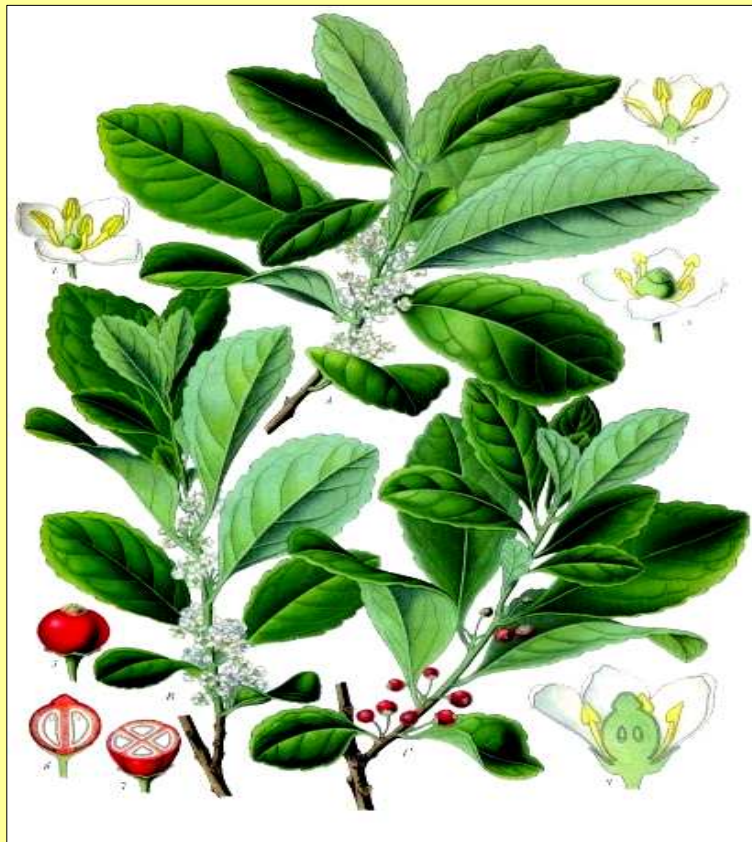


**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES Y AGRIMENSURA**

**TESIS DOCTORAL PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTOR EN QUÍMICA**

**OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO
DE PRODUCCIÓN DE *ILEX DUMOSA***

**PARA LA OBTENCIÓN DE INFUSIONES
Y SU CARACTERIZACIÓN FARMACOBOTÁNICA Y
FARMACOGNÓSTICA - ESTUDIO COMPARATIVO CON
*ILEX PARAGUARIENSIS***



DOCTORANDO: ING. MARCOS G. MAIOCCHI

DIRECTORA: DRA. ELISA M. PETENATTI

SUB-DIRECTORA: DRA. MARÍA V. AVANZA

2011

Dedico este trabajo a:

Jorge Avanza (†): El Doctor.

Estela Binaghi (†) y Antonio Maiocchi: Mis Padres.

Natalia Serrano: Mi Esposa, quien jamás dejó de alentarme.

María Victoria, María Eugenia, Mateo Antonio (†) y Marco Ismael Maiocchi: Mis hijos y
las razones para seguir.

Mis hermanos y amigos.

AGRADECIMIENTOS

A Elisa Petenatti, La Directora, por lograr revivir este proyecto y por su generosidad.

A Establecimiento Las Marías, a su GENTE y a sus NOBLES PRODUCTOS.

A Mabel Montiel (*Una Maestra*).

A María Victoria Avanza, la subdirectora.

A María Guadalupe Chaves, la socia fundadora de este proyecto.

A las Universidades Nacional del Nordeste, Universidad Nacional de San Luis y Universidad Tecnológica Nacional por haber permitido el uso de instalaciones e instrumental para llevar a cabo este proyecto.

A la invaluable ayuda de los Dres. Luís Del Vitto, Eduardo Marchevsky, Pedro Sansberro, Luis Malgor (†), Sonia Sgroppo, Mario Raúl Delfino, Luis Dante Martínez, MS Ing. Sergio Prat Kricun, Farm. Mauricio Teves, Ing. Andrés Mazza, Ing. Alejandro Ocampo, Lic. Gustavo Vera, Lic. María Teresa Sánchez, Universidad de la Cuenca del Plata y mis profesores de carrera de grado Ing. Carlos Alderetes y Dr. Ángel Fusco, con quienes tuve el honor de trabajar en la docencia.

*Aquí van mis trabajos y mi fe,
mis **MATES**, mis bajones y mis sueños.
Y todas las personas que me diste,
desde mi corazón te las ofrezco.*

*Esto es lo que soy
Autor: Eduardo Meana*

PROLOGO

El origen de este trabajo de tesis, se remonta al año 1998, cuando una muestra de *Ilex dumosa*, llegó al Laboratorio de Tecnología Química de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Por entonces, trabajaba en relación de dependencia para Establecimiento Las Marías y junto al Dr. Jorge Avanza con quien realizábamos investigaciones en infusiones, particularmente con yerba mate.

Fue para abril del 2000, cuando el Dr. Avanza me convocó para participar como técnico en el Proyecto de Investigación básica *Ilex dumosa*. Desde el Laboratorio, hicimos aportes a la química y tecnología de producción; mientras en la Facultad de Medicina, desde la cátedra de Farmacología el Dr. Luis Malgor y su equipo realizó los estudios toxicológicos y desde el INTA Cerro Azul, el Ing. Sergio Prat Kricun aportó los avances a nivel agronómico.

Cuando los resultados, alentadores por cierto estuvieron confirmados, comenzaron los trámites por parte de Establecimiento Las Marías, en lo Reglamental.

No se hicieron esperar los contras y los pro parecían no alcanzar, pero finalmente, *Ilex dumosa* fue incorporada al Código Alimentario Argentino y hoy ya está disponible para que el consumidor, pueda disfrutar de unos “*mates con menor nivel de mateína*”, como se puede leer en el rótulo del producto que está en el mercado desde hace un par de años.

A todo esto, con los resultados alcanzados hasta el 2003, el Dr. Avanza me propone seguir investigando sobre el tema, pues, como el mismo me lo manifestara con una de sus múltiples frases célebres... *Ya le vi la pata a la sota, vamos a profundizar este tema con un estudio comparativo con yerba mate.*

Es mi deber mencionar que para entonces el Dr. Avanza, era una autoridad en el área de tecnología de obtención de yerba mate, luego de haber realizado para APRYMA (Asociación Promotora de la Yerba Mate) junto a Briex y Gómez Vara estudios tecnológicos que revolucionaron la industria yerbatera en los inicios de la década del 80. El equipo de trabajo del Laboratorio de Tecnología Química, siguió con investigaciones en el rubro yerbatero - tealero y en el año 1996, recién egresado de la Facultad Regional Resistencia de la Universidad Tecnológica Nacional, comencé a trabajar en este grupo.

Durante tres años realizamos investigaciones en infusiones para Establecimiento Las Marías aportando información que considero aún hoy de carácter confidencial.

Con el tema: *Caracterización y optimización del proceso de producción de Ilex dumosa para la obtención de infusiones - Estudio comparativo con Ilex paraguariensis (yerba mate)* me inscribí en la carrera de Doctorado de la UNNE Especialidad Química, en Junio de 2003 (Res 356/03 del 14/08/03).

Por idas y vueltas del destino, se discontinuó la investigación y vinieron cambios de trabajo, por tal motivo solicité una suspensión transitoria (Res. 710/05 del 20-10-05). Con la decisión y la paciencia del Dr. Avanza, intentamos continuar pero en Octubre del 2007, su repentina desaparición física detuvo el proceso.

A comienzos del 2008, me comuniqué con el Dr. Eduardo Marchevsky, un querido amigo del Dr. Avanza, quien me contactó con el equipo de trabajo del Herbario de la Universidad Nacional de San Luis, específicamente con la Dra. Elisa Petenatti, quien aceptó en principio la tarea de valorar el trabajo hasta entonces realizado, concluyendo con la reformulación del plan de tesis.

Durante el 2009 y 2010, se concretó el proceso reinscripción (Res. 0811/09 del 10-12-09), los viajes a San Luis, la incorporación de la temática de la Farmacobotánica y Farmacognosia, la posibilidad de retomar el trabajo de investigación, de escribir, de publicar y por último durante 2011 concluir con la redacción de la tesis y de 2 trabajos originales enviados a revistas de circulación internacional.

Ya al cierre de esta etapa, pudiendo observar en su conjunto el trabajo, puedo decir que además de aportar información sobre *Ilex dumosa*, constituye un justo homenaje a nuestra bebida nacional, *el mate*.

Honorable jurado y toda otra persona que se interese por este trabajo, gracias por su tiempo.

Ing. Marcos Maiocchi

El presente trabajo ha permitido realizar las siguientes Publicaciones y presentaciones a Congresos y Reuniones Científicas.

Publicaciones:

- 2011. Maiocchi MG, Del Vitto LA, Marchevsky EJ, Pellerano RG, Avanza MV & Petenatti EM.- VALOR NUTRICIONAL Y MINERAL COMPARATIVO DE *Ilex paraguariensis*, *I. dumosa* Y SU MEZCLA. *Biocell* **36** (en prensa).
- 2010. Maiocchi MG, Téves MR, Del Vitto LA, Avanza MV, Petenatti EM. COMPARATIVE PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS OF INFUSIONS (“MATE”) OF TWO SPECIES OF *Ilex* (AQUIFOLIACEAE) IN THE ARGENTINEAN MARKET. *Biocell* **35** (1): 54.
- 2002. Chaves MG, Maiocchi MG, Sgroppo SC, Avanza JR. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE INFUSIONES DE *Ilex paraguariensis*. *Revista Internacional - Información Tecnológica- CIT, Chile* **13** (2):1-8. (ISSN 0716-8756).
- 2002. Maiocchi M, S Moyano, L Martínez & J Avanza, 2002. ESTUDIO COMPARATIVO DEL CONTENIDO DE MINERALES EN *Ilex paraguariensis* e *Ilex dumosa*. *Arch Lat Nutr* 441-54.

Congresos y Reuniones Científicas

- 2011. Maiocchi MG, Del Vitto LA, Marchevsky EJ, Pellerano RG, Avanza MV & Petenatti EM.- Valor nutricional y mineral comparativo de *Ilex paraguariensis*, *I. dumosa* y su mezcla. 2° Reunión Conjunta de Sociedades de Biología de la República Argentina. Centro de Convenciones y Cultural, San Juan. 17-19 agosto 2011.
- 2011. Maiocchi MG, Téves MR, Petenatti ME, Del Vitto LA, Avanza MA, Petenatti EM. Control de calidad farmacobotánico de “Yerba Mate” y adulterantes no congénicos. 5° Congreso Sudamericano de la yerba mate. Mayo de 2011, Posadas.

- 2011. Maiocchi MG, Téves MR, Petenatti ME, Del Vitto LA, Avanza MA, Petenatti EM. Control de calidad farmacobotánico de “Yerba Mate” y adulterantes no congénicos. *Sesión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, Universidad Nacional del Nordeste*. Julio 2011, Resistencia.
- 2010. Maiocchi MG, Téves MR, Del Vitto LA, Avanza MA, Petenatti EM. Comparative physico-chemical parameters of infusions (“Mate”) of two species of *Ilex* (Aquifoliaceae) in the argentinean market”, *XXVIII Reunión Científica Anual de la Sociedad de Biología de Cuyo*. El mismo ha sido distinguido con una mención especial a uno de los mejores trabajos del evento. Octubre de 2010, Mendoza.
- 2004. Maiocchi MG, Avanza JR. Degradación de clorofilas y feofitinas a diferentes temperaturas en *Ilex dumosa* e *Ilex paraguariensis*. Resumen E 085- *Sesión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas Universidad Nacional del Nordeste*. Octubre de 2004, Resistencia.
- 2004. Kochol R, Malgor L, Verges E, Valsecia M, Mendoza L y Maiocchi M. Estudio de efectos adversos de extractos de saponinas obtenidas de *Ilex paraguariensis* y de una nueva especie de yerba mate: *Ilex dumosa* Reiss. Reuniones de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas Universidad Nacional del Nordeste. M -086.
- 2003. Maiocchi MG, Avanza JR. Variaciones en el contenido de ácidos clorogénicos entre cosecha y procesamiento de *Ilex dumosa*. *Sesión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas Universidad Nacional del Nordeste*. Octubre de 2003, Corrientes.
- 2003. Maiocchi MG, Ocampo AG, Avanza JR. Estudio comparativo de aceites esenciales de *Ilex paraguariensis* e *Ilex dumosa* procesadas. *Sesión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas Universidad Nacional del Nordeste*. Octubre de 2003, Corrientes.
- 2002. Maiocchi M, Avanza J, Moyano S, Martínez L. Estudio comparativo del contenido de minerales en *Ilex paraguariensis* e *Ilex dumosa*. *IX Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos - AATA - Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios*. Agosto de 2002, Buenos Aires
- 2001. Chaves MG, Maiocchi MG, Avanza JR. Capacidad Antioxidante de Infusiones de *Ilex dumosa* - *Sesión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas de la UNNE*. Octubre de 2001, Corrientes.

- 2000. Chaves MG, Maiocchi MG, Sgroppo SC, Avanza JR. Poder antioxidante de infusiones de *Ilex paraguariensis* e *Ilex dumosa*, su relación con el contenido de ácidos clorogénicos y condiciones de procesamiento. *XXIII CONGRESO ARGENTINO DE QUIMICA*. Septiembre de 2000, Corrientes.
- 1998. Maiocchi MG, Avanza JR. Contenido de ácidos clorogénicos en *Ilex dumosa* e *Ilex paraguariensis*. *Sesión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad Nacional del Nordeste*. Octubre de 1998, Resistencia.
- 1997. Maiocchi MG, Avanza JR. Contenidos en Saponinas de los extractos de *Ilex dumosa* e *Ilex paraguariensis*. *Sesión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad Nacional del Nordeste*. Septiembre de 1997, Corrientes.

NOTA: LA DOCUMENTACIÓN PROBATORIA DE RESOLUCIÓN DE APROBACIÓN DEL PLAN DE TESIS Y LAS COPIAS DE LA PRODUCCIÓN CIENTÍFICA GENERADA COMO CONSECUENCIA DE LOS ESTUDIOS REALIZADOS CONSTAN EN EL ANEXO I DISPUESTO EN LA PARTE FINAL DEL TRABAJO.

OBJETIVO GENERAL

Contribuir a la optimización del proceso de producción de *Ilex dumosa* para la obtención de un producto comercial con bajo tenor en cafeína y características organolépticas semejantes a yerba mate tradicional, y a su caracterización farmacobotánica y farmacognóstica frente a otras especies del género, especialmente *Ilex paraguariensis*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los principales caracteres morfoanatómicos diacríticos de *Ilex dumosa* e *I. paraguariensis* con el objeto de caracterizar droga cruda y productos de ella derivados
- Determinar los parámetros de micrografía cuantitativa de *Ilex dumosa* e *I. paraguariensis* con el objeto de caracterizar las drogas crudas y contribuir al control de calidad de las mismas, cuando se halla reducida a polvo o partículas pequeñas, a fin de detectar eventuales alteraciones, sustituciones y adulteraciones de las especies genuinas.
- Determinar diversos metabolitos secundarios y analitos que permitan establecer estándares de calidad de *Ilex paraguariensis* e *I. dumosa*
- Determinar diversos parámetros químicos que permitan optimizar el proceso de producción de *Ilex dumosa* para la obtención de un producto comercial con bajo tenor en cafeína

CONTENIDO

Dedicatoria y agradecimientos	i-iii
Prólogo y producción científica	iv-viii
Objetivos general y específicos	ix

Capítulo I - Introducción

La Yerba Mate	2-4
El género <i>Ilex</i> y la Yerba Mate	4
La familia Aquifoliaceae	5
El género <i>Ilex</i> L.	6-7
Sobre algunas especies usuales de <i>Ilex</i>	8
Antecedentes, usos Etnobotánicos, etnomédicos, industriales y comerciales	8-13
Principales actividades terapéuticas documentadas por investigaciones científicas	14
Actividades terapéuticas atribuidas por el uso popular	14
<i>Ilex dumosa</i> : de adulterante a alternativa comercial	15-16
Antecedentes reglamentarios	16-19
Situación actual	19-20
El mercado de la yerba mate	20-22
Formas de consumo de la yerba mate	23-24
Composición química	24-25
Extracto acuoso	25
Xantinas	26-27
Ácidos clorogénicos y actividad antioxidante	27-30
Heterósidos saponínicos	30-33
Aceites esenciales	33
Clorofilas	33-35
Minerales (en resultados y métodos está después de ácidos clorogénicos)	35
Tecnología agrícola e industrial	36
Sistemas de explotación comercial	37
Proceso agrícola	37-43
Procesamiento industrial	44-49

Capítulo II - Materiales y métodos

A. Materiales	51-52
B. Métodos	
1. Métodos botánicos	52
1.1. Métodos botánicos de campo	52-53
1.2. Métodos botánicos de laboratorio	53-55
2. Métodos físico-químicos	
2.1. Preparación de la muestra de material procesado	56
2.2. Preparación de muestras de extractos acuosos	56
2.2.1. Simulación de cebadura	56
2.2.2. Simulación de mate cocido	57

3. Cuantificaciones fisicoquímicas	
3.1. Determinación de extracto acuoso	57-58
3.1.1. Extracto acuoso en droga cruda	58
3.1.2. Extracto líquido en cebadura	58
3.1.3. Extracto seco en cebadura	59
3.1.4. Extracto acuoso de mate cocido	59
3.2. Determinación de cafeína	
3.2.1. Determinación de xantinas por HPLC en droga cruda	59-60
3.2.2. Determinación de cafeína en droga cruda (Método 925.17 AOAC)	60
3.2.3. Determinación de cafeína en cebaduras y mate cocido (Método 925.17 AOAC)	61
3.3. Ácidos clorogénicos, pardeamiento y actividad antioxidante	61
3.3.1. Ácidos clorogénicos en droga cruda (Método 957.05 AOAC)	61-62
3.3.2. Ácidos clorogénicos en cebadura y mate cocido	62
3.3.3. Degradación de los ácidos clorogénicos y pardeamiento	62-63
3.3.4. Actividad antioxidante	63
3.4. Minerales	64
3.4.1. Obtención de cenizas en droga cruda e infusiones para ICP-AES	64-65
3.4.2. Análisis químico-elemental en cenizas de drogas crudas e infusiones por ICP-OES	65-66
3.5. Determinación de la fracción rica en saponinas	66-67
3.5.1. Aislamiento de la fracción de saponina bruta	67
3.6. Aceites esenciales	67
3.7. Humedad	
3.7.1. Humedad en droga cruda	68
3.7.2. Humedad de hojas frescas y en proceso (sin molienda)	68-69
3.8. Simulación de los métodos industriales	
3.8.1. Simulación del tratamiento en playa de recepción	69
3.8.2. Simulación del zapecado	69
3.8.3. Simulación del secado	69-70
3.8.4. Simulación del estacionamiento	70
a) Humedad de equilibrio e Isotermas de adsorción	70
b) Determinación de clorofilas y feofitinas	70-71
3.9. Métodos de análisis nutricional	
Materiales	72
Preparación de extractos acuosos	72
Evaluación de los principios nutricionales	73
Análisis Mineral	73
4. Análisis estadístico de los datos	73
5. Terminología, abreviaturas y obras referenciales	74-75
Abreviaturas	75-77

CAPITULO III- RESULTADOS Y DISCUSION

RESULTADOS FARMACOBOTÁNICOS

Descripción botánica, denominación vulgar, hábitat, cultivo y usos	79
<i>Ilex paraguariensis</i>	79-82
<i>Ilex dumosa</i> Reissek	82

<i>Ilex dumosa</i> Reissek var. <i>dumosa</i>	82-84
<i>Ilex dumosa</i> Reissek var. <i>guaranina</i> Loes.	84-86
Anatomía y micrografía cuantitativa de <i>I. paraguariensis</i> , <i>I. dumosa</i> y adulterantes	
<i>Ilex paraguariensis</i> A. St. Hil.	86
Anatomía foliar y caulinar	86-89
<i>Ilex dumosa</i> Reissek	90
Anatomía foliar y caulinar	90-93
Adulterantes de “yerba mate”	94
<i>Mangifera indica</i> L.	94
Anatomía foliar	94-96
<i>Ligustrum lucidum</i> W.T. Aiton.	95
Anatomía foliar	95-100

RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS

1. Extracto acuoso	101-103
2. Cafeína	104-106
3. Ácidos clorogénicos y actividad antioxidante	106-109
4. Minerales (Macro y microelementos)	
4.1. Cenizas	110-111
4.2. Minerales	112-120
5. Saponinas	120-121
6. Aceites esenciales	121-124

RESULTADOS DE SIMULACIÓN DE LOS MÉTODOS INDUSTRIALES

Almacenamiento en playa	125-133
Zapecado	133-136
Secado	136-140
Estacionamiento	141-146
Clorofilas	147-151

ANÁLISIS NUTRICIONAL Y MINERAL COMPARATIVO DE *ILEX DUMOSA*, *I. PARAGUARIENSIS* Y SU MEZCLA 70:30 EN DIFERENTES FORMAS DE CONSUMO

1. Valor nutricional de la droga cruda	152-153
2. Valor nutricional de cebadura	153-155
3. Valor nutricional del mate cocido	155-156
4. Contenido y valor nutricional de 32 elementos minerales	157-161
5. Conclusiones sobre el Valor nutricional	161-162

CAPITULO IV- CONCLUSIONES

163-173

CAPITULO V- BIBLIOGRAFIA

174-199

ANEXO – DOCUMENTACIÓN Y PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

200



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

LA "YERBA MATE"

La "yerba mate" (o "yerba") es un producto alimenticio y estimulante definido por el Código Alimentario Argentino (CAA) en su Art. n° 1193 como "*el producto formado por las hojas desecadas, ligeramente tostadas y desmenuzadas de Ilex paraguariensis Saint Hilaire (Aquifoliáceas) exclusivamente, mezcladas o no con fragmentos de ramas secas jóvenes, pecíolos y pedúnculos florales*" (CAA 2011).

Esta planta, nativa principalmente de las selvas asociadas a las cuencas de los ríos Paraná, Uruguay y Paraguay, entre aprox. 15 y 32° de latitud Sur, fue consumida desde tiempos inmemoriales por los pueblos originarios guaraníes, habitantes de la Mesopotamia y el nordeste de la Argentina, el este de Paraguay y regiones limítrofes de Uruguay y Brasil. Los indígenas recogían las hojas de "ka'a" (la yerba mate, o el árbol por excelencia) o "ka'a y" ("yerba árbol", originalmente en guaraní) en la selva, donde crecía en forma silvestre, y quizá al comienzo las consumieron mascándolas al estado verde, y más tarde macerándolas durante días y bebiendo el líquido resultante, para curar afecciones reumáticas e intestinales, o bien empleándola como bebida revitalizante, usándola finalmente en infusión con esa finalidad. El hallazgo de documentos escritos en 1541 por los primeros pobladores de la Asunción, en Paraguay, mencionando "yerba molida", significa que el beneficio y procesamiento (el tostado a la llama y luego molido) de la yerba ya era conocido por los indígenas, puesto que la zona de producción potencial estaba entonces lejos de los primeros establecimientos españoles (Grondona 1953).

La costumbre de beber esta infusión fue extendiéndose durante el período de dominación hispano-portuguesa en América del Sur, al principio en gran medida como emético, pero también por sus, ya entonces, comprobadas propiedades estimulantes. Sin embargo, hacia fines del S. XVI y comienzos del XVII, las autoridades españolas consideraron al "mate" como un vicio "peligroso" que distraía a los peninsulares de sus obligaciones y los alejaba de las costumbres europeas, y ni qué decir de los indígenas. Como ejemplo, en abril de 1595 Juan Caballero Bazán, a la sazón Teniente Gobernador de Asunción, prohibió tanto el cultivo de la planta como el tránsito por los yerbales naturales existentes. Con la llegada de la Compañía de Jesús al Paraguay a principios del S. XVII, el consumo del "mate" y la exportación de la yerba fueron prohibidos,

pero esta proscripción sólo sirvió para atraer la curiosidad de los conquistadores y estimular su empleo subrepticio. Finalmente, el cultivo fue autorizado a los Jesuitas, que lo monopolizaron hasta que fueron expulsados de Sudamérica, en 1767. Estos religiosos lograron domesticar la planta resolviendo los problemas de germinación, lo que les permitió extender las plantaciones hasta tal punto que la venta de “yerba mate” se convirtió en la principal fuente de ingresos de las “reducciones” indígenas que regenteaban, dado que en cada uno de sus poblados habían logrado implantar un yerbal, de acuerdo a los escritos del sacerdote jesuíta José Cardiel (*fide* Hernández 1913). El propio Cardiel aludió más tarde al uso generalizado de la yerba mate por todas las clases sociales, y a las dos suertes de yerba que se consumían en la época: con palo (“yerba de palos”) y “yerba menuda” (“caámini”), cernida (Furlong 1953). El valor económico de los yerbales en las Misiones jesuíticas ha sido considerada una de las causas de la resistencia que la Orden religiosa opuso a su expulsión de América (Grondona 1953), luego de la cual las plantaciones decayeron notoriamente. Por su parte, hacia 1720 el consumo se había generalizado también en el actual estado de São Paulo, Brasil (Mutinelli 1964).

Varios naturalistas, entre ellos Félix de Azara, se ocuparon posteriormente de la yerba mate. Quizá el más notable de ellos fue Aimé Bonpland, que habría conocido la planta en la Isla Martín García, en 1818; recogió y estudió materiales floríferos y fructíferos entre 1820 y 1821, y redescubriendo las condiciones naturales de germinación, establecería nuevos plantíos en sus propiedades de San Borja y Santa Ana (Corrientes), abandonados a su muerte (Domínguez 1929).

Por su parte, Auguste de Saint-Hilaire publicó su *Ilex paraguariensis* en 1822, basándose en un ejemplar coleccionado en Curitiba (Río Grande do Sul), en su visita de marzo de 1820. Con posterioridad, fueron descritas variedades y sinónimos cuya identidad ha sido esclarecida paulatinamente, hasta su resumen por Grondona (1953).

Hasta fines del S. XIX se continuaba cosechando yerba del monte, especialmente cuando se la hallaba en densas poblaciones (las llamadas “islas”), pero la tala indiscriminada de la selva, los incendios y la modificación del hábitat fue menguando los rendimientos, hasta que la única solución posible fue el establecimiento de nuevos cultivos racionales y comerciales, que comenzaron a ensayarse en 1888. Hacia 1903 se hacen plantaciones en Santa Ana, en la provincia de Misiones, siendo el punto de partida de la industria yerbatera argentina, que pasó por muchas vicisitudes, y llegó a ser una actividad fuertemente regulada por el Estado. En efecto, la

colonización de Misiones desde 1920 incrementó la producción nacional de yerba mate, pero los industriales privilegiaron la yerba importada de Brasil y Paraguay. El Estado creó en 1936 la Comisión Reguladora de la Producción y el Comercio de la Yerba Mate (CRYM), que intervino regulando el mercado hasta 1989. A partir de entonces comenzó un aumento de producción que generó un descenso de precios que hizo crisis en 1995. En 2002 fue creado el Instituto Nacional de la Yerba Mate (INYM), con la finalidad de restablecer la regulación y promover la actividad yerbatera nacional.

El uso de la infusión se difundió, al punto de constituir una costumbre muy arraigada en el Cono Sur, e incluso en algunos países árabes desde la introducción del producto comercial en Medio Oriente a comienzos del S. XX. Actualmente, en nuestro país su empleo es tan generalizado que la yerba mate ha sido incluida en la llamada “Canasta Básica de Alimentos”, en una proporción de 600g por persona por mes (INDEC 2011).

EL GÉNERO *ILEX* Y LA “YERBA MATE”

El género *Ilex* L. pertenece a la familia Aquifoliaceae, Orden Celastrales y está compuesto por algo más de 400 especies de distribución subcosmopolita, encontrándose las especialmente en regiones tropicales y templado-cálidas de Asia y América (Hu 1989, Loizeau & Spichiger 2004, Loizeau *et al.* 2005, Mabberley 1998). Incluye biótupos funcionales arbóreos o arbustivos, con follaje mayormente siempreverde, de hábito comúnmente erguido, llegando a ser epífitos en unos pocos casos. En cuanto a su sexualidad pueden ser dioicos o polígamos-dioicos.

Este género está ampliamente difundido en Sudamérica, con al menos 220 especies nativas del subcontinente, de las que sobresale por su valor económico *I. paraguariensis* A. St.-Hil., a partir de la cual se elabora la “yerba mate” y cuyo consumo está difundido particularmente en Argentina, Uruguay, Sur de Brasil y Este de Paraguay, por sus propiedades alimenticias y medicinales (bebida estimulante, también tónico, colerético, antirreumático, etc.; Mabberley 1998). Otras especies, como *I. guayusa*, *I. terapotina* e *I. vomitoria* también son empleadas para preparar infusiones, en sus lugares de origen (Loizeau 1994).

LA FAMILIA AQUIFOLIACEAE

La Familia *Aquifoliaceae* Bartling, que corresponde al Orden Celastrales de la Subclase Magnoliópsidas (= Dicotiledóneas), tiene distribución subcosmopolita e incluye 4 géneros con unas 427 especies (Mabberley 1998; otros autores elevan las especies a 600 y otras las reducen a poco menos de 400). Está representada en América sólo por el género *Ilex* (Edwin & Reitz 1967, Giberti 1994 a-b, 2008).

Son árboles pequeños (excepcionalmente hasta 25 m alto) o arbustos, raramente lianas, generalmente siempreverdes, con hojas simples, alternas u opuestas, estipuladas o no y con mesófilo frecuentemente provisto de células resiníferas y laticíferas.

Las flores son pequeñas, actinomorfas, hipóginas, generalmente unisexuales (plantas dioicas o polígamas), 4-5 meras hasta polímeras, agrupadas en inflorescencias axilares, subaxilares o terminales, por lo general cimosas; el cáliz es imbricado, reducido hasta caduco o ausente; la corola es connata en la base, raro ausente, con pétalos desde ovados a lineares, imbricados en la prefloración; androceo alternipétalo, generalmente isostémono, adnato o no a la corola, y en las flores femeninas están representados por estaminodios algo menores que los estambres de las flores masculinas; gineceo súpero, generalmente 4-6 carpelar y ovario 4-22 loculado, estilo corto o ausente, y estigma generalmente capitado, a menudo sésil; óvulos generalmente 1 (raro 2) por lóculo, unitegmentados; fruto en drupa provista de tantos pirenos subtrígonos como carpelos componen el gineceo (generalmente 2-9 pirenos); semillas con embrión pequeño, con abundante albumen oleoso y proteico (no amiláceo).

Cromosomas $x = 9 \text{ ó } 10$.

Incluye los siguientes géneros: *Ilex* L. (con unas 400 especies), *Nemopanthus* Raf. (con 8 especies), *Phelline* Labill. (12 especies) y *Sphenostemon* Baillon (con 7 especies). Estos dos últimos han sido segregados en sendas familias por algunos autores.

EL GÉNERO *ILEX* L.

Incluye unas 500 especies (aunque algunos autores elevan esa cifra a 600), de distribución subcosmopolita (Giberti 1979, 1994 a, Hu 1989, Loizeau *et al.* 2005, Mabberley 1998, Manen *et al.* 2010).

Son plantas dioicas o polígamo-dioicas, en su mayoría arbustos y árboles siempreverdes, de los que son muy conocidos los llamados “acebos”, cultivados especialmente en el Hemisferio norte por su valor ornamental en parques y jardines (Hu 1989, Obeso *et al.* 1998) entre las que destacan *I. aquifolium* L., *I. cornuta* Lindl. & Paxton, *I. crenata* Thunb. e *I. opaca* Soland., entre otras. En cambio *I. affinis* Gardn., *I. brevicuspis* Reissek, *I. cerasifolia* Reissek, *I. dumosa* Reissek e *I. theezans* Reissek son fuente local de madera para carpintería y también como leña.

Las hojas son generalmente alternas y espiraladas, cortamente estipuladas, pecioladas, simples, coriáceas, desde persistentes hasta caducas, enteras, desde ovadas a lanceoladas, de borde entero, crenado o dentado hasta dentado-espinoso y base decurrente.

Las plantas son generalmente dioicas (con flores estaminadas y carpeladas en diversos pies) o polígamo-dioicas (con flores carpeladas o estaminadas, y perfectas en el mismo pie). Las flores son pequeñas, actinomorfas, unisexuales (con rudimentos del sexo opuesto), generalmente 4-meras (hasta 6-meras), sépalos 4, glabros o pubescentes, pétalos 4 (5), blanco-verdosos, connatos sólo en la base, y 4 (5) estambres (o estaminodios) adnatos a la base de la corola; ovario subgloboso a ovoide, (2) 4-6 locular, con lóculos 1- (raro 2) ovulados, y estigma capitado, sésil. Las flores son raramente solitarias, y más frecuentemente se disponen en fascículos axilares; la polinización es en general entomófila, ya que de ella se encargan abejas y otros insectos. El fruto es un nuculanio (es decir una drupa con varios pirenos) conspicua, globosa o elipsoide, comúnmente coloreada de rojo (por lo cual resalta en el follaje, generalmente verde oscuro), a veces castaña, negra o verde oscuro, y que contiene 1-10 semillas endospermadas; en algunas especies se registran frutos partenocárpicos.

Las drupas de algunas especies resultan desde suavemente tóxicas hasta mortales, con principios que causan vómito o diarrea al ser ingeridas por el ser humano, mientras que animales salvajes (especialmente pájaros) las comen sin mayores problemas, constituyendo para ellos un valioso recurso invernal.

El género ha sido dividido en tres subgéneros:

- ◆ Subgénero *Byronia*, que incluye la especie tipo, *Ilex polypyrena* L.
- ◆ Subgénero *Prinos*, con 12 especies
- ◆ Subgénero *Ilex*, con el resto de las más de 400 especies.

El nombre "ilex" era usado por los romanos para designar la "encina", *Quercus ilex* L., un árbol de la familia del roble (Fagáceas), pero con hojas similares a las del "acebo" de Europa (*Ilex aquifolium* L.).

Este género es característico de las formaciones de selva templada con predominio de árboles perennifolios (*laurisilva*), y ocupó una gran área geográfica en el Terciario; su evolución originó numerosas especies, muchas de ellas endémicas de islas y de áreas montañosas muy circunscriptas. Actualmente su distribución está en regresión, pese a lo cual aún se encuentra bien representado en las áreas templadas y templado-cálidas, con la mayor diversidad específica en las regiones intertropicales y templadas de Asia y América, con algunos representantes también en Europa y el Norte de África, y varios endemismos en islas y valles montañosos.

