



UNIVERSIDAD DE BELGRANO

Las tesis de Belgrano

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Carrera Farmacia

Identificación y cuantificación de polifenoles
en yerba mate y brebajes

N° 497

Natalia Anusic

Tutora: Erica Wilson

Departamento de Investigaciones
2011

Universidad de Belgrano
Zabala 1837 (C1426DQ6)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires - Argentina
Tel.: 011-4788-5400 int. 2533
e-mail: invest@ub.edu.ar
url: <http://www.ub.edu.ar/investigaciones>

A mi familia y en especial a mi ahijadita Olivia que la quiero mucho.

Agradecimientos

A mi esposo Juan Pablo por ser mi respaldo en toda la carrera y en la vida.

A la Doctora Erica Wilson por dirigir el desarrollo de esta tesina.

A mis compañeros del laboratorio Alí, Juan y Nacho que me escucharon y apoyaron en este trabajo.

A mi hermana Tamara por darme siempre palabras de aliento.

Resumen:

Las hojas y tallos de *Ilex paraguariensis* St. Hil. var. *paraguariensis* son industrializados para preparar productos comerciales denominados “yerba mate”, la cual es utilizada para preparar distintos tipos de brebajes que son de gran popularidad en nuestro país, en Uruguay, Paraguay y sur de Brasil. Además de formar parte de la dieta diaria de gran cantidad de personas, al mate se le atribuyen propiedades beneficiosas como colerético, hipocolesterolémico, antioxidante, hepatoprotector, diurético, controlador del peso y la obesidad, entre otros.

En el presente trabajo se han identificado y cuantificado los compuestos polifenólicos presentes en yerba mate y en los brebajes preparados con la misma mediante dos métodos analíticos diferentes. Por un lado la técnica analítica espectrofotométrica a través de la Reacción de Folin-Ciocalteu que permitió cuantificar compuestos polifenólicos totales. Esto se hizo aplicando el método clásico de Singleton et al., 1999.

Los resultados obtenidos para *Ilex paraguariensis*, yerba mate sin palo y yerba mate con palo fueron, 5,23 gGAE/100g, 4,86 gGAE/100g y 3,64 gGAE/100g respectivamente. Se determinaron además en brebajes preparados de forma tradicional siendo estos, mate cocido, mate caliente o “chimarrao”, mate frío o “tereré” y mate cocido en saquitos, para los cuales los valores obtenidos fueron 860,50 mgGAE/1taza, 993,59 mgGAE/6mates, 563,5 mgGAE/6mates y 648,00 mgGAE/1taza respectivamente.

Por otro lado se llevó a cabo la técnica analítica HPLC/DAD con la cual se detectó en todas las muestras vegetales y brebajes, la presencia de ácido cafeico, rutina, ácidos monocateoilquínicos (ácidos 3-cafeoilquínico, 4-cafeoilquínico y 5-cafeoilquínico) y ácidos dicafeoilquínicos (ácidos 3,4-dicafeoilquínico, 3,5-dicafeoilquínico y 4,5-dicafeoilquínico). Las condiciones cromatográficas de análisis fueron Columna Gemini C18- 5 μ - 4.60 mm (Phenomenex), utilizando como fase móvil dos solventes A: Ácido fosfórico 0,1%; B: Acetonitrilo: Ácido fosfórico (100.0:0,1); Detectados a 325/255 nm. También se analizó el contenido de estos compuestos en hojas verdes de *Ilex paraguariensis* obteniéndose valores para ácido cafeico, rutina y ácidos monocateoilquínicos de 0,0114 g/100g, 0,45 g/100g y 2,61 g/100g respectivamente, en yerba mate con palo los valores fueron 0,0113 g/100g, 0,44 g/100g y 2,66 g/100g respectivamente, mientras que para yerba mate sin palo se obtuvieron valores de 0,0152 g/100g, 0,55 g/100g y 3,13 g/100g respectivamente. Los brebajes fueron preparados todos con yerba mate con palo de forma tradicional. En el caso de mate cocido se obtuvieron valores de 2,219 mg/1taza, 0,0688 g/1taza y 0,560 g/1taza de ácido cafeico, rutina y ácidos monocateoilquínicos respectivamente, mientras que en el mate caliente o “chimarrao” se detectó 1,872 mg/6mates, 0,0755 g/6mates y 0,686 g/6mates respectivamente y por último se valoró mate frío o “tereré” donde se obtuvieron valores de 0,979 mg/6mates, 0,042 g/6mates y 0,397 g/6mates respectivamente.

Se comprobó la ausencia de quercetina y canferol.

Listado de Siglas:

AC	Ácido cafeico
CGA	Ácidos clorogénicos
5-CQA	Ácido 5-cafeoilquínico
4-CQA	Ácido 4-cafeoilquínico
3-CQA	Ácido 3-cafeoilquínico
Cf	Cafeína
DAD	Detector de arreglo de diodos
3,4-DCQ	Ácido 3,4-dicafeoilquínico
3,5-DCQ	Ácido 3,5-dicafeoilquínico
4,5-DCQ	Ácido 4,5-dicafeoilquínico
g	Gramo
GAE	Equivalente de Ácido Gálico.
µg mL ⁻¹	Microgramo por mililitro
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Performance
mg g ⁻¹	Miligramo por gramo
Min	Minuto
ml	Mililitro
mm	Milímetro
µm	Micrómetro
nm	Nanómetro
Ru	Rutina
Tb	Teobromina
Tf	Teofilina

Índice

Resumen	5
Listado de siglas	6
1. Introducción	9
2. Objetivos	10
3. Aspectos farmacognósticos de Yerba Mate (<i>Ilex paraguariensis</i> var. <i>paraguariensis</i>) .	10
3.1 Introducción	10
3.2 Descripción botánica de la planta.....	16
3.3 Aspectos ecológicos y fitogeográficos.....	17
3.4 Composición química en <i>Ilex paraguariensis</i>	17
3.5 Actividades biológicas y efectos en la salud	22
3.6 Aplicaciones medicinales de <i>Ilex paraguariensis</i>	24
3.7 Productos elaborados con Yerba mate.....	25
4. Aspectos industriales de <i>Ilex paraguariensis</i>	25
4.1 Prácticas de cultivo.....	26
4.2 Proceso productiv.....	26
4.3 Proceso de elaboración de la Yerba Mate.....	26
4.4 Normativas de la Yerba Mate en Argentina	28
4.4.1 Instituto Nacional de la Yerba Mate (INYM).....	28
4.4.2 Código Alimentario Argentino. Productos Estimulantes o Fruitivos.....	29
5. Cuantificación de compuestos fenólicos totales: Método Folin- Ciocaltea	31
5.1 Introducción y fundamento químico.....	31
5.2 Reacción química.....	31
5.3 Materiales y Métodos	32
5.3.1 Muestras vegetales.....	32
5.3.2 Equipos y materiales utilizados	32
5.3.3 Método: Cuantificación de polifenoles totales	32
5.3.3.1 Curva de calibración de Ácido Gálico.....	32
5.3.3.2 Preparación de las muestras vegetales	33
5.3.3.3 Preparación de brebajes con yerba mate con palo	33
5.4 Resultados y discusión.....	34
6. Cuantificación de compuestos fenólicos mayoritarios:	
Método cromatográfico HPLC	40
6.1 Introducción	40
6.2 Materiales y métodos	41
6.2.1 Materiales vegetales.....	41
6.2.2 Equipos y materiales utilizados	41
6.2.3 Método cromatográfico.....	41
6.3 Preparación de las soluciones.....	42
6.3.1 Fase móvil	42
6.3.2 Solución testigo	42
6.3.3 Muestras vegetales y brebajes	42
6.4 Procedimiento.....	43
6.5 Resultados y discusión.....	43
7. Conclusiones	52
8 Referencias bibliográficas	55
9. Anexos	59

1- Introducción

Ilex paraguariensis Saint Hilaire (Aquifoliaceas) o yerba mate es un cultivo de gran importancia socioeconómica regional. Presenta un elevado consumo doméstico y moviliza a los sectores productivo, industrial y comercial, siendo un cultivo estratégico desde el punto de vista de ocupación de mano de obra.

Se consumen los productos elaborados a partir del procesamiento de sus hojas y ramas jóvenes. En Argentina, se cultiva solo en dos provincias: Misiones y Corrientes, debido a las condiciones agroecológicas necesarias para su desarrollo (Giberti, 1994).

Desde tiempos inmemoriales las plantas han sido no sólo la fuente principal de alimentos sino también una alternativa terapéutica para la humanidad. En los últimos años, tanto en los países desarrollados como en los que están en vías de desarrollo, el uso de productos naturales vegetales con fines medicinales ha mostrado un crecimiento significativo. Esto obedece en parte al mayor acceso a la información y por lo tanto un mejor conocimiento de los consumidores de las bondades de los productos naturales en relación a los compuestos de síntesis. En los países desarrollados existe además una tendencia creciente a consumir productos de origen natural por ser considerados, en términos generales, como más beneficiosos, mientras que en los países en vías de desarrollo el crecimiento en el consumo está mayormente ligado a factores de índole socioeconómico y cultural. Por otro lado existe una demanda creciente de "alimentos funcionales" (functional foods), es decir alimentos que contienen ingredientes activos que podrían actuar sobre las funciones biológicas del cuerpo humano, además de las propiedades nutricionales. Es importante reconocer la importancia que aún hoy tiene la yerba mate, desde formar parte de la balanza alimentaria de los más humildes, hasta de ser componente de distintas infusiones, bebidas espirituosas o complemento alimentario para el tratamiento de enfermedades por sus propiedades benéficas al organismo.

El uso de la Yerba Mate data por lo menos del siglo XVI. Los indios guaraníes la utilizaban como parte de la alimentación diaria por sus propiedades estimulantes. En la actualidad, aproximadamente un 30% de la población consume más de un litro por día en alguna de las formas populares de consumo, las cuales permiten la extracción de los compuestos hidrosolubles presentes en el vegetal. Argentina es el principal productor y consumidor de Yerba Mate y se exporta a Siria, Líbano, Chile, Brasil, Uruguay, Paraguay y Bolivia, Europa (España, Italia y Alemania) y Estados Unidos (Área Infusiones. Dirección de Industria Alimentaria, en base INDEC.).

Al referirnos a la yerba mate, no sólo hablamos de sus presentaciones tradicionales, como la yerba en saquitos o la molienda elaborada para las tradicionales cebadas, sino que se encuentran integrando otros alimentos y presentaciones de especialidades medicinales, a base de la yerba mate y/o sus principios activos que se comercializan en herboristerías o farmacias especializadas en Homeopatía.

La Yerba Mate se encuentra incluida en el Código Alimentario Argentino y el Código Latinoamericano de Alimentos por sus propiedades alimenticias y en las principales Farmacopeas de reconocido valor científico del mundo, entre ellos la de Argentina y Brasil, por sus actividades farmacológicas. La Comisión E ha incluido también una monografía sobre mate y el Comité de medicamentos a base de hierbas (HMPC) de la EMA (Agencia Europea de medicamentos) ha aprobado una monografía de la Comunidad en 2010 bajo el nombre de *Ilex paraguariensis* folium, en el que enumera el uso de la hierba triturada como un té de hierbas. El Deutscher Arzneimittel del Códex de 2010 (DAC) incluye una monografía sobre hojas tostadas de mate (DAC-065) y de hojas verdes de mate (DAC-066), como así también esta codificada en la 10.ed de la Farmacopea Francesa. La Farmacopea Ayurvédica incluye a la yerba mate. En Alemania, la hoja de yerba mate se utiliza como mono- preparado en forma de infusión acuosa, en Estados Unidos, el mate es utilizado en mono-preparados como infusión acuosa, tintura alcohólica y extracto acuoso. La farmacopea británica herbaria (BHP) (1988-1996), también tiene una monografía sobre mate con indicaciones similares a la Comisión Europea.

2.- Objetivos:

2.1- Objetivo general:

El objetivo del presente trabajo fue la determinación del contenido de polifenoles totales en hojas y tallos de *I. paraguariensis*, yerba mate elaborada en la República Argentina y brebajes preparados con la misma: mate cocido, mate en saquitos, mate chimarrao y mate tereré. Para esto se empleó la reacción de Folin-Ciocalteu que es el método más empleado en los últimos años para este fin de acuerdo a un relevamiento de los análisis realizados en trabajos publicados. Dicho método se encuentra codificado en la AOAC (Asociación Oficial de Químicos Analíticos) y además es el método oficial para la determinación de polifenoles en yerba mate establecido por científicos e investigadores reunidos en el V Congreso Sudamericano de la Yerba Mate celebrado el 6 de Mayo del 2011.

Además se identificaron y cuantificaron los compuestos fenólicos mayoritarios: el ácido clorogénico y sus isómeros, neo y criptoclorogénico, ácido cafeico y rutina mediante HPLC/DAD.

2.2- Objetivos específicos:

- Desarrollo y/o puesta a punto de técnicas analíticas instrumentales (HPLC) y espectrofotométricas (Folin-Ciocalteu) para la determinación de compuestos polifenólicos presentes en muestras vegetales.
- Determinación del contenido de los polifenoles considerados presentes en la Yerba Mate.
- Estimación de la ingesta de polifenoles en las infusiones de mate.

3.- Aspectos farmacognósticos de Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*)

3.1.- Introducción (de Amable M., et al. 1997):

La yerba mate es el producto madre de la economía misionera; si bien era conocida y utilizada desde antes de la llegada de los españoles, su cultivo y explotación en este territorio comienza con los jesuitas en las reducciones de guaraníes.

El norte de la provincia de Misiones era zona de yerbales naturales, pero en el Sur los primeros yerbales fueron los implantados en la época jesuítica, y precisamente esta zona es en la actualidad la de mayor producción.

A mediados del S. XIX esos antiguos yerbales jesuíticos atrajeron colonos que se establecieron para explotarlos. Comenzaron a instalarse los puertos para la extracción del producto, a desarrollarse los medios de transporte fluvial, a explorarse el interior del territorio.

El "oro verde", conjuntamente con la explotación maderera, impulsó el desarrollo del Territorio Nacional de Misiones, que en 1953 fue transformado en la "Provincia de Misiones".

Además de ser la principal fuente de recursos la yerba proporciona esa bebida incomparable que es el mate. Con su inefable atractivo, el mate encierra tantos valores que es mucho más que una bebida.

El hábito de tomar mate, tan difundido y arraigado en la Argentina, presenta peculiaridades en cada una de las regiones. Quizás en otros lugares llamen la atención detalles que para los misioneros son tan naturales que no se notan, como tomar mate en una conferencia o en las aulas durante el desarrollo de las clases, encontrar termotanques en las esquinas y en distintos lugares públicos para proveer de agua caliente a los materos, el alquiler de equipos de mate en los kioscos de instituciones educativas, el tereré (mate helado) -tan difundido entre los jóvenes y niños- cebado con las más diversos jugos y especialmente apetecible en las tórridas siestas misioneras.

Los Guaraníes y la Yerba Mate:

Antes de la colonización española, los guaraníes utilizaban las hojas de yerba para mascar y conocían, por lo tanto, sus propiedades alimenticias y reparadoras. Por otra parte, el polvo de yerba era aspirado por los hechiceros durante sus ritos.

La primera región de yerbales que se explotó fue la de Mbaracayú, distante alrededor de 120 leguas tanto de Asunción como de la región misionera. Los guaraníes desde tiempos inmemoriales y los españoles desde el siglo XVI conocieron los yerbales de Mbaracayú. Los encomenderos los explotaron por medio de los indígenas que tenían a su servicio; muchas veces sin proveerles siquiera de los bastimentos necesarios para el viaje y una estadía de 4 a 6 meses, y sin proporcionarles tampoco los medios adecuados para el acarreo de la yerba.

El Padre Antonio Ruiz de Montoya ha dejado esta descripción desoladora: "Tiene la labor de que esta yerba consumidos muchos millares de indios; testigo soy de haber visto por aquellos montes osarios bien grandes de indios que lastima el verlos y quiebra el corazón saber que los más murieron gentiles, descarriados por aquellos montes, en busca de sabandijas, sapos y culebras, y como aún de éstos no hallan, beben mucha de aquella yerba, de que se hinchan los pies, piernas y vientre, mostrando el rostro sólo los huesos y la palidez la figura de la muerte". (Ruiz de Montoya et al., 1639)

La Carta Anual de 1626-1627 también refiere las penurias de esta explotación.

Los indios se trasladaban al Mbaracayú en mulas, llevando ganado, tabaco y yerba para el consumo, además de herramientas para la faena. Al llegar a los yerbales hacían un rancho de paja para depositar luego las hojas tostadas y desmenuzadas que era necesario conservar al cubierto de la humedad. Unos buscaban los árboles de yerba, cortaban las ramas y las acarreaban para la torrefacción, en tanto que otros, buscaban madera seca para preparar el fuego y armaban un zarzo de cañas o de varas bastante largas. Un tercer grupo excavaba morteros en los troncos de los árboles que habían derribado para machar la yerba. A la noche se encendían las hogueras y se chamuscaban rápidamente las ramas de yerba, luego se las colocaba en el zarzo, preparando debajo otro fuego lento que mantenían toda la noche. A la mañana siguiente descargaban el zarzo, con las manos desmenuzaban las hojas y ramas, y luego las molían en los morteros. Mientras tanto, algunos continuaban con la tarea de traer ramas de yerba y leña. La yerba molida se colocaba en sacos de cuero.

Si bien los españoles, en un principio combatieron el consumo de la yerba, por considerarlo un hábito perjudicial y vinculado con la hechicería, no tardaron en aceptarla al conocer sus cualidades. El padre Antonio Sepp las definió así: "... esta yerba es muy sana y tiene efectos beneficiosos en varios aspectos: refresca los pulmones y el hígado ardiente, no deja que se formen ni arenilla ni cálculos en los riñones o en la vesícula. Calma la sed, quita el hambre y reconforta el estómago, es un poco amarga y templada atrabilis. Por todas estas razones es altamente cotizada por los indios y tomada a diario. Y las mujeres no se quedan atrás de los hombres en el consumo de la yerba". (Antonio Sepp et al., 1974)

La Yerba Mate en las reducciones:

Durante casi todo el siglo XVII las reducciones dependieron de los yerbales de Mbaracayú para proveer de yerba dos veces al día a unos cien mil entusiastas del mate, y para recoger la necesaria con que pagar el tributo al Rey, ya que era el único producto misionero de venta segura. Si bien no prescindieron del Mbaracayú, extremaron todos los medios para evitar desgracias. Tanto misioneros como guaraníes consideraban las expediciones a esa región como una tarea ingrata y hasta peligrosa, pero imprescindible y necesaria mientras no hubiera yerbales cercanos.

El gran logro de los misioneros jesuitas fue domesticar los árboles de yerba, formando importantes plantaciones cerca de los pueblos.

El Padre Cardiel explica cómo se formaron los yerbales en las misiones: "Aplicáronse los padres jesuitas a hacer yerbales en el pueblo, como huertas de él. Costó mucho trabajo porque la semilla que se traía no prendía. Es la semilla del tamaño de un grano de pimienta, con unos granitos dentro rodeados

de goma. Finalmente, después de muchas pruebas, se halló que aquellos granitos, limpios de aquella goma, nacían; y, trasladando las plantas tiernas del semillero bien estiercolado a otro sitio, y dejándolas allí hacerse recias, después se trasplantaban al yerbal, y regándolas dos o tres años, prendían y crecían bien". (Furlong et al., 1978)

El Padre Sepp refiere otro método de reproducir mudas de yerba mate: enterrar una rama que esté unida a la planta hasta que forme raíces, entonces cortarla.

A principios del siglo XVIII los pueblos misioneros contaban con sus propios yerbales, algunos de muy buena calidad. El proceso de elaboración de la yerba era el siguiente: luego de cortar la yerba, se pasaban los manojos de ramitas por una llama viva, operación que se llama "sapecar" y que tiene por objeto impedir la fermentación de las hojas verdes. Después se sujetaban los manojos a una vara de madera, y estas varas cargadas de yerba se atravesaban sobre un armazón formando ramada, o si no, se formaba un cono con una docena de varas. Debajo de la ramada o del cono se encendían brasas para tostar la yerba durante 24 horas. La yerba tostada y aún caliente se golpeaba con palos para desmenuzarla, obteniendo la "yerba canchada" que se estacionaba en un depósito o "noque".

En las reducciones se elaboraban dos clases de yerba: yerba de palos y caá-miní. Ambas de la misma planta, la primera se componía de hojas y tronquitos menudos, y la segunda era yerba molida en pilones, de la que se separaban ramitas y pecíolos.

Los pueblos de Santa María, San Ignacio Guazú, Santa Rosa e Itapúa producían yerba de palos. La yerba caá-miní, más apreciada, era producida por todos los pueblos, menos San Ignacio Guazú, Nuestra Señora de Fe, Santiago, Yapeyú y La Cruz.

El Superior Bernardo Nusdorffer fue un promotor de la yerba misionera, como se ve en el establecimiento del Oficio o Procuraduría de las Misiones en Santa Fe, o en la "Orden que se ha de observar en la remisión de la yerba a los Oficios de Santa Fe y Buenos Aires (1745)", y en los Memoriales que dejó en 1747 al visitar las reducciones.

La Yerba mate fue la principal fuente de recursos para los pueblos. Se comercializaba con Buenos Aires, Santa Fe, Chile y Lima. A la yerba que era llevada a Santa Fe, se incorporaban los posibles sobrantes de azúcar, tabaco, cueros trabajados, maderas y lienzos, los que eran cambiados por plata y otros productos. En Buenos Aires y Santa Fe estaban los procuradores, cuya función era la de ubicar los productos de las reducciones y conseguir los requeridos por éstas.

Las rutas yerbateras eran: - desde el Paraguay y Misiones, a través del Paraná, llegaba a Santa Fe y Buenos Aires y - la que unía Santo Angel con Lima o Potosí. - la del río Uruguay, que tenía como puertos terminales a Buenos Aires y Montevideo (era la ruta oriental).

El mate se convirtió en la bebida predilecta de los misionados y misioneros, y también de los españoles y criollos fuera de las reducciones.

A veces se masticaba la yerba, pero generalmente el mate era sorbido con agua caliente, probablemente con cañitas de bambú. Aunque ningún autor hace referencia a la bombilla metálica usada por los españoles, es posible que en las reducciones las hubieran confeccionado de estaño, del mismo modo en que fundían en este metal platos y cubiertos.

La yerba no sólo proporcionó una grata bebida a las reducciones, sino que se convirtió en un elemento civilizador, puesto que acabó con las borracheras y su secuela de males, a la vez que constituyó una excelente fuente de recursos.

La explotación yerbatera después de la expulsión de los jesuitas:

Aún en el marco de la crisis demográfica y de productividad que siguió a la expulsión de los jesuitas en Misiones, la yerba mate no dejó de extraerse y elaborarse; en efecto, constituía el principal producto de venta en Buenos Aires a través de la Administración General, cuyas ganancias se empleaban para

pagar el tributo al Rey, los sueldos de los funcionarios y para comprar las mercancías necesarias. La ruta utilizada con preferencia para la salida de este producto era la del río Uruguay cuyo nudo de transporte era el pueblo de Yapeyú. Los pueblos del Paraná, en cambio, “dejaron muy pronto de hacer remesas a la Administración General de Buenos Aires pues canjeaban su yerba a comerciantes particulares o enajenaban directamente la explotación de sus yerbales a empresarios españoles” (Poenitz et al., 1993). Estas prácticas se inscribían también en el marco del proceso de disolución del régimen de comunidad; los mismos naturales de los pueblos eran contratados para realizar los trabajos. Por otra parte, debido a la Real Ordenanza de Intendentes (1782) la Administración de Buenos Aires perdía (hasta 1803) el control de los 13 pueblos que integraron la Intendencia del Paraguay.

Pueblos como Yapeyú o San Borja recibían yerba de otros como parte de pago de reses que les vendían. “A fines del siglo ya todo el comercio yerbatero se había privatizado pasando a manos de españoles la extracción y comercialización en detrimento de la Administración General y obviamente del fisco que nada percibía en materia de tributos” (Poenitz et al., 1993).

En la convulsionada etapa de disgregación territorial que siguió a la revolución de mayo los pueblos fueron devastados y arrasados sus yerbales. Belgrano en su Reglamento Provisional para los pueblos de Misiones (30 de diciembre de 1810), se refiere a la yerba y al régimen expoliador vinculado a su explotación: rasil que se corten los árboles de yerba que se maltrate a los naturales. Las mismas inquietudes manifestaban Artigas en una carta de 1816 a Andrés Guacurarí.

La destrucción de los pueblos por los lusobrasileños en 1817 y 1818 y la militarización de la sociedad guaraní en esta etapa de luchas fronterizas condujeron a una economía apenas de subsistencia vinculada siempre y casi únicamente a la existencia de los yerbales.

Más tarde, el interés por la explotación de este recurso enfrentó a Sity (comandante de Misiones) y a Ramírez (el supremo Entrerriano) en 1820. El primero le había elevado un plan de repoblamiento de Candelaria y de habilitación de su puerto para la extracción de la yerba que por entonces acopiaban los paraguayos. La importancia económica de este proyecto llevó a Ramírez a confiscarlo en su propio provecho, ordenando la prohibición de beneficiar la yerba salvo que tuvieran expresa autorización por él firmada para el efecto. Las fuerzas de ambos jefes terminaron enfrentándose por las armas. La Campaña de Pirís (enviado por el Supremo) culminó con una entrada a los pueblos de San José, San Ignacio y San Javier haciendo acopio de yerba. En Candelaria se hallaba el Capitán Nicolás Aripí quien llegó a un acuerdo con Ramírez pero muy pronto debió enfrentar la invasión paraguaya al mando del Cmte. Ortellado, quien por orden del dictador Francia invadió este territorio derrotándolo en las cercanías de Santa Ana, devastando su chacra y la del sabio Bonpland.

Aquí tenemos que considerar la labor de este naturalista, ilustre defensor del cultivo de la yerba.

El primer contacto que tuvo con esta planta fue en la isla Martín García; sabiendo de su existencia por intermedio del canónigo Belgrano, se dirigió al lugar con unos soldados y hallaron la planta. Enseguida el estudio de la misma se convirtió en una obsesión para él.

En noviembre de 1820 se instala en Corrientes donde permanece hasta mayo de 1821 y luego se dirige a Santa Ana (Misiones). Había comunicado a Ramírez su intención de pasar a Misiones para estudiar los yerbales y establecer una colonia agrícola destinada a su explotación y al cultivo del curupay (cebil), árbol rico en tanino.

Ya en Misiones describe Candelaria y sobre su yerbal informa a Ramírez que lo ha andado todo y que lo ha encontrado quemado y cortado y está lleno de malezas. Prevé asimismo lo que podría producir una vez limpiado.

En Santa Ana se dedicó al estudio exhaustivo de vegetales útiles, especialmente de la yerba. Su tarea no pasó desapercibida por el dictador paraguayo quien decidió la intervención ya mencionada. Veía en la actividad de Bonpland una amenaza para el monopolio yerbatero de su país; además reclamaba como paraguayo el pueblo de Santa Ana; lo tuvo por “aventurero” y espía puesto que acompañó a Aripí en su campaña para tomar este territorio; el asalto y destrucción de la colonia se produjo el 8 de diciembre de 1821. Tras 8 años de cautiverio en el Paraguay retornó a la Argentina pasando también al Brasil. Transi-

tando estos territorios y también el Uruguay, no abandonó nunca su interés por la yerba. En 1854 envió al gobernador de Corrientes, Juan Pujol, una importante exposición sobre el mejor modo de beneficiar la yerba; hacía hincapié en el tiempo propicio para la cosecha; consideraba la yerba de las plantaciones jesuíticas como de mejor calidad y menos costosa por su ubicación cercana a los pueblos que la que producían los indígenas en época anterior de los yerbales naturales. Hace una minuciosa referencia de la distribución geográfica de los yerbales naturales y plantados. Refiere que para la explotación era conveniente la mano de obra indígena; enumera las herramientas que se necesitan para ello así como la necesidad de proveer los víveres, sueldos, y ranchos para abrigar a los peones y conservar su salud; “conviene notar que a pesar de tantos gastos, quedará siempre una existencia utilísima en el almacén y también un germen de población”.(Bonpland et al., 1989)

Bajo la soberanía de Corrientes desde 1830, no faltaron medidas proteccionistas para la explotación de la yerba; la Ley del 29 de octubre de 1832 autorizaba beneficiar la de las antiguas Misiones y teniendo presente la época de guerra, establecía que un 10% de la misma debía ser entregada al Estado por los beneficiadores. Reglamentada esta ley por el P.E. (Pedro Ferré) el 9 de noviembre del mismo año, se fijaban los requisitos para ir a explotar este recurso en los montes: obtener la licencia del gobierno para lo cual debían presentar la cantidad que tenían previsto cosechar, los peones, armas y municiones que llevarían; un inspector debía observar que la cosecha se hiciera debidamente; es decir, sin cortar los árboles y vigilando la calidad. Los yerbales de los pueblos pertenecían al gobierno y sólo por una autorización especial podían ser explotados.

La Ley del 19 de octubre de 1832 fue derogada por la del 4 de abril de 1861 que sanciona los impuestos sobre la yerba.

Repoblamiento de la zona yerbatera:

Cuando Corrientes anexó el territorio de Misiones los escasos núcleos poblacionales eran Loreto, San Miguel, San Roquito y Asunción del Cambay.

En la década de 1850 comenzó lentamente el proceso de repoblamiento. Se inicia con la venta de tierras públicas por parte de Corrientes, reservando algunos terrenos para favorecer la industria yerbatera. Además, se trató de proteger los yerbales de la explotación indiscriminada a través del Reglamento de 1864.

Antes de producirse la Guerra de la Triple Alianza (1865-1870), el territorio de Misiones estaba ocupado en parte por corrientes y otra por Paraguay, mientras que los brasileños explotaban los yerbales de las Altas Misiones. La población -compuesta por brasileños, correntinos y unos pocos guaraníes- explotaba los naranjales y yerbales en las proximidades de San Javier, Concepción, Santa María y Apóstoles. El movimiento comercial más importante se efectuaba entre Paraguay y Brasil a través de la ruta Itapúa- San Borja.

Lentamente, y a pesar de la falta de caminos, se fueron instalando ingenios yerbateros, azucareros y de fariña, la mayoría de ellos en el departamento de Santo Tomé.



