2	Fruto
<i>Cola acuminata</i>	Cola	2.5	Fruto
<i>Paullinia cupana</i>	Guaraná	6.2	Fruto

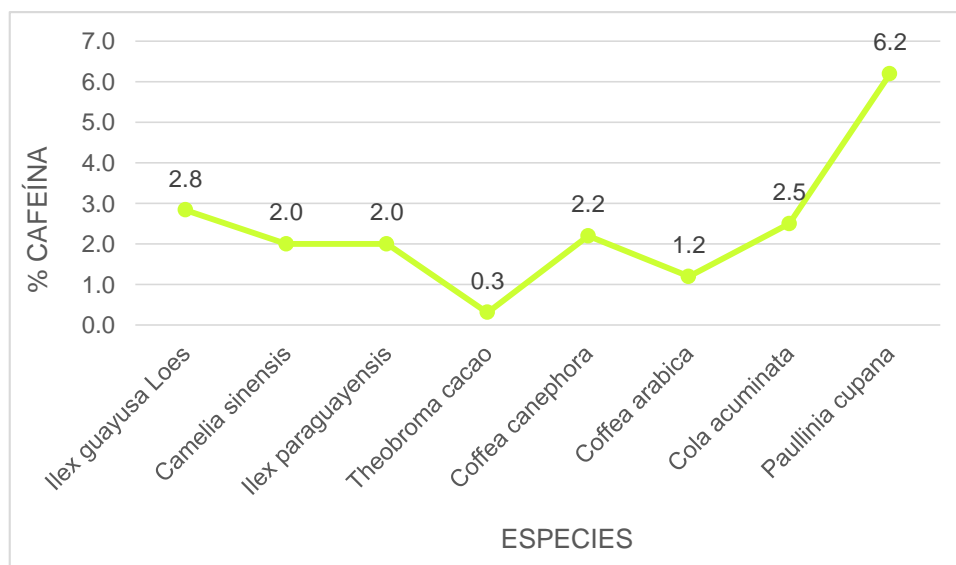


Gráfico 6. Contenido de cafeína de diferentes especies

En la tabla 6 y gráfico 6, se muestra la comparación de los porcentajes de cafeína de diferentes especies estudiadas por Calle (2011) con los valores obtenidos en este estudio.

Al analizar el gráfico 6, la guayusa (*Ilex guayusa*) contiene 2.8 % en comparación con la yerba mate (*Ilex paraguayensis*) que solo tiene un máximo de 2 %, existe cierta variación a pesar de que ambas especies son del género *Ilex*; para el caso del café el contenido de cafeína aumenta o disminuye según la variedad, para la variedad *robusta* (*Coffea canephora*) tenemos 2.2 % y para la variedad *arábica* (*Coffea arabica*) solo 1.2 %, el té (*Camellia sinensis*) tiene 2 % de cafeína y la cola (*Cola acuminata* Beauv) 2.5 % de cafeína; tenemos al cacao (*Theobroma cacao* L.) contiene cantidades mínimas de cafeína, llegando a un máximo de 0.3%. El guaraná (*Paullinia cupana*) contiene la mayor cantidad de cafeína teniendo un máximo de 6.2%, en comparación con *Ilex guayusa* la diferencia es de 3.4% (Calle 2011).

4.2. Discusión

Para las 40 muestras analizadas se observa que el contenido de cafeína promedio máximo es de 2.834 %, esto implica que la guayusa podría contener más cafeína que otras especies. Para el caso de la investigación de Melo (2014) a una altitud promedio de 808 msnm determinó que el contenido máximo de cafeína fue de 1.664%. La variabilidad del contenido de cafeína en las hojas, ramas y frutos también depende de otros factores relacionados con el mecanismo de degradación, los cuales a su vez dependen de la ubicación geográfica de crecimiento, temporada de recolección, variación de exposición a la luz solar y altitud de cada planta utilizada.