La intensa utilización por el hombre de algunas de sus especies las ha convertido en raras, y particularmente algunas especies intertropicales están amenazadas de extinción, sobre todo por explotación y por cambios drásticos en el hábitat. Así, 97 especies están incluidas en la *Lista Roja* de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN 2011), de las cuales dos se han extinguido por completo, 7 se encuentran en peligro crítico y 27 están amenazadas de extinción.

SOBRE ALGUNAS ESPECIES USUALES DE *ILEX*

ANTECEDENTES, USOS ETNOBOTÁNICOS, ETNOMÉDICOS, INDUSTRIALES Y COMERCIALES

En el Cono Sur de América ha sido documentada la presencia de 12 especies y 4 variedades de *Ilex* (Zuloaga *et al.* 2008), distribuidas en Argentina, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Brasil, y relacionadas directa o indirectamente con la producción de “yerba mate”, y con otros usos y aplicaciones. En Argentina han sido halladas hasta hoy 7 especies (Keller & Giberti 2011). Asimismo, existen otras especies útiles de *Ilex*, distribuidas en el resto de América, Asia, África y Europa. A continuación se enumeran y describen brevemente algunas de ellas, sus propiedades, y en su caso, la relación con la actividad yerbatera y con otras industrias (Giberti 1979, 1989, 1994 a-b, 1998, 2008, Keller & Giberti 2011, Mabberley 1998, Prat Kricun & Belingheri 1992).

◆ *I. affinis* Gardner *in* Hooker, “ka’a chiri”, “ka’a chivi” (“yerba purgante”); “ka’a rã” (“similar a la yerba”), “congonha de campo”, “congonha de Goyaz”, “mate bastardo”, “ka’a miri” (pequeña yerba). Nativa de Bolivia, Brasil y Paraguay, es un árbol o arbolito de 2-5 m alto. Su presencia en Argentina ha sido registrada recientemente (Keller & Giberti 2011), siempre en suelos húmedos, en “cerrados” y paredones rocosos al borde de arroyos y ríos. Aunque raramente, ha sido empleada en sustitución de la “yerba mate”, dado que contiene cafeína (en promedio 0,293g%g en materia seca) y es una de las pocas especies distribuidas hasta el centro de Bolivia.

◆ *Ilex aquifolium* L., el “acebo” o “agrifolio” (ingl. “holly”) es la especie más conocida y cultivada del género, nativa de Europa y cuenca del Mediterráneo, popularizada en el mundo como planta ornamental resistente, útil por su follaje, con dientes prolongados en agudas espinas (usada como seto vivo) y por sus frutos carmesí llamativos. Hoy se encuentran numerosos cultivos e incluso híbridos con especies cercanas, de follaje variegado de otros tonos de verde o amarillo/blanco, muy usados en jardinería. El antiguo nombre anglosajón (“holegn”) alude a la

sacralidad del árbol (“holy tree”), empleado para decorar viviendas en invierno, continuado por las Saturnalias romanas y tomado luego por la tradición navideña cristiana reinterpretándolo como una alusiva corona de espinas. En español se llama también (aunque erróneamente) “muérdago”, que en realidad alude a la Viscácea europea *Viscum album* L. La originalmente blanca madera de “acebo” (cortada en invierno) es usada para elaborar instrumentos musicales (v.gr. las gaitas de los Highlands), enchapado artesanal e incrustaciones decorativas, y adquiere muy bien los tintes oscuros, sustituyendo al ébano (Mabberley 1998). En medicina popular se utilizan sus hojas como antiespasmódico, laxante, febrífugo y sudorífico; los frutos son muy tóxicos, purgantes (en realidad drástico, a mayores dosis emeto-catártico severo, convulsivo hasta mortal, especialmente en niños); también se emplea la tintura de las hojas frescas, frutos y brotes; en nuestro país, las preparaciones fitoterápicas con esta especie han sido prohibidas por ANMAT (Disposición 1788/2000); es empleado en sistemas terapéuticos como la Terapia Floral de Bach con el nombre de *Holly*.

◆ *I. argentina* Lillo, “palo de yerba” o “roble tucumano”. Es una especie muy afín a *I. paraguariensis*, diferenciándose sólo en los caracteres de ejemplares femeninos. Nativa de Bolivia y Argentina, vive en laderas selváticas correspondientes a la Provincia Fitogeográfica de las Yungas, entre 900 y 1.400 m s.m. Existen referencias de su uso como infusión en la época colonial española en la zona del Gran Tucumán, pero ese empleo se habría perdido (Giberti 1979). Contiene teobromina, lo que justifica su empleo como infusión teiforme.

◆ *I. brasiliensis* (Spreng.) Loes., “kuati nambí” (= oreja de coatí, aludiendo a la forma de la hoja), “mate falso”. Nativa del norte y noroeste del Estado de Paraná y sur de San Pablo (Brasil), es un árbol o arbolito entre 2 y 6 m alto. Vive en ambientes húmedos, excepcionalmente en mesetas rocosas. Es un adulterante cogenérico de la “yerba mate”, a veces mencionado bajo el nombre erróneo *Ilex caaguazuensis* Loes. Contiene cafeína. En Chile es aceptada por los reglamentos alimentarios como “yerba mate” al igual que *I. paraguariensis* (Chile 1996).

◆ *I. brevicuspis* Reissek, “ka’a hu” (= yerba oscura), “caúna”. Nativa de Brasil, del NE argentino y centro-sur de Paraguay, es un árbol de 4-10 m alto propio de la selva húmeda y

esteros, y hasta en borde de selva. Es adulterante de la yerba genuina. Su infusión resulta desagradable. No presenta cafeína. Se usa para tablas y láminas, y leña.

◆ *I. cassine* L., “dahoon”, nativa de Norteamérica, cuyas hojas son empleadas como té, incluso desde época precolombina, ya que era usada en rituales indígenas.

◆ *I. chamaedryfolia* Reissek, arbusto alto de flores blancas y drupas rojas, hojas estrechas y dentadas. Nativa de Brasil, distribuida desde el Estado de Paraná hasta el de Río Grande do Sul. Su contenido promedio de cafeína es 0,213 g%g en materia seca.

◆ *I. dumosa* Reissek, “apere’a ka’a” (= yerba del aperea, roedor), “ka’a miri” (= yerba pequeña), “yerba señorita”, “congonha”, de sitios húmedos o pantanosos de Sudamérica tropical y subtropical (noreste de Argentina, sur de Brasil y este de Paraguay). Es un arbusto o arbolito perennifolio, considerado adulterante y también sucedáneo de la “yerba mate” (especialmente *I. dumosa* var. *guaranina* Loess.), con distribución geográfica semejante, menor contenido de cafeína y mayor resistencia a enfermedades (Prat Kricun & Belingheri 1995). Es recogida del monte junto con *I. paraguariensis* con fines industriales. Su cultivo comercial data de poco tiempo atrás.

◆ *I. glabra* (L.) A. Gray, “té de los Apalaches”, representa un sustituto más suave para la ceremonia del “yaupon” (cf. *I. vomitoria*), puesto que no contiene cafeína.

◆ *I. guayusa* Loes., “guayusa”, es un árbol de las laderas orientales selváticas de los Andes sudamericanos. Ha sido explotado en la época colonial en Perú, Ecuador y Colombia; es rica en cafeína (la planta con mayor tenor en el mundo), empleado por ello para té, especialmente con usos ceremoniales (“enteógeno”), pues participa como estimulante y aditivo en la preparación del té llamado “ayahuasca”; además es considerado medicinal (especialmente emético, en forma de enema intoxicante y estimulante), y como planta ritual entre las etnias amazónicas; algunos farmacólogos sostienen que tendría leve acción psicótica si es consumido en exceso.

- ◆ *I. integerrima* (Vell.) Loes., “caá-catí caúna”. Endémica del Planalto brasileño, tiene hojas marcadamente coriáceas, empleadas como adulterante de la yerba mate genuina, ya que por su contenido en alcaloides tiene también propiedades estimulantes (Giberti 1989).
- ◆ *I. kudingcha* C.J. Tseng, de la China, cuyos brotes jóvenes son secados con un procedimiento semejante al del “té verde”; es la principal especie usada para preparar la tisana llamada “ku ding cha” o “Vietnam bitter tea”.
- ◆ *I. microdonta* Reissek, “congonha”. Ampliamente difundida en el sur de Brasil, sobre todo en el Planalto, entre los montes nubosos y el oriente de la región de las Araucarias, con descenso poblacional hacia el Oeste. Es empleada como adulterante o se usa en mezcla con yerba mate. Su madera se emplea para cajonería y leña.
- ◆ *I. opaca* Aiton, “American holly”, del centro y este de EE.UU., con hojas tónicas y febrífugas.
- ◆ *I. pseudobuxus* Reissek, “caúna da praia”. Abunda en el litoral brasileño, en la vegetación de Restinga (Edwin & Reitz 1967), a orilla de lagunas de agua dulce, y hacia el interior en la zona ribereña de arroyos y ríos. Ha sido usada como sucedáneo de la yerba mate, y en ocasiones como adulterante. Tiene propiedades febrífugas. La madera es empleada en carpintería y cajonería.
- ◆ *I. tarapotina* Loes., de Colombia y Perú, donde es empleada para preparar una infusión semejante al “té” o al “mate”, con efectos eméticos y también estimulantes (Hu 2004).
- ◆ *I. taubertiana* Loes., “caúna nebulosa”. Se presenta en Brasil, con baja densidad poblacional en la vegetación de los montes pluviales superiores y montes nebulares de la Serra do Mar. No ha sido usada como adulterante de la “yerba mate”, y es exclusivamente empleada como leña.
- ◆ *I. theezans* Reissek in Martius, “caúna amarga”. Árboles hasta arbustos (2-15 m alto) de amplia distribución en Brasil y este de Paraguay, en Argentina sólo se presenta hasta ahora en el extremo nordeste de Misiones (Giberti 1990). Sus hojas son buen sucedáneo de la yerba mate, dado que su infusión es diurética y estimulante, conteniendo cafeína en una proporción de 0,578

g%g de materia seca. Entre sus aspectos culturales se destacan su tolerancia al “psílido” y su buena respuesta a la cosecha periódica.

◆ *I. verticillata* (L.) A. Gray, “feverbark” o “winterberry”, es un arbusto caducifolio de Norteamérica, cuyas hojas se emplean como sustituto del té, mientras que la corteza se emplea como astringente, catártico, dérmico y tónico; sus frutos son tóxicos.

◆ *I. vomitoria* Aiton, “yaupon”, “té de los Apalaches”, “casina”, “cassine”, “té de las Carolinas”, “black drink”, “apalachina” o “apalachine”, es un arbusto/arbolito perennifolio propio de bosques costeros del SE de EE.UU. y zonas colindantes de México, usado por indígenas como estimulante y ritual; fue cultivada por misioneros en Florida; sus hojas secas tienen cafeína y han sido y son empleadas en Norte y Mesoamérica para té (llamado “bebida negra”), particularmente como estimulante en la ceremonia denominada “yaupon”, además de sus propiedades eméticas y purgantes.

◆ *I. paraguariensis* A. St.-Hil., “ka’a y” (= árbol de yerba), “ka’a mata”, “ka’a”, “ka’a eté” (yerba verdadera), “yerba mate”, “mate”, “caá”, “ibirá caá morí” (ingl. “maté”), árbol o arbolito hasta 20 (-30) m alto, perennifolio, silvestre en selvas y en “cerrados” del E de Paraguay, NE de Argentina (Corrientes y Misiones), centro-sur de Brasil y N y centro-este de Uruguay; es cultivado intensamente en esa área, por sus hojas y tallos herbáceos ricos en *mateína*, estimulante del SNC y diuréticas. Es la principal fuente de “yerba mate” comercial, con la que se prepara la infusión más popular de nuestro país; es droga oficial argentina (FNA I ed.); también es reputada popularmente como tónico, estimulante, anticefalálgico, etc.; en muchos casos es adicionada con otras hierbas medicinales o aromáticas, lo que da origen a las *yerbas mate compuestas*, y que le confieren a la infusión sabores o propiedades medicinales particulares. En la Tabla **I.1** se resumen los usos y aplicaciones de esta especie, considerando los aspectos etnobotánicos, etnomédicos, nutricionales e industriales conocidos.

Tipología de producto	Usos etnobotánicos, etnomédicos y/o industriales		Propiedades y bibliografía referencial
	Subproductos comerciales o etnobotánicos	Forma de consumo y/o caracteres físico-químicos	
Bebidas	Mate	Infusión	Alimenticio, terapéutico (cf. infra) (Blumenthal <i>et al.</i> 2000, CAA 2011, Uruguay 1957, 1980, Zbigniew Mazachowski 1997, etc.)
	Mate cocido	Infusión	
	Chá-mate (queimado, verde)	Infusión, sola o en mezcla con bebidas dulces	
	Decocción/infusión	Decocción/infusión de hojas	
	Tereré	Maceración en agua fría	Tónico, refrescante, para eliminar la sed (Alonso 2004)
	Mate soluble	Polvo instantáneo para infusión	Alimenticio (CAA 2011)
	Jarabes, Jugos, Cerveza, Vino	Bebidas basadas en jugo o extracto de yerba mate (cuando fermentadas hasta 7% etanol), con o sin agregado de lúpulo, malta, azúcar, etc.	Bebidas refrescantes y estimulantes (Barboza 2006, Burgardt 2000, CAA 2011, Maccari & Santos 2000)
Insumos de alimentos	Colorante, conservante alimentario	Clorofilas y aceites esenciales	(CAA 2011)
	Saborizantes de helados, caramelos, bombones, goma de mascar		
Medicamentos	Formas galénicas	Cápsulas (1-2g por día)	Estimulante del SNC, para fatiga física y psíquica; analéptico, diurético, inotropo (+), cronotropo (+), glucogenolítico, lipolítico (Blumenthal <i>et al.</i> 2000, Vanaclocha & Cañigeral 2003)
		Infusión	
		Extracto fluido (relación 1:1)	
		Tintura (relación 1:10)	
	<i>Mate folium</i> (nombre farmacopeico)	Droga triturada para infusiones y droga en polvo para otras preparaciones galénicas	
Extractos Flavonoídicos	Extracto fluido de flavonoides	Tratamiento de hipertensión, bronquitis y neumonía	
Yerba mate “compuesta” (asociación c/o hierbas medicinales)	Infusión	Vehículo de principios medicinales y aromáticos de otras plantas, más el efecto terapéutico de <i>I. paraguariensis</i>	
Materiales de diagnóstico médico	Mate cocido	Infusión	Medio de contraste para resonancia nuclear abdominal (colangiografía) por abundancia de Mn (propiedades paramagnéticas)
Higiene general	Bactericida, antioxidante hospitalario y doméstico	Extracto saponínicos y aceites esenciales	(Azarkevich 1996, Zbigniew Mazachowski 1997)
	Productos emulsificantes		Emulsificante, tratamiento de efluentes, reciclaje de residuos urbanos (Zbigniew Mazachowski 1997)
Productos de uso personal	Perfumes, desodorantes, cosméticos y jabones	Extracto selectivo de hojas y clorofila	(Azarkevich 1996, Zbigniew Mazachowski 1997)
	Crema para masajes (Biofreeze®)	Ingrediente activo: <i>Ilex paraguariensis</i>	Uso en fisioterapia como calmante de dolores musculares y articulares (www.biofreeze.com)

Tabla I.1. Usos y aplicaciones de los productos derivados de *Ilex paraguariensis*

Principales actividades terapéuticas documentadas por investigaciones científicas:

Antiinflamatorio, antioxidante, antiespasmódico, adelgazante, colerético-colagogo, diurético, estimulante suave del SNC, hipocolesterolemizante, antiaterosclerótico, lipolítico (termogénico), hipoglucemiante, glucogenolítico, vasodilatador, antifúngico oral, antichagásico, antiviral, preventivo de caries dentales, proquinético intestinal, genoprotector (Andersen & Fogh 2001, Arcari *et al.* 2009, Blumenthal *et al.* 2000, Bracco & Schutz 1995, Bracesco *et al.* 2010, Ferreira *et al.* 1997, Filip *et al.* 2010, González-Torres 1992, Gorzalczany *et al.* 2001, Gugliucci 1996, Hamada 1980, Lee 2007, Martinet *et al.* 1999, May & Willuhn 1978, Miranda *et al.* 2008, Mosimann *et al.* 2006, Schubert *et al.* 2007, Silva *et al.* 2004, , Taketa *et al.* 2004, Vázquez & Moyna 1986, Zuin *et al.* 2005, etc.).

Actividades terapéuticas atribuidas por el uso popular:

Se la emplea popularmente como bebida estimulante, y por sus efectos salutíferos que según la experiencia popular centenaria abarca un amplio espectro de enfermedades y aplicaciones, entre ellas las siguientes: adelgazante, antialérgico, antiartrítico, antiedematoso, antiespasmódico, antigotoso, antihemorroidal, antireumático, antidepresivo, antiulceroso (tópico) en ántrax y herpes, antiverrucoso, calmante nervioso, cardíaco y regulador del corazón, colagogo y colerético, depurativo sanguíneo, digestivo, diurético, energético, estimulante del sistema nervioso y de la memoria, hipotensor, inhibidor del apetito, laxante o purgante, tónico y vigorizante; además, es reputada útil contra desórdenes del sistema nervioso (neuroprotector, tónico nervioso, antidepresivo, contra dolores de los nervios, neurastenia, etc.), y para aliviar o tratar otras afecciones muy variadas, como astenia o debilidad muscular, envejecimiento, constipación, debilidad en general, debilidad muscular y fatiga, dolor de cabeza, dolores reumáticos, escorbuto, estrés, heridas y llagas, insuficiencia urinaria, obesidad, polinosis, cólicos renales, úlceras, etc. e incluso se emplea porque favorece la pérdida de peso, ayuda en el parto, y para morigerar los efectos de la fiebre (“chucho”) (Alonso 2004, Amat & Yajía 1998, Cañigüeral *et al.* 1998, Gupta 1995, Montes 1965, Pochettino & Martínez 1998, Simoes 1986, Toursarkissian 1980, Vanaclocha 1998, etc.).

***ILEX DUMOSA*: DE ADULTERANTE A ALTERNATIVA COMERCIAL**

Desde el inicio de la difusión del consumo y producción de yerba mate a fines de S. XVI, se conocía la existencia de *Ilex dumosa* Reissek, vulgarmente conocida como “yerba señorita”, “caá miní” o “yerba pequeña”. Esta planta constituía un buen sustituto de la yerba mate, participando en menor medida junto a *Ilex paraguariensis*, en la elaboración de la “yerba mate” comercial, en función del aprovechamiento de los montes nativos, en los que se presentaba con menor frecuencia y densidad poblacional que *I. paraguariensis* (Mutinelli 1988).

En territorio argentino se realizaron varias plantaciones de *I. dumosa* en las zonas de San Ignacio, Campo Viera y El Dorado. A partir de 1935 estos plantíos fueron eliminados o abandonados, ya que por ley federal fue considerada adulterante de *I. paraguariensis*. Bajo estas condiciones, imperantes hasta la década del 90, y con el objeto de evitar las adulteraciones, el Código Alimentario Argentino (CAA) definió como yerba mate “*al producto de la ‘secanza’ únicamente de Ilex paraguariensis*”, motivo por el cual quedó expresamente prohibido el uso de *I. dumosa* en la elaboración del producto comercial (Mutinelli 1964).

Son numerosas las investigaciones llevadas a cabo especialmente sobre *I. paraguariensis*, desde diversos puntos de vista, y en menor medida sobre otras especies de *Ilex* (Bertoni *et al.* 1993, Bracesco *et al.* 2010, Filip *et al.* 2000, 2001, Gottlieb *et al.* 2005, Heck & Mejía 2007, Heinzmann & Schenkel 1995, Mutinelli 1964, Pires *et al.* 1997, Reginatto *et al.* 1999, Spegazzini *et al.* 2002, etc.). Sin embargo, los resultados de las investigaciones realizadas sobre *I. dumosa* hacen de esta especie también un interesante objeto de estudio, en virtud de sus condiciones culturales y bromatológicas, que permiten satisfacer ventajosamente algunos de los requerimientos actuales del mercado. Las características agronómicas a destacar de esta especie son su buena respuesta a la cosecha periódica para la producción de hoja, y una mayor resistencia a enfermedades y plagas en comparación con *Ilex paraguariensis*, por ejemplo en el caso del “rulo” o psílido *Gyropsylla spegazziniana* (Lizer) (Hemiptera: Psyllidae) (Anselmo *et al.* 1992).

En cuanto a la concentración de metilxantinas, *I. dumosa* presenta un bajo contenido de cafeína (0,1-0,2%) frente al rango de 1,2-1,8% típico de *I. paraguariensis* (Maiocchi & Avanza 1997), aunque otros autores informan la total ausencia de cafeína en *I. dumosa* (Filip *et al.* 1998). Este bajo contenido en cafeína permite la utilización de *I. dumosa* para la obtención de un producto comercial “naturalmente descafeinado”. Teniendo en cuenta que el mercado actual de infusiones demanda productos “descafeinados” (lo cual se logra generalmente por costosos y contaminantes tratamientos físico-químicos), *I. dumosa* se convierte en una alternativa muy válida. Si bien no posee las mismas características en cuanto al sabor de su infusión que *I. paraguariensis*, las diferencias no resultan tan notables para personas no habituadas al consumo de yerba mate. Esto la convierte en palatable al menos para una parte de los consumidores. La mezcla de ambas especies ha conducido a la formulación de un producto apto para infusiones de bajo contenido en xantinas y sabor similar a la yerba mate tradicional.

Algunos estudios han demostrado que las infusiones de *I. dumosa* procesadas con la misma tecnología que *I. paraguariensis*, y en concentraciones equivalentes, no producen alteraciones hematológicas, renales o hepáticas en experimentos llevados a cabo en ratas (Kochol *et al.* 2003, 2004, López Campanher *et al.* 2000), al contrario de lo informado en su momento por Bonfiglio *et al.* (1997).

El procesamiento de *I. dumosa* hace uso hoy de la tecnología aplicada a la producción de yerba mate, que a su vez resulta de la sumatoria de condiciones empíricas, a las que se han agregado modificaciones surgidas de estudios científico-tecnológicos relativamente recientes (Avanza *et al.* 1981, Bertoni *et al.* 1993, Ceni *et al.* 2009, Núñez & Känzig 1995, Prat Kricun & Belingheri 1995, Ramallo *et al.* 2010, Schmalko & Alzamora 2001).

ANTECEDENTES REGLAMENTARIOS

La primera reglamentación respecto a aspectos alimentarios y bromatológicos de la “yerba mate” data de 1948, con la aprobación del Reglamento Bromatológico de la Provincia de Buenos Aires, el cual considera que “*la materia prima exclusiva para elaborar el producto designado*

como “yerba mate” o “yerba” son las hojas de *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire y sus variedades no nocivas mezcladas o no con fragmentos de ramas jóvenes, pecíolos y pedúnculos florales”.

A continuación se mencionan cronológicamente las reglamentaciones que rigieron, y rigen, las actividades relacionadas con la “yerba mate”:

- 1949 - Código Bromatológico Nacional que formó parte del Plan Quinquenal, coincide en este aspecto con el de 1948; no obstante señala que la determinación analítica se haría siguiendo el método micrográfico de Scala (Scala 1922).
- 1953 - El Reglamento Alimentario, coincide con el anteriormente mencionado.
- 1962 - El Octavo Congreso Sudamericano de Química autorizó por unanimidad, que en el Código Latinoamericano de Alimentos también se limite la materia prima a la misma especie antes mencionada.
- 1971 - El Código Alimentario Argentino coincide con lo precedentemente expuesto en la redacción de su artículo n° 1193.
- 1988 - Por una posterior Resolución se mantiene el mismo texto respecto a la procedencia de la materia prima que origina el producto “yerba mate” y al mismo tiempo se introduce un nuevo artículo (n° 1198) “*el producto yerba mate compuesta o yerba mate aromatizada, constituida por yerba mate elaborada adicionada de hasta 10 % en total de una o varias hierbas sápidas aromáticas de reconocida inocuidad fisiológica en la forma habitual de su uso (infusión o mate): cedrón, tomillo, salvia, poleo y piperina. Estos vegetales deberán satisfacer las exigencias establecidas en el Código y/o en la Farmacopea Nacional Argentina*”.
- 1990 - Según una nueva Resolución de dicho Código, se sigue manteniendo el mismo criterio pero finalmente otra resolución del mismo año modifica el mismo artículo en el que mantiene el criterio de considerar las hojas de *Ilex paraguariensis* St. Hil., etc... al que añade la expresión: “*sin perjuicio de autorizar la inclusión de otras especies de igual género, tan pronto como se dispongan de estudios que avalen su inocuidad y sean aprobadas por la Autoridad Sanitaria Nacional*”. Asimismo modifica el texto del artículo n° 1198, elevando hasta un 40 % en total, el contenido de una o varias hierbas sápidas

aromáticas, etc... en la “yerba mate compuesta” o “yerba mate aromatizada” (Bertoni *et al.* 1997), quedando expresado así:

- “Art. n° 1193 - (Res. 307, 29.11.90) *Con la denominación de Yerba Mate o Yerba se entiende el producto formado por las hojas desecadas, ligeramente tostadas y desmenuzadas, de Ilex paraguariensis Saint Hilaire (Aquifoliácea) exclusivamente, mezcladas o no con fragmentos de ramas secas jóvenes, pecíolos y pedúnculos florales, sin perjuicio de autorizar la inclusión de otras especies de igual género tan pronto como se disponga de estudios que avalen su inocuidad y sean aprobados por la Autoridad Sanitaria Nacional*”.
- 1998 - Con el objetivo de incorporar a *Ilex dumosa* Reissek al CAA dentro del mismo artículo (n° 1193), el Establecimiento Las Marías realiza las gestiones ante la Dirección de Saneamiento Ambiental, Subdirección de Bromatología, de la Provincia de Corrientes en la que solicita la iniciación de trámites ante la Comisión Nacional de Alimentos (CONAL).
- 2002 - Entre los antecedentes citamos el expediente N° 1-47-2110-4245-02-9 (25/03/02) del Reg. de la CAA), por el cual la CONAL solicita al Establecimiento Las Marías su propuesta de modificación al CAA. Con fecha 03/06/02 el Establecimiento Las Marías propone el siguiente texto a fin de incorporar al CAA en el Capítulo XV "Productos Estimulantes o Fruitivos", en la sección correspondiente a la Yerba Mate, la especie "*Ilex dumosa*".
- “Art. n° 1193: Con la denominación de "Yerba Mate" o "yerba", se entiende el producto formado por la hojas desecadas, ligeramente tostadas y desmenuzadas de *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire (Aquifoliácea) y/o *Ilex dumosa* Reissek (Aquifoliácea) exclusivamente, mezclada o no, con fragmentos de ramas secas y jóvenes, pecíolos, o pedúnculos florales, sin perjuicio de autorizar la inclusión de otras especies de igual género tan pronto como se disponga de estudios que avalen su inocuidad y sean aprobados por la Autoridad Sanitaria Nacional."
- “Art. 1194: Con las denominaciones que siguen se entienden los productos que a continuación se definen: (...) “Yerba Mate naturalmente sin cafeína o naturalmente con bajo porcentaje de cafeína; es la Yerba Mate elaborada que naturalmente contiene un bajo

porcentaje de cafeína o carece de cafeína. Este producto debe responder a las mismas exigencias establecidas en el Art. n° 1195 excepto en lo que se refiere a su contenido de cafeína el que será inferior de 0,6 %."

- 2002 - Con la sanción de la Ley 25564, el 21/02/2002, se crea el *Instituto Nacional de la Yerba Mate* (INYM 2002), un ente de derecho público no estatal, con jurisdicción en todo el territorio de la República Argentina (INYM 2011 a-b).
- 2003 - Por Resolución 47/2003, el Instituto Nacional de la Yerba Mate (INYM 2003) expresa su oposición a la propuesta de modificación de los Arts. n° 1193 y 1194 del Código Alimentario Argentino, por la cual se planteaba la incorporación al mismo de *Ilex dumosa*, en la sección correspondiente al producto denominado "Yerba Mate".

SITUACIÓN ACTUAL

La posición del INYM expresada en 2003 se vio modificada parcialmente tres años más tarde con la incorporación de *I. dumosa* al CAA, en el Art. n° 1192, y la consecuente modificación del Art. n° 1193 (Boletín Oficial de la República Argentina 2006), con sendos textos que son transcriptos a continuación:

"Art. n° 1192: *Con la denominación de Hierbas para Infusiones, se entienden los siguientes vegetales: Anís, Boldo, Carqueja, Cedrón, Dumosa (Ilex dumosa R.), Incayuyo, Lucera, Manzanilla, Marcela, Melisa, Menta, Peperina, Poleo, Rosa Mosqueta, Romero, Salvia, Tilo, Tomillo, Zorzaparrilla y otros que en el futuro se incorporen, sólo o mezclados. Las hierbas para preparar infusiones se deberán expender en envases bromatológicamente aptos, pudiendo usarse bolsitas o saquitos con las mismas especificaciones establecidas en el Artículo n° 1189 para el té.*"

“Estos productos se rotularán con el nombre del vegetal correspondiente como: Boldo, Poleo, Manzanilla o mezcla de hierbas, en cuyo caso se deben declarar los ingredientes en orden decreciente de sus proporciones.”

“En la rotulación deberán ajustar en todo lo que prescriba el presente Código.”

*“Art. n° 1193: Con la denominación de Yerba Mate o Yerba se entiende el producto formado por las hojas desecadas, ligeramente tostadas y desmenuzadas de *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire (Aquifoliácea) exclusivamente, mezcladas o no con fragmentos de ramas secas jóvenes, pecíolos y pedúnculos florales.”*

EL MERCADO DE LA YERBA MATE

Aunque la producción de “yerba mate” se limita a la región bioclimática determinada por el NE de Argentina, E del Paraguay y S de Brasil, el hábito de beber la infusión se ha difundido ampliamente en la población de esos países, además de la de Uruguay, Chile y Bolivia. Aunque existe capacidad potencial para aumentar la producción en forma relativamente rápida, son las limitaciones en el crecimiento de la demanda las que marcan el ritmo de la expansión productiva (CONAMATE 1997, Navajas Artaza 1995).

Si bien el producto final presenta características distintivas en cuanto a sabor, color, tipo de molienda y grado de estacionamiento de acuerdo a cada país, distinguiéndose así la yerba mate brasileña de la elaborada en la Argentina, la adaptación de algunas tecnologías aplicadas en la producción permiten elaborar distintos tipos de yerba, según el consumidor final al que esté destinada (Bastos *et al.* 2006 a). También existe un tipo “uruguayo” de yerba, mientras Paraguay produce casi con exclusividad para su mercado interno; aún más, se registran diferencias regionales a veces notables entre las yerbas procedentes de un mismo país (Gortari 1997).

La producción mundial estimada de yerba mate está en el orden de las 500.000 t anuales, y corresponde exclusivamente a tres países del Cono Sur (Argentina, Brasil y Paraguay), que cultivan en conjunto poco más de 300.000 ha con *I. paraguariensis* (Tabla I.2).

Tabla I. 2. Superficie cultivada y producción de hoja verde y yerba canchada por país

Año 2009	Superficie (ha)	%	Producción de hoja verde (t)	%	Producción de yerba canchada (t)	%
Argentina	204.221	66	661.145	56	260.542	51
Brasil	86.998	28	434.817	37	219.773	43
Paraguay	18.750	6	77.663	7	30.289	6
TOTAL	309.969	100	1.173.625	100	510.604	100

Fuente: elaborado a partir de datos de SAGPyA, INYM, IBGE y CAN2008

Además de los cuatro países productores/consumidores (Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay), se exporta a numerosos destinos internacionales como Japón, Líbano, Estados Unidos, Chile, Siria, Alemania, Australia, Canadá, Bolivia, España, China, Corea del Sur, Croacia, Israel, Suecia, Taiwán, Sudáfrica, Noruega, y otros.

En Argentina la yerba mate está presente en el 98% de los hogares, y el consumo alcanza las 220.000 t por año, principalmente en la forma tradicional de infusión caliente con “mate y bombilla” o “tucuapí”. En 2005, el promedio anual del consumo en nuestro país fue de 6,7 kg per capita, mientras que en Uruguay, con el récord de consumo per capita, alcanza los 7,8 kg.

En la producción primaria son significativas las cooperativas que nuclean a pequeños productores de yerba mate y té (particularmente en Corrientes y Misiones), por ejemplo en Colonia Liebig, Montecarlo, Oberá, Picada Libertad y Santo Pipó. El 90% de la producción se concentra en provincia de Misiones, y el 10% restante en Corrientes. La concentración en el mercado interno es alta; así, las cinco empresas líderes son (en orden alfabético): CBSé, Grupo Amanda, Hreñuk, La Marías y Molinos, y abarcan más del 50% de los volúmenes comercializados (Gortari 2011).

El consumo nacional de infusiones es de unos 6,8kg por persona, por año. Por producto, el mayor consumo corresponde a la yerba mate (5,6kg), seguida por el café (977g), el té (130g) y las hierbas aromáticas (9g). Además, en el 92% de los hogares se consume mate con bombilla, en

el 54% mate cocido, y sólo en el 14% “tereré” (INYM 2010). La Tabla I.3 resume datos de producción nacional registrados entre los años 2005 y 2010.

Tabla I. 3. Producción de hoja verde y de yerba canchada a la salida de los molinos yerbateros

Año	Hoja verde (t)	Producción de yerba mate (t)
2005	741.619	253.539
2006	703.887	229.358
2007	701.135	235.693
2008	695.427	232.948
2009	661.145	260.542
2010	714.450	250.041

Fuente: INYM, Informe sector yerbatero, Febrero 2011

Según informes del Consejo Federal de Inversiones (www.cfired.org.ar 2010), en 2009 las exportaciones argentinas de yerba mate superaron las 35.000 t, con un 30% destinado al MERCOSUR, particularmente a Chile y Bolivia. Las exportaciones en 2010 fueron del orden de 40.000 toneladas, con el 26% de ellas destinado a esos mismos países limítrofes.