La Guerra con el Paraguay en su primera fase de desarrollo influyó sobre Misiones, ya que las columnas paraguayas invadieron esta región en su paso a Uruguayana; luego, cuando se replegaron, se estableció en Itapúa una división brasileña. Las actividades en torno a este asentamiento brasileño originaron el surgimiento de una población nueva: Trinchera de San José (hoy Posadas); los proveedores del ejército se instalaron paulatinamente en el lugar, a la vez que iniciaron la explotación de los yerbales jesuíticos

para surtirse de yerba. Las podas frecuentes arruinaron estos yerbales que habían sido implantados por los jesuitas, con excepción del yerbal de San Javier por encontrarse más alejado.

Crecimiento similar al de Trinchera sólo se dio en algunos centros como San Javier, Concepción, Santa María, por su ubicación próxima a la frontera del río Uruguay.

Después de ocuparse el espacio sur de Misiones, comenzará la utilización del norte con la explotación de yerbales y bosques, pero sin que ello implique la ocupación permanente del suelo. A partir de la década de 1870 se inició la búsqueda de yerbales naturales en el Alto Paraná y Alto Uruguay.

Las relaciones cordiales con los indígenas, el descubrimiento de los yerbales de San Pedro y el desarrollo de la navegación por el Uruguay y el Paraná, permitieron el desarrollo de la actividad yerbatera. Pero la falta de planificación y control condujo a la depredación de los manchones de yerba, por lo que el gobierno de corrientes dictó un nuevo reglamento proteccionista en 1876.

La intensa actividad yerbatera, antes y después de la Federalización de Misiones (1881), determinó la instalación de secaderos y molinos pequeños en Candelaria, Posadas, Concepción y San Javier, mientras que los molinos de mayor jerarquía se ubicaron en Rosario y Buenos Aires.

El principal obstáculo lo constituía la falta de caminos; así, los explotadores de la yerba mate comenzaron a abrir piques y picadas que, con el tiempo, se convertirían en las rutas misioneras, otros problemas fueron el contrabando y la competencia de la yerba paraguayo-brasileña.

Debido a la destrucción de los yerbales naturales se tuvo que recurrir a la búsqueda de métodos de reproducción de yerba. No olvidemos que los jesuitas lo habían hallado pero, al ser expulsados, se perdió ese conocimiento.

Después de varios ensayos efectuados en Santa Ana, Loreto, Bonpland, San Ignacio y Corpus, se descubrió la fórmula para la siembra, en 1895. Fue lograda por Carlos Thays, fundador y Director del Jardín Botánico de Buenos Aires, quien, con semillas traídas del Paraguay, las hizo germinar después de someterlas a una inmersión bastante prolongada de agua caliente.

Descubierto el método de reproducción de la yerba mate se inició el cultivo a gran escala en Misiones, actividad que abarcó las primeras décadas del presente siglo y que es coincidente con la instalación de contingentes europeos que arribaron a Misiones a partir de 1897, atraídos por la promoción argentina para ocupar el espacio.

La inmigración contribuyó en nuestra provincia al proceso de expansión y configuración de la población a fines del siglo XIX y principios del XX; permitió la ocupación del espacio, la instalación de colonias, desarrolló la vida agrícola y determinó la configuración socio-cultural de nuestra provincia. Lentamente irían surgiendo las colonias oficiales y privadas en Misiones.

Las nuevas poblaciones se dedicaron intensamente a las actividades agrícolas, siendo la principal el cultivo del "oro verde". La "fiebre verde" desplazó a los cultivos de autoconsumo, llegando a plantarse 66.000 hectáreas. La excesiva producción determinó la intervención del gobierno nacional que, en 1935, creó la Comisión Reguladora de la Yerba Mate (CRYM), organismo que procuraría limitar la expansión de la plantación, adecuando así la producción a la demanda. Esta regulación continuó hasta hace muy pocos años. La venta al público se efectuaba a través del Mercado Consignatario de la Yerba Mate.

Si bien el cultivo se extendió por toda la provincia, los departamentos con mayor superficie cultivada fueron San Ignacio, Caingúas, Iguazú, Candelaria y Apóstoles; en menor medida Montecarlo y El Dorado.

La situación de estabilidad alcanzada por el cultivo de la yerba mate en Misiones requería en la década del 40 una celebración colectiva. El pueblo necesitaba su fiesta. En un acto en Picada Sueca (23 de agosto de 1942), con más de dos mil asistentes, se proclamó la necesidad de ella. Así el gobernador Esteban Semilla, por Decreto, instituyó la Fiesta de la yerba Mate, la que se concretó durante el gobierno del Ing. Eduardo Otaño.

3.2. Descripción botánica de la planta:

La yerba mate se obtiene de las hojas del *Ilex paraguariensis*, según Giberti (1990), se conoció la planta de la yerba mate en Europa desde el principio del siglo XIX con la denominación de “*Ilex Theazans*” dada por Bonpland en 1821. Sin embargo Saint Hilaire, en 1812, la denominó “*Ilex paraguariensis*” en las “Memoire du Muséum d’histoire Naturelle” y en su “Historie de Plantees Plus” que se encontraba en Curitiba, usando esa denominación de especie en razón de que los antiguos historiadores españoles usaban para el objetivo “paraguay” la palabra latina “paraguariensis”.

Tal denominación ha prevalecido sobre las de “*Ilex paraguayensis*”, “*Ilex mate*”, “*Ilex paraguariensis* Lambert”, “*Ilex paraguariensis undeer*”, “*Ilex curitibensis*” y muchísimas otras con las que se le ha descrito.

El *Ilex paraguariensis* pertenece a la clase de las dicotiledóneas, diapétales corolianas, familia de las aquifoliáceas, del género *Ilex* que comprende casi toda la familia (175 de las 181 especies) dispersas en toda Sudamérica.

El *I. paraguariensis* es un árbol perennifolio dioico de porte erecto y copa redondeada, nativo de las regiones subtropicales de Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay. La Figura 3 (A) muestra las principales regiones donde es nativa la planta. El área de distribución natural de la especie es muy restringida, solo prospera en la zona delimitada por el océano Atlántico al este y por el río Paraguay al oeste, entre los 18 y 30 grados de latitud sur, presenta follaje persistente compuesto por hojas gruesas y coriáceas. En su hábitat natural puede alcanzar un desarrollo de hasta 18 metros de altura en estado salvaje, aunque bajo cultivo se realizan podas para que tome un porte arbustivo de 3 a 6 metros de altura, facilitando la labor de la cosecha. Tiene un fuste recto y cilíndrico, de hasta 3 decímetros de diámetro, cubierto de una fina corteza pardo grisácea 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 como se observa en la figura 3 B, 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. Perduran unos tres años en la planta.

Entre octubre y noviembre, la época de floración, produce inflorescencias en forma de haces corinboides 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 a lo sumo. 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 nucula indehisciente de unos 7 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.

La ubicación sistemática de la planta es la siguiente:

Reino: Vegetal

Género: *Ilex*

Especie: *paraguariensis*

Nombre científico: *Ilex paraguariensis*

Nombre común: yerba mate

Familia: Aquifoliáceas

División: Espermatofitas

Subdivisión: Angiospermas

Clase: Dicotiledóneas

Orden: Sapindales

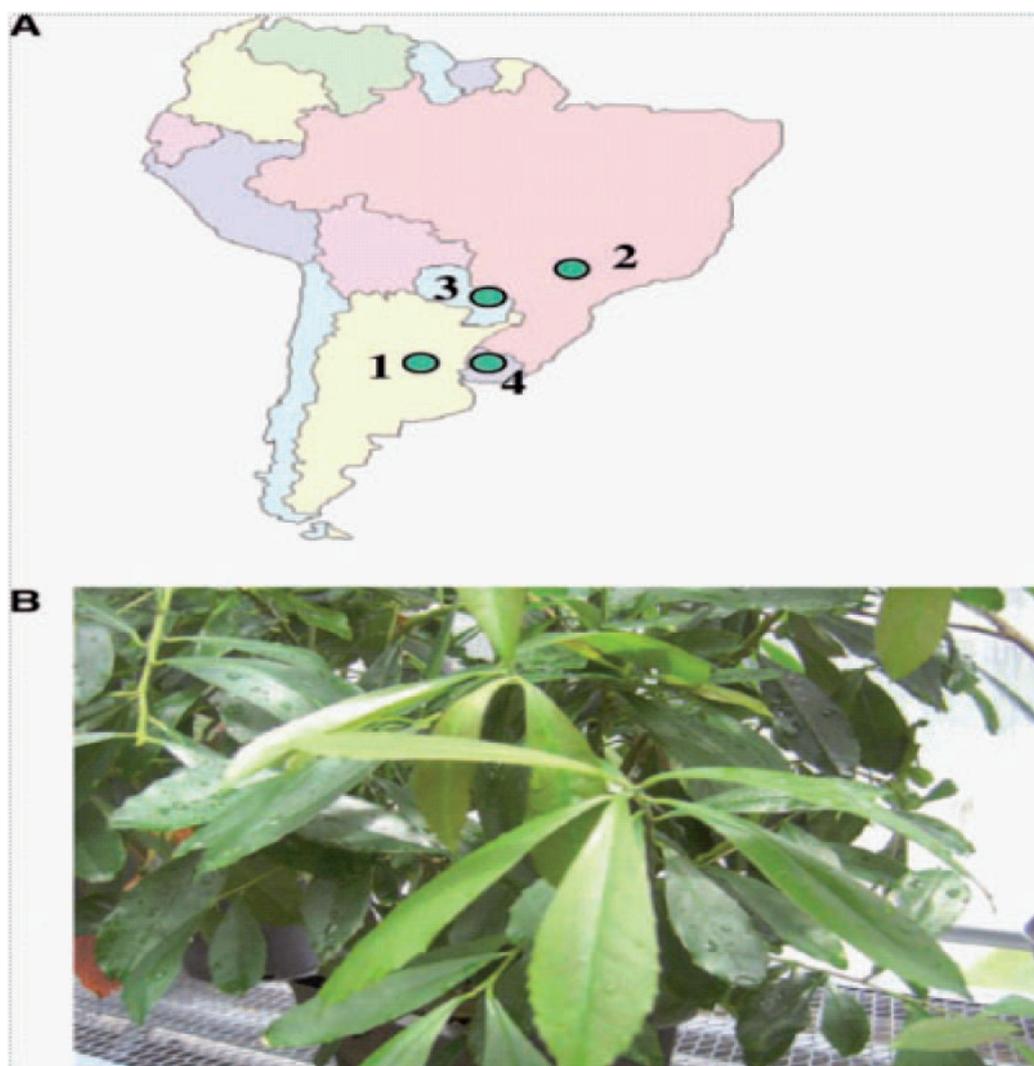


Figura 3. (A) Mapa de América del Sur que muestra las regiones de cultivo de la Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*), 1 Argentina, 2 Brasil, 3 Paraguay, 4 Uruguay. (B) La planta de yerba mate.

3.3. Aspectos ecológicos y fitogeográficos:

Entre los requerimientos ecológicos de esta especie subtropical se destacan los de tipo climático, en especial la precipitación media anual y una distribución pareja de las lluvias a lo largo del año. Estas no deben ser inferiores a 1200 mm anuales, y durante el trimestre más seco —que en la región es el invierno— el mínimo debe ser de 250 mm. Su área de distribución silvestre está siempre libre de déficit hídrico. La temperatura media anual es de aproximadamente 21-22 °C. Las temperaturas mínimas absolutas no deben ser inferiores a -----6 °C, si bien las nevadas invernales son frecuentes en mesetas y serranías al sur de Brasil y este de Misiones. Suelos lateríticos, ácidos (pH entre 5,8 y 6,8), de textura media a fina. (Giberti, 1994).

3.4. Composición química en *Ilex paraguariensis*:

Al revisar la composición química, es importante distinguir entre la investigación realizada en las hojas frescas o conservadas de *I. paraguariensis*, y la yerba mate que se ha sido sometida a un proceso industrial que implica secado y tostado, dos procesos muy drásticos que pueden producir cambios significativos en la composición química original. También hay una gran cantidad de trabajos realizados en las infusiones de la yerba mate, donde la cantidad de sustancia vegetal, la temperatura, tipo de extracción y disolvente no siempre es clara.

Los principales metabolitos secundarios de *I. paraguariensis* pertenecen a tres grupos fitoquímicos: alcaloides derivados de purinas (metilxantinas), saponinas y fenilpropanoides; también se describirán los componentes volátiles y minerales presentes.

La importancia de los compuestos fenólicos y metilxantinas en Yerba Mate:

Los compuestos fenólicos y las metilxantinas son metabolitos secundarios, con funciones importantes tales como la protección contra los herbívoros y patógenos, y tienen, además, la acción de actuar como alelopáticos, y atractivo para los insectos como polinizadores (Taiz, et al., 2004).

En los alimentos, los fenoles pueden contribuir al amargor, astringencia, pigmentación, sabor, olor y estabilidad oxidativa de los productos (Shahidi et al., 2004).

De acuerdo a Hoft, Verpoorte y Beck (1998), bajo condiciones de estrés, algunas plantas tienen la capacidad de aumentar su producción de alcaloides, como la cafeína y teobromina, actuando como defensa contra insectos y hongos y contra la pérdida de hojas. Mazzafera, Yamaoka-Yano y Victoria (1996) consideran la cafeína como un aportante de nitrógeno, que contiene cuatro átomos de nitrógeno en su molécula. Sin embargo, de acuerdo a una revisión por parte de Ashihara y Suzuki (2004), el papel de la cafeína en las plantas es aún incierto.

Hay dos escenarios posibles: la defensa química para proteger el tejido de los jóvenes depredadores como larvas de insectos y/o la función autotóxica alelopáticos, inhibiendo la germinación de las semillas de otros.

Además de la composición química rica en saponinas y metilxantinas, los compuestos cafeoilquínicos comprenden hasta el 12% del peso seco de la yerba mate (Schneider et al., 2006), lo que indica su posible importancia para determinar el sabor del producto final. Esto también puede estar influenciado por factores extrínsecos tales como el método de secado y estacionamiento. Además, la percepción de la astringencia al beber yerba mate se ha correlacionado positivamente con el contenido de polifenoles totales (Tamas et al., 2006).

Una gran parte de los beneficios atribuidos al consumo de la infusión de yerba mate están relacionados con los compuestos fenólicos, que actúan como antioxidantes (Bravo, 2007).

Filip et al., (2000) correlacionan la actividad antioxidante de la infusión de mate con el contenido de rutina, quercetina, canferol y derivados cafeoilquínicos, a los cuales se les reconoce una actividad antioxidante en la salud humana (Gugliucci, 1996; Chica, et al., 2007, Silva, et al., 2008).

Además de los compuestos fenólicos, se ha demostrado que las metilxantinas son también responsables de efectos observados en el sistema nervioso central, cardiovascular, renal y digestivo.

La teobromina y la teofilina aumentan el flujo de filtración glomerular y la sangre renal, lo que demuestra la actividad diurética de éstas (Simoës et al., 2004).

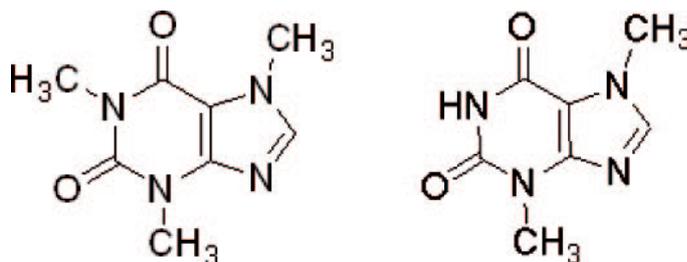
Xantinas

Estos son los metabolitos secundarios más característicos y significativos que se han detectado en *I. paraguariensis*. Los tres alcaloides derivados de la purina más comunes son la cafeína, la teobromina y la teofilina, de los cuales la teobromina (3,7-dimetilxantina) y cafeína (1, 3, 7-trimetilxantina) (Athayde, et al., 2000), están presentes en grandes cantidades en las hojas de *I. paraguariensis* y yerba mate.

De estos compuestos, la cafeína se encuentra en mayor concentración seguida de teobromina, estando presentes principalmente en las hojas de la planta y en los tallos leñosos en pequeñas concentraciones que a menudo están presentes en el producto.

Se ha sugerido que el proceso de secado de la yerba mate puede afectar significativamente la concentración de cafeína, así como el color y el contenido de clorofila de las hojas. Schmalko et al., (2001), examinaron el contenido de cafeína y el color de la clorofila de las hojas de mate después de tres etapas de secado, donde la primera etapa fue escaldado y sapecado con una temperatura de 500 a 550 °C durante 2-4 minutos, la segunda y tercera etapa fueron las etapas de secado con una temperatura de aproximadamente 110°C, donde éstas etapas demostraron la disminución de la concentración de cafeína, y una disminución del color verde de la clorofila.

Otro factor determinante en la concentración de metilxantinas, es el momento de la cosecha (Schubert, et al., 2006).



a) b)
Metilxantinas: a) cafeína, b) teobromina.

A diferencia de la teobromina y la cafeína, la presencia de teofilina es controvertida apareciendo en unos pocos trabajos. La teofilina parece ser un intermediario en el catabolismo de la cafeína en la planta. Se cree que la principal vía del metabolismo de la teofilina implica la conversión a 3-metilxantina, que es desmetilado a xantina antes de entrar en la vía del catabolismo de las purinas y se degrada a través de xantina → ácido úrico → alantoína → ácido alantoico → CO₂ + NH₃. Para el catabolismo de la cafeína se ha estudiado el uso de C14 MARCADO. (Ashihara et al., 1997; Ashihara et al., 1996; Mazzafera 2004; Suzuki y Waller, 1984).

Xantinas en la yerba mate y bebidas de yerba mate:

Según el Código Alimentario Argentino (que está armonizada con los demás países del Mercosur respecto del Codex) existen básicamente dos tipos de yerba mate que se pueden comercializar, la que contiene hasta un 35% de los tallos (yerba mate elaborada con palo) y otra que sólo puede contener 10% de los tallos y que deben tener menos del 0,6% de cafeína.

Hay informes de contenido de metilxantinas en yerba mate y de las bebidas preparadas con él muy variables, dependiendo en gran medida del tipo de extracción (decocción o infusión) con que se prepara, la temperatura del agua, la cantidad usada, etc. y el tipo de yerba mate.

Saponinas:

Las saponinas son compuestos amargos y muy solubles en agua que se encuentran en muchos tipos de plantas y que se cree que son uno de los factores que contribuyen al distintivo sabor del mate. No solo juegan un papel en el sabor, sino también se le atribuyen propiedades antiinflamatorias e hipocolesterolemiantes (Gnoatto et al., 2005). Varios de estos compuestos, es decir saponinas triterpénicas derivadas del ácido ursólico y oleanólico han sido aislados de las hojas de mate. Las saponinas identificadas derivadas del ácido ursólico son las matesaponinas 1, 2, 3, 4 y 5. (Gosmann et al., 1995; Kraemer et al., 1996). Es la única especie del género *Ilex* que tiene saponinas derivadas del ácido ursólico.

Polifenoles:

Los compuestos fenólicos son biosintetizados en las plantas por diferentes rutas siendo un grupo muy heterogéneo. Las dos vías metabólicas básicas son: la ruta del ácido malónico y el ácido shikímico, este último participa en la biosíntesis de la mayoría de los fenoles en las plantas (Taiz, Zeiger, 2004).

En general, la estructura se compone de un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilo, pudiendo ser desde moléculas fenólicas simples hasta compuestos altamente polimerizados. La mayoría de los compuestos fenólicos se encuentran ligados a carbohidratos (mono y polisacáridos), proteínas y otros componentes de la planta (Robbins, 2003), lo que resulta en una gran variedad de compuestos fenólicos en la naturaleza, que se clasifican en clases, siendo los ácidos fenólicos, los flavonoides y taninos considerados como los compuestos fenólicos principales (Balasundram, N.; Sundram, K.; Samman, S., 2006).

La yerba mate no contiene una gran cantidad de flavonoides representando menos de un 5% del contenido total de polifenoles (Bravo, 2007). La rutina se ha detectado inequívocamente en todas las muestras de *I. paraguariensis* y en la yerba mate (Heck et al., 2008; Bravo et al., 2007; Jaiswal et al., 2007; Carini et al., 1998; Clifford y Ramírez, 1991; Filip et al., 2000). La quercetina y su aglicón no siempre han sido detectados. Carini et al., (1998) y Heck et al., (2008) reportaron sólo rutina y un diglicosido de luteolina.

Sin embargo con respecto a la identidad de los flavonoides en mate desde un estudio recientemente publicado por Rostagno et al. (2011) confirmó la presencia de rutina, pero detectó kaempferol-3-O-glucósido y quercetina-3-O-glucopiranosido y no detecta luteolina-3-O-glucósido.

Además la yerba mate contiene ácidos hidroxicinámicos, los más comunes son los llamados ácidos clorogénicos (CGA) (Ver fig.3), que son una familia de ésteres formados entre el ácido quínico y uno o más residuos de algunos ácidos tales como el trans-cinámico, p-cumárico, ferúlico y cafeico (Clifford, 2007). El ácido 5-cafeoilquínico (CGA) está presente como compuesto mayoritario en el mate y es un éster del ácido quínico con ácido cafeico (Clifford 1985)

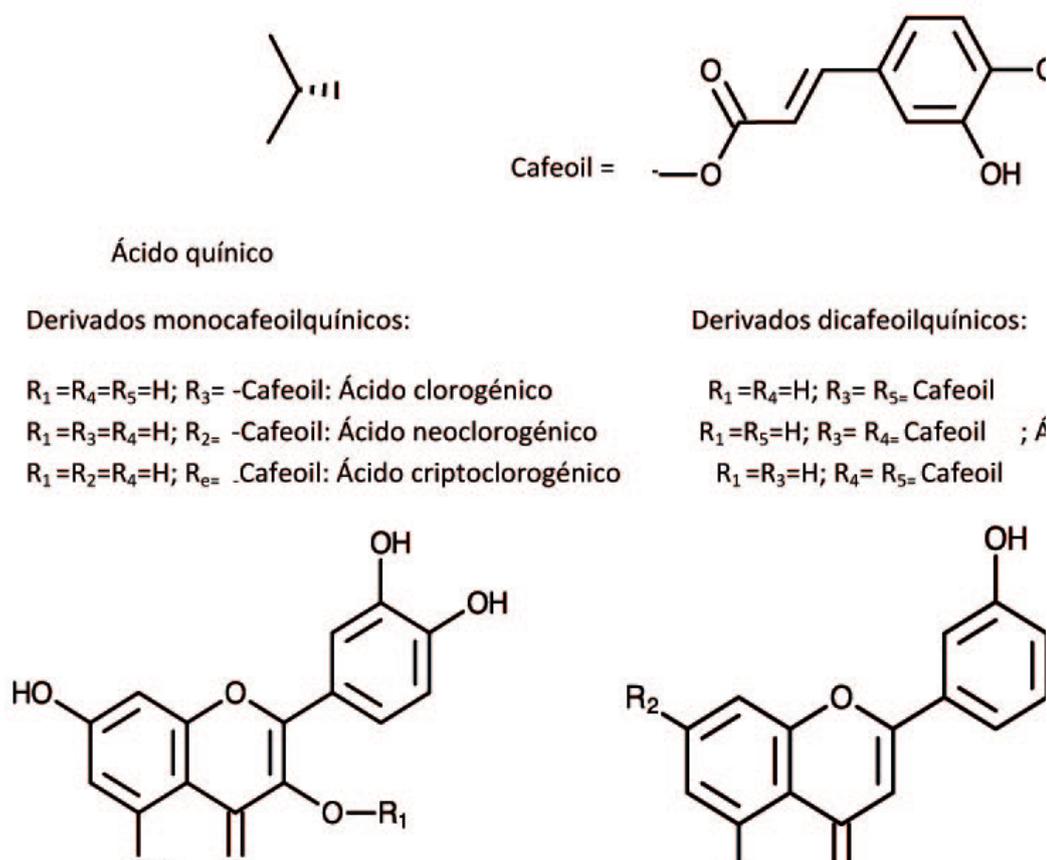


Fig. 3. Principales compuestos polifenólicos que se encuentran en la Yerba Mate. Derivados del Ácido cafeoilquínico (Ácido neoclorogénico, Ácido clorogénico, Ácido criptoclorogénico) y dicafeoilquínicos. Flavonoide (Rutina) y Luteolina

De acuerdo a diversos trabajos científicos publicados, el contenido de rutina, ácido cafeico y ácido 5-cafeoilquínico en yerba mate es de 0,60 a 13,00 mg g⁻¹, 0,14 a 0,55 mg g⁻¹ y 5,70 a 28,00 mg g⁻¹ respectivamente sobre base seca y determinada por HPLC (Clifford, 1990, Filip et al., 2001, Bortoluzzi et al., 2006, López et al., 2006; Cardozo JR et al., 2007). Además de éstos compuestos, monocateoilquínicos en la yerba mate se encuentran ácidos dicafeoilquínicos (DCQ), tales como los isómeros 3,4-; 3,5- y 4,5-dicafeoilquínico, con contenidos que van 2,7 a 23,2 mg g⁻¹, 2,90 a 9,00 mg g⁻¹, 1,00 a 8,55 mg g⁻¹, 1,7 a 30,40 mg g⁻¹ y 2,10 a 28,90 mg g⁻¹, respectivamente (Clifford, 1990, Filip et al., 2001). El contenido de estos compuestos en la yerba mate varía aún para el mismo componente, dependiendo de la ubicación y sistema de cultivo del *I. paraguariensis* (Da Croce, 2002) empleados en el procesamiento e industrialización (Zanoelo; Cardozo Filho; Cardozo JR, 2006).

El método de extracción utilizado para la obtención de los extractos analizados varía de acuerdo al objetivo del estudio. La infusión acuosa se utiliza para emular el consumo de la yerba mate como alimento (Filip et al. 2001). El método analítico más utilizado es el HPLC, principalmente con gradiente de elución para optimizar la separación de las diferentes clases de componentes (Filip et al 2001; Hoffmann, Ribani, Rodríguez-Amaya, 2006; Chica et al., 2007) debido a la heterogeneidad en sus características químicas.

Se realizó un estudio comparativo sobre el contenido de CGAs y flavonoides en diferentes especies de diversas especies del género *Ilex* (*I. dumosa*, *I. argentina*, *I. breviuspis*) que crecen en la misma región que *I. paraguariensis* utilizando HPLC / UV. Los resultados mostraron que *I. paraguariensis* contenía la mayor cantidad de ácido clorogénico (2,8%), ácido cafeico (0,023%) y los tres isómeros del ácido isoclorogénico (3,4-DCQ: 3,5-DCQ y 4,5-DCQ). (Filip 2001). En otro trabajo, Filip et al., también determinaron el contenido total de ácido clorogénico de estas especies, utilizando un método espectrofotométrico. Se determinó que *I. paraguariensis* contenía 10,71% (sobre droga seca) referido al ácido clorogénico mientras que las otras especies de *Ilex* variaron entre 0,96 y 4,26% (Filip et al, 2000).

En un estudio realizado por Carini y sus colegas (1998), se identificaron 10 compuestos en la yerba mate verde comercial usando LC/MS, incluyendo los 3 isómeros del ácido monocateoilquínico (CGA) - ácido neo-clorogénico ácido clorogénico y ácido cripto-clorogénico como así también los tres isómeros del ácido dicafeoilquínico, rutina (quercetina-3-rutinósido), un derivado diglicosídico de luteolina, ácido cafeico y 2 isómeros - glucósidos. Además, todos los isómeros del ácido clorogénico se cuantificaron utilizando un DAD (detector de arreglo de diodos) para adquirir y analizar los datos. El contenido total del extracto metanólico fue de 17,7% (calculado como ácido clorogénico) de los cuales 5,1% correspondió a 3-CGA (ácido clorogénico); 8,2% a 5-CGA (ácido neoclorogénico) y 4,4% a 4-CGA (ácido criptoclorogénico), lo que corresponde, de acuerdo a la preparación de la muestra a aproximadamente a 1,17% CGA, 1,85% de los neo-CGA y 0,99% cripto-CGA.

Bastos et al. (2007) utilizando espectrometría de masas con electrospray directo (ESI-MS) identificó los principales compuestos fenólicos de los extractos acuosos, etanólicos y etéreos de yerba mate verde y tostada. Los compuestos identificados en los extractos acuosos y etanólicos de yerba mate verde fueron ácido cafeico, ácido quínico, glucosa, ácido cafeoilquínico, ácido feruloilquínico, el ácido dicafeoilquínico y rutina. Los extractos de yerba mate tostada exhibieron además ácido cafeoilshikimico y ácido dicafeoilshikimico.

La información más completa sobre los polifenoles en la yerba mate fue publicada por Jaiswal et al., (2010), que informó de la detección y caracterización de 42 derivados hidroxicinámicos por LC-MSn, de los cuales 24 nunca habían sido publicados. El material utilizado para esta determinación fueron hojas de yerba mate verde y tostada (Presumiblemente la yerba mate comercial).

Componentes Volátiles:

Sabor y aroma son, sin duda, atributos muy importantes de la calidad y se han atribuido al contenido de cafeína y también a las saponinas presentes en grandes cantidades. El mate es considerado como un gusto adquirido ya que su sabor amargo y "ahumado" le confiere un sabor muy peculiar que no es inmediatamente aceptado por los nuevos consumidores. Tal vez sea la forma en que se consume, con la calabaza y la bombilla y el ritual asociado a esta forma de consumo que lo hace más atractivo.

Se detectaron más de 250 compuestos en la fracción volátil de la yerba mate (Kawakami y Kobayashi, 1991). Los investigadores compararon el perfil de GC / MS, en compuestos volátiles de la yerba mate y té verde y constataron que de 196 compuestos identificados, 144 estaban presentes en ambos productos y algunos compuestos son particularmente característicos de yerba mate, como por ejemplo, 2-butoxi-etanol, presente en altas concentraciones y 3,3,5 trimetilciclohexanona-compuestos relacionados.

Bastos (2005), publicó una interesante comparación entre los compuestos volátiles de las hojas verdes y tostadas. No es sorprendente que el proceso de tostado y secado produce una diferencia considerable cuali y cuantitativa. Los compuestos que podrían estar asociados con el aroma floral de hojas verdes como el limoneno disminuyó de 18 a 4,5% y el linalol fue oxidado a los óxidos de linalol durante el proceso de tostado. Otros compuestos, tales como metilfurfural y furfural, que puedan contribuir al sabor ahumado y aroma de las infusiones de yerba mate, se detectaron después del proceso de tostado. Los principales compuestos identificados en el aceite esencial de hojas verdes fueron geranil acetona, limoneno, linalol y geranilo mientras que los principales compuestos identificados en el aceite esencial de hoja tostada fueron geranil acetona, limoneno y β -ionona.