Investigaciones han demostrado que la cafeína en las hojas secas puede alcanzar niveles de 2.9 % (RENASE Cía Ltda, 2009), 3.28 % (Chiriboga 2009), 3.33 % (Lewis *et al.* 1991) y hasta 3.66 % (Arias y Gualli 2013), la diferencia en el contenido de cafeína con los resultados obtenidos se puede explicar por la metodología utilizada, la edad de la hoja, ya que se ha demostrado que las hojas jóvenes pueden contener un mayor contenido de cafeína (Melo 2014). Esto es por el hecho de que la cafeína actúa como insecticida natural debido a que las hojas jóvenes son más vulnerables al ataque de los insectos (Cseke 2006). Otros factores que podrían explicar estos resultados son la temperatura de extracción y en menor grado el tiempo de cocción de la muestra.

El porcentaje máximo de cafeína encontrado en hojas de *Ilex guayusa* fue de 2.834% que posee una variabilidad muy notoria con otras especies, comparamos los resultados con los obtenidos en la investigación de Calle (2011), quien determinó el contenido de cafeína de diferentes productos comerciales, podemos decir que especies del mismo género (*Ilex*), tienen diferentes contenidos de cafeína como es el caso de la yerba mate (*Ilex paraguayensis*) que su contenido de cafeína es de 2% en peso seco; en el caso del café (*Coffea* sp.) tienen una composición diferente según la variedad, en la variedad *arábica*, la cafeína comprende el 1,2 % y en la variedad *robusta*, la cafeína comprende el 2,2 % de la materia seca lo cual es muy variable con respecto a *Ilex guayusa*. En el té (*Camellia sinensis*) la cafeína es de 2 %, en los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) la cafeína aparece en cantidades mínimas llegando a un máximo de 0.31 %; en las bebidas de cola (*Cola acuminata* Beauv.) el porcentaje de cafeína es de 2.5 % y las semillas de guaraná (*Paullinia cupana*), contienen 6,2 %.

Con respecto al análisis de cafeína en frutos y ramas de guayusa no existen referencias anteriores y la cafeína en frutos tiene un máximo de 0.327% y en tallos se obtuvo un máximo de 0.462%.

La guayusa, tiene un efecto péptico, ayuda a mejorar la digestión, se le atribuyen propiedades hipoglucemiantes en los pacientes diabéticos (Pacha 2012). Conociendo ya lo mencionado por este autor se conoce que las hojas de las zonas con una altitud de 1562 msnm (Marizagua), contienen un porcentaje mayor de cafeína (2.834%) en comparación a 1.224% en una altitud de 1157 msnm (Chililique), esto se debe a que en las zonas más altas el tiempo de maduración es lenta, así como los frutos tienen más tiempo en concentrar todos sus nutrientes y sabias naturales en ellas, las hojas tienen un mayor tiempo de concentración de los nutrientes que están presentes en el suelo.

La importancia de la altitud en la concentración de la cafeína en las hojas, frutos y tallos; es considerado muy importante para el mejor aprovechamiento y calidad del producto (concentración de cafeína), como se mencionó

anteriormente la cafeína es un alcaloide del grupo de las xantinas, sólido cristalino (Radice y Vidari 2007). Es por ello que de acuerdo a su estructura molecular la cafeína se concentra mejor en zonas más altas, en donde encuentra las condiciones necesarias para un mejor desarrollo.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Se determinó el contenido de cafeína en 40 muestras de hojas, 6 muestras de ramas y 6 muestras de frutos de guayusa (*Ilex guayusa* Loes), con muestras obtenidas a diferentes altitudes, en los sectores de Chililique, Nueva Esperanza y Manizagua.

El contenido de cafeína en las hojas en las tres zonas de estudio son: 1 (Chililique), donde la altura oscila entre 1157 y 1182 msnm, se determinó una concentración de 1.224 % como mínimo y 1.563 % como máximo. En la zona de estudio 2 (Nueva Esperanza), se determinó una concentración de 1.690 % a una altitud de 1400 msnm y se obtuvo un máximo de 1.811 % a una altitud de 1443 msnm. Y en la zona 3 (Marizagua), se determinó una concentración de 1.943 % a una altura de 1558 msnm y se obtuvo un máximo de 2.834 % a una altura de 1562 msnm.