Fuera de la región tradicionalmente consumidora, en las últimas décadas el uso de la infusión de yerba mate se difundió de manera notable en la República Árabe Siria (a la que fue destinado el 58% de las exportaciones del año 2010) y a la República Libanesa (a la que correspondió el 3% de las exportaciones de 2010), registrándose también importaciones menores de otros países del Medio y Cercano Oriente, como el Estado de Israel y Arabia Saudita, e incluso a algunos países de África. En Europa se destaca como importador España (con el 3% de las exportaciones correspondientes a 2010), Francia, Italia y Alemania; en cuanto al mercado de América del Norte, las exportaciones a Estados Unidos representaron en 2010 el 3% del total, datos todos que constan en el *Informe Estadístico Exportaciones Argentinas de Yerba Mate*, “ExportAR”, elaborado en mayo de 2011. En el mismo se consignan también los valores en millones de dólares (M U\$S) para los últimos 4 años: 30,4 M U\$S en 2007, 34,7 M U\$S en 2008, 38,2 M U\$S en 2009 y 41,2 M U\$S en 2010), con un destacable crecimiento interanual de alrededor de 7,6% en los dos últimos años.

FORMAS DE CONSUMO DE LA YERBA MATE

Las principales formas de consumo de la yerba mate en nuestro país son: *cebadura*, *mate cocido* y *tereré*. La *cebadura* y el *mate cocido* son bebidas que se consumen calientes y el *tereré*, fría. Dado que la preparación de *tereré* implica la utilización de jugos, infusiones de otras hierbas e incluso el agregado de saborizantes artificiales, no es considerado dentro de este estudio.

Con la designación de **cebadura**, nos referimos “al mate cebado, la forma más popular, antigua y extendida del consumo de la yerba mate en Sudamérica”, del que se transcribe a continuación las instrucciones y recomendaciones para la preparación de “un buen mate” (CRYM 1971):

A. Mate amargo:

1. *Úsese una calabaza grande, de boca también grande.*
2. *Cargue de yerba mate la calabaza, hasta las 3/4 partes de su capacidad.*
3. *Vuelque el mate sobre la palma de la mano izquierda y agítelo suavemente. Vuélvalo lentamente a su posición normal, cuidando que la yerba haya quedado hacia un costado del mate.*
4. *Verter el agua, al principio apenas tibia, con un chorrito fino, en el costado casi vacío del mate. Esperar un momento y repetir la operación con el agua algo menos caliente, esperando a que la yerba absorba el agua. Recién entonces se introduce la bombilla hasta el fondo y en el mismo costado casi vacío. Finalmente con el agua suficientemente caliente (nunca la deje hervir), se comenzará a cebar el mate, echado siempre el agua en el mismo lugar y no moviendo para nada la bombilla. En el otro costado la yerba permanecerá seca si se tiene el cuidado de echar siempre un chorrito fino de agua sin llenar en exceso el mate.*

Siguiendo estas instrucciones Ud. podrá saborear un rico mate y además:

- a) *La bombilla nunca se atascará, por muy molida que sea la yerba.*
- b) *El mate será suave y agradable desde el primer sorbo.*
- c) *No necesitará agregar yerba ni removerla, por prolongada que sea la mateada y su mate estará siempre coronado por un lindo copete de espuma.”*

B. Mate dulce: *“Proceda de igual forma [que para el mate amargo], agregando 1/4 cucharadita de azúcar por cada mate, en el lado en que ha colocado la bombilla”* (CRYM 1971).

C. Mate cocido: La segunda forma de consumo de yerba mate en Argentina, es el “mate cocido”. De la obra “La Yerba Mate” (CRYM 1971), se transcribe las condiciones de preparación: “Muy difundido en las zonas rurales, donde constituye el desayuno obligado, se prepara haciendo hervir yerba mate- molida o canchada - a razón de unos 80g por litro, en un recipiente con agua, acelerándose luego la decantación mediante el agregado de un poco de agua fría y se lo bebe, con o sin leche y eventual agregado de azúcar.”

D. Té de yerba: *“En las ciudades, donde el acelerado trajín diario conspira contra la forma tradicional de su uso, y fuera de América, en general, donde a la yerba mate se la conoce con las denominaciones de “té de los jesuitas”, “té del Paraguay” o “té americano”, se ha difundido su consumo, preparando la infusión tal como se hace el té; a razón de una cucharadita de yerba por taza, o mediante el uso de prácticos “sachets” individuales, de papel filtro.*

Desde 1965, y como innovación tecnológica de la empresa Establecimiento Las Marías, se comercializa en los mercados interno y externo el mate cocido “en saquitos”. El producto se presenta envasado en saquitos de papel filtro que contienen 3g de yerba mate estacionada, de granulometría ASTM 18-35. Desde hace unos 10 años se encuentra también en el mercado el mismo producto en saquitos de 2g, para preparar una infusión más “suave” (<http://www.lasmarias.com.ar>).

Para el desarrollo de este trabajo, se adoptó como definición de “mate cocido”, la correspondiente a la infusión del tipo “té de yerba” a la que se alude en los párrafos precedentes.

COMPOSICIÓN QUÍMICA

La composición química de las especies de *Ilex* comprendidas en este estudio ha sido analizada desde diversos puntos de vista, tanto en la determinación estructural de sus metabolitos como en su bioactividad, y en relación a la variabilidad morfológica (Coelho 2000), al estadio fenológico de las hojas y la época de cosecha (Bertoni *et al.* 1991), a las características físico-

químicas del producto comercial (Esmelindro *et al.* 2002), al sabor de sus infusiones (Pagliosa *et al.* 2009, Streit *et al.* 2006), a las modalidades de cultivo (Coelho *et al.* 2000, Marx *et al.* 2003), a los procesos a que es sometida la materia prima (Bertoni *et al.* 1992 a-b, 1993, Esmelindro *et al.* 2002), y a las especies adulterantes y/o sustituyentes congénicas (Valduga 1995), e incluso según los diversos métodos extractivos (Jacques *et al.* 2007, Sambiasi *et al.* 2002).

Numerosas propiedades de la yerba mate han sido determinadas fehacientemente mediante estudios farmacológicos, de los que en la última década destacan la comprobación de los efectos quimioprotectores *in vitro* de los extractos de *I. paraguariensis* (Ramirez-Mares *et al.* 2004), que resultan aún más poderosos que los del té (*Camellia sinensis*); la activa participación en procesos de inhibición de la hiperglicemia (Lunceford & Gugliucci 2005); la actividad antioxidante de los extractos y aceites esenciales de *I. paraguariensis* y de algunas especies próximas (Anesini *et al.* 2005, Bastos *et al.* 2006 b, Filip *et al.* 2000), así como la inhibición de importantes procesos del estrés oxidativo (Bixby *et al.* 2005), como la acción inhibitoria de oxidación de LDL y la manifestación de efectos antimutagénicos (Bracesco *et al.* 2003, Gugliucci 1996, Gugliucci & Stahl 1995); la actividad cardioprotectora de los extractos de yerba mate (Schinella *et al.* 2005); etc.

Extracto acuoso

En la monografía “La Yerba Mate” (CRYM 1971) son mencionados los primeros resultados de análisis de extracto acuoso en hojas de *Ilex paraguariensis*, hallándose valores entre 36,1 y 46,7%. Posteriormente Avanza *et al.* (1981) reportaron valores del orden del 40%, en sus trabajos para APRYMA (Asociación Promotora de la Yerba Mate).

Realizando una simulación de cebadura sobre yerba mate elaborada, Ramallo *et al.* (1997) obtuvieron $27,02 \pm 3,09\%$ de extracto acuoso, mientras que Viera & Sabbatella (2011) comunicaron $16,1 \pm 0,5g$ para la porción de 50g de yerba mate. Para *I. dumosa* el primer trabajo que comunica datos bromatológicos fue el de Mutinelli (1988), que indicó un valor de 42% de extracto acuoso en base seca, en hojas de esta especie.

Xantinas

El alcaloide xantínico que se encuentra con mayor frecuencia en la composición del género *Ilex* es cafeína. En la Figura I.1 se presentan las fórmulas estructurales de diversas xantinas, alcaloides de base purínica (Carey 1999).

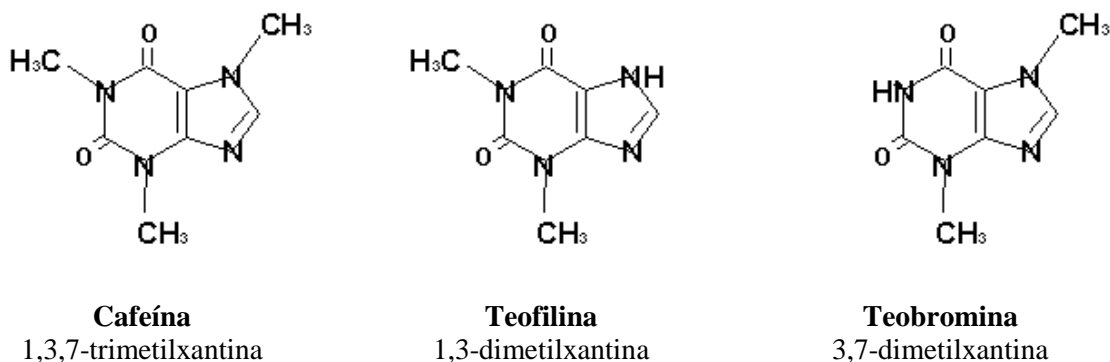


Figura I. 1. Fórmulas estructurales de las metilxantinas

En la tabla I.4 se reproduce las concentraciones de cafeína reportados en diversas especies de *Ilex* (Mutinelli 1988).

Tabla I. 4. Contenido de cafeína en distintas especies de *Ilex*, dispuestas en concentración creciente

Especie	Cafeína % en MS	Especie	Cafeína % en MS
1) <i>Ilex grandis</i> Reissek	0,061	7) <i>Ilex affinis</i> Gard.	0,293
2) <i>Ilex cognata</i> Reissek	0,148	8) <i>Ilex glazioviana</i> Loes.	0,402
3) <i>Ilex chamaedrifolia</i> Reissek	0,213	9) <i>Ilex symplificiformis</i> Reissek	0,406
4) <i>Ilex cuyabensis</i> Reissek	0,220	10) <i>Ilex diuretica</i> Mart.	0,432
5) <i>Ilex pubiflora</i> Reissek	0,253	11) <i>Ilex conocarpa</i> Reissek	0,439
6) <i>Ilex amara</i> var. <i>tijucensis</i> Loes.	0,292	12) <i>Ilex theezans</i> Mart.	0,578

Ref.: MS = materia seca

Otras especies de *Ilex* no presentan cafeína en su composición, como por ejemplo *I. latifolia* Thunb., especie utilizada en China para preparar infusiones (Liang *et al.* 2001). Por su parte, Heck & Mejía (2007) comunicaron para *I. paraguariensis* los siguientes valores: cafeína (1,3,7-trimetilxantina): 1-2%; teobromina (3,7-dimetilxantina) 0.3-0.9%; teofilina (1,3-dimetilxantina): 0,1%. Finalmente, Mutinelli (1988) informó resultados de análisis efectuados sobre hojas de *I. dumosa*, a las que correspondió un valor de 0,56% de cafeína en materia seca. Sin embargo, autores como Bertoni *et al.* (1993) y Filip *et al.* (1998) informaron que esa especie no contiene cafeína, ni xantinas en general.

Ácidos clorogénicos y actividad antioxidante

Entre los compuestos fenólicos presentes en las especies de *Ilex*, y en la yerba mate en particular (Filip *et al.* 2001), destacan los ácidos clorogénicos. Se trata de una flavona constituida por una molécula de ácido cafeico y una de ácido quínico, unidas a través de una unión éster en el carbono 3 (Fig. I.2).

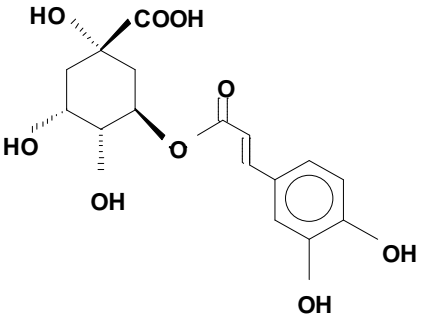
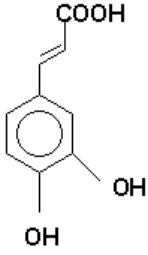
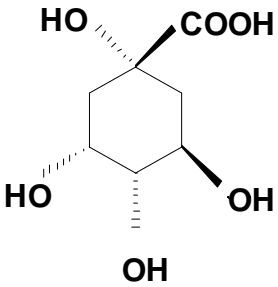
		
<p>ácido clorogénico (ác. 3-O-(3,4-dihydroxycinnamoyl)-D-quinico) ó (ác. 3-cafeoyl-quinico) $C_{16}H_{18}O_9$</p>	<p>ácido cafeico (ácido 3,4-dihydroxycinnámico) $C_9H_8O_4$</p>	<p>ácido quínico ácido D(-)-quinico $C_7H_{12}O_6$</p>

Fig. I. 2. Estructuras químicas de los ácidos clorogénico, cafeico y quínico

Los isómeros del ácido clorogénico son: el *ácido isoclorogénico*, en el que la unión entre las moléculas está localizada en el C₅ del ácido quínico y el neoclorogénico. Es considerado un antioxidante natural e inhibe la hemólisis (Ohnishi *et al.* 1994), presentando además actividad colerética (Veit & Gumbinger 1993). Se encuentra en numerosas especies vegetales y sus frutos. Es el sustrato principal de la enzima oxidante responsable del pardeamiento de productos como la manzana, pera, durazno, cuando se cortan o magullan sus tejidos y se exponen a la acción del aire. Está presente en el café junto con sus isómeros, en valores comprendidos entre 4 y 8 %. Se cree que le confiere propiedades de amargor (Barnes *et al.* 1950) y al momento del tostado, influencia en el aroma (Hart & Fisher 1984).

Avanza *et al.* (1981) informaron el contenido de ácido clorogénico en *I. paraguariensis*, el cual se halla comprendido en un rango entre 8-15%. Otros autores reportan un valor de 10% de ácido clorogénico en plantas de yerba mate (Leprevost 1987).

En *I. dumosa*, y considerando las diferentes etapas de procesamiento, Maiocchi & Avanza (1998) reportaron que la presencia de estas sustancias con propiedades antioxidantes es del orden del 4-8%.

Chaves *et al.* (2000) trabajaron con hojas molidas y deshidratadas de *I. paraguariensis* e *I. dumosa* sometidas a distintos tratamientos industriales: verde, pardeada, sapecada, presecada y canchada, obteniendo los valores mostrados en la Tabla I.5.

Tabla I. 5. Contenido en ácidos clorogénicos %g de materia seca en *Ilex paraguariensis* e *I. dumosa*, en etapas del proceso industrial

Etapa industrial del material	<i>Ilex paraguariensis</i> g ácidos Clorogénicos %g de MS	<i>Ilex dumosa</i> g ácidos Clorogénicos %g de MS
	Valor medio	Valor medio
Verde	13,92 ± 0,22	6,89 ± 0,09
Pardeado	6,15 ± 0,09	4,82 ± 0,08
Sapecado	17,01 ± 0,13	7,39 ± 0,08
Presecado	17,22 ± 0,14	7,88 ± 0,10
Canchado	15,98 ± 0,14	6,36 ± 0,07

Ref.: MS = materia seca. Fuente: Chaves *et al.* 2000)

El “pardeado” se alcanzó dejando los materiales cosechados en playa por un tiempo superior a las 24h, para luego ser secado en la forma convencional; aunque ésta no es una etapa del proceso industrial habitual, la información recabada permitió arribar a conclusiones acerca de la optimización de los tiempos de estacionamiento. La degradación de estos compuestos va acompañada de cambios en la coloración de la hoja por ser los sustratos de las enzimas polifenoloxidasas. Resulta de interés conocer la evolución de estos antioxidantes a lo largo del tiempo. Dentro del proceso de elaboración, el sapecado tiene por objetivo principal lograr la inactivación de las polifeniloxidasas, que provocan el pardeamiento de las hojas (García 1968, Heck & Mejía 2007).

Las sustancias antioxidantes son importantes para el organismo humano por la capacidad de proteger a las macromoléculas biológicas contra el daño oxidativo. Entre los antioxidantes más conocidos figuran los tocoferoles, el ácido ascórbico, flavonoides como quercetina, luteolina, kaempferol, naringenina, catequinas, etc., así como antocianinas, carotenoides, ácidos fenólicos como ácidos cafeicos, ferúlico, gálico, clorogénico (Larson 1997). Varios de estos compuestos antioxidantes están presentes en una proporción variable en diferentes partes de vegetales comestibles, que el hombre ingiere durante su alimentación diaria, y su concentración y acción depende de numerosos factores ambientales.

La capacidad antioxidante de un producto puede ser profundamente modificada durante el procesamiento, almacenamiento o por las prácticas de cocción a las cuales son sometidos los alimentos. Los métodos desarrollados para determinar la actividad antioxidante se basan en su capacidad para captar radicales libres, generados ya sea en fase acuosa o lipídica (Arnao *et al.* 1998, Robards *et al.* 1999).

La capacidad antioxidante de los polifenoles depende en gran medida del número y disposición de grupos hidroxilos y de la presencia de dobles enlaces, como así también de los sustituyentes presentes (Cao *et al.* 1997).

El ácido clorogénico es el derivado más importante del ácido cinámico presente en frutos, siendo el compuesto fenólico simple predominante (Robards *et al.* 1999). Tiene una capacidad antioxidante relativamente alta debido a dicho grupo fenólico, la que parece verse incrementada por la presencia del grupo quinato (Larson 1997). Chaves *et al.* (2000), trabajando con *Ilex paraguariensis* y sus infusiones, concluyeron que el mate cocido supera en actividad antioxidante

al té verde y al té negro. Para estas determinaciones se utilizó el método del radical *DPPH* (2,2-difenil-1-picril-hidracilo) en solución metanólica (Brand Williams *et al.* 1995).

Heterósidos saponínicos

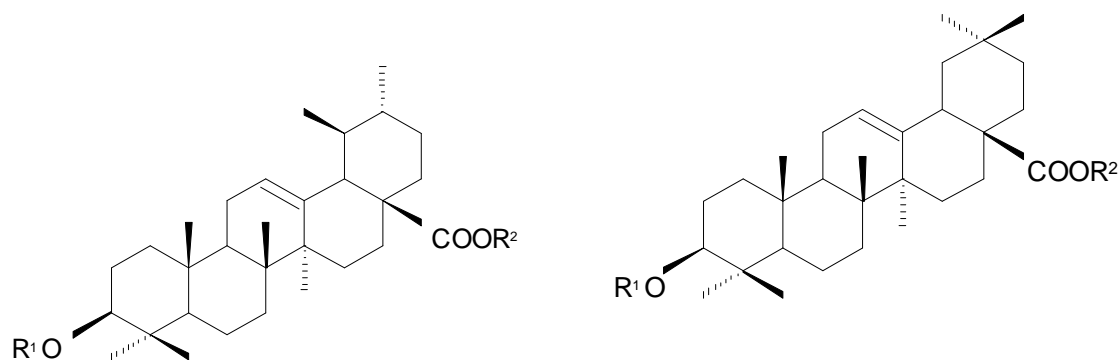
Son sustancias glucosidadas que en solución acuosa manifiestan la formación de espuma, la que permanece en el tiempo. Químicamente se trata de sustancias formadas por una parte glucosídica (azúcar) y otra no-azúcar denominada *genina* o aglicona. Se clasifican en dos grandes grupos, dependiendo del núcleo de la genina: triterpénicas y esteroidales. Son muy solubles en agua y al afectar la tensión superficial, también presentan acción detergente y emulsificante.

Algunas saponinas (principalmente las triterpénicas) presentan la propiedad biológica de provocar la lisis de eritrocitos o glóbulos rojos de la sangre (hemólisis) o la de tener efecto antifúngico por la capacidad de acomplejarse con sustancias esteroidales. Las saponinas triterpénicas presentan estructura policíclica, clasificándose de acuerdo con el número de anillos en: saponinas triterpénicas tetracíclicas o pentacíclicas. También se clasifican de acuerdo a la presencia de grupos ácidos y básicos en: saponinas ácidas, neutras o básicas.

Otra forma de clasificación es por el número de cadenas de monosacáridos unidos a la genina dando lugar a las saponinas monodesmosídicas, bidesmosídicas o tridesmosídicas.

En el género *Ilex* fueron encontradas hasta el momento saponinas triterpénicas pentacíclicas, monodesmosídicas y bidesmosídicas (Gossmann *et al.* 1989, 1995, Schenkel *et al.* 1995a-b). De los trabajos de Schenkel *et al.* (1995a) sobre *Ilex paraguariensis* e *I. dumosa*, se puede resumir el hallazgo de 10 saponinas en *I. paraguariensis*, teniendo como genina al ácido ursólico o al ácido oleanólico y como monosacáridos a arabinosa, glucosa y/o ramnosa (Fig. I.3).

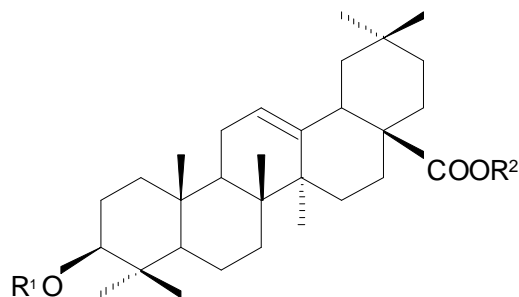
La mayoría de las saponinas de *I. paraguariensis* son bidesmosídicas, y del análisis cromatográfico se desprende la presencia predominante de saponinas derivadas del ácido ursólico. La acción hemolítica de las saponinas es mayor en estructuras monodesmosídicas con grupo ácido libre. Los test de acción hemolítica con la fracción purificada de saponinas de *I. paraguariensis*, *in vitro* y sobre cromatogramas resultaron negativos (Romussi *et al.* 1980).



- J2:** R₁=glucosa-1-3-arabinosa; R₂= H (ácido 3-O-glicopiranosil-(1→3)-arabinopiranosilursólico)
- J3a:** R₁=ramnosa-1-2-arabinosa; R₂= glucosa (éster 28-O-glicopiranosido del ácido -3-O-ramnopiranosil-(1→2)-arabinopiranosiloleanólico)
- G1:** R₁=glucosa-1-3-arabinosa; R₂= glucosa (éster 28-O-β-D-glicopiranosido del ácido -3-O-β-D-glicopiranosil-(1→3)-α-L-arabinopiranosilursólico)
- J4:** R₁=glucosa-1-3-(2-acetil)-arabinosa; R₂= glucosa (éster 28-O-glicopiranosido del ácido -3-O-glicopiranosil-(1→3)-(2-acetil)-arabinopiranosil-ursólico)
- G3a:** R₁=glucosa-arabinosa; R₂= glucosa-glucosa (éster 28-O-glicopiranosido del ácido -3-O-glicopiranosil-(1→3)-arabinopiranosilursólico)
- G3b:** R₁=glucosa-(ramnosa)-arabinosa; R₂= glucosa (éster 28-O-glicopiranosido del ácido -3-O-glicopiranosil-(1→3)-ramnopiranosil-(1→3)-arabinopiranosilursólico)
- J1:** R₁=ramnosa-1-2-arabinosa; R₂= H (ácido 3-O-ramnopiranosil-(1→2)-arabinopiranosiloleanólico)
- J3b:** R₁= ramnosa-1-2-arabinosa; R₂= glucosa (éster 28-O-glicopiranosido del ácido -3-O-ramnopiranosil-(1→2)-arabinopiranosilursólico)
- G5:** R₁=glucosa-(ramnosa)-arabinosa; R₂=glucosa-glucosa (éster 28-O-glicopiranosido del ácido -3-O-glicopiranosil-(1→3)-ramnopiranosil-(1→3)-arabinopiranosiloleanólico)

Fig. I. 3. Saponinas triterpénicas de *Ilex paraguariensis*

En las saponinas de *I. dumosa*, en cambio, predominan los derivados del ácido oleanólico. De 6 glicósidos, 4 son saponinas monodesmosídicas ácidas (Fig. I.4). En los test de acción hemolítica sobre cromatogramas, las sustancias E3, E6 y E9 presentaron actividad en las cantidades aplicadas de 25μg (Gnoatto *et al.* 2005, Schenkel *et al.* 1995 a-b). En los análisis realizados, se destaca el elevado contenido de ácido ursólico (0,23%) en hojas secas. A pesar de ese elevado tenor, las saponinas aisladas son derivadas del ácido oleanólico.



- E1:** R₁=β-D- galactopiranosil; R₂= H (ácido 3-O- β-D-galactopiranosiloleanólico)
- E3:** R₁=α -L- arabinopiranosil-(1-2)-β-D-galactopiranosil; R₂= H (ácido 3-O- α-L-arabinopiranosil-(1→2)-β-D-galactopiranosiloleanólico)
- E6:** R₁=β-D-glucopiranosil-(1-2)-β-D-galactopiranosil; R₂= H (ácido 3-O- β-L-glicopiranosil-(1→2)-β-D-galactopiranosiloleanólico)
- E7:** R₁=α-L- arabinopiranosil-(1-2)-β-D-galactopiranosil; R₂= β-D- glucopiranosil (éster 28-O- β-D-glicopiranosido del ácido 3-O- α-L-arabinopiranosil-(1→2)-β-D-galactopiranosiloleanólico)
- E8:** R₁=β-D- glucopiranosil-(1-2)-β-D-galactopiranosil; R₂=β-D- glucopiranosil (éster 28-O- β-D-glicopiranosido del ácido 3-O- β-D-glicopiranosil-(1→2)-β-D-galactopiranosiloleanólico)
- E9a:** R₁= glucuronopiranosil; R₂= H (ácido 3-O-β-D-glicuronopiranosiloleanólico)

Fig. I. 4. Saponinas triterpénicas de *Ilex dumosa*

Para la determinación de la actividad biológica debida a las saponinas contenidas en estas especies de *Ilex*, se han llevado a cabo varios estudios. Bonfiglio *et al.* (1997) trabajaron con ratas de ambos sexos (*Rattus norvegicus*, linaje Wistar), administrando por vía oral un extracto de *I. paraguarienses* e *I. dumosa* a dos grupos de 18 animales, en concentraciones de 200 y 400 mg.kg⁻¹, durante 91 días consecutivos, llevando paralelamente un grupo de control. La sangre fue colectada por punción cardíaca, en los días 1, 45 y 91 de la experimentación. Los análisis hematológicos evaluaron: conteo total de eritrocitos, conteo global y diferencial de leucocitos, hemoglobina, hematocrito y la velocidad globular de sedimentación. Los valores encontrados fueron confrontados estadísticamente con los del grupo control. El análisis de variancia detectó diferencias significativas ($p < 0,05$) en los siguientes parámetros: conteo de eritrocitos, velocidad globular de sedimentación, hematocrito y hemoglobina, a los 91 días de tratamiento, a la dosis de

91mg.kg⁻¹.día⁻¹. Se concluyó que el extracto de *I. dumosa* presenta efectos tóxicos-colaterales en fase semicrónica de tratamiento, quedando evidenciada la ocurrencia de hemólisis intravascular.

López Campaner *et al.* (2000) y Kochol *et al.* (2003, 2004), luego de trabajar con extractos procesados de *I. paraguariensis* e *I. dumosa* y fracciones enriquecidas en saponinas, respectivamente, no hallaron evidencia acerca de que el consumo de *I. dumosa* e *I. paraguariensis* genere alguna alteración hematológica, renal o hepática en las ratas expuestas. Por lo tanto, concluyeron que la ingestión continua de infusiones de saponinas de *I. dumosa* e *I. paraguariensis* utilizando 66mg⁻¹.día⁻¹, equivalente a 17mg por rata por día durante 30 días no resultó deletérea en los animales de experimentación.

Aceites esenciales

Es escasa la información disponible sobre aceites esenciales en el género *Ilex*. Freise (*secundum* Fester *et al.* 1961) obtuvo hasta 0,35% de rendimiento de esencia levemente dextrógira $\delta^{20^{\circ}\text{C}}$ 0,885 y $n_D = 1,447$ en *I. paraguariensis*, en Brasil. Por su parte, Montes (1967) informó haber hallado en yerba mate procesada un contenido en aceite esencial inferior a 0,1%, con más de 60 componentes como ácidos alifáticos, alcoholes terpénicos, bencénicos, furfural, aldehídos y cetonas. Kawakami y Kobayashi (1991) en su trabajo “*Volatile Constituents of Green Mate and Roasted mate*”, utilizando cromatografía gaseosa (CG), reportaron para *I. paraguariensis* unos 250 componentes, identificando 196 de ellos; es llamativo que hallaran 144 componentes que también están presentes en *Camellia sinensis*, la especie vegetal utilizada para elaborar el té.

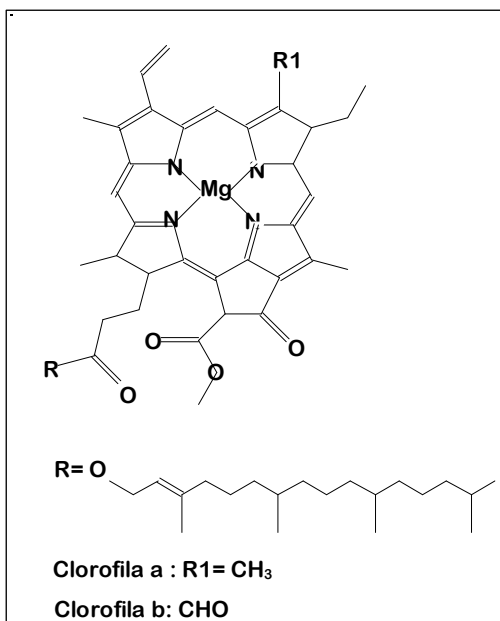
Clorofilas

El color verde de hojas y frutas inmaduras se debe a las clorofilas a (verde azulado) y clorofilas b (verde amarillento), que se encuentran generalmente en relación 3:1 en las plantas superiores. Su estructura química se muestra en la Fig. I.5.

Por eliminación del Mg, las clorofilas se transforman en feofitinas a y b, de color verde oliva-parduzco. La sustitución del ión Mg⁺⁺ por Fe⁺⁺ y Sn⁺⁺ da lugar a la formación de productos

pardo-grisáceos. Se ha comprobado que durante el proceso industrial, el calentamiento a temperaturas elevadas durante un tiempo breve mantiene mejor el color original del material que tiempos largos y temperaturas bajas (Belitz 1985).

Van Loey *et al.* (1998) reportaron que en jugo de “brócoli” (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) sometido a altas presión y temperatura, las feofitinas se degradaron a temperaturas



mayores a 70°C. A presión atmosférica y temperaturas iguales o superiores a 70°C, el decaimiento en el color verde ocurrió en dos etapas: la *feofitinización*, con una energía de activación de unas 71 kJ.mol⁻¹, y la *pirofeofitinización* con 105 kJ.mol⁻¹.

Durante el proceso industrial de producción de yerba mate, en las etapas de zapecado, presecado y secado, las temperaturas superan los 100°C y los tiempos van del orden de pocos minutos (para zapecado y presecado) hasta 2–3h en el secadero, con variaciones importantes en el contenido de clorofilas (Schmalko & Alzamora 2001).

Fig. I. 5. Estructura molecular de las clorofilas

El estacionamiento acelerado, con temperaturas entre 50-60°C y tiempos hasta 30-40 días, influye en la coloración del material notablemente, siendo éste uno de los efectos deseados. En el estacionamiento natural, en cambio, el tiempo para lograr el mismo cambio en el contenido de clorofilas es de 9-12 meses. Avanza *et al.* (1981), en sus trabajos para la Asociación Promotora de la Yerba Mate (APRYMA), estudiaron la cinética de degradación de las clorofilas a y b, a diferentes temperaturas y granulometría del material. Como resultado obtuvieron que la degradación siga una ley de orden uno con la verificación de los valores de velocidades específicas para distintas temperaturas. Por su parte, no observaron cambios en la degradación al correlacionarlas con la granulometría del material.

Montiel & Avanza (1996) estudiaron la degradación de clorofilas a y b, a distintas temperaturas de almacenamiento, en yerba “tipo Brasil”, informado una energía de activación del orden de los 50 KJ.mol⁻¹.

Minerales

La composición mineral de *Ilex paraguariensis* aplicando métodos modernos comenzó a conocerse gracias a Delfino (1990) y Tenorio Sanz & Torrija Isasa (1991). En el primer trabajo mencionado fue analizada la extractabilidad de Fe y Mn mediante simulación de cebadura, mientras que en el segundo fue medida la composición mineral en droga cruda. Más tarde, Ramallo *et al.* (1997) determinaron el contenido de Ca, Fe, Mg, K y Na en cebadura de *I. paraguariensis*. Cabe aclarar que los autores citados trabajaron sobre productos comerciales, cuyas composiciones en hojas y palos es variable.

Más recientemente, Heinrichs & Malavolta (2001) han establecido la concentración de 18 elementos químicos en materia seca de *I. paraguariensis* elaborada “con palo” (70% de hoja y 30% de palo), del tipo apto para cebadura, analizando tres marcas comerciales ampliamente difundidas en Brasil.

En términos generales, los resultados de estos trabajos concuerdan con los informados para la misma especie por Maiocchi *et al.* (2002), que además realizan un estudio comparativo de la composición química elemental con la congénere *I. dumosa*.

Recientemente Córdoba Bragança *et al.* (2011) han estudiado el contenido de elementos traza en infusiones de distintas marcas comerciales de *I. paraguariensis* del mercado brasileño.

TECNOLOGÍA AGRÍCOLA E INDUSTRIAL

La yerba mate es un cultivo perenne, restringido por sus exigencias agroecológicas en nuestro país a las provincias de Misiones y el norte de Corrientes.

En condiciones naturales, es una planta de tercera magnitud, adaptada a la existencia en el subbosque de la selva parense, por lo cual resulta algo esciófila, requiriendo cierto grado de sombra al menos durante una fase del cultivo. En la naturaleza, la planta se encuentra aislada, mientras que en ocasiones se agrupa en núcleos densos dentro de la selva, llamados “islas”, que favorecen la explotación comercial extractiva en el monte natural, práctica que casi se ha abandonado en nuestro país a favor del establecimiento de cultivos racionales.

Respecto a las condiciones edáficas, requiere suelos profundos, fértiles, húmíferos y húmedos, aunque con subsuelo permeable, propios de suaves lomadas con pendiente menor al 4%, que impida la erosión hídrica, y asegure un contenido de humedad suficiente para una eficiente nutrición mineral. Estas condiciones las cumplen, según su ubicación topográfica, muchos de los suelos lateríticos, rojos y pardos forestales profundos de la región. En general requiere un perfil de suelo de al menos 1 m hasta la roca madre.

