



Universidad Nacional del Nordeste



Facultad de Ciencias Agrarias

Doctorado de la Universidad Nacional del Nordeste en el Área de Recursos Naturales

**Tesis para optar al Título de Doctor de la UNNE, en el Área de Recursos
Naturales**

**“ESTUDIOS FÍSICOQUÍMICOS Y FARMACOBOTÁNICOS
EN ALGUNAS ESPECIES DE ASTERÁCEAS Y ROSÁCEAS
MEDICINALES NATIVAS”**

Doctorando: Ing. Agr. (M. Sc) Gloria Cristina MARTÍNEZ

Director: Dr. Eduardo J. MARCHEVSKY (UNSL)

Co-Directora: Dra. Silvia M. MAZZA (UNNE)

2016

A la memoria de mis padres Elisa y Fortunato.

*A mi pequeña pero gran familia Elisa, Federico
y Sofía por estar en todos y cada uno de los
momentos.*

AGRADECIMIENTOS

A Dios por el don de la vida y por permitir, sobre todo en esta etapa de la vida, que esté rodeada de personas de gran calidad humana.

Al Dr. Eduardo Marchevsky por haber aceptado dirigirme, por la confianza que depositó en mi persona, por su entusiasmo, generosidad, amistad y todo el apoyo brindado.

A la Dra. Silvia M. Mazza por acompañarme siempre, por su amistad y su constante apoyo.

A mi querida Facultad de Ciencias Agrarias por brindarme en todo momento la posibilidad de crecer, de desarrollarme y apoyar económicamente este estudio.

A la Universidad Nacional del Nordeste por el apoyo económico recibido a través de la Secretaría de Posgrado.

A los Dres Elisa Petenatti y Luis Del Vitto de la UNSL por haberme abierto las puertas de su Cátedra y laboratorios permitiéndome realizar todos los estudios de farmacobotánica, por los valiosos aportes que realizaron, por su generosidad y amistad.

A Mauricio Teves por toda la colaboración prestada durante la realización de los estudios farmacobotánicos y también por la hospitalidad y amistad que me brindó junto a su esposa Alicia y toda su familia.

A Marta Petenatti por toda la colaboración prestada.

A Roberto Gerardo Pellerano por su disponibilidad, generosidad y todo aporte brindado.

A todos mis compañeros del Dpto. de Física y Química-FCA; a Laura Giménez; a Víctor Rodríguez y a todos aquellos colegas y amigos que de una u otra manera me aportaron sugerencias y me brindaron su apoyo en todo momento.

A mis amigas, hermanas de la vida, por la contención y el apoyo brindado.

A todos GRACIAS!!!

INDICE GENERAL

Índice General.....	I
Índice de Figuras.....	V
Índice de Tablas.....	VII
Resumen.....	IX
Capítulo 1. Introducción	
1.1. Introducción.....	1
1.1.1. La Familia Asteraceae.....	4
1.1.2. La Familia Rosaceae.....	8
1.2. Composición mineral de las plantas.....	10
1.2.1. Consideraciones generales.....	10
1.2.1.1. La función de los nutrientes minerales.....	12
1.2.1.2. La planta como fuente de elementos minerales.....	13
1.2.1.3. Determinación de los elementos minerales en las plantas.....	16
1.3. Hipótesis.....	19
1.4. Objetivo General.....	19
1.4.1. Objetivos específicos.....	19
Capítulo 2. Materiales y Métodos	
2.1. Material vegetal.....	20
2.2. Métodos botánicos.....	21
2.2.1. A campo.....	21
2.2.2. En laboratorio.....	22
2.3. Métodos químicos-analíticos.....	26
2.3.1. Preparación de la muestra.....	26

2.3.2. Análisis químico elemental en material vegetal seco e infusiones por ICP OES.....	27
2.4. Métodos estadísticos.....	30
Capítulo 3. Resultados y Discusión.	
3.1. Aspectos farmacobotánicos.....	31
3.1.1. <i>Thelesperma megapotamicum</i> (Spreng) Kuntze.....	31
3.1.1.1. Status taxonómico actual.....	31
3.1.1.2. Sinonimia.....	31
3.1.1.3. Antecedentes.....	32
3.1.1.4. Nombres vernáculos.....	32
3.1.1.5. Habitat y distribución.....	33
3.1.1.6. Usos folclóricos.....	33
3.1.1.7. Morfología vegetativa y reproductiva.....	34
3.1.1.8. Morfoanatomía foliar.....	35
3.1.1.9. Morfoanatomía caular.....	35
3.1.1.10. Parámetros micrográficos.....	38
3.1.2. <i>Pluchea sagittalis</i> (Lam.) Cabrera.....	39
3.1.2.1. Status taxonómico actual.....	39
3.1.2.2. Sinonimia.....	39
3.1.2.3. Antecedentes.....	39
3.1.2.4. Nombres vernáculos.....	40
3.1.2.5. Habitat y distribución.....	41
3.1.2.6. Usos folclóricos.....	41
3.1.2.7. Morfología vegetativa y reproductiva.....	41
3.1.2.8. Morfoanatomía foliar.....	41

3.1.2.9. Morfoanatomía caular.....	43
3.1.2.10. Parámetros micrográficos.....	48
3.1.3. <i>Margyricarpus pinnatus</i> (Lam) O. Kuntze.....	49
3.1.3.1. Status taxonómico	49
3.1.3.2. Sinonimia.....	49
3.1.3.3. Antecedentes.....	49
3.1.3.4. Nombres vernáculos.....	50
3.1.3.5. Habitat y distribución.....	50
3.1.3.6. Usos folclóricos.....	51
3.1.3.7. Morfología vegetativa y reproductiva.....	51
3.1.3.8. Morfoanatomía foliar.....	52
3.1.3.9. Morfoanatomía caular.....	54
3.1.3.10. Parámetros micrográficos.....	54
3.1.4. Conclusiones.....	55
3.2. Composición químico elemental.....	56
3.2.1. Elementos minerales esenciales mayoritarios (macroelementos).....	58
3.2.2. Elementos minerales esenciales minoritarios (microelementos).....	63
3.2.3. Otros elementos minerales.....	70
3.2.4. Contribución de las infusiones al requerimiento de minerales por la ingesta dietaria diaria.....	76
3.2.5. Conclusiones.....	85
3.3. Análisis multivariado.....	87
3.3.1. Análisis exploratorio de datos.....	87
3.3.2. Histogramas.....	88
3.3.3. Análisis de datos de elementos en las muestras estudiadas.....	88

3.3.3.1.Elementos minerales en material vegetal.....	89
3.3.4. Infusiones.....	91
3.3.4.1.Elementos minerales en infusiones.....	91
3.3.4.2.Elementos minerales esenciales (oligoelementos) y otros elementos minoritarios en infusiones.....	93
3.3.5. Análisis de componentes principales.....	94
3.3.6. Análisis de agrupamiento.....	96
3.3.7. Análisis discriminante.....	97
3.3.8. Conclusiones.....	102
Capítulo 4. Conclusiones Finales	
4.1. Conclusiones.....	104
Bibliografía.....	108

INDICE DE FIGURAS

Capítulo 2

Fig. 2.1. Espectrofotómetro de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente.....	28
---	----

Capítulo 3.

Fig. 3.1. Planta de <i>Thelesperma megapotamicum</i>	31
Fig. 3.2. Capítulo de <i>Thelesperma megapotamicum</i>	34
Fig. 3.3. Fotomicrografías de <i>T. megapotamicum</i> (hoja).....	36
Fig. 3.4. Fotomicrografías de <i>T. megapotamicum</i> (tallo).....	37
Fig. 3.5. Inflorescencia de <i>Pluchea saggitalis</i>	39
Fig. 3.6. Fotomicrografías de <i>Pluchea saggitalis</i>	44
Fig. 3.7. Fotomicrografías de <i>Pluchea saggitalis</i>	44
Fig. 3.8. Fotomicrografías de transcorte por hoja de <i>Pluchea saggitalis</i>	46
Fig. 3.9. Fotomicrografías de transcorte por tallo de <i>Pluchea saggitalis</i>	47
Fig. 3.10. Planta de <i>M. pinnatus</i>	49
Fig. 3.11. Flores de <i>M. pinnatus</i>	51
Fig. 3.12. Transcorte por hoja de <i>Margyricarpus pinnatus</i>	53
Fig. 3.13. Transcorte por tallo de <i>Margyricarpus pinnatus</i>	54
Fig. 3.14. Elementos minerales en las muestras de material vegetal analizadas (mg kg ⁻¹).....	89
Fig. 3.15. Elementos minerales en muestras de material vegetal con escala ampliada (mg kg ⁻¹).....	90
Fig. 3.16. Oligoelementos y otros elementos minoritarios en material vegetal seca (mg kg ⁻¹).....	91

Fig. 3.17. Macroelementos en infusiones de las tres especies bajo estudio (mg L ⁻¹).....	92
Fig. 3.18. Oligoelementos y otros elementos minoritarios en infusiones de las tres especies bajo estudio (mg L ⁻¹).....	93
Fig. 3.19. Gráfico de loadings en el espacio definido por las dos primeras componentes principales.....	95
Fig. 3.20. Gráfico de scores proyectados en el espacio definido por las dos primeras componentes principales.....	95
Fig. 3.21. Dendograma de muestras agrupadas mediante el método de Ward en espacio Euclídeo.....	97
Fig. 3.22. Gráfico de distribución de las muestras en el espacio definido por las dos primeras funciones discriminantes obtenido por el método incluyendo todas las variables a la vez.	100
Fig. 3.23. Gráfico de distribución de las muestras en el espacio definido por las dos primeras funciones discriminantes obtenidas utilizando sólo cinco variables por el método de inclusión secuencial de variables.....	103

INDICE DE TABLAS

Capítulo 2

Tabla 2.1. Longitudes de onda y límites de cuantificación para cada elemento analizado	29
--	----

Capítulo 3.

Tabla 3.1. Parámetros micrográficos cuantitativos para <i>Thelesperma megapotamicum</i>	38
Tabla 3.2. Parámetros micrográficos cuantitativos para <i>Pluchea sagittalis</i>	48
Tabla 3.3. Parámetros micrográficos cuantitativos para <i>Margyricarpus pinnatus</i> ..	55
Tabla 3.4. Concentración de elementos minerales esenciales (macroelementos) en materia seca e infusión de <i>P. sagittalis</i> (“yerba lucera”).....	58
Tabla 3.5. Concentración de elementos minerales esenciales (macroelementos) en materia seca e infusión de <i>T. megapotamicum</i> (“té pampa”).....	58
Tabla 3.6. Concentración de elementos minerales esenciales (macroelementos) en materia seca e infusión de <i>M. pinnatus</i> (“perlilla”).....	59
Tabla 3.7. Concentración de elementos minerales esenciales (oligoelementos) en materia seca e infusión de <i>P. sagittalis</i> , (“yerba lucera”).....	63
Tabla 3.8. Concentración de elementos minerales esenciales (oligoelementos) en materia seca e infusión de <i>T. megapotamicum</i> (“té pampa”).....	64
Tabla 3.9. Concentración de elementos minerales esenciales (oligoelementos) en materia seca e infusión de <i>M. pinnatus</i> (perlilla).....	65
Tabla 3.10. Concentración de otros elementos minerales minoritarios en materia seca e infusión de <i>P. sagittalis</i> (“yerba lucera”).....	70

Tabla 3.11. Concentración de otros elementos minerales minoritarios en materia seca e infusión de <i>T. megapotamicum</i> (“té pampa”).....	71
Tabla 3.12. Concentración de otros elementos minerales minoritarios en materia seca e infusión de <i>M. pinnatus</i> (“perlilla”).....	72
Tabla 3.13. Contribución de la infusión de <i>P. sagittalis</i> a la ingesta diaria recomendada o máxima tolerada de minerales calculada en un tratamiento vía oral típico.....	76
Tabla 3.14. Contribución de la infusión de <i>T. megapotamicum</i> a la ingesta diaria recomendada o máxima tolerada de minerales calculada en base a un tratamiento vía oral típico.....	77
Tabla 3.15. Contribución de la infusión de <i>M. pinnatus</i> a la ingesta diaria recomendada de minerales calculada en base a un tratamiento vía oral típico.....	78
Tabla 3.16. Clasificación de los resultados.....	99
Tabla 3.17. Variables incluidas en el análisis secuencialmente.....	101

RESUMEN

El intercambio de hierbas y otros productos naturales, tanto para uso medicinal como alimentario y de otras industrias, ha experimentado en los últimos tiempos un enorme desarrollo tanto en volumen como en modernización y exigencias de calidad. Por este motivo, es necesario aplicar cada vez con mayor rigor la tecnología adecuada en la producción y manipulación de esos productos, respondiendo a modernos enfoques de buenas prácticas y aseguramiento de la calidad. Esto llevó a elevar las condiciones higiénicas y de calidad de las hierbas medicinales, para las que la Organización Mundial de la Salud ha impulsado la necesidad de establecer adecuados estándares de calidad, tanto como la aplicación de buenas prácticas de manufactura. Las mejoras en el mercado nacional surgirán del mejor conocimiento de las especies nativas, que constituyen el grueso de las que se ofrecen al consumidor en nuestro país.

La presencia y concentración de algunas sustancias inorgánicas, constituye uno de los factores de mayor importancia condicionantes de la calidad de las hierbas medicinales y de los productos derivados de ellas. A este respecto, se pueden identificar dos motivos principales: su utilidad para la caracterización de determinado material vegetal y el alto significado que su presencia o concentración puede tener en la identificación de una adulteración o alteración del material.

La escasez de información científica acerca de las numerosas hierbas medicinales de nuestro país con las que se elaboran o formulan medicinas, da sustento a la originalidad de este trabajo, dado que con él se tiende a satisfacer la necesidad de completar la información en cuanto al contenido de ciertos analitos y otras propiedades farmacobotánicas en muestras de plantas medicinales indígenas, para contribuir al establecimiento de estándares de calidad de las mismas.

Tanto las infusiones como las soluciones empleadas para nutrición o terapéutica, fueron identificadas como fuentes potenciales de elementos esenciales e incluso de elementos tóxicos. Pese a ello, la investigación de la relación entre la cantidad ingerida y la toxicidad de los elementos vestigios en las muestras aludidas es un importante tema que justifica la realización de estos estudios. En todo el mundo es reconocida la presencia de elementos vestigios en el manejo nutricional de la población, mientras que el conocimiento del contenido de los elementos inorgánicos en la infusión de plantas usuales tiene una importancia especial, a raíz de la frecuencia de su consumo. En efecto, el consumo de importantes cantidades de infusiones, a largo plazo puede ser la causa de la incorporación de significativas cantidades de distintos analitos, que se presentan tanto en forma natural o como contaminantes.

Fue objetivo de este trabajo contribuir al conocimiento físicoquímico y farmacobotánico de tres especies de plantas medicinales de los géneros *Thelesperma*, *Pluchea* (Familia Asteráceae) y *Margyricarpus* (Familia Rosaceae), empleadas con diversos fines terapéuticos en la medicina folklórica de la Argentina y de países limítrofes.

Para ello, se colectaron a campo, muestras de *Thelesperma megapotamicum* (Spreng.) Kuntzé y de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Cabrera, en la región serrana de la provincia de San Luis y de *Pluchea sagittalis* en la localidad de Santa Ana, Corrientes.

Las mismas fueron identificadas por la metodología taxonómica clásica, es decir mediante el uso de claves, descripciones e iconografía, documentando las mismas y depositando sendos ejemplares de herbario en el Herbario de la Universidad Nacional de San Luis (UNSL) y en el Herbario del Instituto de Botánica del Nordeste (CTES).

Para realizar los estudios macro y micromofológicos se sometieron a diversas técnicas histológicas las muestras frescas y preservadas en formalina aceto-alcohólica (FAA), obteniéndose preparaciones permanentes y semipermanentes.

Para el estudio de micrografía cuantitativa, se realizó diafanización con posterior medición de los siguientes parámetros: número de estomas en ambas epidermis; índice de estomas; índice de empalizada; número de islotes y número de terminales de nerviación.

El análisis químico de treinta y seis elementos minerales en las partes aéreas de las tres especies y sus infusiones se realizó por Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES). Para ello, las muestras fueron lavadas y desecadas en estufa a 65°C hasta peso constante y luego molidas en molinillo tipo Wiley de malla 0,50 mm.

Para preparar las soluciones problemas a partir del material vegetal seco, se tomó 1 g de muestra, que fue puesto en crisol de porcelana y acenizado en horno mufla a 550°C durante 7 h. Las cenizas fueron disueltas con ácido clorhídrico (HCl) 37% p.a, luego se agregó 5 mL de solución de Indio (In), concentración, 500 mg L⁻¹ como estándar interno, luego se llevó a un volumen de 100 mL con agua deionizada ultrapura (resistencia 18.2 MΩ cm⁻¹), en tanto que las infusiones fueron preparadas del siguiente modo: 5 g de muestra a la que se agregó 100 mL de agua deionizada ultrapura a 90° C y luego se dejó reposar por 10 minutos. Las infusiones obtenidas fueron filtradas y evaporadas a seco; los residuos calcinados en horno mufla a 480° C durante 4 h. Con las cenizas obtenidas se procedió del mismo modo que para el material seco.

Desde el punto de vista farmacobotánico, se han caracterizado las tres especies estudiadas *Thelesperma megapotamicum*, *Pluchea sagittalis* (Asteraceae) y *Margyricarpus pinnatus* (Rosaceae), estableciendo los caracteres diacríticos que

permiten realizar un control de calidad efectivo de estos vegetales y eventualmente detectar su presencia en productos industriales (extractos y sus diluciones).

Se describió por primera vez la micromorfología foliar y caulinar de *M. pinnatus*; se informó por primera vez los parámetros micrográficos de las tres especies. Las tres entidades pueden distinguirse entre sí tanto por el número de estomas e índice de estomas de epidermis superior e inferior, el índice de empalizada y el número de islotes y número de terminales de nerviación.

Se diferenció a *M. pinnatus* de *T. megapotamicum* y *P. sagittalis* en función de la epidermis en que se encuentran los estomas, la primera presentó hojas hipostomáticas mientras que las otras dos especies presentaron hojas anfiestomáticas.

Desde el punto de vista químico se determinó la concentración de treinta y seis elementos minerales en materia seca e infusiones de las tres especies estudiadas y en función de ellos se calculó el porcentaje de extractabilidad.

Se estableció la contribución de las infusiones a la ingesta diaria recomendada de los distintos elementos minerales.

En el material vegetal seco de las tres especies los elementos presentaron valores semejantes al hallado en la mayoría de las plantas alimenticias.

Se encontraron altas concentraciones de K, Ca, P y Mg. En el caso de los oligoelementos se hallaron concentraciones de Al, Fe, Na, Zn, Mn, Cu, Li, Cr, Ni, V, Mo, Se, y Co. Los elementos de mayor concentración fueron Al, Fe, Na y Zn y el de menor concentración fue el Co. El Se no fue detectado en *M. pinnatus*. Respecto de la concentración de otros elementos minoritarios, tanto para *P. sagittalis* como para *T. megapotamicum* se determinaron concentraciones de Ag, As, Ba, Cd, Ga, Hg, La, Nb, S, Sc, Sn, Sr, Ta, Ti, W, Y y Zn) mientras que en *M. pinnatus* solo se encontraron concentraciones de As, B, Ba, Sb, Si, Sr, Th, Ti.

Del análisis de las infusiones se desprende no siempre la cantidad de los elementos presentes en el material vegetal estará presente en las mismas. El orden de magnitudes de las concentraciones de K, Ca, P y Mg conserva similitud con el material vegetal seco, sin embargo, para los oligoelementos, solo se encontraron concentraciones Al, Cu, Fe, Mn, Na y Zn en las tres especies; también se hallaron concentraciones de Co y Mo en *P. sagittalis*; de Li en *T. megapotamicum* y de Cr en *M. pinnatus*. Para los demás elementos minoritarios solo se encontró concentraciones de Ba y Sr en las plantas pertenecientes a la familia Asteraceae y B, Si y Sr en *M. pinnatus*.

La mayoría de los elementos se clasificó dentro del grupo moderadamente extractable y pobremente extractable.

Los valores obtenidos para la infusiones de cada de una de las especies de hierbas medicinales y la ausencia de algunos metales pesados como Pb, Cd, As, entre otros, indican que los minerales contenidos en ellas y administrados en forma de infusión a dosis terapéuticas, en ninguno de los casos, superan los niveles máximos permitidos; salvo caso de aumento de la ingesta (frecuencia de consumo) o que el material vegetal pueda ser ingerido o incorporado a formas distintas del extracto acuoso estudiado podrían generar un riesgo al consumirlas, desde el punto de vista de la ingestión de un exceso de elementos minerales.

Este trabajo constituye un aporte original al conocimiento de la composición mineral de *P. sagittalis*, *T. megapotamicum* y *M. pinnatus*; del pasaje de los minerales a las infusiones obtenidas a partir de cada una de ellas y de la contribución de minerales a la ingesta dietaria diaria adecuada de una persona, y en su caso a la ingesta máxima tolerada, ya que esta información no había sido encontrado en la bibliografía hasta el presente.

La evaluación quimiométrica muestra que hay una relación entre las especies de hierbas y las infusiones desde la perspectiva de la concentración de los elementos minerales.

Al aplicar el PCA se pudo observar que la primer componente principal se correlaciona principalmente con las variaciones presentes en los microelementos Mo, Zn, Mn, Co y Ba; mientras que la segunda componente se correlaciona con elementos mayoritarios principalmente Ca y P, así como dos elementos minoritarios Ni y Cr.

El dendograma obtenido mediante el método de Ward en un espacio euclídeo simple, permite observar que sólo dos muestras correspondientes a *M. pinnatus* fueron confundidas y clasificadas dentro del grupo correspondiente a las de *P. sagittalis*.

Con el ALD se logró una buena resolución para separar las muestras correspondientes a los distintos grupos, el desempeño del método resultó ser muy pobre al ser sometido al método de validación cruzada (56,7% de muestras clasificadas correctamente). Para mejorar el desempeño de estos sistemas de clasificación de muestras, se repitió el ALD siguiendo el método de incorporación de variables paso a paso. Se pudo observar que por validación cruzada dejando uno afuera se alcanzaron valores de predicción del orden del 90%. Resulta importante señalar que para lograr este nivel de predicción solo se utilizaron cinco variables del total de contenidos de minerales disponible.

Los resultados demuestran claramente la potencialidad y la versatilidad de estas metodologías, que podría ser aplicado al contenido de metal de rutina de seguimiento en las formulaciones de fitofarmacéuticos.

CAPITULO 1.

1.1. INTRODUCCIÓN

El intercambio de hierbas y otros productos naturales, tanto para uso medicinal como alimentario y de otras industrias, ha experimentado en los últimos tiempos un enorme desarrollo tanto en volumen como en modernización y exigencias de calidad. Por este motivo, se genera la necesidad de observar cada vez con mayor frecuencia la aplicación de tecnología adecuada en la producción y manipulación de los mencionados productos, respondiendo a los modernos enfoques de aseguramiento de la calidad.

En mayor medida, estas consideraciones se han tenido en cuenta en los alimentos, que requieren un procesamiento o preparación complejos, ya sea que necesiten algún tratamiento térmico para su elaboración o que se deba mantener una adecuada cadena de frío para su conservación. Sin embargo desde hace algunos años esta tendencia se amplió, llevando a considerar también las condiciones higiénicas y de calidad adicionales de otros productos naturales, aunque requieran mínimos procesos de transformación desde su cosecha o recolección hasta su venta al consumidor final. Un ejemplo de ello es el caso de las hierbas medicinales.

En efecto, en este campo estudios realizados por la Organización Mundial de la Salud han establecido la imperiosa necesidad de determinar estándares de calidad para los componentes de origen vegetal, que provienen de un gran número de especies, presentando cada una de ellas una gran cantidad de fuentes de variación (Blumenthal, 2000; Robbers y Tyler, 1999; Zhang, 1998), tanto como la aplicación de buenas prácticas de manufactura. Ello ha impulsado la necesidad de establecer los mencionados estándares de calidad.

Las exigencias de la demanda final de estos productos, se hallan en continuo crecimiento: cada vez más los consumidores requieren que les sea garantizada la

seguridad, la inocuidad y la eficacia de los productos naturales, que brinden beneficios adicionales a la salud, y que por otra parte su producción no dañe el medio ambiente. Un ejemplo es el control que actualmente se ejerce sobre la presencia de residuos de ciertos plaguicidas y contaminantes en los productos naturales, especialmente en las hierbas medicinales.

Resulta de importancia también el conocimiento del origen de cada producto adquirido, tanto como del conjunto de procesos y controles en la producción de un medicamento, alimento o suplemento nutricional, o de los insumos necesarios para ello (semillas u otras formas de propagación, sustratos para el cultivo, agroquímicos, droga cruda o producto agrícola, etc.). Estas demandas son exigidas por los países importadores, especialmente los de la Unión Europea. Otras exigencias que también están imponiendo actualmente los compradores se relacionan con la genuinidad, la trazabilidad (es decir el conocimiento del recorrido del producto desde su origen hasta el destino final y la consideración de su calidad total) y la implementación de sistemas de aseguramiento de la calidad en los procesos y en los productos.

Esto determina que, para el exitoso ingreso a los principales mercados de sustancias medicinales de origen vegetal producidas en el país, resulta necesario un control cada vez más eficiente en la producción, la cosecha y en los procesos de manufactura, con el fin de alcanzar los más altos estándares impuestos en mercados de importancia (Blumenthal, 2000). Por otra parte, debe considerarse que cualquier mejora en el mercado nacional surgirá del mejor conocimiento de las especies nativas, que constituyen el grueso de las que se ofrecen al consumidor en nuestro país (Pettenatti *et al.*, 2001; 2003). Por otra parte, el SENASA por ejemplo, ha establecido planes de control destinados a facilitar o asegurar el ingreso de diversos productos de origen vegetal a distintos mercados.

Aunque se ejercen diversos controles desde el punto de vista oficial, en nuestro país subsisten situaciones anómalas, y por ello perjudiciales para la salud. Así, en la mayoría de las provincias no se ejerce un efectivo control sobre la recolección de plantas medicinales silvestres, con intentos de racionalizar la cosecha y comercialización, particularmente en referencia a las especies amenazadas o en peligro de extinción, o de las que no se conocen datos acerca de su tasa de reposición.

Esa situación determina consecuencias como cosecha a destiempo o irracionalmente realizada, disminución de la biodiversidad, adulteración o sustitución de la planta con especies afines o con materiales orgánico o inorgánico extraños y, sobre todo, una errónea identificación botánica del material cosechado. Por otra parte, y a nivel del procesamiento y manufactura, se registra frecuentemente el acopio en condiciones inadecuadas, se aplican métodos de desecación inapropiados, conservación deficiente, se produce infestación por insectos u otros animales, procesos fermentativos o de contaminación, se somete a molienda deficiente o incorrecta, generando falta de homogeneidad del producto final, y otros efectos indeseables (Pettenatti *et al.*, 2003).

La presencia y concentración de algunas sustancias inorgánicas, constituye uno de los factores de importancia que condicionan la calidad de las hierbas medicinales y de los productos derivados de ellas. A este respecto, se pueden identificar dos motivos principales: la utilidad de la composición mineral para la caracterización de determinado material vegetal, y a través de ellos la posibilidad de determinar la trazabilidad de su origen geográfico, y el alto significado que su presencia o concentración puede tener en la identificación de una sustitución, adulteración o alteración del material.

En tanto que las plantas medicinales de la flora nativa de nuestro país son relativamente poco conocidas desde el punto de vista científico, las del Hemisferio Norte en su mayoría son ya conocidas a este respecto. La escasez de información

científica acerca de las numerosas hierbas medicinales de nuestro país con las que se elaboran o formulan medicinas, da sustento a la originalidad de este trabajo, dado que con él se tiende a satisfacer la necesidad de completar la información en cuanto al contenido de ciertos analitos y otras características farmacobotánicas en muestras de plantas medicinales indígenas, para contribuir al establecimiento de estándares de calidad de las mismas.

Tanto las infusiones como las soluciones empleadas para nutrición o terapéutica, fueron identificadas como fuentes potenciales de elementos esenciales e incluso de elementos tóxicos. Pese a ello, la investigación de la relación entre la cantidad ingerida y la toxicidad de los elementos vestigios en las muestras aludidas es un importante aspecto que justifica la realización de estos estudios. En todo el mundo es reconocida la presencia de elementos vestigios en el manejo nutricional de la población (Goyer, 1986; Seiler *et al.*, 1994), mientras que el conocimiento del contenido de los elementos inorgánicos en la infusión de plantas usuales tiene una importancia especial, a raíz de la frecuencia de su consumo. En efecto, el consumo de importantes cantidades de infusiones, a largo plazo puede ser la causa de la incorporación de significativas cantidades de distintos analitos, que se presentan tanto en forma natural o como contaminantes.

1.1.1. LA FAMILIA ASTERACEAE

Las Asteráceas (Asteraceae), también denominadas Compuestas (Compositae), es la familia de Fanerógamas con mayor diversidad a nivel mundial, junto a las Orquidáceas (Liliópsida); representa entre el 8 y el 10% de la flora global, y abarca unos 22.750 taxones específicos e infraespecíficos, con cerca de 1.620 géneros, algunos de los cuales se cuentan entre los más numerosos de la flora mundial, como *Senecio* (c. 1.250

especies), *Hieracium* (c. 1.000) y *Helichrysum* (c. 600) (Jeffrey, 2007; Judd *et al.*, 2007; Stevens, 2008).

Su distribución es subcosmopolita, pues está representada en todos los continentes excepto la Antártida y el *hinterland* de la gran isla de Groenlandia; ocupa hábitats muy diversos, desde el nivel del mar hasta el límite de la vegetación en las altas montañas (Gentry, 1982; Stevens, 2008).

Las regiones tropicales junto con las subtropicales y templadas presentan la mayor diversidad de Asteráceas, aunque la familia está escasamente representada en las selvas a baja latitud. También abundan en biomas de montaña y en regiones áridas y semiáridas de Norteamérica, los Andes y el resto de Sudamérica, Sudáfrica, la cuenca del Mediterráneo, Asia central y el sudoeste de China. Además, se ha hallado una cierta correlación entre la frecuencia de representantes de algunas tribus de Asteráceas y los diversos continentes (Heywood, 1985).

Las Asteráceas muestran la mayor plasticidad adaptativa entre las familias de Magnoliópsida, y los estudios de morfología comparada indican que es la más evolucionada de ese grupo. Por su parte, la escasez de registros fósiles indicaría una relativa juventud filética, y con frecuencia sus taxones presentan, simultáneamente, algunos caracteres morfológicos considerados “primitivos” y otros “avanzados”, resultando muy difícil establecer interrelaciones basadas puramente en caracteres morfológicos. Recientes estudios moleculares han permitido elaborar un sistema filogenético tentativo para la familia (Funk *et al.*, 2005; Panero y Funk, 2002), que ha cambiado notoriamente la percepción taxonómica que de ella se ha tenido hasta ahora.

Numerosas Asteráceas tienen un papel destacado en la estructura y funcionamiento de los ecosistemas, alcanzando un valor ecológico y ambiental inapreciable (Del Vitto *et al.*, 2009 a; Heywood *et al.*, 1977a-b; Hind *et al.*, 1995; 1996).

Comparada con otras grandes familias de plantas (como Poáceas y Fabáceas) las Asteráceas tienen menor valor económico para el hombre; sin embargo comprenden una cierta cantidad de plantas útiles desde diversos puntos de vista. El uso etnobotánico de muchas de ellas ha ayudado al progreso y sustento de gran número de pueblos en todo el mundo satisfaciendo sus necesidades de alimento, forraje, leña, medicinas, entre otras (Arenas, 2003; Boelcke, 1992; Dawson, 1960; Del Vitto *et al.*, 2009 b; Mangelsdorf, 1961; Martínez Crovetto, 1964; 1965; 1968; 1981; Wagner, 1977; Wilkes, 1977; Zardini, 1984 a-b; entre otros).

Al igual que otras plantas cultivadas, algunas Asteráceas han sido sometidas desde la antigüedad al complejo proceso de domesticación luego del establecimiento de las prácticas agrícolas básicas en diversos puntos del planeta. Hoy constituyen cultivos de importancia de los que se requiere conocer el origen geográfico preciso y la distribución de ancestros y parientes silvestres, para emplearlos como fuente de mejoramiento genético (Dempewolf *et al.*, 2008; Hawkes, 1969; Ucko y Dimbleby, 1969; Wiersema y León, 1999; Zohary y Hopf, 2001).

Desde el punto de vista estrictamente económico, unas 40 especies de Asteráceas tienen importancia directa en alimentación humana, mientras que otras lo son indirectamente por los productos de ellas obtenidos por la industria. Se destacan hortalizas y especies con “semillas” oleíferas, incluyendo numerosas plantas silvestres con potencial nutricional; muchas otras tienen gran interés tecnológico u ornamental, y son centenares las que rinden metabolitos secundarios de uso farmacéutico o industrial (Dewick, 2002; Evans, 2002; Wagner, 1977), las que aportan su néctar y polen para la producción apícola (Ortega Sada, 1987) y forraje para la producción ganadera (Boelcke, 1964), en tanto que, otras muchas son plantas pioneras u oportunistas, y un gran número resultan nocivas porque constituyen malezas de cultivos y plantas tóxicas para el ganado

(Marzocca *et al.*, 1979; Ragonese y Milano, 1984).