Los resultados obtenidos de cafeína en los frutos en las tres zona de estudio son: En la zona 1 (Chililique) a una altitud de 1172 msnm el porcentaje obtenido fue de 0.199 %; en la zona 2 (Nueva Esperanza) a una altitud de 1441 msnm, la cafeína promedio es 0.243 % y para la Zona 3 (Marizagua) a una altitud de 1559 msnm fue de 0.327 %.

Los resultados obtenidos de cafeína en las ramas en las tres zona de estudio son: en la zona 1 a una altura de 1172 msnm (Chililique), la cafeína obtenida es de 0.385 %; en la zona 2 a una altura de 1441 msnm (Nueva Esperanza) el porcentaje es de 0.430 % y por último en la zona 3 a una altitud de 1559 msnm (Marizagua) se obtuvo 0.462 % de cafeína.

Se determina que el mayor contenido de cafeína en la guayusa (*Ilex guayusa* Loes) fue la encontrada en la Zona 3 (Marizagua), lugar que se ubica a una altitud promedio de 1565 msnm, en donde el porcentaje máximo de cafeína encontrado en las hojas es de 2.834%, en ramas es de 0.462% y frutos es de 0.327%. Se determinó que el mejor aprovechamiento de la cafeína en la

guayusa fue en las hojas, en comparación a las ramas y frutos, para la elaboración del té se utilizan las hojas maduras, ya que las hojas tiernas no contienen las cantidades de cafeína deseada, disminuyendo la calidad del té.

La cafeína es utilizada debido a que posee propiedades miorrelajantes, estimula el organismo disminuyendo la sensación de cansancio, mejora el rendimiento físico permitiendo prolongar el esfuerzo durante mucho más tiempo, es diurética y antioxidante.

La cantidad de cafeína obtenida en hojas de guayusa es muy importante, debido a que el consumo de esta tiene muchos beneficios para el ser humano, ya que posee muchas propiedades; es energizante, digestiva, emético, diaforético, diuréticas, tónica, expectorante, hipoglucémico, desinflamatoria, emenagogo, reconstituyente, agua aromática, fortificante de la sangre, contra la infertilidad, contra las reumas, mejora el sueño.

Guayusa es una especie que se puede utilizar para realizar siembras en sistemas agroforestales, silvopastoriles o enriquecimiento de bosque, se debe sembrar utilizando terrenos subutilizados, pastizales sin manejo, como cerca o en áreas comunitarias, teniendo importancia en la recuperación de áreas deforestadas.

Según los valores determinados en el trabajo de investigación la especie *Ilex guayusa* Loes puede ser usada en la preparación de té en los hogares.

5.2. Recomendaciones

Se recomienda realizar estudios para determinar el contenido de cafeína en hojas, frutos y ramas de *Ilex guayusa* Loes, con métodos de mayor precisión como la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), con la finalidad de obtener posibles mejores resultados.

Se recomienda realizar estudios de la concentración de la cafeína de la planta de guayusa (*Ilex guayusa* Loes) en diferentes épocas de recolección y estadios de la planta.

Se recomienda sembrar guayusa por estacas ya que se observa regeneración natural. Tiene buena capacidad de rebrote (3 a 5 meses) y este atributo la convierte en una especie ideal para ser manejada en los potreros como aporte de follaje y cerco vivo.

Se recomienda tomar las hojas de guayusa porque suprime la fatiga y brinda agilidad física y mental, es un antioxidante y regulador de la presión arterial; además posee una amplia gama de ventajas medicinales; entre éstas se destaca la reducción de los dolores de cabeza y del cuerpo, también sirve para las afecciones gripales. La mezcla única de teofilina, teobromina y cafeína hace exclusiva a la guayusa, esto facilita la sensación de conciencia y presencia en todo el cuerpo.

Se recomienda realizar un estudio bromatológico en hojas de guayusa para ver otras propiedades de uso.