En cuanto a las condiciones climáticas, le son favorables los climas templado-cálido y cálido, con muy cortos períodos de sequía estival, y temperaturas mínimas invernales siempre mayores a -6°C , puesto que heladas más intensas o períodos de frío prolongado afectan la vitalidad de las plantas jóvenes y dañan severamente las ramas de plantas adultas. El requerimiento hídrico en condiciones de pleno sol es de al menos 1.200 mm anuales, preferentemente 1.800 mm de precipitación, repartidos lo más uniformemente posible a lo largo del año. En ese sentido, aún breves períodos de sequía estival le resultan muy desfavorables.

SISTEMAS DE EXPLOTACIÓN COMERCIAL

Se conocen tres sistemas diversos para la explotación y/o el cultivo de esta especie (FAO/ONU 1992):

- El más primitivo y que aún subsiste en algunos sectores de Brasil, consiste en la **explotación extractiva a partir del monte natural**, combinada con la actividad forestal del mismo monte.
- Otro sistema, de aplicación actual en Brasil, consiste en el **enriquecimiento del monte natural**, implantando ejemplares de vivero sobre el monte nativo que conserva plantas de “yerba” silvestres, en un procedimiento que se conoce como “adensamiento del yerbal”.
- El tercero y más tecnificado, que es el más generalizado en la Argentina, consiste en el **desarrollo de “yerbales” cultivados especialmente**, con la implantación de ejemplares de vivero.

PROCESO AGRÍCOLA

Semilla y otros materiales de multiplicación, almácigos y vivero

La semilla debe proceder de plantas seleccionadas en cuanto a sanidad, forma y productividad, y en lo posible a partir de plantas mejoradas genéticamente, cosechando manualmente los frutos, maduros y enteros, desde enero a abril, cuando el fruto toma color morado a negro. Entre 7 y 8kg de frutos son necesarios para obtener 1kg de semillas, que contiene aproximadamente 135.000 unidades, cuyo poder germinativo es bajo, cercano al 15% (Burtnik 2006). Las semillas en mejores condiciones son obtenidas por sumersión en agua, eliminando por flotación restos del fruto y semillas “vanas” (infértiles).

La siembra tiene lugar en almácigo, en canteros algo elevados sobre el suelo, de 0,8-1,2 m ancho (actualmente también en bandejas), protegidos bajo ramadas, tela plástica corrediza o la sombra de altos árboles, entre los meses de marzo y mayo, utilizando semillas recién extraídas de los frutos o debidamente conservadas y tratadas con fungicidas. Se emplean 250 á 500g de

semilla por metro cuadrado de almácigo. Los riegos deben ser abundantes y se acostumbra cubrir los almácigos con un túnel de polietileno. La germinación tiene lugar desde 3 meses y hasta 1 año luego de la siembra. Es necesario prevenir el “damping-off” mediante pulverizaciones con fungicidas sistémicos cada 10-15 días (Burtnik 2006).

Seis o siete meses más tarde se seleccionan las plantas más vigorosas del almácigo para repicarlas en macetas de 500ml de capacidad, operación que tiene lugar entre octubre y noviembre, cuando las plantas han emitido 4 á 6 hojas, disponiéndose en viveros con protección del sol y el viento. Los plantines pasan por tres etapas: invernadero, rustificación a media sombra y rustificación al aire libre.

A partir de los esfuerzos de mejoramiento y cultivo *in vitro*, se dispone hoy de variedades mejoradas, policlonales, biclonales o clonales, que aportan sustantivamente al mejoramiento de la productividad y sanidad de los futuros lotes, a través de la multiplicación agámica.

Transplante: En el otoño-invierno siguiente, es decir a los 7-8 meses desde la germinación, y cuando las plantas en maceta alcanzan unos 50 cm de alto y 1 cm de diámetro en la base, son trasplantadas a campo. La preparación del suelo tradicional consiste en el laboreo mediante al menos una aradura y 2-3 rastreadas. Los plantines con cepellón se transplantan desde mediados de abril a mediados de setiembre, mientras que a raíz desnuda el transplante se realiza desde junio hasta julio.

La plantación se realiza generalmente en tresbolillo o en cuadrado real, marcando las líneas con subsolador o arado de reja, con orientación de las filas de noroeste a sureste, y disponiendo las plantas a 3-4 m entre líneas y 1,5-2 m entre plantas para el manejo tradicional de pequeñas explotaciones (con densidades variables desde 1.250 hasta 2.222 plantas.ha⁻¹), llegando hasta aproximadamente 2,5 m entre líneas y 1 m entre plantas en las explotaciones mecanizadas modernas, con hasta 4.000 plantas.ha⁻¹, dependiendo todo ello también de las características agroecológicas del sitio. Generalmente se recomienda que la densidad de plantación no sea inferior a 2.000 plantas.ha⁻¹. Finalmente, se las protege del viento y el sol mediante “ponchos” o “esteras” de diversos materiales (paja, caña, varillas, o trozos de debobinado o costaneros de pino), ubicados en posición noroeste.

En los últimos tiempos se preconiza el cultivo en curvas de nivel, particularmente con el fin de proteger al suelo de la erosión; igualmente se está recomendando el cultivo en franjas, dejando algunas fajas de vegetación natural intacta entre las filas del cultivo (también se obtiene un efecto semejante con la distribución en damero, dejando “parches” de vegetación natural). Actualmente se está difundiendo también la plantación mecanizada, habiéndose adaptado para esa finalidad máquinas transplantadoras de pino, con una eficiencia cercana a 10.000 plantines cada 8h de trabajo.

Labores culturales: Una vez logrado el establecimiento de las plantas a campo, durante los tres primeros años la labor más importante es el control de malezas, que por lo general se realiza mediante carpida manual o aplicación dirigida de herbicidas (protegiendo cada planta) en las líneas (o liños) y mecánicamente o con herbicidas en los entrelíños, habitualmente dos veces al año (primavera y otoño), de acuerdo a la competencia que generen las malezas. A menudo se cultiva abonos verdes de invierno y verano para mejorar la condición del suelo y el aporte de materia orgánica. En algunos casos se realiza un cultivo de menor densidad, consociado con mandioca u otras plantas agrícolas. Dependiendo de la composición y fertilidad actual del suelo, puede resultar aconsejable una aplicación de fertilizantes manteniendo una relación adecuada de macro- y micronutrientes (los que exige con preponderancia el cultivo de yerba mate son los macroelementos N, K, Mg, Ca y P, y los microelementos Mn, Zn, Fe y B).

Las plantas son sometidas a una poda de formación o “descentrado”, recepando la planta a unos 30cm del suelo, al tercer año de plantación, a fines de invierno o comienzos de primavera. Su finalidad es múltiple: fortalece el sistema radical, facilita la formación de una copa abierta, aireada, y se consigue una buena brotación a una altura adecuada para la cosecha manual, y eventualmente para la cosecha mecánica.

Sanidad del cultivo: En cuanto a sanidad, el cultivo se ve afectado en nuestro país especialmente por las aludidas enfermedades del almácigo (en su mayoría fúngicas), y en plantas adultas por el “rulo de la yerba mate” [el psílido *Gyropsylla spegazziniana* (Lizer)], el “taladro grande” o “tigre de la yerba mate” [el cerambícido *Hedyphates betulinus* (Klug)], el “marandová de la yerba mate” u “oruga rabuda” [el esfíngido *Perigonia lusca* (F.)], diversos “ácaros” (De Coll 1992), y algunos hongos responsables de la “mancha negra” y el “tizón”, entre otros.

Cosecha y poda (“tarefa”): El cultivo entra en fase de producción comercial a los 4 años desde la siembra, y dejada en condiciones naturales, al cabo de 20 años la planta puede alcanzar hasta 14 m de alto y 20 cm de diámetro a la altura del pecho. Sin embargo, en los yerbales modernos se podan las plantas para mantener una menor altura (3-6 m alto), facilitando la cosecha y otras labores culturales. La formación de las plantas está condicionada a la técnica que se adopte para la cosecha, la cual también determina la duración del yerbal y el mantenimiento de su nivel de productividad.

La cosecha consiste en la obtención del material útil (ramas tiernas y su follaje) y la poda simultánea para favorecer la producción para el futuro ciclo; por ello se le llama también “corte” o más comúnmente “tarefa”. La cosecha se realiza en invierno, en ausencia de flores o frutos, evitando toda contaminación del material extraído, tanto con vegetales extraños, como con otros contaminantes (polvo, tierra, combustibles o lubricantes, etc.) y dejando transcurrir el menor tiempo posible entre la cosecha y la llegada del material al secadero, factores todos que resultan determinantes de la calidad del producto.

Se distinguen dos tipos: la **cosecha tradicional** y la **cosecha sistematizada moderna** (INTA 1997, Burtnik 2006).

- La **cosecha tradicional** consiste en una poda manual individualizada donde el conocimiento, criterio y habilidad del cosechador (llamado “tarefero”) es fundamental. Se aplican diferentes técnicas, con variantes estacionales y de corte de diversos tipos de ramas (“banderas”, “banderillas” y “virutas”).
- La **cosecha sistematizada** se realiza estableciendo pautas fijas, en cuanto a nivel de corte y su posterior elevación. Estas tareas pueden ser realizadas tanto manualmente, por el tarefero, como en forma semimecanizada o mecanizada. En este último procedimiento predomina el corte en “mesa”, y su aplicación es posible sólo en explotaciones grandes con alta inversión en cultivos y maquinaria.

Una cosecha racional se basa siempre en la extracción parcial de follaje, en la selección de los diversos tipos de ramas sobre las que brota la planta, y en el modelado y conservación de un “esqueleto” amplio, con buena aireación y asoleado, lo cual aumenta la productividad y la sanidad del cultivo (Burtnik 2006).

Podas de rebaje y rejuvenecimiento: Periódicamente (por lo general cada 15 ciclos de cosecha) se realizan también podas *de rebaje* a 1m de todas las ramas, preservando el “esqueleto” original, o *de renovación* (o “descepe”) para la regeneración total de la parte aérea, aunque previendo dejar algunos “chupones” el año anterior para asegurar la sobrevivencia de la planta.

Buenas prácticas agrícolas, micropropagación y mejoramiento genético: Desde años recientes se ha podido establecer la conveniencia de aplicar al cultivo las llamadas “buenas prácticas agrícolas”, una combinación de procedimientos tecnológicos para obtener materia prima de la mejor calidad posible, brindando el mayor rendimiento económico de la explotación yerbatera; entre otros factores, están basadas en el manejo integrado de plagas y enfermedades, la preservación de los recursos ambientales y un mínimo riesgo para la salud humana (Burtnik 2006); su combinación con las “buenas prácticas de manufactura” a nivel industrial conducen a la obtención de la calidad óptima del producto. Estas recomendaciones de procedimiento están contenidas en las series de Normas IRAM 20550 y 20560.

Por su parte, la multiplicación de plantas valiosas o de difícil reproducción sexual encuentra en la micropropagación una herramienta biotecnológica muy valiosa (Mroginski *et al.* 1997), y en el caso particular de *Ilex paraguariensis* e *I. dumosa*, se han llevado a cabo importantes avances en el cultivo *in vitro*, sobre todo cultivo de embriones, regeneración a partir de segmentos nodales y yemas axilares, y otras experiencias de micropropagación, hasta lograr el establecimiento de plántulas y plantines a campo (Luna *et al.* 2003, 2009, Mroginski *et al.* 1997, 1999, Paula 1992, Sansberro *et al.* 1999, 2000, 2001a-b, Rey *et al.* 1991, Tarragó *et al.* 2005), que incluso han permitido el avance en el cultivo *in vitro* de otras especies de *Ilex* (Sun *et al.* 2010).

Un mayor conocimiento genético poblacional de las especies involucradas en la producción de yerba mate (Gauer & Cavalli-Molina 2000), junto a la colección sistematizada de germoplasma (Belingeri 1992, Prat Kricun & Belingeri 1991, 1995) y el cultivo de clones obtenidos durante las experiencias arriba mencionadas, ha mejorado la disponibilidad de materiales de multiplicación, y dado lugar también a estudios comparativos de productividad y de composición química, por ejemplo los iniciados por grupos de trabajo del INTA (Bertoni *et al.* 1991).



Lám. I.1. Cultivo y cosecha manual de la yerba mate

A, cultivo en pendiente.- B-C, montes en cuadrado real y en curvas de nivel.- D, cultivo consociado.- E, monte de alta densidad.- F-G, plantas en producción.- H-J, poda y tarefa.- K-L, "raídos".- M, transporte de la cosecha con tracción a sangre.- N-O, preparación y encendido del barbacua.



Lám. I.2. Vivero, trasplante y mecanización del cultivo de yerba mate
 A, Frutos maduros para semilla.- B, brote para clonación.- C-F, viveros bajo cubierta.- G, vivero al aire libre.- H, plantines para trasplante.- I, transplantadora mecánica.- J, yerbal de alta densidad.- K, cosechadora mecánica.

PROCESAMIENTO INDUSTRIAL

En la manufactura de la yerba mate se combinan procedimientos que, en lo esencial, eran conocidos ya en la época precolonial, adaptados a la maquinaria y condiciones de la tecnología actual (Andrade 1999).

La fabricación de yerba mate comprende la recepción del material de cosecha, seguida de una serie de operaciones sucesivas. El proceso de secado es la primera de ellas, con varios pasos, y se caracteriza por sus apreciables variaciones operativas entre un establecimiento y otro. Sin embargo, el objetivo es el mismo: se trata siempre de obtener una detención de los procesos de degradación de la estructura vegetal y una deshidratación casi total (Briex *et al.* 1981).

Transporte: Los vástagos, constituidos por hojas y “palos”, se cortan en forma manual o mecánica, se disponen en fardos llamados *raídos* o *ponchadas*, se pesan y transportan en camiones hacia el *secadero*, tal como se denomina la planta industrial de procesamiento primario. Los fardos se desatan y el material se distribuye en la *playa del secadero*, luego de lo cual es colocado sobre cintas transportadoras para el posterior procesamiento. El transporte en fardos se va modificando progresivamente hacia el transporte a granel, un método preconizado por sus ventajas, entre ellas las económicas. Es recomendable que durante esta etapa el material no esté expuesto al sol y al aire, por lo cual deben cubrirse las cargas. Finalmente, el tiempo entre la cosecha y el inicio del procesado no debe superar las 16h (Passardi *et al.* 2006).

Fig. I. 6. Cosecha manual de yerba mate



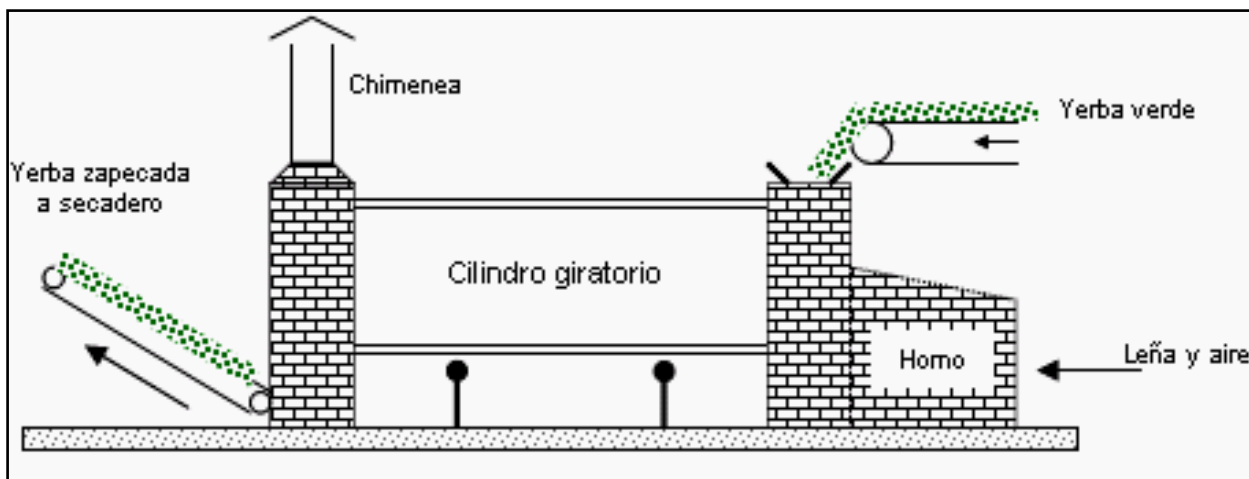


Fig. I. 7. Esquema de un zapecador

Zapecado: El “zapeco” o “sapeco” (que significa *abrir ojos*, en guaraní), consiste en someter el material a la acción directa de llamas y gases de combustión a 500-550 °C, durante un período que oscila entre 2-4 minutos (Passardi *et al.* 2006). Esto provoca una violenta evaporación a nivel hipodérmico de la hoja, con ruptura de la epidermis, deteniéndose así los procesos enzimáticos de oxidación. En el sapecado las llamas y humos se desplazan en el mismo sentido que las ramas.



Fig. I. 8. Cilindro zapecador

Esa ruptura violenta provoca un sonido particular, y

se dice que las hojas “crepitan”, perdiendo de un 30 á 40% del agua que contienen. La temperatura alcanzada por el material vegetal puede llegar a 120°C (Figs. I.7 y I.8).

Secado: inmediatamente después del sapecado se inicia el proceso de *secado*, que puede ser de dos tipos: *barbacuá* o *de cinta*.

En el primero, las hojas y palos se ponen en contacto con gases de combustión a unos 100°C durante 24h. En el segundo, en ámbitos construidos de mampostería, es frecuente encontrar un *presegador*, similar al zapecador, que opera con humos a unos 100°C, permaneciendo allí el material de 3 á 9 min, para luego ingresar al secadero de cinta, en contacto con gases a temperaturas entre 60-110°C, durante 2 a 3h.

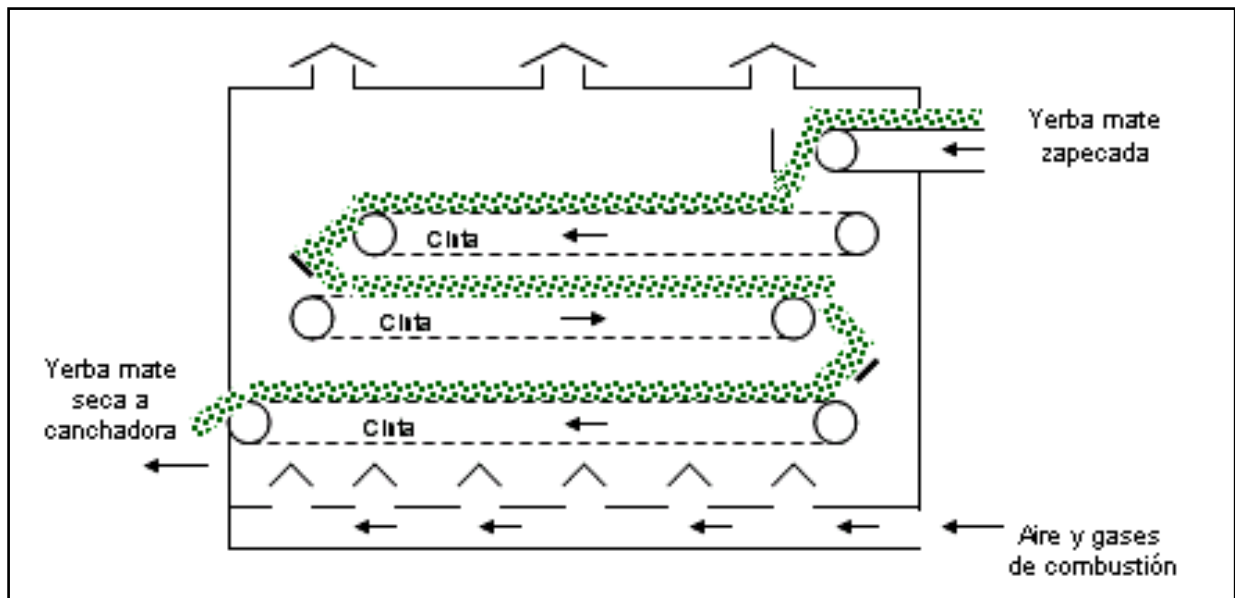


Fig. I. 9. Esquema de un secador de cinta

El secadero de cinta presenta 2 ó 3 cintas superpuestas (Fig. I.9); los gases que ingresan a 110°C atraviesan el lecho de material vegetal de ca. 1m de espesor, ascendiendo a la cinta superior, repitiendo este proceso hasta salir a unos 60°C .

Canchado: El material seco sale del secadero con una humedad aproximada del 4,5%, pasando al proceso denominado *canchado*, consistente en una molienda gruesa que permite alcanzar la granulometría necesaria para el estacionamiento posterior. Las hojas y palos se disponen en bolsas de yute, se pesan y clasifican por lotes (Heck & Mejía 2007).

Estacionamiento: consiste en someter la yerba canchada a la acción combinada del calor, la humedad y el tiempo. En la forma tradicional, denominada “natural”, el material permanece en los llamados *noques* (depósitos de estacionamiento) durante 8 a 12 meses, en contacto con aire ambiente. En la forma “acelerada”, el material es sometido a la acción de aire húmedo con 40% de humedad relativa ambiente (HRA) y 60°C durante 30 á 45 días (Avanza *et al.* 1981).

Tradicionalmente, el combustible utilizado en los secaderos es leña, pero en los últimos años se incorporaron gasógenos que utilizan residuos de la industria forestal en forma de “chips”. El ciclo térmico del secadero hace uso también de los “palos” de yerba mate, que fueron descartados en su momento por sus diámetros superiores (Passardi *et al.* 2006).

Molienda: El producto estacionado es *molido* al tamaño deseado, según el origen y tipo de cosecha del material, la época de elaboración y el destino de la producción. Tal como lo establece el CAA, la yerba mate se comercializa “con palo” y “despalada”. Se envasa en paquetes de 250, 500, 1.000 ó 2.000g, o en saquitos para “mate cocido” de 2 ó 3g dispuestos en cajas de 25, 50 y 100 unidades. También tiene lugar la comercialización en bolsas de 40 y 50kg.

Los productos más importantes de la industria yerbatera que se comercializan habitualmente en nuestro país son:

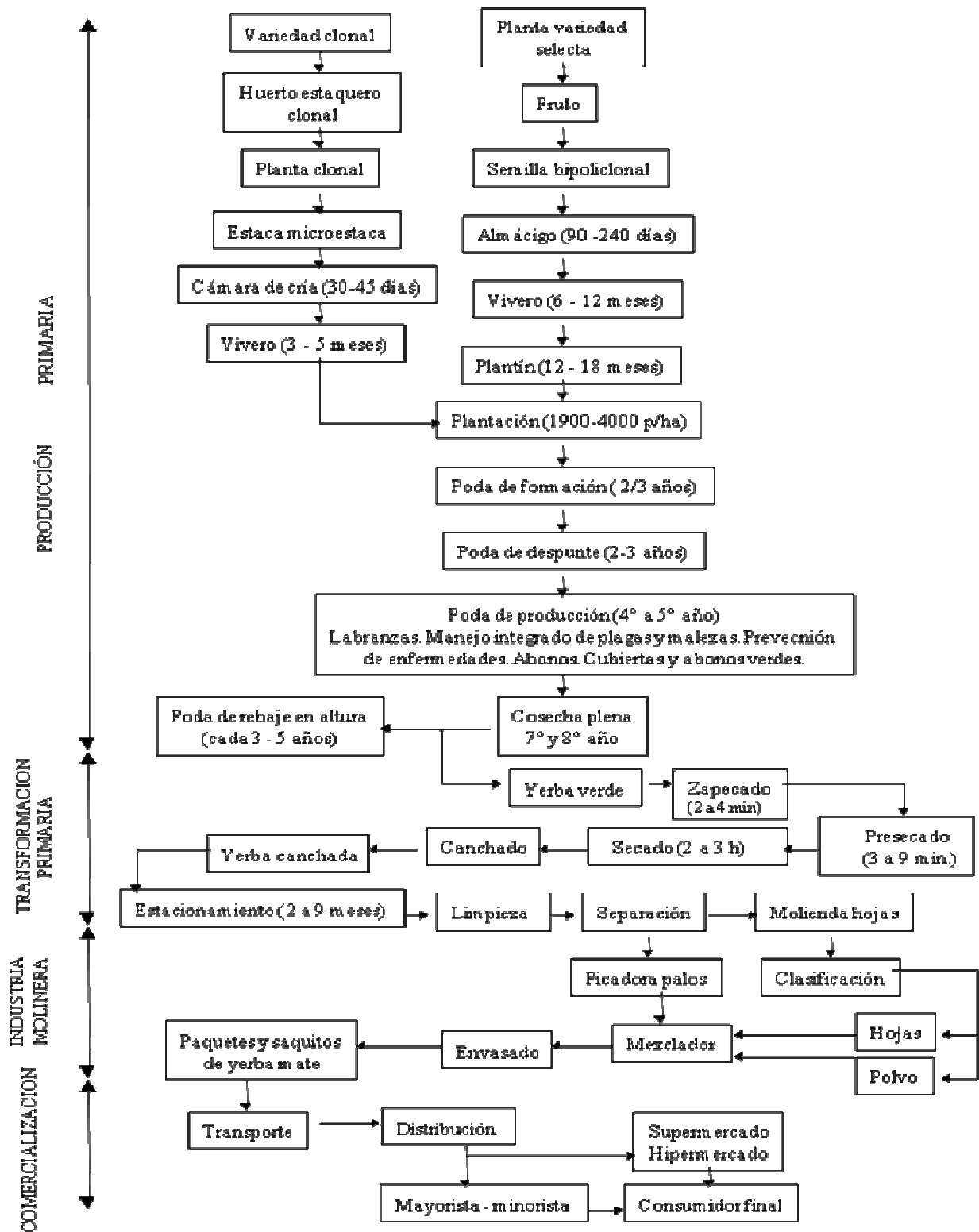
- Yerba mate molida, en presentación tradicional: común, suave, orgánica
- Yerba mate molida, en nuevas presentaciones: saquitos para mate cocido, molienda especial para tereré, molienda con mezclas saborizadas con frutas y/o hierbas medicinales
- Productos elaborados para preparar infusiones: yerba mate soluble, en polvo o granulado
- Productos elaborados con yerba mate: bebidas analcohólicas gasificadas o no, licores y bebidas suavemente alcohólicas con adición de jarabes, aromas, jugos, etc.; cremas heladas, postres, salsas, masas, etc.
- Productos medicinales (extractos, polvos, cremas, etc.), cosméticos (jabones, cremas, etc.)



Lám. 1. Industrialización de la yerba mate

A-B, manejo en playa.- C-G, zapecado con horno rotatorio.- H, cinta ingresando al secado.- I, molino.- J-L, almacenamiento.- M-N, fraccionamiento y envasado.- O, comercialización.

Diagrama de flujo de la producción de yerba mate





CAPÍTULO II
MATERIALES
Y MÉTODOS

A. MATERIALES

Los materiales requeridos para el presente estudio, consistieron mayormente en especímenes genuinos provenientes de cultivos estandarizados, establecidos en explotaciones agrícolas de la provincia de Corrientes, Argentina. Otras muestras provinieron de plantas de identidad certificada de ambas especies de *Ilex* cultivadas en el vivero de la Cátedra de Fisiología Vegetal de la Facultad de Agronomía de la UNNE y fueron facilitadas por el Dr. Pedro Sansberro.

Las muestras consistieron en hojas verdes de reciente corte, y hojas procedentes de distintas fases del procesamiento industrial, es decir de comienzos del proceso, en estado de hojas canchadas y en estado de hojas estacionadas, según los estudios a realizar.

Los especímenes de herbario referenciales son los siguientes:

- *Ilex dumosa* Reissek var. *guaranina* Loes.: Prov. Corrientes, Dpto. Santo Tomé, Establecimiento Las Marías. Maiocchi s.n., a. 2003 (UNSL #531).
- *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.: Prov. Corrientes, Dpto. Santo Tomé, Establecimiento Las Marías. Maiocchi s.n., a. 2003 (UNSL #532).

Para el análisis de elementos minerales, se emplearon hojas de *Ilex dumosa* var. *guaranina* e *I. paraguariensis*, obtenidos de los cultivos arriba mencionados, elaborados de acuerdo a las técnicas modernas de la industria yerbatera. El material fue brevemente tostado sobre el fuego (“zapecado”) en un horno rotatorio, luego desecado hasta una humedad remanente de 2-6%, y molturado groseramente (“canchado”); luego las hojas fueron separadas de los tallos mediante una zaranda de 1 x 20 cm (“despalado”), estacionadas durante 60 días (en un proceso acelerado) y luego molidas y tamizadas mediante una serie de tamices hasta alcanzar el tamaño comercial (llamado “flor fina”), es decir partículas entre 2,36 hasta 0,425 mm, obtenida usando los tamices estandarizados ASTM E-11/95 n° 8 y 40 (*American Standard for Testing and Materials*, Perry & Green 2008). Además, una mezcla 70:30 p/p de ambas especies (70% de *I. dumosa* var. *guaranina* y 30% de *I. paraguariensis*) fue preparada especialmente para simular el producto comercial llamado “suave-relax”. Dada

la amplia diversidad de granulometrías con que se expende comercialmente la yerba mate, se optó por trabajar únicamente con hojas y una distribución granulométrica determinada, y en ausencia de “palos”, dado que estos últimos ejercen un efecto diluyente. A su vez, el material para “mate cocido” fue preparado tamizando nuevamente el producto llamado “flor fina”, para obtener partículas entre 0,5 y 1,0 mm (usando los tamices estandarizados ASTM E-11/95 n° 18 y 35), correspondientes al “mate cocido” comercial; luego fueron llenados los saquitos de papel de filtro de 3g cada uno. Estos saquitos fueron usados para preparar la infusión al 1,5%. Al igual que en el caso anterior, una mezcla 70:30 p/p de ambas especies (70% de *I. dumosa* y 30 de *I. paraguariensis*) fue preparada especialmente para simular el producto comercial denominado “suave-relax”.

B. MÉTODOS

Para la obtención de los materiales, y para realizar los estudios morfoanatómicos y obtener los datos analíticos, se recurrió a métodos botánicos de campo y laboratorio, y a métodos físico-químicos, que son explicitados a continuación.

1. MÉTODOS BOTÁNICOS

1.1. MÉTODOS BOTÁNICOS DE CAMPO

Muestras de cada taxón fueron colectadas por los métodos clásicos, de acuerdo a las características generales de las plantas (Bridson & Forman 1992, Castellanos 1944, Johnston 1941). Las muestras para herbario fueron seleccionadas y acondicionadas, -suficientes en número para documentar el taxón y estudiarlo adecuadamente y para eventuales intercambios realizados por la institución botánica donde quedaron depositados (UNSL)-, prensadas y presecadas a campo.

Simultáneamente, se coleccionaron diversos tipos de muestras de acuerdo al análisis que a llevar a cabo con cada una: fueron seleccionadas muestras para conservar en líquido; fueron coleccionados tallos y hojas, en este caso de diversa localización a lo largo de la rama (representativas de la base, de la parte media y de cercanías del ápice). Además, fueron coleccionados materiales adicionales (flores, frutos) para ulteriores estudios.

Estas muestras recibieron una numeración correlativa, provisoria, y en la etiqueta se anotó, con la mayor precisión posible, el lugar en que fueron colectadas, su hipsometría, exposición, el tipo de suelo y otras características medioambientales, el estado fenológico de la planta, nombre/s común/es aplicados en el lugar, etc. y una identificación taxonómica de campo (provisoria).

Los materiales destinados a la clasificación taxonómica fueron prensados y secados entre papeles, los destinados a análisis macro- y micromorfológicos y para técnicas de micrografía cuantitativa fueron fijados y conservados en formalina acetoalcohólica (FAA, 1:1:1), mientras que los destinados a análisis farmacognósticos y farmacológicos fueron secados en estufa a 55 °C.

La identificación taxonómica fue realizada por el método clásico, es decir mediante el uso de claves, descripciones e iconografía, documentando las muestras con un ejemplar de herbario (*voucher*) de cada una, conservado en el Herbario de la Universidad Nacional de San Luis (reconocido internacionalmente por el acrónimo UNSL).

1.2. MÉTODOS BOTÁNICOS DE 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, 1:1:1) o para casos especiales con una mezcla 3:1 de etanol 95% y ácido acético glacial (Johansen 1940, Sass 1958), y conservado posteriormente en ese líquido.

Las muestras fueron preparadas según la naturaleza y finalidad del estudio, siguiendo diversas técnicas preestablecidas, 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 simple o doble, según la naturaleza del material y las estructuras que se pretendió contrastar, y montaje transitorio (en agua o agua-glicerina), semipermanente

(en gelatina-glicerina) o definitivo (en DPXTM, una mezcla comercial de un poliestireno - difteno 80- con un plastificante –dibutilftalato- y xilol), de acuerdo al tipo de observación y la necesidad de documentación de la misma. Todos los preparados obtenidos son conservados en la Microteca del Herbario de la Universidad Nacional de San Luis (UNSL).

Los preparados semipermanentes de 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 glicerinada.

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 dependieron del órgano vegetal. Así, para ápices vegetativos el cambio de solvente se realizó cada 2h, mientras que para tallos herbáceos y hojas el tiempo de recambio fue de 24h. La obtención de los alcoholes fue realizada según las tablas de dilución propuestas por D'Ambrogio (1986) y la Farmacopea Argentina (FA 2010). 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 seguidos de 2 tratamientos en xilol puro. La inclusión en parafina fue realizada posteriormente mediante tratamiento con xilol: parafina en estufa a 60°, utilizando parafina *Paraplast*[®] con punto de fusión 55-60°.

El material fue montado posteriormente en un cubo de parafina adherido a un taco de madera, sobre el que se efectuó transcortes con micrótopo de deslizamiento (Leitz Wetzlar, Germany), recolectando los cortes seriados sobre portaobjetos previamente humedecidos con albúmina de Meyer como adhesivo, cuidando que la superficie brillante del corte esté en contacto con el portaobjetos. Cada portaobjeto fue identificado fehacientemente con marcador de vidrio de punta de diamante. Los portaobjetos con las transecciones fueron secados durante 24h en estufa y posteriormente colocados en cajas de Koplín para su desparafinado con xilol. La coloración se llevó a cabo en la misma caja de Koplín, primero con safranina en solución alcohólica saturada por espacio de 24h, y posteriormente con verde rápido (*Fast Green*) por 30 s, con un lavado final. El montaje definitivo de las transecciones entre porta- y cubreobjetos fue realizado con DPXTM. Los preparados así obtenidos fueron observados en microscopio de luz transmitida, con objetivos de 5x, 10x, 20x y 40x, e inmersión para 100x.