En Argentina, la familia Asteráceas es la más numerosa entre las plantas superiores, con unas 1.500 especies y algo más de 200 géneros, representando casi el 16% del total de las plantas vasculares relevadas en el país, con un 26% de endemismos, un grado que puede ser considerado relativamente elevado (Katinas *et al.*; 2007; Zuloaga *et al.*, 1999). En algunos sectores andinos y en la Patagonia constituyen hasta el 20% de la flora (Cabrera, 1971, 1974). Su importancia en la región se ve remarcada tanto por la amplia distribución y abundancia de sus representantes, como por las hipótesis que consideran a la Patagonia como el probable lugar de origen de las Asteráceas (Stuessy *et al.*, 1996).

Numerosas contribuciones de autores locales han permitido conocer progresivamente la diversidad de la familia en el país (Ariza Espinar, 1994-2005; Cabrera, 1965, 1971, 1974, 1978; Hunziker, 1994 *et al.*; Zuloaga y Morrone, 1999; entre otros), y también de países limítrofes (Marticorena, 1990; Moreira Muñoz y Muñoz Schick, 2007, entre otros).

Los miembros de las Asteráceas presentan gran variación en caracteres vegetativos, pero el grupo se caracteriza por un conjunto de caracteres cualitativos diacríticos (Esau, 1987; Fahn, 1990; Metcalfe y Chalk, 1983), que se pueden resumir así: inflorescencia elemental típica en capítulo o cabezuela, pauci - multiflora (excepcionalmente uniflora); flores individuales con ovario ínfero, unilocular y uniovulado; anteras connatas por sus tecas (androceo sinantéreo) formando un tubo alrededor del estilo; estigmas modificados para funcionar como “cepillos” en un mecanismo especializado de presentación del polen; cáliz modificado en una estructura denominada papus o vilano; fruto seco (cipsela) que deriva de un ovario ínfero, bicarpelar, con participación receptacular; anillo de haces vasculares dispuestos

concéntricamente en los tallos herbáceos, cada uno acompañado por casquetes de fibras en la región pericíclica; estomas anomocíticos (o ranunculáceos); biosíntesis de lactonas sesquiterpénicas

La constancia de ciertos caracteres morfoanatómicos, químicos, moleculares y adaptativos en diferentes grupos, ha resultado de gran valor para diferenciar taxones de distinto rango dentro de la Familia (Bohm y Stuessy, 2001; Bremer, 1996; Carlquist, 1961; Funk *et al.*, 2005; Metcalfe y Chalk, 1983; Panero y Funk, 2002), aún tratándose de híbridos (Rollins, 1944). Interesan especialmente la presencia/ausencia de canales secretores, tejido laticífero, engrosamiento secundario en especies perennes y aún en la parte basal de algunas especies herbáceas (a veces en configuraciones inusuales o acompañados de bandas medulares y/o corticales), principios químicos “marcadores”, tipología de capítulos, verticilos de protección y sexuales, granos de polen, indumento, etc., contrastando también las secuencias de nucleótidos, los bióticos y tipos funcionales y las adaptaciones morfofisiológicas.

El nombre *Asteraceae* Bercht. y Presl. deriva del género tipo de la familia, es decir del género *Aster* L. (1753). Por otro lado, el nombre *Compositae* Giseke, más antiguo pero aún válido como nombre alternativo, hace referencia al tipo particular de inflorescencia compuesta que caracteriza a la familia y que sólo se halla en muy pocas familias de Angiospermas.

1.1.2. LA FAMILIA ROSACEAE

La familia de las Rosáceas (*Rosaceae*) presenta una amplia distribución primordialmente en las regiones templadas del hemisferio Norte. A esta familia pertenecen especies de gran importancia económica como los frutales de “carozo” (duraznos, ciruelos, etc.) y los de “pepita” (manzanos, perales, etc.). Presenta una gran

diversidad morfológica, por lo cual ha sido dividida en varias subfamilias (Heywod, 1985; Novara, 1993).

Pueden presentarse como hierbas anuales o perennes, trepadoras, arbustos o árboles, Sus hojas pueden ser simples o compuestas, con o sin estípulas, las que pueden estar adnatas al pecíolo. Presentan flores terminales, en racimos o cimas, generalmente perfectas, raro unisexuales, actinomorfas, 5- o 4-meras, hipóginas, períginas o epíginas. Perianto generalmente con 5 sépalos, en algunos casos unidos a la base y también a veces reducidos a unos dientes que coronan el receptáculo. Los pétalos se presentan de ordinario en igual número que el de sépalos, en algunas especies pueden faltar y en otras ser mayor (10). Estambres ordinariamente numerosos, con desarrollo centrípeto, libres entre sí o soldados en fascículos, anteras con dehiscencia longitudinal o mediante poros apicales. El gineceo presenta uno o varios carpelos libres o soldados entre sí y soldados o no con el receptáculo, estilos terminales, laterales o basales con frecuencia libres, a veces soldados en columnas; estigmas papilosos o no; rudimentos seminales de uno a numerosos por carpelos; anátropos, hemianátropos o campilótropo; placentación axial o marginal. Frutos secos o carnosos y semillas sin endosperma o escaso (Judd *et al*, 2007).

En base a la posición del ovario y a la diversidad del fruto se las divide en cuatro subfamilias: las de ovario ínfero, con fruto en melónide, han sido ubicadas en la subfamilia *Maloideae*; las de ovario súpero, con fruto en drupa, lo han sido en la subfamilia *Prunoideae*; con ovario medio y fruto indehiscente en aquenio, en la subfamilia *Rosoideae* y, por último, las de ovario súpero con fruto seco, dehiscente, en la subfamilia *Spiroideae* (Novara, 1993).

Es una familia subcosmopolita que abarca las regiones templadas y templado-frías del hemisferio septentrional. Se conocen 90 géneros y 2520 especies. En Argentina se

han registrado 21 géneros con 76 especies, de las cuales 11 son endémicas. (Deluchi, 2001; Marticorena, 2008; Takhtajan, 2009; Zardini, 1973, 1984, 1999).

1.2. COMPOSICIÓN MINERAL DE LAS PLANTAS

1.2.1. Consideraciones generales.

Los elementos minerales y sus compuestos cumplen un rol crucial en el desarrollo de los sistemas biológicos (Fraústo da Silva y Williams, 2001; Orvig y Abrams, 1999) y en el funcionamiento del ecosistema en general (Baccini, 1984), por lo cual el estudio y conocimiento de la composición mineral de los vegetales resulta imprescindible para explicar, desde el punto de vista de la producción vegetal, sus posibilidades de adaptación y cultivo, y desde el punto de vista terapéutico y/o nutricional, los numerosos hechos relacionados con sus propiedades medicinales y/o alimenticias.

La nutrición de las plantas requiere la absorción de las materias primas necesarias para los procesos bioquímicos esenciales, la distribución de esos materiales en el cuerpo del vegetal y su utilización progresiva en los diversos procesos metabólicos involucrados en el crecimiento y desarrollo. Además de carbono (C), hidrógeno (H) y oxígeno (O), las plantas absorben y acumulan numerosos minerales que son considerados esenciales para los procesos fisiológicos normales, especialmente los macronutrientes nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), azufre (S), magnesio (Mg) y silicio (Si), que participan en la síntesis de compuestos orgánicos.

Otros minerales, los llamados micronutrientes, son requeridos por los vegetales en pequeñas cantidades; entre éstos destacan cloro, como cloruro (Cl⁻), boro (B) y molibdeno (Mo) como micronutrientes aniónicos, y especialmente hierro (Fe), manganeso (Mn), sodio (Na), zinc (Zn), cobre (Cu) y níquel (Ni) como micronutrientes catiónicos (Blaya y García, 2003; Epstein y Bloom, 2005).

La pobreza o ausencia de alguno de estos nutrientes en el suelo generalmente se pone en evidencia por síntomas de deficiencia nutricional, un estado patológico que puede afectar seriamente la productividad de las plantas. En efecto, para cada elemento químico esencial se ha determinado la existencia de una concentración crítica (mínima) que determina un buen crecimiento; por otra parte, el exceso de algunos minerales en el suelo puede promover una intoxicación de las células vegetales, que también se manifiesta a través de síntomas y signos, viéndose afectada la productividad (Blaya y García, 2003; Epstein y Bloom, 2005; Malavolta, 2006; Ronen, 2007) y que, en casos severos, llega a comprometer la vida de las plantas.

Algunas especies vegetales pueden almacenar también otros minerales, que no son considerados esenciales para todas las plantas, como selenio (Se) y cobalto (Co), e incluso se ha hallado también acumulación de cadmio (Cd) y plata (Ag), pero el rol de éstos en el metabolismo vegetal aún es materia de discusión (Dushenkov *et al.*, 1995; Navarro Aviñó *et al.*, 2007).

La absorción y almacenamiento de minerales por las plantas depende sobre todo de diferentes factores, como los que se mencionan a continuación:

- las condiciones climáticas y edáficas
- la disponibilidad de nutrientes en estado asimilable
- la capacidad específica de absorción de la raíz (genéticamente condicionada, y que determina también su capacidad de adaptación)
- la edad de la planta
- y la parte de la planta que se considere, ya que generalmente cada órgano muestra una acumulación diferencial de minerales (Duke, 1985; Duke *et al.*, 1992; Epstein y Bloom, 2005; Fennema, 1996)

Finalmente, debe puntualizarse que los minerales pueden ser almacenados en la

planta como tales o, más frecuentemente, incorporados a sustancias orgánicas. Se considera que entre 90-95% del peso seco de las plantas corresponde a la suma de C, H y O, que son obtenidos del CO₂ atmosférico y del agua absorbida por las raíces, mientras que el resto (5-10%) conforma la fracción mineral de la planta, representada por sus cenizas, de composición muy diversa.

1.2.1.1. La función de los nutrientes minerales en las plantas

Los elementos minerales cumplen funciones esenciales en el metabolismo y el crecimiento de las plantas, específicamente desempeñadas por uno o pocos elementos, o como funciones no específicas pertinentes a muchos de ellos.

Entre las principales puede mencionarse:

- ❖ La regulación de los procesos osmóticos a nivel celular, y por ende del balance hídrico de la planta; ésta es una función no específica debida a numerosos minerales, cuyo ingreso al medio celular eleva el potencial osmótico, generando un gradiente a favor del cual también ingresa agua, que mantiene la turgencia y facilita el medio adecuado para las reacciones bioquímicas; la presión de turgencia es también responsable del crecimiento de la célula.

- ❖ La integración de moléculas de gran interés biológico y/o estructural, una función específica ejemplificada por el Mg y el Fe en el centro de los anillos porfirínicos de la clorofila y el citocromo, respectivamente; el P en la forma de fosfatos unidos a azúcares en el esqueleto del ADN y del ARN y en los fosfolípidos de las membranas celulares; el N como componente esencial de los aminoácidos, clorofilas y nucleótidos; el S presente en dos aminoácidos esenciales y en algunas proteínas; etc.

- ❖ El control de la integridad (y por ello de la permeabilidad) de las membranas celulares, ejercido por Ca

❖ La participación en procesos bioquímicos vitales, como fotosíntesis y respiración, con reacciones redox que implican transporte de electrones mediado especialmente por citocromos, en cuyas moléculas se encuentra el Fe; otros elementos de importancia en este aspecto son Cu y Mo

❖ La integración de sistemas enzimáticos que catalizan reacciones biológicas a nivel citoplasmático; algunos minerales forman parte esencial del grupo prostético de las enzimas, en tanto que otros son activadores o reguladores de ciertas enzimas, e incluso son los encargados de exponer u obstruir los sitios de reacción de algunas de ellas, como los casos de K, Ca, Mg, Mn y Zn

❖ La provisión del medio iónico necesario para que tengan lugar las reacciones biológicas (Blaya y García, 2003).

1.2.1.2. La planta como fuente de elementos minerales

Se ha demostrado que unos 25 elementos son esenciales en la nutrición humana, ya que son necesarios para el mantenimiento del balance hídrico del cuerpo, el transporte de electrones, los procesos catalíticos y la composición estructural de órganos, sobre todo tejidos dentarios y óseos (Bowman y Russell, 2003; Geldmacher-von Mallinckrodt y Meissner, 1994; Orvig y Abrams, 1999; Prasad, 2008). Todos ellos contribuyen al mantenimiento de la salud humana, cada uno en un óptimo grado de concentración, ya que el exceso o la deficiencia de algunos minerales (al igual que en las plantas y otros organismos) pueden inducir síntomas, signos o patologías características.

Cuando las plantas o los productos vegetales preparados a partir de ellas ingresan al cuerpo humano como alimentos, bebidas, medicinas, productos nutraceuticos o en cualquier otra forma, su contenido mineral puede resultar útil o peligroso (Prasad, 2008).

Algunas plantas tienen significativa importancia en el uso popular y oficial para

fines terapéuticos, y aún como materia prima destinada a las industrias farmacéutica o alimentaria, especialmente desde el punto de vista de su contenido mineral (Ajasa *et al.*, 2004; Lemberkovics *et al.*, 2002). El uso frecuente en medicina tradicional de muchas plantas o sus formulaciones lleva a la ingesta de una cantidad apreciable de minerales esenciales, que resultan particularmente útiles en el caso de niños y ancianos, ya que muchos de ellos aportan nuevas posibilidades terapéuticas (Gogoasa *et al.*, 2013; Mark *et al.*, 2000). Algunos elementos traza muestran tanto una acción curativa como preventiva, e incluso ciertos iones metálicos juegan un rol fundamental en la formación de polisacáridos inmunológicamente activos, como ha sido demostrado en extractos de *Achyrocline satureioides* (Puhlmann *et al.*, 1992).

También se ha comprobado que existe una estrecha interacción entre los minerales y algunos compuestos orgánicos presentes en las plantas, causando a menudo una baja biodisponibilidad de las formas extraíbles de algunos minerales (Konieczynski y Wesolowski, 2007).

En casi todas las plantas, así como en productos alimenticios en general, han sido halladas trazas de algunos metales pesados, especialmente Cd y Pb (Piscator, 1985; Sherlock *et al.*, 1983), los que de acuerdo a su concentración pueden tornar peligroso y hasta nocivo el uso de algunos productos naturales (Mark *et al.*, 2000; Rai *et al.*, 2001; Schumacher *et al.*, 1991; Somers, 1974; WHO, 1996). El contenido en metales pesados puede deberse a la abundancia en el suelo en que creció la planta, a una contaminación del agua, suelo o aire, o a un enriquecimiento durante la cosecha, el procesamiento o el almacenamiento. Es por ello que la Organización Mundial de la Salud ha puesto énfasis en la necesidad de establecer estándares y aplicar modernos métodos de detección, cada vez más sensibles, para asegurar la calidad, seguridad y eficacia de las plantas medicinales y otros productos terapéuticos y alimenticios (WHO, 1998).

Se han realizado algunos trabajos tendientes a conocer el contenido mineral en vegetales y otros productos naturales (Camargo *et al.*, 2007; Duke, 1985; Marchisio *et al.*, 2005a,b; Svetaz *et al.*, 2010). Así, los minerales, considerados como los constituyentes que conforman las cenizas obtenidas luego de la combustión completa de tejidos orgánicos, pueden ser clasificados como elementos mayoritarios, elementos traza y elementos ultra-traza, de acuerdo a la esencialidad y a su abundancia en el cuerpo humano (Muñoz *et al.*, 2009).

Los elementos mayoritarios son los siguientes: Na, K, Ca, Mg, Cl, P y S, y deben ser ingeridos en cantidades mayores a 50 mg día⁻¹, en tanto que, los elementos traza son Fe, I, F, Zn, Se, Cu, Mn, Cr, Mo, Co y Ni, y su ingesta diaria debe ser menor a 50 mg día⁻¹. Se ha demostrado su activa participación en procesos bioquímicos, por lo cual resultan esenciales en la nutrición humana.

Algunos de los elementos ultra-traza son As, B, Ba, Bi, Br, Cd, Cs, Ge, Hg, Li, Pb, Rb, Sb, Si, Sm, Sn, Sr, Tl, Ti y W, habiendo sido comprobada su esencialidad mediante la experimentación en animales, que han mostrado síntomas de deficiencia específicos en condiciones extremas de nutrición. En el caso que se halle una función bioquímica específica para un elemento determinado a nivel de un tejido u órganos definidos, ese elemento pasa a integrar los llamados traza (Izquierdo Alvarez *et al.*, 2013; Muñoz *et al.*, 2009; Prasad, 2008).

Los elementos mayoritarios y trazas cumplen una cantidad de funciones, entre ellas como electrolitos, constituyentes de enzimas, materiales estructurales de huesos y dientes, etc.

El contenido de minerales mayoritarios y trazas de la materia prima de alimentos y otros materiales orgánicos varían ampliamente en función de factores genéticos y ambientales (suelo, clima), tanto como de los procedimientos agrícolas, el estado de

madurez en que tuvo lugar la cosecha, etc. A ellos se agregan las modificaciones que tienen lugar durante el procesamiento de la materia prima, sobre todo cuando intervienen procesos térmicos de secado, lavado, separación de materiales por granulometría o gravimetría, etc. Así, se ha demostrado en algunos casos pérdidas considerables, que llegan según el elemento químico y el material vegetal, hasta el 90% del valor original.

Por otra parte, el aporte de minerales de un vegetal determinado depende no sólo de la cantidad ingerida, sino de su biodisponibilidad, una condición fundamental en relación con la composición del alimento. Factores como el potencial redox y el pH determinan a su vez el estado de oxidación, la solubilidad y en consecuencia la posibilidad de absorción de cada sustancia mineral. Otro factor a tener en cuenta es la formación de compuestos organometálicos, en los cuales sustancias como ácidos orgánicos, azúcares, polisacáridos, fitina, lignina, aminoácidos, péptidos o proteínas se unen a los minerales, favoreciendo o impidiendo su absorción.

Los minerales tienen especial importancia como elementos dietarios, cumpliendo un papel nutricional y fisiológico destacado, y por otra parte contribuyen al sabor de los alimentos y sustancias orgánicas en general, activan o inhiben reacciones químicas catalizadas o no por enzimas, y afectan la textura de las sustancias orgánicas, particularmente de los alimentos (Prasad, 2008).

1.2.1.3. Determinación de los elementos minerales en las plantas.

Debido a la importancia de los elementos minerales presentes en las plantas, se vienen realizando, desde hace un siglo diversos estudios para determinar su concentración en los distintos órganos de las plantas. La técnica utilizada con esta finalidad es conocida como “análisis foliar”, el mismo puede ser enfocado, por un lado,

desde el punto de vista del balance nutricional de la planta y por otro, como práctica preventiva de control de calidad e índice de contaminación. Los análisis químicos se realizan mediante la aplicación de métodos instrumentales sensibles y confiables (Alvarado *et al.*, 2005) .

Se han realizado numerosos trabajos para determinar el contenido de macro y micro nutrientes de las plantas medicinales, aromáticas y medicinales de muchos países de todo el mundo, utilizando distintas técnicas analíticas instrumentales entre las que se puede citar a la Espectrometría de Absorción Atómica de llama (AAS), Espectrometría de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica (ETAAS), Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES), Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente- Espectrometría de Masa (ICP-MS), Análisis por activación neutrónica (NAA), Fluorescencia de Rayos X (FRX) (Abugassa *et al.*, 2008; Basel y Erdemoglu, 2006; Chizzola *et al.*, 2003; Kalny *et al.*, 2007; Karadjova *et al.*, 1998; Lara *et al.*, 2000; Malik *et al.*, 2008; Murillo *et al.*, 1999; Nookabkaew *et al.*, 2006; Prohaska *et al.*, 2000; Subramanian *et al.*, 2012; Sun *et al.*, 2004; Zeiner *et al.* 2005).

Para este trabajo, se empleó el ICP-OES, técnica multielemental que permite el análisis simultáneo de la mayoría de los elementos la tabla periódica en niveles de trazas y ultratrazas y está a la vanguardia como herramienta analítica para la determinación de elementos minerales en tejidos foliares. Presenta un rango dinámico lineal de tres a seis órdenes de magnitud, permitiendo la determinación de un amplio rango de concentraciones sin dilución o preconcentración.

Esta espectroscopía se fundamenta en el principio de que los átomos o iones en estado excitado, emiten radiación de una longitud de onda característica cuando los electrones retornan a los orbitales de más baja energía. Para ello, la muestra, en forma

líquida, es nebulizada en un plasma generado al someter un flujo de gas Ar a la acción de un campo magnético oscilante inducido por una corriente de alta frecuencia, donde los átomos presentes en la muestra son ionizados/excitados ya que en el interior del plasma se pueden llegar a alcanzar temperaturas de hasta 10000 K; se produce la emisión de la radiación que pasa a través de un monocromador y luego al detector mide la intensidad de cada una de las radiaciones relacionando ésta con la concentración de cada elemento en la muestra (Harris, 2001; Rubinson y Rubinson, 2000)

Es importante señalar que este método permitió la determinación de elementos minoritarios, hasta ahora poco estudiados en hierbas medicinales provenientes de nuestro país.

1.3. HIPÓTESIS

Las tres especies en estudio, *Thelesperma megapotamicum*, *Pluchea sagittalis* (Asteraceae) y *Margyricarpus pinnatus* (Rosaceae), pueden ser caracterizadas desde los puntos de vista físicoquímico y farmacobotánico, de forma tal de establecer caracteres diferenciales y eventualmente detectar su presencia en productos derivados (extractos y sus diluciones).

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GENERAL

Contribuir al conocimiento físicoquímico y farmacobotánico de tres especies de plantas medicinales, *Thelesperma megapotamicum*, *Pluchea sagittalis* (Familia Asteraceae) y *Margyricarpus pinatus* (Familia Rosaceae), empleadas con diversos fines terapéuticos en la medicina folklórica de la Argentina y de países limítrofes.

1.4.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ◆ Caracterizar las tres especies en estudio desde el punto de vista farmacobotánico estableciendo los caracteres diacríticos que permitan realizar un control efectivo de las mismas y de los productos obtenidos a partir de ellas.
- ◆ Determinar la composición químico-elemental de la materia seca e infusiones de las tres especies en estudio y comparar los valores obtenidos con los parámetros establecidos por distintos organismos nacionales e internacionales.
- ◆ Aplicar técnicas de análisis multivariado a los contenidos multielementales del material vegetal e infusiones para explorar la posible presencia de patrones o relaciones algorítmicas entre los valores de concentraciones.

CAPITULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MATERIAL VEGETAL

Los materiales utilizados en el presente estudio, fueron especímenes genuinos provenientes de poblaciones naturales de las especies en estudio. Los mismos se obtuvieron a campo. Las muestras provenientes de poblaciones de cada especie fueron identificadas por la metodología taxonómica clásica, es decir mediante el uso de claves, descripciones e iconografía, documentando las mismas y depositando sendos ejemplares de herbario (voucher) en el en el Herbario de la Universidad Nacional de San Luis (UNSL) y Herbario del Instituto de Botánica del Nordeste (CTES), que se encuentra en la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste.

1. *Thelesperma megapotamicum* (Spreng.) Kuntze

Prov. San Luis. Dpto. San Martín, Dique La Huertita. L.A. Del Vitto & E. M. Petenatti. UNSL N° 6685.

2. *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera

Prov. Corrientes. Dpto. San Cosme, Santa Ana. Ruta 5. G. Martínez *et al.*, s/n. CTES N° 0051977.

3. *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze

Prov. San Luis. Dpto. San Martín, Dique La Huertita. L.A. Del Vitto & E. M. Petenatti. UNSL N°6664.

2.2. MÉTODOS BOTÁNICOS

2.2.1. A CAMPO

Consistieron en el establecimiento de un plan de exploración botánica, con diseño de itinerarios, tiempos, costos, medios, etc. logrando la ubicación de las poblaciones vegetales y la selección del material.

Las muestras de *Thelesperma megapotamicum* y de *Margyricarpus pinnatus* fueron recolectadas en las regiones serranas del Dpto. San Martín, provincia de San Luis, en tanto que, las de *Pluchea sagittalis* se recolectaron en la localidad de Santa Ana, Dpto San Cosme, provincia de Corrientes.

Las colecciones tuvieron lugar siguiendo los métodos clásicos, de acuerdo a las características de los taxones, esto implicó la elección y acondicionamiento de las muestras de herbario, -suficientes en número para documentar el taxón y estudiarlo adecuadamente y para eventuales intercambios realizados por las instituciones botánicas donde quedaron depositados (UNSL y CTES)-; el prensado y presecado de las mismas a campo y la selección de muestras para conservar en líquido. Estas muestras recibieron una numeración correlativa, provisoria, y en la etiqueta se anotó además, con la mayor precisión posible, el lugar en que fueron colectadas, su hipsometría, exposición, la biocenosis presente en el lugar, el tipo de suelo y otras características medioambientales, el estado fenológico de la planta, su corología, etnobotánica (Cotton, 1996), nombre/s común/es aplicados en el lugar, etc. y una identificación taxonómica de campo (provisoria).

Simultáneamente, se coleccionaron diversos tipos de muestras de acuerdo al análisis que se llevó cabo. Así, los materiales destinados a la clasificación fueron secados entre papeles, los destinados a análisis macro- y micromorfológicos y para

técnicas de micrografía cuantitativa fueron fijados y conservados en líquido, mientras que los destinados a análisis farmacognósticos, farmacológicos fueron secados en estufa a 55°C. La colección tuvo lugar siguiendo los métodos clásicos de la Botánica, es decir mediante la elección y acondicionamiento de muestras de herbario Posteriormente el material herborizado fue clasificado, utilizando claves, descripciones e iconografía.

2.2.2. EN LABORATORIO

Para los estudios macro y micromorfológicos se obtuvo material fresco, el que fue fijado adecuadamente para ulteriores usos. La fijación se llevó a cabo primordialmente con formalina aceto-alcohólica (FAA) o para casos especiales con una mezcla 3:1 de etanol 95% y ácido acético glacial (Johansen, 1940), y conservado posteriormente en líquido.

Las muestras fueron preparadas según su naturaleza y la finalidad del estudio, siguiendo diversas microtécnicas establecidas oportunamente, combinándolas o bien poniéndolas a punto en el laboratorio, con los procedimientos y modificaciones que la práctica aconsejó. En algunos casos, el material fue sometido a deshidratación, con una serie de etanol-xilol, corte a mano alzada o con micrótopo, coloración por diversas técnicas (según la naturaleza del material y las estructuras que se pretendió contrastar: coloraciones simple, doble, triple e incluso cuádruple) y montaje transitorio (en agua o agua-glicerina), semipermanente (en gelatina-glicerina) o definitivo (en DPX), de acuerdo al tipo de observación que se realizó y la necesidad de documentar la misma. Todos los preparados obtenidos son conservados en la Microteca del Herbario UNSL.

Los preparados semipermanentes de todas las especies analizadas fueron obtenidos por corte a mano alzada con bisturí histológico; posterior decoloración con

hipoclorito de sodio, lavados sucesivos y por último coloración doble con verde iodo-carmín alumbre y montaje en gelatina glicerizada,

Los preparados permanentes se llevaron a cabo sometiendo a las muestras a deshidratación en una serie creciente de etanol, haciendo pasajes sucesivos por alcohol 50°, 70°, 80°, 90°, 96° y 100°. Los tiempos requeridos para cada dilución dependió del órgano vegetal utilizado. Así, para ápices de tallos y flores se dejó 2 h entre cada cambio de solvente, mientras que para tallos herbáceos y hojas el tiempo de recambio fue cada 24 h. La obtención de los alcoholes fue realizada según la tabla de dilución propuesta en D'Ambrogio (1986). Posteriormente, para su inclusión en parafina, fue realizada una infiltración con mezclas de alcohol 100° y xilol en proporciones 3:1, 1:1 y 1:3 y dos tratamientos en xilol puro. La inclusión en parafina fue realizada posteriormente mediante tratamiento con xilol: parafina en estufa a 60°. Para este tratamiento se utilizó parafina *Paraplast* con punto de fusión 55-60°.

Con posterioridad y con el objeto de someter al órgano a corte, se montó el material tratado en un cubo de parafina sobre taco de madera. Los cortes transversales fueron realizados con micrótopo de deslizamiento Leitz, recolectando los cortes seriados sobre portaobjetos previamente humedecidos con albúmina de Mayer, la que actúa como adhesivo, evitando que los mismos se despeguen en el tratamiento posterior de desparafinado. Por último, los materiales en portaobjetos fueron secados durante 24 h en estufa y posteriormente colocados en cajas de Coplin para su desparafinado con xilol, alcohol 100° y 96° dejando actuar los solventes por espacio de 2-3 minutos. La coloración se llevó a cabo en la misma caja de Coplin, primero con safranina en solución alcohólica saturada por espacio de 24 h, lavado con alcohol de 96° para eliminar exceso de colorante y posteriormente tinción con verde rápido (*Fast Green*) por 30 segundos, con un lavado final. Por último, se agregó xilol puro y se montó en

DPX. Los preparados así obtenidos fueron secados luego en estufa por espacio de 24 a 72 h y observados en microscopio de luz transmitida con objetivos de 5 x, 10 x, 20 x y 40 x e inmersión para observación en 100 x.

Para efectuar los recuentos de micrografía cuantitativa (Evans, 2002), el material fue diafanizado por la metodología propuesta por Dizeo de Strittmater (1973) utilizando tratamientos sucesivos con alcohol de 96°, llevando a ebullición durante 10 minutos con el objeto de provocar el vaciado celular; posteriormente se realizó un tratamiento con hidróxido de sodio al 5% y luego fue sometido a ebullición por 5 minutos; se lavó 2 veces con agua destilada para eliminar las soluciones de tratamiento. Las muestras fueron luego sometidas a decoloración con hipoclorito de sodio hasta transparencia y por último con hidrato de cloral para quitar opacidad. Con el objeto de una mejor observación al microscopio, las muestras fueron coloreadas con safranina al 1%, montadas y observadas con objetivos de 10x, 20x y 40x. Para ello se midieron los siguientes parámetros:

Número de estomas (*NE*, Timmerman 1927). Es el número promedio de estomas por milímetro cuadrado de epidermis. Se aplicó tanto en la epidermis superior como en la inferior.

Índice de estomas (*IE*, Salisbury 1927, Evans 2002, Farmacopea Argentina 2003). Es el número de estomas que corresponde a cada 100 células epidérmicas, considerando un área fija. Se obtuvo realizando el cociente entre el número de estomas por unidad de superficie (*NE*) y la sumatoria del número las células epidérmicas no estomáticas (*CEp*) y el número de estomas (*NE*), y multiplicando ese resultado por 100 ($IE = NE / (NE + CEp) \times 100$).

Índice de empalizada (*Iemp*, Zörnig & Weiss 1925, Evans 2002). Indica el número promedio de células de parénquima clorofiliano en empalizada que aparecen debajo de

una célula epidérmica. Se obtuvo contando el número de células clorenquimáticas correspondientes a cuatro células epidérmicas vecinas, y ese número fue dividido por cuatro.

Número de islotes venosos (*NI*, Levin 1929, Evans 2002). Se contabilizó el número de islotes venosos, es decir las superficies de tejido fotosintetizador rodeadas totalmente por venillas de los haces fibrovasculares. Se obtuvo registrando el número de islotes en un rectángulo de 1x4 mm (= 4 mm²), y se dividió el resultado por cuatro. Fueron contabilizados los islotes totalmente incluidos en el cuadro, más los cortados por los lados inferior y derecho del rectángulo, excluyendo los cortados por los lados superior e izquierdo.

Número de terminales de nerviación (*NTN*, Hall & Melville 1951, Evans 2002). Es el número de hacecillos vasculares por cada mm² de superficie foliar que terminan sin anastomosarse a otros, quedando estos “terminales de nerviación” libres, dirigidos generalmente hacia el centro de un islote venoso. Para obtenerlo se contabilizaron los terminales libres que se presentaron en 4 mm² adyacentes hacia el centro de la hemilámina, dividiéndose luego la cifra obtenida por 4. Se consideraron los terminales libres de los islotes íntegramente incluidos en el cuadro, más los cortados por los lados inferior y derecho del rectángulo, excluyendo aquellos cortados por los lados superior e izquierdo.

En todos los casos se calcularon las medias aritméticas con su correspondiente desvío estándar sobre doce determinaciones. El *NE* fue medido con objetivo de 40x, mientras que para los otros parámetros se empleó uno de 20x. La aplicación de estas técnicas ha permitido el establecimiento de algunos caracteres diacríticos diferenciales de destacada importancia en el control de calidad de las drogas, primordialmente cuando éstas se hallan molturadas finamente o reducidas a polvo.

Para la observación y análisis epidérmicos se realizó la técnica de "peeling" (D'Ambrogio 1986, Johansen 1940) cuando el material a analizar permitió la extracción de la epidermis foliar con pinza histológica. En los casos en que la técnica de *peeling* no pudo ser aplicada por la consistencia del material, se obtuvieron improntas de la superficie de órganos planos, utilizando en ese caso gelatina glicerinada o laca incolora para uñas, dejando secar y extrayendo la capa seca con pinza histológica. En ambos casos para una mejor observación microscópica del material se coloreó la epidermis o su impronta con safranina al 1%.

Los estudios macro- y micromorfológicos fueron ilustrados mediante la obtención de fotomicrografías con estereomicroscopio Wild M-10 y microscopio óptico Leitz-DMRB.

2.3. MÉTODOS QUIMICO-ANALÍTICOS

2.3.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.