Se recomienda un tiempo de cocción de unos 6 minutos aproximados para que no afecte el sabor de la bebida o durante más tiempo si quieres un sabor más fuerte. La medida recomendada es 2 gramos por cada taza de agua.

Se recomienda investigar la concentración de cafeína en hojas jóvenes, adultas y caídas.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aizpurua, A.; Besga, G.; Domingo, M.; y Amenabar, R. 1996. Análisis foliar, normas para el muestreo de hojas en frutales de hueso y pepita. N°40 1^{er} trimestre. SIMA Gobierno Vasco - España.

AOAC (Association of Official Analytical Chemist) official Method 925.17. 2014. Caffeine in tea Modified Bailey- Andrew Method. AOAC 18th Edition. Chile.

Arias, R y Gualli, A. 2013. Estudio Comparativo del Té de la especie (*Ilex guayusa*) procedente de la Región Amazónica y el producto comercial de la empresa "Aromas del Tungurahua". Escuela superior politécnica del litoral. Guayaquil – Ecuador.

Barriga, H. 1992. Flora medicinal de Colombia. Tomo II. Tercer Mundo. Bogota, Colombia.

Calle, S. 2011. Determinación analítica de la cafeína en diferentes productos comerciales. Universidad Politécnica de Catalunya. Barcelona – España.

Carpintero, N y Salazar M. 2014. Evaluación del efecto anticelulítico de una formulación cosmética a base del extracto alcohólico foliar de guayusa, *Ilex guayusa* Loes (Aquifoliaceae). Universidad politécnica salesiana, sede Quito. Quito – Ecuador.

Cascante, A. 2008. Guía para la recolecta y preparación de muestras botánicas. Herbario Nacional. Museo Nacional de Costa Rica. San José - Costa Rica.

Chiriboga, P. 2009. Industrialización de fundas de hojas de guayusa tipo tisana para infusión enfocada para elevar la calidad de vida de los diabéticos residentes en la ciudad de Quito. Quito - Ecuador.

Collahuazo P. 2012. Plan de manejo de la especie guayusa *Ilex guayusa* L; en la comunidad de Wapu; Macas, Ecuador.

Correa, J. Bernal, H. 1989. Especies vegetales promisorias de los países del convenio Andrés Bello., 1a. ed., Bogotá – Colombia., Editorial Guadalupe. pp. 400-412.

Cseke, L. 2006. Natural products from plants (2nd ed.). Boca Raton, FL: CRC/Taylor & Francis.

ECORAE - Instituto para el Ecodesarrollo de la Región Amazónica Ecuatoriana. 2001. Zonificación ecológica - económica de las provincias de Sucumbíos, Napo, Orellana, Morona Santiago y Zamora Chinchipe. Quito, Ecuador. 50 p.

Galeano, P. y Paladines, M. 2012. Actividad antioxidante de extractos metanólicos de granos de copoazú (*theobroma grandiflorum*), vol. 19, núm. 1, pp. S436-S438. Antioquia Medellín, Colombia

García Barriga, H. 1992. Flora medicinal de Colombia. 2ªed. Editores tercer Mundo. Bogotá, Colombia. Tomo II: 1-537.

Jorgensen, P.M. y S. León-Yáñez. 1999. Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. Missouri Botanical Garden.

Lewis, W., Kennelly, E., Bass, G., Wedner, H., Elvin-Lewis, M., y Fast, D. 1991. Uso ritualizado del acebo *Ilex guayusa* por los indios amazónicos de Jivaro. Diario de Etnofarmacología. Quito – Ecuador.

Lezcano, H. 2015. Cultivo de Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) como Silvopastoril. Paraguay – Itapúa.

Marcilla, A. 1999. Introducción a las Operaciones de Separación Contacto Continuo. España. Publicación de la universidad de Alicante, edición electrónica. 391 p.

Martínez, R., Salinas, k. y Valdivieso, A. 2013. Proyecto asociativo entre la fundación runa y la empresa Kallari, productoras del cacao y de la planta de guayusa para la producción y comercialización de un fitofármaco que eleve el rendimiento mental aplicado a los estudiantes universitarios de la ciudad de

quito. Quito – Ecuador. Tesis para la obtención del grado de ingeniero comercial - Universidad Politécnica Salesiana. 101 p.