Lozano et al., (2007) estudió también el aroma de la yerba mate comercial usando tres tipos diferentes de mate argentino seleccionados de acuerdo a sus niveles de compuestos polifenólicos, los factores agronómicos y la fuerza del sabor. Usando tres métodos diferentes fueron aisladas de infusiones preparadas en calientes con las hojas secas, componentes activos que fueron identificados por cromatografía gaseosa (GCO) y GC-MS. Es interesante que cada método permita la identificación de compuestos que no habían sido detectados por otros métodos, mostrando la importancia de utilizar varios métodos diferentes para obtener la mejor información. (Heck y Mejía, 2000). Los componentes del aroma del té de mate predominantes incluidos geraniol, β -damascenona, 2-metoxifenol, linalol, β -ionona, eugenol, 2-acetil-1-pirrolina, (E, Z) 2,6 nonadienal, y geranial.

Componentes volátiles y semi-volátiles de la yerba mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hill.) fueron analizados por microextracción en fase sólida del headspace (HS-SPME) acoplada a la cromatografía de gases y espectrometría de masas. Se identificaron 70 compuestos, incluyendo propanal, (E)-2-pentenal, hexanal, (E)-2-hexanol, 6-metil-5-hepten-2-ona, (E, Z) -2,4 heptadienal, (E, E) -2,4-heptadienal, (E, Z) -3,5-octadien-2-ona, β -ciclocitral, 3-etil-4-metil-(1H)-pirrol-2,5-diona, α -ionona, geranilacetona, β -ionona, dihidroactinidiolide y cafeína. (Araujo et al., 2007).

Minerales:

Las hojas de la yerba mate tienen un alto contenido de minerales, concentrados principalmente en la lámina y no en los tallos. Un estudio realizado en el producto comercial reveló la presencia de potasio, fósforo, magnesio, calcio, azufre, boro, cobre, hierro, manganeso, níquel, aluminio, cromo, cobalto y sodio (por absorción atómica) y nitrógeno (por Kjeldhal) de los cuales los más abundantes resultaron ser K, Mg y Mn (un micronutriente) representando un 1,2; 0,4 y 0,06% en peso seco, respectivamente. El contenido de Mn detectado es por lo menos cinco veces mayor que lo detectada en café o chocolate. Los metales pesados tales como cadmio y plomo no se detectaron en contraste con los informes anteriores, lo que implica que la presencia de estos metales depende de la proximidad a zonas industriales o centros urbanos. (Heinrichs et al., 2001). Los metales más abundantes son el K y Mg, seguido por otros elementos tales como S y Mn. En todos los casos, no se detectaron Pb ni Cd y Al se detectó en cantidades muy bajas. Esto confirmó los resultados obtenidos por Sanz y Torija (1991) mediante absorción atómica, previa digestión en ácido nítrico / clorhídrico, que mostró a la yerba mate como una buena fuente de magnesio, potasio y manganeso. Otro estudio reciente confirmó estos resultados usando espectrometría de absorción atómica electrotermica, previa digestión ácida en nítrico / perclórico, donde se encontró que la yerba mate comercial contenía pequeñas cantidades de aluminio 369 $\mu\text{g} / \text{g}$ (equivalente a 0.037%) y 2223 $\mu\text{g} / \text{g}$ (0,2%) de Mn, 48,1% de los cuales estaba disponible en la infusión de estas hojas (Wrobel et al., 2000).

3.5. Actividades biológicas y efectos en la salud:

A lo largo de los últimos 20 años, el número de artículos publicados con diversas actividades biológicas de la yerba mate ha ido en aumento. Esto es básicamente debido al interés cada vez mayor en la yerba

mate como alimento y además a la ampliación del mercado de esta hierba. Esto es bastante natural teniendo en cuenta que la yerba mate tiene una gran cantidad de compuestos que se consideran muy atractivas en la actualidad por diversas razones: cafeína, ácidos cafeoilquínicos (CQAs) y la presencia de una cantidad sustancial de saponinas que aumentan la solubilidad de estos compuestos en agua, aparte de sus actividades biológicas. Las bebidas resultantes podrían tener todos los beneficios conferidos por este alto contenido de cafeína, junto con los supuestos efectos beneficiosos de grandes cantidades de CGAs con sus propiedades antioxidantes supuestas.

Por desgracia, no he podido encontrar ningún estudio epidemiológico serio que haya sido realizado para determinar el efecto real del alto consumo de yerba mate en la población de bebedores de mate en Sudamérica a lo largo de períodos prolongados.

Un aspecto, sin embargo debe ser investigado a fondo. En América del Sur el hábito de tomar mate consiste en compartir el mate en rondas, de manera tal que todas las personas que participan de la ronda utilizan la misma bombilla para beber el mate. La limpieza o la limpieza de la bombilla antes de beber se consideran de mala educación, de modo que cualquier propagación de enfermedades por vía oral se transmite fácilmente. Sin embargo, esto nunca ha ocurrido ya que no ha habido una epidemia severa de hepatitis o de gripe, en todo este tiempo.

La actividad antimicrobiana:

Se han realizado investigaciones al respecto, aunque los resultados no han sido tan interesantes como se esperaba. Un extracto acuoso de hojas de *I. paraguariensis* (no hay detalles en el documento sobre el tratamiento de las hojas antes de la extracción, ni la concentración, ni la temperatura del extracto acuoso, ni el momento de la extracción) mostró in vitro una fuerte actividad contra cepas VHS-1 KOS (IS = 15,8) y 29 R-(ES = 12.6). Se observó que no hay actividad contra el virus de la rabia (Müller et al., 2007). Los autores responsabilizan a los CQAs por dicha actividad. Sin embargo, es importante señalar que ácidos cafeoilquínicos son ubicuos y están presentes en la mayoría de las otras especies, por ejemplo, en los que se detectó menos o casi ninguna actividad que un extracto acuoso de *I. paraguariensis*. Anteriormente, la actividad antimicrobiana del aceite esencial de la hoja de yerba mate fue probada contra los microorganismos seleccionados (Kubo et al., 1993) pero principalmente contra *Streptococcus mutans* debido a la importancia que presenta en la formación de caries dentales (Hamad; Slade; 1980). Todos los componentes de esta fracción volátil mostraron actividad, aunque el efecto individual de los componentes ha demostrado ser de moderada a baja.

Sari et al., (2007) probaron la actividad inhibitoria de diversos tipos de extractos de yerba mate contra diversas bacterias. Todos los extractos de yerba mate demostraron ser activa contra todas las cepas probadas, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O + / 1: H1, *Hafnia alvei*, *Yersinia enterocolitica* y *Bacillus cereus*, con la excepción de *E. coli*.

Actividad antiparasitaria:

Hay varias infecciones endémicas graves causadas por parásitos en el centro y el norte de Argentina. Uno de las más peligrosas es Chagas-Mazza, causada por el protozoo *Trypanozoma cruzi*. Taketa et al., 2004 ha probado la actividad antitripanosomal de algunas saponinas de diversas especies de *Ilex*, entre ellos *I. paraguariensis* donde encontraron que matesaponina 1, matesaponina 3 y 4, mostraron IC50 > 32 / M en contra de ambos *T. brucei* y *T. cruzi* (Taketa et al., 2004).

Capacidad antioxidante:

Se ha encontrado que el consumo de té de mate contribuye significativamente a la ingesta de antioxidantes en general y proporciona altas cantidades de derivados del ácido cafeoilquínico, con efectos biológicos potencialmente beneficiosos para la salud humana (Bravo et al., 2007). De todas las especies de *Ilex*, se ha demostrado que *Ilex paraguariensis* tiene la mayor actividad antioxidante y se ha correlacionado positivamente con la concentración de los derivados del ácido cafeico (Filip et al., 2000; Schinella et al., 2000; Bracesco et al., 2003; Bixby et al., 2005).

Control del peso y la obesidad:

La obesidad es una preocupación creciente en muchos países y las investigaciones actuales en muchas áreas están dirigidas a encontrar una manera de frenar la epidemia. El té de mate ha demostrado los posibles efectos en la pérdida de peso y la gestión y la investigación en curso ha proporcionado algunas pruebas de apoyo. Los obesos hombres y mujeres que consumen mate han demostrado una disminución del cociente respiratorio (CR), lo que indica un aumento de la oxidación de grasas (Martinet et al., 1999).

El mate ha demostrado que tiene potencial en la pérdida de peso y ahora está siendo considerado como suplemento dietético. Adición de ingredientes tales como mate, guaraná y damiana en los suplementos ha demostrado ser eficaz en la reducción de peso corporal (Pittler; Ernest; 2004).

Se ha citado que el efecto del Mate en la pérdida de peso, aunque no se conoce directamente, podría ser debido a su concentración de cafeína, lo que contribuye a la actividad lipolítica, termogénico o la concentración de saponina, interfiriendo con el metabolismo del colesterol y retrasar la absorción intestinal de grasas en la dieta (Dickel et al., 2007). El té de mate también puede afectar otros aspectos del metabolismo de los lípidos, tiene la capacidad de inhibir la aterosclerosis en conejos cuando son alimentados con una dieta alta en colesterol y un extracto acuoso de Yerba Mate (Mosimann y col, 2006). El mate ha demostró también, tener potencial como digestivo debido a un efecto colerético por el aumento de la tasa de flujo de la bilis (Gorzalczany et al., 2001).

Actividades contra el cáncer:

Una gran cantidad de la investigación sobre las actividades contra el cáncer de *I. paraguariensis* hojas y la yerba mate se han realizado en el pasado. La mayoría de ellos han sido experimentos in vitro y algunos experimentos en vivo o ex-vivo. Lamentablemente no se han realizado estudios epidemiológicos reales. Estas actividades han sido ampliamente revisadas por Bastos (2007), Heck y Mejía (2008) y más recientemente por Bracesco (2011).

Un estudio reciente mostró que las fracciones ricas de saponinas de *I. paraguariensis* inhibía la célula de cáncer de colon (HT-29), la proliferación a través de la activación de un vía específica apoptosis intracelular en células HT-29. Esta fracción de saponina también aumentó la expresión de la proteína Bax pro-apoptóticos, disminuyendo la expresión de proteínas anti-apoptóticas Bcl-2; y activando posteriormente la caspasa-3. Estos hallazgos sugieren que la inducción de la apoptosis en matesaponinas tratados con células HT-29 podría estar asociada con una cascada de la caspasa-dependiente que implica la activación de la vía mitocondrial, iniciado por la inhibición de Bcl-2 y la activación de Bax. (S. Puangraphant et al., 2011),

En un estudio in vitro con linfocitos humanos, los autores muestran una actividad citotóxica de los extractos frente a estas células, que se debió principalmente a la cafeína y por lo tanto no es exclusivo de bebidas de yerba mate (Alves et al., 2008; Wnuk et al., 2009).

Una de las actividades relacionadas con la biología del cáncer es la angiogénesis, un estudio clave en la inflamación y reparación, así como en la biología del cáncer. Tratamientos realizados con el extracto acuoso de yerba mate y la cafeína en las membranas vasculares del saco vitelino de embriones de pollo reveló propiedades pro-vasculo-angiogénicos y, así como la mejora del crecimiento embrionario (Strassmann et al., 2008).

3.6. Aplicaciones medicinales de *Ilex paraguariensis*:

La Yerba Mate se encuentra incluida en la Farmacopea Argentina VIII Ed. Volumen III. (Ver Anexo 1), y en la Farmacopea sudamericana como la de Brasil y en la Farmacopea Francesa 10.ed por sus actividades farmacológicas.

El Deutscher Arzneimittel Códex de 2010 (DAC) incluye una monografía sobre hojas tostadas de mate (DAC-065) y de hojas verdes de mate (DAC-066).

La farmacopea Ayurvédica lista la yerba mate para las cefaleas, fatiga, depresión nerviosa y dolores reumáticos (Karnick, 1994).

La Comisión E ha incluido también una monografía sobre mate en la que se indica para la fatiga mental y física.

En Alemania, la hoja de yerba mate se utiliza como monopreparado en forma de infusión acuosa de dosificación para afecciones de la vejiga y riñón preparados como tés. El extracto seco de mate es un componente del té instantáneo y la tintura alcohólica se utiliza en preparaciones líquidas.

En Estados Unidos, el mate es utilizado en monopreparados como infusión acuosa, tintura alcohólica y extracto acuoso seco como un componente principal de suplementos dietéticos estimulantes del sistema nervioso central para la fatiga mental y física (Blumenthal et al., 2000).

La farmacopea británica herbaria (British Herbal Pharmacopoeia) (1988-1996), también tiene una monografía sobre mate con indicaciones similares a las que cita la Comisión E, en estos casos, el contenido de cafeína se define y los usos son principalmente atribuidos a este alcaloide.

3.7. Productos elaborados con Yerba mate:

Lo que se utiliza como droga vegetal son las hojas y tallos con hojas, sometidos a un proceso de desecación rápida. Estas hojas contienen numerosos compuestos fenólicos, principalmente ácidos fenólicos (ácidos mono y dicafetil quínicos, feruloil y p -cumaroil quínicos) y flavonoides; también contiene aminas, saponósidos (matesaponinas) y bases xánticas como la cafeína mayoritariamente.

Existen numerosos productos alimenticios y medicinales en cuya composición se encuentra la yerba mate ya sea procesada industrialmente o con las partes utilizadas de la planta. (Ver Anexo 3)

4. Aspectos industriales de *Ilex paraguariensis* var. *paraguariensis*:

La yerba mate (té Paraguay) está elaborada con tallos y hojas de un nativo de los cultivos arbóreos de América del Sur, *Ilex paraguariensis* Saint Hil. (Aquifoliaceae), un árbol de hoja perenne acebo de Brasil, Paraguay y Argentina. En este último país, el principal productor y consumidor mundial de yerba mate, ha sido extensamente plantada desde 1903, superando los problemas tales como las tasas de germinación natural de baja de sus semillas. A partir de 1930, la sobreproducción de productos frescos de yerba mate para la “yerba mate” de la industria, ha llevado a la legislación reguladora y la progresiva mejora de los procedimientos de control de calidad en materias primas, lo cual se restringe el uso indebido de las alternativas de especies de *Ilex*, como, *I. dumosa* Reissek, *I. theezans* C. Martius ex Reissek, etc, y luego participó en la preparación industrial de la yerba mate.

Por otro lado, las demandas del mercado para lograr la uniformidad sobre la calidad y rendimientos más altos, han inducido a iniciar en 1974 varios programas de selección de plantas, propagación clonal y sobre todo la cría de algunos árboles interclonales progenitor superior. Este hecho, lo que obviamente limita la variación genética de una especie de cultivo dado, se acompaña de un proceso de deforestación a gran escala que ocurren en casi la totalidad del área de distribución natural de *Ilex paraguariensis*. (Giberti, 1994).

El proceso de elaboración de la Yerba Mate desde que la hoja es cortada hasta quedar pronta para su consumo se separa básicamente en dos etapas: primero la obtención de la yerba “canchada”, y a partir de esta, una segunda, mediante la cual se llega a la yerba “elaborada”. Todos los procesos tendientes a la elaboración de yerba, tienen gran importancia en la calidad final, ya que esta es un producto 100% natural que no recibe ningún tratamiento ni adición química en ninguna fase de su elaboración.

4.1. Prácticas de cultivo:

En la variada y amplia área de producción económica de yerba mate, las prácticas de cultivo o de explotación de los yerbales naturales varían considerablemente en cuanto a sus aspectos técnicos, lo que resulta en rendimientos por hectárea disímiles. (Giberti, 1994).

Se pueden distinguir tres modalidades de producción, que se ordenarán de menor a mayor, en función del empleo de técnicas y de sus rendimientos:

- **Explotación extractiva del monte natural (forestal).** Aprovecha la riqueza de yerbales naturales. La cosecha no está mecanizada y el sistema de poda es en general incorrecto. Esta forma de producción está difundida principalmente en Brasil.
- **Sistema mixto o de enriquecimiento del monte natural.** Consiste en incrementar el número de ejemplares del yerbal nativo y en la reposición de los que se han perdido. En Brasil, donde se practica más comúnmente esta modalidad, se llama adensar el yerbal. Como por lo general esta técnica se acompaña con otras que incrementan el rendimiento, tales como cuidados culturales y mejoras en formas de poda, se compensa el mayor costo de producción.
- **Yerbales cultivados.** Sin duda el mejor sistema, generalizado en Argentina hacia 1915. A pesar de tener más altos costos, el rendimiento por hectárea crece mucho. Complementado con medidas tales como mejoras en el diseño de las plantaciones (que han evolucionado desde el tresbolillo, con plantas espaciadas que usaban los jesuitas, hasta el cultivo según curvas de nivel de alta densidad por hectárea y «corte mesa»), con podas en el momento oportuno, labores culturales y cosecha, ha permitido que la producción argentina superase a la brasileña, a pesar de realizarse la primera en un área más reducida e incluso fuera de los ambientes más aptos para la yerba.

El sistema de poda y conducción de las plantas denominado corte mesa no solamente aumenta el rendimiento sino que se adapta mejor a la cosecha mecánica. La plantación siguiendo curvas de nivel, el uso de cubiertas verdes naturales o implantadas (colza, leguminosas, etc.), la fertilización (N, P, K), el control de malezas (mecánico y/o utilizando herbicidas), tratamientos fitosanitarios oportunos y la cosecha realizada racionalmente mejoran los rendimientos. Las experiencias relacionadas tienen bastantes años de vigencia, pero lamentablemente sus resultados no se han generalizado. La introducción al cultivo de cultivares mejorados es mucho menos difundida.

4.2. Proceso productivo:

El cultivo de la yerba mate comienza con la siembra, realizada entre los meses de febrero y marzo. La germinación es dificultosa ya que el 80 % de la semilla está constituida por tegumentos y sólo el resto por el endosperma y la radícula. Luego de aproximadamente seis meses se seleccionan las plantas mejor desarrolladas y se las replica a macetas entre octubre y noviembre. El trasplante definitivo a campo se realiza en la temporada otoño-invernal. Las pequeñas plantas requieren de protección contra la intensa insolación y los vientos, lográndose con estructuras colocadas alrededor de las plantitas llamadas “ponchos” realizadas con diversos materiales, como cañas o tablitas. En general, pueden plantarse con 3 a 4 metros entre líneas y con 2 a 3 metros entre plantas, según la densidad buscada. Respecto de los manejos culturales, se realiza una pasada de rastra de disco entre líneas para el control de malezas y una carpida manual entre plantas tanto en primavera como en otoño, fuera de la época de cosecha. Se aconseja una fertilización cada tres años aproximadamente con nitrógeno, fósforo y potasio, teniendo en cuenta mantener una relación 4:1:1 y 2:1:1.

4.3. Proceso de elaboración de la Yerba Mate:

El proceso de elaboración comienza con la cosecha, considerada como último eslabón del proceso productivo y como primero del de elaboración. Le sigue un conjunto de pasos cuya finalidad es la reducción del contenido de humedad del producto, constituido por el sapecado y el secado, para finalizar con el canchado (molienda grosera). El material producto del canchado es la materia prima que ingresa al molino yerbatero.

Cosecha:

La cosecha comienza durante los meses de abril y mayo extendiéndose hasta octubre, período durante el cual la planta disminuye la circulación de su savia y en que cuenta con un mayor porcentaje de hojas maduras. Consiste en el cuidadoso corte de las ramas, cargadas de hojas, mediante tijera, machete o serrucho, según lo requiera el grosor de las ramas a cortar.

La primera cosecha de escaso rendimiento suele realizarse entre el 4º y 5º año de implantación. Si bien ésta puede realizarse anualmente el manejo racional del cultivo indica realizar la cosecha, también denominada “tarefa”, año por medio. Hay que considerar que cosechas demasiado intensas generan desequilibrios en la estructura y fisiología de la planta, aconsejándose dejar en las plantas alrededor del 25% de su follaje, con cierta proporción de ramas medianamente gruesas con hojas.

Cosechadas las ramas, se procede a la “quebra” eliminando las más gruesas de otras menores y de las hojas aisladas. Las ramas ya quebradas se acondicionan sobre amplios lienzos de arpillera “ponchadas” recogidas y atados sus cuatro extremos, constituyendo el “raído”. Esta tarea se realiza para disminuir el volumen del material cosechado y para colaborar con un transporte más eficiente.

Sapecado:

El sapecado consiste en un secado muy rápido, con duración de 20 a 30 segundos, a la acción directa de la llama del fuego. Este proceso debe ser concretado dentro de las 24 hs de realizada la cosecha. Durante esta exposición, se genera vapor de agua en el parénquima foliar, formando pequeñas ampollas que rompen la epidermis de las hojas con un ligero crepitar. Este proceso también inactiva el protoplasma, destruyendo las enzimas responsables de los procesos biológicos de degradación. Esto impide la oxidación de las sustancias tánicas contenidas en la hoja, asegurando la conservación de su color verde. Durante el sapecado la yerba mate adquiere su característico aroma y pierde el sabor a hoja verde o tisana.

Secado:

Dentro de las 24 horas siguientes al sapecado, el material debe ser sometido a un proceso de secado para reducir su contenido en humedad, hasta un valor que oscila entre 3% y 6%, trayendo aparejado una disminución de peso. De acuerdo a referentes del sector, el punto óptimo de secado se produce cuando “la fracción de palo (ramitas) se quiebra con facilidad”. Puede secarse directamente el material sapecado o bien realizar previamente una separación, obteniendo una fracción de hoja y otra de palo, para luego efectuar mezclas de las mismas.

Existen varios tipos de secaderos, según el nivel tecnológico de la empresa:

- **Secaderos Barbacúa:** son sencillas estructuras tubulares que suelen construirse de cañas tacuaras, en cuyo interior se coloca la yerba mate. El proceso es largo, con duración de un mínimo de 8 horas. Este proceso se realiza tradicionalmente durante la noche.
- **Secaderos de Cinta:** estructuras de mayor nivel tecnológico, consisten en una serie de cintas móviles que reciben calor desde su parte inferior. La yerba mate circula por tales cintas, perdiendo humedad en todo el circuito. Este proceso es más rápido con duración aproximada de 5 horas.
- **Secaderos de Tubos Rotativos:** estos equipos producen una secanza rápida, con duración menor a 1 hora.

Canchado:

Secada la yerba, se somete al canchado, siendo un proceso de trituración grosero. La yerba mate se fracciona en trozos de aproximadamente un centímetro cuadrado. La finalidad es facilitar su embolsado y transporte. En general, se guarda una relación de 3 a 1 en volumen entre la hoja verde y la yerba mate canchada. Es de destacar que durante el canchado se genera la dispersión de gran cantidad de polvo. Antiguamente esta operación se realizaba esparciendo la yerba sobre un lugar plano, recubierto de arpilleras, a las que denominaban “canchas”, de allí deriva este término de “canchado”. Era una operación similar a la primitiva trilla del trigo, en la cual se golpeaba manualmente la yerba mate, mediante espaldones o machetes de madera dura.

Estacionamiento:

Después del proceso de canchado, la yerba es colocada en bolsas de arpillera de 40 –50 kg y se somete a un período de estacionamiento. Este proceso puede ser natural o acelerado. En el primero se

mantiene la yerba mate canchada almacenada por un lapso de tiempo adecuado, aproximadamente 6 a 24 meses en depósito, para que se sucedan los procesos de transformación espontánea, y la yerba mate adquiera las distintas características de sabor, aroma y color requeridas por los consumidores. En el acelerado se almacena por un período de 30 a 60 días, en un depósito con regulación de temperatura, humedad y circulación de aire, para que la yerba mate adquiera características organolépticas similares a las generadas por el estacionamiento natural.

Molienda:

La yerba mate canchada y estacionada es la materia prima de la industria molinera. La molienda consiste en sucesivas operaciones de trituración, zarandeo y mezcla, dando como resultado final yerba mate adecuada al gusto de cada región. La materia prima es colocada sobre cintas transportadoras, se la pasa por una zaranda circular de alambre, conocida como “zaranda de limpieza” para la eliminación de posibles cuerpos extraños, palos y ramas excesivamente gruesas. Luego se somete a un zarandeo primario de clasificación en el que se separan las hojas muy grandes y el palo. Estas hojas se someten a una trituración más o menos intensa en un molino o bien en el “trapiche” (tanque de hierro en el que giran dos pesados rodillos de hierro, de forma cónica truncada y superficie estriada) para luego ser zarandeadas nuevamente. Se utilizan zarandas vibradoras para obtener distintos productos según grado de trituración, que se almacenan en silos especiales conocidos como “percheles”. Una vez terminada la clasificación se puede proceder a una mezcla con “palos”, cortados previamente en trozos uniformes mediante un “corta palos”, en distintas proporciones, según características deseadas de acuerdo a calidad, origen y sabor, entre otras. Del proceso y de la granulometría de la mezcla depende el sabor diferenciando las distintas yerbas.

Envasado:

Una vez finalizada la molienda, clasificación y mezcla se procede al envasado del producto final. Los envases presentan varias capas de diversos materiales, para preservar las características organolépticas de la yerba mate. Los contenidos más usuales son de medio y de un kilogramo. También se comercializan envases de un cuarto y de dos kilogramos.

4.4. Normativas de la Yerba mate en Argentina:

Considerando que la yerba mate tiene distintos usos, cabe destacar que existen distintas normativas dependiendo del consumo del mismo.

Por una parte la yerba mate procesada es consumida por los seres humanos y es considerada en el Código alimentario Argentino (C.A.A) cap. XV, como un Productos Estimulantes o Fruitivos, siendo el Instituto Nacional de la Yerba Mate quién regula el sector primario e industrial; por otra parte la Farmacopea Argentina codifica la monografía de la planta para usos medicinales.

4.4.1- Instituto Nacional de la Yerba Mate (INYM):

El Instituto Nacional de la Yerba Mate (INYM) nace formalmente con la sanción de la ley N° 25.564, el 21 febrero de 2002, con el propósito de mejorar la competitividad del sector productor primario e industrial. Su naturaleza jurídica responde a un ente de derecho público no estatal con jurisdicción nacional, siendo sus objetivos promover, fomentar y fortalecer el desarrollo de la producción, elaboración, industrialización, comercialización y consumo de la yerba mate, procurando la sustentabilidad de los distintos sectores involucrados en la actividad. (Ver anexo 2).

El INYM ha elaborado una medida que entró en vigencia a partir del 1° de junio de 2003, la cual hace obligatorio el uso de una estampilla fiscal en todos los paquetes de yerba mate (Artículo 21 de la Ley N° 25.564). Las estampillas son provistas en valores coincidentes a 1/4 kilogramo (color verde), 1/2 kilogramo (color azul), 1 kilogramo (color rojo) y 2 kilogramos (color amarillo), claramente identificadas y diferenciadas por los colores mencionados. Todo envase que difiera de los valores establecidos, deberá adecuar la tasa a la combinación de estampillas, hasta cubrir el correspondiente volumen del envase.

4.4.2- Código alimentario Argentino (C.A.A) cap. XV, Productos Estimulantes o Fruitivos.**Artículo 1193:**

- ✓ Con la denominación de “Yerba Mate” o “Yerba” se entiende producto formado por las hojas desecadas, ligeramente tostadas y desmenuzadas de *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire (Aquifoliácea) exclusivamente, mezcladas o no con fragmentos de ramas secas jóvenes, pecíolos o pedúnculos florales, sin perjuicio de autorizar la inclusión de otras especies de igual género tan pronto como se disponga de estudios que avalen la inocuidad y sean aprobados por la Autoridad Sanitaria Nacional.
- ✓ Con las denominaciones que siguen se entienden los productos que a continuación se definen:
 - 1- “Yerba mate canchada”: es la yerba sapecada, secada y groseramente triturada.
 - 2- “Yerba mate elaborada”: es la yerba canchada que ha sido sometida a procesos de zarandeo, trituración y molienda, tal que se ajuste a las siguientes clasificaciones :

2.1- “Yerba mate elaborada” o “Yerba mate elaborada con palo”: es la yerba que contiene no menos del 65% de hojas desecadas, rotas o pulverizada no más del 35% de palo, grosera y finamente triturada, astillas y fibras del mismo. Con el fin de determinar la cantidad total de palo, se utilizarán los tamices de abertura de 1 x 20 mm. y N°40 (cuarenta mallas por pulgada). La fracción retenida sobre el tamiz de 1 x 20 mm será considerada palo y no deberá ser inferior, al 10% en peso de la muestra analizada. La fracción que pasa por el tamiz N°40 será considerada hoja.

Con una alícuota de la fracción retenida en el tamiz N°40 proveniente de sucesivos cuarteos, se procederá a extraer con pinzas las astillas y cáscaras de palo presentes con lo que se cuantificará la cantidad de dicha fracción. Este porcentaje más el retenido en el tamiz de 1 x 20 mm conformará el porcentaje total de palo de la muestra analizada. El 100% de la muestra analizada deberá pasar por un tamiz cuyas aberturas son de 5 x 70 mm.

2.2- “Yerba mate elaborada despalada o despalillada”: es la yerba que contiene no menos del 90% de hojas desecadas, rotas o pulverizadas y no más del 10% de palo grosera o finamente triturado, astillas y fibras del mismo. Con el fin de determinar la cantidad total de palo, se utilizarán los tamices de abertura 1 x 20 mm y N°40 (cuarenta mallas por pulgada). La fracción retenida sobre el tamiz de 1 x 20 mm será considerada palo y no deberá ser superior al 5% en peso de la muestra analizada. . La fracción que pasa por el tamiz N°40 será considerada hoja.

Con una alícuota de la fracción retenida en el tamiz N°40 proveniente de sucesivos cuarteos, se procederá a extraer con pinzas las astillas y cáscaras de palo presentes con lo que se cuantificará la cantidad de dicha fracción. Este porcentaje más el retenido en el tamiz de 1 x 20 mm conformará el porcentaje total de palo de la muestra analizada. El 100% de la muestra analizada deberá pasar por un tamiz cuyas aberturas son de 5 x 70 mm.

2.3- “Yerba mate tostada”: es la yerba mate elaborada sometida posteriormente a un proceso de tostación.

2.4- “Yerba soluble, yerba mate instantánea, extracto de yerba mate en polvo, concentrado de yerba mate”: es el producto resultante de la deshidratación de los extractos acuosos obtenidos exclusivamente de la yerba mate.