Las muestras de las partes aéreas (hojas y tallos) fueron extraídas de las plantas de *T. megapotamicum* y *M. pinnatus* colectadas oportunamente en la zona serrana de San Luis y las de *P. saggitalis*, colectadas en zonas aledañas a Santa Ana, Corrientes. Se recolectaron quince muestras de cada una de ellas, las que fueron colocadas en bolsas de polietileno y conservadas refrigeradas hasta llegar al laboratorio, donde fueron lavadas y desecadas en estufa a 65°C hasta peso constante y luego molidas en molinillo tipo Wiley de malla 0,50 mm.

Se tomó 1 g de cada muestra, que fue puesta en crisol de porcelana y acenizado en horno mufla a 550°C durante 7 h. Las cenizas fueron disueltas con ácido clorhídrico (HCl) 37% p.a, luego se agregó 5 mL de solución de Indio (In), concentración, 500 mg

L⁻¹ como estándar interno, luego se llevó a un volumen de 100 mL con agua deionizada ultrapura (resistencia 18.2 MΩ cm⁻¹) (Campbell y Planck, 1998).

Las infusiones para cada una de las muestras, fueron preparadas del siguiente modo: 5 g de muestra a la que se agregó 100 mL de agua deionizada ultrapura a 90° C y luego se dejó reposar por 10 minutos. Las infusiones obtenidas fueron filtradas y evaporadas a seco; los residuos calcinados en horno mufla a 480° C durante 4 h. Con las cenizas obtenidas se procedió del mismo modo que para el material seco (Farmacopea Argentina, 1978, 2003, con modificación).

2.3.2. ANÁLISIS QUÍMICO-ELEMENTAL EN MATERIAL VEGETAL SECO E INFUSIONES POR ICP-OES

Obtenidas las soluciones problemas se realizó la determinación de 36 elementos químicos, utilizando un instrumento ICP – OES Varian modelo Vista-PRO™, SL.ICP.04, Serie EL05083717, de tipo radial, con un monocromador Czerny-Turner, red de difracción holográfica y un detector en formato CCD (Charge Coupled Devices) que opera entre 167 y 785nm, provisto de un software versión v3.1b 394 y un firmware versión 2.15, con calibración de la longitud de onda periódica y automática (Fig. 2.1).



Fig. 2.1 Espectrómetro de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente, marca Varian Vista-Pro modelo SL.ICP.04.

Se realizaron las curvas de calibración para cada uno de los elementos con disoluciones preparadas a partir disoluciones patrón certificadas para análisis de emisión atómica. Todos los reactivos usados fueron de grado analítico.

Los valores obtenidos se informan en mg kg^{-1} de materia seca para el material vegetal y mg L^{-1} ppm de sus respectivas infusiones.

Sobre esos valores se aplicó la metodología estadística para calcular desviación standard (DS).

La longitud de onda de trabajo expresada en nanómetros (nm) y el límite de cuantificación para cada elemento varió de acuerdo a los valores que se indican en la Tabla 2.1

Tabla 2.1. Longitudes de onda y límites de cuantificación para cada elemento analizado

Elemento	Ag	Al	As	B	Ba	Ca	Cd	Co
Longitud de onda (nm)	328,068	308,215	193,696	249,773	493,408	317,933	226,502	228,615
Límite de Cuantificación	0,021	0,06	0,105	0,009	0,003	0,021	0,003	0,006

Elemento	Cr	Cu	Fe	Hg	K	Li	Mg	Mn
Longitud de onda (nm)	267,716	324,754	259,940	194,164	766,491	670,783	279,800	257,610
Límite de Cuantificación	0,012	0,009	0,012	0,03	0,45	0,006	0,06	0,003

Elemento	Mo	Na	Ni	P	Pb	Sb	Se	Si
Longitud de onda (nm)	202,032	588,995	231,604	213,618	220,353	206,834	196,026	251,611
Límite de Cuantificación	0,015	0,06	0,03	0,15	0,084	0,063	0,15	0,06

Elemento	Sn	Sr	Th	Ti	Tl	U	V	Zn
Longitud de onda (nm)	189,927	421,552	401,913	334,947	377,572	409,013	292,401	213,857
Límite de Cuantificación	0,051	0,001	0,09	0,006	0,081	0,45	0,009	0,006

Se determinó la eficiencia de extracción o liberación de cada elemento (% extractabilidad), calculado como el cociente entre la masa de elemento contenida en la infusión y la masa total de elemento en los 5 g de material vegetal seco utilizado en la preparación de la misma por 100.

Se calculó también la contribución de la infusión a la ingesta diaria recomendada de minerales vía oral relacionando las concentraciones de los elementos presentes en las infusiones con los parámetros establecidos por organizaciones internacionales y autoridades nacionales para los distintos minerales.

2.4. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Los datos obtenidos fueron analizados mediante la aplicación de técnicas de análisis multivariante (Adams, 1995; Brereton, 1992, 2007, 2009; Escandar *et al.*; 2006; Goicochea *et al.*; 2010). Estas técnicas se aplican en general en matrices que contienen numerosos datos (resultados) y abarcan diferentes aspectos tales como la exploración, manejo, interpretación y predicción, permitiendo de esta manera extraer la máxima calidad de información química de ellos. En general se las puede dividir en dos grandes grupos, teniendo en cuenta la metodología de trabajo, técnicas no supervisadas y técnicas con aprendizaje supervisado. En las primeras los datos son tratados en forma independiente, en general este tipo de técnicas permite realizar análisis de tipo exploratorio y dan información sobre la estructura oculta en la que se encuentran dispuestos los datos. Puede incluirse en este tipo al análisis de componentes principales (PCA) por ejemplo (Massart *et al.*, 1997; Esbensen y Geladi, 2009). En el segundo tipo de técnicas, existe una primer etapa donde se agrupan las muestras en un número de grupos conocido según un determinado criterio a elección del operador; ésta es la etapa denominada de adiestramiento, luego se aplican diferentes métodos de regresión que permitan detectar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos propuestos. El modelo matemático así creado se utilizó luego para predecir la correspondencia de nuevas muestras problema a un determinado grupo o clase. Corresponde a este tipo de técnicas el denominado análisis estadístico discriminante (SDA) que fuera presentado ya por Fischer en 1936, por ejemplo. Este tipo de técnica permite encontrar criterios para diferenciar poblaciones en subgrupos y también para clasificar muestras problema. Estas técnicas en general son muy sensibles a los errores que se pudieran cometer durante la etapa de adiestramiento, por lo que requieren que los datos que se suministran al programa sean muy confiables.

CAPITULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1. ASPECTOS FARMACOBOTÁNICOS.

3.1.1. *Thelesperma megapotamicum* (Spreng.) Kuntze

3.1.1.1 STATUS TAXONÓMICO ACTUAL

Thelesperma megapotamicum (Spreng.) Kuntze, *Revis. Gen. Plant.* **3** (2): 182, 1898.

3.1.1.2. SINONIMIA

- *Bidens megapotamica* Spreng.,

Syst. Veg. 3: 454, 1826

- *Bidens gracilis* Torr. *Ann. Lyceum Nat.*

New York 2: 215, 1828

- *Thelesperma scabiosoides* Less.,

Linnaea 6: 512, 1831

- *Bidens paradoxa* Don ex Hook. y Arn.

En Hooker, *J. Bot.* 3: 319, 1841

- *Thelesperma gracile* (Torr.) A. Gray,

Hooker's J. Bot. Kew Gard. Misc. 1: 252,

1849

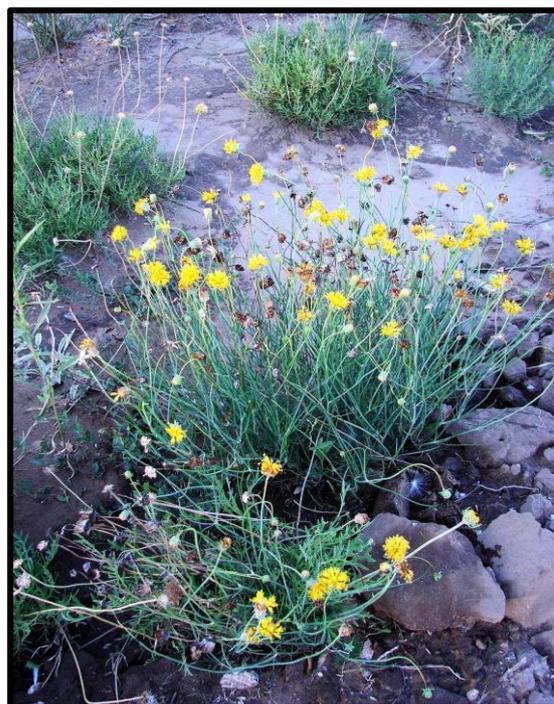


Figura 3.1.Planta de *T. megapotamicum*

- *Bidens leyboldii* Phil., *Anales Univ. Chile* 27: 338, 1865

- *Isostigma megapotamicum* (Spreng.) Sherff, *Bot. Gaz.* 81: 252, 1926

- *Thelesperma megapotamicum* (Spreng.) Herter (*comb. superfl.*) *Revista*

Sudamer. Bot. 7: 235, 1943.

3.1.1.3. ANTECEDENTES

Thelesperma Less. es un género que comprende cerca de 30 especies descritas y sólo 13 aceptadas. Actualmente su ubicación taxonómica corresponde a la Clase Magnoliopsida, Subclase Asteridae, Orden Asterales, Familia Asteraceae, Subfamilia Asteroideae, Tribu Coreopsidae.

La Tribu Coreopsidae (Kimball y Crawford, 2004; Panero y Funk, 2002) de la familia Asteraceae incluye algunas importantes plantas ornamentales de cultivo, tales como *Cosmos*, *Coreopsis*, y *Dahlia*.

Las Coreopsidae incluyen un gran número de géneros entre los que destacan *Bidens*, *Coreocarpus*, *Coreopsis*, *Cosmos*, *Dahlia*, y *Thelesperma*,

Varios hechos discutidos por Robinson (1981) y Ryding y Bremer (1992) han sido usados para circunscribir esta Tribu e incluyen, por ejemplo, los frutos (cipselas) derivados a las flores del disco, radialmente comprimidos, las brácteas involucrales externas diferenciadas (hojas reducidas en las inflorescencias), y la presencia de resinas rojizas en los frutos. Los miembros de esta Tribu también presentan compuestos antoclorados, que se hallan como pigmentos amarillos en los tejidos florales (Bohm y Stuessy, 2001; Crawford y Stuessy, 1981).

3.1.1.4. NOMBRES VERNÁCULOS

"Té del indio"; "Té pampa", "manzanilla silvestre", "té del campo", "Apache tea", o "Navajo tea"; es utilizado en medicina folklórica, tanto en Argentina como en EE.UU.

Por su valor folklórico, es interesante señalar la opinión de don Tomás Domínguez: "... no sé si el nombre le viene por encontrarse dentro de La Pampa en cualquier parte o porque era un yuyo que tomaban los indios pampas. De todos modos me voy a referir a este arbusto tan conocido, cuyas propiedades medicinales son utilizadas con toda confianza por el hombre de campo. Té pampa,

también se conoce por manzanilla silvestre, o té del campo. El nombre de té que se le da le viene del color que deja en el agua que es igual al té común. Generalmente se ingiere luego de comer carne con mucha grasa o cuando el estómago se siente pesado, es decir en todos los casos como digestivo. Yo aconsejo por experiencia, tomar el agua de las ramitas con hojas... como digestivo. Como purgante, la raíz masticada o hervida en un poquito de agua, en ayunas bien calentita y amarga ya que todos los yuyos silvestres resultan más efectivos tomándolos sin azúcar. Es de agradable sabor, por esa razón a veces la echan en la pava y tanto para el mate amargo o el dulce resultan deliciosos. Además se lo toma como purificador de la sangre, operación que se efectúa en los meses de julio- agosto. Para organismos algo delicados no es aconsejable tomarlo muy seguido, pues produce aligeramiento intestinal. Estos datos resultarán útiles para quienes transitan por la pampa, a excepción de la parte sur, parece que esta yerba no prospera en zonas frías de terrenos pedregosos” (www.soydetoay.com.ar).

3.1.1.5. HÁBITAT Y DISTRIBUCIÓN

Es una hierba perenne, con área disjunta, nativa de los EE.UU., Uruguay y nordeste, centro y Sur de Argentina. Crece en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, La Pampa, Mendoza, Neuquén, Río Negro, Santiago del Estero, Santa Fe y San Luis (Zuloaga y Morrone, 1999).

3.1.1.6. USOS FOLCLÓRICOS

Sus partes aéreas son utilizadas en medicina folklórica como digestivo y antiespasmódico en infusión. Dicho extracto acuoso tiene el mismo color que el té común y sabor agradable (Ruiz Leal, 1972). Es usado por los indios Navajos desde cientos de años, esas tribus lo emplean en desórdenes estomacales, para el

alivio de alergias, en caso de calambres musculares y como sustituto del té.

Las partes aéreas también se emplean en medicina popular como hepático y antiespasmódico y para afecciones renales.

3.1.1.7. MORFOLOGÍA VEGETATIVA Y REPRODUCTIVA



Figura 3.2. Capítulo de *T. megapotamicum*

Sufrútice erecto, glabro, ramoso, con tallos estríados, densamente hojoso en la parte inferior y casi desnudo en la parte superior, de 40-60 cm de altura. Hojas opuestas, pinnatisectas o bipinnatisectas, con raquis o segmentos filiformes, el primero de 25-70 mm de longitud; los segmentos de 10-25 mm de longitud por 0,2-0,5 mm de ancho.

Capítulos solitarios en el ápice de las ramas, largamente pedunculados, involucre anchamente acampanado, biseriado de 7-9 mm de altura por 10-12 mm de diámetro; brácteas biseriadas, las internas 7-8, membranáceas, soldadas entre sí hasta su mitad o más, las exteriores más cortas y libres. Receptáculo plano, con páleas lanceoladas, escariosas. Flores amarillas, más largas que el involucre, perfectas, con corola tubulosa, ensanchada, con limbo pentasecto. Anteras redondeadas en la base. Ramas del estilo truncadas en el ápice con apéndices pilosos, lineares.

Aquenios oblongos, comprimidos dorsalmente, glabros o ásperos, truncados en el ápice de 6 mm de longitud. Papis formado por dos aristas lanceoladas, cóncavas, de 1,5-2 mm de largo, cubiertas de pelos retrorsos, o en ocasiones ausente.

3.1.1.8. MORFOANATOMÍA FOLIAR (Figura 3.3)

Las hojas son pinnatisectas o bipinnatisectas, con segmentos filiformes que al transcorte muestran una sección semicircular a triangular. Ambas epidermis presentan una conspicua cutícula, típica de plantas xerófitas, y la presencia de estomas anomocíticos. El mesofilo es heterogéneo, constituido por 2-3 estratos de parénquima clorofiliano en empalizada hacia la epidermis superior y un estrato de células más cortas hacia la inferior, mostrando por ello una estructura bilateral, con parénquima esponjoso ubicado hacia el centro del corte. Inmersos en el mesofilo se hallan los haces vasculares colaterales con una importante vaina del haz (parenquimática) y canales secretores intravasculares. Los canales secretores frente al test de Sudán IV dan positivo lo que demuestra su contenidos de aceites esenciales.

3.1.1.9. MORFOANATOMÍA CAULINAR (Figura 3.4)

Las transecciones por tallo son circulares a algo costadas, presentando una epidermis con gruesa cutícula y estomas anomocíticos. En la región cortical, coincidente con las costillas se dispone colénquima angular y el parénquima clorofiliano esponjoso. La endodermis es conspicua. Los haces vasculares generalmente en número de doce, se disponen colateralmente formando en una típica eustela, protegidos por un casquete esclerenquimatoso. Alternando con los haces vasculares se hallan canales secretores esquizógenos. El parénquima medular presenta células isodiamétricas, grandes o bien a la madurez se presentan fistulosos.

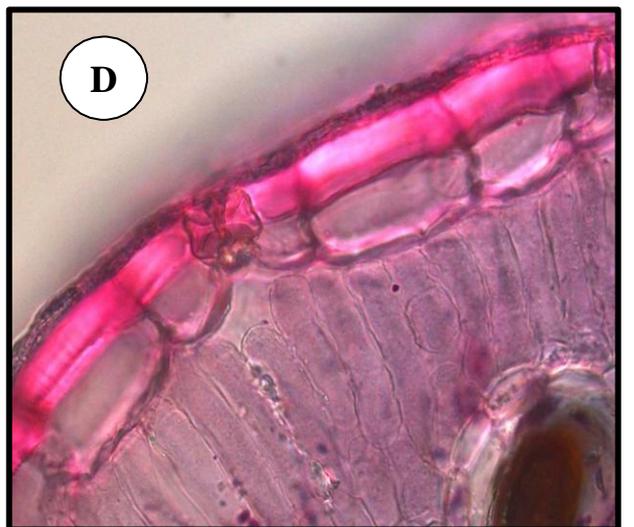
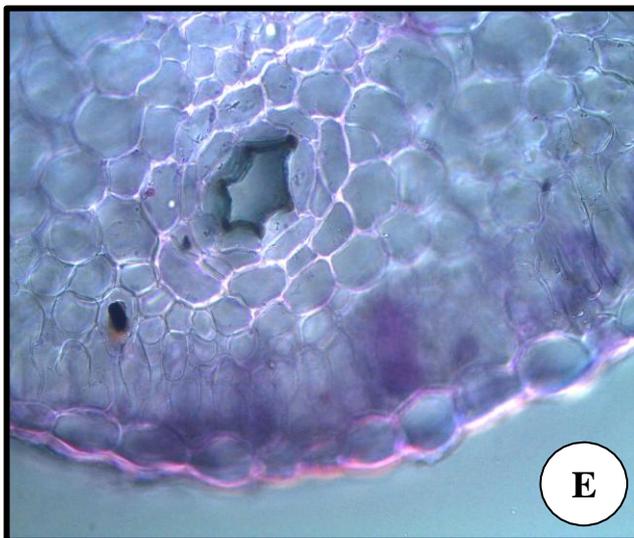
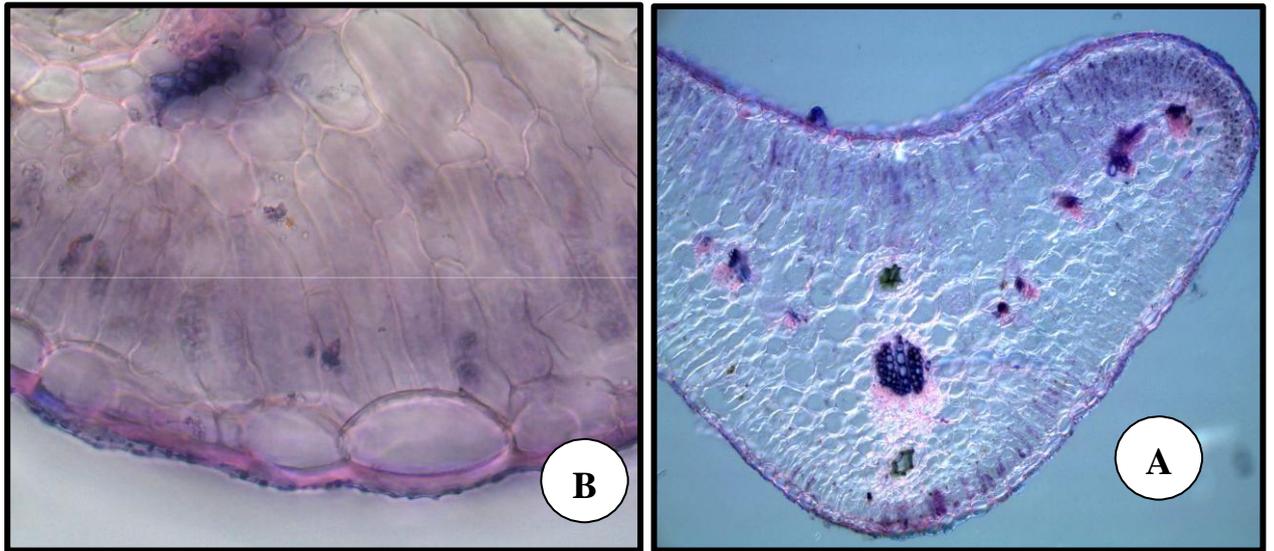


Figura 3.3.- Fotomicrografías de *Thelesperma megapotamicum*.

A, trans corte por hoja.- B- C, detalle de A.- D, epidermis con estoma.- E, detalle de un canal secretor esquizógeno.

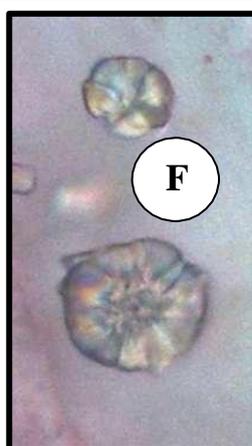
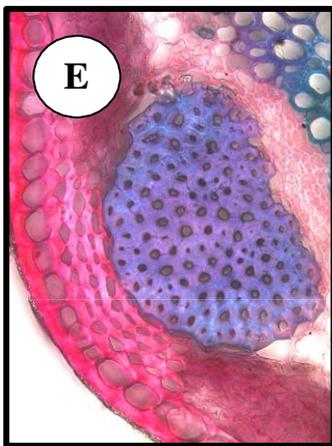
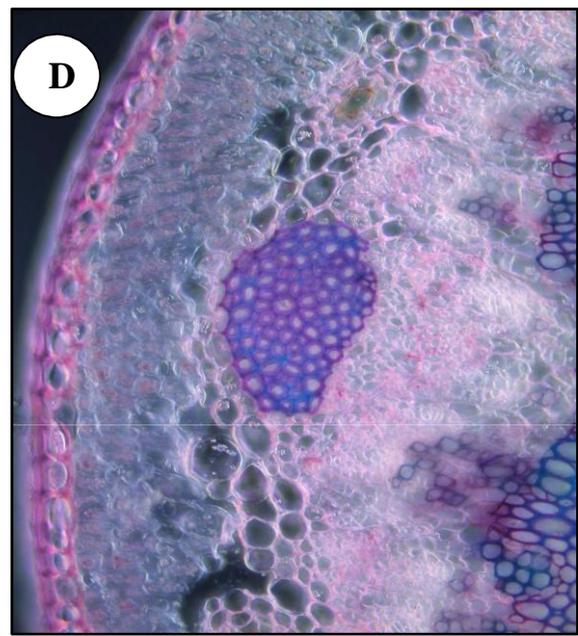
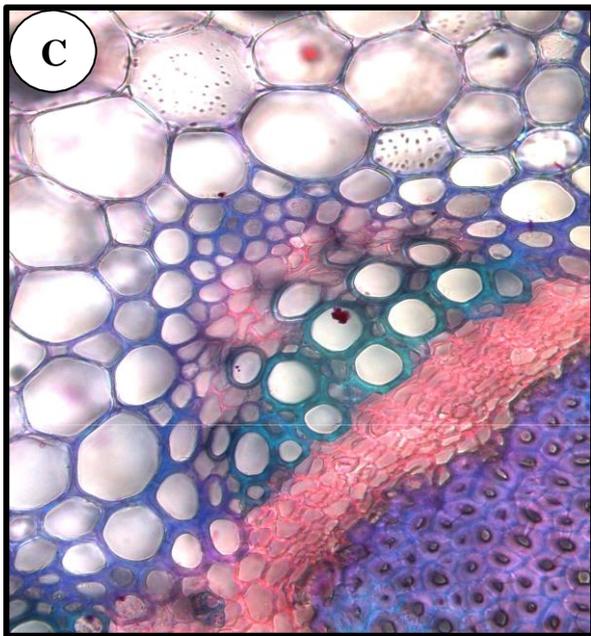
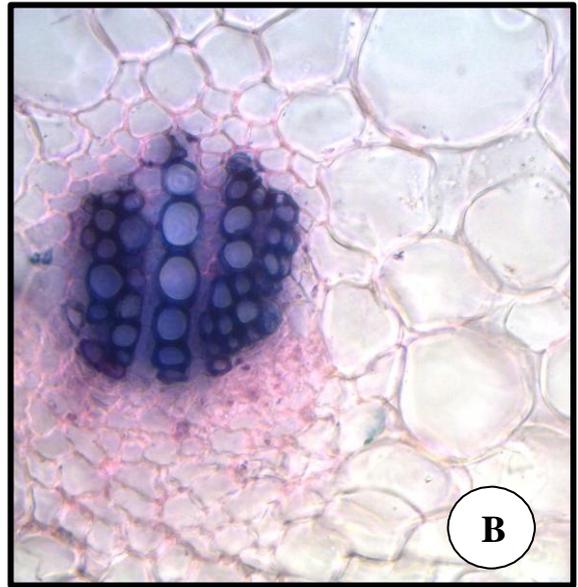
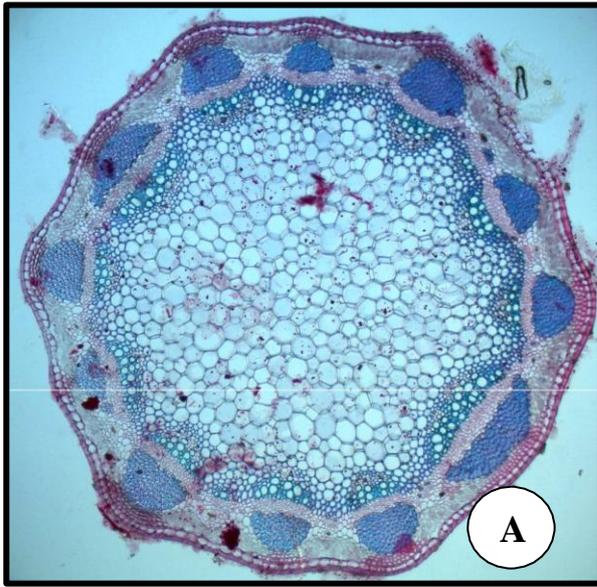


Figura 3.4.- Fotomicrografías de *Thelesperma megapotamicum*.

A, transcorte por tallo,- B-E, detalle de un haz vascular mostrando el casquete esclerenquimático. – F, drusas.

3.1.1.10. PARÁMETROS MICROGRÁFICOS

La aplicación de los métodos de análisis cuantitativos correspondientes arrojaron los valores que muestra la Tabla 3.1 para los diversos parámetros micrográficos

Tabla 3.1. Parámetros micrográficos cuantitativos para *Thelesperma megapotamicum*, n=12

Epidermis superior	Número de estomas	4,75 ± 0,45
	Índice de estomas	(14,9) 16,1 (17,3)
Epidermis inferior	Número de estomas	6,54 ± 0,52
	Índice de estomas	(20,95) 22,65 (24,35)
Nº de terminales de nerviación.mm ⁻²		7,7 ± 0,5
Nº de islotes.mm ⁻²		10,1 ± 0,3
Índice de empalizada		(4,95) 5,12 (5,29)

3.1.2. *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera

3.1.2.1. STATUS TAXONÓMICO ACTUAL

Pluchea sagittalis (Lam.) Cabrera, *Bol. Soc. Argent. Bot.*, 3 (1):36, 1949.

3.1.2.2. SINONIMIA

- *Conyza sagittalis* Lam., *Enclyc.* 2:94, 1786
- *Epaltes brasiliensis* DC. *Prodr.* 5: 416, 1836.
- *Gnaphalium graveolens* Vell., *Fl. Flumin.* Icones 8: tab. 100, 1831.



Figura 3.5. Inflorescencia de *P. sagittalis*

- *Pluchea quitoc* DC., *Prodr.* 5450. 1836.
- *Pluchea suaveolens* (Vell.) Kuntze, *Revis. Gen. Plant.*, 3 (3): 168. 1898.

3.1.2.3. ANTECEDENTES

El género *Pluchea* Cass. pertenece a la tribu Plucheeae, Familia Asteraceae (Bremer 1996). Incluye alrededor de 80 especies, la mayoría distribuidas en el continente americano, mientras que una pocas de ellas habitan África, Asia y Australia. Los miembros de este género fueron ubicados originalmente por Cassini como parte de *Conyza* L. y en la tribu Vernonieae. Bentham (1873) ubicó al género en la tribu Inuloideae, en virtud de poseer el receptáculo sin páleas, flores marginales pistiladas y con corola filiforme, anteras caudadas en la base y las ramas del estilo con tricomas cortos en toda su extensión. Tradicionalmente se ha reconocido como un género

perteneciente a la tribu Inuleae.

Anderberg (1989) propone la segregación de varios géneros de Inuleae en la nueva tribu Plucheeae, entre ellos *Pluchea*, elegido como género tipo de la tribu. Más tarde, el mismo autor (Anderberg, 1991) analizó las relaciones filogenéticas entre los miembros de la tribu y ubicó a *Pluchea* como el grupo más afín a *Tessaria* Ruiz et Pav., un género sudamericano.

Se trata de hierbas perennes o arbustos, a veces aromáticos, por lo general pubescentes, a veces también con tricomas glandulares. Hojas simples, alternas, enteras, dentadas o aserradas, pecioladas o sésiles y con las bases amplexicaules o decurrentes, dando al tallo un aspecto alado. Capítulos heterógamos, dispuestos en cimas o corimbos, a veces secundariamente dispuestos en panículas; involucreo campanulado a hemisférico, con brácteas imbricadas, graduadas, frecuentemente con tintes púrpura; receptáculo plano, desnudo. Flores dimorfas, las marginales pistiladas y fértiles, numerosas, en varias series, tubular-filiformes, con 3-5 lóbulos diminutos, usualmente provistos de glándulas y terminados en setas cortas; flores del disco pocas, funcionalmente masculinas, tubulosas, 5-lobadas, con tricomas cortos glandulares en la región de los lóbulos; anteras con las bases caudadas; ramas del estilo filiformes. Cipselas cilíndricas, fusiformes o claviformes, 4-6- angulares, pubescentes o glabras; vilano formado por una serie de cerdas capilares.

3.1.2.4. NOMBRES VERNÁCULOS

Pluchea sagittalis (Lam.) Cabrera se conoce bajo los nombres vernáculos de “lucera” o “yerba del lucero”, “hierba lucera”, “quitoc” o “nasherek itaá”. Se la conoce también como “cuatro cantos”, “hierba lucero” y “quitoco” (portugués), “madrecarvo” (portugués) y “wing-stem camphorweed” (inglés) (Martínez Crovetto, 1981).

3.1.2.5. HÁBITAT Y DISTRIBUCIÓN

En la Argentina habitan dos especies, *Pluchea microcephala* R.K. Godfrey y *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera. Esta última es originaria del sur de Brasil, Paraguay, Uruguay y norte y centro de Argentina (Jujuy, Salta, Chaco, Formosa, Misiones, Tucumán, Santiago del Estero, Santa Fe, Corrientes, La Rioja, Córdoba, Entre Ríos, San Luis y Buenos Aires). Florece en primavera y verano. Crece en lugares húmedos cercanos a lagunas y bañados (Hieronymus, 1930; Martinez Crovetto, 1981).

3.1.2.6. USOS FOLCLÓRICOS

Se emplea en medicina folklórica como tónico amargo, pectoral, antihistérico y digestivo, también reputado carminativo, febrífugo, antiblenorrágico; con ella se elaboran bebidas aperitivas (“amargos”) en el Noreste de la Argentina (Hieronymus, 1930; Martinez Crovetto, 1981). Además, materiales de las especies citadas anteriormente integran mezclas expandidas frecuentemente en farmacias, herboristerías y comercios locales.

3.1.2.7. MORFOLOGÍA VEGETATIVA Y REPRODUCTIVA

Hierba perenne de entre 0,5 y 2 m alto, con raíces gruesas. Tallos alados y erectos, ramificados. Hojas alternas, glanduloso-pubescente, sésiles, elípticas, entre 5-15 cm long. Inflorescencias en capítulos terminales con involucre hemisférico de 5 mm alto x 10-13 mm diám. Flores marginales filiformes, rosadas o blancas. Fruto cipsela costada.

3.1.2.8. MORFOANATOMÍA FOLIAR

Las hojas son simples, con ápice mucronado y venación reticulada. Los

transcortes muestran una epidermis unistrata con células de paredes sinuosas en la epidermis del hipofilo y casi lisas en las del epifilo recubiertas por una gruesa cutícula estriada (Figuras 3.6 y 3.7 C-D). Presenta un indumento de tricomas flageliformes, simples, uniseriados, generalmente 5-10 celulares, distribuidos principalmente sobre el nervio medial prominente (Figura 3.7 A). Las células tricomáticas basales son más anchas y cortas, y de paredes más gruesas que las células apicales, angostas, alargadas y de paredes delgadas que tienden a colapsar o desprenderse (Figura 3.6 E). Los tricomas glandulíferos se ubican en depresiones epidérmicas y presentan un tricopodio simple, biseriado, y una cabezuela oblonga pluricelular, lo que difiere con lo descrito por Cambi *et al.* (2006). El producto de secreción se acumula debajo de la cutícula separándola de las paredes del par de células terminales como así también del par contiguo, lo que le confiere un aspecto globoso (cutícula vesicular, Figura 3.9 D). Mediante pruebas histoquímicas con Sudán IV da positiva dicha reacción lo que indica su naturaleza lipídica. Los pelos glandulares se alojan en depresiones de la epidermis, tanto adaxial como abaxial (Fig. 3.6 C-D).

La hoja es anfiestomática, con estomas anomocíticos más abundantemente distribuidos en la cara abaxial (Figuras 3.6 y 3.7 C-D), sobreelevados, difiriendo este dato con lo reportado por Cambi *et al.* (2006).