Melo V. 2014. Composición y Análisis Químico de la Especie *Ilex guayusa* Loes. Quito - Ecuador. Tesis para obtener el grado de Ingeniero Químico – Universidad San Francisco de Quito. 83 p.

Pacha A. 2012. Comprobación del efecto adelgazante de la Tintura de guayusa (*Ilex guayusa*) en ratones (*Mus musculus*) con sobrepeso inducido. Riobamba – Ecuador. Tesis para obtener el grado de Químico Farmacéutico - Escuela superior politécnica de Chimborazo. 134 p.

Patiño, V. (1968). Guayusa, un estimulante descuidado de las estribaciones andinas orientales. Botánica Económica.

Rednaturaleza. 2017. Red naturaleza, el portal de la naturaleza (En línea). Consultado el 03 de Agosto de 2017. Disponible en: <https://rednaturaleza.com/plantas/acebo-ilex-aquifolium>.

Radice, M., y Vidari, G. 2007. Caracterización fitoquímica de la especie *Ilex guayusa* Loes., y elaboración de un prototipo de fitofármaco de interés comercial. La Granja. Quito – Ecuador.

RENASE Cía Ltda. 2009. Análisis Químico de *Ilex guayusa*. Quito – Ecuador.

Reynel Y., Pennington R., Pennington, R.T., Flores, C. y Daza, A. 2003. Árboles útiles de la Amazonia peruana y sus usos. Ed. 1. Edit. Tarea Asociación Gráfica Educativa. Lima - Perú. 536 p.

Reynel Y., Pennington R., Pennington R. T., Marcelo P. y Daza A. 2007. Árboles útiles del Ande Peruano. Diseño e impresión: Tarea Gráfica Educativa. Lima - Perú. 466 p.

Robbins, A, Irimeicu, M y Calderon, R. 1981. Recolección de semillas forestales. Pub. Misc. Nº 2, Escuela Nacional de Ciencias Forestales, Siguatepeque, Honduras.

Silva, A y Panduro, C. 2014. Aislamiento de cafeína de las hojas de *Ilex nayana* (guayusa caspi). Determinación estructural por métodos fisicoquímicos y espectrométricos. Iquitos – Perú.

Torres, G. 2013. El aprovechamiento de la guayusa (*Ilex guayusa loes*), manual de buenas prácticas de recolección para la cosecha de hojas. Fundación Chankuap – Recursos para el futuro. Ecuador.

Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 2016. Bases de datos electrónicas del Missouri Botanical Garden. Consultado el 05 de Julio del 2016. Disponible en <http://www.tropicos.org/Name/2000086>.

Uwi, M. 2006. Promotor Agroecológico. Fundación Chankuap. Comunicación personal. Ecuador.

Valarezo, C. 2004. Caracterización, distribución, clasificación y capacidad de uso de los suelos en la Región Amazónica Ecuatoriana – RAE. Centro de Estudios y Desarrollo de la Amazonía – CEDAMAZ. Universidad Nacional de Loja. PROMSA. Loja, Ecuador. 201 p.