- ✓ La yerba mate elaborada que se tenga en depósitos, exhiba o expendá deberá responder a las siguientes características:
 - a) Humedad (100-105°C): máx. 9,5%.
 - b) Cenizas totales (500-550°C): máx. 9,0%, método AOAC (sobre peso seco)
 - c) Cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10% p/v: máx. 1,5%
 - d) Cafeína: min 0,6%, método de cortes (sobre producto seco)
 - e) (Res MS y AS N°990, 22.12.97) “extracto acuoso mínimo 25%, método AOAC sobre producto seco”

- f) Sustancias vegetales extrañas: máx. 1,0%
 - g) Semillas de yerba mate: máx. 1,0%
 - h) No deberá estar ardida, alterada o agotada.
- ✓ La yerba mate soluble deberá responder a las siguientes características:
- a) Humedad (100-105°C): máx. 7,4%
 - b) Cenizas totales (500-550°C): máx. 9,0%, método AOAC (sobre peso seco)
 - c) Nitrógeno total, máx. 3,0%
 - d) Hidratos de carbono totales (como glucosa) 18-24%
 - e) Bases púricas totales (Método de Bailey-Andrew), mín. 2,5%
 - f) Alcalinidad de la cenizas (en milímetros de ácido N): 25-30%
 - g) pH de una solución al 2% p/v en agua: 5-6
- Los envases garantizaran la hermeticidad suficiente para asegurar su preservación e impedir su hidratación. Se prohíbe el agregado de hidratos de carbón y de aromatizantes artificiales.
- ✓ La yerba mate elaborada debe expendirse al público en envases de primer uso, los que deberán tener cierres de garantía (sellos, precinto, faja, rulo encolada, solapa encolada, termo sellado, etc.) que imposibilite su apertura sin romper el envase, quedando prohibido fraccionar su contenido para la venta al detalle. En la rotulación se consignará el tipo de yerba mate. Con la clasificación del Art.3 (2.1 y 2.2) con letras de igual tamaño, realce y visibilidad. La mezcla de yerba mate de distintos orígenes geográficos, no podrá expendirse con una indicación parcial de una sola procedencia.
- ✓ Se entiende por yerba mate en bolsitas (yerba mate en saquitos) a la yerba mate contenida en un envase de papel apropiado para realizar la infusión, el que deberá reunir los siguientes requisitos:
- a) El material de la bolsita deberá ser inocuo para la salud, de estructura fibrosa y presentar neutralidad de sabor. Además, deberá responder a características, tales que permitan filtrar en caliente y en ebullición, tendrá flexibilidad y resistencia mecánica y permitirá la difusión rápida y completa de la infusión, con retención de las partículas más pequeñas de la yerba mate. Deberá estar libre de sustancias capaces de conferir olor o sabor extraño a la infusión de yerba mate.
 - b) Las bolsitas de papel con todos sus tipos o variedades (bolsitas plegadas de una o dos cámaras, saquitos y saquitones) cargadas con la yerba mate mojada deberán ser resistentes a todas las manipulaciones a que sean sometidas. Para obtener estas resistencias, se autoriza el agregado de fibras artificiales o resinas sintéticas que cumplan con las exigencias del Código Alimentario Argentino. En todos los casos el material de las bolsitas deberá ser especialmente autorizado para su uso.
 - c) Cuando las bolsitas tengan hilo, este deberá ser de algodón puro, crudo u otro material autorizado sin colorear, fino y apto para estar en contacto con productos alimenticios. Su largo será adecuado para los fines a que se destinen.
 - d) El envasado y cierre de las bolsitas deberá practicarse mecánicamente, de manera tal que se las preserve del efecto de la humedad y no se incorporen olores extraños al producto. La yerba mate contenida en los saquitos deberá responder a las características especificadas en el Art.3.
- En el rótulo principal y en forma bien visible se deberá consignar la leyenda “en bolsitas”, “en saquitos” o en “saquitones”.
- ✓ Por yerba mate compuesta, se entenderá el producto constituido por “yerba mate elaborada despalillada” o “.....con palo”, adicionada de una o varias hierbas sávido-aromáticas de reconocida inocuidad fisiológica en la forma habitual de su uso (infusión o mate): cedrón, menta, salvia, poleo, romero, peperina u otros que apruebe la Autoridad Sanitaria Nacional.
- Estas hierbas podrán adicionarse desde un mínimo de 5% hasta un máximo de 40%, y deberán satisfacer las exigencias establecidas en el C.A.A (Código Alimentario Argentino) y/o en la Farmacopea Nacional Argentina. (El 60% restante deberá estar compuesto por yerba mate). El producto final no contendrá más de 9,5% de agua ni más del 2% de cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10% p/v calculados ambos sobre producto seco.
- Este producto se expendirá en envases bromatológicamente aptos, con rótulo reglamentario en el que deberá figurar en forma bien visible el nombre y la proporción de los componentes y la fecha de

vencimiento. La denominación del producto será yerba mate despalillada (o con palo) compuesta” o “...aromatizada” o “...aromatizada con...” (Llenando el espacio en blanco con el o los nombres que corresponden). En esta denominación podrán utilizarse los siguientes nombres genéricos o regionales de las hierbas que entran en su elaboración tales como: Hierbas Cordilleranas, Serranas u otras similares.

No podrá figurar la designación de las hierbas sávido-aromáticas utilizadas cuando entren en una mezcla en una proporción menor al 0,5%.

5.- Cuantificación de compuestos fenólicos totales: Método Folin-Ciocalteu

5.1- Introducción y fundamento químico:

Existen diferentes métodos para determinar los compuestos fenólicos presentes en la yerba mate y sus brebajes. El método más utilizado es el índice de Folin-Ciocalteu que permite cuantificar los compuestos fenólicos totales. Los datos obtenidos con esta reacción son de gran utilidad pero no especifican la composición cualitativa de los distintos compuestos fenólicos presentes. El método de Folin-Ciocalteu es el método oficial de la AOAC (Asociación Oficial de Químicos Analíticos) y utiliza un reactivo constituido por molibdato y tungsteno sódico, dos sales que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotungsticos. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotungstico, a óxidos cromógenos de color azul intenso de tungsteno y molibdeno, siendo proporcional este color con el número de grupos hidroxilos de las moléculas, lo que permite su cuantificación espectrofotométrica a 740 nm contra una sustancia de referencia. La sustancia de referencia más utilizada es el ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico) un ácido muy soluble en agua, que permite realizar una comparación de los valores obtenidos con los publicados en diferentes trabajos científicos, es decir una estandarización. El procedimiento que se describe a continuación es una adaptación del método clásico (Singleton et al., 1999) y consiste en la construcción de una curva de calibración con la sustancia de referencia – en este caso ácido gálico- luego de lo cual se analiza la muestra previa dilución para que entre en el rango de concentraciones de la curva.

Los resultados se expresan en miligramos equivalentes de ácido gálico (GAE) por litro o por 100 g de droga.

5.2. Reacción química:

La reacción de Folin-Ciocalteu consiste en la oxidación de los complejos que se forman entre los tungstatos y molibdatos que componen el Reactivo de Folin-Ciocalteu (FCR). La química de los tungstatos y molibdatos es muy compleja. Los isopolifosfotunstatsos son incoloros cuando el metal tiene el estado de oxidación máximo (+6) y los compuestos análogos de molibdeno son amarillos. Forman heteropolifosfotungstatos-molibdatos mixtos. Existen en solución ácida como complejos hidratados octahédricos de óxidos metálicos coordinados alrededor de un fosfato central.

Las secuencias de reducciones reversibles de uno o dos electrones conducen a la formación de especies azules tales como el $(\text{PMoW}_{11}\text{O}_{40})^{4-}$. En principio, el agregado de un electrón a un orbital formalmente no enlazante reduce unidades nominales de MoO^{4+} a unidades “isoestructurales” de MoO^{3+} que son azules.

De todos modos, no se conocen los detalles de la estructura molecular y electrónica de estos compuestos y dado la complejidad que presentan es poco probable que se conozcan por el momento. Dado la variedad de productos formados, se genera una banda de absorbancia visible en la región azul muy amplia; dentro de esta y debido a la falta de interferencias, la longitud de onda elegida en general para Folin-Ciocalteu es 740 nm.

Aunque es posible que se formen complejos entre oxidrilos fenólicos tales como los que se encuentran en el catecol y los fosfotungstatos o molibdatos, la única función de los fenoles que se oxidan por el FCR parece ser la de aportar los electrones que intervienen en la rédox. Los sustratos diversos que

reaccionan con el FCR no parecen pasar a integrar parte del cromóforo azul. Tampoco parece que los productos azules generados varíen de acuerdo al sustrato (tipo de fenol). Esta conclusión se basa en la similitud de los espectros del producto (azul) de la reacción que se obtiene con cualquier sustrato. Los ensayos de recuperación realizados con ácido gálico en vino demuestran una recuperación del 100% y la absorbancia producida por mezclas de fenoles naturales de distintos tipos es equivalente a la suma de sus contribuciones individuales. (Singleton et al., 1999).

5.3- Materiales y Métodos.

5.3.1- Muestras vegetales:

- Hojas secas de *Ilex paraguariensis* var. *paraguariensis*. Clon 8/74. N° de planta 10. Fecha de recolección 20/09/2010. (Origen: Misiones), provistas por Ing. Agr. Sergio Prat Kriun. Grupo Yerba mate y Té. INTA-Cerro Azul. La muestra de herbario de la droga empleada se conserva en el INTA Cerro Azul (Misiones)
- Yerba mate con palo comercial.
- Yerba mate despalada comercial.

5.3.2- Equipos y materiales utilizados:

- Espectrofotómetro UV-VISIBLE, Marca Shimadzu, modelo UV-1700 Pharmaspec.
- Balanza analítica, Marca Shimadzu, modelo AUW 220D.
- Rotavapor, Marca Buchi, modelo R-3000.
- Acido Gálico marca Sigma Aldrich pureza $\geq 99\%$ (HPLC). Catálogo: G7384
- Metanol, calidad HPLC (Baker)
- Reactivo de Folin-Ciocalteu reagent, Sigma, catálogo: 47641.
- Carbonato de sodio p.a (Anedra)
- Agua MilliQ (filtro Millipore de 0,45 mm)

5.3.3- Método: Cuantificación de polifenoles totales.

Para realizar la cuantificación de compuestos fenólicos en yerba mate y brebajes por el método de Folin-Ciocalteu se procedió a realizar en primer lugar una curva de calibración utilizando un espectrofotómetro que mide la absorbancia de una muestra a la longitud de onda determinada para el complejo en función de concentración de la misma. Una vez determinados los valores de absorbancia para cada concentración de ácido gálico (sustancia de referencia para realizar la curva de calibrado) se graficó la concentración en función de la absorbancia a 740 nm para determinar el rango de concentraciones en el cual se obtenía una linealidad aceptable (r^2 mayor a 0.99) asegurando así que el método es capaz de producir resultados proporcionales, directamente o mediante una transformación matemática, a la concentración del analito en las muestras, dentro de un determinado rango.

5.3.3.1- Curva de calibración de Acido Gálico:

Se preparó una solución estándar de 25 mg / 100 ml de agua de ácido gálico. A partir de esta solución se prepararon 5 soluciones (concentraciones 0,025; 0,050; 0,075; 0,1; 0,125 mg/ml). Se tomó 0,5 ml de cada solución preparada anteriormente y se agregaron 2,5 ml del Rvo. de Folin-Ciocalteu 10% en agua destilada y luego 2 ml de solución de Na_2CO_3 7,5% en agua destilada. Estas soluciones se mantuvieron en la oscuridad durante 2 horas. Se midió la absorbancia de cada muestra en el espectrofotómetro a 740 nm de longitud de onda y se construyó la curva con los datos obtenidos, utilizando como blanco una muestra de agua tratada de forma similar a las soluciones muestra.

5.3.3.2- Preparación de las muestras vegetales.

Se pesaron 20 g de material vegetal (yerba mate despalada, yerba mate con palo e *Ilex paraguariensis*) y se agregaron 100ml de metanol, agitando a temperatura ambiente durante 3 horas cada una por separado. Posteriormente se filtró al vacío, recogiendo el extracto metanólico. El marco se volvió a extraer con 100 ml de metanol durante 1 hora.

Los extractos de metanol se reunieron y se llevaron a sequedad con un evaporador rotativo. Se calculó la cantidad de residuo obtenido por diferencia de peso entre el balón vacío y el balón con el extracto seco.

El extracto seco obtenido se conservó en freezer, cerrado herméticamente hasta su valoración.

Para la cuantificación de compuestos fenólicos totales en las muestras vegetales, se resuspendió una cantidad suficiente de extracto seco en metanol para lograr una concentración de 0,3 mg/ml.; luego se tomaron 0,5 ml de este extracto, se le añadió 2,5 ml del rvo. de Folin-Ciocalteu al 10% en agua destilada, y 2ml de carbonato de sodio al 7,5% en agua destilada. Esta solución se mantuvo en la oscuridad por 2 horas y posteriormente se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a 740 nm de longitud de onda. A partir de la lectura obtenida y de la recta de calibración de ácido gálico construida anteriormente, se pudo determinar la concentración de polifenoles en las soluciones preparadas con yerba mate despalada, yerba mate con palo e *Ilex paraguariensis*. A partir de estas concentraciones, y aplicando el factor de dilución de la muestra, se determinó la concentración final expresada en g (GAE)/100 g.

5.3.3.3- Preparación de brebajes elaborados con yerba mate con palo:

- Mate cocido.
- Mate caliente.
- Mate tereré.
- Mate cocido en saquitos.

Para la determinación de compuestos fenólicos en brebajes de yerba mate se procedió a la preparación de las mismas de modo convencional para consumo cotidiano que se cuantificaron con la Rn de Folin-Ciocalteu.

- 1) **Mate cocido:** Se pesaron aproximadamente 20 g de yerba mate comercial con palo, y se colocaron en un recipiente que contenía 250 ml de agua a ebullición durante 5 minutos, se coló obteniéndose un extracto, del cual se tomó una alícuota de 1ml que se colocó en un matraz aforado de 25 ml y se llevó a volumen con agua.

Para la reacción de Folin-Ciocalteu se tomaron 0,5 ml de la fracción acuosa obtenida, se le añadió 2,5 ml del rvo. de Folin-Ciocalteu al 10% en agua destilada, y 2ml de carbonato de sodio al 7,5%. Esta solución obtenida se mantuvo en la oscuridad por 2 horas y posteriormente se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a 740 nm de longitud de onda. A partir de la lectura obtenida y de la recta de calibrado de ácido gálico construida anteriormente, podemos determinar la concentración de polifenoles presentes en el mate cocido aplicando los factores de dilución que se han ido acumulando, se determinó la concentración final expresada en mg (GAE)/100 ml.

- 2) **Mate caliente:** Se pesaron aproximadamente 20 g de yerba mate comercial con palo y se colocaron en el mate, a lo cual se agregó una primera porción de agua de 70 ml a 80°C y luego de unos segundos se accionó la bomba de vacío para retirar el extracto. Esto se repitió hasta un total de seis cebadas a intervalos de tiempo regular con 35ml de agua en cada porción. Del extracto acuoso obtenido se toma una alícuota de 1ml que se coloca en un matraz aforado de 25 ml llevándolo a volumen con agua para la dilución del mismo.

Para la reacción de Folin-Ciocalteu se tomaron 0,5 ml de la fracción acuosa obtenida, se le añadieron 2,5 ml del rvo. de Folin-Ciocalteu al 10% en agua destilada, y 2ml de carbonato de sodio al 7,5%. Esta solución obtenida se mantuvo en la oscuridad por 2 horas y posteriormente se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a 740 nm de longitud de onda. A partir de la lectura obte-

nida y de la recta de calibrado de ácido gálico construida anteriormente, podemos determinar la concentración de polifenoles presentes en el mate cebado aplicando los factores de dilución que se han ido acumulando, se determinó la concentración final expresada en mg (GAE)/100 ml.

- 3) **Mate tereré:** Se pesaron aproximadamente 20 g de yerba mate comercial con palo, y se colocaron en un mate, a lo cual se agregó una primera porción de agua de 70 ml fría a 3°C y luego de unos segundos se accionó la bomba de vacío para retirar el extracto. Esto se repitió hasta un total de seis cebadas a intervalos de tiempo regular con 35ml de agua en cada porción. Del extracto acuoso obtenido se tomó una alícuota de 1ml que se coloca en un matraz aforado de 25 ml llevándolo a volumen con agua para la dilución del mismo.

Para la reacción de Folin-Ciocalteu se tomaron 0,5 ml de la fracción acuosa obtenida, se le añadieron 2,5 ml del rvo. de Folin-Ciocalteu al 10% en agua destilada, y 2ml de carbonato de sodio al 7,5%. Esta solución obtenida se mantuvo en la oscuridad por 2 horas y posteriormente se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a 740 nm de longitud de onda. A partir de la lectura obtenida y de la recta de calibrado de ácido gálico construida anteriormente, podemos determinar la concentración de polifenoles presentes en el mate tereré aplicando los factores de dilución que se han ido acumulando, se determinó la concentración final expresada en mg (GAE)/100 ml.

- 4) **Mate cocido en saquitos:** Se agregó 250 ml agua calentada hasta el primer hervor en un recipiente, que contenía el saquito de mate cocido dejándolo reposar cinco minutos en el recipiente que lo contiene. Del extracto acuoso obtenido se tomó 1ml que se coloca en un matraz aforado de 25 ml llevándolo a volumen con agua para la dilución del mismo.

Para la reacción de Folin-Ciocalteu se tomó 0,5 ml de la fracción acuosa recién obtenida, se le añadió 2,5 ml del rvo. de Folin-Ciocalteu al 10% en agua destilada, y 2ml de carbonato de sodio al 7,5%. Esta solución obtenida se mantuvo en la oscuridad por 2 horas y posteriormente se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a 740 nm de longitud de onda. A partir de la lectura obtenida y de la recta de calibrado de ácido gálico construida anteriormente, podemos determinar la concentración de polifenoles presentes en el mate cocido en saquito aplicando los factores de dilución que se han ido acumulando, se determina la concentración final expresada en mg (GAE)/100 ml.

5.4- Resultados y discusión:

5.4.1- Curva de calibración:

Ácido gálico (mg/ml)	Absorbancia (740 nm)
0,01258	1,2484
0,010064	0,9785
0,007548	0,7162
0,005032	0,4204
0,002516	0,1469
0,02516	2,422

Tabla 5.1. Datos que corresponden a la curva de calibración de la reacción de Folin con ácido gálico realizado en el rango de 0,025-0,125mg/ml. Una vez determinados los valores de absorbancia para cada concentración de ácido gálico (sustancia de referencia) se procedió a la construcción de la curva.

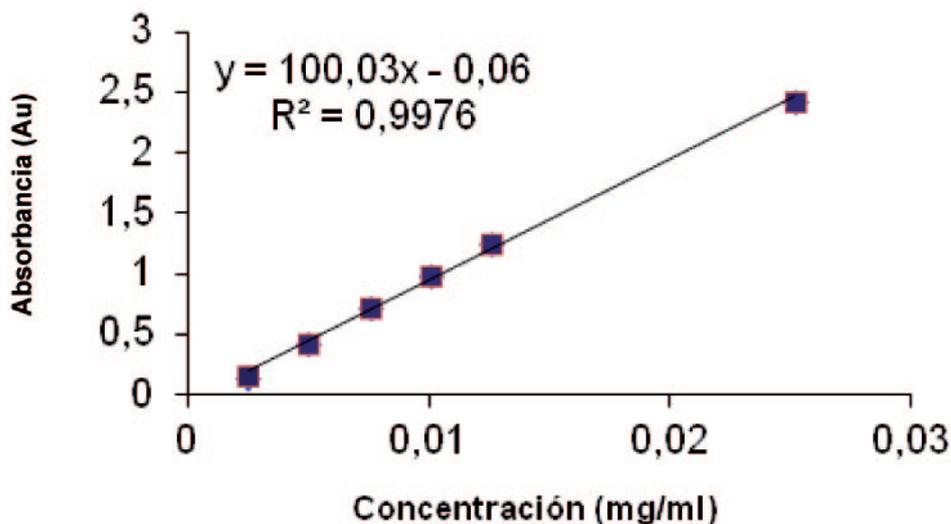


Gráfico 5.1. Curva de calibración de ácido gálico. Absorbancia 740 nm.

5.4.2- Muestras vegetales:

Muestra	Absorbancia (740 nm)	Polifenoles Totales (g GAE/100g)	Método utilizado
<i>Ilex paraguariensis</i>	1,0035	5,23	Folin-Ciocalteu
Yerba mate despalada	0,8219	4,86	Folin-Ciocalteu
Yerba mate con palo	0,7581	3,64	Folin-Ciocalteu

Tabla 5.2. Polifenoles totales (g GAE/100 g) según Folin-Ciocalteu en muestras vegetales (hojas y tallos de *Ilex paraguariensis*, yerba mate despalada y yerba mate con palo).

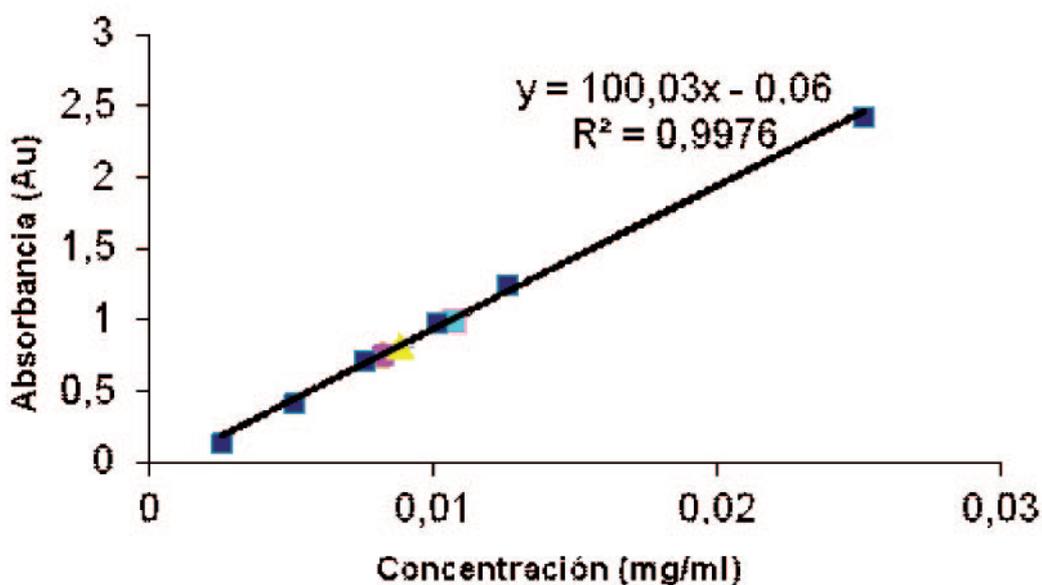


Gráfico 5.2. Polifenoles totales según Folin-Ciocalteu. Interpolación de la absorbancia obtenida con las muestras vegetales. Ilex paraguariensis ■ yerba mate despalada ▲, yerba mate con palo ■

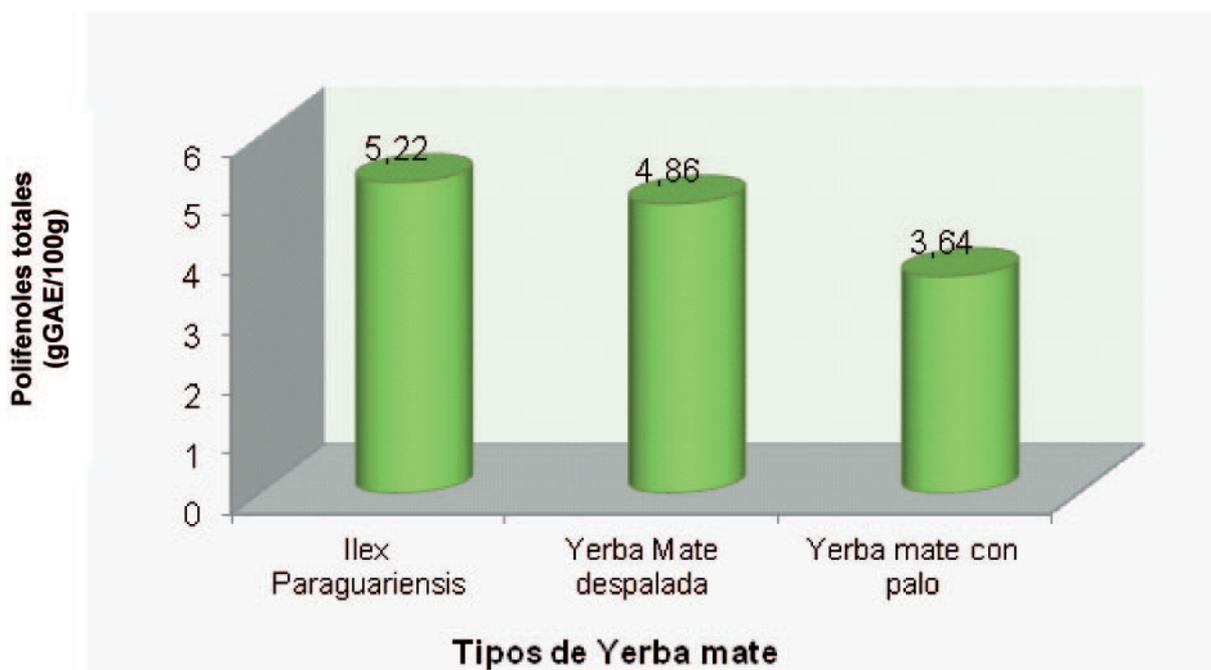


Gráfico 5.3. Cuantificación de polifenoles totales en muestras vegetales: La concentración está expresada en g GAE/100g de muestra vegetal) siendo los resultados mayores en Ilex paraguariensis, seguido de yerba mate despalada y menor concentración en yerba mate con palo.

5.5.3- Brebajes:

Muestra	Absorbancia a 740 nm	Polifenoles Totales (mg GAE/100ml)	Método utilizado
Mate cocido	1,3453	351,22	Folin-Ciocalteu
Mate caliente	1,5627	405,55	Folin-Ciocalteu
Mate tereré	0,8616	230,33	Folin-Ciocalteu
Mate cocido en saquitos	0,9983	264,49	Folin-Ciocalteu

Tabla 5.3. Polifenoles totales (mg GAE/100 ml) en brebajes según Folin-Ciocalteu, (mate cocido preparado en 245 ml de agua en ebullición, mate caliente preparado para 6 mates cebados con 20g de yerba mate con palo en un volumen de 245 ml de agua a 80°C, mate tereré preparado para 6 mates cebados con 20g de yerba mate con palo en un volumen de 245 ml de agua a 3°C y mate cocido en saquito que contiene 3g de yerba mate preparado con 245 ml de agua a ebullición).

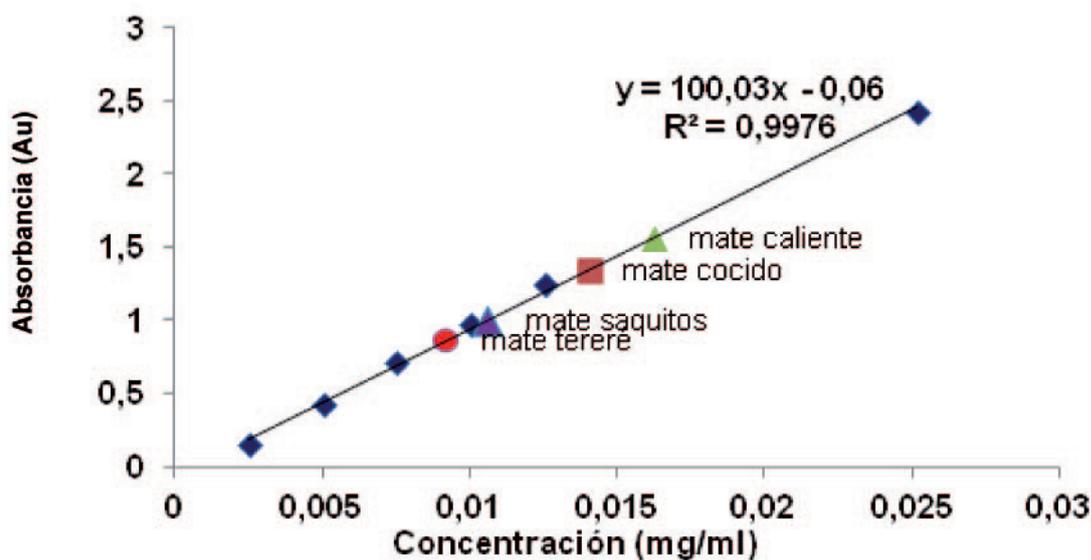


Gráfico 5.4. Polifenoles totales en: mate "tereré", mate cocido en saquitos, mate cocido y mate caliente elaborados con yerba mate con palo.