La estructura foliar es dorsiventral con un mesofilo heterogéneo (Figura 3.7 A). Presenta un estrato (raro 2) de parénquima en empalizada y el parénquima esponjoso se dispone laxamente, ocupando el resto del mesofilo (Figura 3.8 B).

Los haces vasculares de la hoja son colaterales. El haz medial presenta 4 haces vasculares protegidos por colénquima angular (Figura 3.8 A). Los haces laterales presentan un tamaño menor y se hallan inmersos en el parénquima esponjoso mesofílico y están protegidos por un casquete de fibras esclerenquimáticas, que

contactan con el floema, distribuidas hacia el hipofilo (Figura 3.9 B-C).

3.1.2.9. MORFOANATOMÍA CAULINAR

El tallo es terete, con expansiones a modo de alas que corresponden a la porción decurrente de las hojas, por lo cual presentan un parénquima clorofiliano esponjoso (Figura 3.9 F). Presenta un indumento de tricomas semejantes a los descritos para hoja. La corteza está constituida por un estrato de colénquima laminar y varios de colénquima angular, interrumpida en algunos sectores por clorénquima; hacia adentro se ubica uno o dos estratos de clorénquima y varios estratos de aerénquima que pueden presentar drusas (Figura 3.9 D-E). La endodermis es conspicua, amilífera, unistrata. También se observan pequeños conductos secretores de origen esquizógeno adyacentes a la endodermis. El cilindro vascular presenta una típica eustela con numerosos haces vasculares colaterales que se disponen en forma de anillo, interrumpido por los radios medulares, con casquetes de fibras asociados al floema (Figura 3.9 A). La médula es maciza y está constituida por células parenquimáticas en tallos jóvenes (Figura 3.8 A-B), siendo los tallos adultos fistulosos. Las células del parénquima presentan paredes delgadas, son de gran tamaño en el centro y más pequeñas en la periferia.

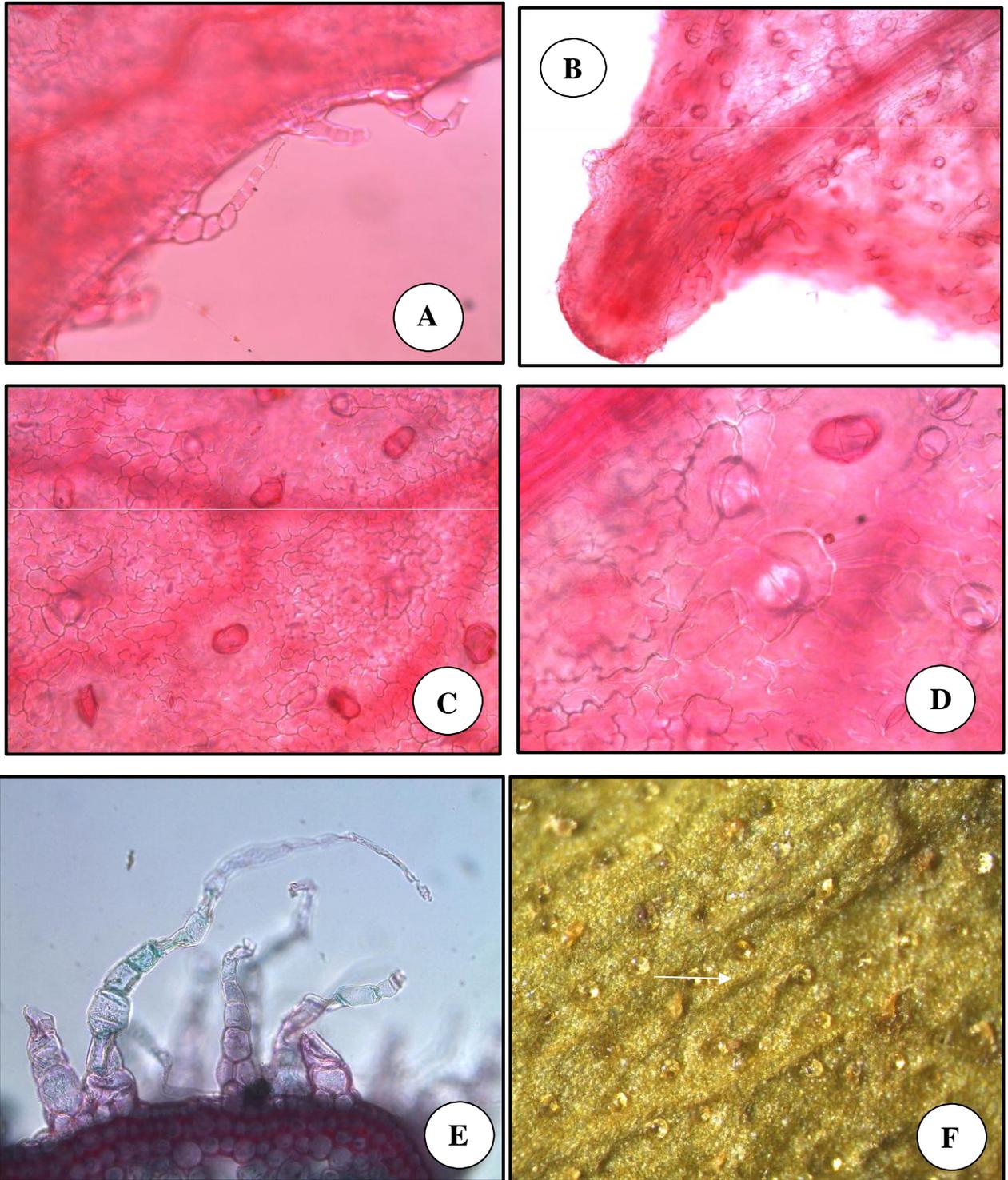


Figura 3.6.- Fotomicrografías de *Pluchea sagittalis*. A, tricomas eglandulosos del margen foliar.- B, ápice foliar.- C-D, epidermis superior mostrando la superficie con tricomas glandulares y estomas.- E, transcorte mostrando los tricomas flageliformes.- F, macrofotografía con los típicos tricomas glandulares.

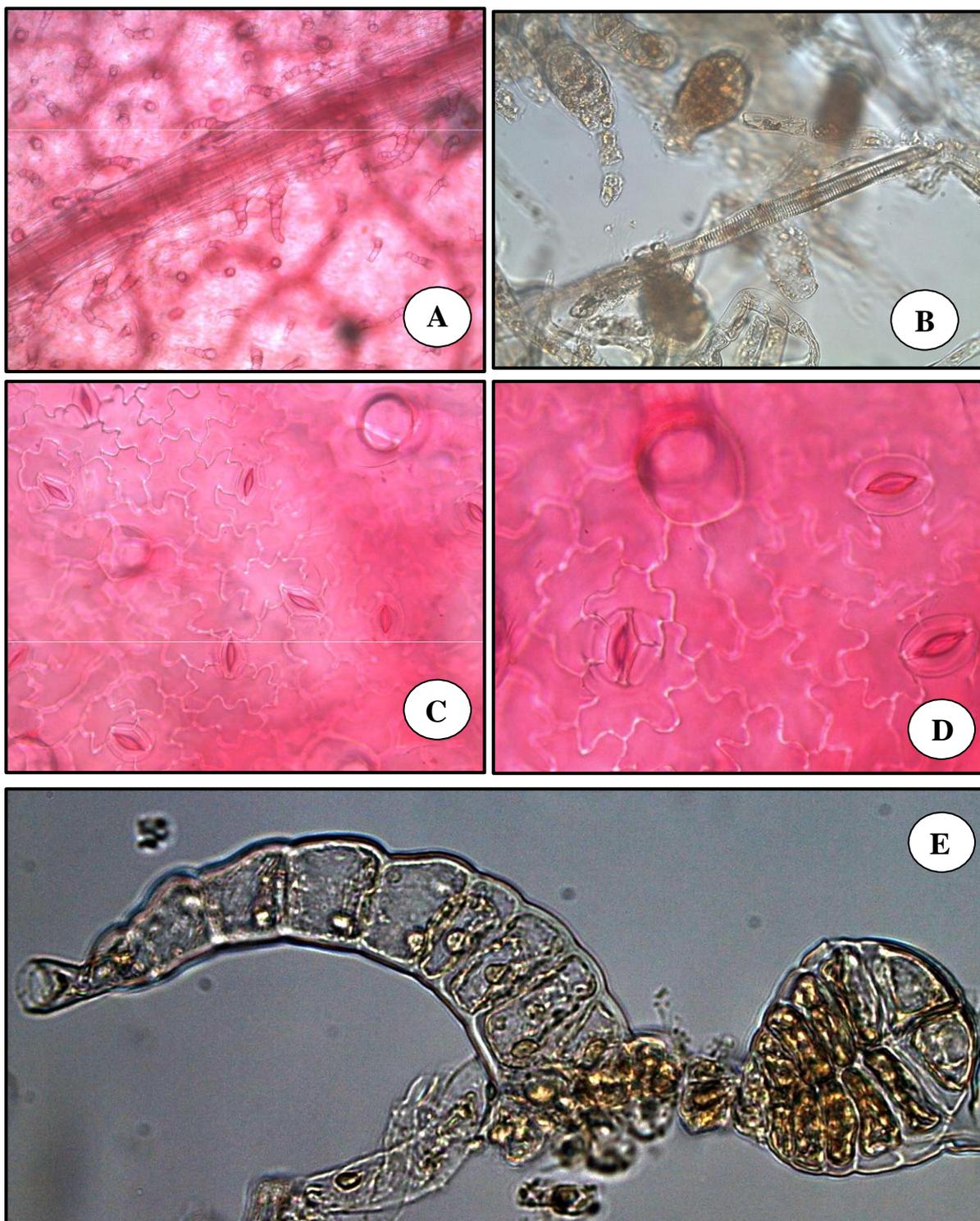


Figura 3.7.- Fotomicrografías de *Pluchea sagittalis*. A, tricomas glandulosos en el nervio medial.- B y E, disociado mostrando los dos tipos tricomáticos.- C-D, epidermis del hipofilo mostrando la superficie con estomas.

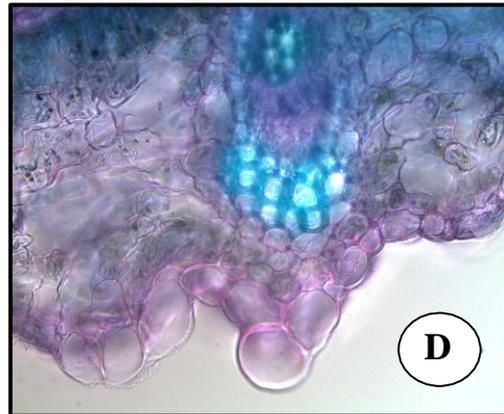
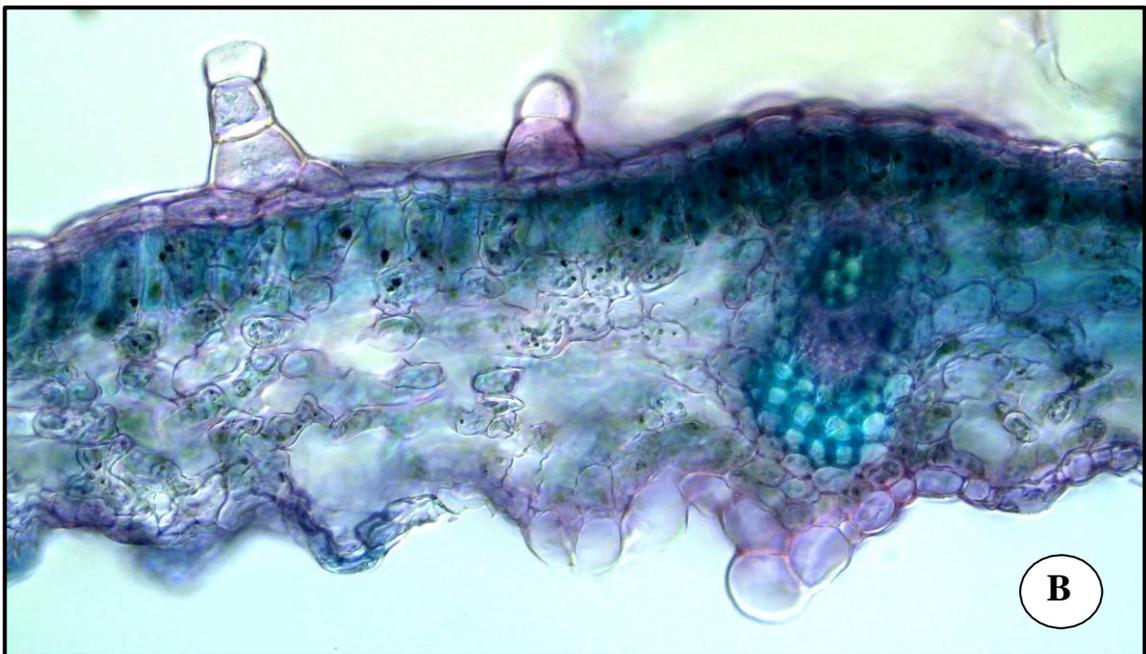
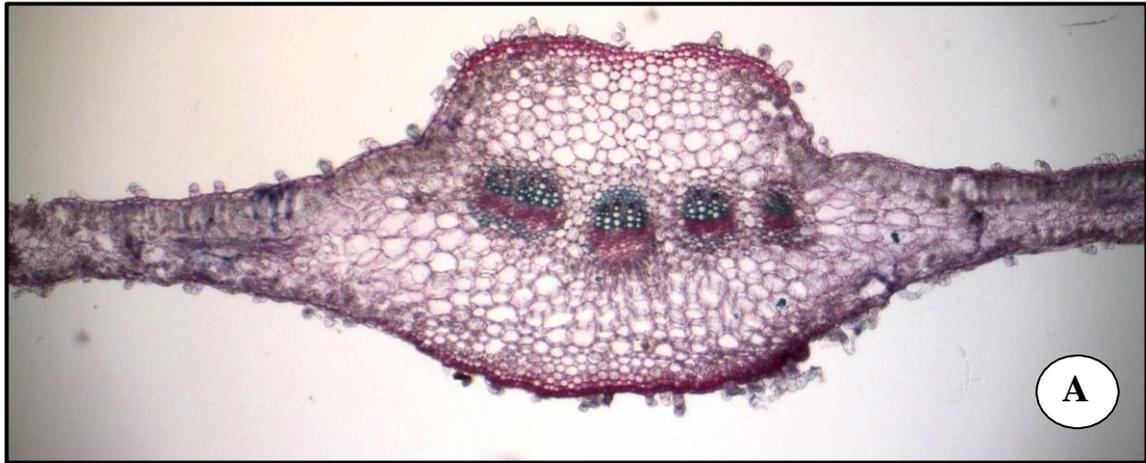


Figura 3.8.- Fotomicrografías de transcorte por hoja de *Pluchea sagittalis*. A, nervio medial.- B, mesofilo.- C, haces vasculares.- D, papila

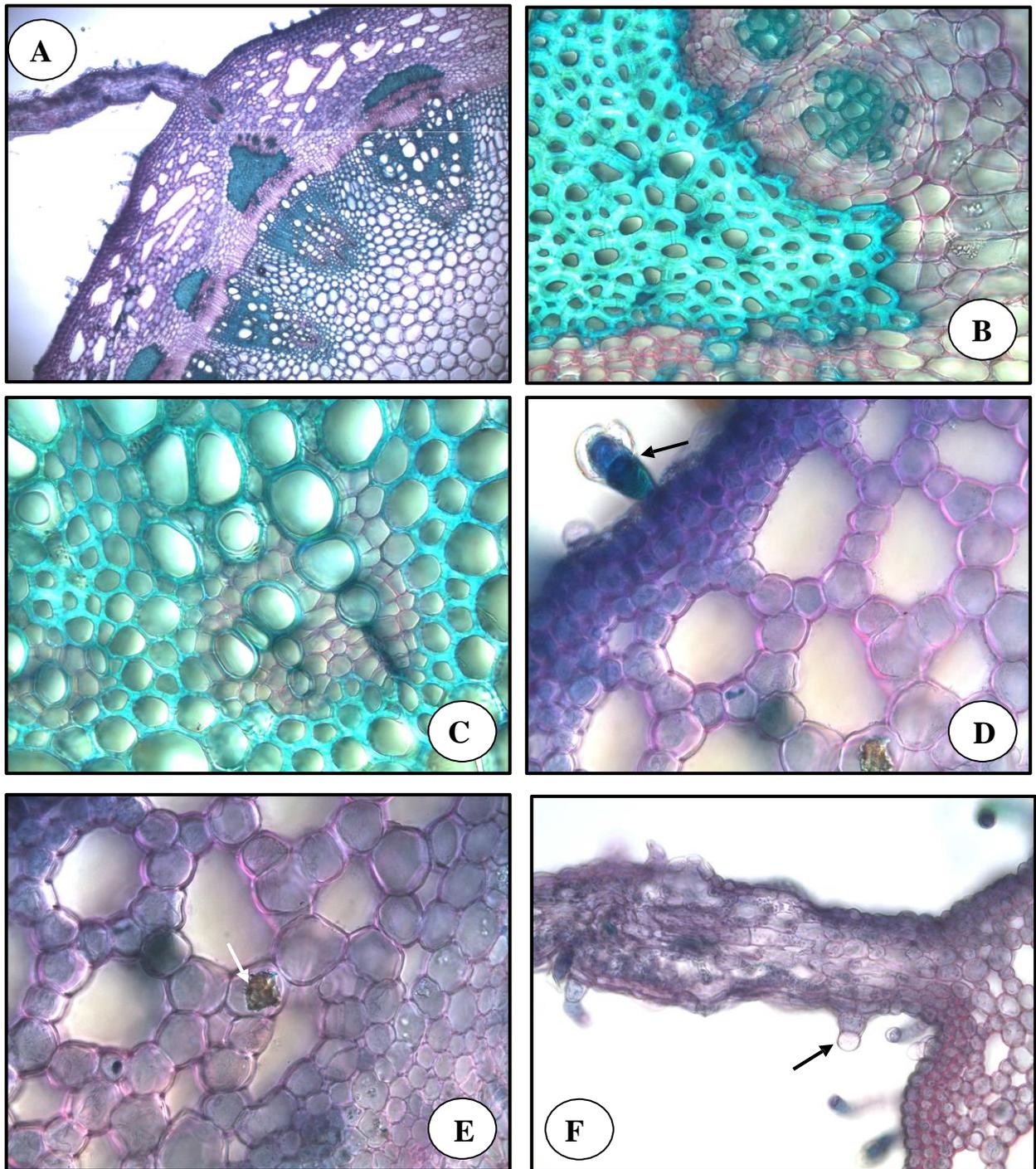


Figura 3.9.- Fotomicrografías de transcorte por tallo de *Pluchea sagittalis*. A y F, sección mostrando las prolongaciones aliformes caulinares, en F mostrando tricoma con cutícula vesicular.- B-C, detalle del casquete fibroso.- D, región cortical mostrando aerénquima y un tricoma con cutícula vesicular.- E, detalle de D mostrando una drusa.

3.1.2.10. PARÁMETROS MICROGRÁFICOS

La especie se distingue fácilmente por sus caracteres morfoanatómicos y parámetros micrográficos cuantitativos, según la Tabla 3.2, que permiten el control de calidad de simples y mezclas en muestras comerciales, habiéndose determinado la adulteración con otras especies de igual nombre vulgar.

Tabla 3.2. Parámetros micrográficos cuantitativos para *Pluchea saggitalis*, n=12

Epidermis superior	Número de estomas	3 ± 1
	Índice de estomas	(6) 5,25 (4,9)
Epidermis inferior	Número de estomas	7 ± 1
	Índice de estomas	(17,2) 15,5 (10,95)
Nº de terminales de nerviación.mm ⁻²		4,33 ± 0,38
Nº de islotes.mm ⁻²		5,16 ± 0,58
Índice de empalizada		(2,75) 3,5 (4,55)

3.1.3. *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) O. Kuntze

3.1.3.1. STATUS TAXONÓMICO

Margyricarpus pinnatus (Lamarck) O. Kuntze, *Rev. Gen. Plant.*, 3 (2): 77, 1898.

3.1.3.2. SINONIMIA

- ◆ *Empetrum pinnatum* Lamarck,
Encycl. Method., 1: 567, 1783.
- ◆ *Margyricarpus setosus* Ruiz et
Pav., *Flora Peruv. et Chil.*,
1: 28, tab. 8d, 1798.



Figura 3.10. Planta de *M. pinnatus*

3.1.3.3. ANTECEDENTES

Rosaceae es una familia de amplia distribución, sobre todo en regiones templadas del Hemisferio Norte. A ella pertenecen especies de gran importancia económica como los frutales de “carozo” y “pepita” (duraznos, ciruelos, manzanos, perales, etc.). Presenta gran diversidad morfológica, y ha sido dividida en 4 subfamilias, en base a la posición del ovario y la diversidad del fruto. Las de ovario ínfero, con fruto en melónide, han sido ubicadas en la subfamilia *Maloideae*, las de ovario súpero, con fruto en drupa, lo han sido en la subfamilia *Prunoideae*; las de ovario medio y fruto indehiscente en aquenio en la subfamilia *Rosoideae* y, por último, las de ovario súpero con fruto seco, dehiscente, en la subfamilia *Spiroideae*.

En base a hechos filogenéticos y moleculares, el género *Margyricarpus* Ruiz et al Pav. Ha sido ubicado en la Subfamilia *Rosoideae*, Tribu *Sanguisorbeae*, Subtribu

Sanguisorbinae (Potter *et al.*, 2007).

En *Margyricarpus setosus* se cita el aislamiento de aril-glucósidos, triterpen-glucósidos y otros doce compuestos, entre los que destacan: β -hidroxi-3',4'-dimetoxifeniletil glucósido y β -hidroxi-3',4'-dimetoxifeniletil rutinósido (De Tommasi *et al.*, 1996).

También se reporta el aislamiento de flavonoides de *M. pinnatus* (Ferrari *et al.*, 1972) y, de acuerdo a Ciganda y Laborde (2003) *M. pinnatus*, es utilizado en la medicina popular uruguaya para inducir abortos, haciendo referencia a su probable toxicidad y a la alta tasa de mortalidad y morbilidad que provocan éste y otros medicamentos herbarios utilizados con este fin. También se reporta la presencia de alcaloides y fenoles (Davyt *et al.*, 1991).

Por otra parte, se ha reportado que los extractos de esta especie mostraron propiedades antivirales y citotóxicas (Orrego Escobar, 2013).

3.1.3.4. NOMBRES VERNÁCULOS

Se la conoce en la región de Cuyo y centro-oeste del país con los nombres vulgares de “perlilla” y “yerba de la perdiz”, mientras que en otras zonas del país se llama “hierba de la perdiz”, “horizonte”, “inambú-caá”, “ojo de perdiz”, “perlita”, “perlía” Su nombre vernáculo “perlilla” alude a su fruto pequeño, blanco nacarado, semejante a una perla pequeña (De la Peña y Pensiero, 2004; Hieronymus, 1930; Del Vitto, *com. personal*).

3.1.3.5. HÁBITAT Y DISTRIBUCIÓN

América austral, desde el Perú a la Patagonia. Frecuente en la estepa clímax de la provincia de Buenos Aires. Florece en primavera.

3.1.3.6. USOS FOLCLÓRICOS

Se usa en medicina popular como diurético y para diversas afecciones urinarias. Se expende en los comercios del centro-oeste argentino integrando simples y mezclas con acción diurética y antilitiásica. Además, se lo reputa como astringente, cicatrizante, antihemorroidal, anti-inflamatorio y febrífugo (Barboza *et al.*, 2006; Del Vitto *et al.*, 1997; Hieronymus, 1930; Núñez y Cantero, 2000; Ratera y Ratera, 1980; Roig, 2001; Toursarkissian, 1980).

3.1.3.7. MORFOLOGÍA VEGETATIVA Y REPRODUCTIVA

Arbustos enanos (caméfitos sufrutescentes a pulvinados), siempreverdes, de 15-30 cm de altura, ramosos, con tallos ascendentes, densamente hojosos, glabros. Hojas de 10-20 mm de longitud, pinnaticompuestas, con raquis linear-subulado, rígido y 7-9 pares de folíolos lineares, agudos, revolutos en el margen, caducos. Estípulas persistentes, soldadas con el pecíolo.

Flores solitarias en las axilas de las hojas, pequeñas. Receptáculo tubuloso, de



1-1,2 mm longitud y sépalos 4-5, persistentes, linear-lanceolados de 1,2 mm longitud. Pétalos ausentes. Estambres 2-3 con filamentos cortos. Gineceo formado por un solo carpelo incluido en el receptáculo, con estilo muy corto y estigma penicilado.

Figura 3.11. Flores de *M. pinnatus*

Óvulo solitario, péndulo. Drupéola blanquecina (aquenio coriáceo, envuelto

por el receptáculo), de allí el nombre vernáculo de “perlilla”. Receptáculos fructíferos ovoideos con 4 costillas, blancos, de unos 5 mm de largo con cáliz persistente.

3.1.3.8. MORFOANATOMÍA FOLIAR

Hojas compuestas, provistas de estípulas intrapeciolares persistentes. En transcorde se observa una estructura dorsiventral con una epidermis unistrata, estomas del tipo anomocítico y un indumento formado por tricomas eglandulosos flageliformes y tricomas glandulíferos de cabezuela pluricelular y paredes algo sinuosas (Figura 3.12 E-G).

Los haces colaterales se hallan protegidos por gruesos casquetes esclerenquimáticos, lo que le otorga a la hoja una consistencia coriácea (Figura 3.12 C-D).

El nervio medial se halla protegido por una vaina cristalífera con cristales de oxalato de calcio cristalizados en forma tetrahédrica (Figura 3.12 A-B). Los transcortes por estípula foliar muestran también una gruesa banda esclerenquimática hacia el epifilo. Las mismas se ubican en forma convoluta envolviendo al eje caulinar (Figura 3.12 F).

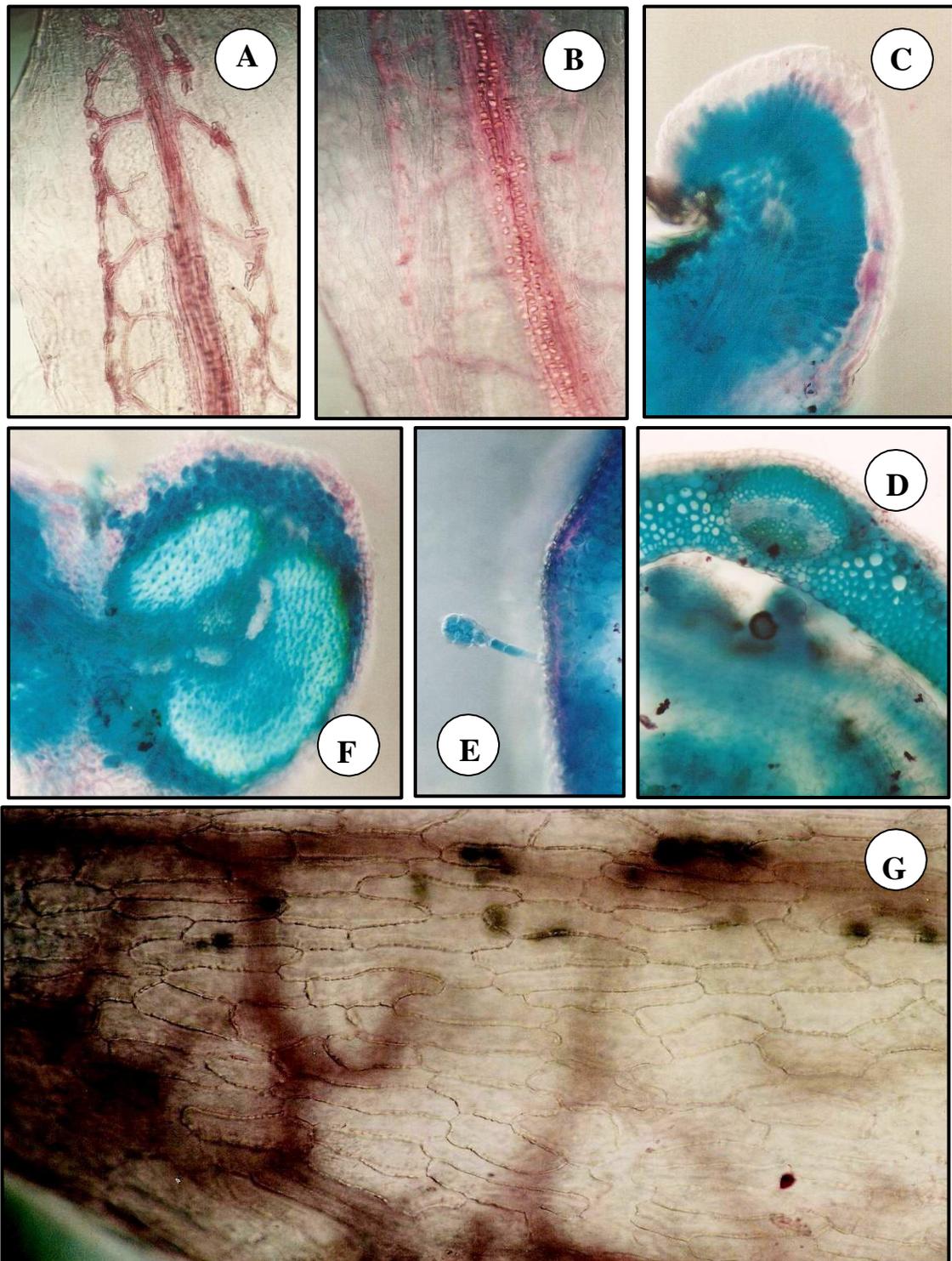


Figura 3.12. Transcorte por hoja *M. pinnatus* **A**, diafanizado mostrando la arquitectura foliar; **B**, ídem mostrando el haz vascular central con su vaina cristalífera; **C**, corte longitudinal por hoja mostrando el parénquima clorofiliano en empalizada; **D**, transcorte por hoja mostrando los gruesos casquetes esclerenquimáticos hacia ambas epidermis; **E**, tricomas glandulíferos con cabezuela pluricelular; **F**, transcorte por estípula foliar; **G**, detalle de células epidérmicas con paredes algo sinuosas.

3.1.3.9. MORFOANATOMÍA CAULINAR

Los transcortes por tallo primario muestran una epidermis unistrata provista de un indumento similar que en hoja (tricomas flageliformes y glandulíferos con cabezuela pluricelular), una región cortical formada por colénquima angular y parénquima esponjoso. La endodermis es notoria y los haces vasculares presentan una disposición colateral, separados por gruesos radios medulares (Figura 3.13 A-B).

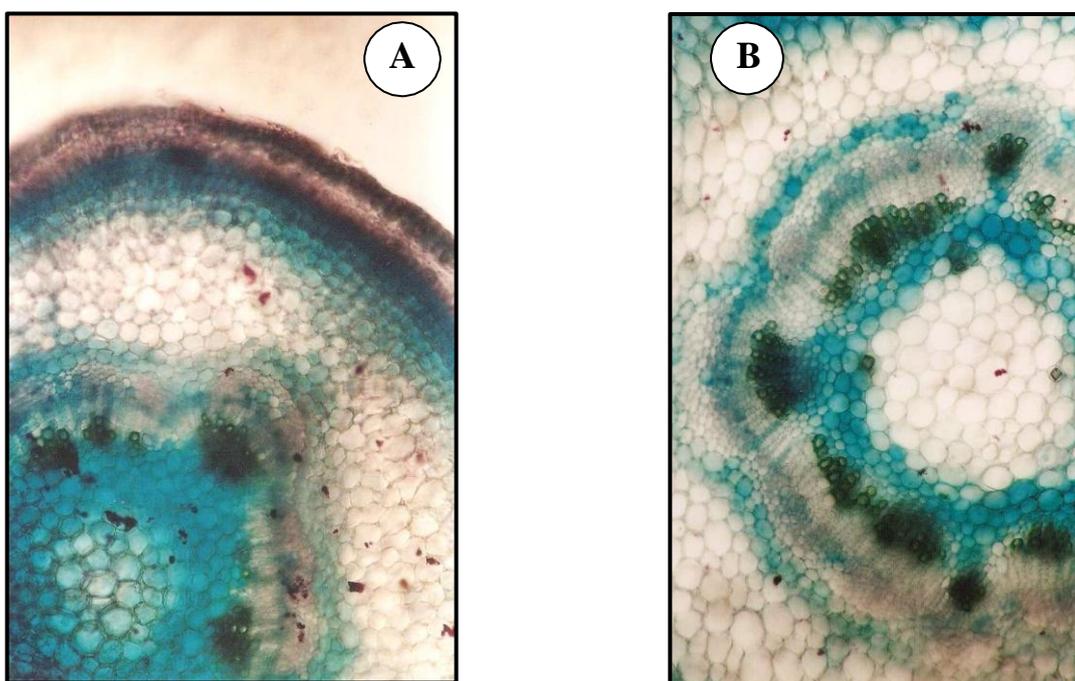


Figura 3.13. *Margyricarpus pinnatus*. **A**, transcorte por tallo primario; **B**, detalle de A.

3.1.3.10. PARÁMETROS MICROGRÁFICOS

Los valores de los parámetros micrográficos de *M. pinnatus* se muestran en la Tala 3.3. Éstos son característicos de esta especie, por lo cual permiten identificar fehacientemente a esta entidad cuando la misma se halla reducida a polvo o finamente molturada, e incluso en mezcla con otras especies.