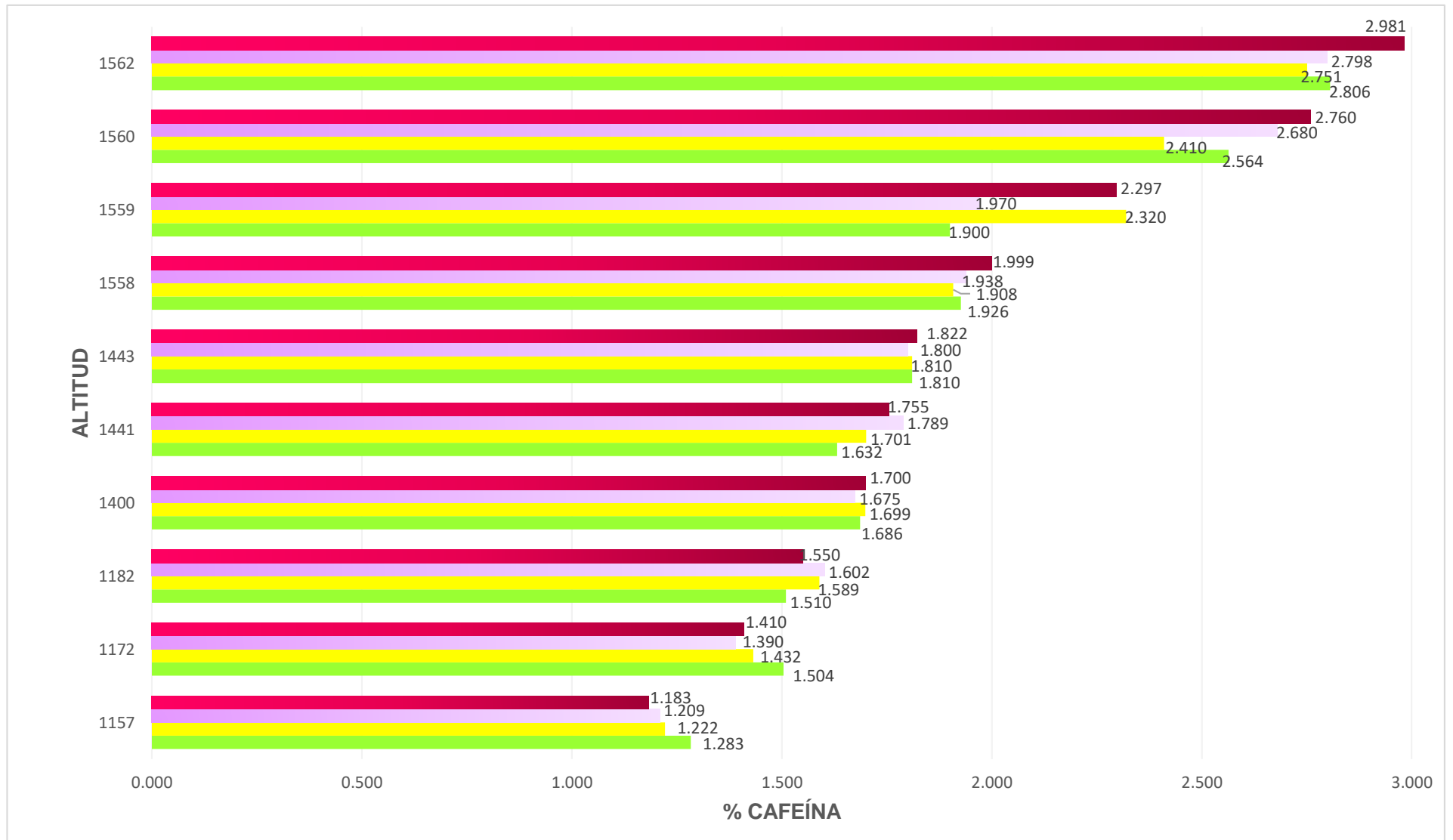
Vásquez M. & Rojas G. 2006. Plantas de la Amazonía Peruana – Clave para Identificar las Familias de Gymnospermae y Angiospermae. Jardín Botánico de Missouri. Ed. 2. Edit. Arnaldoa. Trujillo - Perú. 258 p.