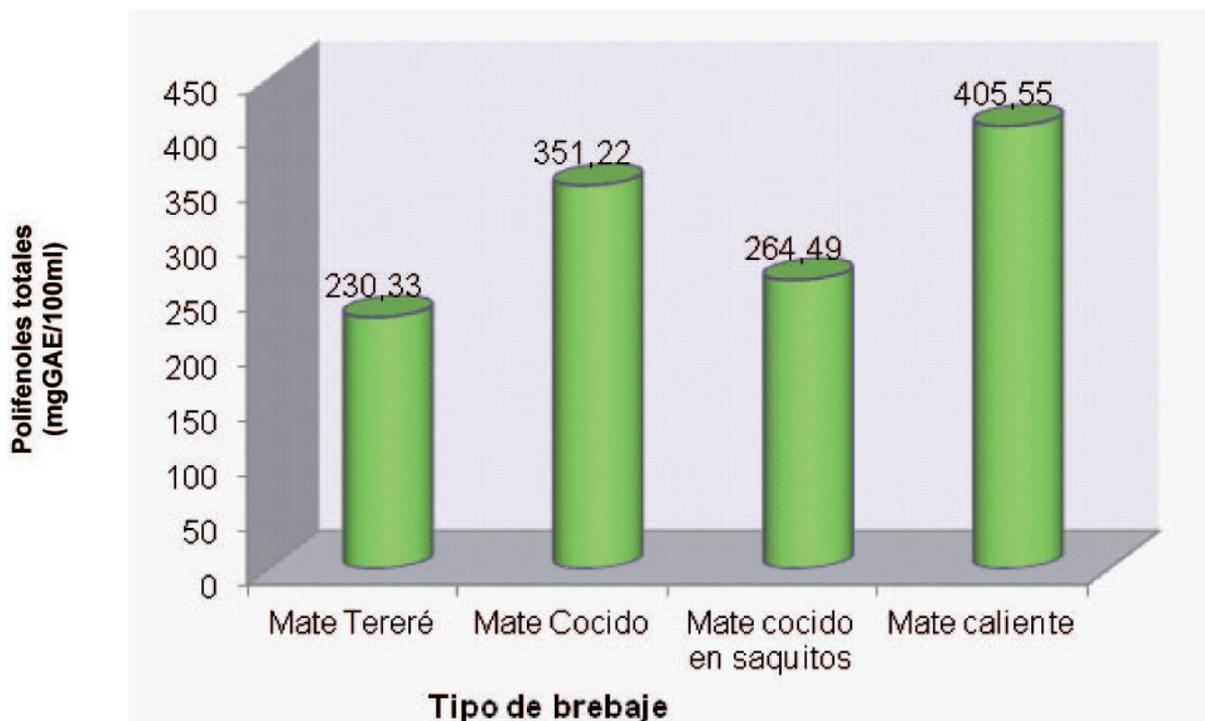


Gráfico 5.5. Polifenoles totales obtenidos en brebajes expresadas en (mg GAE/100ml)



Ilex paraguariensis
(Hojas y tallos)



Yerba mate con palo



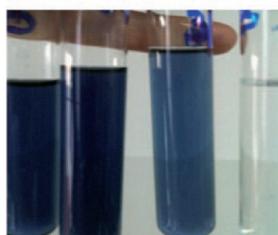
Yerba mate sin palo



Obtención de mate tereré



Obtención de mate caliente.



Reacción colorimétrica de Folin-Ciocalteu



Los resultados obtenidos en el presente trabajo expresan el contenido de polifenoles totales obtenidos mediante el método de Folin-Ciocalteu. Se obtuvieron diferentes valores dependiendo de la yerba mate analizada, yerba mate con palo, yerba mate despalada y en *Ilex paraguariensis* var. *paraguariensis*: 3,64 g GAE/100 g, 4,86 g GAE/100 g y 5,23 g GAE/100 g respectivamente.

Meinhart et al., (2009) reportó el contenido total de polifenoles con valores que varían según el tipo de yerba mate analizada - nativa, tradicional y suave - con valores de 5,18 g GAE/100 g, 5,22 g GAE/100 g y 4,41 g GAE/100 g respectivamente. Estos valores están dentro del mismo orden que los obtenidos en el presente trabajo.

Referencia	Yerba mate	Compuestos fenólicos (g GAE/100g)
Presente trabajo	Yerba mate con palo	3,64
Presente trabajo	Yerba mate sin palo	4,86
Presente trabajo	<i>Ilex paraguariensis</i> var. <i>paraguariensis</i>	5,23
Meinhart et al., (2009)	Nativa	5,18
Meinhart et al., (2009)	Tradicional	5,22
Meinhart et al., (2009)	Suave	4,41

Tabla 5.4. Cuadro comparativo de polifenoles obtenidos por Meinhart et al., (2009) y en nuestro trabajo.

Los compuestos fenólicos totales obtenidos en los brebajes preparados con yerba mate con palo dieron para mate cocido, mate caliente, mate “tereré” y mate cocido en saquitos valores de 860,50mgGAE/245ml, 993,59 mgGAE/6 mates, 563,50 mg GAE/6mates y 648,00 mg GAE/245 ml respectivamente.

Meinhart et al., (2009) determinaron la cantidad de compuestos fenólicos totales en mate “chimarrao” (mate caliente) y mate “tereré” (mate frio), preparado con los tres tipos de yerba mate mencionados -nativa, tradicional y suave respectivamente-. Los valores hallados en los primeros 10 mates fueron de 300,8mgGAE, 466,7mgGAE, 221,2mgGAE para mate “chimarrao” respectivamente y 1134,5mgGAE para mate “tereré”. El tereré se preparó con yerba mate para tereré, es decir una yerba mate diferente al utilizado para el mate caliente (chimarrao).

Dichos valores no coinciden con los que se obtuvieron en el presente trabajo. Cabe destacar que como se dijo anteriormente, se utilizó una metodología de trabajo similar. Sin embargo, la diferencia en valores no sería llamativa, ya que la metodología de preparación de los brebajes es algo diferente y la yerba misma presenta un contenido de polifenoles diferente. Lo que si llama la atención es la diferencia relativa en el contenido de polifenoles, ya que mientras nosotros hallamos valores significativamente más altos en mate caliente, Meinhart et al. obtuvieron valores más altos de polifenoles totales en mate “tereré” (extracción en frio) que en mate “chimarrao” (extracción en caliente).

Referencia	Brebaje	Tipo de Yerba mate	Yerba mate (g)	Vol. Extracto* (ml)	Compuestos fenólicos (mgGAE/porción)
Presente trabajo	Mate cocido(a)	Yerba mate con palo☒	20	245	860,50
Presente trabajo	Mate caliente(b)	Yerba mate con palo☒	20	245	993,59
Presente trabajo	Mate tereré(c)	Yerba mate con palo☒	20	245	563,5
Presente trabajo	Mate cocido en saquito(d)	Yerba mate en saquitos☒	1 saquito que contiene 3 g	245	648,00
Meinhart et al., (2009)	Mate chimarrao	Nativa (e)	85	950	300,8
		Tradicional (f)	85	920	466,7
		Suave (g)	85	1150	221,2
Meinhart et al., (2009)	Mate tereré	Tereré (h)	50	1000	1134,5

Cuadro 5.5. Cuadro comparativo de compuestos polifenólicos (mgGAE/porción) determinados en *Brebajes preparados con yerba mate con palo. (a) Mate cocido preparado con 20 g de yerba mate con palo con 245 ml de agua en ebullición lo que representa una infusión de 1 taza. (b) Mate caliente preparado con 20 g yerba mate con palo con agua a 80°. (c) Mate tereré preparado con 20 g de yerba mate con palo con agua a 3°C. (d) Mate cocido en saquito que contiene 3g de yerba mate preparado con 250 ml de agua a ebullición (e) Mate chimarrao preparado con 85 g de yerba mate nativa con agua a 75°C. (f) Mate chimarrao preparado con 85 g de yerba mate tradicional con agua a 75°C. (g) Mate chimarrao preparado con 85 g de yerba mate smooth con agua a 75°C. (h) Mate tereré preparado con 50 g de yerba mate tereré con agua a 10°C. * Vol. Extracto: representa el volumen obtenido para 6 "mates" en el caso del trabajo presente y 10 volúmenes en el caso de "mates" según Meinhart et al. (2009)

6.- Cuantificación de compuestos fenólicos mayoritarios: Método cromatográfico HPLC

6.1- Introducción:

Para conocer la identidad y cantidad de los compuestos polifenólicos mayoritarios, se analizaron las mismas muestras vegetales y los brebajes obtenidos con yerba mate por cromatografía líquida de alta performance (HPLC).

Mediante el empleo de HPLC, se pueden determinar un gran número de polifenoles de interés, como ácidos cafeoilquínicos y flavonoides presentes en yerba mate, utilizando un sistema adecuado para lograr la separación de los mismos, acoplado a un detector UV/Vis de fotodiodos y un correcto método de extracción para la posterior valoración.

Los ácidos cafeoilquínicos y el ácido cafeico se identificaron por coincidencia de sus tiempos de retención y espectros UV con sustancias de referencia. La cuantificación se realizó a una longitud de onda de 325 nm que es el máximo de absorbancia para éstos compuestos. Cabe destacar que en el cromatograma correspondiente a Yerba mate, *Ilex paraguariensis* y sus brebajes se detectan tres picos correspondientes al ácido clorogénico (ácido 3-O-cafeoilquínico) y sus isómeros, ácido criptoclorogénico (Acido 4-O-cafeoilquínico) y ácido neoclorogénico (Acido 5-O-cafeoilquínico), conocidos genéricamente como ácidos clorogénicos. Estos compuestos se valoraron como ácido clorogénico ya que no se dispone de todos los testigos, pero se pueden identificar por su espectro de UV. Por otra parte, al ser isómeros de posición, su absorptividad es muy semejante como así también su máximo de absorbancia. Además del ácido clorogénico y sus isómeros también se pueden ver tres picos más, con un tiempo de retención

mayor correspondientes a los ácidos dicafeoilquínicos que son el ácido 3,4-dicafeoilquínico, 3,5-dicafeoilquínico y 4,5-dicafeoilquínico, de los cuales no se tienen testigos, pero se pudo comprobar mediante la literatura y los espectros UV, que corresponden a dichos compuestos.

La determinación de ácido cafeico se realizó contra un testigo del mismo, y se cuantificó también a 325nm.

Para la detección de los flavonoides rutina, quercetina y canferol se utilizó una longitud de onda de 255 nm que es un máximo de absorbancia para éstos compuestos. Cabe destacar que en el cromatograma correspondiente a Yerba mate, *Ilex paraguariensis* y sus brebajes se obtuvo solamente el pico correspondiente a rutina, no detectándose ni quercetina y canferol.

6.2- Materiales y Métodos:

6.2.1- Materiales vegetales:

- Hojas secas de *Ilex paraguariensis* var. *paraguariensis*. Clon 8/74. N° de planta 10. Fecha de recolección 20/09/2010. (Origen: Misiones), provistas por Ing. Agr. Sergio Prat Kriun. Grupo Yerba mate y Té. INTA. La muestra de herbario de la droga empleada se conserva en el INTA Cerro Azul (Misiones)
- Yerba mate con palo comercial.
- Yerba mate despalada comercial.

6.2.2- Equipos y materiales utilizados:

- HPLC, Marca Shimadzu Prominence con bomba LC-AT; detector UV-VISIBLE con arreglo de diodos SPD-M 20 A; horno de la columna CTO-10ASVP; inyector Rheodyne y un software LCSolution para el manejo de datos.
- Balanza analítica, Marca Shimadzu, modelo *AUW 220D*.
- Columna HPLC Gemini C18- 5 μ - 4.60 mm (Phenomenex)
- Metanol HPLC (Baker)
- Acetonitrilo HPLC (Baker)
- Agua MilliQ (filtro Millipore de 0,45 mm)
- Ácido Fosfórico p.a. (Baker)
- Testigos:
 1. Ácido Clorogénico Sigma, pureza $\geq 95\%$ (HPLC).
Catálogo: C3878
 2. Ácido cafeico Sigma, pureza $\geq 98\%$ (HPLC).
Catálogo: C0625
 3. Quercetina Sigma, pureza $\geq 98\%$ (HPLC).
Catálogo: Q4951
 4. Rutina Sigma, pureza $\geq 94\%$ (HPLC).
Catálogo: R5143.
 5. Canferol Sigma, pureza $\geq 90\%$ (HPLC).
Catálogo: K0133
- Filtros de membrana descartables tipo RC 17764-k (25mm; 0.20 μ m) Millex, Millipore.

6.2.3- Método cromatográfico:

- Columna: Gemini C18- 5 μ - 4.60 mm (Phenomenex)
- Fase móvil: Solvente A: Ácido fosfórico 0,1%
B: Acetonitrilo: Ácido fosfórico (100.0:0,1)
- Detección: 255/325 nm
- Flujo: 1.0 ml/min

- Temperatura del horno: 24C
- Volumen de inyección: 20 µl
- Programa de elución:

Tiempo (minutos)	% FM A	% FM B
0.01	85	15
12.00	70	30
20.00	20	80
21.00	20	80
21.01	85	15
30.00	85	15

6.3 Preparación de las soluciones:

6.3.1- Fase Móvil:

Solución A: Medir exactamente 0,1 ml de ácido fosfórico y colocar en matraz de 100 ml. Llevar a volumen con agua calidad HPLC.

Solución B: Medir exactamente 0,1 ml de ácido fosfórico y colocar en un matraz de 100 ml. Llevar a volumen con acetonitrilo calidad HPLC.

6.3.2- Solución testigo:

Se prepararon soluciones testigo de Ácido clorogénico, Rutina y Ácido cafeico de una concentración de 0,1mg/ml de cada sustancia de referencia. La solución de ácido cafeico de 0,1 mg/ml se diluyó para obtener una concentración de 0.01 mg/ml. Se tomaron 4 ml, 0,5 ml y 1 ml de cada solución respectivamente y se transfirió a un matraz de 10 ml y se llevó a volumen con agua. Se obtuvo una concentración final aproximada entre 0.05 mg/ml, 0.005 mg/ml y 0,0001 mg/ml respectivamente.

6.3.3- Muestras vegetales y brebajes:

6.3.3.1 Muestras vegetales

Los extractos fueron preparados pesando exactamente alrededor de 5 g de cada muestra vegetal (en este caso Ilex paraguariensis, yerba mate con palo y yerba mate sin palo comercial), las cuales fueron sometidas a sonicación con 100 ml de MeOH a temperatura ambiente por 20 minutos. Luego de este período se filtraron los extractos. El marco de las filtraciones fue sometido nuevamente a sonicación con 100 ml de MeOH a temperatura ambiente por otros 20 minutos. Los dos extractos metanólicos obtenidos para cada muestra vegetal se colocaron en un matraz aforado de 250 ml y se llevaron a volumen con el mismo solvente.

Se tomó 1ml de cada uno de estos extractos y se colocó en un matraz aforado de 10 ml, y se llevó a volumen con una solución de MeOH: H₂O (50:50).

6.3.3.2 Preparación de brebajes:

Mate cocido: Se pesaron exactamente alrededor de 20 g de yerba mate comercial con palo, y se colocaron en un recipiente que contenía 250 ml de agua a ebullición unos cinco minutos, se coló y se obtuvo un extracto acuoso. Se tomó 1 ml y se colocó en un matraz aforado de 100 ml llevándose a volumen con agua destilada.

Mate caliente: Se pesaron exactamente alrededor de 20 g de yerba mate comercial con palo, y se colocaron en un mate, a lo cual se agregó una primera porción de agua de 70 ml a 80°C y luego de unos segundos se accionó la bomba de vacío para retirar el extracto. Esto se repitió hasta un total de seis cebadas a intervalos de tiempo regular con 35ml de agua en cada porción. Se obtuvo un extracto acuoso. Se tomó 1 ml y se colocó en un matraz aforado de 100 ml llevándose a volumen con agua destilada.

Preparación de mate tereré: Se pesaron exactamente alrededor de 20 g de yerba mate comercial con palo, y se colocaron en un mate, a lo cual se agregó una primera porción de agua de 70 ml fría a 3°C y luego de unos segundos se accionó la bomba de vacío para retirar el extracto. Esto se repitió hasta un total de seis cebadas a intervalos de tiempo regular con 35ml de agua en cada porción del cual se obtuvo un extracto acuoso. Se tomó 1 ml y se colocó en un matraz aforado de 100 ml llevándose a volumen con agua destilada.

6.4 Procedimiento:

Se inyectó la solución testigo por duplicado, registrando el cromatograma a 255 y 325 nm. Se identificaron los picos correspondientes a ácido clorogénico y cafeico a 325 nm, y rutina a 255 nm.

Se inyectaron las soluciones muestras cada una por separado por duplicado, registrando el cromatograma a 255 y 325 nm.

6.5 Resultados y discusión:

6.5.1. Tiempos de retención:

TESTIGOS:		
Tiempos de retención (T_R) (min)		
Ácido clorogénico	Ácido cafeico	Rutina
5.2	7.2	10.6

Tabla 6.1. Los datos obtenidos de los tiempos de retención de los testigos (Ácido clorogénico, Ácido cafeico y Rutina), inyectados en HPLC, están expresados en minutos y coinciden con las muestras vegetales y brebajes. (Ver cromatogramas en Anexo 3)

MUESTRAS VEGETALES Y BREBAJES: Tiempos de retención (T _R) (min)				
Ácidos clorogénicos			Ácido cafeico	Rutina
Ácido 5-CQ	Ácido 3-CQ	Ácido 4-CQ		
3.3	4.9	5.2	7.2	10.6

Tabla 6.2. Los datos obtenidos de los tiempos de retención de las muestras vegetales y brebajes inyectados en HPLC, están expresados en minutos y coinciden con los testigos. Los ácidos clorogénicos y el ácido cafeico absorben a 325 nm de longitud de onda, mientras que la rutina absorbe a 255 nm. Abrev.: CQ: cafeoilquínico. (Ver cromatogramas en Anexo 3)

6.5.2 Muestras vegetales:

Muestra	Ác. cafeico (g/100g)	Ácidos clorogénicos (g/100g)				Rutina (g/100g)
		Ácido 3- CQ	Ácido 4- CQ	Ácido 5- CQ	Total	
Yerba mate con palo	0,0113	0,550	0,667	1,399	2,616	0,44
Yerba mate despalada	0,0152	0,621	0,704	1,804	3,13	0,55
<i>Ilex paraguariensis</i>	0,0114	0,607	0,530	1,474	2,61	0,45

Tabla 6.3. Compuestos fenólicos en muestras vegetales preparadas con yerba mate. Los valores cuantificados de AC, CGA y Ru están expresados en g/100g de droga en base húmeda. (Ver cromatogramas en Anexo 4). NOTA: las condiciones de análisis cromatográficos son: Columna Gemini C18- 5 μ - 4.60 mm (Phenomenex), utilizando como fase móvil dos solventes A: Ácido fosfórico 0,1%; B: Acetonitrilo: Ácido fosfórico (100.0:0,1); Detectados a 325/255 nm.

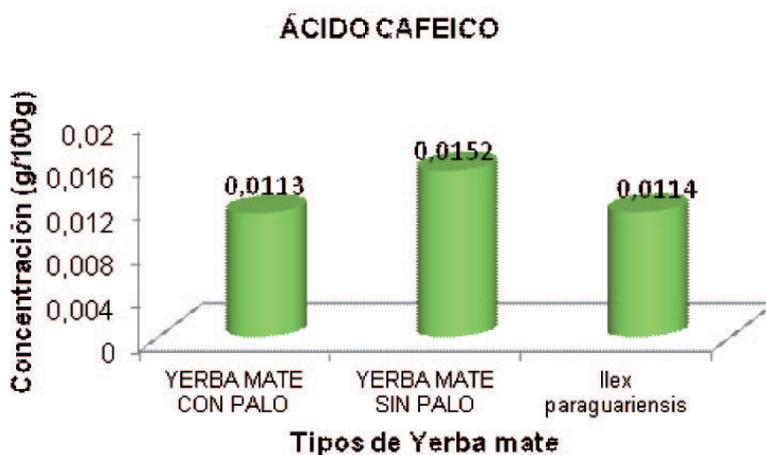


Fig.6.1. Contenido de Ácido cafeico presente en muestras vegetales. El mayor porcentaje se detectó en Yerba mate sin palo, seguido de *Ilex paraguariensis* y Yerba mate con palo respectivamente. Muestras valoradas por HPLC contra testigo de Ácido cafeico Sigma, pureza $\geq 98\%$ (HPLC).

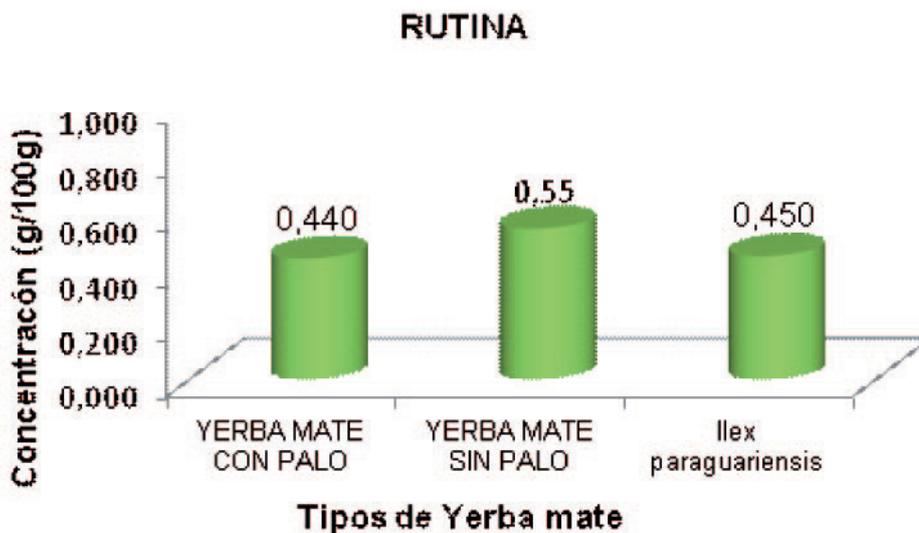


Fig.6.2. Contenido de Rutina presente en muestras vegetales. El mayor porcentaje presente en Yerba mate sin palo, seguido de *Ilex paraguariensis* y Yerba mate con palo respectivamente. Muestras valoradas por HPLC contra testigo de Rutina Sigma pureza $\geq 94\%$ (HPLC).



Fig.6.3. Contenido de Ácidos clorogénicos presente en muestras vegetales. El mayor porcentaje presente en Yerba mate sin palo, seguido de *Ilex paraguariensis* y Yerba mate con palo respectivamente. Muestras valoradas por HPLC contra testigo de Ácido clorogénico Sigma, pureza $\geq 95\%$ (HPLC).

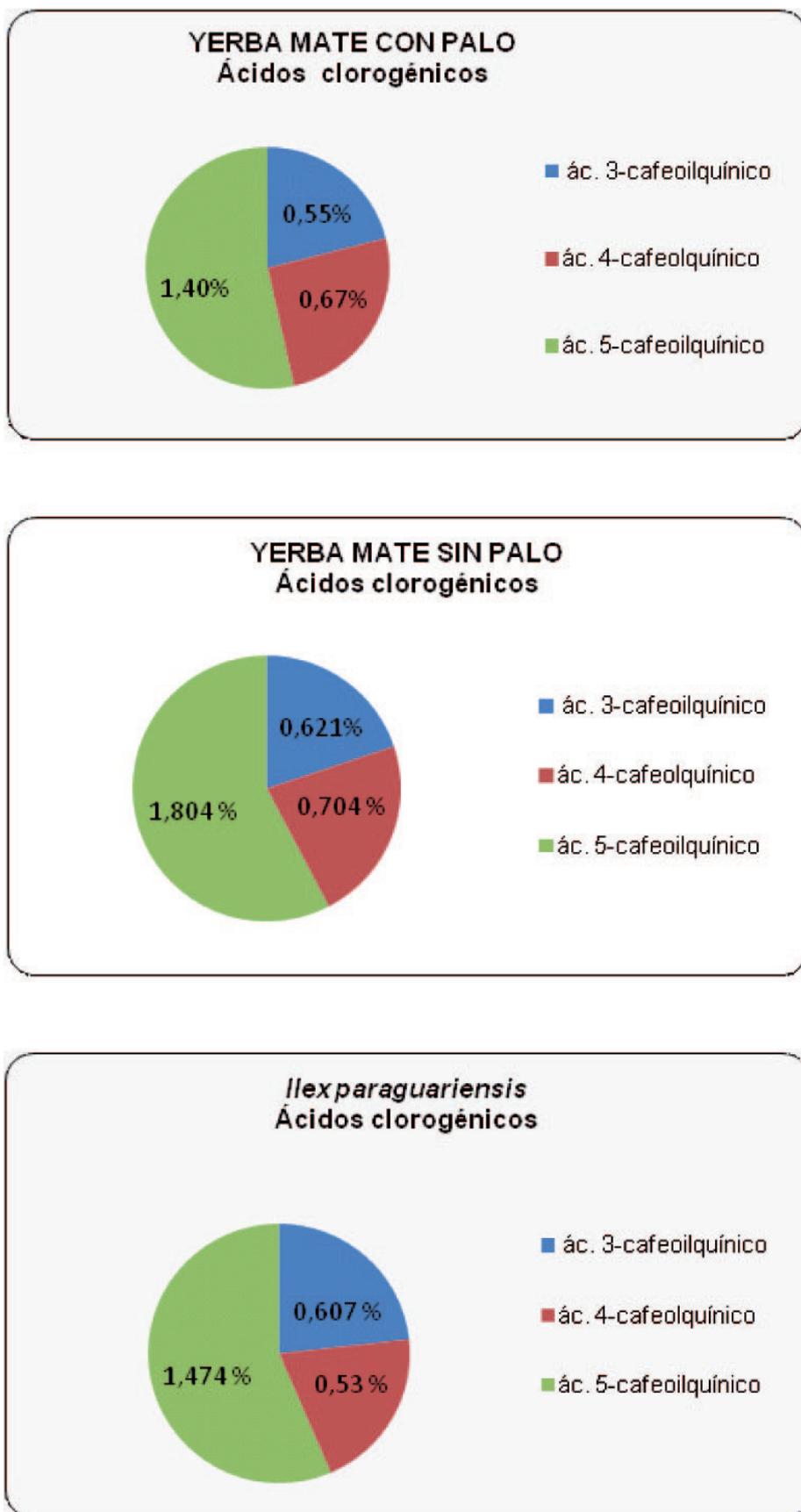


Fig. 6.4. Representación del porcentaje presente en muestras vegetales de Ácidos clorogénicos. El ácido neoclorogénico (5-CGA), ácido clorogénico (3-CGA) y ácido criptoclorogénico (4-CGA). Los tres ácidos cafeoilquinicos fueron valorados por HPLC contra testigo de Ácido clorogénico Sigma, pureza ≥95%(HPLC)

6.5.3 Brebajes:

Brebajes	Ácido cafeico (g/100g)	Ácidos clorogénicos (g/100g)				Rutina (g/100g)
		Ácido 3- CQ	Ácido 4- CQ	Ácido 5- CQ	Total	
Mate cocido	0,0149	0,935	1,196	1,641	3,77	0,46
Mate caliente	0,0084	0,767	0,785	1,513	3,06	0,34
Mate tereré	0,0048	0,468	0,479	0,993	1,94	0,25

Tabla 6.4. Compuestos fenólicos en brebajes preparadas con yerba mate. Los valores cuantificados de AC, CGA y Ru están expresados en g/100g de droga en base húmeda. (Ver cromatogramas en Anexo 4)

NOTA: las condiciones de análisis cromatográficos son: Columna Gemini C18- 5 μ - 4.60 mm (Phenomenex), utilizando como fase móvil dos solventes A: Ácido fosfórico 0,1%; B: Acetonitrilo: Ácido fosfórico (100.0:0,1); Detectados a 325/255 nm

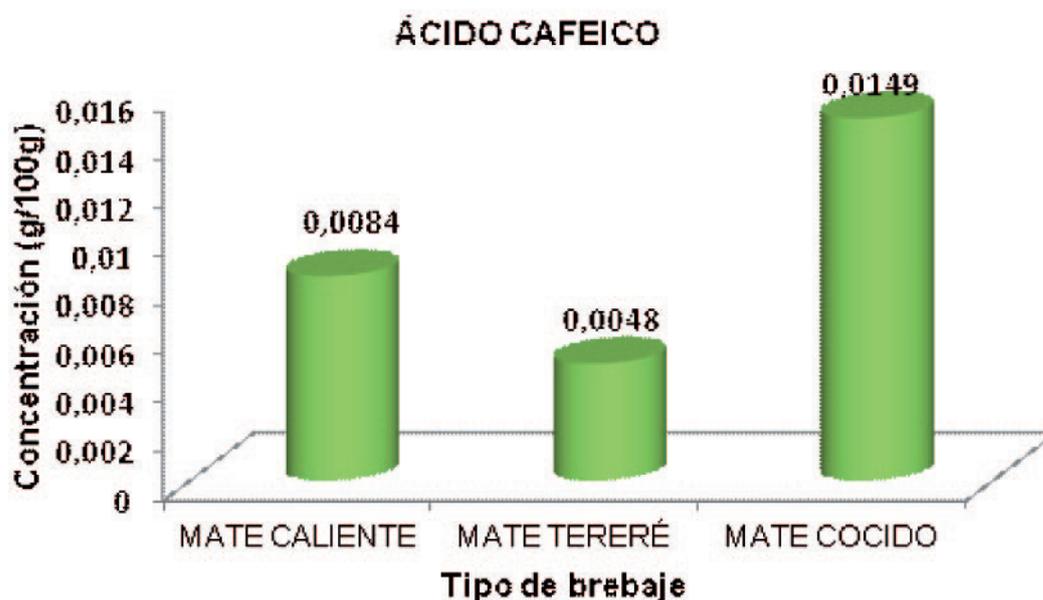


Fig.6.5. Contenido de Ácido cafeico presente en brebajes. El mayor porcentaje presente en mate cocido, seguido de mate caliente y por último mate "tereré" respectivamente. Muestras valoradas por HPLC contra testigo de Ácido cafeico Sigma, pureza $\geq 98\%$ (HPLC).

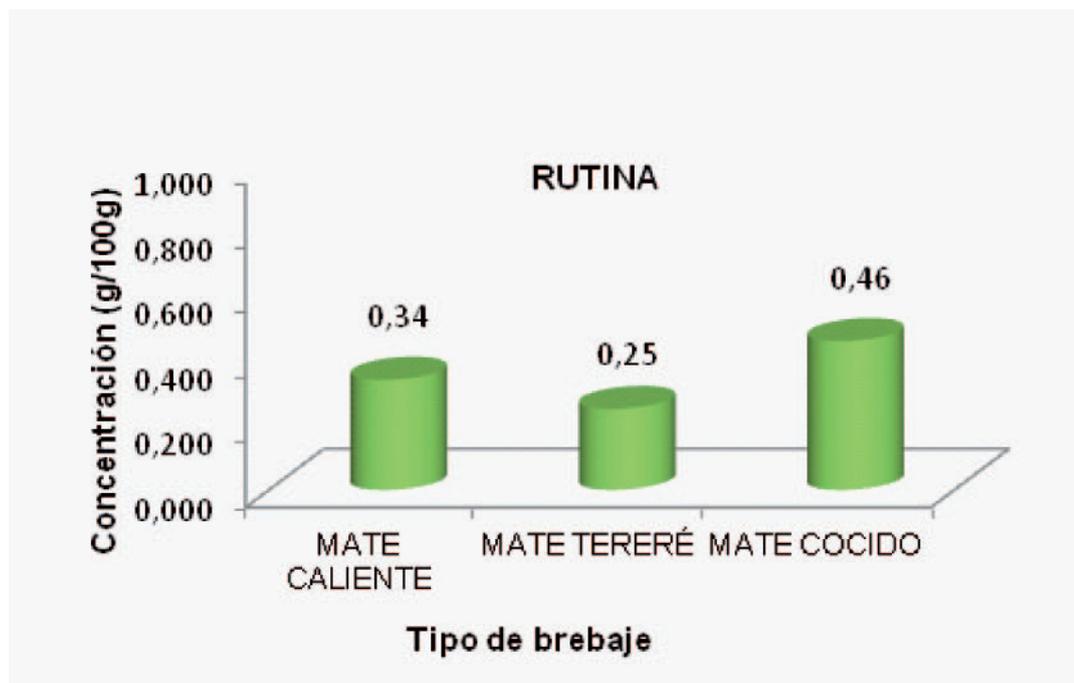


Fig.6.6. Contenido de Rutina presente en brebajes. El mayor porcentaje presente en mate cocido, seguido de mate caliente y por último mate "tereré" respectivamente. Muestras valoradas por HPLC contra testigo de Rutina Sigma, pureza $\geq 95\%$ (HPLC).