Para efectuar los recuentos de micrografía cuantitativa, el material fue diafanizado según el método de Dizeo de Strittmater (1973), sometiendo las muestras a decoloración con hipoclorito de sodio y luego con hidrato de cloral hasta transparencia. 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. Se midieron los siguientes parámetros: número de estomas (*NE*; Timmerman 1927) e índice de estomas (*IE*; Salisbury 1927, FA 2010) en ambas epidermis, relación de empalizada (*Remp*; Zörnig & Weiss 1925), número de islotes (*NI*; Levin 1929) y número de terminales de nerviación (*NTN*; Hall & Melville 1951). El *NE* fue medido con objetivo de 40x, mientras que para los otros parámetros se empleó el de 20x. La aplicación de esta técnica permitió el establecimiento de algunos caracteres diacríticos diferenciales de gran importancia en el control de calidad de los productos finales (o en su caso, comerciales), primordialmente cuando éstos se hallaron molturados finamente o reducidos a polvo.

Para la observación y análisis epidérmicos se realizó la técnica de “Peeling” (Johansen 1940, D'Ambrogio 1986), o mediante la obtención de improntas de la superficie de órganos planos. 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 (M-10; Leica Microsystems GmbH) y microscopio óptico (DMRB; Leitz-Wetzlar) provistos de cámara digital (EC-3; Leica Microsystems Ltd.) y un sistema de captura de imágenes (LAS-EZ software v.1.7.1; Leica Microsystems Ltd.).

2. MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS

2.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DE MATERIAL PROCESADO

A partir de material procesado (hojas secadas, canchadas y estacionadas) de *Ilex dumosa* y de *I. paraguariensis*, se procedió a la molienda y tamizado, hasta alcanzar una granulometría semejante a la de la “yerba mate” comercial.

El material fue separado en lotes, cada uno con cantidad suficiente para realizar los ensayos programados por quintuplicado. Para la variante “mezcla”, se reunió material de ambas especies en la proporción 70% de *I. dumosa* y 30% de *I. paraguariensis*, p/p.

2.2. PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE EXTRACTOS ACUOSOS

2.2.1. Simulación de cebadura

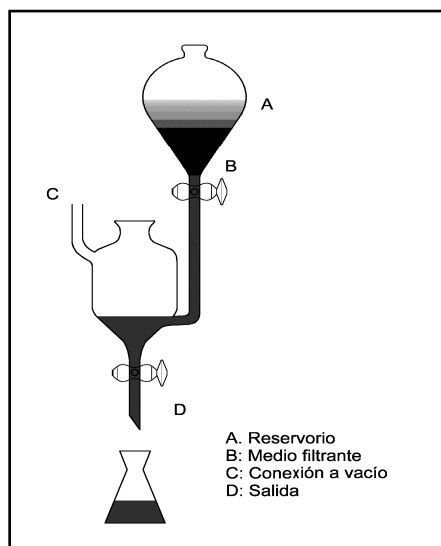


Fig. II. 1. Equipo de simulación de cebadura

Los extractos acuosos fueron obtenidos a través de una *simulación de cebadura*, efectuada mediante el equipo desarrollado a tal efecto por Maiocchi & Avanza (1998), que se muestra en la Fig. II.1. Se adoptó como definición de **porción de cebadura** al extracto acuoso obtenido a partir de 50g de producto, con extracciones sucesivas a corriente cruzada con 10 volúmenes de 50ml cada uno, de agua destilada a 84°C (Chaves *et al.*

2002, Maiocchi & Avanza 1998, Maiocchi *et al.* 2010, Maiocchi *et al.* 2011).

Fueron colocados 50g de muestra en el extractor (ampolla de decantación), previa colocación de una hoja de papel tisú (humedecida, lavada y escurrida) que actuó como medio filtrante (en reemplazo de la tradicional “bombilla”). Se obtuvieron 10 infusiones con

porciones de 50ml cada una de agua destilada a 84°C. Cada infusión se obtuvo de la siguiente manera:

1. Se puso en contacto 50ml de agua caliente (84°C) con el material, en el extractor A.
2. Se dejó en contacto durante 1 minuto.
3. Se procedió a la apertura de la válvula de descarga B. Posteriormente por aplicación de vacío C, fue evacuado el líquido acumulado en el separador. Luego de detener la acción del vacío, se abrió la válvula D para la descarga total del extracto obtenido, equivalente a un ciclo de cebado.
4. Se repitió esa acción de succión hasta que no descendió líquido desde A.
5. Agotado el líquido, se cambió el receptor y se continuó con la siguiente extracción, y así sucesivamente hasta completar los 10 ciclos previstos.

Los resultados fueron expresados en g de extracto líquido por mate y g de extracto seco por mate.

2.2.2. Simulación de mate cocido

A partir de hojas secadas, canchadas y estacionadas de *Ilex dumosa* e *I. paraguariensis* y su mezcla 70:30 p/p se procedió a la molienda y tamizado, utilizando la fracción comprendida entre tamices ASTM E-11/95 n° 18-35, que es la que corresponde a mate cocido comercial.

Se definió como **porción de mate cocido** al extracto obtenido simulando la preparación de la infusión, colocando 3g de material en contacto con agua de reciente hervor, durante 5 min, filtrado luego sobre malla metálica (Maiocchi & Avanza 1998) y luego con papel Whatman n° 5 con el objeto de retener las partículas de material que hubiesen atravesado la malla metálica.

Los resultados se expresan en g de extracto seco por porción de mate cocido.

3. CUANTIFICACIONES FISICOQUÍMICAS

3.1. Determinación de extracto acuoso

3.1.1. Extracto acuoso en droga cruda

La determinación de extracto acuoso se realizó siguiendo el método IRAM 20510 (Ref. ISO 9768 - *Tea- Determination of water extract*).

Se calentó un cristizador, un vidrio reloj y papel de filtro en estufa a 103°C durante 1h, enfriando luego en desecador. A continuación se taró el cristizador y el vidrio reloj con y sin papel de filtro. Se pesó aproximadamente 2 g de muestra (M_0) y se transfirió a un matraz de Erlenmeyer de 500ml. Se agregó 200ml de agua destilada caliente y se conectó el refrigerante a reflujo, llevando a ebullición suave durante 1h, agitando el matraz de Erlenmeyer de manera de evitar la adherencia de las partículas a las paredes del recipiente.

A continuación se filtró en caliente, utilizando un embudo Büchner y un Kitasato de 1 litro, con conexión a vacío. El matraz de Erlenmeyer fue lavado con agua caliente para trasvasar la totalidad del sólido.

Se lavó el residuo insoluble colocado en el Büchner, con 200ml de agua caliente. Se dejó secar el residuo por aspiración y se pasó cuantitativamente el residuo insoluble y papel de filtro al cristizador.

Se calentó el cristizador con su contenido (residuo insoluble y papel de filtro) y el vidrio reloj en estufa a 103°C durante 16h y se dejó enfriar en el desecador.

Se pesó el papel de filtro impregnado con sólido insoluble y el sólido insoluble dentro del cristizador, junto con su tapa, y por diferencia con la pesada inicial se calculó la masa de residuo insoluble (M_1)

El *extracto acuoso E*, expresado como % en masa de materia seca no molida se obtuvo aplicando la fórmula:

$$E = \frac{(M_0 \cdot RS) - (M_1 \cdot 100) \cdot 100}{M_0 \cdot RS} \quad \Delta E < 1$$

Donde:

M_0 = masa inicial de la porción de ensayo NO MOLIDA

M_1 = Masa de residuo insoluble.

RS = 100 – Pc

Pc= Pérdida de masa a 100 °C, determinada según Norma IRAM 20603

3.1.2. Extracto líquido en cebadura

El *peso de extracto líquido* se obtuvo por pesada del recipiente contenedor de la muestra, restando su tara.

3.1.3. Extracto seco en cebadura

La infusión correspondiente a cada mate fue evaporada en baño María (BM) y posteriormente se llevó a sequedad en estufa a 103°C hasta peso constante. Por diferencia de pesos se obtuvo el extracto seco por mate. De la suma de los aportes de cada mate se obtuvo el *extracto acuoso seco total de cebadura*.

3.1.4. Extracto acuoso de mate cocido

Las infusiones obtenidas por simulación de mate cocido se evaporaron a BM y posteriormente se llevaron a sequedad en estufa a 103°C hasta peso constante. Por diferencia de pesos se obtuvo el *extracto seco por mate*.

3.2. Determinación de cafeína

3.2.1. Determinación de xantinas por HPLC en droga cruda

Se siguió el método recomendado por Rojo de Camargo & Toledo (1999) que se describe a continuación: 2g de material fueron sometidos a sucesivas extracciones con agua caliente, en corriente cruzada, con 100, 100 y 50ml manteniendo la ebullición durante 15 min. El extracto fue evaporado hasta un volumen de 50ml en un evaporador rotativo (Büchi R210, Switzerland). Para el caso de *Ilex dumosa* el volumen final fue de 25ml para lograr una mayor concentración.



Fig. II. 2. Evaporador rotatorio



Fig. II. 3. Cromatógrafo Shimadzu SPD-10

A 20ml de cada extracto se agregó 10ml de HCl 0,1N y 8ml de solución saturada de acetato de sodio. La solución resultante fue centrifugada durante 5 min a 4.500 rpm y al sobrenadante fue agregado 0,4g de bicarbonato de sodio, centrifugando nuevamente 5 min. a 4.500 rpm.

El sobrenadante resultante fue llevado a un volumen total de 50ml. Esta solución se inyectó en un cromatógrafo (Shimadzu SPD-10 A, Japan) con

detector UV-Visible, utilizando una columna-cromatográfica de 25.0cm de alto, 4.6mm de diámetro y 5µm de espesor (Supelco LC-18 N°018794 AM) y como fase líquida metanol:agua (30:70), con lecturas a 276 nm (Fig. II. 3).

3.2.2. Determinación de cafeína en droga cruda (Método 925.17 AOAC)

Se determinó la tara de un matraz de Erlenmeyer de 500ml (M_0), al que se agregó 5g de material vegetal procesado (M_1), 5g de óxido de magnesio pesado (M_2) y 250g de agua destilada (M_3). La suma de las masas se denominó M_T .

Se calentó a ebullición moderada durante 2h, agregando cuando fue necesario, agua destilada con una piseta evitando la formación de espuma. Para compensar el agua evaporada, se enfrió y el conjunto se pesó y llevó con agua destilada a la masa total M_T . Se filtró con papel Whatman n° 5 y se separó una alícuota de 100ml en matraz aforado, los que posteriormente fueron vertidos en una ampolla de decantación, agregando 15ml de ácido sulfúrico (1:9). Se adicionaron 20ml de cloroformo como fase orgánica para la extracción, agitando vigorosamente durante 2 min. Se dejó separar las fases, retomando la clorofórmica y dejando escurrir a un Erlenmeyer seco. Esta operación se repitió 4 veces con volúmenes de 15, 10, 10 y 10ml de cloroformo. El extracto acuoso fue desechado.

Al extracto orgánico fueron adicionados 5ml de hidróxido de potasio 1%, se agitó y colocó en la ampolla, lavando el Erlenmeyer con pequeños volúmenes de cloroformo y reuniendo el líquido de lavado con el contenido de la ampolla. La fase orgánica fue incorporada a un matraz de 100ml provisto de un embudo, enrasando con cloroformo.

En la determinación de cafeína a partir de *I. paraguariensis* se tomó del matraz una alícuota de 1ml y se diluyó con cloroformo a 50ml en matraz aforado. En la determinación a partir de *I. dumosa* se tomó una alícuota de 25ml diluyendo a 50ml en matraz aforado con cloroformo.



Fig. II. 4. Espectrofotómetro Metrolab 1700

La lectura espectrofotométrica se efectuó en un equipo Metrolab 1700 (Fig. II.4) en la zona correspondiente a radiación ultravioleta (240-400nm), encontrándose el pico de mayor absorbancia de la cafeína a 276nm.

3.2.3. Determinación de cafeína en cebaduras y mate cocido (Método 925.17 AOAC, 1994)

Una alícuota de cada mate o porción de mate cocido fue destinada a la determinación espectrofotométrica de cafeína. El extracto se acidificó con ácido sulfúrico (1:9) y fue sometido a 5 extracciones con cloroformo. El extracto clorofórmico fue tratado con hidróxido de potasio para eliminar el agua. Por medio de las diluciones necesarias con cloroformo fueron determinadas las absorbancias a 276 nm. Los resultados se expresaron en mg de cafeína/mate ó mg de cafeína/porción de mate cocido.

3.3. Ácidos clorogénicos, pardeamiento y actividad antioxidante

Para determinar contenidos totales de ácido clorogénico se trabajó con “yerba mate” e *Ilex dumosa* estacionadas, al igual que para la determinación de ácido clorogénico en porciones de mate cocido y cebadura. En tanto que para la simulación de degradación en playa se trabajó con hojas frescas, maduras, del mismo tamaño, de reciente corte; estas muestras provinieron de plantas de ambas especies de *Ilex* cultivadas en el vivero de la Cátedra de Fisiología Vegetal de la Facultad de Agronomía de la UNNE y fueron facilitadas por el Dr. Pedro Sansberro.

3.3.1. Ácidos clorogénicos en droga cruda (Método 957.05 AOAC)

Fue pesado 1g de muestra molida, luego de haber atravesado un tamiz estándar ASTM E-11/95 n° 30. Se transfirió a un matraz de Erlenmeyer de 750ml y añadió 400ml de agua destilada a 100°C. Posteriormente se calentó rápidamente a ebullición y se continuó un calentamiento suave durante 15 min, enfriando luego rápidamente hasta alcanzar la temperatura ambiente. Durante la agitación se imprimió un movimiento circular al contenido del Erlenmeyer para evitar la flotación del material vegetal. El extracto se transfirió a un matraz de 500ml y fue enrasado, y posteriormente filtrado a través de un papel (Whatman n° 5), descartando los primeros 25-50ml del filtrado. Cuando persistió la turbidez, se procedió a filtrar nuevamente a través de placa de vidrio de porosidad fina, aplicando vacío, sin emplear coadyuvante.

Para la cuantificación se transfirió 10ml del filtrado a un matraz aforado de 100ml y se enrasó con agua. Se determinó la absorbancia a 324nm, utilizando agua como blanco.

Otros 100ml de la solución de la muestra fueron transferidos a un matraz aforado Pyrex de 200ml y se añadió 2ml de una solución saturada de acetato de potasio y 10ml de una solución básica de acetato de plomo, agitando durante la adición. Se mantuvo durante 5 min el matraz sobre un baño de agua hirviendo, agitándolo ocasionalmente. Se retiró y enfrió rápidamente, colocándolo en un baño de agua/hielo. Se agitó mecánicamente durante 1h. Una vez retirado el matraz del baño, se lavó la varilla agitadora y sus aspás recogiendo el líquido de lavado y se llevó a temperatura ambiente enrasando con agua. Luego se filtró a través de papel Whatman n° 5, descartando los primeros 25-50ml. Se determinó de inmediato la absorbancia de la solución a 324nm.

Para la preparación de la solución básica de acetato de plomo (δ 1,25) se activó litargirio por medio de calor durante 2½ á 3 horas a 330-350°C, dando al enfriarse un producto color amarillo limón. En un Erlenmeyer provisto de reflujo se trató 80g de acetato de plomo tri-hidratado [Pb (Ac)₂. 3H₂O] y 40g de litargirio activado con 250ml de agua destilada durante 45 min. Se enfrió, se filtró y diluyó con agua destilada de reciente hervor hasta alcanzar la densidad de 1,25 a 20°C utilizando un picnómetro.

Para la confección de la curva de calibración se utilizó un patrón de ácido clorogénico de 99% de pureza (Sigma-Aldrich). Posteriormente se extrapoló en referencia a la curva de calibrado, la concentración aparente de ácido clorogénico en la solución, basándose en la absorbancia en ausencia de plomo (C₀) y la concentración aparente en el filtrado tras el tratamiento con plomo (C₁). Con el propósito de corregir efectos de la solubilidad del clorogenato de plomo se restó de C₁ el valor 4,5x10⁻⁴ mg.ml⁻¹, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración corregida} = C_0 - (C_1 - 0.45)/5$$

3.3.2. Ácidos clorogénicos en cebadura y mate cocido

Para la determinación de ácidos clorogénicos en cebadura y mate cocido se utilizó la misma técnica que en droga cruda, partiendo directamente de las infusiones y realizando las diluciones necesarias.

3.3.3. Degradación de los ácidos clorogénicos y pardeamiento

Se trabajó con material fresco, colocando 2g por cada placa de vidrio, previamente tarada. El conjunto fue llevado a estufa con temperatura y humedad controladas y en ausencia

de luz; una vez transcurrido el tiempo previsto, se pesó la placa de vidrio para determinar humedad por diferencia. Inmediatamente se sumergieron las hojas en 100ml de agua hirviendo, durante 5 min, para inactivar los procesos enzimáticos, agregando posteriormente 100ml de agua destilada fría. Se trituró con procesador de alimentos de 600W (Pymer) hasta homogeneizar el tamaño de las partículas. Se llevó a ebullición moderada durante 50 min, se enfrió y filtró.

Para determinar *ácidos clorogénicos* se tomaron las alícuotas necesarias, aplicando el método AOAC 957.05. Los resultados se expresan como mg de ácido clorogénico por mate (para el caso de la cebadura) y mg de ácido clorogénico por porción (para mate cocido).

Paralelamente al ensayo, se determinó la *humedad total de las hojas*, expresando los resultados en base seca (cf. 3.7).

Para simular las posibles condiciones térmicas en playa, que pueden darse en un secadero industrial, se seleccionaron temperaturas de 25, 35 y 45°C. El tiempo de tratamiento alcanzó las 72h, si bien en la industria yerbatera la hoja cosechada no permanece en playa por más de 16h, en prevención de las alteraciones que tienen lugar por la actividad enzimática (Passardi *et al.* 2006). En el caso de *I. dumosa* se adoptó un tiempo máximo de 72h, para ensayar su resistencia y obtener información de su comportamiento a mayores exposiciones temporales en playa. Los resultados fueron expresados como mg de ácido clorogénico por gramo de material.

Para determinar el *grado de pardeamiento*, el extracto con las hojas trituradas no se sometió a calefacción sino que se diluyó al 50% con etanol y se leyó directamente la absorbancia a 420 nm (Meydav *et al.* 1977).

3.3.4. Actividad antioxidante

Se utilizó el método del radical *DPPH* (2,2-difenil-1-picril-hidracilo) en solución metanólica (Brand Williams *et al.* 1995). Los resultados se expresaron como mg de ácido clorogénico por mate (para cebadura) y en mg de ácido clorogénico por gramo de material (para mate cocido e infusión total).

3.4. Minerales

Con el objeto de cuantificar y comparar los contenidos de macro- y microelementos totales y extraíbles en ambas especies en las diversas formas de consumo, se determinaron elementos químicos, según 2 métodos instrumentales distintos: primeramente por espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) y, al acceder a instrumental de mayor complejidad, mediante espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES); en el primer caso se cuantificó la concentración de 8 elementos (Na, K, Mg, Ca, Zn, Cu, Fe y Mn) en el material vegetal procesado y en las 2 formas más frecuentes de consumo: cebadura y mate cocido, mientras que en el segundo caso se cuantificó la concentración de 39 elementos (P, Ca, Fe, K, S, Sb, Se, Sn, W, Ag, Sc, Te, As, Bi, Na, Nb, Ti, Tl, Al, Cu, Ga, Hg, Ni, Pb, Ta, Zn, Li, Mg, Mo, Co, Ba, Cd, Cr, La, Mn, Sr, V, Y y Zr), en idénticas muestras (cf. *Materiales*).

3.4.1. Obtención de cenizas en droga cruda e infusiones para ICP-AES

Las muestras de droga cruda fueron secadas hasta humedad higroscópica (evitando contaminación físico-química y biológica) y luego en estufa a 40°C, hasta peso constante; fueron reducidas a polvo con molino a cuchillas (Wiley 3379) con malla de 0,5mm y receptor de acero inoxidable, y conservadas en recipientes de polietilén-terftalato (PET).

Para efectuar los distintos análisis farmacognósticos y químico-elementales, de cada población y especie fueron separadas cuatro submuestras identificadas inequívocamente:

1) 5g de cada muestra para efectuar los análisis químico-elementales mediante ICP-AES; 2) 50g de cada muestra para efectuar las infusiones al 5%, de acuerdo a la técnica establecida en la 8° ed. de la Farmacopea (Farmacopea Argentina 2010), para analizar mediante ICP-AES el pasaje de analitos a las infusiones; 3) El remanente fue conservado como contramuestra para eventuales comprobaciones.

Para someter a análisis por ICP-AES, se trabajó con 5g de droga cruda fue secada en estufa a 102-105°C durante 48h, luego calcinada en mufla a 650°C. Una vez enfriada, fue agregado 15ml de HCl concentrado, 10ml de HNO₃ concentrado y 5ml de HClO₄. Se evaporó hasta sequedad, se dejó enfriar y se agregó 11,25ml de HCl y 3,75ml de HNO₃, adicionando luego 5ml de una solución de In 500ppm, usado como estándar interno; finalmente se llevó a 50ml. Los resultados son expresados en mg.kg de cenizas⁻¹.

Para analizar las porciones de cebadura y mate cocido por ICP-AES, los extractos obtenidos por simulación de cebadura y mate cocido se llevaron a sequedad, se calcinaron y colocaron en mufla a 650 °C hasta peso constate. Las determinaciones se llevaron a cabo en un equipo de ICP-AES de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia (UNSL).

3.4.2. Análisis químico-elemental en cenizas de drogas crudas e infusiones por ICP-OES

Para la determinación de los 39 elementos químicos mayoritarios y vestigios, se procedió de la siguiente manera: por cada 0,5 g de material vegetal colocado en crisol de porcelana, cubierto completamente y carbonizado por ignición suave a 500°C durante 1h, se agregó luego de enfriado 15ml de HCl, 10ml de HNO₃, y 5ml de HClO₄, evaporando hasta sequedad; una vez enfriado, se agregó 11,25ml de HCl y 3,75ml de HNO₃, llevando a volumen de 50ml, y agitando vigorosamente.



En ambos casos se procedió a la determinación de los elementos químicos de cada muestra por medio de Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente (*Inductively Coupled Plasma in Optic Emmision Spectrometry*, ICP-OES), empleando un instrumento Varian modelo Vista-PRO™, SL.ICP.04, de tipo radial, con

Fig. II. 5. Espectrómetro de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente, marca Varian Vista-Pro modelo SL.ICP.04.

detector de estado sólido, operando entre 167 y 785 nm, provisto de un software versión v3.1b 394 y un firmware versión 2.15. La calibración de la longitud de onda fue periódica y automática por parte del aparato, basada en Argón y en líneas de emisión.

El instrumento dio valores de ppm sobre cenizas (P/P), los cuales fueron transformados en ppm de materia seca (P/P) en el caso de droga cruda, y ppm de infusiones (P/V). Sobre esos valores se aplicó la metodología estadística para calcular desviación Standard (SD), expresando los resultados en % de SD (Fig. II. 5).

Por su parte, los extractos líquidos obtenidos “mate cocido” y “cebadura” fueron evaporados y calcinados y sometidos luego sometido al mismo tratamiento que para el caso de la droga cruda.

Los reactivos usados fueron de grado analítico (Merck). La longitud de onda de trabajo (nm) y el límite de detección instrumental para cada elemento varió de acuerdo a los valores que se indican en la Tabla **II.1**.

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 detección	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 detección	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 detección	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 detección	0,051	0,001	0,09	0,006	0,081	0,45	0,009	0,006

Tabla II. 1. Longitudes de onda y límites de detección

3.5. Determinación de la fracción rica en saponinas

Para la extracción de la fracción enriquecida en saponinas, fue seguida la metodología propuesta por Heinzmann (1991): 40g de material procesado, de granulometría ASTM E-11/95 entre n° 18 y 35, fue sometido a extracción continua en Soxhlet, durante 20h con alcohol etílico comercial. La solución obtenida, una vez filtrada, fue evaporada por medio de un evaporador rotativo ($t^{\circ} < 80^{\circ}C$), llevando luego a estufa de vacío hasta sequedad total. El extracto seco fue resuspendido en 150ml de agua destilada. La solución obtenida fue sometida a extracción con solventes de polaridad creciente, a saber: cloroformo (40, 30, 25, 25 y 20ml), acetato de etilo (40, 30, 25, 25 y 20ml) y butanol (40, 30, 25, 25 y 20ml).

Como resultado de la extracción fraccionada fueron obtenidas cuatro soluciones, las correspondientes a los tres solventes de extracción y la acuosa, a partir de las cuales fueron obtenidos los extractos secos por evaporación del solvente en evaporador rotativo y estufa de vacío ($t^{\circ} < 80^{\circ}C$). La solución alcohólica presentó una coloración verde oscuro, mientras que la

acuosa al ser resuspendida presentó un color castaño. La fase clorofórmica presentó color oscuro (negro-verde), mientras que el sobrenadante mostró una coloración castaño claro.

3.5.1. Aislamiento de la fracción de saponina bruta

En función de la solubilidad de las distintas sustancias presentes, las saponinas quedaron retenidas en la fase butanólica. El extracto butanólico obtenido fue sometido a los siguientes ensayos:

a. Ensayo de persistencia de espuma: 10mg de extracto fueron disueltos en 100ml de agua destilada, agitando enérgicamente durante 10s (Chifa & Ricciardi, 1998).

b. Recristalización: una alícuota de los extractos fue reservada para su purificación por recristalización en agua destilada. El material puro recristalizado fue destinado a diversos ensayos biológicos.

3.6. Aceites esenciales

La obtención del aceite esencial de hojas de *Ilex paraguariensis* e *I. dumosa* var. *guaranina* de reciente procesamiento, se llevó a cabo mediante hidrodestilación. Por cada kg de material utilizado se recolectaron aproximadamente 2 litros de destilado. Separados del agua por extracción con éter etílico, los aceites se trataron con Na_2SO_4 anhidro, se aislaron en recipientes color caramelo y almacenaron en atmósfera de CO_2 a -18°C . (Ricciardi *et al.* 1998) Se utilizó un cromatógrafo gaseoso (Agilent 6890 Series GC, Agilent Technologies, USA), con detector selectivo de masas (MSD 5973, Autosampler HP 7683) del Laboratorio APA, Chaco, provisto de una columna capilar de 30m x 250 μm x 0,25 μm HP-5ms y puerto de inyección split/splitless.

Se inyectó un volumen de 1 μl a una velocidad de flujo de 0,7ml.min⁻¹, usando como gas *carrier* He a flujo constante. La temperatura del puerto de inyección fue 250°C, usando un programa de temperatura de horno de 80°C durante 1 min, rampa de 80°C á 250°C, 5°C/min y 250°C durante 2 min; temperatura de interfase: 280°C. Los parámetros del detector de MS fueron: Ionización EI / Modo scan (2.08/sec) / Rango de masas 40-400 uma/Solvent delay None.

Los cromatogramas obtenidos junto con la información de identificación de los compuestos, fue comparada a través de consulta a la biblioteca NIST98 que forma parte del software del equipo.

3.7. Humedad

3.7.1. Humedad en droga cruda

Las determinaciones de humedad fueron realizadas sobre materiales en cada una de las etapas del proceso, desde hojas frescas a material procesado en industria o por nuestro equipo de trabajo a escala piloto o laboratorio.

Se aplicó el método IRAM 20503 (Ref. ISO 1573, “Tea - *Determination of loss in mass at 103°C*), con la modificación de que el tiempo mínimo de calentamiento fue de 3h en virtud de obtener exclusivamente la humedad de la muestra.

Se calentó una placa de Petri y su tapa en estufa a 103°C durante 1h, enfriando en desecador y pesando el conjunto. A continuación se pesó aproximadamente 10g de muestra dentro de la placa (M_0). Se colocó en estufa con la tapa extraída durante 3h como mínimo, dejando enfriar en el desecador, con la tapa, y se pesó (M_1). La placa fue colocada nuevamente en estufa por 1h a 103°C, se dejó enfriar y se pesó. Se cuidó que entre las dos pesadas sucesivas no hubiera diferencias mayores a 0,005g.

El valor de la humedad (pérdida de masa a 103°C) se obtuvo aplicando la siguiente fórmula:

$$P_c = \frac{(M_0 - M_1)}{M_0} \times 100 \quad \Delta P_c < 0.3 \text{ g\% g de muestra bruta}$$

M_0 = masa inicial de la porción de ensayo.

M_1 = masa seca de la porción de ensayo.

Se calculó la media aritmética de las determinaciones, siempre que la diferencia entre los resultados no excediera de 0,3g% g de muestra bruta.

3.7.2. Humedad de hojas frescas y en proceso (sin molienda)

Para estas determinaciones se colocaron hojas o sus partes en placas previamente

secas, enfriadas y taradas en estufa a 103°C durante un mínimo de 3h hasta peso constante, calculando la humedad por diferencia de pesadas.

3.8. Simulación de los métodos industriales

3.8.1. Simulación del tratamiento en playa de recepción

Las transformaciones que ocurren en el material hasta la llegada y durante la permanencia en la playa de recepción están directamente correlacionadas con el pardeamiento enzimático que tiene como sustrato a los polifenoles, entre ellos los ácidos clorogénicos.

Para la cuantificación del contenido de ácidos clorogénicos y del pardeamiento enzimático se siguieron las técnicas expuestas en 3.3.

3.8.2. Simulación del zapecado

Debido a la imposibilidad de simular la etapa de zapecado por acción directa de llamas, como se realiza a escala industrial, se decidió ensayar el efecto de las microondas sobre las hojas frescas. Luego de nuestra experiencia en laboratorio (2003-2004), otros autores han publicado trabajos en los cuales se hace uso de esta metodología (Passardi *et al.* 2006, Ceni *et al.* 2009).

Se trabajó con un horno de microondas (Goldstar Multiwave) de 750W, a la máxima potencia del microondas, en tiempos de 30, 60 y 90s con sendas muestras de 10g de hojas de reciente corte.

3.8.3. Simulación del secado

Una vez zapecadas, las hojas fueron pesadas y colocadas en un secadero experimental, consistente en una cámara provista de un turboventilador, según el esquema de la Fig II.6. Se trabajó a 60, 85 y 95°C,

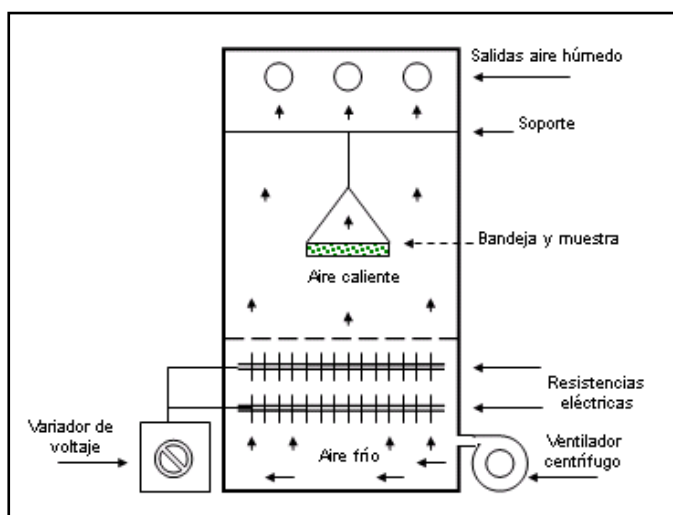


Fig. II. 6. Esquema del secadero experimental

con una permanencia en cámara de 40 min, pues a la menor temperatura (60°C) se halló experimentalmente que a partir de ese tiempo no se producían cambios apreciables entre las pesadas sucesivas.

3.8.4. Simulación del estacionamiento

La simulación del estacionamiento consistió en someter muestras de ambas especies a condiciones de humedad y temperatura variables durante un período de tiempo similar al que transcurre a nivel industrial. Se determinó también la humedad de equilibrio a diversas humedades relativas (HR) para detectar diferencias en la capacidad de retener humedad entre muestras procesadas de las dos especies. El estacionamiento resulta de fundamental importancia en los cambios relacionados con el color de la “yerba mate”, siendo las clorofilas a y b y sus productos de degradación los responsables de la coloración, por lo cual fueron cuantificados en los materiales en estudio.

a) Humedad de equilibrio e Isotermas de adsorción: Por aplicación del método del equilibrio isopiéstico (es decir, de igualación de las respectivas presiones de vapor), se obtuvieron las humedades de equilibrio a 25°C de los dos materiales vegetales procesados. Se trabajó sobre material procesado y molido, con una granulometría comparable, resultante del uso de los tamices estandarizados ASTM E-11/95 n° 18 y 35.

Los ambientes a distintas humedades relativas se lograron a partir de la preparación de soluciones de H₂SO₄ a distintas concentraciones, según se consigna en la Tabla II.2.

Humedad relativa (%)	Solución de H ₂ SO ₄	
	Densidad (g.ml ⁻¹)	Concentración (% peso)
5,9	1,652	74,0
8,5	1,563	66,0
21,0	1,482	59,0
30,9	1,425	53,5
39,0	1,380	49,0
46,1	1,344	45,0
56,9	1,289	39,0
67,7	1,239	33,0
79,0	1,171	24,5
93,9	1,105	15,5
100	1,004	1,0

Tabla II. 2. Humedad relativa del aire, densidad y concentración de soluciones de H₂SO₄ (Perry & Green 2008)

El método consistió en someter muestras de 5g de material molido colocadas en cápsulas taradas, a ambientes de humedades relativas diferentes y a 25°C durante una semana. Trascorrido ese tiempo, las muestras fueron pesadas y llevadas a estufa a 103°C hasta peso constante, enfriadas en desecador y pesadas nuevamente. La humedad de las muestras se obtuvo por diferencias de pesadas (Labuza 1984).

b) Determinación de clorofilas y feofitinas

Se estudió la degradación de las clorofilas a y b y su pasaje a las correspondientes feofitinas a y b en material procesado industrialmente (canchado) de ambas plantas en estudio, con el fin de conocer la estabilidad en el tiempo de estacionamiento, tanto “natural” como “acelerado”, del producto. El material empleado consistió en hojas de *Ilex dumosa* var. *guaranina* e *I. paraguariensis*, recién procesadas a nivel industrial (canchadas y sin estacionar), que fueron molidas hasta una granulometría resultante del uso de los tamices estandarizados ASTM E-11/95 n° 18 y 35.