ANEXO

Anexo 1. Base de datos de las colectas realizadas

N°	Código	Fecha	Coordenadas UTM (Este/Norte)		Altitud (msnm)	Sector	Genero/Especie	Nombre común	Diámetro (cm)	Altura Total (m)
1	CH2	16/08/2016	0722427	9429620	1157	Chililique	<i>Ilex gusyusa</i> Loes	Guayusa	40	09
2	CH1	16/08/2016	0722531	9429941	1172	Chililique	<i>Ilex gusyusa</i> Loes	Guayusa	48	13
3	CH3	16/08/2016	0721976	9429970	1182	Chililique	<i>Ilex gusyusa</i> Loes	Guayusa	110	18
4	NE1	17/08/2016	0716108	9436374	1400	Nueva Esperanza	<i>Ilex gusyusa</i> Loes	Guayusa	20	05
5	NE2	17/08/2016	0715808	9436882	1441	Nueva Esperanza	<i>Ilex gusyusa</i> Loes	Guayusa	22	08
6	NE3	17/08/2016	0716730	9435675	1443	Neva Esperanza	<i>Ilex gusyusa</i> Loes	Guayusa	30	09
7	MZ3	17/08/2016	0719543	9431519	1558	Marizagua	<i>Ilex gusyusa</i> Loes	Guayusa	30	10
8	MZ2	17/08/2016	0719545	9431520	1559	Marizagua	<i>Ilex gusyusa</i> Loes	Guayusa	30	10
9	MZ1	17/08/2016	0719544	9431526	1560	Marizagua	<i>Ilex gusyusa</i> Loes	Guayusa	25	08
10	MZ4	17/08/2016	0719545	9431517	1560	Marizagua	<i>Ilex gusyusa</i> Loes	Guayusa	32	09

Anexo 2. Gráfico del contenido de cafeína de todas las muestras de hojas analizadas.



Anexo 3. Formulario Dendrológico

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA FORESTAL
LABORATORIO DE DENDROLOGÍA
SEDE JAÉN**

FORMULARIO DENDROLÓGICO

COLECTOR.....	MUESTRA BOTANICA N°.....
LUGAR	HOJAS ()
ALTITUD	FLORES ()
ZONA DE VIDA.....	FRUTOS ()
NOMBRE (S) COMUN (S).....	FECHA.....
NOMBRE CIENTIFICO.....	FAMILIA.....
ÁRBOLES ACOMPAÑANTES.....	
DAP..... m	Ht m
	Hf m

I. MODIFICACIONES DE LAS RAICES

Tablares	()	Redondas	()
Fúlcreas	()	Neumatóforas	()
Zancos	()	Aéreas	()
Volantes	()		

II. FORMAS DE COPA

Cónica	()	Aparasoladas	()
Globosa	()	Semiglobosa o	
Heterogénea	()	semicircular	()

III. FUSTE O TRONCO

a). Por la forma:

Cilíndrico	()	Acanalado	()
Hinchado	()	Irregular	()
Cónico	()		

b). Otras observaciones:

Con nudos	()	Ramificación	()
Con anillos	()	Verticilada	()
Con aristas	()	Ramificación	
Semicirculares	()	simpodial	()

IV. CORTEZA EXTERNA

a). Apariencia:

Lisa	()	Fisurada	()
Lenticelar	()	Agrietada	()

b). Tipos de lenticelas:

Forma equidimensional	()	Formando grupos	()
Forma alargada	()	En filas verticales	()
Uniformemente distrib.	()	En filas horizontales	()

c). Agujones o espinas:

Solitarios	()	Triangulares	()
Agrupados	()	Cónicos	()

d). Ritidoma: (Consistencia y desprendimiento)

Papirácea	()	En escamas	()
Cartácea	()	Suberosa	()
Coriácea	()	Placas rectangulares	()
Leñosa	()	Irregularmente	()

V. CORTEZA INTERNA

a). Textura:

Laminar	()	Arenosa	()
Fibrosa	()	Esponjosa	()
b). Características organolépticas:			
Color claro	()	Color oscuro	()
Color medio	()	Olor perceptible	()
c). Secreciones:			
Látex	()	Exudado abundante	()
Resina	()	Exudado escaso	()
Saviosa	()	Secreción blanca o cristalina	()
Mucílago	()	Secreción de color	()
Pegajosa	()	Olor característico	()
No pegajoso	()	Sabor característico	()

VI. RAMITAS TERMINALES

a). Número de limbos:

Simple	()	Imparipinnada	()
Bifoliada	()	Paripinnada	()
Trifoliada	()	Bipinnada o tripinnada	()
Digitada	()		

b). Posición de las hojas en las ramitas:

Alternas	()	Decusadas	()
Opuestas	()	Agrupadas al extremo	()
Helicoidales	()	Simpodiales	()
Dísticas	()		

c). Formas del limbo:

Redondas	()	Espatuladas	()
Elípticas	()	Deltoides	()
Oblongas	()	Cordadas	()
Ovadas	()	Reniformes	()
Obovadas	()	Sagitadas	()
Lanceoladas	()	Falcadas	()
Oblanceoladas	()	Irregulares	()

d). Borde del Limbo:

Entero	()	Sectado	()
Sinuado	()	Dentado	()
Ondeadado	()	Aserrado	()
Crenado	()	Convolutado	()
Hendido	()	Revoluto	()
Partido	()	Plano	()

e). Por el ápice:

Emarginado	()	Atenuado	()
Truncado	()	Acuminado	()
Redondo	()	Mucronado	()
Obtuso	()	Caudado acuminado	()
Agudo	()		

f). Por la base:

Cordada	()	Atenuada	()
Truncada	()	Decurrente	()
Redonda	()	Auriculada	()
Obtusa	()	Irregular	()
Aguda	()		

g) Por la nervadura:

Trinervada	()	Pinnatinerva oblicua	()
Palminervada	()	Pinnatinerva recta	()
Curvinervada	()	Pinnatinerva curv	()
Reticulada	()	Anastomosada	()

h). Por el pecíolo:

Sésil	()	Raquis alado	()
Peltado	()	Sección plana o acanalado	()
Decurrente	()		

Anexo 4. Constancia de verificación de las muestras botánicas



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA FORESTAL
Sede Jaén



LABORATORIO DE DENDROLOGÍA

El que suscribe, responsable del Laboratorio de Dendrología de la Universidad Nacional de Cajamarca – Sede Jaén, deja:

CONSTANCIA

Que, la Srta. **Gisela Solange Saavedra Rojas**, solicitó la verificación de muestra botánica a esta dependencia, se detalla a continuación:

Nº	Género / especie	Familia	Nombre común
01	<i>Ilex guayusa</i> Loes.	Aquifoliaceae	Guayusa

Se expide la presente a solicitud de la interesada para los fines que estime por conveniente.

Jaén, 07 de Febrero de 2017.



Ing. Leiver Flores Flores
Responsable Lab. Dendrología
UNC – Sede Jaén

Anexo 5. Panel fotográfico

Foto 1: Toma de datos con el GPS



Foto 2: Toma de datos en la libreta de apuntes



Foto 3: Planta de guayusa



Foto 4: Hojas y frutos de guayusa



Foto 5: Hojas y frutos de guayusa



Foto 6: Flores de guayusa



Foto 7: Colecta de hojas de guayusa



Foto 8: Medición del DAP



Foto 9: Rama y hojas de guayusa



Foto 10: Embolsado de las hojas en campo



Foto 11: Secado de las hojas de guayusa



Foto 12: Hojas secas



Foto 13: Muestras de hojas de guayusa secas por zona de estudio



Foto 14: Pulverizado de las muestras



Foto 15: Proceso de pulverizado



Foto 16: Muestras pulverizadas



Foto 17: Preparación de reactivos



Foto 18: Pesaje de 5g de la muestra pulverizada y tamizada



Foto 19: Reactivos utilizados



Foto 20: Preparación de la muestra



Foto 21: Pesaje de 10.0 g de MgO



Foto 22: Hervir lentamente la muestra por dos horas



Foto 23: Enfriar y filtrar



Foto 24: Extracción en el embudo de decantación con 3 cantidades de cloroformo (30, 25 y 20 ml)



Foto 25: Paso de la fase orgánica a otro embudo de decantación



Foto 26: Extracción de la fase clorofórmica con 5ml de KOH al 1%



Foto 27: Pesaje de la cápsula de porcelana



Foto 28: Pasar la fase orgánica a través de Na_2SO_4



Foto 29: Secar en la estufa a 105°C hasta peso constante



Foto 30: Muestras de cafeína



Foto 31: Reacción Murexida.



Foto 32: Muestra para identificación taxonómica