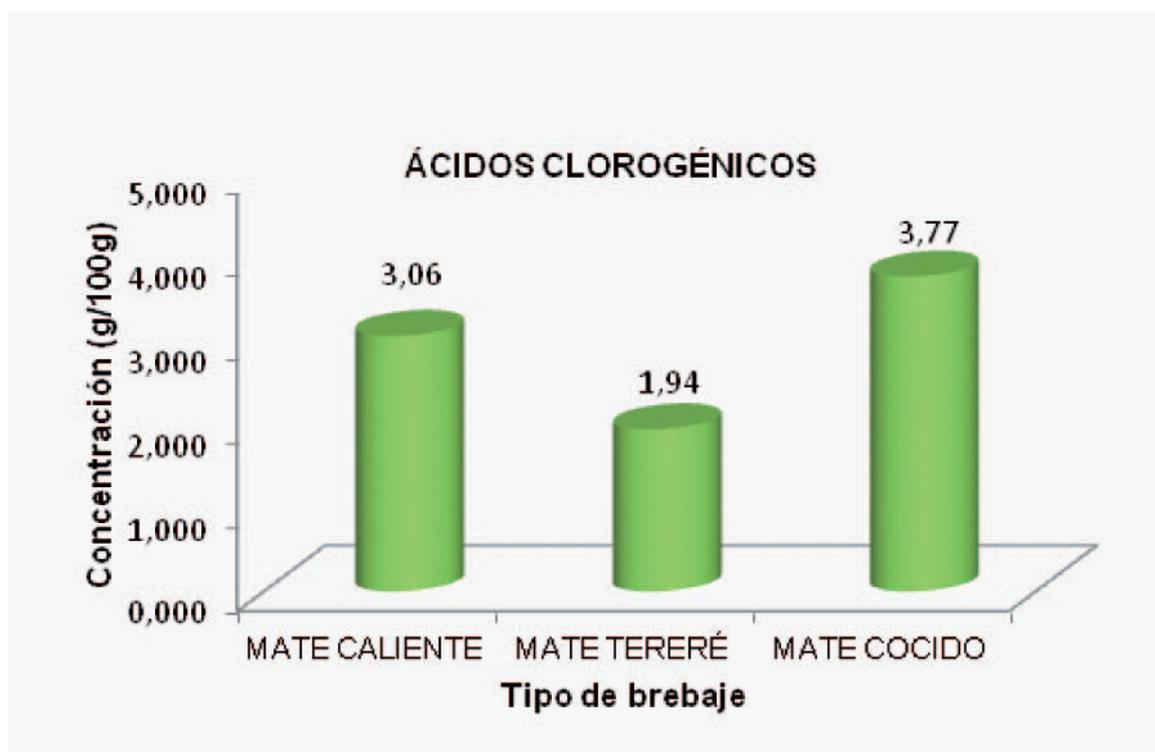


Fig.6.7. Contenido de Ácidos clorogénicos presentes en brebajes. El mayor porcentaje presente en mate cocido, seguido de mate caliente y por último mate "tereré" respectivamente. Muestras valoradas por HPLC contra testigo de Ácido clorogénico Sigma, pureza $\geq 94\%$ (HPLC).

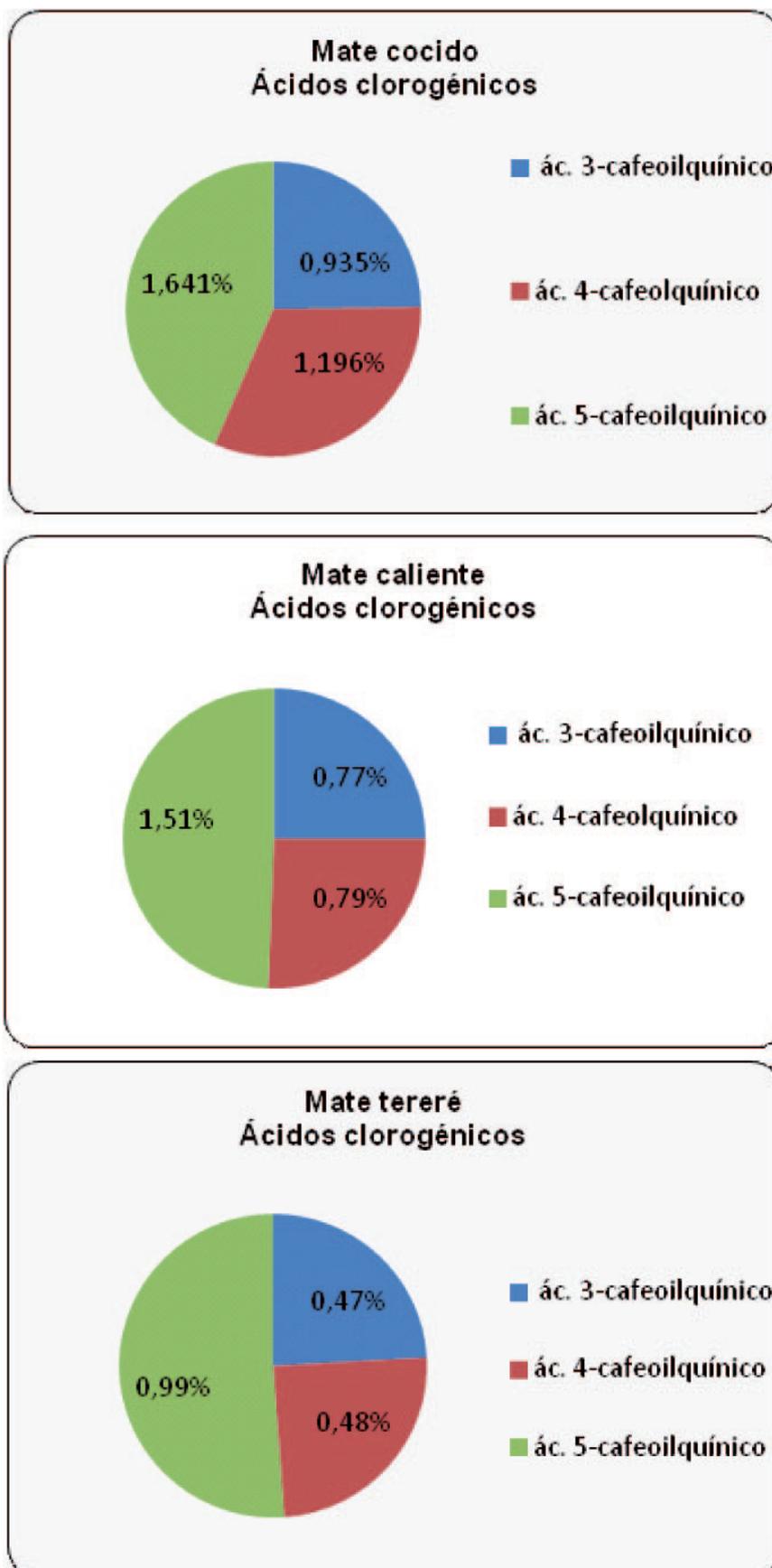
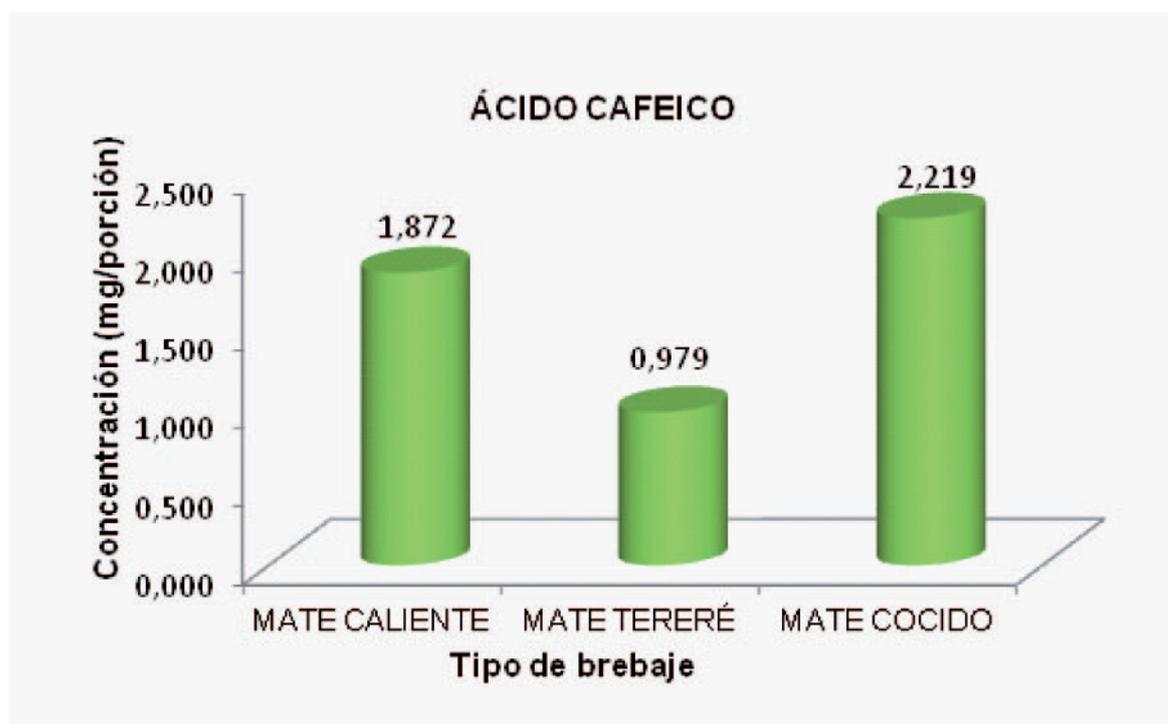
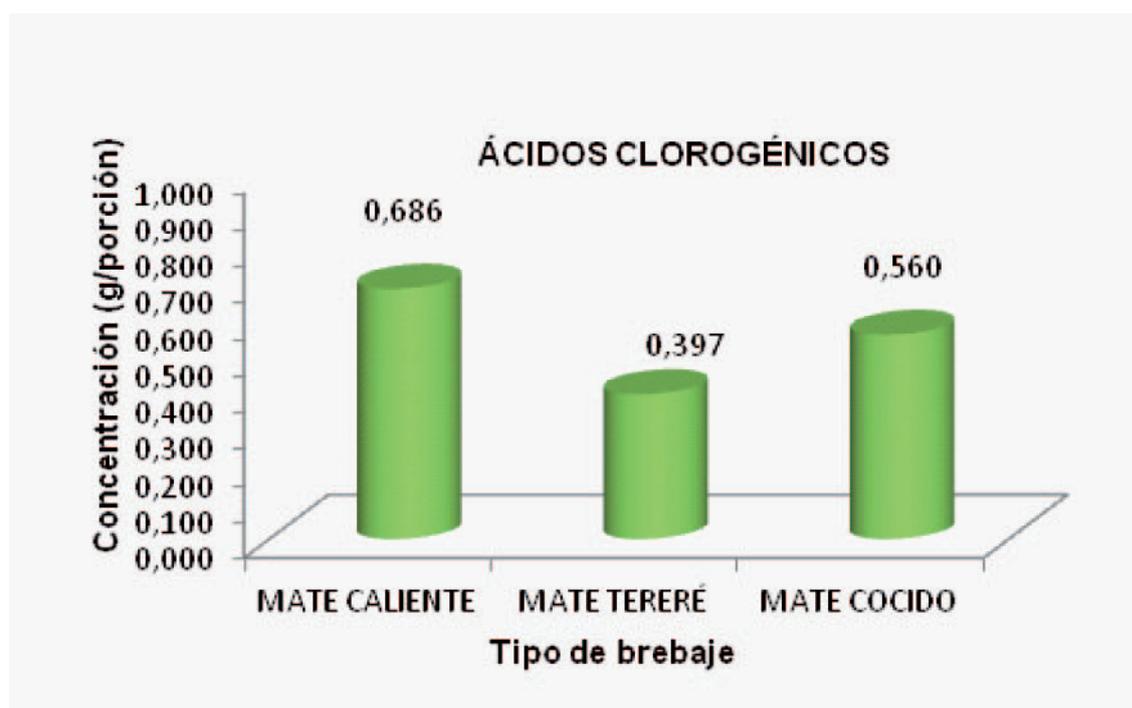
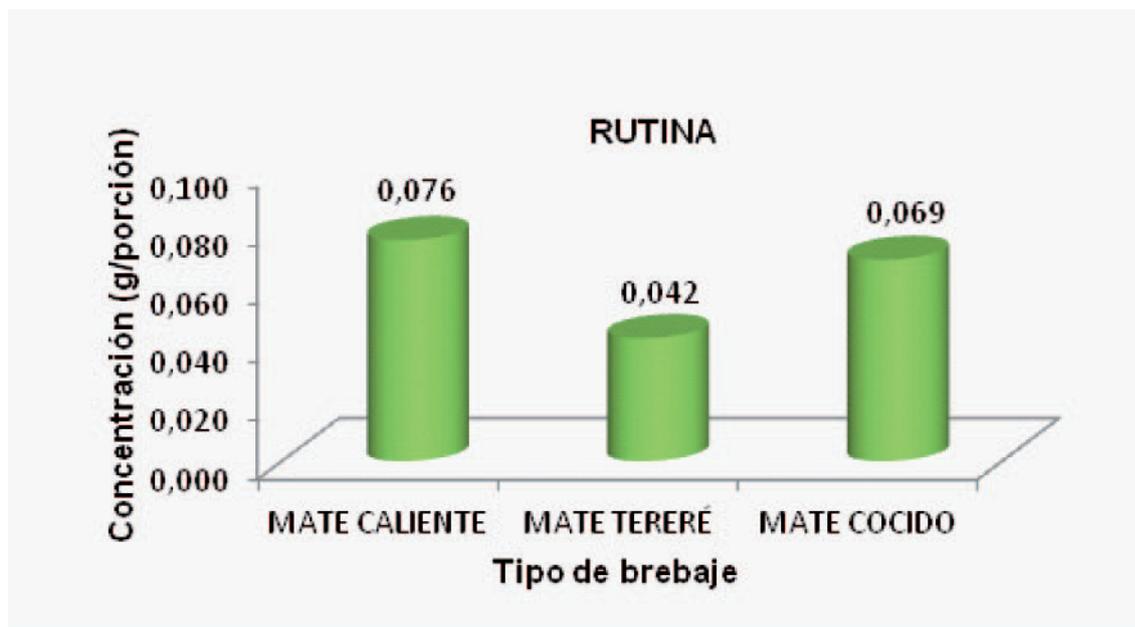


Fig.6.8. Porcentaje presente en muestras vegetales de Acidos clorogenicos. El ácido neoclorogenico (5-CGA), ácido clorogenico (3-CGA) y ácido criptoclorogénico (4-CGA). Los tres acidos cafeoilquinicos fueron valorados por HPLC contra testigo de Ácido clorogénico Sigma, pureza $\geq 95\%$ (HPLC)

Brebajes	Tipo de Yerba mate	Yerba mate (g)	Vol. Extracto (ml)	Compuestos fenólicos		
				Ácido cafeico (mg/porción)	Ácido clorogénico (g/porción)	Rutina (g/porción)
Mate cocido(a)	Con palo	20	245	2,219	0,560	0,0688
Mate caliente(b)	Con palo	20	245	1,872	0,686	0,0755
Mate tereré (c)	Con palo	20	245	0,979	0,397	0,042

Tabla 6.5. *Brebajes preparados con yerba mate con palo. (a) Mate cocido preparado con 20 g de yerba mate con palo con 245 ml de agua en ebullición lo que representa una infusión de 1 taza. (b) Mate caliente preparado con 20 g yerba mate con palo con agua a 80°. (c) Mate tereré preparado con 20 g de yerba mate con palo con agua a 3°C. * Vol. Extracto: representa el volumen obtenido para 6 "mates". NOTA: las condiciones de análisis cromatográficos son: Columna Gemini C18- 5 μ - 4.60 mm (Phenomenex), utilizando como fase móvil dos solventes A: Ácido fosfórico 0,1%; B: Acetonitrilo: Ácido fosfórico (100.0:0,1); Detectados a 325/255 nm.





Los valores obtenidos para ácido cafeico y rutina en el presente trabajo para muestras vegetales varían desde 0,113 a 0,152 mg/g y 4,45 a 5,48 mg/g en base húmeda respectivamente (Tabla 6.3), mientras que en brebajes varían desde 0,149 a 0,48 mg/g y 2,5 a 4,6 mg/g en base húmeda respectivamente (Tabla 6.4), siendo estos valores concordantes con la literatura en cuanto a la composición química de la planta, donde el contenido de rutina, ácido cafeico y ácido 5-cafeoilquinico en yerba mate es de 0,60 a 13,00 mg g⁻¹, 0,14 a 0,55 mg g⁻¹ y 5,70 a 28,00 mg g⁻¹ respectivamente sobre base seca y determinada por HPLC (Clifford, 1990, Filip et al., 2001; Bortoluzzi et al., 2006, López et al., 2006; Cardoso JR et al., 2007). (Tabla 6.5). Cabe destacar que el método de extracción utilizado en el presente trabajo para las muestras vegetales fue sonicación y el solvente utilizado fue metanol, mientras que la infusión acuosa de los brebajes se utilizó agua a distintas temperaturas para emular el consumo de yerba mate como alimento. (Filip et al., 2001)

Con respecto a la valoración y cuantificación de los ácidos clorogénicos se puede decir que el ácido 5-cafeoilquinico es el isómero mayoritario de los ácidos cafeoilquinicos en muestras vegetales de yerba mate y brebajes, el cual es un éster del ácido quínico con ácido cafeico (Clifford, 1985) obteniéndose valores comprendidos entre 13,99 a 18,04 mg/g en base húmeda para muestras vegetales (Tabla 6.3) y 9,93 a 16,41 mg/g en base húmeda para brebajes preparados con yerba mate con palo (Tabla 6.4), siendo estos valores concordantes con la literatura descrita anteriormente. Cabe destacar que se identificaron además, en los cromatogramas de muestras vegetales y brebajes a 325 nm y contra espectros UV, la presencia de ácidos dicafeoilquinicos tanto ácido 3,4 dicafeoilquinico, 3,5 y 4,5 dicafeoilquinicos, los cuales no se cuantificaron por no disponer del testigo para su cuantificación. (Ver anexo 4).

Bastos et al., (2005) en un su trabajo reportó el contenido de ácido 5-cafeoilquinico en brebajes tales como chimarrao, tereré y te de mate por HPLC siendo los valores 226 mg de 5-CGA en 500ml, 163 mg de 5-CGA en 500ml y 16mg de 5-CGA en 185 ml de bebida respectivamente.

Referencia	Preparado de la muestra	5-CGA (mg/g)	Ácido cafeico (mg/g)	Rutina (mg/g)
Presente trabajo☒	1	13,99 a 18,04	0,113 a 0,152	4,4 a 5,5
Presente trabajo☒	2	9,93 a 16,41	0,084 a 0,48	2,5 a 4,6
Clifford (1990)	1	5,70 a 20,20	-	-
Filip et al. (2001)	2	28± 3	0,23± 0,04	0,60± 0,05
Lopez et al. (2006)	2	20,3± 0,5	0,35± 0,02	13,0± 0,3
Ribani (2006)☒	1	13 a 24,3	-	2,50 a 7,50
Cardoso JR et al. (2007)	1	7,86 a 9,32	0,14 a 0,20	-
Bortoluzzi et al. (2006)☒	2	2,93 a 19,19	0,42 a 0,55	-
Carini et al. (1998)	1	18,5	-	-

Tabla 6.5.: (n) muestras vegetales en base húmeda. 1. Extracción alcohólica. 2. Extracción acuosa. Datos obtenidos por HPLC.

7. Conclusiones:

Las muestras vegetales de yerba mate y brebajes constituyen una fuente importante de polifenoles, dado que se determinó en el presente trabajo que quienes consumen yerba mate en sus diversas modalidades, mate caliente, mate cocido o tereré incorporan al organismo una importante cantidad de estos compuestos dependiendo del tipo de yerba mate comercial utilizada. En el presente trabajo se llevó a cabo la identificación y la cuantificación mediante dos métodos diferentes arrojando valores que coinciden con la mayoría de los trabajos publicados citados anteriormente. Sin embargo, difieren con los valores obtenidos por Meinhardt et al., (2009) en un trabajo realizado en Brasil, donde se atribuye un resultado sorprendente, ya que obtuvieron mayor cantidad de compuestos polifenolicos en mate tereré que en mate chimarrao. Estas diferencias significativas en la cuantificación de estos compuestos en mate frío y caliente pueden estar debidas a la forma de preparación del mate tereré en el país vecino como también

al tipo de yerba mate utilizada para preparar mate tereré. Cabe destacar que en el presente trabajo hubo diferencias significativas entre la extracción de compuestos fenólicos en solvente metanólico que en los extractos acuosos, siendo en este último mayor.

El resultado del presente trabajo cuyo objetivo fue además de la puesta a punto de diferentes métodos analíticos para la cuantificación, calcular según la forma de consumo la cantidad de polifenoles totales según Folin-Ciocalteu y por HPLC la cantidad de ácido clorogénico, ácido cafeico y rutina en yerba mate y brebajes preparados con los mismos. Es importante aclarar que la cantidad de polifenoles totales calculados por Folin-Ciocalteu no representan el verdadero contenido en masa de polifenoles sino su equivalente expresado como ácido gálico, en cambio los datos obtenidos por HPLC expresan el contenido real de los compuestos en yerba mate y brebajes. Sin embargo se puede establecer una relación proporcional entre ambos resultados. Si bien solo se calcularon los ácidos monocafeoilquínicos y no los ácidos dicafeoilquínicos estos son los componentes polifenólicos mayoritarios.

El valor de polifenoles totales según Folin es un valor estandarizado que permite comparar el contenido de estos compuestos en distintos productos.

Los valores obtenidos en las distintas formas de preparación fueron:

- Como mateada o mate caliente: 0,994 g GAE, cebando 245 ml de agua a 80°C en un recipiente con 20 g de yerba mate elaborada con palo, lo que corresponde a una mateada de 6 mates.
- Como tereré: 0,56 g GAE, cebando 245 ml de agua a 3°C en un recipiente con 20 g de yerba mate elaborada con palo, lo que corresponde una mateada de 6 mates.
- Como mate cocido: 0,86 g GAE, preparado en un recipiente con 20 g de yerba mate elaborada con palo, con 245 ml de agua a ebullición durante 5 minutos.
- Como mate cocido en saquitos: 0,65 g GAE, preparado con 245ml de agua calentada hasta el primer hervor y dejándolo reposar 5 minutos.

Entre los polifenoles, los compuestos mayoritarios son indudablemente los tres isómeros monocafeoilquínicos: ácido clorogénico, criptoclorogénico y neoclorogénico, dentro de los cuales el neoclorogénico es el más abundante. Se detectaron cantidades significativas de rutina y una cantidad mucho menor de ácido cafeico. No se detectó quercetina.

Las cantidades determinadas de estos compuestos en las muestras analizadas fueron las siguientes:

Ácidos clorogénicos (expresados como ácido clorogénico)

- Como mateada o mate caliente: 0,686 g de CGAs, cebando 245 ml de agua a 80°C en un mate con 20 g de yerba mate elaborada con palo, lo que corresponde a una mateada de 6 mates.
- Como tereré: 0,397 g de CGAs, cebando 245 ml de agua a 3°C en un mate con 20 g de yerba mate elaborada con palo, lo que corresponde una mateada de 6 mates.
- Como mate cocido: 0,560 g de CGAs, preparado en un recipiente con 20 g de yerba mate elaborada con palo, con 245 ml de agua a ebullición durante 5 minutos.

Rutina:

- Como mateada o mate caliente: 0,0755 g de rutina, cebando 245 ml de agua a 80°C en un mate con 20 g de yerba mate elaborada con palo, lo que corresponde a una mateada de 6 mates.
- Como tereré: 0,042 g de rutina, cebando 245 ml de agua a 3°C en un mate con 20 g de yerba mate elaborada con palo, lo que corresponde una mateada de 6 mates.

- Como mate cocido: 0,0688 g de rutina, preparado en un recipiente con 20 g de yerba mate elaborada con palo, con 245 ml de agua a ebullición durante 5 minutos.

Ácido cafeico:

- Como mateada o mate caliente: 1,872 mg de ác. cafeico, cebando 245 ml de agua a 80°C en un mate con 20 g de yerba mate elaborada con palo, lo que corresponde a una mateada de 6 mates.
- Como tereré: 0,979 mg de ác. cafeico, cebando 245 ml de agua a 3°C en un mate con 20 g de yerba mate elaborada con palo, lo que corresponde una mateada de 6 mates.
- Como mate cocido: 2,219 mg de ác. cafeico, preparado en un recipiente con 20 g de yerba mate elaborada con palo, con 245 ml de agua a ebullición durante 5 minutos.

De acuerdo a estos resultados, se puede estimar que la ingesta de ácidos clorogénico de una persona que toma mate caliente preparado con yerba mate con palo, sería de aproximadamente 2,8 g/l mientras que consumiendo mate tereré sería aproximadamente 1,6 g/l, lo que correspondería a tres o cuatro mateadas. En el caso del mate cocido preparado tradicionalmente, la cantidad de ácidos clorogénico consumido sería de 2,4 g/l, un poco por debajo del mate tradicional. En el caso del mate preparado con saquitos, la cantidad sería notablemente inferior ya que se prepara con menos yerba mate que en el caso del mate cocido tradicional.

Estos datos son un poco menores a los estimados por Bracesco et al. (2011) para el mate caliente, que calculó que una persona podría ingerir alrededor de 5 g/l de polifenoles. La diferencia probablemente se deba a que en Uruguay se utilizan mates de mayor volumen.

Estos resultados representan una contribución al estudio de la cuantificación de compuestos fenólicos totales, dando como resultado un mayor porcentaje en la mateada con agua caliente que es la forma más habitual de consumo.