Tabla 3.3. Parámetros micrográficos cuantitativos para *Margyricarpus pinnatus*, n=12

Epidermis superior	Número de estomas	0
	Índice de estomas	0
Epidermis inferior	Número de estomas	53 ± 5
	Índice de estomas	(23) 20,5 (18)
Nº de terminales de nervedación.mm ⁻²		13,7 ± 2,3
Nº de islotes.mm ⁻²		15,5 ± 3
Índice de empalizada		(6,66) 6 (5,34)

3.1.4. CONCLUSIONES PARCIALES.

Se han caracterizado desde el punto de vista farmacobotánico las tres especies estudiadas *Thelesperma megapotamicum*, *Pluchea sagittalis* (Asteraceae) y *Margyricarpus pinnatus* (Rosaceae), estableciendo los caracteres diacríticos que permiten realizar un control de calidad efectivo de estos vegetales y eventualmente detectar su presencia en productos industriales (extractos y sus diluciones).

Se describió por primera vez la micromorfología foliar y caulinar de *M. pinnatus*; se informó por primera vez los parámetros micrográficos de las tres especies involucradas en este estudio.

Se diferenció a *M. pinnatus* de *T. megapotamicum* y *P. sagittalis* en función de la epidermis en que se encuentran los estomas, la primera presentó hojas hipostomáticas mientras que las otras dos especies presentaron hojas anfiestomáticas.

3.2. COMPOSICIÓN QUÍMICO-ELEMENTAL

Los resultados de las concentraciones de los 36 elementos determinados, divididos en elementos minerales esenciales mayoritarios (macroelementos), elementos minerales esenciales minoritarios (microelementos u oligoelementos) y otros elementos minerales minoritarios obtenidos de los análisis químicos del material vegetal, sus infusiones y la eficiencia de extractabilidad se muestran en las Tablas 3.4 a 3.12, promedio de quince muestras poblacionales para las tres especies estudiadas.

Las Tablas 3.13 a 3.15 permiten observar la contribución de las infusiones de las tres especies estudiadas a la ingesta diaria recomendada o máxima tolerada.

Las plantas extraen los minerales esenciales para su crecimiento desde el sustrato y su contenido se ve afectado por diferentes factores tales como el tipo de suelo, el clima y otras condiciones de la región en que crecen, entre otros. También pueden acumular minerales tales como Ba, Sr, Ag, entre otros, los que no tienen un efecto definido para la planta.

Al tratarse de plantas que se utilizan tradicionalmente para tratar distintas enfermedades humanas o animales, se debe tener en cuenta que los elementos inorgánicos juegan un rol vital como componentes funcionales y estructurales de las proteínas y enzimas en las células. Cada mineral desempeña un número de diferentes funciones en el organismo. La más importante vía de transporte de los minerales es desde el suelo a las plantas y de éstas a los seres humanos. Algunos elementos tales como Ca, Mg, Zn han sido establecidos como esenciales para la salud humana mientras que otros como Pb, Cd, Al han sido identificados como tóxicos (Kirmani *et al.*, 2011; Vermani *et al.*, 2010).

Es importante también destacar que no siempre la cantidad de un determinado elemento en hojas enteras o molidas de una planta medicinal es la misma que estará

presente en la infusión preparada con ellas. Esta transferencia varía según sea el elemento considerado, dado que algunos se difunden más fácil o más rápidamente que otros (Damascos y Arriberes, 2009). Se ha determinado que las cantidades de elementos extractados por las infusiones dependen principalmente de si el compuesto está unido uniformemente a la matriz o es más soluble en la solución empleada. A menudo las cantidades de elementos presentes en la infusión dependen de la eficiencia de la extracción de los constituyentes bajo condiciones determinadas, tanto como de la concentración total de los elementos en las hojas de las hierbas.

De acuerdo con la eficiencia de la extracción a partir de hojas de té, Natesan y Ranganathan (1990) clasificaron a los elementos minerales en tres grupos: elementos altamente extractables (>55%), elementos moderadamente extractables (20-55%) y elementos pobremente extractables (<20%).

La eficiencia de la extracción o liberación de cada elemento fue estimado como la proporción de la concentración en la infusión al total de la concentración foliar.

3.2.1. ELEMENTOS MINERALES ESENCIALES MAYORITARIOS (MACROELEMENTOS).

Los análisis efectuados sobre la materia seca de las especies estudiadas y sus infusiones han arrojado una larga serie de datos, sistematizadas en las tablas que se presentan a continuación.

Tabla 3.4: Concentración de elementos minerales esenciales (macroelementos) en materia seca e infusión de *P. sagittalis* (“yerba lucera”), n=15.

Elemento	Límite de Cuantificación (ppm)	Concentración en Materia Seca (mg kg ⁻¹)	Concentración en Infusión (mg L ⁻¹)	Eficiencia extracción (%)
Ca	0,021	17145 ± 5371	94 ± 22	10,96
P	0,15	1657 ± 519	9,6 ± 1,7	11,58
K	0,45	27094 ± 8445	400 ± 24	29,53
Mg	0,06	1120 ± 349	8,45 ± 0,87	15,08

Tabla 3.5: Concentración de elementos minerales esenciales (macroelementos) en materia seca e infusión de *T. megapotamicum* (“té pampa”), n= 15.

Elemento	Límite de Cuantificación (ppm)	Concentración en Materia Seca (mg kg ⁻¹)	Concentración en Infusión (mg L ⁻¹)	Eficiencia extracción (%)
Ca	0,021	11647 ± 3669	102 ± 25,3	17,57
P	0,15	1280 ± 399	31,92 ± 6,40	49,85
K	0,45	9986 ± 3141	257 ± 12,3	51,13
Mg	0,06	1070 ± 331	26,45 ± 1,6	49,40

Tabla 3.6: Concentración de elementos minerales esenciales (macroelementos) en materia seca e infusión de *M. pinnatus* (“perlilla”), n= 15.

Elemento	Límite de Cuantificación (ppm)	Concentración en Materia Seca (mg kg ⁻¹)	Concentración en Infusión (mg L ⁻¹)	Eficiencia extracción (%)
Ca	0,021	1270 ± 56	10,23 ± 1,56	16,10
P	0,15	825 ± 22	3,56 ± 1,54	8,63
K	0,45	2626 ± 78	41,76 ± 6,98	31,80
Mg	0,06	1372 ± 31	4,18 ± 1,35	6,09

Los elementos mayoritarios o macroelementos considerados esenciales, no sólo para las plantas sino también para la nutrición humana, son K, Ca, Mg y P.

Los resultados muestran que en el material vegetal seco, los elementos de mayor concentración en *P. sagittalis* y *T. megapotamicum* son K (27094 y 9986 mg kg⁻¹ respectivamente) y Ca (17450 y 11647 mg kg⁻¹) mientras que en *M. pinnatus* lo son el K (2626 mg kg⁻¹) y el Mg (1372 mg kg⁻¹).

Las concentraciones de Mg y P en *P. sagittalis* y *T. megapotamicum* presentan valores similares. Para *M. pinnatus* las concentraciones de Ca y P son menores a las registradas para las dos especies mencionadas anteriormente.

Los valores hallados en este trabajo para estos elementos en *P. sagittalis* y *T. megapotamicum* se encuentran dentro de los rangos establecidos por Duke (2002) para plantas medicinales, quien indica que los valores de K pueden oscilar entre 5000 y 60000 mg kg⁻¹; los de Ca entre 2000 y 35000 mg kg⁻¹ y los de P y Mg entre 1000 y 8000 mg kg⁻¹, en tanto que, en *M. pinnatus* solo las concentraciones de Mg se encuentran dentro de

dicho rango mientras que las de K, Ca y P están por debajo del mismo.

Las concentraciones de Mg en *P. sagittalis* y *T. megapotamicum* y las de Ca y Mg en *M. pinnatus* fueron similares a las encontradas por Arceusz *et al.* (2010) quienes trabajaron con plantas medicinales de distintas familias botánicas entre las que se encontraban muestras pertenecientes a las familias Asteráceas (con los siguientes rangos: K= 26700 a 39100 mg kg⁻¹; Ca= 24900 a 48300 mg kg⁻¹; Mg= 990 a 9430 mg kg⁻¹) y Rosáceas (rangos: K= 15200 a 35400 mg kg⁻¹; Ca= 480 a 44900 mg kg⁻¹; Mg= 750 a 11800 mg kg⁻¹).

En contraste, las concentraciones de K, Ca y Mg para las dos especies de la familia Asteraceae analizadas en este trabajo, en general, fueron mayores que las informadas por Lemberkovics *et al.* (2002) para hierbas medicinales de la región de Hungría (valor medio: K: 16276 mg kg⁻¹; Ca: 6281 mg kg⁻¹, Mg: 1472 mg kg⁻¹); como así también mayores que las concentraciones obtenidas Arumugam *et al.* (2012) para medicinales de la India (valor medio: K: 8096 mg kg⁻¹; Mg: 678 mg kg⁻¹).

Cantarelli *et al.* (2010), analizaron hierbas medicinales de la familia Asteraceae provenientes de Argentina (valores medios: K: 11200 mg kg⁻¹; Ca: 6700 mg kg⁻¹; Mg: 1570 mg kg⁻¹; P 1220-1670 mg kg⁻¹), encontrando concentraciones de K y Ca menores, concentraciones de Mg mayores y concentraciones de P similares a las obtenidas para *P. sagittalis* y *T. megapotamicum*, en tanto que Pytlakowska *et al.* (2012) informa, para plantas medicinales de diferentes especies, valores de K, Ca y Mg menores y concentraciones de P mayores que las obtenidas para los dos especies citadas anteriormente y también para *M. pinnatus*.

Malik *et al.* (2013) determinaron las concentraciones de K, Ca, Mg y P en *Rosa canina* L, planta utilizada como diurético, perteneciente a la familia Rosáceas. Los valores que obtuvieron para estos elementos (K= 22348 mg kg⁻¹, Ca= 10289 mg kg⁻¹, Mg= 2872

mg kg⁻¹, P= 1228 mg kg⁻¹) son mayores que los encontrados en este trabajo para *M. pinnatus*.

Las altas concentraciones de K, Ca y Mg encontradas en este trabajo y confirmadas por los trabajos realizados por distintos investigadores permiten afirmar que estos elementos son los más abundantes en plantas medicinales.

En lo que respecta a las infusiones se puede observar una notable disminución de las concentraciones respecto de la materia seca aunque sin embargo que se mantienen importantes cantidades de estos macroelementos.

Pytlakowska *et al.* (2012) analizaron infusiones de distintas hierbas medicinales con distintos tiempo de preparación (10 y 30 minutos). Los valores de K, Mg y P que se obtuvieron en la preparación de 10 minutos son mayores que los informados en este trabajo para las tres especies analizadas y que fueran preparadas en igual tiempo (Farmacopea Argentina, 2003, con modificación), en tanto que, las concentraciones de Ca son menores que las correspondientes a *P. sagittalis* y *T. megapotamicum* y similares a las de *M. pinnatus*.

Malik *et al.* (2013) informan los contenidos de K, Ca, Mg y P (165; 12,77; 10,80 y 9,18mg L⁻¹ respectivamente) para infusiones de *R. canina* L, obtenidas al realizar la extracción de 1g/15 minutos en agua hirviente, como puede observarse dichas concentraciones son mayores a las obtenidas para *M. pinnatus*.

Estos resultados permiten afirmar que, la cantidad de minerales en la infusión dependerá de la eficacia de la extracción de los constituyentes en las condiciones de preparación y de la concentración total de los elementos en las hojas de las hierbas medicinales.

En función de su extracción en agua hirviente se puede establecer que el K fue el

elemento más soluble para las tres especies analizadas, sin embargo desde el punto de vista de la eficiencia de la extracción lo podemos clasificar como elemento moderadamente extractable ya que en ninguno de los casos superó al 55%, difiriendo en este sentido con Pytlakowska *et al.* (2012) que clasifican a este elemento en el grupo de los altamente extractables. La extractabilidad del potasio podría ser explicada por sus propiedades químicas. Por otro lado, los otros elementos alcalinos como Mg y Ca tuvieron un comportamiento diferente para cada una especies consideradas de igual modo que el P coincidiendo con la clasificación realizada por Pytlakowska *et al.* (2012) solo para *T. megapotamicum*.

Estas diferencias en la extracción estarían reflejando su característica química y los comportamientos biológicos en hojas de la planta junto a su solubilidad en infusiones de hierbas.

**3.2.2. ELEMENTOS MINERALES ESENCIALES MINORITARIOS
(MICROELEMENTOS)**

Tabla 3.7.: Concentración de elementos minerales esenciales (oligoelementos) en materia seca e infusión de *P. sagittalis*, (“yerba lucera”), n=15.

Elemento	Límite de Cuantificación (ppm)	Concentración en Materia Seca (mg kg⁻¹)	Concentración en Infusión (mg L⁻¹)	Eficiencia extracción (%)
Al	0,06	242 ± 76	0,113 ± 0,052	0,93
Co	0,006	0,50 ± 0,15	0,013±0,008	52,0
Cr	0,012	1,32 ± 0,41	<0,01	-
Cu	0,009	6,64 ± 2,09	0,04 ± 0,005	12,04
Fe	0,02	265 ± 82	0,04 ± 0,005	0,30
Li	0,006	1,15 ± 0,35	<0,006	-
Mn	0,003	75 ± 23	0,30 ± 0,056	7,90
Mo	0,015	24,96 ± 7,80	0,04 ± 0,002	3,21
Na	0,06	1650 ± 517	19,6 ± 2,4	23,8
Ni	0,03	1,50 ± 0,46	<0,03	-
Se	0,15	0,90 ± 0,15	<0,015	-
V	0,009	0,60 ± 0,19	<0,009	-
Zn	0,006	45,19 ± 14,42	0,122 ± 0,055	5,40

Tabla 3.8: Concentración de elementos minerales esenciales (oligoelementos) en materia seca e infusión de *T. megapotamicum* (“té pampa”), n=15.

Elemento	Límite de Cuantificación (ppm)	Concentración en Materia Seca (mg kg⁻¹)	Concentración en Infusión (mg L⁻¹)	Eficiencia extracción (%)
Al	0,06	298 ± 93	0,22 ± 0,01	1,45
Co	0,006	0,23 ± 0,067	<0,006	-
Cr	0,02	3,25 ± 1,12	<0,01	-
Cu	0,009	9,08 ± 2,84	0,14 ± 0,06	30,00
Fe	0,02	270 ± 87	0,15 ± 0,062	1,12
Li	0,006	8,60 ± 2,70	0,26 ± 0,042	59,77
Mn	0,003	25,9 ± 8,32	0,39 ± 0,08	30,00
Mo	0,015	0,77 ± 0,24	<0,015	-
Na	0,06	145 ± 45	3,94 ± 1,35	54,20
Ni	0,03	1,88 ± 0,63	<0,03	-
Se	0,15	0,30 ± 0,07	<0,15	-
V	0,009	0,80 ± 0,25	<0,009	-
Zn	0,006	56,01 ± 17,3	1,49 ± 0,08	53,00

Tabla 3.9: Concentración de elementos minerales esenciales (oligoelementos) en materia seca e infusión de *M. pinnatus* (perlilla), n=15.

Elemento	Límite de Cuantificación (ppm)	Concentración en Materia Seca (mg kg ⁻¹)	Concentración en Infusión (mg L ⁻¹)	Eficiencia extracción (%)
Al	0,06	1536 ± 209	0,284 ± 0,05	0,37
Co	0,006	0,63 ± 0,08	<0,06	-
Cr	0,012	3,23 ± 0,56	0,019 ± 0,005	11,75
Cu	0,009	6,98 ± 0,82	0,022 ± 0,005	6,30
Fe	0,012	980 ± 60	0,15 ± 0,02	0,31
Li	0,006	5,42 ± 0,73	<0,06	-
Mn	0,003	59,62 ± 4,02	0,086 ± 0,008	2,88
Mo	0,015	0,41 ± 0,07	<0,015	-
Na	0,06	250 ± 19	1,09 ± 0,02	8,70
Ni	0,03	2,69 ± 0,19	<0,03	-
V	0,009	6,56 ± 0,39	<0,09	-
Zn	0,006	12,14 ± 1,63	0,029 ± 0,009	4,78

Los elementos minerales denominados oligoelementos son aquellos que tanto las plantas como los seres humanos necesitan en pequeñas cantidades para el mantenimiento normal de las funciones fisiológicas pero que pasado cierto umbral pueden ser tóxicos.

En el material vegetal seco de *P. sagittalis* se encontraron concentraciones de Al, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Na, Ni, Se, V y Zn que variaron entre 242,32 mg kg⁻¹ para el

Al y $0,50 \text{ mg kg}^{-1}$ para el Co, en *T. megapotamicum* se encontraron los mismos elementos que para la especie mencionada anteriormente en concentraciones que oscilaron entre 298 mg kg^{-1} para el Al y $0,23 \text{ mg kg}^{-1}$ para el Co mientras que para *M. pinnatus* también se registraron los mismos elementos con excepción del Se y las concentraciones de los mismos presentaron una variación entre 1536 mg kg^{-1} para el Al y $0,41 \text{ mg kg}^{-1}$ para el Mo.

Al comparar las concentraciones de estos elementos obtenidas para *P. sagittalis*, *T. megapotamicum* y *M. pinnatus* con las informadas por diversos investigadores que trabajaron con plantas medicinales de Argentina, India, Polonia, Bulgaria, entre otros, se puede observar una gran variabilidad en las mismas. Es así que, las concentraciones de Co y Cr obtenidas para las dos especies de Asteraceae en este trabajo fueron similares a las obtenidas por Cantarelli *et al.* (2010) que analizaron dos especies de plantas medicinales perteneciente a la familia Asteraceae que crecen en Argentina, en tanto que las concentraciones de Cr, Fe, Mn, Ni y V fueron menores y las de Al y Zn mayores que las obtenidas por estos autores.

Arceusz *et al.* (2012) obtuvieron para plantas medicinales de la familia Asteraceae concentraciones de Fe, Zn y Na similares a las encontradas en este trabajo para las dos especies de la familia de referencia analizadas.

Arumugam *et al.* (2012) informan para plantas medicinales de la India concentraciones de Al, Co, Cu, Fe, Ni y Zn menores y valores de Cr mayores que las registradas para *P. sagittalis*, *T. megapotamicum*, en tanto que, para las concentraciones de Na encontradas en *P. sagittalis* son mayores y en *T. megapotamicum* menores a las referenciadas en su trabajo. De igual modo, Pytlakowska *et al.* (2012) que analizaron para distintas especies de plantas medicinales, reportan resultados para Cu, Fe y Mn que coinciden con expresado anteriormente, mientras que las concentraciones de Al que

encontraron fueron similares a las obtenidas en *P. sagittalis* y menores en *T. megapotamicum*, las de Na mayores y las Zn menores a las registradas para *P. sagittalis* y ambas similares en *T. megapotamicum*.

Petenatti *et al.* (2011) al analizar hierbas medicinales de distintas especies de Argentina, encontraron concentraciones de Fe, Co, Cr, Cu y Mn similares, de Al mayores y de Zn menores que las informadas en este trabajo para *P. sagittalis*, *T. megapotamicum*, en tanto que, las concentraciones de Na y Se fueron menores y las de Li mayores que las encontradas en *P. sagittalis* y similares para *T. megapotamicum*.

Subramanian y Subbramaniyan (2012) que también analizaron plantas medicinales de la India, encontraron valores Fe, Cu, Mn y Zn menores a las obtenidas en nuestro trabajo para todas las especies analizadas.

Del análisis de oligoelementos en material vegetal seco de *R. canina* L, planta utilizada como diurético, perteneciente a la familia Rosáceas, procedentes de la República Checa, Turquía y Bulgaria, realizados por Malik *et al.* (2013), Ozcan *et al.* (2008) y Gentscheva *et al.* (2010) se desprende que las concentraciones de Al, Fe, Ni y Zn encontradas por estos investigadores son menores a las halladas para *M. pinnatus*, en tanto que, las concentraciones de Cu y Mn son similares a las reportadas por el primer autor y más altas que las informadas por el segundo, mientras que el tercer autor informa concentraciones de Co y Mn similares a los encontrados en este trabajo.

Las concentraciones de V en material vegetal de *P. sagittalis* y *T. megapotamicum* fueron similares a las encontradas en hierbas de Tailandia (Nookabkaew *et al.*, 2006) y menores a las obtenidas en hierbas de Argentina por Gómez *et al.* (2007), por el contrario, en material vegetal de *M. pinnatus* las concentraciones de este elemento fueron mucho más altas que las informadas por los dos autores anteriores.

En las infusiones se puede observar una notable disminución de las concentraciones de los elementos presentes en el material vegetal.

En las infusiones de *P. sagittalis* solo se encontraron Al, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Na y Zn, los demás elementos analizados estuvieron por debajo del Límite de Cuantificación. La mayor concentración mineral registrada correspondió al Na con un valor de 19,6 mg L⁻¹ y el menor valor estuvo compartido por Cu y Mo (0,04 mg L⁻¹); en las infusiones de *T. megapotamicum* solo se registraron las concentraciones de Al, Cu, Fe, Li, Mn, Na y Zn presentándose los demás elementos por debajo del Límite de Cuantificación, en esta especie el mayor valor también fue para el Na (3,94 mg L⁻¹) y el menor valor fue para el Cu (0,14 mg L⁻¹) en tanto que, en las infusiones de *M. pinnatus* solamente se hallaron concentraciones de Al, Cr, Cu, Fe, Mn, Na y Zn ya que los demás elementos al igual que en los casos anteriores presentaron valores por debajo del Límite de Cuantificación. Estas concentraciones elementales variaron entre 1,09 mgL⁻¹ para Na y 0,019 mg L⁻¹ para Cr.

Pytlakowska *et al.* (2012) al analizar las infusiones de hierbas medicinales preparadas en un tiempo de 10 minutos obtuvieron valores de Al, Cu, Fe, Mn, Na y Zn mayores que los informados en este trabajo para las tres especies analizadas y que fueran preparados en igual tiempo (Farmacopea Argentina, 2003, con modificación).

Petenatti *et al.* (2011) analizaron infusiones de plantas medicinales de Argentina de diferentes familias botánicas, preparadas de acuerdo a lo establecido por la Farmacopea Argentina (2003) encontrando concentraciones de Al y de Fe más altas y de Na más bajas que las obtenidas en *P. sagittalis* y similares a las determinadas en *T. megapotamicum* y *M. pinnatus*, concentraciones de Mn y Cu similares a las obtenidas en las tres especies analizadas, en tanto que, las concentraciones de Zn fueron más altas que las de *P. sagittalis* y *M. pinnatus* y similares en *T. megapotamicum*.

Malik *et al.* (2013) y Gentscheva *et al.* (2010) analizaron infusiones y decocciones de plantas medicinales pertenecientes a la familia Rosácea, preparada en un tiempo de 10 minutos el primero y de 30 minutos para el segundo, a fin de determinar el contenido de oligoelementos. Los resultados obtenidos para *M. pinnatus* para Mn, Zn fueron menores que los encontrados por Gentscheva *et al.* (2010) y Malik *et al.* (2013), en tanto que las concentraciones Al y de Fe fueron mayores que las informadas por Malik *et al.* (2013) mientras que, todos estos elementos presentaron concentraciones menores que las reportadas por otros autores.

Respecto del porcentaje que pasa del material vegetal seco a la infusión, los valores difieren ampliamente en cada una de las hierbas analizadas, de este modo se puede observar que para *P. sagittalis* solo el Co y Na se los puede incluir dentro del rango de los elementos moderadamente extractables el resto de los mismos se los puede caracterizar como pobremente extractables, mientras que para *T. megapotamicum* al Li se lo debe considerar como altamente extractable, al Na, Zn y Mn como moderadamente extractables y al Al y Fe como pobremente extractable, en tanto que para *M. pinnatus* todos los elementos analizados se ubican dentro del rango pobremente extractables. Estos resultados, en general, coinciden con lo informado por Pytlakowska *et al.* (2012).

Gentescheva *et al.* (2010) informan porcentajes de extracción para Fe, Mn y Zn (17%, 23% y 21% respectivamente) más altos que los obtenidos para tres especies estudiadas.

3.2.3. OTROS ELEMENTOS MINERALES

Tabla 3.10: Concentración de otros elementos minerales minoritarios en materia seca e infusión de *P. sagittalis* (“yerba lucera”), n=15.

Elemento	Límite de Cuantificación (ppm)	Concentración en Materia Seca (mg kg ⁻¹)	Concentración en Infusión (mg L ⁻¹)	Eficiencia extracción (%)
Ag	0,021	0,083 ± 0,03	<0,021	-
As	0,105	2,20 ± 0,60	<0,01	-
Ba	0,003	65,80 ± 20,80	0,232 ± 0,015	7,05
Cd	0,003	0,04 ± 0,01	<0,003	-
Ga	0,05	1,10 ± 0,33	<0,005	-
Hg	0,03	0,050 ± 0,009	<0,003	-
La	0,01	0,35 ± 0,11	<0,01	-
Nb	0,05	0,035 ± 0,02	<0,1	-
Pb	0,084	1,30 ± 0,40	<0,084	-
S	0,5	8740 ± 2745	<0,50	-
Sc	0,2	0,054 ± 0,044	<0,2	-
Sn	0,051	0,236 ± 0,082	<0,051	-
Sr	0,001	99,80 ± 31,6	0,45 ± 0,02	9,01
Ta	0,05	0,132 ± 0,020	<0,05	-
Ti	0,006	16,19 ± 5,1	<0,10	-
W	0,5	0,34 ± 0,05	<0,51	-
Y	0,01	0,14 ± 0,04	<0,01	-
Zr	0,01	0,25 ± 0,07	<0,01	-

Tabla 3.11: Concentración de otros elementos minerales minoritarios en materia seca e infusión de *T. megapotamicum* (“té pampa”), promedio de quince repeticiones.

Elemento	Límite de Cuantificación (ppm)	Concentración en Materia Seca (mg kg⁻¹)	Concentración en Infusión (mg L⁻¹)	Eficiencia extracción (%)
Ag	0,021	0,22 ± 0,02	<0,021	-
As	0,105	0,61 ± 0,19	<0,105	-
Ba	0,003	4,64 ± 1,54	0,04 ± 0,005	17,26
Bi	0,1	0,02 ± 0,002	<0,10	-
Cd	0,003	0,01 ± 0,003	<0,003	-
Ga	0,05	0,12 ± 0,02	<0,05	-
La	0,01	0,28 ± 0,08	<0,01	-
Nb	0,05	0,03 ± 0,02	<0,10	-
Pb	0,084	1,20 ± 0,36	<0,05	-
S	0,5	1775 ± 557	<0,50	-
Sc	0,2	0,06 ± 0,04	<0,2	-
Sn	0,051	0,61 ± 0,07	<0,5	-
Sr	0,001	123 ± 37	1,9 ± 0,08	30,79
Ti	0,006	20,59 ± 6,29	<0,10	-
Tl	0,081	0,02 ± 0,002	<0,10	-
W	0,5	0,21 ± 0,09	<0,5	-
Y	0,01	0,15 ± 0,04	<0,01	-
Zr	0,01	0,23 ± 0,06	<0,01	-

Tabla 3.12: Concentración de otros elementos minerales minoritarios en materia seca e infusión de *M. pinnatus* (“perlilla”), promedio de quince repeticiones.

Elemento	Límite de Cuantificación (ppm)	Concentración en Materia Seca (mg kg ⁻¹)	Concentración en Infusión (mg L ⁻¹)	Eficiencia extracción (%)
As	0,105	0,68 ± 0,03	<0,105	-
B	0,009	16,89 ± 2,11	0,042 ± 0,01	4,97
Ba	0,003	21,79 ± 1,43	<0,03	-
Sb	0,063	0,48 ± 0,04	<0,06	-
Si	0,06	637 ± 25	1,25 ± 0,98	3,92
Sr	0,001	37,64 ± 3,85	0,030 ± 0,006	1,59
Th	0,09	2,21 ± 0,50	<0,09	-
Ti	0,006	83,63 ± 9,85	<0,06	-

También se determinaron tanto en el material vegetal seco como en sus infusiones otros 18 elementos. La esencialidad de muchos de ellos aún está siendo discutida mientras que en otros casos resultan importantes por su toxicidad (Bowman y Russell, 2003).

En el material vegetal seco de *P. sagittalis* se determinaron las concentraciones de Ag, As, Ba, Cd, Ga, Hg, La, Nb, Pb, S, Sc, Sn, Sr, Ta, Ti, W, Y y Zr, las que oscilaron entre 8740 mg kg⁻¹ para S y 0,035 mg kg⁻¹ para Nb. En *T. megapotamicum* se encontraron los mismos elementos que para la especie citada anteriormente, con excepción

del Hg y el Ta, pero se agregaron Bi y Tl. Los valores de estos elementos variaron entre 1775 mg kg⁻¹ para S y 0,01 mg kg⁻¹ para Cd mientras que en *M. pinnatus* solo se detectaron concentraciones de As, B, Ba, Sb, Si, Sr, Th y Ti, las cuales oscilaron entre 637 mg kg⁻¹ para Si y 0,48 mg kg⁻¹ para Sb.

La mayor parte de los elementos analizados se presentó en bajas concentraciones.

En el material vegetal seco de *P. sagittalis* y *T. megapotamicum* las concentraciones de S fueron mayores que las encontradas por Cantarelli *et al.* (2010) en plantas medicinales de la familia Asteraceae de Argentina y menores a las informadas por Lemberkovics *et al.* (2002) en plantas medicinales de Hungría.

Las concentraciones Ba, Cd, Pb y Ti en estas dos especies fueron menores y las de La e Y similares a las obtenidas por Cantarelli *et al.* (2010) mientras que las concentraciones de As encontradas para *P. sagittalis* fueron mayores y las correspondientes a *T. megapotamicum* fueron similares a las obtenidas por estos investigadores.

Lemberkovics *et al.* (2002) obtuvieron concentraciones de Pb similares, de Ti menores y de Cd mayores que las encontradas en las dos especies de Asteraceae analizadas en este trabajo. De igual modo, Subramanian y Subbramaniyan (2012) también reportan concentraciones de Pb y Cd mayores respecto de estas dos especies.

Las concentraciones de Sr en material vegetal de *P. sagittalis* y *T. megapotamicum* fueron mayores que las obtenidas por Cantarelli *et al.* (2010) y Pytlakowska *et al.* (2012), en tanto que, en *M. pinnatus* las concentraciones similares a los reportados por los dos autores de referencia.

En *P. sagittalis* las concentraciones de Ba fueron mayores que las reportadas por Pytlakowska *et al.* (2012) y Nookabkaew *et al.* (2006), sin embargo, en *T. megapotamicum* fueron mayores respecto del primer autor y menores para el segundo, en tanto que, para *M. pinnatus* estas concentraciones fueron similares al compararlas con el primer autor de referencia y mayores al compararlas con el segundo autor.

Al analizar las infusiones de *P. sagittalis* y *T. megapotamicum* solo se encontraron concentraciones de Ba (0,232 mg kg⁻¹ y 0,45 mg kg⁻¹) y Sr (0,04 mg kg⁻¹ y 1,9 mg kg⁻¹), en tanto que, en las infusiones de *M. pinnatus* se determinaron solo concentraciones B (0,042 mg kg⁻¹), Si (1,25 mg kg⁻¹) y Sr (0,030 mg kg⁻¹).

Las concentraciones de B, obtenidas en infusiones de *M. pinnatus* son menores a las reportadas por Pytlakowska *et al.* (2012), mientras que, las concentraciones de Ba en *P. sagittalis* y *T. megapotamicum* son menores a las obtenidas por estos autores. Al comparar las concentraciones de Sr obtenidas por estos mismos autores se puede determinar son mayores que las obtenidas en *P. sagittalis* y *M. pinnatus* y similares a las de *T. megapotamicum*. Las infusiones de las tres especies analizadas se prepararon en un tiempo de 10 minutos similar al utilizado por los autores de referencia en la preparación de las infusiones (Farmacopea Argentina, 2003, con modificación).

Respecto de la extractabilidad en *P. sagittalis* y *T. megapotamicum* el Sr registró el mayor porcentaje (9,01 % y 30,79 % respectivamente) mientras que en *M. pinnatus* se dio el siguiente orden B (4,97 %) > Si (3,92 %) > Sr (1,59 %).

Al considerar porcentaje que pasa del material vegetal seco a la infusión se puede observar que los valores difieren ampliamente en cada una de las hierbas analizadas, tal así que, de acuerdo con Pytlakowska *et al.* (2012) el Sr puede considerarse como moderadamente extractable en *T. megapotamicum* mientras que en *P.*

sagittalis y *M. pinnatus* se comporta como pobremente extractable, rango dentro del cual se ubican los demás elementos encontrados en esta última especie.

3.2.4. CONTRIBUCIÓN DE LAS INFUSIONES AL REQUERIMIENTO DE MINERALES POR LA INGESTA DIETARIA DIARIA

Tabla 3.13: Contribución de la infusión de *P. sagittalis* a la ingesta diaria recomendada o máxima tolerada de minerales calculada en un tratamiento vía oral típico.