A tal fin, se pesaron 0,3g de material en pequeños recipientes de vidrio, los cuales fueron colocados en una cámara a temperatura constante (35, 50 y 70°C) y analizadas posteriormente una vez transcurrido cierto tiempo de estadía. Luego se realizó la extracción poniendo en contacto el material con 10ml de solución 80-20 v/v de acetona:agua durante 20 min. El sobrenadante fue filtrado y la operación se repitió por otras cuatro veces en las mismas condiciones. Los extractos líquidos filtrados se reunieron en un matraz de 50ml. Durante la extracción el sistema se mantuvo al abrigo de la luz.

Inmediatamente se realizaron lecturas espectrofotométricas en la región del espectro visible, a distintas longitudes de onda, para luego aplicar la fórmula de cálculo. A continuación se tomó una alícuota de 25ml de extracto y se le agregó 1ml de solución saturada de ácido oxálico en acetona:agua (80:20 v/v) con el fin de convertir las clorofilas a y b en las correspondientes feofitinas a y b. Se dejó en reposo en oscuridad durante 2 ½ á 3 h y se realizaron lecturas en un espectrofotómetro UV-visible (Metrolab 1700, UV-Vis Metrolab S.A.), a las mismas longitudes de onda. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

La cuantificación de clorofilas y feofitinas se realizó aplicando las siguientes fórmulas, siguiendo a Vernon (1960), expresadas en mg.l^{-1} .

$$\text{Clorofila a} = 25,38. \Delta A^{662} + 3,64. \Delta A^{645}$$

$$\text{Feofotina a} = 20,15. \Delta A^{666} - 5,87. \Delta A^{655}$$

$$\text{Clorofila b} = 30,38. \Delta A^{645} - 6,58. \Delta A^{662}$$

$$\text{Feofitina b} = 31,90. \Delta A^{655} - 13,4. \Delta A^{666}$$

$$\text{Clorofilas (a, b)} = 18,8 \Delta A^{662} + 34,02 \Delta A^{645}$$

$$\text{Feofitinas (a, b)} = 6,75. \Delta A^{666} + 26,3. \Delta A^{655}$$

Del balance de materia correspondiente, se obtuvo el resultado expresado en μg de sustancia. g^{-1} de hoja procesada. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

3.9. Métodos de análisis nutricional

Materiales: Hojas de *Ilex dumosa* e *I. paraguariensis* procedentes de plantas de identidad certificada de ambas especies de *Ilex*, cultivadas en el vivero de la Cátedra de Fisiología Vegetal de la Facultad de Agronomía de la UNNE, fueron sometidos a las técnicas habituales de la industria yerbatera (zapeado, secado, canchado, estacionado, molido y tamizado) que se describen en el apartado 3.8. Además, una mezcla 70:30 p/p de ambas especies (70% de *I. dumosa* y 30% de *I. paraguariensis*) fue preparada especialmente para simular el producto comercial denominado “suave-relax”.

Preparación de extractos acuosos: Tanto la extracción acuosa discontinua (“cebadura”) como la infusión al 1,5% (“mate cocido”) fueron preparados siguiendo la metodología de simulación del proceso habitual descrita en el apartado 2.2.

La “cebadura” tradicional fue simulada en laboratorio mediante ampolla de decantación con filtro de papel tissu y conexión a vacío, a partir de 50 g de muestra y 500 mL de agua destilada a 84 °C, dividida en 10 tratamientos de 50 ml cada uno, puesta en contacto con el material durante 1 minuto. Estos valores obedecen a las condiciones habituales en que se emplea el producto usando calabazas (“mates”) o recipientes de madera o cuerno y la succión mediante una bombilla metálica.

El extracto acuoso denominado “mate cocido” fue preparado agregando 200 mL de agua pura recientemente hervida (ca. 84°C) a 3g de cada producto, dejándola en contacto durante 5 minutos. La cantidad de producto obedece a la presentación más frecuente en el mercado, en “saquitos” o “bolsitas” de 3 g cada una, al igual que el tiempo de contacto recomendado en los envases comerciales.

Evaluación de los principios nutricionales: La droga cruda y los extractos fueron analizados en su composición usando mayormente los métodos de la AOAC (Horvitz & Latimer 2005) en los siguientes casos: humedad higroscópica (AOAC 950.46), lípidos (AOAC 920.39C), cenizas (AOAC 923.03), proteína cruda (AOAC 960.52), y finalmente ácidos clorogénicos (AOAC 957.05).

Adicionalmente, la fibra dietaria total fue evaluada mediante el método estándar específico 2-7-IRAM 20511 (IRAM, 2007), y nitrógeno total por el método de Kjeldahl. Los carbohidratos totales, expresados en gramos por porción (que incluyen todas las sustancias extractivas no nitrogenadas, Hart-Fisher 1971), fueron calculados por diferencia, restando del extracto real la suma de proteínas, grasas, fibras, y cenizas; las calorías por porción (expresadas en kcal y en kJ) fueron calculadas aplicando los factores de conversión de Atwater (Merrill & Watt, 2010), a saber: 4 kcal.g⁻¹ (17 kJ.g⁻¹) para proteínas, 4 kcal.g⁻¹ (17 kJ.g⁻¹) para carbohidratos y 9 kcal.g⁻¹ (37 kJ.g⁻¹) para lípidos. La cafeína fue analizada mediante el método AOAC 925-17 (AOAC 1990) y las vitaminas (A, B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, B₁₂, C y E y ácido fólico) fueron determinadas por HPLC-DAD.

Análisis Mineral: La concentración de 32 elementos selectos fue determinada tanto en droga cruda como en los residuos carbonizados de cebadura y mate cocido, mediante ICP-OES, de acuerdo a la metodología descrita 3.4.2.

Los resultados se expresan en mg.kg⁻¹ de cenizas (ppm) y en mg.kg⁻¹ de materia seca. Los valores que se presentan están normalizados.

Por su parte, el líquido obtenido de las extracciones discontinuas (“cebadura”) y de las infusiones (“mate cocido”) fue secado y el residuo carbonizado, tratándolo luego con el mismo procedimiento que en el caso de la droga cruda.

Todos los reactivos usados fueron de grado analítico (Merck).

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Para el tratamiento estadístico de los datos experimentales se utilizó el Software Infostat 2008 (Di Rienzo *et al.* 2008). Se aplicó el análisis de varianza para evaluar diferencias en los resultados obtenidos (ANOVA, $\alpha=0,05$, test LSD Fisher). Los valores se presentan con la media aritmética y la desviación estándar correspondiente.

5. TERMINOLOGÍA, ABREVIATURAS Y OBRAS REFERENCIALES

En el empleo de los vocablos botánicos se ha seguido mayormente los conceptos y definiciones de Font Quer (1970 y ediciones posteriores), completándolos con los de Jackson (1953), Lindley (1951), *Systematics Association Committee for Descriptive Terminology* (1960, 1962), y con Stearn (1993) sobre todo en cuanto a los neologismos de más reciente cuño.

En las descripciones taxonómicas se ha seguido en lo posible los modelos sugeridos por Cabrera (1946) y De Candolle (1951) y las Floras Regionales argentinas (Cabrera 1965, 1971, 1974, 1978). Los nombres de los autores de los taxones son abreviados de acuerdo a lo propuesto en *Authors of Plant Names* (Brummitt & Powell 1992). Para la nomenclatura de las inflorescencias se ha seguido el criterio adoptado por Giberti (1994 a,b), mientras que para establecer la tipología de la nerviación foliar se ha seguido a Hickey (1973, 1974). En las descripciones botánicas, dos medidas relacionadas con el símbolo x indican alto (o largo) por ancho. Las consideraciones biogeográficas han sido realizadas tomando como base el trabajo *Regiones Fitogeográficas Argentinas* (Cabrera 1976), y algunos aportes posteriores de otros autores.

Los términos anatómicos y los conceptos estructurales se definen mayormente de acuerdo a Metcalfe & Chalk (1950, 1983), habiéndose contrastando sus conceptos con los de Solereder (1908), Esau (1965, 1982), Fahn (1987, 1990) y Carlquist (1961).

Los conceptos referidos a usos y aplicaciones de las plantas se han establecido siguiendo las definiciones ofrecidas en diccionarios especializados, particularmente Celsi *et al.* (1984), Gispert (1996), Merlo (1966), Navarro-Beltrán Iracet (1984), Petenatti *et al.* (2007) y Schmidt (1974). Las menciones de usos etnomédicos han sido tomadas de acuerdo a lo indicado en cada obra citada, o en su caso a las designaciones populares aplicadas por los lugareños.

Los Herbarios son mencionados por sus acrónimos, registrados en *Index Herbariorum* (Holmgren *et al.* 1990) y en las actualizaciones periódicas que constan en el sitio web <<http://sciweb.nybg.org/science2/IndexHerbariorum.asp>>.

Las unidades de medida responden en general al Sistema Métrico Decimal Argentino (SIMELA), en coincidencia con el Sistema Métrico Decimal Internacional; los no previstos por este sistema responden a usos y costumbres de las revistas científicas de difusión internacional consagradas por el uso. Las medidas de los tamices empleados durante el

procesamiento del material responden a los estándares establecidos por la *American Society for Testing and Materials* (ASTM E-11/95) (Perry & Green 2008).

Los nombres institucionales o corporativos son mencionados *in extenso* la primera vez, y luego lo son por su sigla convencional o tradicional.

Los valores de requerimientos dietarios, dosis/ingesta diaria/s recomendada/s, valores diarios de referencia de nutrientes y límites de ingesta diaria han sido tomados de diversas fuentes, especialmente de Nielsen (2003), del *Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment* de Gran Bretaña (COT) (2008), del *Food and Nutrition Board* de EE.UU. (Standing Committee on the Scientific Evaluation of DRIs 1997, 2000 a-b, 2004), de la Organización Mundial de la Salud (WHO 1996) y las Resol. GMC-Mercosur 18/94 y 046/003 (Mercosur 2011).

Para la mención de la bibliografía, en general se ha seguido el método Harvard (Jowett 2001). Los títulos de las obras taxonómicas son abreviados en el texto de acuerdo a *Taxonomic Literature* ed. 2 (Dorr & Nicolson 2008-2009, Stafleu & Cowan 1976-1988, Stafleu & Mennega 1992-2000), mientras que las abreviaturas de las publicaciones periódicas son referenciadas de acuerdo a la modalidad sugerida en *Botanico-Periodicum-Huntianum* (Bridson 1991, Bridson *et al.* 2004).

Abreviaturas

AAO	Actividad antioxidante (mg de ácido clorogénico equivalente/ g ó porción).
Abs%_{420nm}	Relación porcentual de absorbancias a 420 nm al tiempo “t” respecto del valor inicial.
ANOVA	Análisis de la varianza.
ASTM	American Standard for Testing of Materials
auct. non	de los autores
a_w	Actividad acuosa (Presión de vapor de agua a temperatura T / Presión de vapor a T en la saturación).
b₁ y b₂	Parámetros de ajuste ecuación cuadrática modelo Wang y Singh.
ca.	Cerca
C_g	Constante de Guggenheim, modelo GAB (adimensional)
C₀; C	Contenido de ácidos clorogénicos al tiempo inicial y al tiempo “t” respectivamente (g ácidos clorogénicos /100 g materia seca).
[Clo_(a,b)]	Contenido de clorofilas (a,b) (µg/g de material).
DS	Desvío estándar.

... <i>et al.</i>	... y colaboradores.
E	Extracto acuoso en droga cruda (g extracto /100 g de materia seca).
[Feo_(a,b)]	Contenido de feofitinas (a,b) (µg/g de material).
HR	Humedad relativa porcentual del aire ambiente, (Presión de vapor de agua a temperatura T / Presión de vapor a T en la saturación).100.
Id	<i>Ilex dumosa</i> .
Ip	<i>I. paraguariensis</i> .
K	Constante de corrección para la multicapa, modelo GAB (adimensional)
k	Coefficiente cinético de reacción de primer orden (h ⁻¹ , día ⁻¹).
m_{agua eq}	Masa de agua en equilibrio con la muestra de masa seca m _{ss} (g).
M₀	Masa inicial (g).
M_F	Masa final (g).
M_R	Masa relativa agua tiempo “t” /agua inicial, modelo de Wang y Singh (adimensional).
M_I	Masa de residuo insoluble (g).
M_T	Masa total (g).
m_{ss}	Masa de sólido seco (g).
n	Número de datos experimentales.
n_D	Índice de refracción.
M U\$S	Millones de dólares
NE_{ei}	Número de estomas por mm ² en epidermis inferior.
NE_{es}	Número de estomas por mm ² en epidermis superior.
IE_{ei}	Índice de estomas en epidermis inferior.
IE_{es}	Índice de estomas en epidermis superior.
NI	Número de islotes.
NTN	Número de terminales de nerviación.
Pc	Pérdida de masa a 103 °C.
R²	Coefficiente de determinación
R_{emp}	Índice de empalizada.
RS	Residuo sólido.
YM	Yerba mate.
r_{calc T, Id}	Velocidad de secado a la temperatura T de <i>Ilex dumosa</i> (g agua /100g materia seca min ⁻¹ .)
r_{calc T, Ip}	Velocidad de secado a la temperatura T de <i>Ilex paraguarienses</i> (g agua /100g materia seca min ⁻¹ .)
t	(s , min, h, día).
t_{Máx}	Tiempo máximo de secado calculado para modelo Wang y Singh.
v/v	Volumen en volumen.
X	Parámetro adimensional equivalente al propuesto por Wang y Singh.
x_{dum}	Humedad absoluta de <i>Ilex dumosa</i> en base seca (g de agua /100 g de materia seca).

x_{par}	Humedad absoluta de <i>Ilex paraguariensis</i> en base seca (g de agua /100 g de materia seca).
x_{bs}^0	Humedad absoluta inicial (g agua/100 g materia seca).
x_{bs}^t	Humedad absoluta a tiempo “t” (g de agua /100 g de materia seca).
x_e	Humedad absoluta de equilibrio (g de agua /100 g de materia seca).
x_e^{calc}	Humedad absoluta de equilibrio calculada GAB (g de agua /100 g de materia seca).
x_e^{exp}	Humedad absoluta de equilibrio experimental (g de agua /100 g de materia seca).
x_{mg}	Humedad absoluta para la monocapa, modelo GAB (g de agua /100 g de materia seca).
%P	Error relativo porcentual, modelo de GAB.
$\alpha ; \beta ; \gamma$	Raíces de la parábola del modelo GAB.
$\delta^{20^\circ C}$	Densidad relativa a 20°C.
$\Delta A^{645}, \Delta A^{655}, \Delta A^{662}, \Delta A^{666}$	Diferencias de absorbancias para las longitudes de onda indicadas en supra índice.
ΔE	Diferencia entre dos determinaciones de extracto acuoso.
ΔPc	Diferencia entre dos determinaciones de pérdida de masa a 103°C.



¡Y qué costumbre tenía,
 Cuando en el jogón estaba!
 Con el mate se agarraba
 Estando los piones juntos:
 -Yo tayo, decía, y apunto.
 Y a ninguno convidaba.

José Hernández, *Martín Fierro*



RESULTADOS FARMACOBOTÁNICOS

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA, DENOMINACIÓN VULGAR, HÁBITAT, CULTIVO Y USOS

La “yerba mate”, *I. paraguariensis* A. St.-Hil., al igual que sus congéneres, entre ellos *I. dumosa* Reissek, pertenece a la Familia Aquifoliaceae Bartling, que a su vez corresponde a la División Magnoliophyta, Clase Magnoliopsida, Subclase Rosidae, Orden Celastrales.

***ILEX PARAGUARIENSIS* A. ST.-HIL.**

A. de Saint-Hilaire, *Mém. Mus. Hist. Nat.* 9: 351. 1823.

Sinonimia: *Ilex curitibensis* Miers, *Ann. Mag. Nat. Hist.* Ser. 3, 8 (47): 393, 1861.- *I. curitibensis* Miers var. *gardneriana* Miers, *Ann. & Mag. Nat. Hist.* Ser. 3, 8 (47): 394, 1861.-

I. domestica Reissek var. *b glabra* Reissek in Martius, *Fl. Bras.* **11** (1): 67, tab. 14, f. 2. 1861.- *I. mate* A. St.-Hil., *Hist. Pl. Remarq. Brésil* **1**: XLI. 1824. - *I. paraguariensis* var. *genuina* Loes. fma. *sorbilis* (Reissek) Loes., *Monogr. Aquifoliac.*: 307, 1901.- *I. paraguariensis* var. *genuina* Loes. fma. *confusa* Loes., *Monogr. Aquifoliac.*: 308, 1901.- *I. paraguariensis* var. *genuina* Loes. fma. *dasyprionata* Loes., *Monogr. Aquifoliac.*: 308, 1901.- *I. paraguariensis* var. *ulei* Loes., *Monogr. Aquifoliac.*: 309, 1901.- *I. paraguariensis* var. *euneura* Loes. fma. *glabra* Loes., *Monogr. Aquifoliac.*: 309, 1901.- *I. paraguariensis* var. *genuina* Loes. fma. *domestica* (Reissek) Loes., *Monogr. Aquifoliac.*: 306, 1901.- *I. paraguayensis* auct. non A. St.-Hil.- *I. paraguayensis* A. St.-Hil. sensu J. Miers, *Ann. Mag. Nat. Hist. Ser. 3*, **8** (47): 391, 1861.- *I. paraguayensis* var. *dentata* Miers, *ibid.*: 392, 1861.- *I. paraguayensis* var. *idonea* Miers, *ibid.*: 392, 1861.- *I. paraguayensis* var. *usitata* Miers, *ibid.*: 393, 1861.- *I. sorbilis* Reissek in Martius, *Fl. Bras.* **11** (1): 66, tab. 14, f. 1. 1861.- *I. theaezans* Bonpl. ex Miers, *Ann. Mag. Nat. Hist. Ser. 3*, **8** (47): 391, 1861.

Nombres vulgares: “ka’a”, “ka’a y” (= árbol de yerba), “ka’a mata”, “ka’a eté” (yerba verdadera), “yerba mate”, “yerba”, “mate”, “caá”, “ibirá caá morí” (ingl. “maté”), “árbol del mate”, “caá-mate” (*caá*, término guaraní que significa “hierba” o “planta”; *mate* = *matí*, vocablo quechua que designa una calabaza pequeña), “té del Paraguay”, “yerba del Paraguay”, “té de los Jesuitas”, “té de san Bartolomé” (CRYM 1971, De la Peña & Pensiero 2004, Giberti 1979, 1994 a-b).

Nombre farmacopeico: “*Mate folium*” (Blumenthal, 2000)

Descripción:

Árbol (raro arbusto) perennifolio, hasta de 20 (-30) m alto en el hábitat silvestre, con ramas erectas, ascendentes, cuando jóvenes glabras o pubescentes, provistas de numerosas lenticelas pequeñas, y copa globosa.

Hojas alternas, persistentes, coriáceas, pecioladas, de limbo obovado hasta oblanceolado, ovado, elíptico u oblongo, de 5-16 (hasta 25) de largo x 2,5-7 (-10) cm de ancho, con margen generalmente aserrado-dentado o crenado-dentado, con dientes variables en profundidad y densidad, ápice raramente emarginado, obtuso-retuso, plano en la zona del nervio medial, y base atenuada o cuneada.

Inflorescencias en fascículos corimbiformes, dispuestos en las axilas de las hojas normales, profilados por brácteas algo consistentes, glabras o pubescentes, las inflorescencias masculinas suelen ser más compactas y ramificadas que las femeninas. Flores pequeñas, blanquecinas, diclinas por aborto (conservando pistilodios o estaminodios según el caso). Sépalos pequeños, suborbiculares, connatos en la base, con borde entero, no ciliado aunque a veces algo irregular, con la cara abaxial y los bordes glabros o provistos de tricomas cortos. Corola blanquecina, de 6-8 mm de diámetro, formada por 4 (-5-6) pétalos orbiculares a elípticos, connatos en la base. Flores masculinas con 4 (-5-6) estambres, anteras de 1,2-1,8 mm largo, con filamentos dilatados hacia la base, pistilodio globoso, marcadamente 4-loculado y ápice o rostro generalmente ausente. Flores femeninas con anteras cordado-sagitadas, gineceo ovoide a cónico, generalmente 4-locular, y estigma subgloboso. Fruto en drupa de (4-) 6-7 (-9) mm de diámetro, rojo-violáceo, con restos estigmáticos en el ápice. Pirenos de ca. 4 x 3 mm, en igual número que los carpelos, subtrígonos, con cara externa curva, y dorsalmente surcados, con embrión muy pequeño.

Número cromosómico: $2n=40$ ($n=20$) (Andrés & Saura 1945, Greizerstein *et al.* 1994, Janaki Ammal 1945, Saura 1944).

Fenología: la floración tiene lugar desde octubre a abril. Los frutos comienzan a formarse en noviembre, mientras que su maduración completa ocurre entre marzo y junio.

Hábitat: como planta parcialmente esciófila, de tercera magnitud, está adaptada a la existencia en las selvas húmedas y umbrosas, aprovechando la sombra de árboles de mayor porte, aunque desarrolla también en matorrales del borde de la selva, e incluso se presenta más raramente en la formación llamada “cerrado”, hasta los 350 m s.m.

Distribución geográfica: El área de distribución natural es restringida, entre 18 y 30° de latitud Sur y desde el Atlántico al Este hasta el río Paraguay al Oeste (Oliveira & Rotta 1995), comprendiendo el sureste de Brasil (Estados de Río de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina, Río Grande do Sul y Mato Grosso do Sul), noroeste de Uruguay (Dptos. Treinta y Tres, Tacuarembó y Maldonado), este de Paraguay (Dpto. San Pedro, Guairá, Caaguazú, Itapúa, Misiones, Alto Paraná, Central, Amambay y Canindeyú), y extremo nordeste de Argentina (Prov. Misiones y nordeste de Corrientes). El cultivo de “yerba mate”, aunque se ha ensayado en otras latitudes, se realiza con éxito comercial sólo en el área de distribución natural de la planta, y especialmente entre los 18 y 28° de latitud sur

(Galarza 1914), en el oriente de Paraguay (entre los ríos Paraná y Paraguay), el sureste de Brasil (todos los Estados arriba mencionados), el oriente de Bolivia (Dpto. Santa Cruz de la Sierra), y en la Argentina, predominantemente en Misiones, y desde 1923 en el nordeste de Corrientes (Departamento de Santo Tomé).

ILEX DUMOSA REISSEK

Reissek in C. Martius, *Fl. Bras.* 11 (1): 64. 1861.

De esta especie se reconocen dos variedades, *I. dumosa* Reissek var. *dumosa* (la antes descrita) e *I. dumosa* var. *guaranina* Loes. Esta última ha sido utilizada desde tiempos recientes con fines comerciales, y con ella se han establecido las plantaciones que dan origen a la materia prima para elaborar el producto “suave relax”, así llamada en el comercio; esta variedad se diferencia bien de la variedad típica ya que posee inflorescencias menos compejas, y láminas foliares predominantemente elípticas con margen más densamente aserrado (Prat Kricun 1998).

ILEX DUMOSA REISSEK VAR. DUMOSA

Nombres vernáculos: “apere’a ka’a” (yerba del aperea, un roedor), “ka’a mirí” (yerba pequeña), y otras denominaciones comunes a la especie, como “yerba señorita”, “caá-berá”, “caá-verá”, “caá-chirí”, “caá miní”, “caúna”, “caúna dos capôes”, “congonha miuda”, “congonolla”, “erva periquita”, etc.

Descripción:

Arbusto hasta (raro) pequeño árbol de 1-8 m alto, con ramas jóvenes angulosas, por lo general pubescentes, las mayores cilíndricas, provistas de corteza pardo-grisácea a castaño oscura, e incluso verdosa, mientras que las yemas son pubescentes, y los entrenudos alcanzan desde 2 mm a 2 cm de largo. Las hojas son persistentes, pecioladas, con pecíolo generalmente pubescente, 1-5 (9-) mm largo; el limbo es coriáceo, de (1-) 3-5 (-8) x (0,6-) 1-2 (-3) cm, de

forma obovada hasta oblanceolada o elíptica, glabra hasta algo pubescente hacia el pecíolo y a lo largo del nervio medial; el envés está generalmente cubierto de puntuaciones negras pequeñas, visibles a la lupa; el margen es aserrado y resolutivo; la base es aguda; el ápice es retuso hasta mucronulado u obtuso, raramente agudo; las estípulas generalmente son subglabras.

Inflorescencias generalmente sobre ramas de la última brotación, las masculinas en tirso poco ramificados, con eje de 10-40 cm largo, en dicasios solitarios o en pares, en las axilas de las hojas normales, a veces son dicasios o flores solitarias en la axila de brácteas hacia la base de las ramitas jóvenes, o incluso racimos solitarios o fascículos corimbiformes ubicados en la axila de los nomófilos; las últimas ramificaciones del eje principal de la inflorescencia consisten en dicasios 3-7 (-11)-floros. Las inflorescencias femeninas se presentan solitarias o en pares en las axilas de los nomófilos, ya sea en racimos con eje de 5-20 cm largo, o flores solitarias o dicasios 3 (-5)-floros, y también acompañadas por dicasios o por flores solitarias en axilas de brácteas hacia la base de ramitas jóvenes; las últimas ramificaciones del eje principal de la inflorescencia rematan en flores solitarias, o en dicasios 3-5-floros.

Las flores son pequeñas, 4-5-meras, de 4-6 mm de diámetro, con pedúnculos y pedicelos pubescentes, cáliz pequeño, con sépalos de 1-2 x 1 mm, de dorso glabro (raro pubescente), y siempre con borde ciliado; la corola presenta prefoliación imbricada, y pétalos blanquecinos, obovado-suborbiculares hasta elíptico-ovados, de 3 x 2 mm. Estambres de 2 mm largo, con filamentos de 1 mm; estaminodios menores de 2 mm. Ovario de las flores femeninas subgloboso hasta lageniforme, poco lobulado, con estigma subsésil. Flores masculinas con pistilodio brevemente cónico o subgloboso, poco lobulado. Fruto en drupa globosa, de 4-7 mm diámetro, violáceo oscura, con pirenos dorsalmente estriados, y cara ventral lisa o estriada.

Número de cromosomas: $2n=40$ ($n=20$)

Hábitat: Vive en la Provincia Fitogeográfica Paranense, o en selvas en galería, y menos frecuentemente en el interior de selvas con “pino paraná” (*Araucaria angustifolia*), donde se la encuentra en la comunidad climácica llamada “Selva de laurel, guatambú y pino”, en niveles hipsométricos hasta 1.000 m s.m. Es abundante en el litoral Atlántico, como

vegetación típica de restinga, en lugares pantanosos y al borde de arroyos, y en la cima de pequeños cerros (*morros*) costeros (Cabrera 1976, Prat Kricun 1998).

Distribución geográfica y hábitat: Se encuentra distribuída en Brasil (Estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina y Río Grande do Sul), y Paraguay (Dptos. Alto Paraná, Amambay, Caaguazú, Cordillera, Misiones y San Pedro). En el extremo oriental de Misiones, en la Argentina, existen ejemplares añosos de esta planta intercalados en algunos yerbales de *I. paraguariensis*, lo que resulta indicativo de antiguas plantaciones, por cuanto no se acepta su indigenato en nuestro país (Giberti 1994 b). Asimismo, la presencia de la especie en Uruguay, en estado silvestre, aún resulta dudosa.

Nota: Hasta 1990 existían plantaciones de la var. *dumosa* en pequeñas superficies, en Campo Viera (Misiones), mezclada con *I. paraguariensis*.

ILEX DUMOSA REISSEK VAR. GUARANINA LOES.

Loesener, *Nova Acta Acad. Caes. Leop.-Carol. German. Nat. Cur.* **78:** 198. 1901.

Sinonimia: *I. dumosa* f. *angustifolia* Chodat & Hassler in *Bull. Herb. Boissier* ser. 2, **5:** 74. 1904.

Nombres vulgares: “ka’a ygapó” (yerba del pantano), “ka’a la niña”, “caá berá”, “caá chirí”, “guaraniná”, y otros nombres aplicados a la especie en general: “yerba señorita”, “caá-miní”, “caúna”, “congonha”.

Arbusto o arbolito perennifolio, desde 3 y hasta 6 m de alto en condiciones silvestres. Tallos con entrenudos hasta 2,5 cm largo. Hojas coriáceas, oblanceoladas hasta obovadas o más raramente elípticas, pequeñas y estrechas, de (1-) 3,5-6 (-8,5) cm de largo x (0,5-) 1-2 (-3) cm de ancho, con margen regularmente aserrado y ápice redondeado y retuso.

Inflorescencias masculinas en dicasios 3-7 (-15)-floros, solitarios o más raramente dispuestos en pares en las axilas de las hojas normales (nunca en fascículos corimboides), o alternando con ejes unifloros solitarios en las axilas de brácteas hacia la base de las ramitas jóvenes, hasta flores solitarias en la axila de los nomófilos. Las inflorescencias femeninas

generalmente en dicasios 3-7-floros o en ejes unifloros solitarios en las axilas de los nomófilos, a veces acompañadas por dicasios o por flores solitarias en axilas de brácteas hacia la base de ramitas jóvenes.

Flores pequeñas, 4 (-5)-meras, de 4-6 mm de diámetro, con sépalos cuyo borde es siempre ciliado, y corola blanquecina. Ovario de las flores femeninas con estigma subsésil. Flores masculinas con pistilodio brevemente cónico o subgloboso. Fruto en drupa violáceo



oscuro, ca. 5 mm de diámetro, con pirenos dorsalmente estriados, ca. 3 x 2 mm.

Número de cromosomas: $2n=40$ ($n=20$)

Hábitat: Propia de lugares pantanosos, también se presenta en matorrales y en las orillas de cursos de agua y en bosques abiertos de la Provincia Biogeográfica Paranense, muy raramente en la vegetación llamada “cerrado” (Prat Kricun 1998, Giberti 1994 a-b).

Distribución geográfica: Brasil (Estado de Minas Gerais), oriente de Paraguay (Departamentos Alto Paraná, Amambay, Caazapá, Caaguazú, Central, Cordillera, Canendiyú, Guairá, Paraguairí y San Pedro), y Argentina (Prov. de Misiones y nordeste de Corrientes).

Cultivo: Hacia 1938 todavía existían plantaciones de la var. *guaranina* en Eldorado (Misiones), las cuales fueron erradicadas al considerársela un adulterante de *I. paraguariensis*. En los últimos años se realizaron ensayos de baja, media y alta densidad de plantación, con 5.000, 7.000 y 9.000 plantas por hectárea.

Presenta similares condiciones agronómicas que *I. paraguariensis*, pero por clonación la velocidad de multiplicación es prácticamente del doble (Belingheri 1992).

Es resistente al “psílido” (*Gyropsylla spegazziniana*), aunque altamente susceptible a las “hormigas mineras” (*Atta* spp.). Los ensayos de cruzamiento entre *Ilex paraguariensis* e *I. dumosa* resultaron negativos; idéntico resultado se obtuvo al intentar cruzarla con *I. theezans*.

Cosecha: Teniendo en cuenta que se trata predominantemente de un arbusto, puede adaptarse mejor el cultivo a la cosecha mecánica, sobre todo porque no soporta un corte exhaustivo.

Usos: Explotada para elaborar “yerba mate” junto a su congénere *I. paraguariensis*, ha sido considerada alternativamente adulterante o sucedáneo de la yerba mate genuina desde la época colonial, tanto en Brasil como en Paraguay y Argentina. En los yerbales naturales, especialmente los localizados en los estados brasileños de Santa Catarina y Paraná, sigue siendo beneficiada junto a *I. paraguariensis*. Algunos autores (entre ellos Martínez Crovetto 1982) han sugerido que la cotizada yerba mate “Caá miní” o “Caá mirí” elaborada por los misioneros jesuitas en el S. XVIII, antes de su expulsión de América, provenía de cultivos de *I. dumosa* var. *guaranina* (Giberti 1994 b, Prat Kricun 1998).

ANATOMÍA Y MICROGRAFÍA CUANTITATIVA DE *I. PARAGUARIENSIS*, *I. DUMOSA* Y ADULTERANTES

***ILEX PARAGUARIENSIS* A. ST. HIL.**

Anatomía foliar

Los transcortes por hoja muestran una típica lámina con estructura dorsiventral o bifacial.

Tanto las epidermis de la cara abaxial como de la adaxial presentan un único estrato celular con células cubiertas por una densa cutícula estriada y ornamentada. Los estomas son anomocíticos y ciclocíticos y se hallan ubicados al mismo nivel de la epidermis (Lám. III.1 **D-E, G**). Las células de la cara adaxial presentan paredes casi rectas, mientras que las de la cara abaxial son sinuosas. Ambas epidermis presentan un indumento de tricomas no glandulares, unicelulares (Lám. III.1 **F**). El margen de la hoja es aserrado y sus dientes presentan abundantes hidátodos, al igual que los extremos apicales de las mismas (Lám. III.1 **A**).

El mesofilo es heterogéneo. Está constituido por dos a tres estratos de parénquima en empalizada hacia el epifilo y varios estratos de parénquima esponjoso hacia el hipofilo y células con aspecto braciiforme (Lám. III.1 **H**). En el mesofilo se hallan abundantes drusas de

oxalato de Ca (Lám. III.1 C).

El haz vascular medial es conspicuo y está protegido por colénquima angular y una notable banda de fibras esclerénquimáticas (Lam. III.1 B, Maiocchi *et al.* 2011 a). Todo lo hallado coincide con los datos suministrados por Spegazzini *et al.* (2002).