8. Referencias:

- Amable María Angélica; Rojas Liliana Mirta. (1989). "Historia de la yerba mate en Misiones". Posadas, Ediciones Montoya.
- Amable María Angélica, Dohmann, Karina, Rojas Liliana Mirta. (1997). "La yerba misionera: el árbol de nuestra historia". En: Primer Encuentro del Mercosur: Patrimonio Jesuítico, Buenos Aires.
- Araujo, H. C., Lacerda, M. E. G., Lopes, D., Bizzo, H. R., Kaplan, M. A. C. (2007). Studies on the aroma of maté (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) using headspace solid-phase microextraction. *Phytochemical Analysis*, 18: 469–474. doi: 10.1002/pca.1002.
- Athayde, M. L.; Coelho, G. C.; Schenkel, E. P. (2000). Caffeine and theobromine in epicuticular wax of *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. *Phytochemistry*, v. 55, n. 7, p. 853-857.
- Astiasarán y Martínez. (1999). Alimentos, composición y Propiedades. Mc.Graw-Hill, 1° edición.
- Asociación Argentina de Fitomedicina. <http://www.plantasmedicinales.org/?872>. Consultado el 24 de enero de 2010.
- Ashihara, H.; Suzuki, T. (2004). Distribution and biosynthesis of caffeine in plants. *Frontiers in Bioscience*, v. 9, p. 1864-1876.
- Antonio Ruiz de Montoya, La conquista espiritual. Madrid, Imprenta del Reino, 1639. Pág. 8.
- Bravo; Goya; Lecumberri, E. (2007). LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. *Food Research International* 40: 3.393-405. 0963-9969.
- Blumenthal M., Goldberg A., Brinckmann J. (2000). Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs. American Botanical Council, 6200 Manor Rd, Austin, TX 78723
- Balasundram, N.; Sundram, K.; Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, v. 99, n. 1, p.191-203.
- Bastos, D. H. M.; Fornari, A. C.; Queiroz, Y. S.; Torres, E. A. F. S. (2006). (Bioactive compounds content of chimarrão infusions related to the moisture of yerba maté (*Ilex Paraguariensis*) leaves. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 49, n. 3, p. 399-404.
- Bastos, D. H. M., Oliveira D. M., Matsumoto, R. L. T., Oliveira, P. C., Ribeiro, M. L. (2007). Yerba mate: Pharmacological properties research and biotechnology. *Med Arom Plant Sci Biotec.* 1(1)37-46
- Bixby, M.; Spieler, L.; Menini, T.; Gugliucci, A. (2005). *Ilex paraguariensis* extracts are potent inhibitors of nitrosative stress: A comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. *Life Sci.*, (77): 3.345-358. 0024-3205.
- Bortoluzzi, A. L. M.; Pasqualatto, R. P. R.; Guesser, G.; Cardozo Junior, E. L.; Donaduzzi, C. M.; Mitsui, M. (2006). Quantificação de metilxantinas e compostos fenólicos em amostras comerciais de ervamate (*Ilex paraguariensis* St.Hil.). In: Congreso Sudamericano de la Yerba Mate, 4., Posadas. INYM, INTA, UNaM, EPAGRI, 2006. p. 143 - 147.
- Bruneton, J. (1991). Elementos de fitoquímica y de farmacognosia. Zaragoza: Acribia S. A.
- Bracesco N, Sanchez AG, Contreras V, Menini T, Gugliucci A. (2011). Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview. *Journal of Ethnopharmacology*
- British Herbal Pharmacopoeia. 4th ed. British Herbal Medicine Association, Exeter 1996.
- Bonpland Amadeo, notas sobre la utilidad de trabajar los yerbales. (1897). En: Revista Farmacéutica T: V: Buenos Aires. Cit. En: María Angélica Amable y Liliana Mirta Rojas, Historia de la yerba mate en Misiones. Posadas, Ediciones Montoya, 1989. Pág. 82.
- Cámara de Molineros de Yerba Mate de la Zona Productora (CMYMZP).
- Carini, M.; Facino, R. M.; Aldini, G.; Calloni, M.; Colombo, L. (1998). Characterization of phenolic antioxidants from mate (*Ilex paraguariensis*) by liquid chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, (12): 22.1813-1819. 0951-4198.
- Código Alimentario Argentino (C.A.A) cap. XV, Productos Estimulantes o Fruitivos. Artículo 1193/1194/1195/1195bis/1196/1197/1198/1198bis. http://www.alimentosargentinos.gov.ar/programa_calidad/marco_regulatorio/CAA/CAPITULOXV.htm Visitado el 24 de enero de 2010.
- Cardozo, E. L. Jr.; Ferrarese-Filho, O.; Cardozo Filho, L.; Ferrarese, M. L. L.; Donaduzzi, C. M.; Sturion, J. A. (2007). Methylxanthines and phenolic compounds in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) progenies grown in Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 20, p. 553-558.
- Community herbal monograph on *Ilex paraguariensis* St. Hilaire, folium. (EMA, 2010)
- Clifford, M. N. Chemical and physical aspects of green coffee and coffee products. In: Clifford, M. N.;

- Willson, K. C. (Ed.). (1985). Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage, New York: Croom Helm, p. 305-374.
- Clifford, M. N. (1990). Chlorogenic acids and purine alkaloids contents of mate (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. Food Chemistry, v. 35, p. 13-21.
 - Castelletto R.; Castellsague X.; Muñoz N.; Iscovich J.; Chopita N.; Jmelnitsky A. (1994). Alcohol, tobacco, diet, mates drinking, and esophageal cancer in Argentina. Cancer Epidemiol Biom Prev.; 3:557-64.
 - De Stefani, E., Correa, P., Oreggia, E., Leiva, J., Rivero, S., Fernandez, G., Deneo-Pellegrii, H., Zavala, D., Fonham, E. (1987) Risk factors for laryngeal cancer. Cancer, 60, 3087-3091
 - De Stefani, E., Correa, P., Oreggia, E., Deneo-Pellegrii, H., Fernandez, G., Zavala, D., Carzoglio, J., Leiva, J., Fonham, E., Rivero, S. (1988). Black tobacc, wine and mate in oropharygeal cancer. A case-control study from Uruguay. Rev. Epidémiol. Santé publ., 36, 389-394.
 - De Stefani, E., Muñoz, N., Estève, J., Vassallo, A., Victora, C.G., Teuchmann, S. (1990) Mate drikig, alcohol, tobacc, diet, and esophageal cancer in Uruguay. Cancer Res., 50,426-431.
 - Da Croce, D. M. (2002). Características físico-químicas de extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) no estado de Santa Catarina. Ciência Florestal, v. 12, n. 2, p.107-113.
 - Dickel, M. L.; Rates, S. M. K.; Ritter, M. R. (2007). Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. Journal of Ethnopharmacology, v.109, n. 1, p, 60-71.
 - FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, siglas de Food and Agriculture Organization).
 - Filip, R.; Lotito, S. B.; Ferraro, G.; Fraga, C. G. (2000). Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. Nutrition Research (New York), (20): 10.1437-1446. 0271-5317.
 - Filip, R. et al. (1989). Estudio de compuestos presentes en *Ilex argentina* Lillo (Aquifoliaceae). Anal. Asoc. Quim. Argent., 77(4): 293-297.
 - Fontana, H.P. et al. (1990). Estudios sobre la germinación y conservación de semillas de yerba maté (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). Infor. Téc. 52: 14. Estación Exper. Agrop. Cerro Azul, INTA.
 - Filip, R.; Lopez, P.; Giberti, G. C.; Coussio, J.; Ferraro, G. (2001). Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. Fitoterapia, v. 72, p. 774-778.
 - Furlong Guillermo. (1978). Misiones y sus pueblos de guaraníes. Posadas. Lumicop. Pág. 416.
 - Giberti, G. C. (Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, Buenos Aires, Argentina) (1989). www.hort.purdue.edu/newcrop/1492/mate.html . Visitado el día 02 de Mayo de 2011.
 - Giberti, G.C. (1989). Los parientes silvestres de la yerba maté y el problema de su adulteración. Dominguezia, 7(1): 3-21.
 - Gomez Vara, M. E. et al. (1980). Investigaciones sobre la tecnología de la yerba maté. Informe, 4:226. APRYMA.
 - Grondona, E. M. (1953). Historia de la yerba mate. Rev. Argent. Agron., 20(2): 68-95.
 - Grondona, E. M. (1954). Historia de la yerba mate. II. Sinonimia, cariología y distribución geográfica. Rev. Argent. Agron., 21 (1): 9-24.
 - Gosmann, G., Schenkel, E. P., Seligman, O. P. (1989). A new saponin from mate, *Ilex paraguariensis*.: J Nat. Prod. 52 6: 1367-1370.
 - Hamada, S., Slade, H. D. (1980). Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev; 44: 331-384.
 - Heim, K. E.; Tagliaferro, A. R.; Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. Journal of Nutritional Biochemistry, (13): 10.572-584. 0955-2863.
 - Heck, C. I.; De Mejia, E. G. (2000). Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): A Comprehensive Review on Chemistry, Health Implications, and Technological Considerations. Journal of Food Science.
 - Heck; De Mejía. (2007). Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): A Comprehensive Review on Chemistry, Health Implications, and Technological Considerations.
 - Heinrichs, R., Malavolta, E. (2001). Mineral Composition of a Commercial Product from Mate-Herb (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). Ciência Rural, Santa Maria, v.31, n.5, p.781-785.
 - Heck, C. I., Schmalko M., Mejia, E. G. (2008). Effect of Growing and Drying Conditions on the Phenolic Composition of Mate Teas (*Ilex paraguariensis*). J. Agric. Food Chem., 56 (18), pp 8394-8403.
 - INDEC. (Siglas de El Instituto Nacional de Estadística y Censos) http://www.alimentosargentinos.gov.ar/03/revistas/r_32/cadenas/Infusiones_yerba_mate.hm. Consultado el 24 de enero de 2010.
 - INYM. (Siglas de Instituto Nacional de la Yerba Mate) <http://www.yerbamateargentina.org.ar/>. Consultada el 24 de enero de 2010.
 - Kubo I., Muroi H., Masaki H. (1993). Antibacterial activity against *Streptococcus mutans* of mate tea flavor components. J. Agr. Food Chem.; 41: 107-111.

- Kamangar, F., Scantz, M. M., Abnet, C.C., Fagundes R.B., Dawsey S.M. (2008). High levels of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in mate drinks. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*;17:1262–8
- Linhares, T. 1969. História econômica do mate. Rio de Janeiro, Brazil, Editora Livraria José Olympio.
- Loesener, T. (1901). Monographia Aquifoliacearum, I. Nola Acta Acad. Caes. Leop. Carol. German. Nat. Cur., 78: VIII + 600.
- Loesener, T. (1942/60). Aquifoliaceae. In H. Harms, Mattfeld, eds. Nat. Pflanzenfam, 2nd ed., p.36-86. Berlin.
- López, P.; Isolabella, S.; Anesini, C.; Ferraro, G.; Filip, R. (2006). Estudio cualicuantitativo por HPLC de los principios activos presentes en los extractos de *Ilex paraguariensis* (yerba mate) en las diferentes etapas del procesamiento industrial. En: Congreso Sudamericano de la yerba mate, 4., Posadas. Anais.Posadas: INYM, INTA, UNaM, EPAGRI, 2006. p. 116-121.
- Loria D, Barrios E, Zanetti R. (2009). Cancer and yerba mate consumption: a review of possible associations. *Rev Panam Salud Publica*;25(6):530-539.
- Lozano, P. R., Cadwallader, K. R., Gonzalez de Mejia, E. (2007). Identification of characteristic aroma components of Mate (*Ilex paraguariensis*) Tea. In: Tunick MH, de Mejia EG, editors. Hispanic foods: chemistry and flavor. Washington, D.C.: Amer Chem Soc. p 143–50.
- Martinet, A., Hostettmann, K., Schutz, Y. (1999). Thermogenic effects of commercially available plant preparations aimed at treating human obesity. *Phytomedicine*.6 (4):231-8.
- Meinhart A. D., Schaoer Bizzotto C., Ballus C. A., Poloni Rybka A. C., Sobrinho M. R., Cerro-Quintana R. S., Teixeira-Filho J., Teixeira Godoy H.(2009). Methylxanthines and Phenolics Content Extracted during the Consumption of Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) Beverages. *J. Agric. Food Chem.*
- Mazzafera, P. (1997). Mate drinking: caffeine and phenolic acid intake. *Food Chemistry*, (60): 1.67-71. 0308-8146.
- Martínez-Crovetto, R. (1980). Yerba mate: usos no tradicionales y posibilidades. *Participar*. 2(12): 58-61.
- Mazzafera, P. (1994). Caffeine, theobromine and theophylline distribution in *Ilex paraguariensis*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 62, n. 2, p. 149 –151.
- Mazzafera, P., Yamaoka-Yano, D. M., Vitoria, A. P. (1996). Para que serve a cafeína em plantas?. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 8, n.1, p. 67-74.
- Martins, F., Noso T. M., Porto, V. B., Curiel, A., Gambero, A., Bastos, D. H. M., Ribeiro, M.L., Carvalho, P.O. (2009). Maté Tea Inhibits In Vitro Pancreatic Lipase activity and Has Hypolipidemic Effect on High-fat Diet-induced Obese Mice. *Obesity* 18, 42–47.
- Müller, V., Chávez, J. H., Reginatto, F. H., Zucolotto, S. M., Niero, R., Navarro, D., Yunes, R. A., Schenkel, E. P., Barardi, C. R. M., Zanetti, C. R. and Simões, C. M. O. (2007). Evaluation of antiviral activity of South American plant extracts against herpes simplex virus type 1 and rabies virus. *Phytotherapy Research*, 21: 970–974. doi: 10.1002/ptr.2198
- Olthof, M. R.; Hollman, P.C.H.; Katan, M. B. (2001). Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *Journal of Nutrition*, (131): 1.66-71. 0022-3166.
- Provincia de Misiones. Información Socioeconómica Agencia de Desarrollo de Inversiones (ADI).http://www.alimentosargentinos.gov.ar/03/revistas/r_32/cadenas/Infusiones_yerba_mate. Consultado el 03 de agosto de 2011.
- Pharmacopea Francesa, 10° Edición. (2010). Maté.
- Porto, A. (1943). História das Missões orientais do Uruguai, I. Rio de Janeiro, Brazil, Ministry of Education and Health.
- Prat Kricun, S.D. et al. (1986). Yerba mate: informe de investigaciones realizadas. Período 84-85. Misiones, Convenio INTA-CRYM y CRYM-Asoc. Coop. EEA.
- Puangraphant S., Mejia, E. G. (2009). Saponins in Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil) and Quercetin Synergistically Inhibit iNOS and COX-2 in Lipopolysaccharide-Induced Macrophages through NFKB Pathways. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 8873–8883.
- Poenitz Edgar, Poenitz Alfredo. (1993). Misiones, Provincia Guaranítica. Posadas, Editorial Universitaria (UNAM). Pág. 33.
- Relevamiento Yerbatero 2001. Gobierno de la Provincia de Misiones.
- Rice-Evans, C. A. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 20, p. 933-956.
- Ribani, R. H. (2006). Compostos fenólicos em erva-mate e frutas. 137 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

- Roffo A. H. (1941). Cáncer producido por el alquitrán del mate. Bol. Inst. Med. Expt. Cancer. 18(56):5–20
- Robards, K.; Antolovic, M. (1997). Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. The Analyst, v. 122, p. 11R-34R.
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51, n. 10, p. 2866-2887.
- Strassmann, B. B, Vieira, A.R., Pedrotti, E.L., Morais, H. N., Dias, P. F. (2008). Quantitation of methylxanthinic alkaloids and phenolic compounds in mate (*Ilex paraguariensis*) and their effects on blood vessel formation in chick embryos. J Agric Food Chem.; 56(18):8348-53.
- Schultes, R. E. (1979). Discovery of an ancient guayusa plantation in Colombia. Harvard University, Botanical Museum Leaflets, 27(5-6): 143-153.
- Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol, 299, 152-178.
- Shahidi, F.; Naczk, M. (2004). Phenolics in Food and Nutraceuticals. Boca Raton: CRC Press, 2004. 576 p. Sidra, Sistema IBGE de Recuperação Automática. Produção da Extração vegetal e da Silvicultura. <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp>. Consultado el 02 de enero de 2009.
- Silva, E. L.; Neiva, T. J. C.; Shirai, M.; Terao, J.; Abdalla, D. S. P. (2008). Acute ingestion of yerba mate infusion (*Ilex paraguariensis*) inhibits plasma and lipoprotein oxidation. Food Research International, v. 41, p. 973–979.
- Simoes, M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. (2004). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2004. 1102 p.
- The Complete German Commission E Monographs. Therapeutic Guide To Herbal Medicines Copyright © 1999 American Botanical Council.
- Taiz, L.; Zeiger, E. (2004). Fisiologia Vegetal, 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 719 p.
- Taketa, A. T. L., Gnoatto, S. C. B., Gosmann, G., Pires, V. S. P., Schenkel, E.P., Guillaume, D. (2004). Triterpenoids from Brazilian *Ilex* Species and Their in Vitro Antitrypanosomal Activity J. Nat. Prod. 67, 1697-1700.
- Sari, F., Turkmen, N., Polat, G., Sedat, Velioglu, Y. (2007). Total Polyphenol, Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Mate Tea. Food Sci. Technol. Res., 13 (3) ,265-269.
- Sepp Antonio. (1974). Jardín de Flores Paracuário. Buenos Aires, Eudeba, Págs. 86-87.
- Tenorio, Sanz, M. D., Torija, Isasa, M.E. (1991). Elementos minerales en la yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. H.) / Mineral elements in of mate (*Ilex paraguariensis* St. H.). Arch. latinoam. nutr; 41(3):441-54.
- Vassallo, A., Correa, P., De Stefani, E., Cendán, M., Zavala, D., Chen, V, Carzoglio, JCeneo-Pellegrini, H. (1985). Esophageal cancer in Uruguay: a case-control study. J natl Cancer Inst., 75, 1005-1.
- Wrobel, K., Colunga, Urbina, E. M. (2000). Determination of total aluminum, chromium, copper, iron, manganese, and nickel and their fractions leached to the infusions of black tea, green tea, Hibiscus sabdariffa, and *Ilex paraguariensis* (mate) by ETA-AAS. Biol Trace Elem Res 78:271–80
- Zanoelo, E. F.; Cardozo Filho, L.; Cardozo Junior, E. L. (2006). Superheated steam-drying of mate leaves and effect of drying conditions on the phenol content. Journal of Food Process Engineering, v. 29, p. 253-268.

9. Anexos

Anexo 1:

Monografía Yerba mate aprobado por la Comisión Permanente de la Farmacopea Nacional Argentina. Farmacopea Nacional Argentina VIII Ed. Volumen III.

DOCUMENTO APROBADO POR COMISIÓN PERMANENTE

YERBA MATE, hoja y tallo

Definición - Yerba Mate está constituida por hojas y tallos jóvenes procesados, desecados y fragmentados de *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. var. *paraguariensis* (Aquifoliaceae). Debe contener no menos de 0,8 por ciento de cafeína, calculado sobre la sustancia seca, y no más del 10,0 por ciento de tallos. Yerba Mate debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en un sitio seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - La hoja de yerba mate es cortamente peciolada, oval cuneiforme, atenuada hacia el peciolo, con borde aserrado, de 10 cm de largo y 4 cm de ancho. Nervadura media prominente en la cara inferior y con 5 ó 6 nervaduras secundarias en cada semilimbo. Tallos con corteza lisa de color grisáceo.

B - Características microscópicas - La lámina en vista superficial presenta la epidermis superior con células de contornos rectos con cutícula gruesa, ornamentada, sin estomas; la epidermis inferior con células de paredes levemente onduladas; estomas cicloclíticos y abundantes hidatodes. En ambas epidermis se observan escasos pelos (células unicelulares, simples. En corte transversal el mesófilo está constituido por parénquima en empalizada, con células dispuestas en 3 capas, y por parénquima esponjoso bractiforme. En ambos parénquimas se observan células con drusas de oxalato de calcio.

El sistema vascular de la nervadura principal presenta un haz anfibasal rodeado por una vaina completa de fibras esclerenquimáticas.

Índice de estomas: 6,89 (10,13) 15,50

Índice de empalizada: 2,50 (3,00) 4,50

Los tallos en corte transversal presentan un parénquima cortical, con drusas de oxalato de calcio, una vaina de fibras esclerenquimáticas que rodea al floema y al xilema, y un parénquima medular en el que se observan células con cristales simples y drusas de oxalato de calcio.

C - Droga en polvo - Polvo verde claro a oscuro. Se observan numerosos fragmentos de epidermis superior, sin estomas, e inferior, con numerosos estomas e hidatodes, y células del

parénquima en empalizada y esponjoso bractiforme, con drusas de oxalato de calcio. Fibras esclerenquimáticas, células pétreas, vasos anillados y punteados, cristales simples y drusas de oxalato de calcio y fragmentos de súber provenientes del tallo.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. Cromatografía) recubierta de gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, agua, ácido acético y ácido fórmico (100:26:11:11) [NOTA: preparar inmediatamente antes de su uso].

Solución estándar - Disolver 2 mg de ácido clorogénico y 2 mg de rutina en 10 ml de metanol.

Solución muestra - A 1 g de Yerba Mate reducida a polvo fino, agregar 10 ml de metanol, calentar en baño de agua a 60° C durante 5 minutos y filtrar.

Revelador - Reactivo de Productos naturales-polietilenglicol.

Procedimiento - Aplicar por separado, en bandas, 5 µl de la *Solución estándar* y 20 y 40 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente las tres cuartas partes de la placa. Retirar la placa de la cámara y dejar secar. Pulverizar con *Revelador* y dejar secar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 365 nm. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar* debe presentar una banda de fluorescencia anaranjada correspondiente a rutina con un valor de R_f de 0,40 y otra banda de fluorescencia celeste correspondiente al ácido clorogénico con un valor de R_f de 0,47. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar dos bandas que se correspondan en posición y fluorescencia a las obtenidas con la *Solución estándar*. El cromatograma de la *Solución muestra* puede presentar una banda anaranjada con un valor de R_f de 0,62 y bandas de fluorescencia celeste verdosa con valores de R_f de 0,52 y 0,80.

Cenizas totales (Ver 630. Métodos de farmacognosia)

No más de 9 %.

Control higiénico (Ver 630. Métodos de farmacognosia)

Debe cumplir con los requisitos.

DOCUMENTO APROBADO POR COMISIÓN PERMANENTE

DOCUMENTO APROBADO POR COMISIÓN PERMANENTE

Materia extraña (Ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe contener no más de 1% de materias extrañas.

Pérdida por secado (Ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe perder no más de 9,5 % determinado sobre 2,0 g de droga por desecación en estufa a una temperatura comprendida entre 100 y 105 °C durante 2 horas.

Residuo de pesticidas (Ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Límites de metales pesados <590>

Método 1. No más de 0,001 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un cromatógrafo de líquidos equipado con un detector ultravioleta ajustado a 273 nm y una columna de 25 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)
0-10	83 → 80	17 → 20
10-15	80	20
15-25	80 → 77	20 → 23
25-30	77 → 0	23 → 100

Solución A - Agua y ácido acético (98:2)

Solución B - Metanol y ácido acético (98:2)

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de *Caféina*, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 30 ml de una mezcla metanol y agua (7:3) y agitar hasta disolver. Completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con el mismo solvente.

Preparación muestra - Reducir a polvo fino aproximadamente 50 g de Yerba Mate y pesar exactamente alrededor de 5,0 g de polvo. Transferir a un balón de 100 ml, agregar 70 ml de agua y unos trozos de material poroso y calentar a ebullición en un baño de agua a reflujo durante 20 minutos.

Enfriar a una temperatura comprendida entre 40 y 45 °C, filtrar y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Completar a volumen con agua. Transferir 5,0 ml del extracto obtenido a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con una mezcla de metanol y agua (7:3).

Procedimiento- Inyectar por separado volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y de la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos correspondientes a *cafeína*. Calcular la cantidad en porcentaje de *cafeína* contenido en la porción de Yerba Mate en ensayo a partir de la fórmula siguiente:

$$100(P_E/P_M)(r_M/r_E)$$

en la cual P_E es el peso en gramos de *cafeína* en la *Preparación estándar*, P_M es el peso en gramos de la porción de la muestra en ensayo, y r_M y r_E son las respuestas de los picos de *cafeína* en la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* respectivamente.

DOCUMENTO APROBADO POR COMISIÓN PERMANENTE

Anexo 2:

Publicidad del INYM indicando que el consumo de yerba mate beneficia la salud.



Tomá MATE
y SUMÁ
BENEFICIOS
a tu SALUD.

Rica en Antioxidantes
El consumo de la Yerba mate constituye una fuente importante de polifenoles totales (que fortalecen las defensas del organismo), superando a TODAS las infusiones.

INYM
INSTITUTO NACIONAL DE LA YERBA MATE
www.yerbamateargentina.org.ar



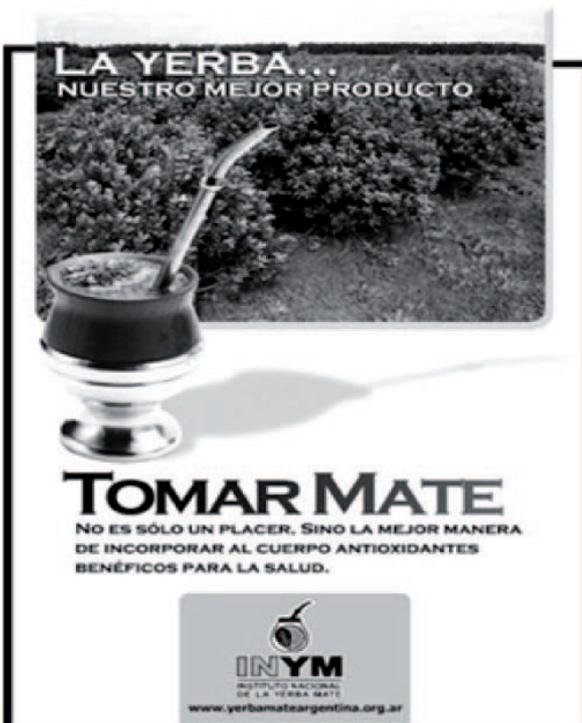
Tomá MATE

Es **NATURAL**
Hace **BIEN**
y es **NUESTRA**.

- Provee antioxidantes
- Reduce el Colesterol malo
- Eleva las defensas del sistema inmunológico
- Tiene vitaminas y minerales

Es 100% Natural

INYM
INSTITUTO NACIONAL DE LA YERBA MATE
www.yerbamateargentina.org.ar



LA YERBA...
NUESTRO MEJOR PRODUCTO

TOMAR MATE
NO ES SÓLO UN PLACER, SINO LA MEJOR MANERA DE INCORPORAR AL CUERPO ANTIOXIDANTES BENEFICIOS PARA LA SALUD.

INYM
INSTITUTO NACIONAL DE LA YERBA MATE
www.yerbamateargentina.org.ar

Anexo 3:

Muchos de los productos existentes en el mercado se ve reflejada en la variedad y cantidad de productos que contienen bajo la forma de medicamentos fitoterápicos y suplementos dietarios yerba mate.

Productos que contienen yerba mate clasificada según forma farmacéutica:

SUPLEMENTOS DIETARIOS:**• Adelgamate (Lab. Labonatur).**

Venta Libre

Industria Argentina

Composición: Cola de Caballo; Fucus (*Fucus vesiculosus*); *Garcinia cambogia*; Yerba Mate; Té Verde; Magnesio Oxido; Guaraná.

Acción Terapéutica: Adelgazante natural.

Presentaciones: 60 comprimidos.

• Yerba Mate Organica (Hierbas del Oasis)

Venta libre

Industria Argentina

Composición: Hojas y palo de yerba mate tostada

Acción terapéutica: Antioxidante

Presentación: Envase x 500 gr

• Yerba mate Tostada para Dieta (Hierbas del Oasis)

Venta libre

Industria Argentina

Composición: Hojas de yerba mate tostada, melisa, zarzaparrilla, incayuyo, té verde

Acción terapéutica: Coadyuvante en dietas específicas

Presentación: Envase x 500 gr

• Celulitis Adelgamate (Lab Labonatur)

Venta Libre

Industria Argentina

Composición: Contiene: Centella Asiática; Cola de Caballo; Fucus; *Garcinia cambogia*; Yerba Mate, L-Carnitina; Té Verde; Tripicolinato de Cromo.

Acción Terapéutica: Anticelulítico. Adelgazante. Tónico muscular.

Presentaciones: 60 comprimidos

• Energy Adelgamate (Lab. Labonatur).

Venta Libre

Industria Argentina

Composición: Cola de Caballo, Cromo tripicolinato, Fucus, *Garcinia Cambogia*, Guaraná, óxido Magnesio, Té Verde, Yerba Mate.

Acción Terapéutica: Energizante, antiestrés, adelgazante natural.

Presentaciones: 60 comprimidos

• Power Gym Adelgamate (Lab Labonatur).

Venta Libre

Industria Argentina

Composición: Yerba Mate; Guaraná; Té Verde; L-Carnitina; Cola de Caballo; Fucus;

Magnesio; *Garcinia*; Manganeso; Tripicolinato de Cromo.

Acción Terapéutica: Adelgazante. Tónico muscular. Vigorizante.

Presentaciones: 60 comprimidos

- **Good Night Adelgamate (Lab. Labonatur)**

Venta Libre

Industria Argentina

Composición: Pasionaria (*Passiflora incarnata*); Garcinia (*Garcinia cambogia*); Fucus (*Fucus vesiculosus*); Magnesio Oxido; Cola de Caballo (*Equisetum arvense*); Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*); Zinc Gluconato; Tripicolinato de Cromo.

Acción Terapéutica: Adelgazante. Disminuye los síntomas de la menopausia. Antiestrés, Trastornos del sueño.

Presentaciones: 60 comprimidos.

- **Amazon Energy: (Fruttlicious)**

Venta libre

Industria Brasileira

Composición: Acai, vitamina C, guaraná, yerba mate.

Bebida energizante

- **PowerThin Phase II (Lab. Powerthin)**

Venta libre

Origen, Estados Unidos

Composición: Advantra Z, Cafeína, extracto de té (extracto), semillas de cacao (extracto), lipedium peruvianum meyenii Radix, quercetina, hojas de yerba mate, extracto de la hierba vinpocetina (Vinca minor), clorhidrato de yohimbina, L-carnitina, raíz de jengibre, L-tirosina y corteza de sauce blanco.

Acción terapéutica: Pérdida de peso, aumento del metabolismo

TISANAS:

- **Yerba Mate Adelgazante (Lab. Labonatur).**

Venta Libre

Industria Argentina.

Composición: Yerba Mate, Té Verde, Fucus, Cedrón (Lemon grass), Hisopo, Menta, Peperina, Cola de Caballo.

Acción Terapéutica: Adelgazante natural.

Presentaciones: Sabores: clásica, con limón y dulce: 25 saquitos de 2.5 g c/u y 500 g

- **Saint-Gottard tisana energizante (Saint-Gottard)**

Venta libre

Industria Argentina

Composición: Yerba mate, ginseng, jengibre y centella asiática

Acción terapéutica: Energizante, antiasténico

Presentación: Saquitos de 1,5 g x 25 unidades

FITOTERAPICOS:**• Ollantay (Lab. Higaté)**

Venta libre.

Industria Argentina

Composición: Yerba mate compuesta con palo

Acción terapéutica: Digestivo, hepatoprotector

Presentación: Bolsa x 500 gramos

COSMÉTICA CIENTÍFICA:**• Champú multiacción: (Lab. Essencial)**

Venta libre

Industria Brasileira

Composición: Yerba mate, Aloe vera

• Loción corporal: (Lab. Essencial)

Venta libre

Industria Brasileira

Composición: Yerba mate orgánica

Acción terapéutica: Hidratante, revitalizador de la piel.

• Crema para masajes reductores modeladores para la celulitis. (Lab. Exel)

Venta libre

Industria Argentina

Composición: Extracto de yerba mate, cafeína, carnitina, ácido cáprico, ácido caprílico, glicerina vegetal, dimeticonol, ciclometicona.

Acción terapéutica: crema anticelulítica, lipólítica.

• Shampoo (Yerba Mate Ilex)

Venta libre

Industria Mexicana

Composición: Romero, caléndula, palo dulce, aloe vera, aceite de mamey, espinosilla y extracto de yerba mate.

Acción terapéutica: Tónicas y estimulantes, que protegen el equilibrio del cuero cabelludo. Posee además, sustancias antioxidantes y fotoquímicas energizantes

• Gel-Crema de Yerba Mate (Lab. Kiehl's)

Venta libre

Origen Estados Unidos.

Composición: Extracto de yerba mate.

Acción terapéutica: ayuda a mejorar la textura de la piel, la claridad y luminosidad.

• Máscara Facial COD: 651 (Lab. Profesional Biocosmética Exel Argentina)

Venta Libre

Industria Argentina.

Composición: ß-Glucanos, Extractos de Yerba Mate, Hamamelis, Ginkgo Biloba, Caléndula y Aloe vera, Liposomas de Alfa-bisabolol, Liposomas de Vitamina E, Liposomas anti-age con Betacaroteno, Pantenol, Niacinamida, Ascorbil fosfato de sodio y Ácido hialurónico, fosfato de sodio dibásico.