Elemento	Concentración en infusión (mg L ⁻¹)	Promedio de ingesta diaria (mg)	Ingesta diaria recomendada o máx. tolerada (mg día ⁻¹) ^(a)	Contribución a la ingesta diaria recomendada o máxima tolerada (%)
Al	0,113 ± 0,052	0,050	2 – 10	0,51 – 2,54
Ba	0,232 ± 0,015	0,104	8 -11	0,94 – 1,30
Ca	94 ± 22	42,21	1000 – 1200	3,52 – 4,22
Co	0,013 ± 0,008	0,005	0,04 ^(*)	12,5
Cu	0,040 ± 0,005	0,018	0,9	2,0
Fe	0,040 ± 0,005	0,018	8 – 18	0,10 – 0,225
K	400 ± 24	180	4700	3,8
Mg	8,45 ± 0,87	3,80	310 -320	1,19 - 1,22
Mn	0,30 ± 0,056	0,136	1,8 – 2,3	5,93 – 7,57
Mo	0,04 ± 0,002	0,017	0,045	38,9
Na	19,61 ± 2,4	8,82	1500	0,59
P	9,63 ± 1,7	4,33	700	0,619
Sr	0,45 ± 0,02	0,198	4 ^(**)	4,95
Zn	0,122 ± 0,055	0,055	8 – 11	0,50 – 0,69

^(a) Fuentes: IOM. Food and Nutrition Board, 1997, 2000, 2001; Committee on Toxicity of Chemical in Food Consumer Products and the Environment, 2003. ^(*) Mahan and Scott-Stump, 1996. ^(**) WHO, 2010.

Tabla 3.14: Contribución de la infusión de *T. megapotamicum* a la ingesta diaria recomendada o máxima tolerada de minerales calculada en base a un tratamiento vía oral típico

Elemento	Concentración en infusión (mg L⁻¹)	Promedio de ingesta diaria (mg)	Ingesta diaria recomendada o máxima tolerada (mg día⁻¹)^(a)	Contribución a la ingesta diaria recomendada o máxima tolerada (%)
Al	0,217 ± 0,015	0,097	2 – 10	0,98 – 4,88
Ba	0,04 ± 0,005	0,018	8 -11	0,16 – 0,22
Ca	102,32 ± 25,3	46,04	1000 – 1200	3,83 - 4,60
Cu	0,138 ± 0,06	0,062	0,9	6,9
Fe	0,151 ± 0,062	0,068	8 – 18	0,37 – 0,85
K	257 ± 12	115,79	4700	2,46
Li	0,256 ± 0,042	0,112	0,2 – 0,6	18,75 – 56,25
Mg	26,4 ± 1,6	11,88	310 -320	3,71 - 3,80
Mn	0,389 ± 0,087	0,175	1,8 – 2,3	7,5 – 9,22
Na	3,945 ± 1,35	1,755	1500	0,117
P	31,9 ± 6,4	14,35	700	2,05
Sr	1,90 ± 0,08	0,855	4 ^(*)	21,37
Zn	1,48 ± 0,08	0,669	8 – 11	6,08 – 8,36

^(a) Fuentes: IOM. Food and Nutrition Board, 1997, 2000, 2001; Committee on Toxicity of Chemical in Food Consumer Products and the Enviroment , 2003. ^(*) WHO, 2010.

Tabla 3.15: Contribución de la infusión de *M. pinnatus* a la ingesta diaria recomendada de minerales calculada en base a un tratamiento vía oral típico.

Elemento	Concentración en infusión (mg L ⁻¹)	Promedio de ingesta diaria (mg)	Ingesta diaria recomendada o máxima tolerada (mg día ⁻¹) ^(a)	Contribución a la ingesta diaria recomendada o máxima tolerada (%)
Al	0,284 ± 0,05	0,13	2 – 10	1,27 – 6,4
B	0,042 ± 0,01	0,019	20	0,094
Ca	10,23 ± 1,56	4,60	1000 – 1200	0,38 – 0,46
Cr	0,019 ± 0,005	0,0084	0,025	33,6
Cu	0,022 ± 0,005	0,01	0,9	1,096
Fe	0,150 ± 0,264	0,068	8 – 18	0,37 – 0,85
K	41,76 ± 6,98	1,88	4700	0,039
Mg	4,18 ± 1,35	1,88	310 -320	0,59 - 0,61
Mn	0,086 ± 0,008	0,039	1,8 – 2,3	1,68 – 2,14
P	3,56 ± 1,54	1,60	700	0,23
Si	1,25 ± 0,98	0,562	2 – 5	11,2 – 28,1
Sr	0,030 ± 0,006	0,014	4 ^(*)	0,35
Zn	0,029 ± 0,009	0,013	8 – 11	0,12 – 0,16

^(a) Fuentes: IOM. Food and Nutrition Board, 1997, 2000, 2001; Committee on Toxicity of Chemical in Food Consumer Products and the Enviroment , 2003. ^(*) WHO, 2010.

A partir de las concentraciones de los distintos elementos minerales presentes en las infusiones de preparadas con la droga cruda de las tres especies medicinales estudiadas en este trabajo, se calculó la contribución que un tratamiento típico, con cada una de ellas,

realiza para satisfacer el requerimiento diario de minerales en la dieta del ser humano y se también se estimó los potenciales riesgos para la salud generados por una dosis alta de minerales tóxicos o potencialmente tóxicos.

Se tomó como base el consumo promedio de infusiones de hierba medicinales para una persona, hombre o mujer de entre 19 y 50 años de edad, que en un tratamiento típico, ingiere 450 mL al día (tres tazas de 150 mL cada una). La infusión fue preparada con 5 g de material vegetal seco en agua hirviendo durante 10 minutos (Farmacopea Argentina, 2003, con modificación).

Los valores de ingesta diaria o máxima tolerada se obtuvieron a partir de los parámetros establecidos por organizaciones internacionales y autoridades nacionales para los distintos minerales y en función de ellos se determinó la contribución porcentual que estas infusiones realizan a la dieta diaria (ANMAT, 2007; Blumenthal, 2000; British Pharmacopoeia Commission, 2007; COT, 2003; Standing Committee on the Scientific Evaluation of DRIs, 1997, 2000a, 2000b, 2004; USP30/NF25, 2007; WHO 1996, 1998, 2010).

Los resultados obtenidos permiten agrupar los elementos en función del porcentaje de contribución a la ingesta diaria, para cada una de las especies medicinales analizadas:

- *P. sagittalis* (Tabla 4.10)

- 0 a 10%: Al, Ba, Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Sr, Zn.

- Más del 10%: Mo.

- El resto de los elementos analizados Cr, Li, Ni, Se, y V presentaron concentraciones por debajo del Límite de Cuantificación.

- *T. megapotamicum* (Tabla 4.11)
 - 0 a 10%: Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Zn.
 - Más del 10%: Li, Sr.
 - El resto de los elementos analizados Co, Cr, Mo, Ni, Se, y V presentaron concentraciones por debajo del Límite de Cuantificación.

- *M. pinnatus* (Tabla 4.12)
 - 0 a 10%: Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr, Zn.
 - Más del 10%: Cr, Si.
 - El resto de los elementos analizados Co, Li, Mo, Ni, y V presentaron concentraciones por debajo del Límite de Cuantificación.

En todas las infusiones se encontraron variables concentraciones de Ca, Fe, Mg, K, Mn, P y Zn. Estos elementos cumplen un rol importante en los procesos fisiológicos involucrados en la salud humana.

El potasio es el principal catión intracelular y también puede ser considerado como un muy importante constituyente de los fluidos extracelulares. Está también involucrado con la transmisión de los impulsos eléctricos en las células nerviosas y el mantenimiento del balance de los fluidos en el cuerpo (Kirmani *et al.*, 2011; Vermani *et al.*, 2010). El consumo diario recomendado de este elemento es de 4700 mg. Las infusiones de *P. sagittalis* y de *T. megapotamicum* contribuyen con un porcentaje de 3,8 y 2,46 respectivamente, mientras que las infusiones de *M. pinnatus* solo lo hacen con un

0,039%.

El calcio aporta calidad estructural a los huesos y dientes, también es necesario para la transmisión neuromuscular y actúa como activador enzimático (Vermani *et al.*, 2010). La ingesta diaria recomendada es de 1000 a 1200 mg por día. Las contribuciones de las dos especies de Asteraceae oscilan entre 3,52 y 4,60% y la especie correspondiente a la familia Rosáceas contribuye con promedio de 0,42%.

El magnesio es el cuarto catión más abundante en el cuerpo humano; una parte se encuentra presente en los huesos asociado con el Ca y el P y el resto en los tejidos blandos y fluidos del cuerpo. También es un activador de enzimas (Vermani *et al.*, 2010). La ingesta diaria recomendada es de 310 a 320 mg por día; *P. sagittalis* contribuye con un porcentaje que oscila entre 1,19 y 1,22, *T. megapotamicum* con un porcentaje entre 3,71 y 3,80 mientras que *M. pinnatus* lo hace con una variación entre 0,59 y 0,61%.

El fósforo es el mayor elemento de los fluidos intracelulares, de los fosfolípidos, de las coenzimas NAD y NADP y especialmente del ATP y otros componentes energéticos (Vermani *et al.*, 2010). La contribución a la ingesta diaria o máxima tolerada (700 mg día^{-1}), de las infusiones analizadas fue para *P. sagittalis* de un 0,61%, para *T. megapotamicum* 2,05% y para *M. pinnatus* 0,23%.

El manganeso es uno de los minerales relacionados con el metabolismo de los carbohidratos y las grasas también se reporta como esencial para la formación de la hemoglobina pero su exceso es perjudicial (Goldhaber, 2003; Kirmani *et al.*, 2011; Vermani *et al.*, 2010). Se considera ingesta adecuada el consumo de 1,8 a 2,3 mg por día. La contribución de las infusiones de *P. sagittalis* variaron entre 5,9 y 7,3 %, las de *T. megapotamicum* entre 7,5 y 9,2 % y las de *M. pinnatus* entre 1,6 y 2,8 %.

El zinc es uno de los componentes que participan de numerosas reacciones

enzimáticas, importante para el normal crecimiento y la reproducción y como cofactor para la insulina; también ayuda a cicatrización de heridas (Goldhaber 2003, Kirmani *et al.* 2011, Vermani *et al.* 2010). El consumo de entre 8 y 11 mg día⁻¹ se considera una ingesta adecuada. La de mayor porcentaje de contribución fue la infusión de *T. megapotamicum* (6,08 – 8,3 %), seguido por *P. sagittalis* (0,50-0,69 %) y *M. pinnatus* (0,12 – 0,16 %).

El hierro es el elemento mejor conocido en el sistema biológico. Es el constituyente de la hemoglobina. Lleva a cabo un amplio rango de funciones biológicas, algunas de las cuales están relacionadas con los procesos de oxidación-reducción y con otros procesos por los cuales se conserva la energía en el cuerpo.

En el presente trabajo *T. megapotamicum* y *M. pinnatus* contribuyen con promedio de 0,61 % mientras que *P. sagittalis* lo hace con un promedio de 0,17 % para una ingesta máxima recomendada que oscila entre 8 y 18 mg por día.

El cobre es un elemento necesario para la actividad biológica normal en importantes reacciones enzimáticas y también de proteínas (Goldhaber 2003, Kirmani *et al.* 2011). La contribución de las infusiones analizadas en este trabajo para la tres especies citadas es de un 2,0, 6,9 y 1,09 %, siendo la máxima tolerada o recomendada de 0,9 mg día⁻¹.

El sodio es un mineral importante para el control del volumen de los fluidos en el cuerpo humano y ayuda a mantener los niveles de ácido-base, aunque niveles elevados pueden causar daños a la salud (Kirmani *et al.* 2011). La ingesta máxima tolerada es de 1500 mg por día. Solo se han encontrado concentraciones de este elemento en *P. sagittalis* y *T. megapotamicum* las cuales contribuyen a esa ingesta con un 0,59 y un 0,11 % respectivamente.

El cobalto es un elemento beneficioso para el cuerpo humano ya que forma parte de la vitamina B₁₂, que es esencial para la salud. Es usado también en el tratamiento de la anemia ya que estimula la producción de glóbulos rojos, sin embargo, altas concentraciones pueden provocar daños en la salud (Kirmani *et al.* 2011). Sólo fue detectado en *P. sagittalis* cuya infusión aporta un 12,5 % a la ingesta máxima adecuada, cuyo valor es de 0,04 mg día⁻¹.

El cromo es conocido como un elemento tóxico en el mundo, en elevadas concentraciones es tóxico tanto para plantas como animales (Kirmani *et al.* 2011). Sin embargo, el cromo trivalente es esencial para el mantenimiento normal del metabolismo de la glucosa (Goldhaber 2003). Solo se encontró en *M. pinnatus* cuya infusión aporta un 0,094 % de la ingesta máxima que está estipulada en 0,025 mg día⁻¹.

No se conoce ningún papel biológico del aluminio y el cuerpo humano tiene barreras muy efectivas contra su asimilación. Sólo una mínima parte del aluminio presente en la dieta se absorbe en el aparato digestivo, y la mayor parte se excreta rápidamente a través de los riñones, pero puede resultar tóxico cuando el organismo se expone a excesivas cantidades. La ingesta diaria adecuada oscila entre 2 y 10 mg día⁻¹. Las concentraciones de aluminio en las tres especies analizadas en el presente estudio dieron como resultado una contribución promedio de 1,5, 2,93 y 7,67 % para cada uno de ellas.

El litio se considera que actúa sobre los neurotransmisores y la permeabilidad celular. En dosis adecuada puede prevenir estados de depresiones. Solo se registró en infusiones de *T. megapotamicum* que contribuye con un porcentaje que oscila entre 18,75 y 56,25. El valor máximo de ingesta adecuada está entre 0,2 y 0,6 mg día⁻¹.

El boro ha sido consignado como un elemento probablemente esencial para los seres humanos sin obviar que el consumo en exceso puede resultar tóxico (Hund, 2003; Malina, 2004; Nielsen, 2000).

El silicio es un elemento sobre el cual hace relativamente poco se llamó la atención, es importante para aminorar o aliviar la toxicidad de otros elementos presentes en exceso como el Al o el Mn y para algunas plantas resulta esencial (Gunes *et al.* 2007). En los seres humanos proporciona resistencia al tejido conjuntivo. Sólo fue detectado en *M. pinnatus* cuya infusión contribuye con valor promedio de 20% a la ingesta máxima adecuada que oscila entre 2 y 5 mg día⁻¹.

El estroncio puede actuar como un sustituto imperfecto del calcio y puede realizar intercambio con este elemento en el tejido óseo. En el organismo, el estroncio probablemente forma complejos con hidroxapatita, carbonato, fosfato, citrato y lactato y puede interactuar con diversas proteínas de unión a calcio y de transporte de calcio. En muchas partes del mundo se estima un consumo máximo de hasta aproximadamente 4 mg día⁻¹. Este elemento fue determinado en la infusión de las tres especies de plantas medicinales analizadas, las que contribuyen respectivamente con un 4,95%, 21,37% y 0,35% del consumo máximo establecido.

El molibdeno es un elemento cuyo rol fundamental es actuar en enzimas tales como aldehído oxidasa y sulfito oxidasa (Goldhaber, 2003). Solo se encontró en la infusión de *P. sagittalis* que contribuye en un 38,9% a la ingesta máxima recomendada que es de 0,045 mg día⁻¹.

3.2.5. CONCLUSIONES PARCIALES

Se determinó la concentración de 36 elementos minerales en materia seca e infusiones de las tres especies estudiadas y en función de ellos se calculó el porcentaje de extractabilidad.

Se estableció la contribución de las infusiones a la ingesta diaria recomendada de los distintos elementos minerales.

En el material vegetal seco de las tres especies los elementos presentaron valores semejantes al hallado en la mayoría de las plantas alimenticias.

Se encontraron altas concentraciones de K, Ca, P y Mg. En el caso de los oligoelementos se hallaron concentraciones de Al, Fe, Na, Zn, Mn, Cu, Li, Cr, Ni, V, Mo, Se, y Co. Los elementos de mayor concentración fueron Al, Fe, Na y Zn y el de menor concentración fue el Co. El Se no fue detectado en *M. pinnatus*. Respecto de la concentración de otros elementos minoritarios, tanto para *P. sagittalis* como para *T. megapotamicum* se determinaron concentraciones de Ag, As, Ba, Cd, Ga, Hg, La, Nb, S, Sc, Sn, Sr, Ta, Ti, W, Y y Zn mientras que en *M. pinnatus* solo se encontraron concentraciones de As, B, Ba, Sb, Si, Sr, Th, Ti.

Del análisis de las infusiones se desprende no siempre la cantidad total de los elementos presentes en el material vegetal estarán presentes en las mismas. El orden de magnitudes de las concentraciones de K, Ca, P y Mg conserva similitud con el material vegetal seco, sin embargo, para los oligoelementos, solo se encontraron concentraciones Al, Cu, Fe, Mn, Na y Zn en las tres especies; también se hallaron concentraciones de Co y Mo en *P. sagittalis*; de Li en *T. megapotamicum* y de Cr en *M. pinnatus*.

Para los demás elementos minoritarios solo se encontró concentraciones de Ba y Sr en las plantas pertenecientes a la familia Asteraceae y B, Si y Sr en *M. pinnatus*.

La mayoría de los elementos se clasificó dentro del grupo moderadamente extractable y pobremente extractable.

Los valores obtenidos para la infusiones de cada de una de las especies de hierbas medicinales y la ausencia de algunos metales pesados como Pb, Cd, As, entre otros, indican que los minerales contenidos en ellas y administrados en forma de infusión a dosis terapéuticas, en ninguno de los casos, superan los niveles máximos permitidos; salvo caso de aumento de la ingesta (frecuencia de consumo) o que el material vegetal seco pueda ser ingerido o incorporado a formas distintas del extracto acuoso estudiado podrían generar un riesgo al consumirlas, desde el punto de vista de la ingestión de un exceso de elementos minerales.

Este trabajo constituye un aporte original al conocimiento de la composición mineral de *P. sagittalis*, *T. megapotamicum* y *M. pinnatus*; del pasaje de los minerales a las infusiones obtenidas a partir de cada una de ellas y de la contribución de minerales a la ingesta dietaria diaria adecuada de una persona, y en su caso a la ingesta máxima tolerada, ya que esta información no había sido encontrado en la bibliografía hasta el presente.

3.3. ANÁLISIS MULTIVARIADO

3.3.1. ANÁLISIS EXPLORATORIO DE DATOS

El análisis multivariado de los resultados de la composición multielemental obtenidos sobre muestras de material vegetal e infusiones, fue llevado a cabo con el objeto de explorar la posible presencia de patrones o relaciones algorítmicas entre los valores de concentraciones determinados, ya que estos patrones presentes en la estructura de datos pueden brindar información adicional resultante del análisis pormenorizado de los mismos, con la asistencia de herramientas quimiométricas adecuadas (Cantarelli *et al.*, 2010; Giménez *et al.*, 2012; Forina *et al.*, 2009; Gemperline, 2006; González y De La Guardia, 2013; González *et al.*, 2009), que corresponden a la familia de técnicas utilizadas en el Análisis Exploratorio de Datos (EDA) (Fernández León *et al.*, 2010; Lavine, 2009; Marini, 2013; Massart *et al.*, 1997; Meier y Zünd, 2000; Miller y Miller, 2005; Oliveri y Downey, 2013; Olivieri *et al.*, 2006; Otto, 2007; Toher *et al.*, 2007; Varmuza y Filzmoser, 2009). La aplicación de estas herramientas a una matriz de datos se propone como objetivo representar la información disponible de manera gráfica, en un número de dimensiones reducidas, para lograr una interpretación visual accesible. Con esta información gráfica se alcanza una interpretación más directa y confiable de similitudes, diferencias, tendencias, grupos y correlaciones en los datos, reemplazando a complicadas tablas o series numéricas. Así, con la aplicación del EDA se desplaza la atención desde la hipótesis a los datos y se evita realizar suposiciones previas sobre la distribución de datos o ajuste a modelos estadísticos establecidos, buscando visualizar la estructura de los datos, y establecer su naturaleza, relaciones entre ellos, el significado de la información oculta de lo que se ha evaluado en ellos, o hasta la ausencia completa de cualquiera de estas relaciones, si es el caso.

En el desarrollo de este acápite se utilizaron las siguientes herramientas de manera secuencial:

- Representación gráfica de los resultados mediante gráficos de barra agrupados por categoría
- Reducción del número de variables mediante el uso del método de Análisis de las Componentes Principales (PCA)
- Análisis de posibles agrupamientos entre muestras de acuerdo a las similitud entre las mismas, Análisis Cluster Jerárquico (HCA)
- Agrupamiento de muestras en un espacio de dimensiones reducidas, Análisis Lineal Discriminante (LDA), (Lavine y Rayens, 2009).

3.3.2. GRÁFICOS DE BARRAS

Los gráficos de barras o columnas son gráficos muy simples de interpretar; constituyen una forma de representar gráficamente un conjunto de datos o valores y está conformado por barras rectangulares de longitudes proporcionales a los valores representados. Estos histogramas son usados para comparar en forma gráfica y directa dos o más valores.

Se representan aquí los valores de las medias aritméticas correspondientes a cada elemento como barras, agrupadas según la especie vegetal a la que corresponden, cuyos valores numéricos se exponen además en las tablas correspondientes.

3.3.3. ANÁLISIS DE DATOS DE ELEMENTOS EN LAS MUESTRAS ESTUDIADAS.

Las figuras muestran los valores promedio de las concentraciones de cada elemento obtenidos por ICP-OES de cada especie. Los elementos fueron agrupados en

macroelementos y microelementos de acuerdo al rango de concentraciones detectadas, en distintas categorías correspondientes a elementos minerales esenciales (macroelementos y oligoelementos) y otros elementos minerales minoritarios, algunos de los cuales pueden ser considerados esenciales y otros se presentan como tóxicos.

3.3.3.1. ELEMENTOS MINERALES EN MATERIAL VEGETAL.

La figura 3.14 muestra los contenidos de elementos minerales determinados en material vegetal seco (expresados en mg kg^{-1} de peso seco).

Los tres elementos mayoritarios más abundantes en material vegetal fueron (en orden decreciente) el $\text{K} > \text{Ca} > \text{P}$. Adicionalmente, se puede observar en la Fig. 3.14 que el orden de abundancia para estos tres elementos mayoritarios resultó similar entre las especies, siendo (en orden decreciente): *P. sagittalis* (**Ps**) > *T. megapotamicum* (**Tm**) > *M. pinnatus* (**Mp**).

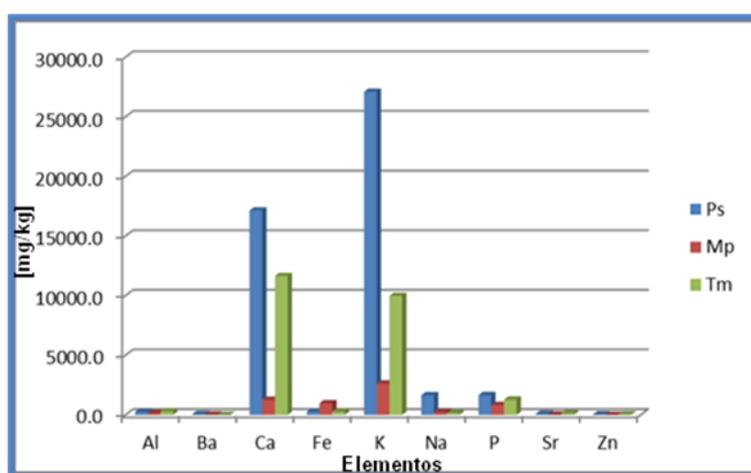


Figura 3.14. Elementos minerales en las muestras de material vegetal analizadas (mg kg^{-1})

Dada la gran diferencia de escalas entre las concentraciones del resto de los elementos representados con respecto a estos tres, se tornó necesario hacer un segundo gráfico con la escala ampliada (Fig. 3.15).

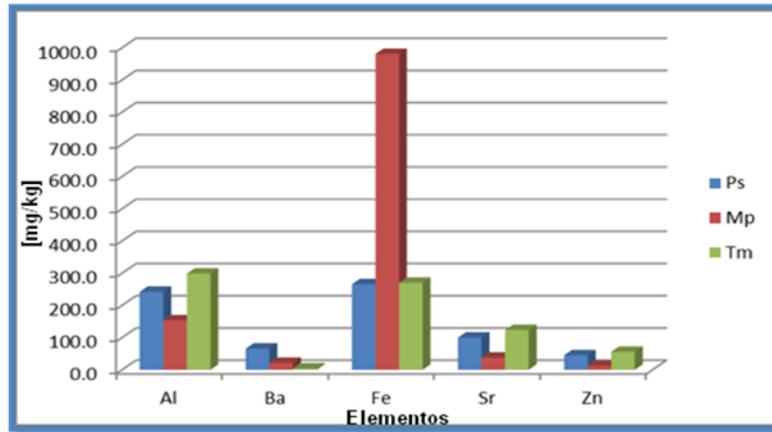


Figura 3.15. Elementos minerales en muestras de material vegetal con escala ampliada (mgkg^{-1})

Del segundo gráfico se desprende que el elemento más abundante de los representados fue el Fe, seguido por $\text{Al} > \text{Sr} > \text{Ba} > \text{Zn}$, excepto en el caso de las muestras de *T. megapotamicum* donde la relación de Fe y Al se ve levemente invertida. Resulta importante destacar que en la bibliografía, los elementos Fe y Zn son considerados microelementos, pero en las muestras analizadas los valores de concentración obtenidos, hicieron que sea más adecuada su representación y análisis en el grupo de los elementos mayoritarios.

En la Figura 3.16 se observa los valores promedios de las concentraciones de oligoelementos y otros elementos minoritarios en las muestras de material vegetal seco.

En general el orden de concentración entre elementos se repite entre las tres especies analizadas con algunas excepciones; en orden decreciente es: $\text{Cu} > \text{Li} > \text{Cr} > \text{Ni} > \text{V} > \text{Mo} > \text{Sn} > \text{As} > \text{Co} > \text{Ag}$.

Resulta interesante destacar que en el caso de *M. pinnatus* el segundo elemento en orden de abundancia es el V. En la actualidad no se ha podido demostrar aún su esencialidad para humanos, pero es considerado como un excelente antioxidante y es conocida su intervención en la regulación de carbohidratos en sangre.

Por otro lado, en las muestras correspondientes a *P. sagittalis* se observa en segundo orden de magnitud al elemento tóxico As, con valores cercanos a 2 mg kg^{-1} , por lo que su monitoreo en las infusiones de esta hierba resulta de gran importancia.

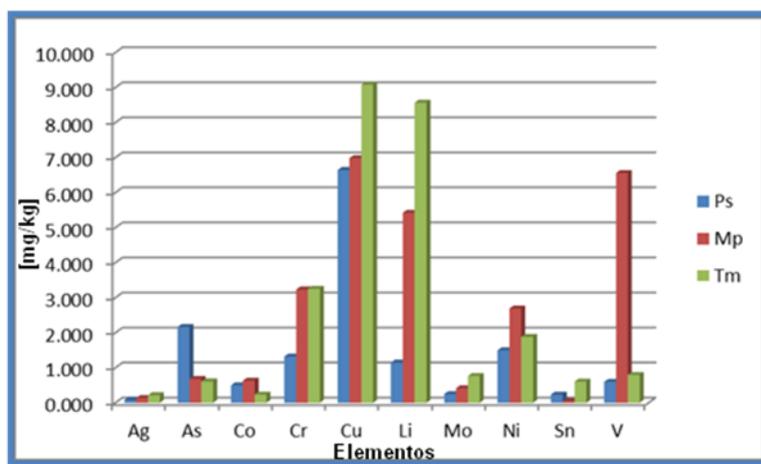


Figura 3.16. Oligoelementos y otros elementos minoritarios en material vegetal seca (mg kg^{-1})

3.3.4. INFUSIONES

En esta sección se muestran los gráficos correspondientes a los contenidos de elementos minerales determinados en las infusiones de las especies estudiadas siguiendo la metodología descrita en el capítulo de Materiales y Métodos. Resulta importante la determinación de las concentraciones de minerales en las infusiones en virtud que es la forma habitual de consumo por parte de las personas.

3.3.4.1. ELEMENTOS MINERALES EN INFUSIONES

En el gráfico correspondiente a la Fig. 3.17 se observa que el orden de magnitudes de los contenidos de macroelementos en las infusiones tiende a comportarse de manera similar a lo hallado en el material vegetal seco: $\text{K} > \text{Ca} > \text{P} > \text{Mg} > \text{Na}$, con excepción de *P. sagittalis* donde la concentración media de Na superó a la concentración de P. Este dato resulta de importancia debido a que estas

infusiones pueden ser consumidas por personas que tienen indicado un régimen dietario restringido en Na.

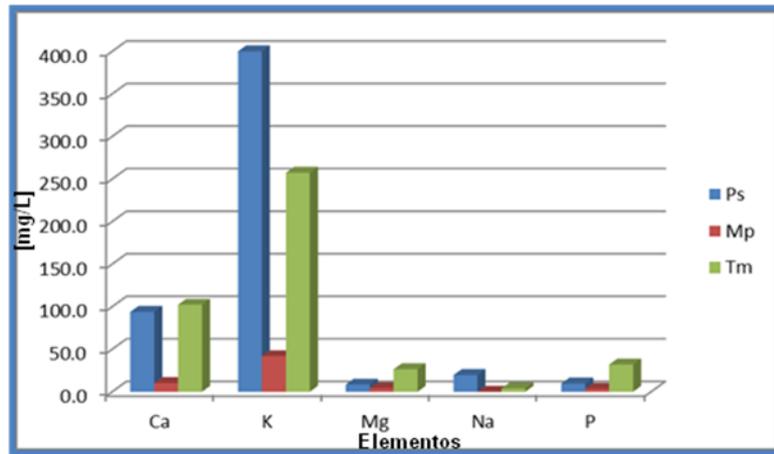


Figura 3.17. Macroelementos en infusiones de las tres especies bajo estudio (mg L^{-1})

En el mismo gráfico también se puede observar que, en general, las infusiones obtenidas a partir de *M. pinnatus* presentaron contenidos minerales menores a las infusiones de *P. sagittalis* y *T. megapotamicum*; este hecho no se corresponde con el orden de abundancia de cada mineral entre las especies, determinado en la material vegetal. Una posible explicación estaría dada en que el pasaje de minerales desde el vegetal a la fase acuosa obedece a varios factores, tales como permeabilidad de membranas biológicas, forma química de los minerales en la especie vegetal, y otros; por ello este tipo de estudio adquiere mayor relevancia al tener en cuenta los contenidos en la forma que habitualmente se consumen, en este caso infusiones o tés medicinales.

3.3.4.2. ELEMENTOS MINERALES ESENCIALES (OLIGOELEMENTOS) Y OTROS ELEMENTOS MINORITARIOS EN INFUSIONES

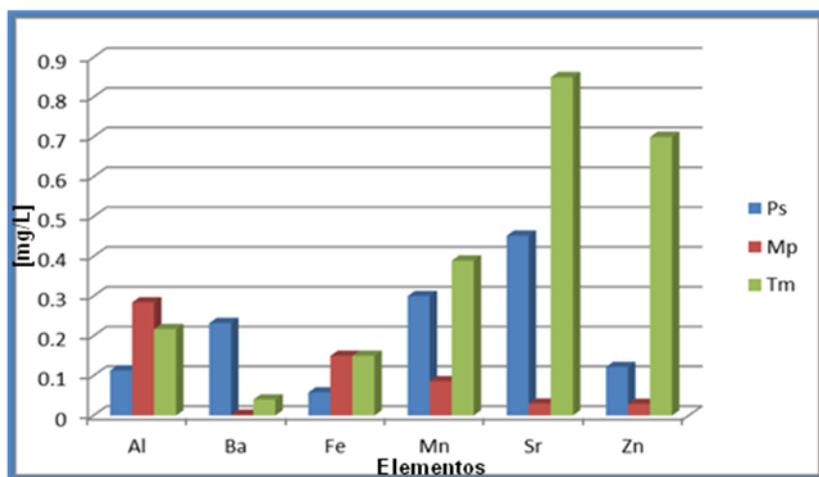


Figura 3.18. Oligoelementos y otros elementos minoritarios en infusiones de las tres especies bajo estudio (mg L^{-1}).

En la Figura 3.18 se observa el gráfico correspondiente a los oligoelementos y otros elementos minoritarios en las infusiones obtenidas a partir de las tres especies vegetales bajo estudio. En este caso los órdenes de magnitud observados para los distintos elementos en las infusiones, presentaron un comportamiento variado.

Así, el Sr resultó un elemento más abundante en las infusiones provenientes de *P. sagittalis* y *T. megapotamicum*, posiblemente debido a que es un metal alcalino con un comportamiento similar al K, por lo cual muestra una elevada tendencia a pasar a la fase acuosa. Le siguen en orden de abundancia los elementos esenciales Mn, Zn y Fe. Se destaca el elevado contenido de Zn que presentan las infusiones de *T. megapotamicum*. Finalmente, los elementos no esenciales Al y Ba se encuentran a concentraciones por debajo de los $0,30 \text{ mg kg}^{-1}$, con lo que se puede afirmar que las infusiones de estas tres especies, considerando una ingesta normal de dos o tres tazas por día, no aporta cantidades significativas de estos elementos. Finalmente, es importante destacar que muchos de los elementos (esenciales y tóxicos) determinados

el material vegetal seco no pudieron ser detectados en las infusiones.