Anatomía caulinar

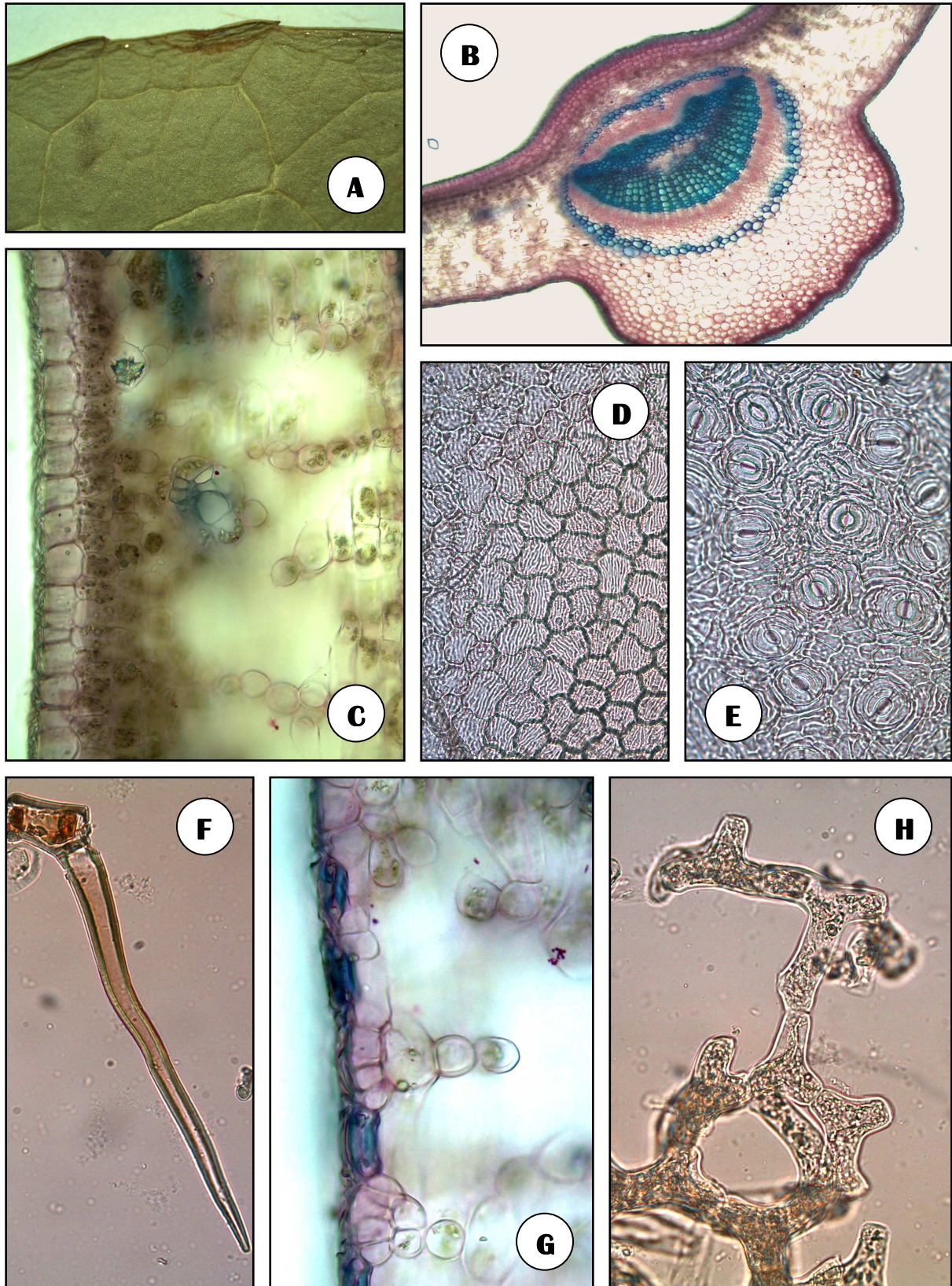
Las transecciones caulinares se observan sub-teretes (Lám. III.2 A), con epidermis unistrata de características similares a las foliares. La hipodermis está constituida por parénquima clorofiliano esponjoso con grandes espacios intercelulares y células braciiformes similares a las foliares. La endodermis es una conspicua banda provista de almidón (amilífera). La estela o cilindro central presenta 2 a 3 haces vasculares centrales y 2-3 haces extravasculares (Lám. III.2 A-E). La disposición de floema y xilema es colateral, hallándose protegidos por una gruesa banda esclerenquimática. El tejido medular es de parénquima amilífero. El estudio de la anatomía caulinar se llevó a cabo por primera vez en esta especie durante este trabajo.

Micrografía cuantitativa: determinación de parámetros

TAXÓN	NEes	NEei	IEes	IEei	Remp	NI	NTN
<i>Ilex paraguariensis</i>	0	32 ± 4	0	7,02 (11) 13,95	3,50 ± 1	4,16 ± 1,58	12,33 ± 1,88

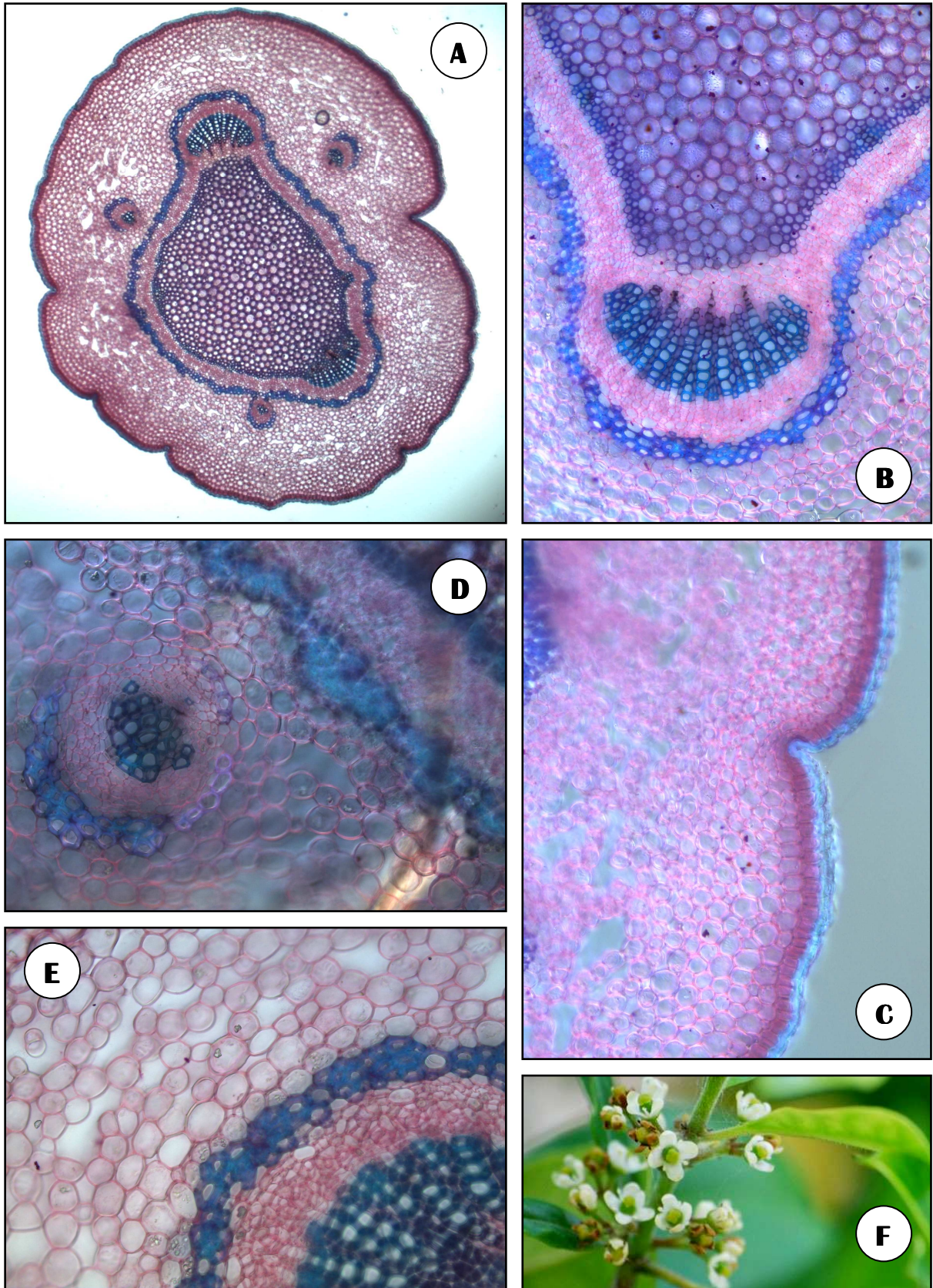
Tabla III.1. Valores de micrografía cuantitativa para *Ilex paraguariensis*

Los valores de micrografía cuantitativa son volcados en la Tabla III.1. En los mismos se refleja que la hoja es hipostomática, es decir que carece de estomas en la cara adaxial, mientras que la epidermis de la cara abaxial presenta una alta densidad estomática. Existen escasos trabajos de micrografía cuantitativa para las especies de *Ilex* (Nájera & Spegazzini 1995, Spegazzini *et al.* 2002). Los valores de IE (índice estomático) y Remp (relación de empalizada) coinciden con lo hallado por estos autores (Nájera & Spegazzini 1995, Spegazzini *et al.* 2002), quienes no dan valores para los demás parámetros, por lo que los aquí brindados constituyen los primeros datos obtenidos en cuanto a número de islotes venosos (NI) y terminales de nerviación (NTN).



Lám. III. 1. Anatomía foliar de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.

A, Margen con dientes e hidátodos.- B, transcorte por nervio medial.- C, Mesofilo em transcorte.- D, epidermis del epifilo.- E, epidermis del hipofilo.- F, tricoma eglandular.- G, mesofilo mostrando El parênquima esponjoso hacia epifilo.- H, células braciformes.



Lám. III. 2. Morfoanatomía caulinar de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.

A, transcorte por tallo.- B, D y E, haces extravasculares (E, detalle de B).- C, vista parcial del transcorte mostrando epidermis e hipodermis.- F, detalle de tallo florífero.

***ILEX DUMOSA* REISSEK**

Anatomía foliar

Los transcortes por hoja muestran una típica lámina con estructura dorsiventral, con un mesofilo heterógeno, al igual que en *I. paraguariensis*.

La epidermis es unistrata con células protegidas por una densa cutícula estriada y ornamentada y los estomas son anomocíticos y ciclocíticos (Lám. III.3 D, F). Las paredes de la cara abaxial son sinuosas y los extremos apicales y dientes de las hojas presentan abundantes hidátodos (Lám. III.3 A). Ambas epidermis presentan un indumento de tricomas unicelulares y eglandulares más densamente dispuestos que en *I. paraguariensis*.



El mesofilo está constituido por 1-2 estratos de parénquima en empalizada hacia el epifilo y varios estratos de parénquima esponjoso hacia el hipofilo y células con aspecto braciforme. En el mesofilo se hallan abundantes drusas de oxalato de Ca (Lám. III.3 C, E).

El haz vascular medial es conspicuo y está protegido por colénquima angular y una notable banda de fibras esclerenquimáticas (Lám. III.3 B).

Anatomía caulinar

Las transecciones caulinares se observan teretes (Lám. III.4 A) con epidermis unistrata de características similares a las foliares. La hipodermis está formada por parénquima clorofiliano esponjoso. La endodermis es amilífera. La estela presenta 2 a 3 haces vasculares centrales y carece de haces extravasculares (Lám. III.4 A-B). La disposición de floema y xilema es colateral y se hallan protegidos por una banda esclerenquimática. La médula es de tejido parenquimático amilífero (Lám. III.4 C).

Micrografía cuantitativa: determinación de parámetros micrográficos

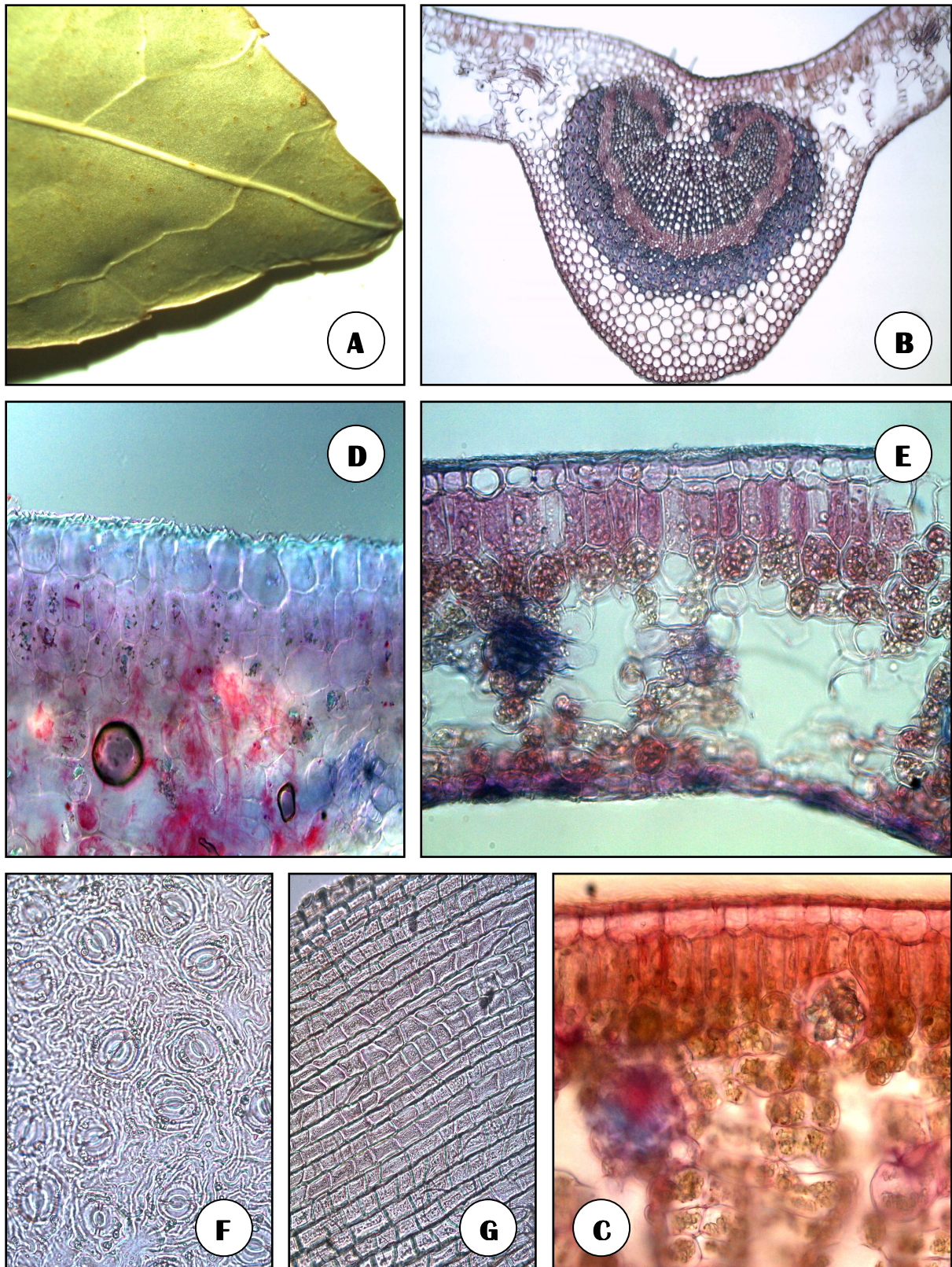
Taxón	NEes	NEei	IEes	IEei	Remp	NI	NTN
<i>Ilex dumosa</i>	0	15 ± 3	0	9,16 (10,05) 18,95	4,20 ± 1	0,16 ± 0,058	6,33 ± 0,88

Tabla III.2. Valores de micrografía cuantitativa para *Ilex dumosa*

Los valores de micrografía cuantitativa son volcados en la Tabla III.2. En los mismos se visualiza que, al igual que en *Ilex paraguariensis*, la hoja es hipostomática. A diferencia de *I. paraguariensis* la epidermis de la cara abaxial presenta menor densidad estomática, presentando por ello un índice estomático mayor. Los valores de IE (índice estomático) y Remp (relación de empalizada) difieren de lo hallado por otros autores (Spegazzini *et al.* 2002), mientras que los demás valores no fueron determinados con anterioridad, por lo que constituyen los primeros datos obtenidos en cuanto a número de islotes venosos (NI) y número de terminales de nerviación (NTN).

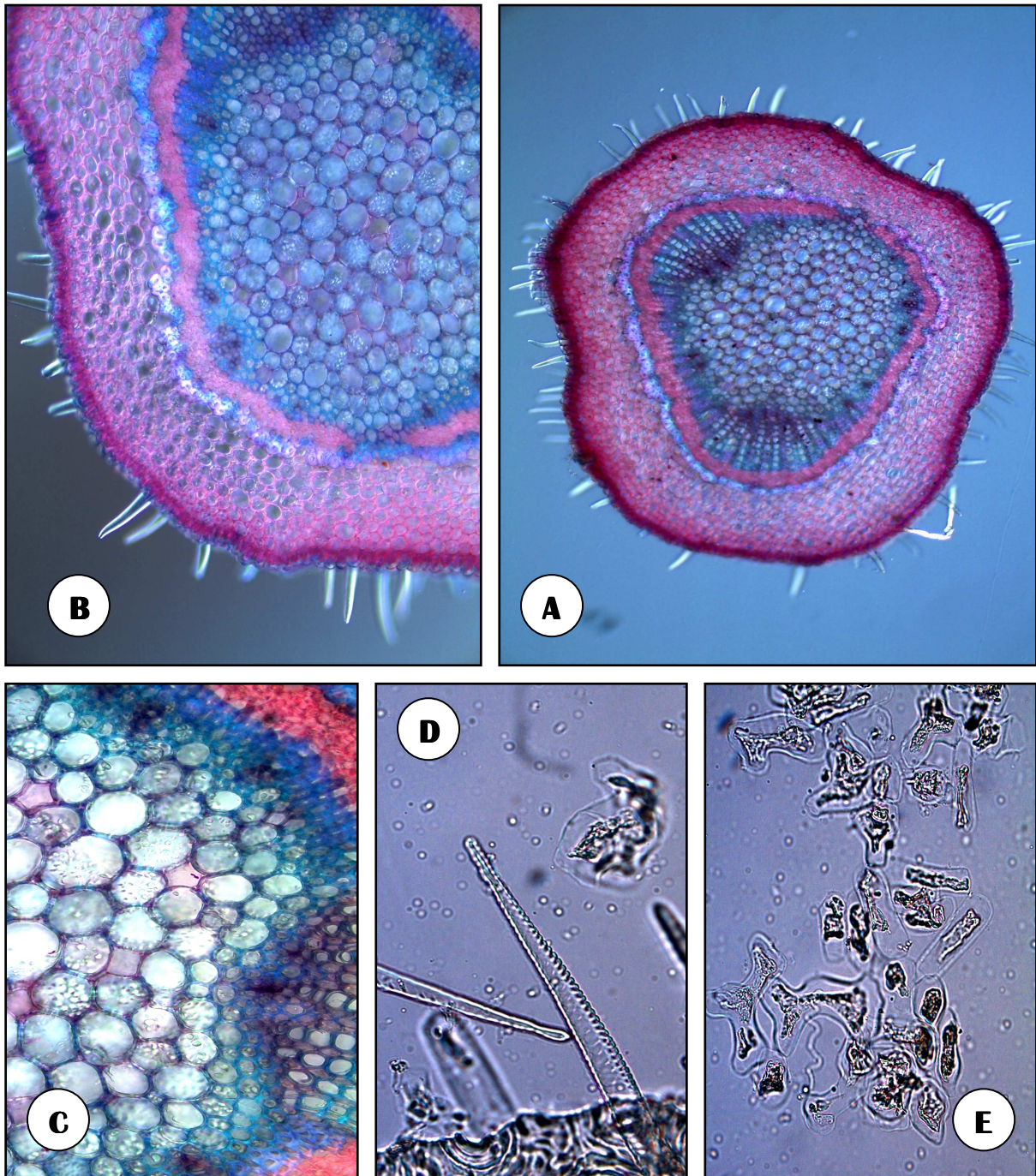
Ambas especies pueden ser fácilmente distinguidas por sus caracteres morfoanatómicos, pero sus parámetros micrográficos son determinantes para el control de calidad de las muestras comerciales.

A través de este análisis se ha podido determinar la adulteración de muestras comerciales con dos especies exóticas.



Lám. III. 3. Anatomía foliar de *Ilex dumosa* Reissek

A, Ápice de lámina foliar con borde dentado e hidátodos.- **B,** transcorte por nervio medial.- **C,** transcorte por mesofilo, con drusas.- **D,** idem, con cutícula estriada.- **E,** idem, completo.- **F,** epidermis del hipofilo.- **G,** epidermis del epifilo.



Lám. III. 4. Anatomía caulinar de *Ilex dumosa* Reissek

A, transcorte por tallo.- B, idem, detalle con hipodermis de clorénquima esponjoso y endodermis amilífera.- C, región medular, amilífera.- D-E, disociado, con elementos vasculares (D) y células braciformes (E).

ADULTERANTES DE LA "YERBA MATE"

Como ya lo indicaran Cozzo (1949) y Amat (1991), la búsqueda de adulterantes de "yerba mate" tiene siempre suma importancia, inicialmente cuando el material procedía de cosecha extractiva a partir del monte natural, y más tarde con la disminución del área cultivada y la mayor demanda, y cuando ingresó al país material de importación. Por ello, con el fin de dar cumplimiento a uno de los objetivos planteados en el presente plan, se analizaron 30 muestras comerciales, hallándose un 10% de ellas adulteradas en proporción minoritaria con dos especies no congénicas: *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae) y *Ligustrum lucidum* Ait. (Oleaceae) cuyos datos morfoanatómicos y micrográficos se detallan a continuación:

MANGIFERA INDICA L.

Se trata de un árbol leñoso, que alcanza gran tamaño y altura (puede superar los 30 m, sobre todo cuando compite con otros árboles frondosos). Tronco grueso de corteza negruzca con látex resinoso. Hojas alternas, simples, coriáceas, desde lanceoladas a oblongas, de 15-30 cm de longitud, de color verde oscuro. Inflorescencias piramidales terminales, grandes. Flores polígamas, pequeñas, de color verde amarillento, con 4-5 sépalos y pétalos. Flores masculinas con 4-5 estambres, de los cuáles sólo 1 ó 2 son fértiles y de mayor tamaño. Flores femeninas con ovario globoso y un estilo. Fruto en drupa, variable en forma y dimensiones, aunque por lo general es ovoide-oblonga, con los extremos algo aplanados, desde 4 a 25 cm de longitud y de color verde, verde amarillento o anaranjado a la madurez, incluso con tintes morados o rojos en algunas variedades. La pulpa del fruto es amarilla o anaranjada, y jugosa.



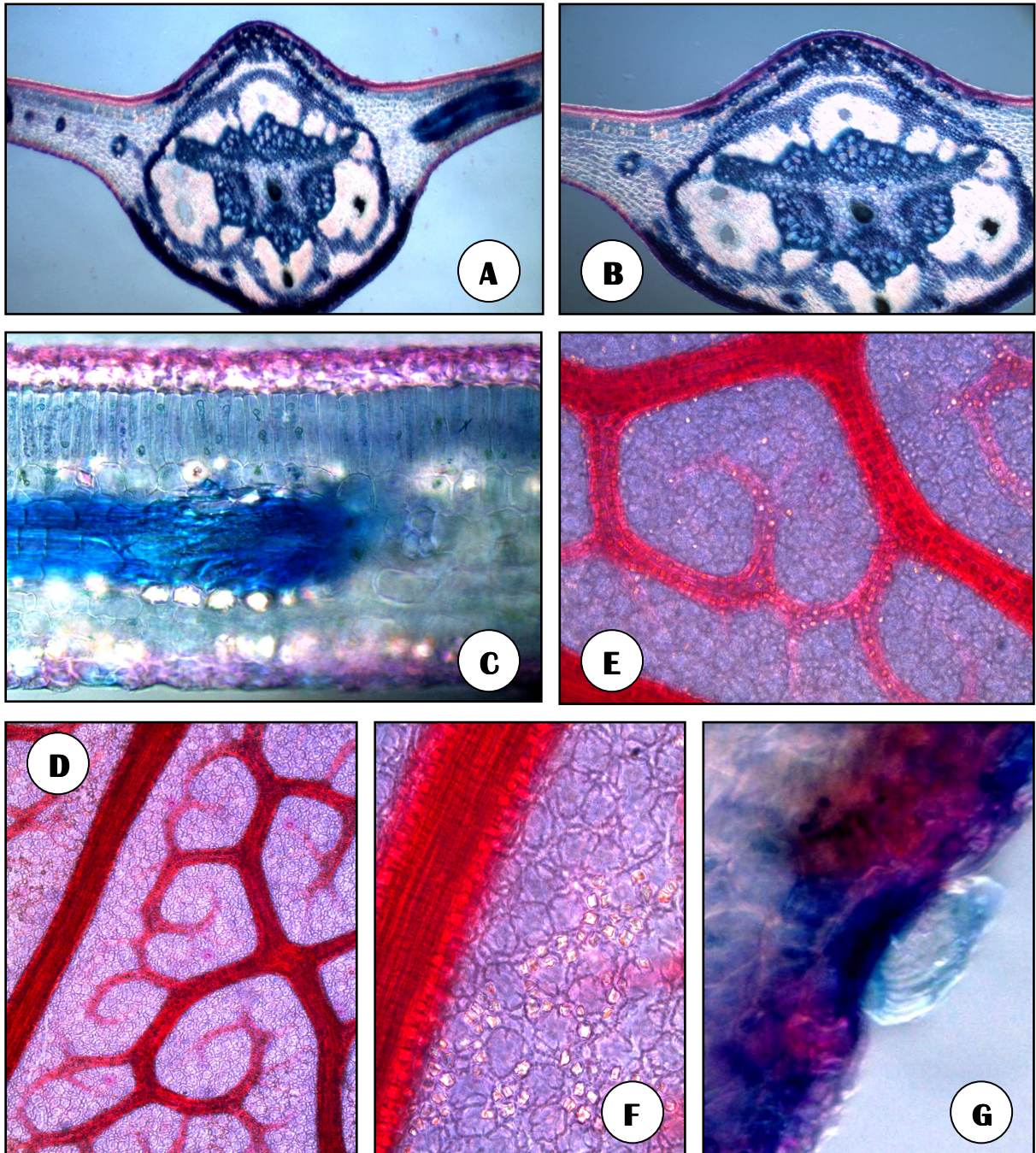
Planta típica de climas cálidos a templados, puede cultivarse en climas adversos aunque no suele alcanzar gran altura. Es originario de la India y se cultiva en países de clima

cálido, además de algunos de climas templado como España, Panamá, Costa Rica, El Salvador, Paraguay, México en la zona de clima subtropical, Perú, China, Italia y EE. UU.

ANATOMÍA FOLIAR

Los transcortes por hoja de *Mangifera indica* muestran una típica estructura dorsiventral (Lám. III.5 A-C). La hoja es hipostomática o sea sólo posee estomas en la epidermis del hipofilo. La cara adaxial presenta una gruesa cutícula, con ornamentaciones y células epidérmicas poligonales con paredes esclerosadas, con puntuaciones radiales y tangenciales, otorgando a la superficie de la hoja un aspecto estriado; los tricomas son glandulares y se ubican en concavidades epidérmicas (Lám. III.5 G). Los estomas son algo hundidos. El mesofilo es heterogéneo con 1-2 estratos de parénquima clorofiliano en empalizada y varios estratos de parénquima esponjoso en donde se hallan inmersos abundantes cristales tetrahédricos de oxalato de Ca (Lám. III.5 C).

El nervio medial es prominente y está protegido por esclerénquima; los haces vasculares se hallan en número de 3-4, mostrando xilema interno y floema externo (Lám. III.5 A-B); los laterales presentan una vaina cristalífera (Lám. III.5 D-F) y cavidades secretoras esquizolisígenas (rexicénicas) a nivel del nervio medial y de los nervios laterales principales (Lám. III.5 G). Todos los caracteres morfoanatómicos hallados coinciden con los mencionados por Amat (1991).



Lám. III. 5. Anatomía foliar de *Mangifera indica* L.

A, transcurso por nervio medial.- B, idem, detalle mostranla vascularización.- C, transcurso por mesofilo.- D-E, diafanizado de lámina mostrando la arquitectura foliar.- F, idem con banda cristalífera.- G, tricoma glandulífero.

LIGUSTRUM LUCIDUM W.T. AITON

Arbolito perennifolio de 3-10 m alto, con corteza parda y copa redondeada. Hojas opuestas, persistentes, de 4-12 cm de longitud, simples, brevemente pecioladas, con lámina ovada o elíptica, ancha, acuminada en el ápice, de margen entero, algo rígida y coriácea, glabra.

Flores perfectas (hermafroditas), actinomorfas, hipóginas, pequeñas, blanco-verdosas, reunidas en amplias panículas terminales piramidales, con cáliz gamosépalo 4-lobado, corola gamopétala con 4 lóbulos casi tan largos como el tubo, blanca, 2 estambres soldados a la corola por la base de sus filamentos, y un gineceo bicarpelar sincárpico de ovario súpero.

Fruto baya de 4-10 mm de diám., globosa u ovoide, azul-negruzca a la madurez.

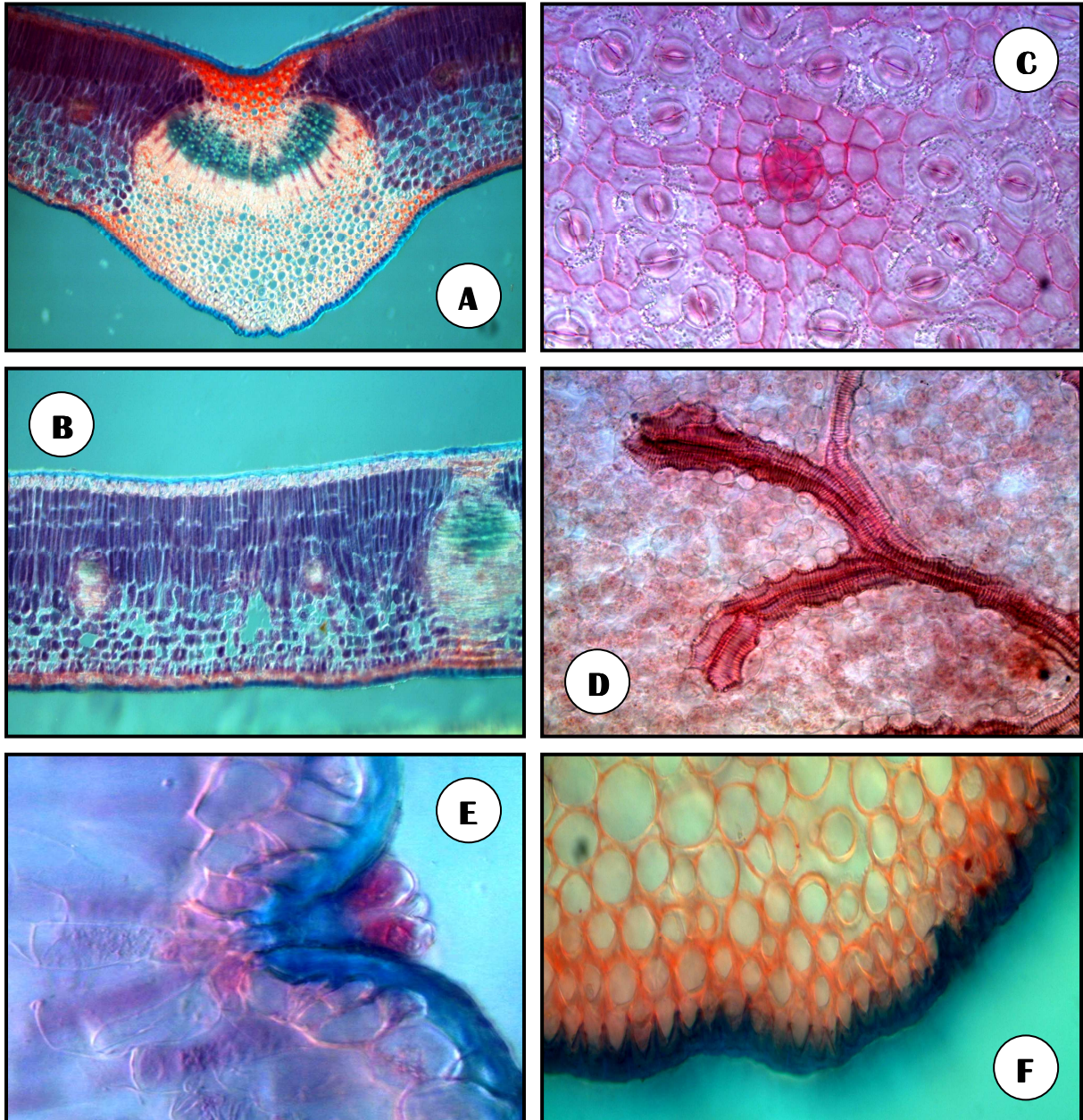
Conocido con los nombres vulgares de “ligustro”, “aligustro” o “aligustre de Japón” es una planta típica nativa de China, Corea y Japón. En algunos países como Argentina y Uruguay, se lo considera una especie invasora ya que está avanzando sobre los bosques nativos y desplazando las especies autóctonas gracias a su adaptabilidad y rusticidad, y sobre todo a la dispersión de los frutos por los pájaros (ornitocoria).

Anatomía foliar

Los transcortes por hoja muestran una estructura dorsiventral con mesofilo heterogéneo, con varios (4-5) estratos de parénquima en empalizada y abundantes idioblastos esclerenquimatosos. La epidermis es esclerosada con tricomas glandulares de cabezuela 8-celular, dispuestos en concavidades epidérmicas (Lám. III.6 A-B).

Los estomas son anomocíticos (ranunculáceos) y se ubican sólo en el hipofilo, por lo que la hoja resulta hipostomática (Lám. III.6 C).

El haz vascular medial carece de casquete esclerenquimático y los haces vasculares laterales carecen de vaina cristalífera y de cavidades secretoras (Lám. III.6 D-E).



Lám. III. 6. Anatomía foliar de *Ligustrum lucidum* Aiton

A, transcorte por nervio medial.- **B**, transcorte por mesofilo con haces vasculares laterales.- **C**, epidermis del hipofilo con una glándula.- **D**, diafanizado de lámina con un terminal de nerviación.- **E**, glándula correspondiente al epifilo.- **F**, transcorte por pecíolo, vista parcial.

ESCALAS CORRESPONDIENTES A LAS FOTOMICROGRAFÍAS

Lámina 1. Estructura foliar de *Ilex paraguariensis*. 10 mm corresponden a: 900 μm para A, 650 μm para B, 400 μm para C y G, 100 μm para D-E y 40 μm para F y H.

Lámina 2. Estructura caular de *Ilex paraguariensis*. 10 mm corresponden a 600 μm para A, 400 μm para B, 200 μm para C-E.

Lámina 3. Estructura foliar de *Ilex dumosa*. 10 mm corresponden a: 900 μm para A, 650 μm para B, 400 μm para C -E, 300 μm para D y 40 μm para F y G.

Lámina 4. Estructura caular de *Ilex dumosa*. 10 mm corresponden a 600 μm para A, 400 μm para B, 200 μm para C-E.