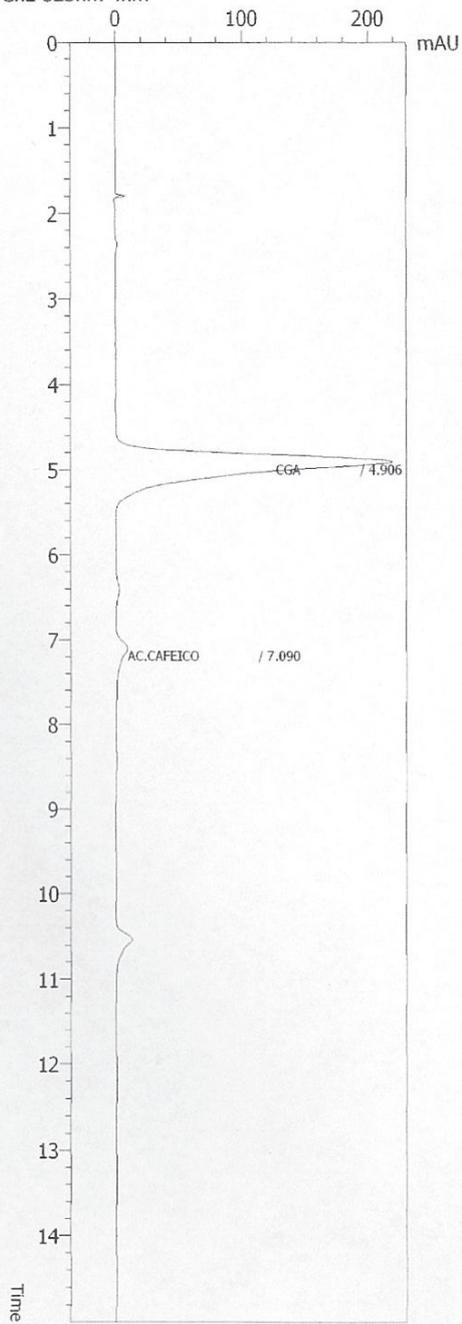
Acción terapéutica: Refresca, humecta, nutre y aporta lípidos esenciales para normalizar la función de barrera de la piel y antioxidante

Anexo 4:
Cromatogramas

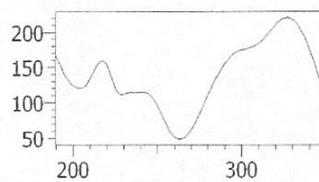
06/09/2011 14:33:32 1 / 1

TESTIGO

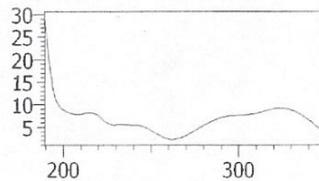
PDA Ch2 325nm 4nm



CGA
Retention Time : 4.906



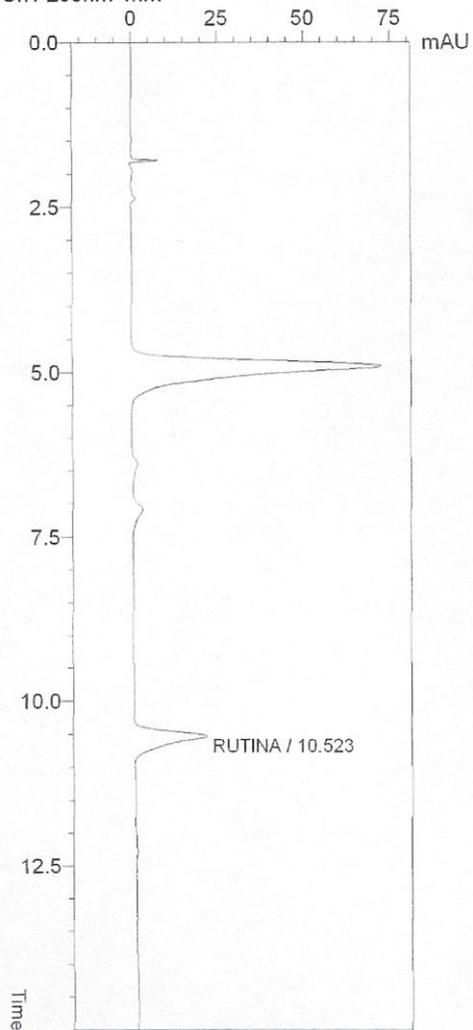
AC.CAFEICO
Retention Time : 7.090



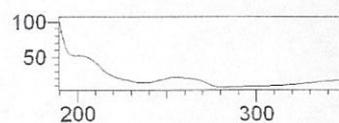
06/09/2011 14:40:25 1 /

File Name :TESTIGO

PDA Ch1 255nm 4nm



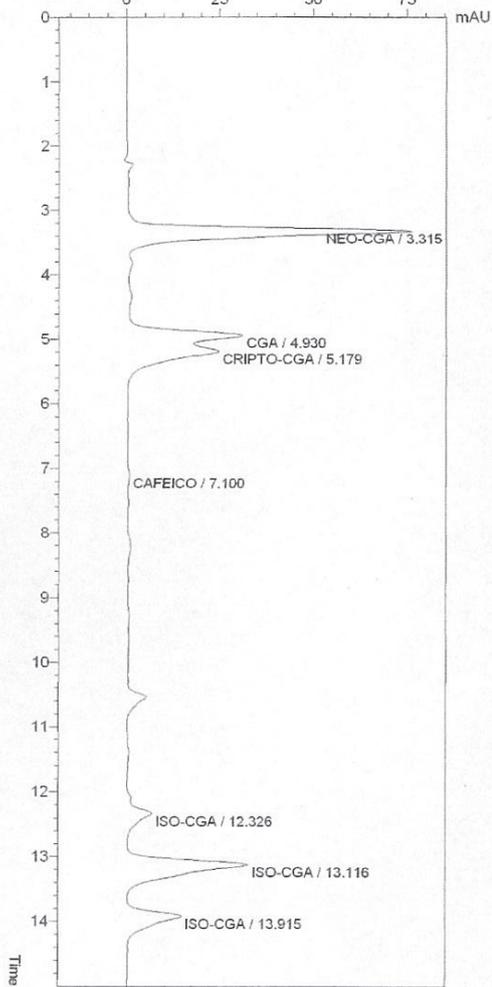
RUTINA
Retention Time : 10.523



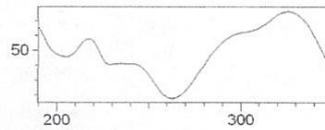
06/09/2011 15:58:32 1 / 2

File Name :MATE TERERE

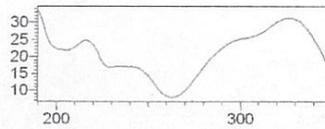
PDA Ch2 325nm 4nm



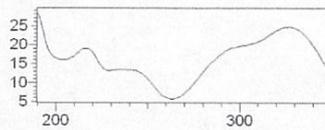
NEO-CGA
Retention Time : 3.315



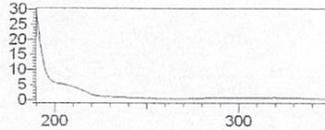
CGA
Retention Time : 4.930



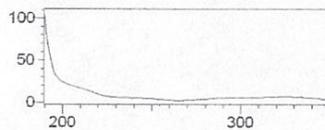
CRIPTO-CGA
Retention Time : 5.179



CAFEICO
Retention Time : 7.100



ISO-CGA
Retention Time : 12.326

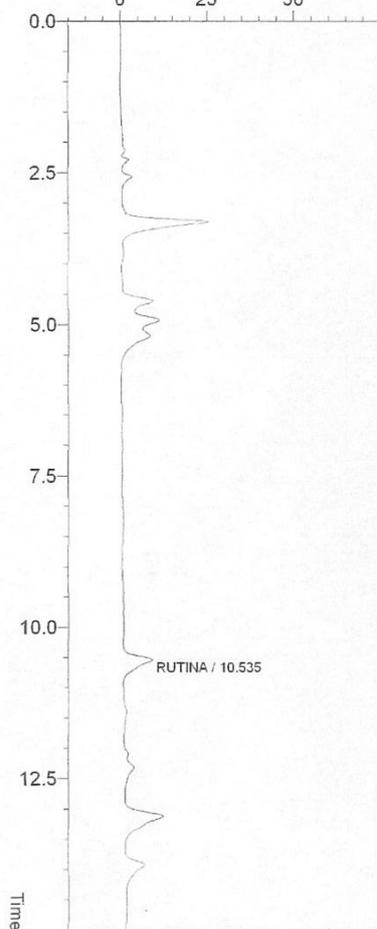


06/09/2011 16:04:54 1 / 1

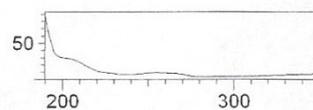
File Name :MATE TERERE

PDA Ch1 255nm 4nm

0 25 50 mAU



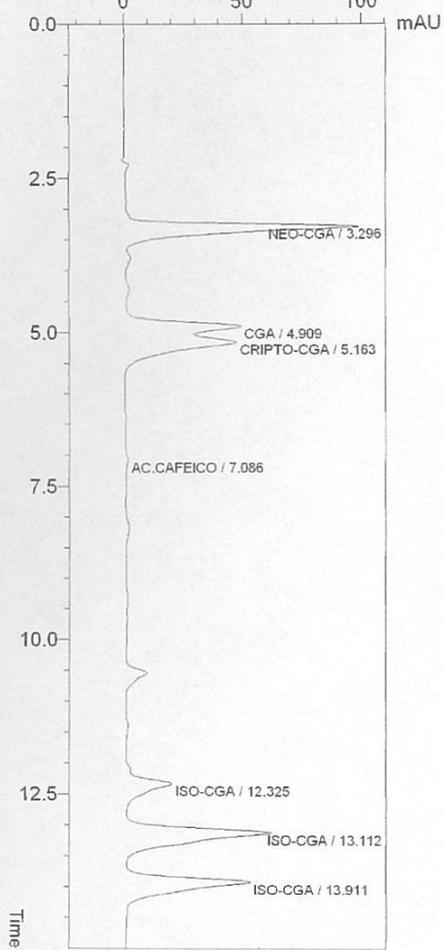
RUTINA
Retention Time : 10.535



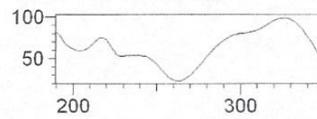
06/09/2011 16:17:51 1 / 2

File Name :MATE COCIDO

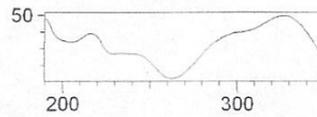
PDA Ch2 325nm 4nm



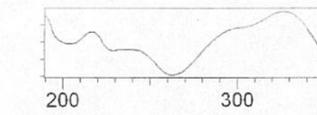
NEO-CGA
Retention Time : 3.296



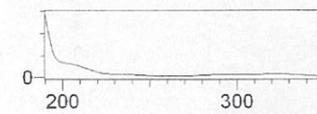
CGA
Retention Time : 4.909



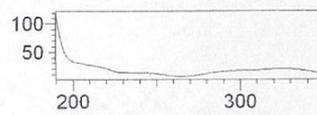
CRIPTO-CGA
Retention Time : 5.163



AC.CAFEICO
Retention Time : 7.086



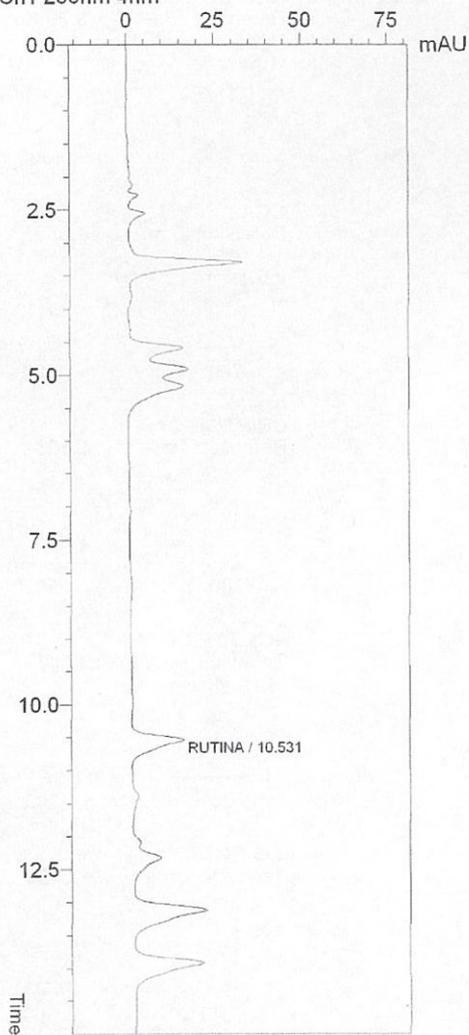
ISO-CGA
Retention Time : 12.325



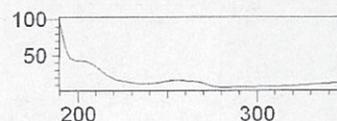
06/09/2011 16:11:50 1 / 1

File Name :MATE COCIDO

PDA Ch1 255nm 4nm



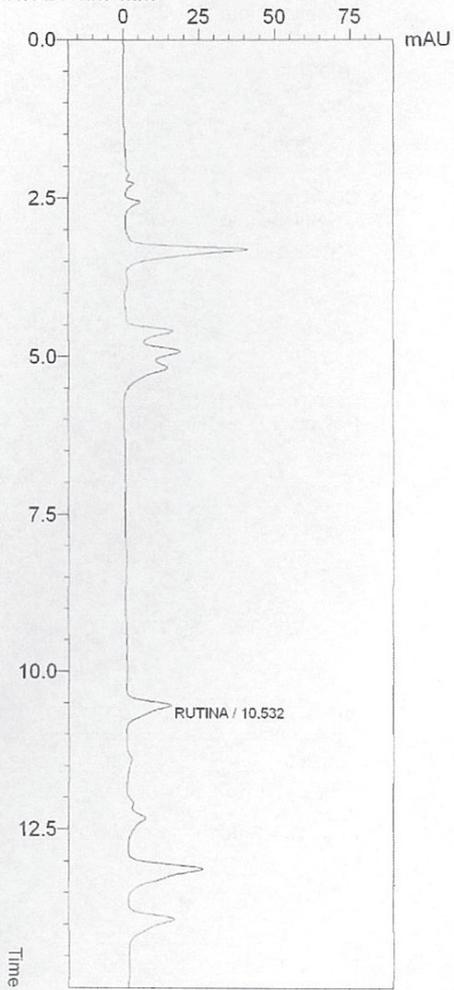
RUTINA
Retention Time : 10.531



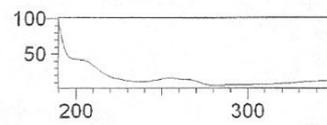
06/09/2011 16:22:40 1 / 1

File Name :MATE CALIENTE

PDA Ch1 255nm 4nm



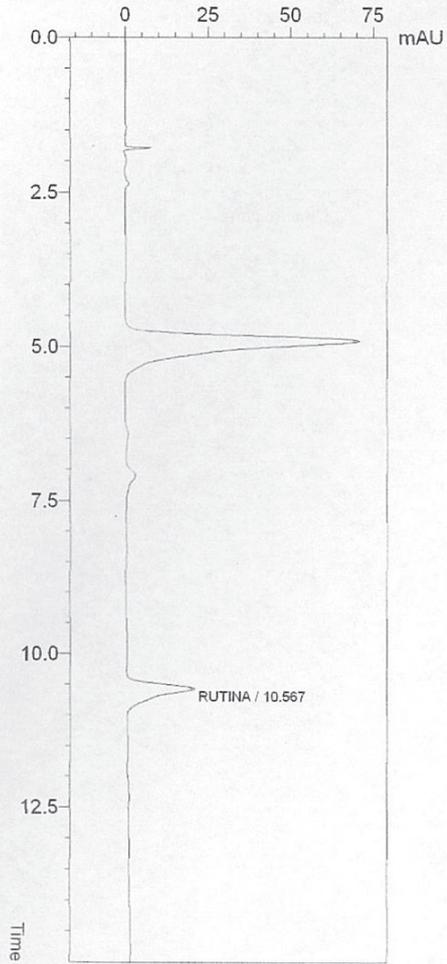
RUTINA
Retention Time : 10.532



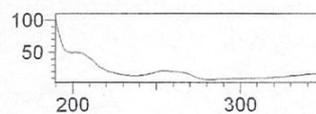
06/09/2011 16:29:14 1 / 1

File Name :TESTIGO

PDA Ch1 255nm 4nm



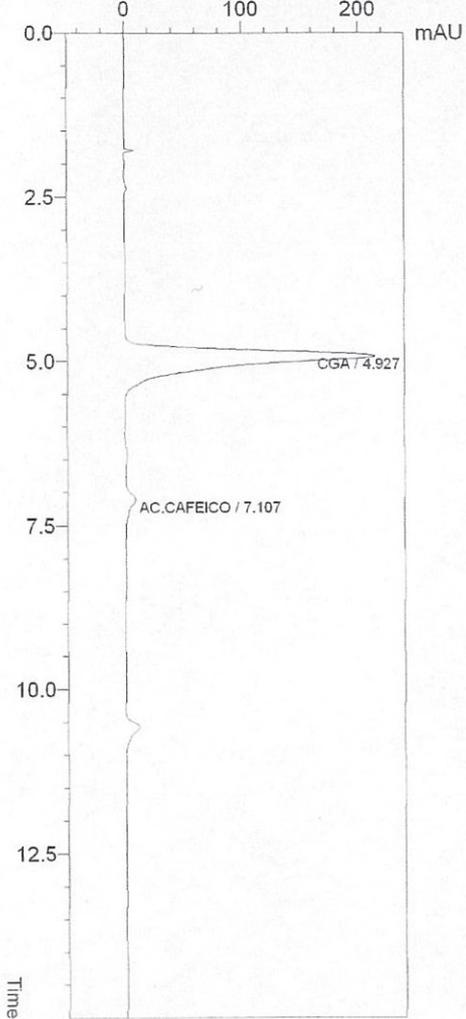
RUTINA
Retention Time : 10.567



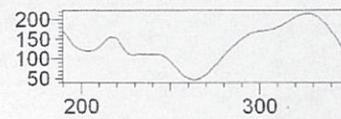
06/09/2011 16:30:40 1 / 1

File Name :TESTIGO

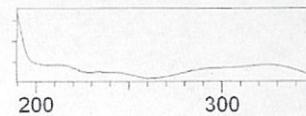
PDA Ch2 325nm 4nm



CGA
Retention Time : 4.927



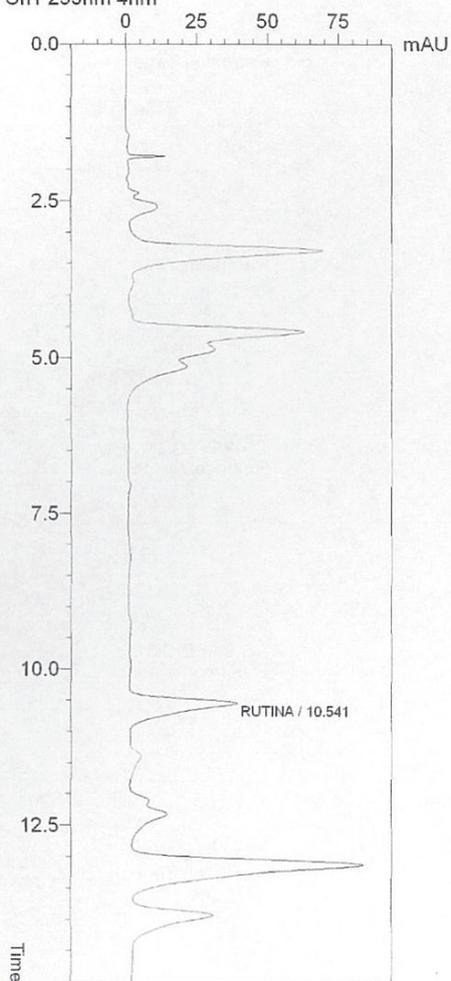
AC.CAFEICO
Retention Time : 7.107



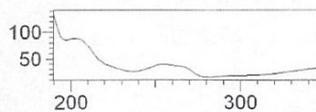
06/09/2011 16:39:26 1 / 1

File Name :YERBA MATE SIN PALO

PDA Ch1 255nm 4nm



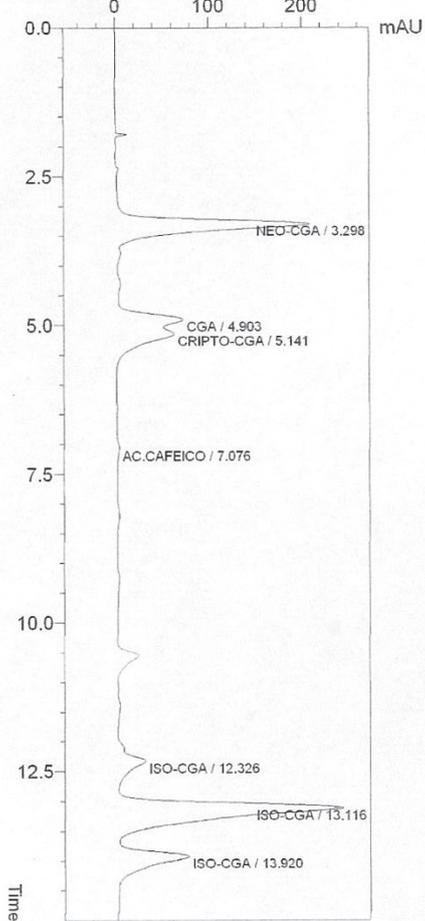
RUTINA
Retention Time : 10.541



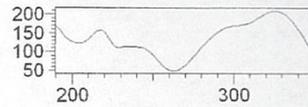
06/09/2011 16:40:29 1 / 2

File Name :YERBA MATE SIN PALO

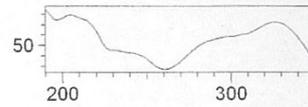
PDA Ch2 325nm 4nm



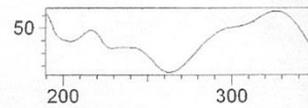
NEO-CGA
Retention Time : 3.298



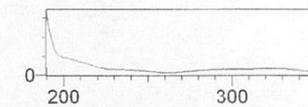
CGA
Retention Time : 4.903



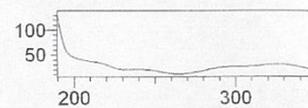
CRIPTO-CGA
Retention Time : 5.141



AC.CAFEICO
Retention Time : 7.076



ISO-CGA
Retention Time : 12.326

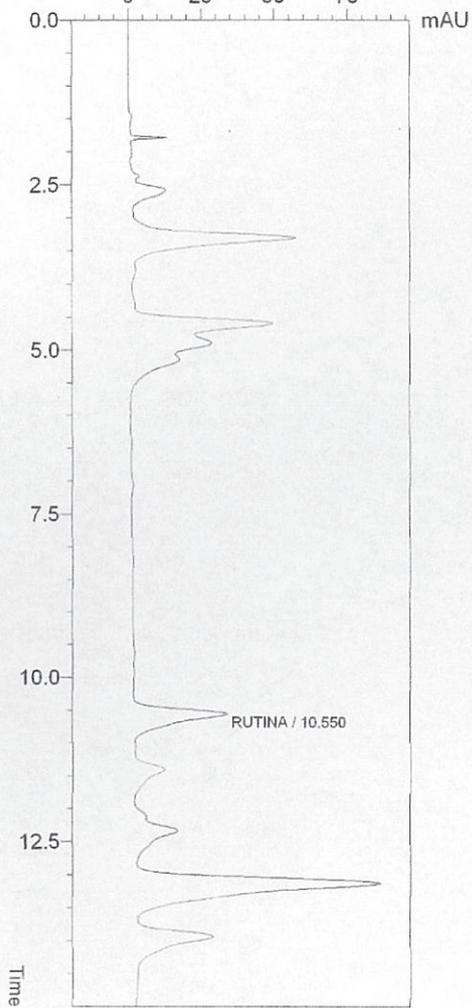


06/09/2011 16:52:11

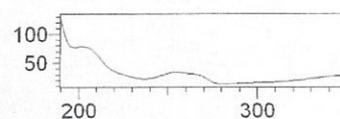
File Name :llex paraguariensis

PDA Ch1 255nm 4nm

0 25 50 75 mAU



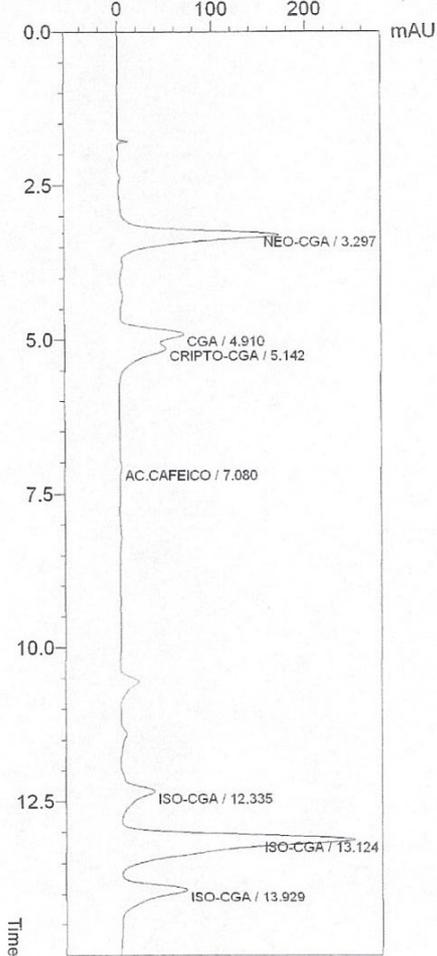
RUTINA
Retention Time : 10.550



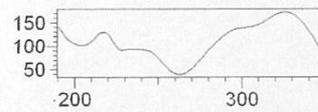
06/09/2011 16:52:51 1 / 2

File Name :illex paraguariensis

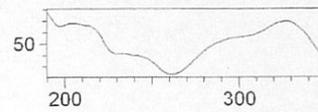
PDA Ch2 325nm 4nm



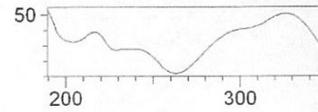
NEO-CGA
Retention Time : 3.297



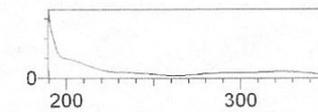
CGA
Retention Time : 4.910



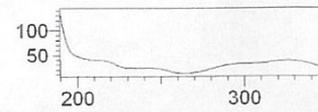
CRIPTO-CGA
Retention Time : 5.142



AC.CAFEICO
Retention Time : 7.080



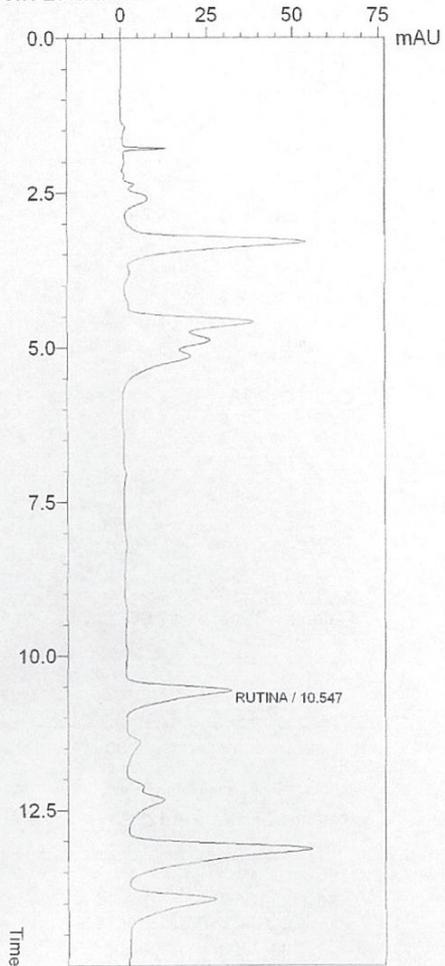
ISO-CGA
Retention Time : 12.335



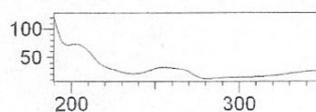
06/09/2011 17:02:14 1 / 1

File Name :YERBA MATE CON PALO

PDA Ch1 255nm 4nm



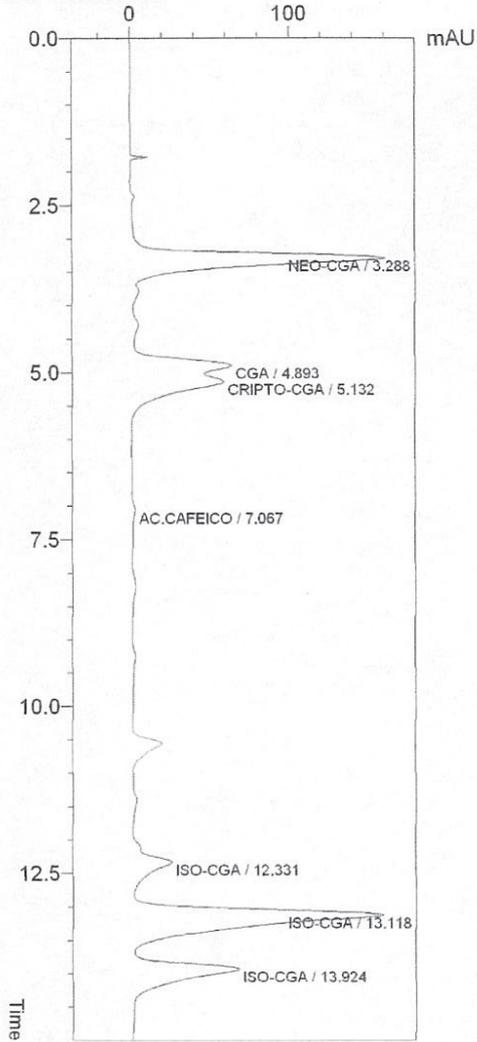
RUTINA
Retention Time : 10.547



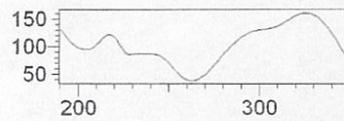
06/09/2011 17:02:46 1 / 2

File Name :YERBA MATE CON PALO

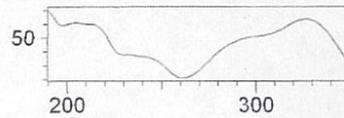
PDA Ch2 325nm 4nm



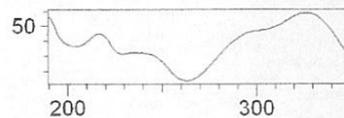
NEO-CGA
Retention Time : 3.288



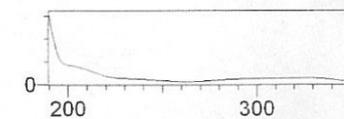
CGA
Retention Time : 4.893



CRIPTO-CGA
Retention Time : 5.132



AC.CAFEICO
Retention Time : 7.067



ISO-CGA
Retention Time : 12.331