3.3.5. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

El Análisis de Componentes Principales (PCA) es una técnica estadística de síntesis de la información, o reducción de la dimensión (número de variables). Es decir, ante un banco de datos con muchas variables, el objetivo será reducirlas a un menor número perdiendo la menor cantidad de información posible. Los nuevos componentes principales o factores arrojarán una combinación lineal de las variables originales, y además serán independientes entre sí. Un aspecto clave en PCA es la interpretación de los factores, ya que ésta no viene dada *a priori*, sino que será deducida tras observar la relación de los factores con las variables iniciales (habrá, pues, que estudiar tanto el signo como la magnitud de las correlaciones). Esto no siempre es fácil, y es de vital importancia el conocimiento que el experto tenga sobre la materia de investigación. En general, resulta muy útil la representación gráfica de los resultados obtenidos mediante el PCA. Para ello se realizan al menos dos gráficos en el plano definido por las primeras variables, que son las que contienen mayor proporción de varianza presente en los datos: el gráfico de *loadings* (representa en forma de vectores las correlaciones entre variables objeto de estudio) y el gráfico de *scores* (representa en forma de gráfico de distribución de puntos a la distribución de muestras en este nuevo espacio matemático generado).

Los resultados obtenidos al aplicar el PCA a los contenidos de minerales en el material vegetal de las especies bajo estudio se muestran en las figuras 3.19 y 3.20. En el gráfico de *loadings* se puede observar que la primer componente principal se correlaciona principalmente con las variaciones presentes en los microelementos Mo, Zn, Mn, Co y Ba; mientras que la segunda componente se

correlaciona con elementos mayoritarios principalmente Ca y P, así como dos elementos minoritarios, Ni y Cr. De la proyección de las muestras en este espacio (gráfico de scores) se puede observar la presencia de cierta tendencia a formar agrupamientos, este hecho indicaría similitud entre muestras, aunque el objetivo del PCA no es agrupar o clasificar muestras, sino representar la mayor proporción de información presente en los datos en un número reducido de variables.

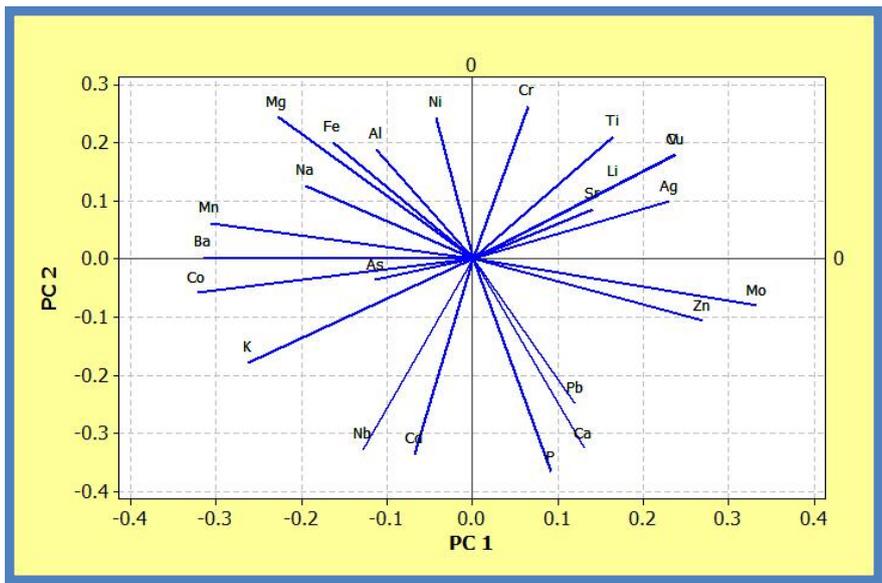


Figura 3.19. Gráfico de loadings en el espacio definido por las dos primeras componentes principales. PC: componente principal

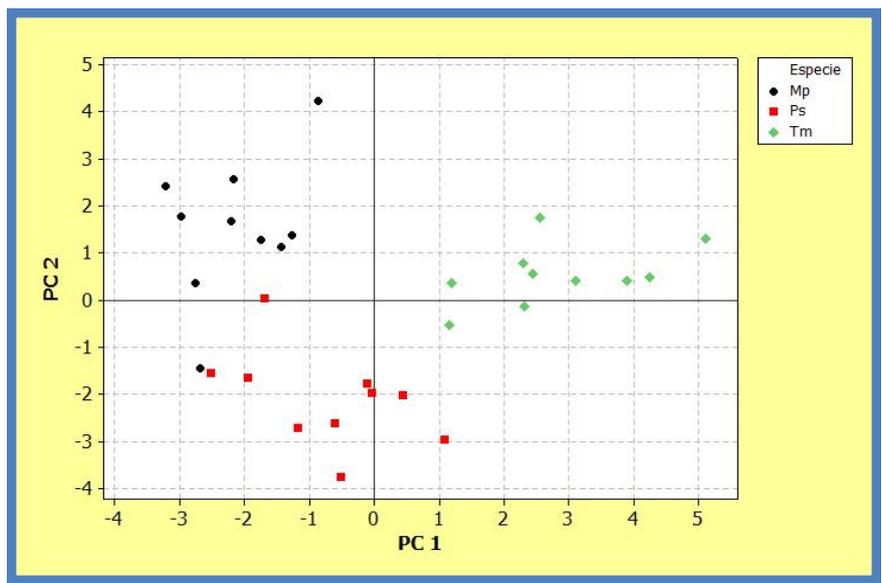


Figura 3.20. Gráfico de scores proyectados en el espacio definido por las dos primeras componentes principales. PC: componente principal

3.3.6. ANÁLISIS DE AGRUPAMIENTO

Los llamados métodos jerárquicos tienen por objetivo agrupar *clusters* (agrupamientos) para formar uno nuevo o bien separar alguno ya existente para dar origen a otros dos, de tal forma que, si sucesivamente se va efectuando este proceso de aglomeración o división, se minimice alguna distancia o bien se maximice alguna medida de similitud.

Los métodos jerárquicos se subdividen en aglomerativos y disociativos. Cada una de estas categorías presenta una gran diversidad de variantes.

1. Los métodos **aglomerativos**, también conocidos como ascendentes, comienzan el análisis con tantos grupos como individuos haya. A partir de estas unidades iniciales se van formando grupos, de forma ascendente, hasta que al final del proceso todos los casos tratados están englobados en un mismo conglomerado.
2. Los métodos **disociativos**, también llamados descendentes, constituyen el proceso inverso al anterior. Comienzan con un conglomerado que engloba a todos los casos tratados y, a partir de este grupo inicial, a través de sucesivas divisiones, se van formando grupos cada vez más pequeños. Al final del proceso se tienen tantas agrupaciones como casos han sido tratados.

Los métodos jerárquicos permiten la construcción de un árbol de clasificación, que recibe el nombre de dendrograma, en el cual se puede seguir de forma gráfica el procedimiento de unión seguido, mostrando qué grupos se van uniendo, en qué nivel concreto lo hacen, así como el valor de la medida de asociación entre los grupos cuando éstos se agrupan. Puesto que la clasificación de individuos se realiza a partir de las variables observadas en los individuos, es condición primordial en este tipo de estudio realizar una buena elección de las variables iniciales, así como también elegir una medida de homogeneidad o similitud adecuada para la situación que se está

analizando. No existe una única medida de homogeneidad, ni tampoco es único el método de agrupar observaciones en distintos Clusters. El analista debe decidir qué medida y qué método son más adecuados según los datos de partida y los objetivos a alcanzar con la agrupación.

En este trabajo, si bien se ensayaron varios métodos de agrupamiento, se presentan los resultados obtenidos mediante el método de Ward en un espacio euclídeo simple; se puede observar el dendograma (Fig. 3.21) donde sólo dos muestras (N° 24 y 25) correspondientes a la variedad Mp (*Margyricarpus pinnatus*) fueron confundidas y clasificadas dentro del grupo correspondiente a las Ps (*Pluchea sagittalis*). Esta superposición entre grupos puede visualizarse en el espacio generado por las dos primeras componentes principales.

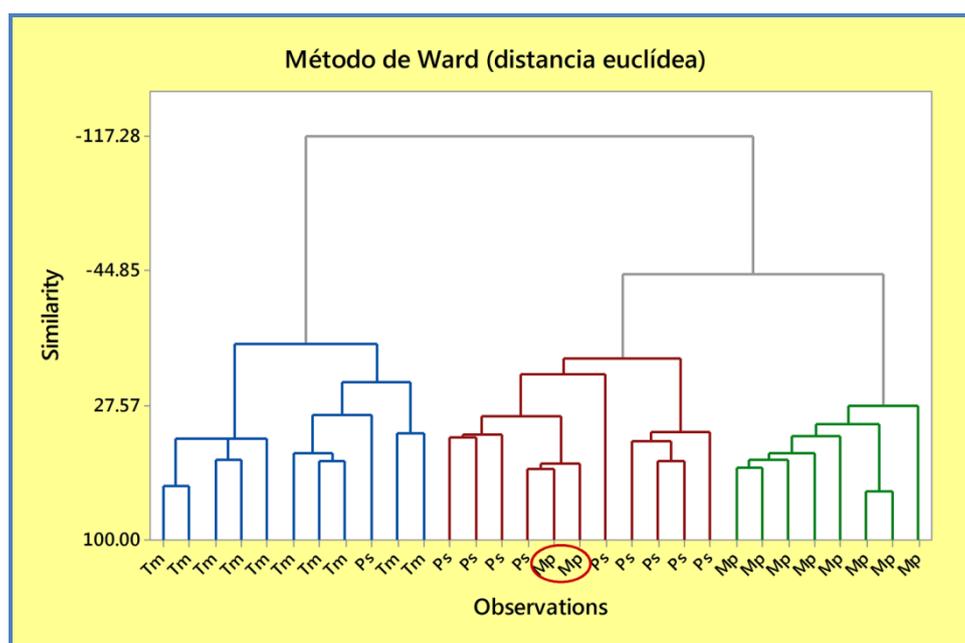


Figura 3. 21. Dendograma de muestras agrupadas mediante el método de Ward en espacio Euclídeo

3.3.7. ANÁLISIS DISCRIMINANTE

De la misma manera que el Análisis Cluster, el objetivo del Análisis Discriminante es la clasificación de individuos en grupos. Sin embargo, tanto la

técnica como la información obtenida a través de ambos métodos son distintas. En el Análisis Discriminante, el punto de partida es la totalidad de individuos previamente clasificados en dos o más grupos. De estos individuos se conoce el valor de un número determinado de variables. Puesto que se conoce la existencia de esos grupos, parece lógico pensar que existen variables cuyo valor determina la pertenencia del individuo a uno u otro grupo. Los objetivos del Análisis Discriminante son:

1. La identificación de las variables que mejor discriminen entre los grupos y la evaluación del poder discriminante de cada una de ellas.
2. Asignar, con un cierto grado de riesgo, un individuo, que no forma parte de los datos iniciales, y del que se conoce el valor de las variables discriminantes, a uno de los grupos.

La selección de las variables discriminantes es el paso inicial de esta técnica. En general se utilizan dos metodologías para lograr la máxima separación entre grupos. Un método que utiliza todas las variables disponibles a la vez para lograr la máxima discriminación entre individuos. Y un segundo método que introduce las variables de a una por vez, realiza un cálculo de algún criterio para cuantificar la separación de los individuos en categorías y a partir de allí continúa con la inclusión o no de más variables disponibles. Este segundo método es iterativo y en general logra mejores resultados que el primero empleando un número menor de variables, por lo que se lo suele utilizar frecuentemente como método de reducción de la dimensionalidad de datos. Una vez que se han seleccionado las variables discriminantes, el objetivo a conseguir es la elaboración de las funciones discriminantes, que son nuevas variables, combinación lineal de las anteriores. Los coeficientes de la función discriminante indican el peso de cada variable en la

función discriminante, y, una vez obtenidos estos coeficientes, se podrá dar a cada individuo unos valores que permitirán asignarle a uno u otro grupo. Una vez calculado el análisis discriminante, el mismo debe ser validado; para ello se utilizan métodos de validación cruzada para comprobar la capacidad predictiva de la función discriminante. Con este objetivo se generan tantas funciones discriminantes como casos válidos tiene el análisis; cada una de esas funciones se obtiene eliminando un caso; luego, cada caso es clasificado utilizando la función discriminante en la que no ha intervenido, calculándose la tasa de error de esta última predicción.

En este trabajo, se utilizó análisis lineal discriminante (LDA) con el objeto de analizar la posibilidad de representar las diferencias presentes en la composición mineral entre las especies estudiadas. En una primera instancia se realizó el LDA utilizando el método que tiene en cuenta todas las variables disponibles a la vez. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 3.16 y la Figura 3.22.

Tabla 3.16. Clasificación de los resultados ^(a,c)

	Especie	Predicción de Grupo			Total	
		Tm	Ps	Mp		
Original	Cuenta	Tm	10	0	0	10
		Ps	0	10	0	10
		Mp	0	0	10	10
	%	Tm	100,0	0	0	100,0
		Ps	0	100,0	0	100,0
		Mp	0	0	100,0	100,0
Validación Cruzada ^(b)	Cuenta	Tm	7	2	1	10
		Ps	5	3	2	10
		Mp	3	0	7	10
	%	Tm	70,0	20,0	10,0	100,0
		Ps	50,0	30,0	20,0	100,0
		Mp	30,0	0,0	70,0	100,0

^(a)**100,0%** de los casos fueron agrupados correctamente por el modelo original. ^(b)La validación cruzada se realice utilizando solo aquellas muestras presentes en la matriz de datos original. En este método cada uno de los casos es clasificado por el modelo obtenido con el resto de casos excepto el citado. ^(c)**56,7%** de los casos fue clasificado correctamente por el método de validación cruzada.

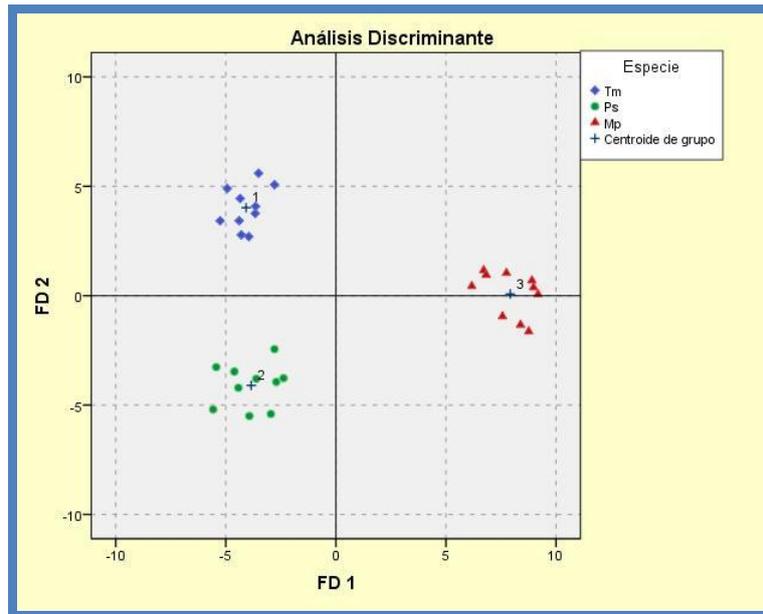


Figura 3.22. Gráfico de distribución de las muestras en el espacio definido por las dos primeras funciones discriminantes obtenido por el método incluyendo todas las variables a la vez.
FD: función discriminante

Tal como puede observarse, si bien se logró una buena resolución para separar las muestras correspondientes a los distintos grupos, el desempeño del método resultó muy pobre al ser sometido al método de validación cruzada (56,7% de muestras clasificadas correctamente).

Con el objeto de mejorar el desempeño de estos sistemas de clasificación de muestras, se repite el LDA pero ahora siguiendo el método de incorporación de variables paso a paso. Los resultados obtenidos pueden observarse en las Tablas 3.17 y 3.18, y en la Figura 3.23.

De los resultados de este segundo método se puede observar que por validación cruzada, dejando uno afuera, se alcanzaron valores de predicción del orden del 90%. Resulta importante señalar que para lograr este nivel de predicción sólo se utilizaron cinco variables (Tabla 3.17) del total de contenidos de minerales disponible.

Tabla 3.17. Variables incluidas en el análisis secuencialmente

	Función Discriminante	
	1	2
Ag	-0,026	-0,688
K	-0,188	0,887
Mg	-0,678	-0,397
Mo	0,732	-0,216
P	0,645	0,706

Tabla 3.18. Clasificación de los resultados ^(a,c)

	Especie	Predicción de Grupo			Total	
		Tm	Ps	Mp		
Original	Cuenta	Tm	10	0	0	10
		Ps	0	10	0	10
		Mp	0	0	10	10
	%	Tm	100,0	0	0	100,0
		Ps	0	100,0	0	100,0
		Mp	0	0	100,0	100,0
Validación Cruzada ^(b)	Cuenta	Tm	9	1	0	10
		Ps	0	9	1	10
		Mp	0	1	9	10
	%	Tm	90,0	10,0	0	100,0
		Ps	0	90,0	10,0	100,0
		Mp	0	10,0	90,0	100,0

^(a)**100,0%** de los casos fueron agrupados correctamente por el modelo original. ^(b)La validación cruzada se realizó utilizando sólo aquellas muestras presentes en la matriz de datos original. En este método cada uno de los casos es clasificado por el modelo obtenido con el resto de casos excepto el citado. ^(c)**90,0%** de los casos fue clasificado correctamente por el método de validación cruzada.

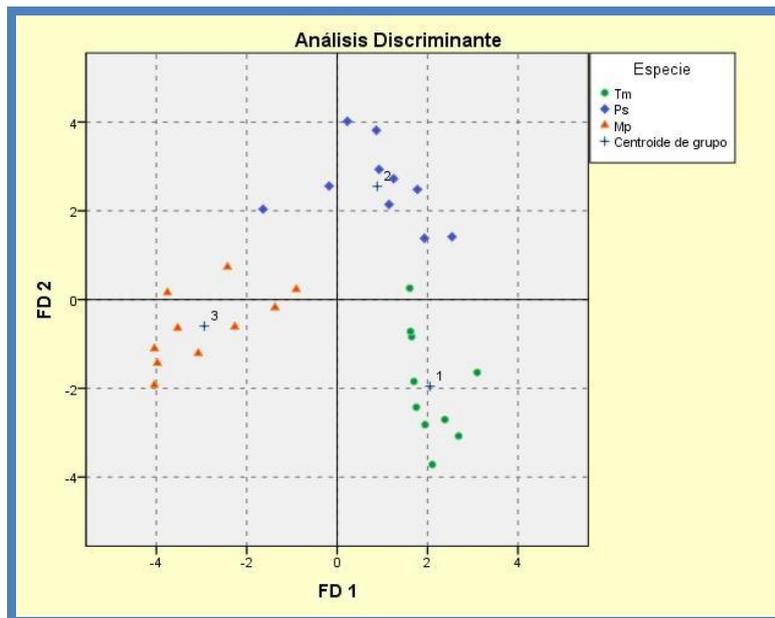


Figura 3.23. Gráfico de distribución de las muestras en el espacio definido por las dos primeras funciones discriminantes obtenidas utilizando sólo cinco variables por el método de inclusión secuencial de variables. FD: función discriminante.

Tal como se observa en la Figura 3.23, al utilizar un número óptimo de variables para lograr la discriminación de las muestras, las mismas tienden a formar grupos con una mayor dispersión que en el método de todas las variables a la vez. Sin embargo, se pueden delimitar correctamente áreas correspondientes a cada categoría de muestras con seguridad suficiente, de modo tal que determinando la concentración de solo cinco elementos es posible predecir la especie botánica basándose en las concentraciones de estos elementos. Adicionalmente, de los cinco elementos considerados en este nuevo modelo, tres elementos son mayoritarios, con lo que se podría considerar la posibilidad de utilizar métodos analíticos de menor complejidad que la emisión atómica por plasma acoplado en futuros estudios.

3.3.8. CONCLUSIONES PARCIALES

La evaluación quimiométrica muestra que hay una relación entre las especies de hierbas y las infusiones desde la perspectiva de la concentración de los elementos minerales.

Al aplicar el PCA se pudo observar que la primer componente principal se correlaciona principalmente con las variaciones presentes en los microelementos Mo, Zn, Mn y Co; mientras que la segunda componente se correlaciona con elementos mayoritarios principalmente Ca y P, así como dos elementos minoritarios Ni y Cr.

Los resultados obtenidos mediante el método de Ward en un espacio euclídeo simple, se pudo observar el dendograma donde sólo dos muestras correspondientes a *M. pinnatus* fueron confundidas y clasificadas dentro del grupo correspondiente a las de *P. sagittalis*. Esta superposición entre grupos pudo visualizarse en el espacio generado por las dos primeras componentes principales.

Con el ALD se logró una buena resolución para separar las muestras correspondientes a los distintos grupos, el desempeño del método resultó ser muy pobre al ser sometido al método de validación cruzada (56,7% de muestras clasificadas correctamente). Para mejorar el desempeño de estos sistemas de clasificación de muestras, se repitió el ALD siguiendo el método de incorporación de variables paso a paso. Se pudo observar que por validación cruzada dejando uno afuera se alcanzaron valores de predicción del orden del 90%. Resulta importante señalar que para lograr este nivel de predicción solo se utilizaron cinco variables del total de contenidos de minerales disponible.

Los resultados de este estudio demuestran claramente la potencialidad y la versatilidad de estas metodologías, que podría ser aplicado al contenido de metal de rutina de seguimiento en las formulaciones de fitofarmacéuticos.

CAPITULO 4. CONCLUSIONES FINALES

4.1. CONCLUSIONES.

1. A través del estudio farmacobotánico:

Se caracterizaron las tres especies estudiadas *Thelesperma megapotamicum*, *Pluchea sagittalis* (Asteraceae) y *Margyricarpus pinnatus* (Rosaceae), estableciéndose los caracteres diacríticos que permiten realizar un control de calidad efectivo de las drogas vegetales crudas y eventualmente detectar su presencia en productos obtenidos a partir de ellas (extractos y sus diluciones).

Se describió por primera vez la micromorfología foliar y caulinar de *Margyricarpus pinnatus*.

Se informó por primera vez los parámetros micrográficos de las tres especies involucradas en este estudio, de gran importancia para la identificación de las especies.

Las tres entidades pueden distinguirse entre sí tanto por el Número e Índice de estomas (NE e IE) de epidermis superior e inferior, el Índice de empalizada (Iemp) y el número de islotes y terminales de nerviación (NI y NTN) imprescindibles en el control de calidad farmacobotánico, especialmente cuando se encuentran molidas y/o reducidas a partículas pequeñas.

Margyricarpus pinnatus se diferenció de las demás especies por presentar hojas hipostomáticas mientras que *Thelesperma megapotamicum* y *Pluchea sagittalis* las presenta anfiestomáticas.

2. El análisis químico permitió:

Determinar la concentración de 36 elementos minerales en materia seca e infusiones de las tres especies estudiadas y el porcentaje de extractabilidad como así también establecer la contribución de las infusiones a la ingesta diaria recomendada de los

distintos elementos minerales.

En el material vegetal seco de las tres especies los elementos presentaron valores semejantes al encontrado en la mayoría de las plantas alimenticias.

Se encontraron altas concentraciones de K, Ca, P y Mg. Respecto de los oligoelementos, se hallaron concentraciones de Al, Fe, Na, Zn, Mn, Cu, Li, Cr, Ni, V, Mo Se, y Co. El Se no fue detectado en *M. pinnatus*. Al hacer referencia a la concentración de otros elementos minoritarios, tanto para *P. sagittalis* como para *T. megapotamicum* se encontraron concentraciones de Ag, As, Ba, Cd, Ga, Hg, La, Nb, S, Sc, Sn, Sr, Ta, Ti, W, Y y Zn mientras que en *M. pinnatus* solo se hallaron concentraciones de As, B, Ba, Sb, Si, Sr, Th, Ti.

En las infusiones se pudo observar que no siempre la cantidad total de los elementos presentes en el material vegetal estará presente en las mismas. El orden de magnitudes de las concentraciones de K, Ca, P y Mg conserva similitud con el material vegetal seco. Respecto de los oligoelementos, se encontraron concentraciones Al, Cu, Fe, Mn, Na y Zn en las tres especies; también se hallaron concentraciones de Co y Mo en *P. sagittalis*; de Li en *T. megapotamicum* y de Cr en *M. pinnatus*. Para los demás elementos minoritarios solo se encontraron concentraciones de Ba y Sr en las plantas pertenecientes a la familia Asteraceae y B, Si y Sr en *M. pinnatus*.

La mayoría de los elementos se clasificó dentro del grupo moderadamente extractable y pobremente extractable.

De la comparación con los parámetros establecidos por distintos organismos se puede establecer que los valores de los distintos elementos minerales encontrados en las infusiones de las tres especie de hierbas estudiadas en ninguno de los casos supera los niveles máximos permitidos, salvo caso del consumo excesivo o que la materia seca pueda ser ingerida como tal o incorporada a formas distintas del extracto acuoso

estudiado en que podrían generar riesgo desde el punto de vista de la ingestión de un exceso de elementos minerales.

Se debe destacar que se realiza con este trabajo un aporte original al conocimiento de la composición mineral de las tres hierbas estudiadas; del pasaje de los elementos minerales a las infusiones obtenidas a partir de cada una de ellas y de la contribución de minerales a la ingesta dietaria diaria.

3. Análisis multivariado:

Al aplicar el PCA se pudo observar que la primer componente principal se correlaciona principalmente con las variaciones presentes en los microelementos Mo, Zn, Mn Ba y Co; mientras que la segunda componente se correlaciona con elementos mayoritarios principalmente Ca y P, así como dos elementos minoritarios Ni y Cr.

El dendograma obtenido mediante el método de Ward en un espacio euclídeo simple permite observar que sólo dos muestras correspondientes a *M. pinnatus* fueron confundidas y clasificadas dentro del grupo correspondiente a las de *P. sagittalis*.

Con el ALD se logró una buena resolución para separar las muestras correspondientes a los distintos grupos, el desempeño del método resultó ser muy pobre al ser sometido al método de validación cruzada (56,7% de muestras clasificadas correctamente)

Al repetir el ALD siguiendo el método de incorporación de variables paso a paso, se observó que por validación cruzada dejando uno afuera, se alcanzaron valores de predicción del orden del 90%. Es importante señalar que para lograr este nivel de predicción solo se utilizaron cinco variables del total de contenidos de minerales disponible.

Los resultados de este estudio demuestran claramente la potencialidad y la versatilidad de estas metodologías, que podría ser aplicado al seguimiento del contenido mineral de las hierbas medicinales y las formulaciones de fitofarmacéuticos.

BIBLIOGRAFÍA

- Abugassa, I.O.; Bashir, A.T.; Doubali, K.; Etwir, R.H.; Abu-Enawel, M.; Abugassa, S.O. 2008. Characterization of trace elements in medicinal herbs by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 278(3): 559–563.
- Adams, M.J. 1995. *Chemometrics in Analytical Spectroscopy*. Royal Society of Chemistry. Cambridge. U.K.
- Ajasa, A.O.; Bello, M.O.; Ibrahim, A.O.; Ogunwande, I.A.; Olawore, N.O. 2004. Heavy trace metals and macronutrients status in herbal plants of Nigeria. *Food Chemistry* 85(1): 67-71.
- Alvarado, A.L.; Yglesias, J.M.; Güell, O. 2005. Análisis multielemental de material foliar por medio de ICP-MS. *Agronomía Costarricense* 29(1): 17-27.
- ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, Argentina), 2007. Código Alimentario Argentino. Consultado 24/07/10.
- Anderberg, A.A. 1989. Phylogeny and reclassification of the tribe Inuleae (Asteraceae). *Canadian Journal of Botany* 67(8): 2277-2296.
- Anderberg, A.A. 1991. Taxonomy and phylogeny of the tribe Inuleae (Asteraceae). *Pl. Syst. Evol.* 176: 75-123.
- Arceusz, A.; Radecka, I.; Wesolowski, M. 2010. Identification of diversity in elements content in medicinal plants belonging to different plant families. *Food Chemistry* 120(1): 52-68.
- Arenas, P. 2003. *Etnografía y alimentación entre los Toba-Nachilamoleñek y Wichí-Lhuku'tas del Chaco Central (Argentina)*. Ed. del Autor. Buenos Aires. Argentina.
- Ariza Espinar, L. 1994-2005. *Pródromo de la flora fanerogámica de Argentina Central*, 1 (1994), 2 (2000), 3 (2005). Museo Botánico. Córdoba. Argentina.

- Arumugam, R.; Rajja Kannan, R.R.; Jayalakshmi, J.; Manivannan, K.; Devi, G.K.; Anantharaman, P. 2012. Determination of element contents in herbal drugs: chemometric approach. *Food Chemistry* 135(4): 2372-2377.
- Baccini, P. 1984. Metal transport and metal biota interactions in lakes. *En: Proceeding Symposium Micropollutants in Sediments Waters Systems*, pp. 15-22.
- Barboza, G.E.; Cantero, J.J.; Núñez, C.O.; Ariza Espinar, L. (eds), 2006. Flora medicinal de la provincia de Córdoba (Argentina). Museo Botánico. Córdoba. Argentina.
- Basgel, S.; Erdemoglu, S.B. 2006. Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey. *Science of the Total Environment*, 359(1): 82–89.
- Bentham, G. 1873. *Compositae. Genera Plantarum*, 2(1): 163-533.
- Blaya, S.N.; García, G.N. 2003. *Química agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*. Mundi-Prensa Libros.
- Blumenthal, M. (ed.). 2000. *Herbal medicine. Expanded Commission E Monographs. Integrative medicine Communications*, Newton, Massachusetts. xiii, 1-519.
- Boelcke, O. 1964. Forrajas. *En: LR Parodi (ed.). Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*, vol. 2, El Cultivo de las Plantas Útiles, 2ª. Parte. Acme. Buenos Aires. Argentina.
- Boelcke, O. 1992. *Plantas vasculares de la Argentina, nativas y exóticas*. 2ª. ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina.
- Bohm, B.A.; Stuessy, T.F. 2001. *Flavonoids of the Sunflower Family (Asteraceae)*. Springer. Vienna.
- Bowman, B.A.; Russell, R.M. 2003. *Conocimientos actuales sobre nutrición*. 8th. Ed. Publicación Científica y Técnica N° 592. OPM-OMS. Washington. USA.

- Bremer, K. 1996. Major clades and grades of the Asteraceae. *En*: Hind, D.J.N.; Beentje, H.J. (eds). *Compositae: Systematics. Proceedings of the International Compositae Conference*. Vol. 1: 1-7. Royal Botanic Gardens. Kew. UK.
- Brereton, R.G. 2007. *Applied Chemometrics for Scientist*. J Wiley. Chichester. UK.
- Brereton, R.G. 2009. *Chemometrics for Pattern Recognition*. J Wiley. Chichester. UK.
- Brereton, R.G. 1992. *Multivariate Pattern Recognition in Chemometrics*. Elsevier. Netherland.
- British Pharmacopoeia Commission (ed.). 2007. *British Pharmacopoeia*. The Stationery Office. 6 vols. London.
- Cabrera, A.L. 1965. *Compositae*. *En*: Cabrera, A.L. (ed.). *Flora de la Provincia de Buenos Aires*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires. Argentina.
- Cabrera, A.L. 1971. *Compositae*. *En*: Correa, M.N. (ed.). *Flora Patagónica*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires. Argentina
- Cabrera, A.L. 1974. *Compositae*. *En*: Burkart, A.E. (ed.). *Flora Ilustrada de Entre Ríos, Argentina*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires. Argentina.
- Cabrera, A.L. 1978. *Compositae*. *En*: Cabrera, AL (ed.). *Flora de la provincia de Jujuy* 10. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires. Argentina.
- Camargo, A.B. Marchevsky, E.J.; Luco, J.M. 2007. QSAR Study for the Soybean 15-Lipoxygenase Inhibitory Activity of Organosulfur Compounds Derived from the Essential Oil of Garlic. *J. Agric. Food Chem.* 55(8): 3096-103.
- Campbell, C.R.; Plank, C.O. 1998. Capítulo 3. Preparation of plant tissue for laboratory analysis. *En*: Kalra, Y.P. (ed). *Reference Methods for Plant Analysis*. CRC Press. Boca Raton. Florida. USA. pp 37-55.

- Cambi, V.; Bucciarelli, A.; Flemmer, A.; Hansen, P. 2006. Morfoanatomía de *Pluchea sagittalis* (Asteraceae), especie nativa de interés medicinal. Acta Farm. Bonaerense 25 (1): 43-9.
- Cantarelli, M.A.; Camiña, J.M.; Petenatti, E.M.; Marchevsky, E.J.; Pellerano, R.G. 2010. Trace mineral content of Argentinean raw propolis by neutron activation analysis (NAA): Assessment of geographical provenance by chemometrics-LWT-Food Sci. Tech. 44: 256-60.
- Cantarelli, M.A.; Pellerano, R.G.; Del Vitto, L.A.; Marchevsky, E.J.; Camiña, J.M. 2010. Characterisation of Two South American Food and Medicinal Plants by chemometric Methods Based on their multielemental composition. Phytochem. Anal. 21(6): 550-555.
- Carlquist, S. 1961. Comparative plant anatomy. Holt, Rinehart and Winston. New York.
- Chizzola, R.; Michitsch, H.; Franz, C. 2003. Monitoring of metallic micronutrients and heavy metals in herbs, spices and medicinal plants from Austria. Eur. Food Res. Technol. 216: 407-411.
- Ciganda, C.M.; Laborde, A. 2003. Herbal infusions used for induced abortion. Clin. Toxicol. 41: 235-239.
- COT (Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment) (2003). 2000 Total Diet Study of Twelve Elements (COT 2003/39). pp. 5-6. <http://www.food.gov.uk/multimedia>. Consultado 02/03/2012.
- Cotton, C.M. 1996. Ethnobotany, Principles and Applications. Wiley. Chichester/New York. USA.
- Crawford DJ, Stuessy TF, 1981. The taxonomic significance of anthochlors in the subtribe Coreopsidinae (Compositae, Heliantheae). Am. J. Bot. 68: 107-117.

- Damascos, M.A.; Arriberes, M. 2009. Contenido mineral de hojas de *Aristolelia chilensis* (Molina) Stuntz usadas en fitoterapia. Rev. Cubana Plant. Med.14 (4) [versión On-line].
- D'Ambrogio, A. 1986. Manual de técnicas en histología vegetal. Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina.
- Davyt, D.; Dellacassa, E.; Ferreira, F.; Menéndez, P.; Moyna, P.; Vásquez, A. 1991. Phytochemical screening of Uruguayan medicinal plants. Fitoterapia 62: 519-521.
- Dawson, G. 1960. Los alimentos vegetales que América dio al mundo. Museo La Plata, Ser. Técn. Didáct. 8: 1-68.
- De la Peña, M.R.; Pensiero, J.F. 2004. Plantas argentinas. Catálogo de nombres comunes. L.O.L.A. Buenos Aires. Argentina.
- De Tomassi, N.; Rastrelli, L.; Cumanda, J.; Speranza, G.; Pizza, C. 1996. Aryl and triterpenic glycosides from *Margyricarpus setosus*. Phytochemistry 42: 163-167.
- Del Vitto, L.A.; Petenatti, E.M.; Petenatti, M.E. 1997. Recursos herbolarios de San Luis (República Argentina). Primera parte: plantas nativas. Multequina 6: 49-66.
- Del Vitto, L.A.; Petenatti, E.M.; Petenatti, M.E. 2009a. Medicina Tradicional vs. Medicina Oficial: Dos paradigmas contrapuestos que tornan a ser complementarios. Ser. Técn. Herbario UNSL 29: 1-29.
- Del Vitto, L.A.; Petenatti, E.M.; Petenatti, M.E. 2009b. Asteráceas de importancia económica y ambiental. Primera parte. Sinopsis morfológica y taxonómica, importancia ecológica y plantas de interés industrial. Lat. Am. J. Nat. Resources 18: 85-113.
- Delucchi, G. 2001. Sinopsis de las Rosaceae adventicias argentinas. Bol. Soc. Argent. Bot. 36 (suplemento): 91.
- Dempewolf, H.; Rieseberg, L.H.; Cronk, Q.C. 2008. Crop domestication in the

- Compositae: a family-wide trait assessment. *Genet. Resour. Crop Evol.* 55: 1141-1157.
- Dewick, P.M. 2002. *Medicinal natural products; A biosynthetic approach*. 2nd. ed. Wiley. Chichester. U.K.
- Dizeo de Strittmater, C. 1973. Nueva técnica de diafanización. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 15: 126-129.
- Duke, J.A. 1985. *Handbook of medicinal herbs*. CRC Press. Boca Ratón, FL. USA.
- Duke, J.A. 1992. *CRC Handbook of Edible Weeds*. CRC Press. Boca Ratón, FL. USA.
- Duke, J.A. (ed). 2002. *CRC Handbook of medicinal Spices*. CRC Press.
- Dushenkov, V.; Kumar, P.B.A.N.; Motto, H.; Raskin, I. 1995. Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environm. Sci. Technol.* 29: 1239-1245.
- Epstein, E.; Bloom, A.J. 2005. *Mineral nutrition of plants: principles and perspectives*, 2nd ed. Sinauer. . Sunderland, MA. USA.
- Esau, K. 1987. *Anatomía de las plantas con semilla*. Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina.
- Esbensen, K.H.; Geladi, P. 2009. 2.13. Principal Component Analysis: concept, Geometrical Interpretation, Mathematical Background, Algorithms, History, Practice. *En: Brown, S.D.; Tauler, R.; Walczak, B. (eds).Comprehensive Chemometrics*. Elsevier. pp 211-226. Oxford.
- Escandar, G.M.; Damiani, P.C.; Goicoechea, H.C.; Olivieri, A.C. 2006. A Review of Multivariate Calibration Methods Applied to Biomedical Analysis. *Microchem. J.* 82 (1): 29-42.
- Evans, W.C. 2002. *Trease & Evans' Pharmacognosy*. 15th. ed. W.B. Saunders. Edinburgh.

- Fahn, A. 1990. Plant anatomy. 4th. ed. Pergamon Press. Oxford.
- Farmacopea Argentina, Codex Medicamentarius Argentino. 2003. 7^a edición. Vol. 1. Ministerio de Salud/ANMAT. Buenos Aires. Argentina.
- Farmacopea Argentina, Codex Medicamentarius Argentino. 1978. 6^a ed. Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina. Buenos Aires. Argentina.
- Fennema, O.R. 1996. Food Chemistry. 3rd. ed. Marcel Dekker. New York. USA.
- Fernández León, M.F.; Lozano, M.; Ayuso, M.C.; Fernández-León, A.M.; González-Gómez, D. 2010. Fast and Accurate Alternative UV-Chemometric Method for the Determination of Chlorophyll a and b in Broccoli (*Brassica oleracea Italica*) and cabbage (*Brassica oleracea Sabauda*) plants. J Food Comp Anal 23 (8): 809-813.
- Ferrari, F.; Delle Monache, F.; Juárez, B.E.; Coussio, J.D. 1972. Flavonoids from *Margyricarpus pinnatus*. Phytochemistry 11: 2647.
- Forina, M.; Casale, M.; Oliveri, P. 2009. 4.04 - Application of Chemometric to Food Chemistry. En: Brown, S.D.; Tauler, R.; Walczak, B. (eds). Comprehensive Chemometrics. pp 75-128. Elsevier. Oxford.
- Fraústo da Silva, J.J.R.; Williams, R.J.P. 2001. The biological chemistry of the elements. The inorganic chemistry of life. Oxford University Press. New York. USA.
- Funk, V.A.; Bayer, R.J.; Keeley, S.; Chan, R.; Watson, L.; Gemeinholzer, B.; Schilling, E.E.; Panero, J.L.; Baldwin, B.G.; García Jacas, N.T.; Susanna, A.; Jansen, R.K. 2005. Everywhere but Antarctica: using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. En: Friis, I.; Balslev, H. (eds). Plant diversity and complexity patterns-local, regional and global dimensions. Biol. Skr. 55, pp. 343-373.

- Geldmacher-von Mallinckrodt, M.; Meissner, D. 1994. General aspects of the role of metals in clinical chemistry. *En*: Seiler, H.G.; Sigel, A.; Sigel, H. (eds). Handbook on metals in clinical and analytical chemistry. Marcel Dekker. New York. USA.
- Gemperline, P. 2006. Practical Guide to Chemometrics. CRC/ Taylor & Francis. Boca Ratón, FL. USA.
- Gentscheva, G.; Stafilov, T.; Ivanova, E. 2010. Determination of some essential and toxic elements in herbs from Bulgaria and Macedonia using Atomic Spectrometry. *Eurasian J. Anal. Chem.* 5: 104-111.
- Giménez, M.C.; Hidalgo, M.; Petenatti, E.M.; Del Vitto, L.A.; Marchevsky, E.J.; Pellerano, R.G. 2012. Caracterización multivariable de “muérdago criollo”, *Ligaria cuneifolia* (Loranthaceae) de acuerdo a su composición mineral. *Bol Latinoam. Caribe Pl. Med. Arom.* 11 (3): 233-240.
- Gogoasa, I.; Violeta, J.; Maria, A. L.; Ariana, V.; Maria, R.; Alda, S.; Sirbulescu, C.; Maria, D.B.; Gergen, I. 2013. Mineral Content of Some Medicinal Herbs. *differences* 4(8): 13-14.
- Goicoechea, H.C.; Olivieri, A.C.; Tauler, R. 2010. Application of the correlation constrained multivariate curve resolution alternating least-squares method for analyte quantitation in the presence of unexpected interference using first-order instrumental data. *The Analyst* 135: 636-42.
- Goldhaber, S. 2003. Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity. *Regulatory Toxicol. Pharmacol.* 38 (2): 232-242.
- Gómez, M.R.; Cerutti, S.; Sombra, L.; Silva, M.F.; Martinez, L.D. 2007. Determination of heavy metals for the quality control in argentinian medicines by ETAAS and ICP-OES. *Food Chem. Toxicol.* 45: 1060-1064.
- González, A.; De la Guardia, M. 2013. Chapter 12 – Basic Chemometric Tools. *En*:

- M. De La Guardia y A. González (eds). *Comprehensive Analytical Chemistry*, pp 200-315. Elsevier. UK.
- González, A.; Llorenz, A.; Cervera, M.L.; Armenta, S.; De la Guardia, M. 2009. Elemental fingerprint of wines from the protected designation of origin Valencia. *Food Chem.* 112 (1): 26-34.
- Goyer, R.A. 1986. Toxic effects of metals. *En: Klassen, C.D.; Amdur, M.O.; Doull, J.* (eds). *Casarett and Doull's Toxicology: the Basic Science of Poisons*, 3rd. ed. Macmillan. New York. USA.
- Gunes, A.; Inal, A.; Bagci, E.G.; Pilbeam, D.J. 2007. Silicon-mediated changes of some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach and tomato grown in sodic-b toxic soil. *Plant Soil* 290: 103-114.
- Hall, J.P.; Melville, C. 1951. Veinlet termination number, a new character for the differentiation of leaves. *J. Pharm. Pharmacol.* 3: 934-941.
- Harris, D.C. 2001 "Análisis Químico Cuantitativo". Grupo Editorial Iberoamérica. México.
- Hawkes, J.G. 1969. The ecological background of plant domestication. *En: Ucko, P.J.; Dimbleby, G.W.* The domestication and exploitation of plants and animals. Duckworth. London.
- Heywood, V. H. 1985. *Las plantas con flores*. Ed. Reverté. España. 329 pág.
- Heywood, V.H.; Harborne, B.; Turner, B.L. 1977a. An overture to the Compositae. *En: Heywood, V.H. et al.* (eds.). *The Biology and Chemistry of the Compositae*. Academic Press. London.
- Heywood, V.H.; Harborne, J.B.; Turner, B.L. (eds). 1977b. *The Biology and Chemistry of the Compositae*. 2 vols. Academic Press. London.

- Hieronymus, J. 1930. Plantas diafóricas. Flora Argentina. pp 114, 160. Ed. Atlántida. Bs. As. Argentina.
- Hind D.J.N.; Pope, G.V.; Jeffrey, C. (eds). 1995. Advances in Compositae Systematics. Royal Botanic Gardens. Kew. UK.
- Hind, D.J.N.; Beentje, H.J.; Caligari, P.D.S. (eds). 1996. Compositae: Systematics (vol I) and Compositae: Biology and Utilization (vol II). Proceedings of the International Compositae Conference. 2 vols. Royal Botanic Gardens. Kew. UK.
- Holmgren, P.K.; Holmgren, N.H.; Barnett, L.C. 1990. Index Herbariorum. 8th ed. New York Botanical Garden. New York.USA.
- Hunt, C.D. 2003. Dietary boron: an overview of the evidence for its role in immune function. J. Trace Elem. Exp. Med. 16(4): 291-306.
- Hunziker, A.T. (ed). 1994 *et pass.* Flora Fanerogámica Argentina (Asteraceae: L. Ariza-Espinar, coord. y AA.VV., fascículos 13-14, 28, 29, 31, 45-48, 59-63, 66, 81-83). Proflora/ CONICET. Buenos Aires/ Córdoba. Argentina. Idlewild. Cornwall. Instituto Lillo.
- Institute of Medicine. 1997. Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride. Food and Nutrition Board. National Academy Press. Washington.
- Institute of Medicine. 2000. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. Food and Nutrition Board. National Academy Press. Washington.
- Institute of Medicine. 2001. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. Food and Nutrition Board. National Academy Press. Washington.

- Izquierdo Alvarez, S.; Soria Aznar, M.; Guerra Sanchez, M.; Escanero, J.F. 2013. Contribución actual de los elementos traza y minerales en medicina: su papel clínico (No. 219). Universidad de Zaragoza. España.
- Jeffrey, C. 2007. Compositae: Introduction with key to tribes. *En*: Kadereit, J.W.; Jeffrey, (eds). Families and Genera of Vascular Plants, vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, Asterales. Berlin. Springer.
- Johansen, D.A. 1940. Plant microtechnique. 1st ed. New York. McGraw-Hill. México.
- Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A.; Stevens, P. F. 1999. Plant Systematics: A phylogenetic approach. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA. 290–306.
- Judd W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A., Stevens, P.F.; Donoghue, M.J. 2007. Plant Systematics: A Phylogenetic Approach, 3th ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. USA.
- Kalny, P.; Fijalek, Z.; Daszczuk, A.; Ostapczuk, P. 2007. Determination of selected microelements in polish herbs and their infusions. *Science of the Total Environment* 381: 99–104.
- Karadjova, I.; Zachariadis, G.; Boskou, G.; Stratis, J. 1998. Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of aluminium, cadmium, chromium, copper, iron, manganese, nickel and lead in olive oil. *J. Anal. At. Spectrom.* 13: 201-204.
- Katinas, L.; Gutiérrez, D.G.; Grossi, M.A.; Crisci, J.V. 2007. Panorama de la Familia Asteraceae (= Compositae) en la República Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 42 (1-2): 113-129.
- Kimball, R.T.; Crawford, D.J. 2004. Phylogeny of Coreopsidae (Asteraceae) using ITS sequences suggests lability in reproductive characters. *Molec. Phylogen. and Evol.* 33: 127-139.
- Kirmani, M.Z.; Mohiuddin, S.; Naz, F.; Naqvi, I.; Zahir, E. 2011. Determination of

- some toxic and essential trace metals in some medicinal and edible plants of Karachi city. *J. Basic App. Sci.* 7: 89-95.
- Konieczynski, P; Wesolowski, M. 2007. Total phosphorous and its extractable form in plant drugs. Interrelation with selected micro- and macroelements. *Food Chem.* 103: 210-16.
- Lara, R.; Olsina, R.; Marchevsky, E.; Martínez, L. 2000. ICP-OES determination of rare earth elements in silicate rocks using ultrasonic nebulization and on- line ion-exchange iron separation. *Atomic Spectroscopy* 21 (5): 172-8.
- Lavine, B.K.; Rayens, W.S. 2009. 3.16 – Statistical Discriminant Analysis. En: Brown, S.D.; Tauler, R.; Walczak, B. (eds) *Comprehensive Chemometrics*. pp. 517-40. Elsevier. Oxford.
- Lavine, B.K. 2009. 3.20 – Feature Selection: Introduction. *En*: Brown, S.D.; Tauler, R.; Walczak, B. (eds). *Comprehensive Chemometrics*. pp. 601-607. Elsevier. Oxford.
- Lemberkovics, E.; Czinner, E.; Szentmihalyi, K.; Balazs, A.; Szoke, E. 2002. Comparative evaluation of *Helichrysi flos* herbal extracts as dietary sources of plant polyphenols, and macro- and microelements. *Food Chem.* 78: 119-27.
- Levin, F.A. 1929. The taxonomic value of vein islet areas based upon a study of the genera *Barosma*, *Cassia*, *Erythroxyton*, and *Digitalis*. *Quart. J. Pharm.* 2: 17-43.
- Mahan, L.K.; Scott-Stump, S. 1996. *Krause's food, nutrition & diet therapy*. Saunders Company. USA.
- Malavolta, E. 2006. *Manual de nutrição mineral de plantas*. Agronômica Ceres. Brasil.
- Malik, J.; Szakova, J; Drabek, O.; Balik, J.;Kokoska, L. 2008. Determination of certain micro and macroelements in plant stimulants and their infusions. *Food Chem.* 111: 520–525.

- Malik, J.; Frankova, A.; Dravek, O.; Szakova, J.; Ash, C.; Kokoska, L.I.L. 2013. Aluminium and other elements in select herbal tea plant species and their infusions. Food Chem. 139: 728-734.
- Malina, G. 2004. Ecotoxicological and environmental problems associated with the former chemical plant in Tarnowskie Gory. Poland. Toxicol. 205(3): 157-172.
- Mangelsdorf, P.C. 1961. Biology, food, and people. Econ. Bot. 15: 279-88.
- Marchisio, P.F.; Sales, A.; Cerutti, S.; Marchevsky, E.J.; Martínez, L.D. 2005a. On-line preconcentration of cadmium in comercial tea samples using polyurethane foam as filter associated with nebulization-ICP-OES detection. Instrum. Sci.Technol. 33(4): 449-459.
- Marchisio, P.F.; Sales, A.; Cerutti, S.; Marchevsky, E.J.; Martínez, L.D. 2005b. On-line preconcentration/determination of lead in *Ilex paraguariensis* samples (mate tea) using polyurethane foam as filter with USN-ICP-OES. J. Hazard. Mater. 124: 113-118.
- Marini, F. 2013. Chemometrics in Food Chemistry. Elsevier.USA.
- Mark, P.E.; Michael, J.B.; Jianwei, W.H.; Christopher, D.G. 2000. Plants as a natural source of concentrated mineral nutritional supplements. Food Chem. 77: 181-188.
- Martcorena, C. 2008. Rosaceae. *En*: Zuloaga, F.O.; Morrone, O.; Belgrano, M.J. Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur (Argentina, sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 107: 2852-2871.
- Martcorena, C. 1990. Contribución a la estadística de la flora vascular de Chile. Gayana Botánica 47 (3-4): 85-113.
- Martínez Crovetto, R. 1964. Estudios etnobotánicos I. Nombres de plantas y su utilidad, según los indios Tobas del este del Chaco. Bonplandia 1: 279- 333.
- Martínez Crovetto, R. 1965. Estudios etnobotánicos II. Nombres de plantas y su

- utilidad según los indios Vilelas del Chaco. *Bonplandia* 2: 1-28.
- Martínez Crovetto, R. 1968. Nombres de plantas y su utilidad según los indios araucano-pampas del oeste de Buenos Aires. *Etnobiológica* 12: 1-14.
- Martínez Crovetto, R. 1981. Plantas utilizadas en medicina en el NO de Corrientes (República Argentina). *Miscelánea* 69. Fundación Miguel Lillo. Tucumán. Argentina.
- Marzocca, A.; Mársico, O.J.; Del Puerto, O. 1979. *Manual de malezas. Hemisferio Sur.* Buenos Aires. Argentina.
- Massart, D.L.; Vandeginste, B.G.M.; Buydens, L.M.C.; de Jong, S.; Lewi, P.J.; Smeyers-Verbeke, J. 1997. *Handbook of chemometrics and qualimetrics.* Elsevier. Michigan. USA.
- Meier, P.C.; Zünd, RE. 2000. *Statistical Methods in Analytical Chemistry.* J Wiley. New York. USA.
- Metcalf, C.R.; Chalk, L. 1983. *Anatomy of the Dicotyledons.* 2 Vol. Clarendon Press. Oxford.
- Miller, J.N.; Miller, J.C. 2005. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry.* Person/ Prentice Hall. Harlow, UK/ New York.
- Moreira-Muñoz, A.; Muñoz-Schick, M. 2007. Classification, diversity, and distribution of Chilean Asteraceae: implications for biogeography and conservation. *Diversity Distrib.* 13: 818-828.
- Muñoz, M. G.; Soler, I. M.; Vega, C. M. 2009. Elementos ultratrazas¿ Nutrientes o tóxicos?. *Revista de Toxicología* 26(2-3), 93-103.
- Murillo, M.; Benzo, Z.; Marcano, E.; Gomez, C.; Garaboto, A.; Marin, C. 1999. Determination of copper, iron and nickel in edible oils using emulsified solutions by ICP-AES. *J. Anal. At. Spectrom.* 14: 815-20.
- Natesan, S.; Ranganathan, V. 1990. Content of various elements in different parts of the

- tea plant and in infusion of black tea from Southern India. *J. Sci. Food Agric.* 51 (1): 125-139.
- Navarro Aviñó, J. P.; Alonso, I. A.; López-Moya, J. R. 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Revista Ecosistemas* 16 (2).
- Nielsen, F. 2000. Trace elements in human health and disease: an update importance of making dietary recommendations for elements designated as nutritionally beneficial, pharmacologically beneficial, or conditionally essential. *J. Trace Elem. Exp. Med.* 13(1): 113-129.
- Nookabkaew, S.; Rangkadilok, N.; Satayavivad, J. 2006. Determination of trace elements in herbal tea products and their infusions consumed in Thailand. *J. Agric. Food Chem.* 54 (18): 6939-6944.
- Novara, L. J. 1993. Rosaceae, en L. J. Novara (ed.) *Flora del Valle de Lerma. Aportes Bot. Salta* 2 (11): 1-44.
- Núñez, C.; Cantero, J.J. 2000. Las plantas medicinales del sur de la Provincia de Córdoba. Fundación Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Córdoba. Argentina.
- Oliveri, P.; Downey, J. 2013. Chapter 13 – Discriminant and Class-Modelling Chemometric Techniques for Food Pdo Veridication. *En: M De La Guardia & A González (eds). Comprehensive Analytical Chemistry.* Elsevier. pp. 317-338.
- Olivieri, A.C.; Faber, N.M.; Ferré, J.; Boqué, R.; Kalivas, J.H.; Mark, H. 2006. Uncertainly Estimation and Figures of Merit for Multivariate Calibration (IUPAC Technical Report). *Pure and App. Chem.* 78 (3): 633-61.
- Orrego Escobar, O. 2013. Plantas con actividad antiviral. *Medwave* 13(10): e5854.
- Ortega-Sada, J.L. 1987. Flora de interés apícola y polinización de cultivos. *Mundi-*

- Prensa. Madrid. España.
- Orvig, C.; Abrams, M.J. 1999. Medicinal Inorganic Chemistry: Introduction. Chem. Rev. 99 (9): 2201-4.
- Otto, M. 2007. Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry. 2nd Ed. Wiley/VCH. Weigeim. Alemania.
- Ozcan, M.M.; Ünver, A.; Ucar, T.; Arslan, D. 2008. Mineral content of some herbs and herbal teas by infusion and decoction. Food Chem. 106: 1120-1127.
- Panero, J.L.; Funk, V.A. 2002. Toward a phylogenetic subfamilial classification for the Compositae (Asteraceae). Proc Biol Soc Wash 115: 909-922.
- Petenatti, E.M.; Del Vitto, L.A.; Petenatti, M.E. 2001. Phytomedicines sold in San Luis (Argentina). Biocell 25 (3): 357.
- Petenatti, E.M.; Petenatti, M.E.; Del Vitto, L.A. 2003. Fitomedicinas comercializadas en San Luis, Argentina. Ser. Técn. Herbario UNSL 11: 1- 40.
- Petenatti, M.E.; Petenatti, E.M.; Del Vitto, L.A.; Téves, M.R.; Caffini, N.O.; Marchevisky, E.J.; Pellerano, R.G. 2011. Evaluation of macro and microminerals in crude drugs and infusions of five herbs widely used as sedatives. Rev. Bras. Farmacogn. 21: 1144-1149.
- Piscator, M. 1985. Dietary exposure to Cd and health effects: impact of environmental changes. Environm. Health Perspect. 63: 127-132.
- Potter, D.; Eriksson, T.; Evans, R.C.; Oh, S.; Smedmark, J.; Morgan, D.; Kerr, M.; Robertson, K.; Arsenault, M.; Dickinson, T.; Campbell, C. 2007. Phylogeny and classification of Rosaceae. Pl. Syst. Evol. 266: 5-43.
- Prasad, M. N. V. 2008. Trace elements as contaminants and nutrients: consequences in ecosystems and human health. John Wiley & Sons.
- Prohaska, C.; Steffan, I.; Pomazal, K.; Törvényi, A. 2000. Optimization of different

- atomic spectrometric for the determination of Se in blood fractions. *J. Anal. At. Spectrom.* 15: 97-102.
- Puhlmann, J.; Knaus, U.; Tubaro, L.; Schaefer, W.; Wagner, H. 1992. Immunological active metallic ion-containing polysaccharides of *Achyrocline satureioides*. *Phytochemistry* 31 (8): 2617-21.
- Pytlakowska, K; Kita, A; Janoska, P; Polowniak, M; Kozik, V. 2012. Multi-element analysis of mineral and trace elements in medicinal herbs and their infusions. *Food Chem.* 135: 494-501
- Ragonese, A.E.; Milano, V.A. 1984. Vegetales y sustancias tóxicas de la Flora Argentina. *En: Kugler, W.F. (ed). Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*, vol. 2, fasc. 8-2: 1-413. Acme. Buenos Aires. Argentina.
- Rai,V.; Kakkar, P.; Khatoon, S.; Rawat, A.K.S.; Mehrotra, S. 2001. Heavy metals accumulation in some herbal drugs. *Pharm. Biol.* 39 (5): 384-7.
- Ratera, E.L.; Ratera, M.O. 1980. Plantas de la flora argentina empleadas en medicina popular. Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina.
- Robbers, J.E.; Tyler, V.E. 1999. *Tyler's Herbs of Choice. The therapeutic use of phytomedicinals.* Haworth Herbal Press. USA.
- Robinson, H. 1981. A revision of the tribal and subtribal limits of the Heliantheae (Asteraceae). *Smithsonian Contr. Bot.* 51: 1-102.
- Roig, F.A. 2001. Flora medicinal mendocina. Las plantas medicinales y aromáticas de la provincia de Mendoza (Argentina). Ed. EDIUNC. Mendoza, Argentina.
- Rollins, R.C.1944. Evidence for natural hybridity between guayule (*Parthenium argentatum*) and mariola (*P. incanum*). *Amer. J. Bot.* 31: 93-9.
- Ronen, E. 2007. Microelementos en la agricultura.Red Hidroponía. Boletín No 38. 2008. Lima-Perú

- Rubinson, K.A.; Rubinson, J.F. 2000. *Química Analítica Contemporánea*. Prentice Hall.México.
- Ruiz Leal, A. 1972. Flora popular mendocina. *Deserta* 3: 3-296, 86 t.
- Ryding, O.; Bremer, K. 1992. Phylogeny, distribution, and classification of the Coreopsidae (Asteraceae). *Syst. Bot.* 17: 649-59.
- Salisbury, E. 1927. On the causes and ecological significance of stomatal frequency with especial reference to the woodland flora. *Phil. Trans. Roy. Soc. London B* 216: 1-65.
- Schumacher, M.; Bosque, M.A.; Domingo, J.L.; Corbella, J. 1991. Dietary intake of lead and cadmium from foods in Tarragona Province, Spain. *Bul. Environm. Contam. and Toxic.* 46: 320-8.
- Seiler, H.; Sigel, A.; Sigel, H. 1994. *Handbook on Metals in Clinical and Analytical Chemistry*. Marcel Dekker.USA.
- Sherlock, J.; Smart, G.A.; Walters, B. 1983. Dietary surveys on a population at Shipham, Sommerset, United Kingdon. *Sci.Total Environm.* 29: 121-42.
- Somers, E. 1974. The toxic potential of trace metals in foods. A review. *J. Food Sci.* 39: 215-217
- Standing Committee on the Scientific Evaluation of DRIs, 1997. *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride*. National Academies Press. pp. 71-249, 288- 313. Washington. USA.
- Standing Committee on the Scientific Evaluation of DRIs, 2000a. *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. National Academies Press. pp. 284-324. Washington. USA.
- Standing Committee on the Scientific Evaluation of DRIs, 2000b. *Dietary reference intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron,*

- Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. National Academies Press. pp. 197-553. Washington. USA.
- Standing Committee on the Scientific Evaluation of DRIs, 2004. Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulphate. National Academies Press. pp. 186-448. Washington. USA.
- Stevens, P.F. 2008. Asteraceae. Angiosperm Phylogeny Website. Consultado 25 /10/2010 <<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb>>.
- Stuessy, T.F.; Sang, T.; Devore, M.L. 1996. Phylogeny and biogeography of the subfamily Barnadesioideae with implications for early evolution of the Compositae. *En: Hind, D.J.N.; Beentje, H.J. (eds). Compositae: Systematics. Vol. 1. Royal Botanic Gardens. Kew. UK.*
- Subramanian, R.; Gayathri, S.; Rathnavel, C.; Raj, V. 2012. Analysis of mineral and heavy metals in some medicinal plants collected from local market. *Asian Pacific J. Trop. Biomedicine 2: S74-S78.*
- Subramanian, R.; Subbramaniyan, P.; Raj, J. 2012. Determination of some minerals and trace elements in two tropical medicinal plants. *Asian Pacific J. Trop. Biomedicine 2(2): S555- S558.*
- Sun H.; Qiao, F.; Suo, R.; Li, L.; Liang, S. 2004. Simultaneous determination of trace arsenic(III), antimony(III), total arsenic and antimony in Chinese medicinal herbs by hydride generation double channel atomic fluorescence spectrometry. *Anal. Chem. Acta 505: 255– 261.*
- Svetaz, L.; Zuljan, F.; Derita, M.; Petenatti, E.; Tamayo, G.; Cáceres, A.; Cechinel Filho, V.; Giménez, A.; Pinzón, R.; Zacchino, S.A.; Gupta, M. 2010. Value of the ethnomedical information for the discovery of plants with antifungal properties. A survey among seven Latin American countries. *J. Ethnopharm. 127: 137-158.*

- Takhtajan, A. 2009. Flowering plants. Springer.
- Timmerman, H.A. 1927. Stomatal number: their value for distinguishing species. *Pharm. J.* 118: 241-243.
- Toher, D.; Downey, G.; Murphy, T.B. 2007. A Comparison of Model-based and Regression Classification Techniques Applied to Near Infrared Spectroscopic Data in Food Authentication Studies. *Chemometrics Intelligent Lab. Sys.* 89 (2). 102-115
- Toursarkissian, M. 1980. Plantas medicinales de la Argentina. Sus nombres botánicos, vulgares, usos y distribución geográfica. Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina.
- Ucko, P.J.; Dimbleby, G.W. (eds). 1969. The domestication and exploitation of plants and animals. London.
- USP 30/NF 25. 2007. United States Pharmacopeia 30 and National Formulary 25. Rockville, MD : United States Pharmacopeial Convention. 3 vols.
- Varmuza, K.; Filzmoser, P. 2009. Introduction to Multivariate Statistical Analysis in Chemometrics. CRC Press.USA.
- Vermani, A.; Navneet, P.; Chauhan, A. 2010. Physico-chemical analysis of ashes of some medicinal Plants growing in Uttarakhand, India. *Nature & Science* 8: 88-91.
- Wagner, H. 1977. Pharmaceutical and economic uses of the Compositae. *En: Heywood, V.H. et al. (eds). The Biology and Chemistry of the Compositae. Vol. 1. Academic Press. London.*
- WHO (World Health Organization). 1996. Trace elements in human nutrition and health. World Health Organization. Geneva, Switzerland.
- WHO (World Health Organization). 1998. Quality Control methods for medicinal plant materials. World Health Organization. Geneva, Switzerland.
- WHO (World Health Organization). 2010. Strontium and strontium compounds. Document 77. World Health Organization. Geneva, Switzerland.

- Wiersema, J.H.; Leon, B. 1999. World Economic Plants. A standard reference. CRC Press. USA.
- Zardini, E. M. 1973. Los géneros de Rosáceas espontáneos en la República Argentina. Bol. Soc. Argent. Bot. 15: 209-228.
- Zardini, E. M. 1984. Rosaceae. *En*: Hunziker, A.T. (ed). Los géneros de Fanerógamas de Argentina. Bol. Soc. Argent. Bot. 23: 218-220.
- Zardini, E.M. 1984 a. Etnobotánica de Compuestas Argentinas con especial referencia a su uso farmacológico (Primera parte). Acta Farm. Bonaerense 3 (1): 77-99.
- Zardini, E.M. 1984 b. Etnobotánica de Compuestas Argentinas con especial referencia a su uso farmacológico (Segunda parte). Acta Farm. Bonaerense 3 (2): 169-194.
- Zardini, E. M. 1999. Rosaceae, en F. O. Zuloaga y O. Morrone (eds). Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina II. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 74: 981-992.
- Zeiner, M.; Steffan, I.; Cindric, I.J. 2005. Determination of trace elements in olive oil by ICP-OES and ETAAS: a pilot study on the geographical characterization. Microchem. J. 81: 171-6.
- Zhang, X. 1998. Investigación y regulación de las plantas medicinales. 1º Jornadas Internacionales de Fitoterapia. Barcelona, España.
- Zohary, D.; Hopf, M. 2001. Domestications of Plants in the Old World. University Press. Oxford.
- Zörnig, H; Weiss, G. 1925. Beiträge zur Anatomie des Laubblattes officineller und pharmazeutische gebräuchlicher Compositen-Drogen. Arch. Pharm. (Berlin) 263: 451-70.
- Zuloaga, F.O; Morrone, O. 1999. Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina, II. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 74: 1-1269.

Zuloaga, F.O; Morrone, O.; Rodríguez, D. 1999. Análisis de la biodiversidad en plantas vasculares de la Argentina. *Kurtziana* 27 (1): 17-167.