Lámina 5. Estructura foliar de *Mangifera indica*. 10 mm corresponden a: 700 μm para A, 600 μm para B, 400 μm para C, 300 μm para D y, 100 μm para E-F y 40 μm para G.

Lámina 6. Estructura foliar de *Ligustrum lucidum* 10 mm corresponden a: 650 μm para A-B, 400 μm para F, 100 μm para D y 40 μm para C, E.

MICROGRAFÍA CUANTITATIVA COMPARATIVA DE ESPECIES DE *ILEX* Y ADULTERANTES NO CONGENÉRICOS

Las especies de *Ilex* pueden ser diferenciadas de sus adulterantes no congénéricos *Mangifera indica* y *Ligustrum lucidum*, no sólo por sus caracteres morfológicos sino primordialmente por sus parámetros micrográficos, los que se muestran en la Tabla III.3.

Del análisis de la misma se desprende que:

- ❖ *I. paraguariensis* se puede diferenciar de *I. dumosa* y sus adulterantes por el número de estomas de la epidermis inferior (32 ± 4), el índice de estomas, la relación de empalizada y el número de terminales de nerviación e islotes venosos.
- ❖ *Ilex dumosa* se diferencia de sus adulterantes, primordialmente por la relación de empalizada y número de islotes venosos y terminales de nerviación.
- ❖ El mayor valor de terminales de nerviación y relación de empalizada lo presenta *Mangifera indica* ($54,50 \pm 2,30$ y $5,50 \pm 0,25$ respectivamente).
- ❖ El menor valor de la relación de empalizada lo presenta *Ligustrum lucidum* ($1,50 \pm 0,50$).

Taxones	NEes	NEei	IEes	IEei	Remp	NI	NTN
<i>Ilex paraguariensis</i>	0	32 ± 4	0	7,02 (11) 13,95	3,50 ± 1	4,16 ± 1,58	12,33 ± 1,88
<i>Ilex dumosa</i>	0	15 ± 3	0	9,16 (10,05) 18,95	4,20 ± 1	0,16 ± 0,05	6,33 ± 0,88
<i>Ligustrum lucidum</i>	0	16,60 ± 1,10	0	9,32 (9,80) 10,28	1,50 ± 0,50	0,60 ± 0,50	23,80 ± 1,70
<i>Mangifera indica</i>	0	17 ± 6	0	13,20 (12) 10,80	5,50 ± 0,25	2,60 ± 0,80	54,50 ± 2,30

Tabla III.3. Parámetros comparativos de micrografía cuantitativa de especies de *Ilex* y adulterantes no congénicos

Por ello, se puede concluir que la micrografía cuantitativa es de gran valor para el control de calidad de la yerba mate e *Ilex dumosa*, primordialmente cuando las mismas no pueden identificarse por sus caracteres morfo-anatómicos o cuando éstas se hallan reducidas a una granulometría muy pequeña (en polvo o finamente molturadas) en muestras comerciales “en saquitos”.

Estos parámetros son comunicados por primera vez en este trabajo tanto para ambas especies de *Ilex* como para sus adulterantes no congénicos.

RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS

1. EXTRACTO ACUOSO

a. Droga cruda

Los resultados obtenidos por aplicación del método IRAM 20510 en ambas especies se muestran en la Tabla III.4. No se presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$), y los valores hallados son coincidentes con los publicados por otros autores tanto para *Ilex paraguariensis* (Avanza *et al.* 1981, Bertoni *et al.* 1992, Ramallo 1997) como para *I. dumosa* (Mutinelli 1988, Chaves *et al.* 2000).

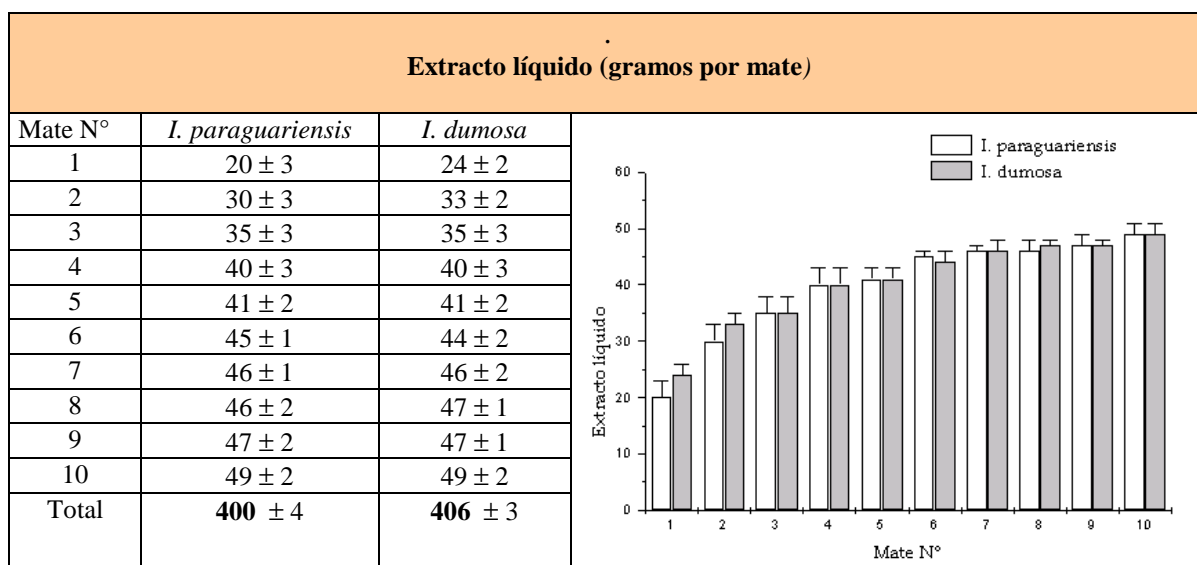
MUESTRA	<i>I. paraguariensis</i>	<i>I. dumosa</i>
EXTRACTO ACUOSO (% g/g mat.seca)	40,64 ± 0,81	39,81 ± 0,50

Tabla III. 4. Extracto acuoso en droga cruda

b.Cebaduras

Para esta forma de consumo, se presenta en primer lugar la cantidad de extracto líquido que se obtiene en la simulación. En la Tabla III.5 se observa que la cantidad de extracto líquido aumenta desde el mate n° 1 al n° 10, comportándose ambas especies de manera similar, ya que no presentan diferencias significativas en el valor total ($p < 0,05$).

Esto sugiere que los materiales, al ser de naturaleza vegetal, con el mismo procesamiento e idéntica granulometría, se humectan e hidratan de la misma forma.

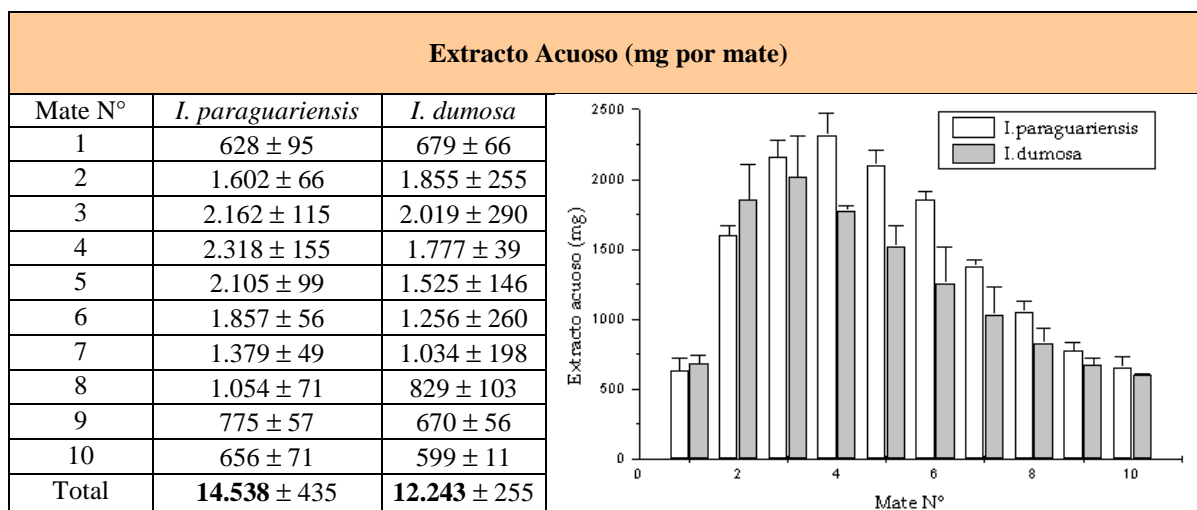


Porción de cebadura: 500ml en 50 g de droga cruda

Tabla III. 5. Extracto líquido por porción de cebadura

En segundo lugar, en la Tabla **III. 6** se muestran los valores obtenidos de extracto acuoso seco. Los perfiles de extracción guardan la misma forma general, comenzando con valores similares, aumentando hasta el mate n° 4 para *Ilex paraguariensis* y hasta el n° 3 para *I. dumosa*, presentándose luego una disminución gradual hasta el último mate. Sería posible continuar con la extracción y agotar los extractables con mayor volumen de agua (lo que popularmente se conoce como *lavado de la yerba o mate lavado*).

Los valores de extracto acuoso seco total obtenidos para ambas especies presentaron diferencias significativas para una $p < 0,05$. El extracto acuoso de la cebadura de *Ilex dumosa* representa un 84% del de *I. paraguariensis*.



Porción de cebadura: 50 g de droga cruda y 500ml de agua a 84°C

Tabla III. 6. Extracto acuoso por porción de cebadura

Por medio de la simulación de cebadura fue posible remover el 75% de los extractables totales de *Ilex paraguariensis* y el 65% de los de *I. dumosa*. El extracto acuoso de la cebadura de esta última representa un 84% del correspondiente a *I. paraguariensis*.

La cantidad de extracto acuoso obtenido en cebadura de *I. paraguariensis* es aproximada a los valores reportados por Ramallo *et al.* en 1997 (13.500mg) y Viera & Sabatella en 2011 (16.100mg), y aunque las condiciones de extracción fijadas por esos autores difieren entre sí y con las del presente trabajo, las cifras mencionadas se pueden considerar un antecedente válido de la simulación de cebaduras.

c. Mate cocido

En la Tabla III.7 se muestran los valores medios del extracto acuoso obtenido para la simulación de mate cocido de ambas especies, habiéndose encontrado diferencias significativas entre ellas para una $p < 0,05$.

<i>I. paraguariensis</i> (mg / 3 g material)	<i>I. dumosa</i> (mg / 3 g material)
Mate cocido	Mate cocido
877 ± 17	792 ± 14

Porción de mate cocido: 3 g de droga cruda en 200ml de agua de reciente hervor

Tabla III. 7. Extracto acuoso por porción de mate cocido

Por medio de la infusión, fue posible obtener el 76% del extracto total de *I. paraguariensis* y el 70% del correspondiente a *I. dumosa*. El extracto acuoso de *I. dumosa* bajo esta forma de consumo representó el 90 % del correspondiente a *I. paraguariensis*.

Simulando esta forma de consumo, Ramallo *et al.* (1997) informaron para *I. paraguariensis* 1.090 mg, para un tiempo de extracción de 6min.

En las dos formas de consumo se observa un comportamiento similar, pero cabe puntualizar que tiene lugar una menor remoción de extracto en *I. dumosa*.

2. CAFEÍNA

a. Droga cruda

El contenido de xantinas obtenido por HPLC en *Ilex paraguariensis* fue de 1,16-1,20 % de cafeína, 0,28-0,30% de teobromina, no detectándose presencia de teofilina. En el caso de *I. dumosa*, la única xantina detectada fue cafeína (0,14-0,16%). Al comparar los resultados obtenidos en ambas especies, se encontraron diferencias significativas para una $p < 0,05$.

En función de presentarse la cafeína como la única xantina detectable por HPLC en *I. dumosa*, se optó por aplicar el método AOAC 925-17 (AOAC 1990), que permitió alcanzar resultados similares.

Los valores obtenidos se presentan en la Tabla **III.8**, expresados en g de cafeína por cada 100 g de material.

<i>I. paraguariensis</i> humedad 4.29 (g H ₂ O %g de material)	<i>I. dumosa</i> humedad 7.04 (g H ₂ O %g de material)
1,119 ± 0,025	0,119 ± 0,003

Tabla III. 8. Cafeína en *Ilex paraguariensis* e *I. dumosa* por el método AOAC 925-17

En la actualidad, este método se encuentra en etapa de validación por parte del Subcomité Yerba Mate del Instituto Argentino de Normalización (Esquema A1 de la Norma IRAM 20513, julio de 2011).

Los resultados obtenidos en *I. paraguariensis* son coincidentes con los informados por otros autores, entre ellos Heck & Mejía (2007), que indican 1-2% de cafeína, y 0.3-0.9%. de teobromina. En cambio, para el caso de *I. dumosa* el valor resultó significativamente inferior al informado por Mutinelli en 1988, de 0,56% de cafeína. Además, nuestros resultados desdican los de Bertoni *et al.* (1993) y Filip *et al.* (1998), ya que en ambos casos se informó la total ausencia de cafeína en *I. dumosa*.

b. Cebaduras

Los perfiles de extracción de cafeína de las dos especies presentan diferencias significativas en magnitud, para una $p < 0,05$, aunque con semejanzas en la forma de la curva:

se registra un aumento hasta el mate 5 en *I. paraguariensis*, y un incremento hasta el 3° y 4° mate en *I. dumosa*, y una disminución gradual en las sucesivas extracciones. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla III.9.

En el caso de *I. paraguariensis* puede observarse que el contenido en cafeína del último mate permitiría continuar con la extracción. En *I. dumosa* el perfil es más bajo, e incluso los mates 3° y 4° muestran menor valor de cafeína que el mate 1° de *I. paraguariensis*. Es destacable que los tres primeros mates de *I. paraguariensis* suministran una cantidad de cafeína equivalente a la que aporta la totalidad de la cebadura de *I. dumosa*.

En nuestras condiciones experimentales, por medio de la cebadura es posible extraer el 63% de la cafeína presente en *I. paraguariensis* y el 85% de la cafeína presente en *I. dumosa*. Los resultados obtenidos permiten deducir que la cantidad de cafeína que aportan cinco cebaduras de *I. dumosa* equivale a una sola de *I. paraguariensis*.

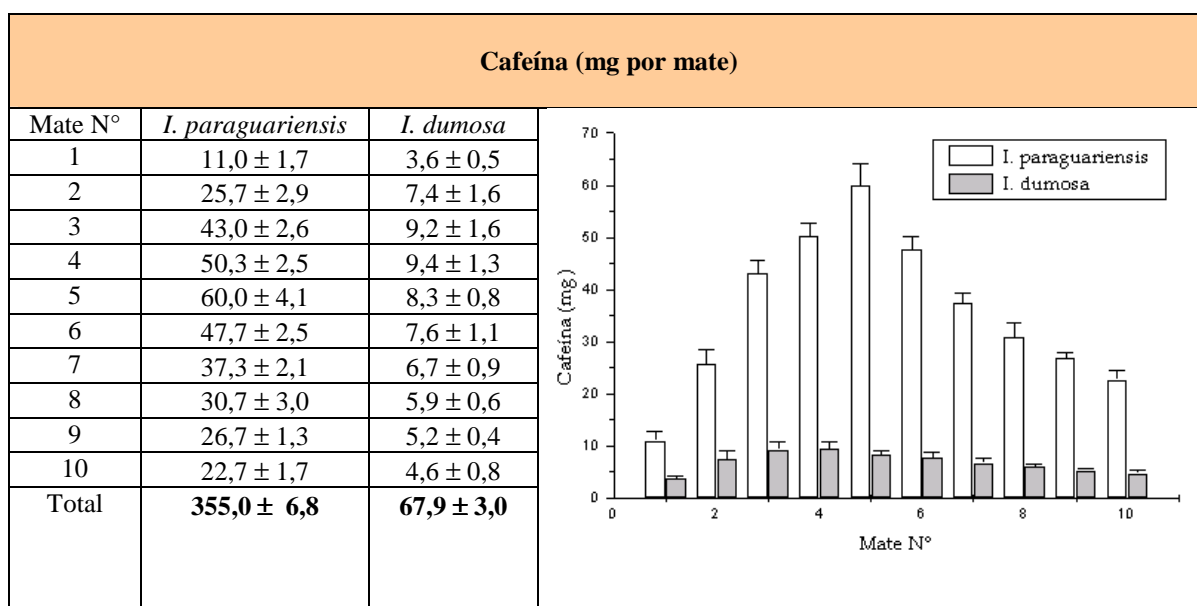


Tabla III. 9. Cafeína por porción de cebadura

Los resultados obtenidos en cebadura de *I. paraguariensis* son cercanos al valor reportado por Ramallo *et al.* en 1997 (425mg).

c. Mate cocido

Los resultados obtenidos en la simulación del mate cocido se presentan en la Tabla III.10. Las diferencias obtenidas resultaron significativas para una $p < 0,05$.

<i>I. paraguariensis</i> (mg / 3 g material)	<i>I. dumosa</i> (mg / 3 g material)
31,12 ± 0,80	3,41 ± 0,08

Tabla III.10. Cafeína por porción de mate cocido

Al relacionar los valores obtenidos con los contenidos totales para 3g de muestra (una porción) se concluye que la extractabilidad bajo la forma de mate cocido es similar en las dos especies (93% en *I. paraguariensis* vs. 95% en *I. dumosa*).

Se infiere también que es necesaria la ingesta de 9 porciones de mate cocido de *I. dumosa* para alcanzar la misma cantidad de cafeína que aporta una sola porción de *I. paraguariensis*.

A los fines comparativos, se cuenta con información escasa, ya que Ramallo *et al.* (1998) informaron 34,5mg por porción de mate cocido (3g) de *I. paraguariensis*, con un tiempo de infusión de 6min, a lo cual se asemejan los valores hallados en nuestras experiencias, mientras que Berté *et al.* (2011) reportó 18,5mg de cafeína/g de mate cocido soluble (tipo brasileño, es decir *chá mate*), con lo cual esta última resulta poco comparable.

3. ÁCIDOS CLOROGÉNICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

A través del análisis de ácidos clorogénicos y de la evaluación de su actividad antioxidante, se logró una serie de resultados de interés en diverso material (droga cruda, cebadura y mate cocido) de ambas especies de *Ilex* en estudio.

Otro aspecto de importancia es la relación existente entre el pardeamiento enzimático y los ácidos clorogénicos, tópico que será desarrollado al estudiar las condiciones de almacenamiento en playa de recepción de hoja (cf. Resultados de simulación de los métodos industriales: 1.Almacenamiento en playa).

a. Droga cruda

Teniendo en cuenta que las sustancias de naturaleza fenólica constituyen el grupo funcional con propiedades antioxidantes más importante, en las dos especies en estudio se

determinó la concentración de ácidos clorogénicos. Así, se calculó la cantidad de ácidos clorogénicos equivalentes, que determinan en gran medida la actividad antioxidante (AAO) del material. En la Tabla **III.11** se presentan los valores obtenidos, hallándose entre las dos especies diferencias significativas, a una $p < 0,05$.

La concentración de fenoles totales y de ácidos clorogénicos es considerablemente mayor en *I. paraguariensis*: casi dos veces mayor en fenoles totales y dos veces y media más alta para los ácidos clorogénicos, mientras que también la AAO de *I. paraguariensis* supera en casi tres veces la de *I. dumosa*.

	<i>I. paraguariensis</i>	<i>I. dumosa</i>	Relación IP/ID
Fenoles totales (mg.g ⁻¹)	187,8 ± 27,9	98,9 ± 3,4	1,9
Ácidos Clorogénicos (mg.g ⁻¹)	147,3 ± 5,7	55,7 ± 3,2	2,6
Actividad antioxidante (mg ác. Clorogénico equiv./g de material)	184,8 ± 12,0	59,2 ± 4,8	2,8

Tabla III.11. Fenoles totales, Ácidos clorogénicos y AAO correspondientes a droga cruda

A través de estos resultados se concluye que la AAO de ambas especies se ve fuertemente influenciada por el contenido de ácidos clorogénicos, ya que éstos representan casi el 80% de los fenoles totales hallados en *I. paraguariensis*, y el 56% de los correspondientes a *I. dumosa*.

Hartwig *et al.* (2011) informan para hojas de *Ilex paraguariensis* procesadas, entre 12,86 y 15,34g%g en base seca, expresado como ácido clorogénico equivalente, valores algo inferiores a los obtenidos durante nuestro trabajo (entre 17,3 y 19,7g%g). Otros autores expresan la AAO en mg de ácido gálico o de ácido ascórbico equivalentes, razón por la cual no es posible establecer comparaciones directas con nuestros resultados.

b. Cebaduras

Los resultados de las determinaciones de ácidos clorogénicos para la simulación de la cebadura se presentan en la Tabla **III.12**, expresados en mg de ácidos clorogénicos por mate,

mientras que los correspondientes a la AAO se presentan en la Tabla III.13 y se expresan en mg de ácido clorogénico equivalente por mate.

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los perfiles de extracción de ambas especies, tanto para los ácidos clorogénicos como para la AAO.

Del análisis de las Tablas precedentes se desprende que los perfiles de extracción de los ácidos clorogénicos y la actividad antioxidante en ambas especies, guardan correlación en la forma, siendo que la cantidad de ácidos clorogénicos extractables y la actividad antioxidante en *I. paraguariensis* duplica a las de *I. dumosa*, mostrando un comportamiento similar a lo que ocurre en droga cruda.

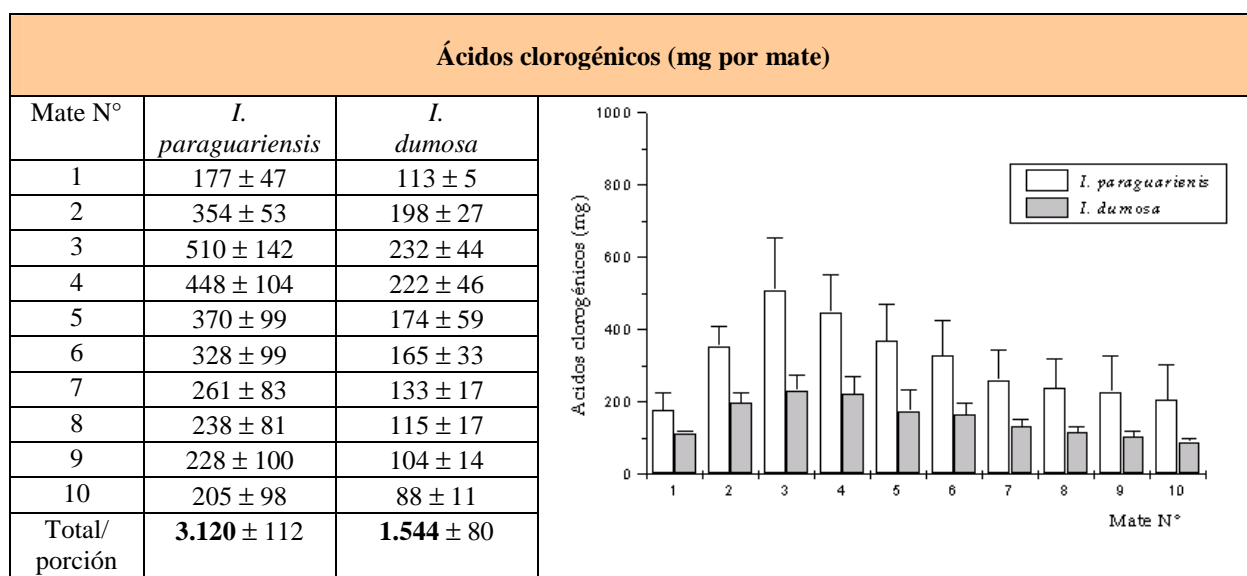


Tabla III. 12. Ácidos clorogénicos por porción de cebadura

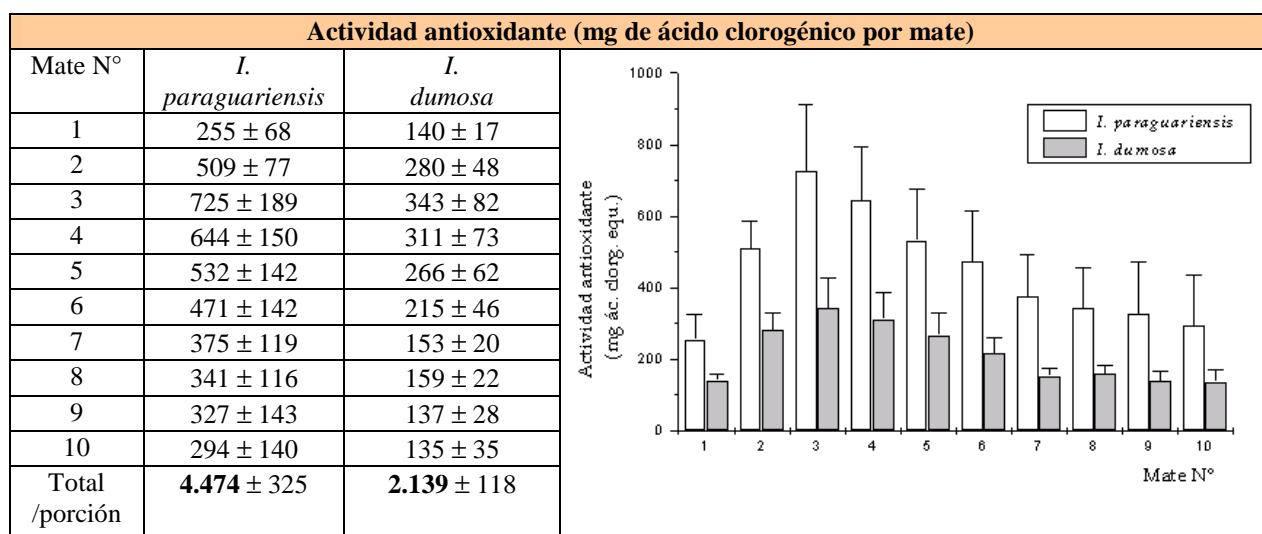


Tabla III.13. Actividad antioxidante por porción de cebadura

En las condiciones de extracción, la simulación de la cebadura permite obtener el 42% de los ácidos clorogénicos en *Ilex paraguariensis* y el 56% de los presentes en *I. dumosa*, respecto a los valores hallados para droga cruda. Por otra parte, los seis primeros mates extraen entre el 70 y el 71,5% de los ácidos clorogénicos por porción total de cebadura en ambas especies, con la salvedad que el primer mate extrae menos que el 7° mate.

En términos de actividad antioxidante, con la cebadura de *I. paraguariensis* se obtiene el 54% del ácido clorogénico equivalente respecto a droga cruda, mientras que en la de *I. dumosa* el porcentaje se eleva al 72%. Los valores obtenidos en la simulación de cebaduras en ambas especies son coincidentes con los obtenidos por Chaves *et al.* (2000, 2002).

c. Mate cocido

Para esta forma de consumo los resultados se presentan en la Tabla III.14.

	<i>Ilex paraguariensis</i>	<i>Ilex dumosa</i>
Ácidos clorogénicos (mg ácido clorogénico /3 g material)	293,1 ± 19,5	125,4 ± 6,3
Actividad antioxidante (mg ác. clorogénico equivalente /3 g material)	454,8 ± 43,4	164,4 ± 11,7

Tabla III. 14. Ácidos clorogénicos y actividad antioxidante por porción de mate cocido

En las condiciones de simulación, el mate cocido permite extraer el 66% de los ácidos clorogénicos presentes en *Ilex paraguariensis* y el 74% de los correspondientes a *Ilex dumosa*, respecto a droga cruda. Estas diferencias resultan ser significativas entre las dos especies ($p < 0,05$).

Por otra parte, la porción de mate cocido representa el 92% de la AAO en ambas especies respecto a droga cruda. Un hecho significativo es que la AAO de una porción de mate cocido de *I. paraguariensis* supera a la de una muestra de “té verde” (entre 288 y 325 mg de ácido clorogénico equivalente/porción) y la de *I. dumosa* supera a la correspondiente a “té negro” (entre 90 y 122 mg de ácido clorogénico equivalente/porción; Chaves *et al.* 2000, 2002). Por su parte, Berté *et al.* (2011) han hallado 91,4 mg/g de ác. 5-cafeoilquínico, uno de los isómeros del ácido clorogénico, en mate cocido soluble.

6. MINERALES (MACRO Y MICROELEMENTOS)

6.1. Cenizas

a. Contenido de cenizas en droga cruda

El contenido total de cenizas de las muestras analizadas, obtenido según la metodología expresada en el Capítulo II, apartado 3.4.1, expresados en gramos por cada 100g de materia seca, se presenta en la Tabla **III.15**.

MUESTRA	<i>I. paraguariensis</i>	<i>I. dumosa</i>
CENIZAS TOTALES (g% g materia seca)	6,59 ± 0,12	5,64 ± 0,03

Tabla III. 15. Contenido total de cenizas

En este aspecto, las diferencias entre las especies resultaron significativas para una $p < 0,05$. En cuanto a las hojas de *I. paraguariensis*, los resultados obtenidos son similares a los reportados por Leprevost en 1987 (6,7% en base seca) y Bertoni *et al.* en 1993 (6,5% en base seca), y caen dentro de las previsiones del Código Alimentario Argentino (CAA 2001, Maiocchi *et al.* 2010, 2011b). Por su parte, las de *Ilex dumosa* mostraron mayor valor que los informados por Bertoni *et al.* en 1993 (5,07% en base seca) y Mutinelli en 1988 (4%), superándolos entre 10 y 20% respectivamente.

b. Contenido de cenizas en cebadura

Los resultados de la simulación de cebaduras se consignan en la Tabla **III.16**, y están expresados en mg por mate.

Las diferencias entre las especies resultaron significativas para una $p < 0,05$, mientras que los perfiles de extracción de cenizas se comportan de manera similar en ambas especies en cuanto a la forma de la curva, que aumenta hasta el mate n° 3 y luego disminuye gradualmente. El contenido de cenizas en la cebadura de *I. paraguariensis* es 1,2 veces mayor que en *I. dumosa*.

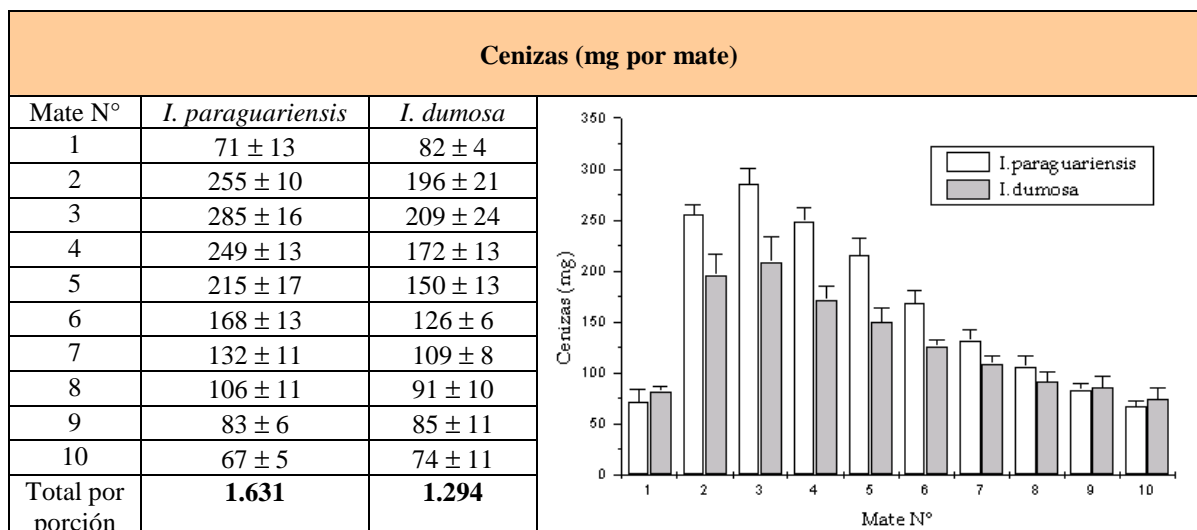


Tabla III.16. Cenizas por porción de cebadura

El valor reportado para *I. paraguariensis* en simulación de cebadura (Ramallo *et al.* 1997) osciló entre 2.860 y 3.600mg%g en base seca, mientras que nuestros ensayos resultan coincidentes con el límite superior indicado), y caen dentro de las previsiones del Código Alimentario Argentino (CAA 2001, Maiocchi *et al.* 2010, 2011b).

c. Contenido de cenizas en mate cocido

Los resultados obtenidos en la simulación de mate cocido, expresado en mg por porción, se presentan en la Tabla III.17, encontrándose diferencias significativas entre las cenizas contenidas en mate cocido las dos especies ($p < 0,05$). El aporte de los distintos minerales en la forma de óxidos es 1,4 veces mayor en *I. paraguariensis* que en *I. dumosa*, lo que resulta coincidente con el contenido total de cenizas hallados en droga cruda (seca), y caen dentro de las previsiones del Código Alimentario Argentino (CAA 2001, Maiocchi *et al.* 2010, 2011b).

<i>I. paraguariensis</i> (mg / 3 g material)	<i>I. dumosa</i> (mg / 3 g material)
106 ± 2	77 ± 1

Tabla III. 17. Cenizas por porción de mate cocido

Simulando esta forma de consumo, Ramallo *et al.* (1997) informaron para *Ilex paraguariensis* 103mg de cenizas totales, un valor muy próximo al obtenido durante el presente trabajo (104-108mg/porción).

6.2. Minerales

La composición elemental de droga cruda y de los extractos acuosos realizados mediante las simulaciones correspondientes a cebadura y mate cocido fue obtenida por aplicación de las técnicas de ICP-AES (Capítulo II, apartado 3.4.1).

a. Contenido mineral total en droga cruda

El contenido de minerales expresados en $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de droga cruda, se presenta en la Tabla III.18. Exceptuando al Fe, en todas las determinaciones se obtuvieron diferencias significativas a un nivel de probabilidad $p < 0,05$.

Analito	<i>I. paraguariensis</i> (mg / g material)	<i>I. dumosa</i> (mg / g material)
Na	0,067 ± 0,003	0,043 ± 0,007
K	16,88 ± 0,32	8,40 ± 0,25
Ca	8,36 ± 0,18	6,13 ± 0,67
Mg	7,16 ± 0,08	4,44 ± 0,18
Fe	0,047 ± 0,007	0,050 ± 0,003
Mn	0,60 ± 0,02	0,54 ± 0,03
Cobre	0,0056 ± 0,0003	0,010 ± 0,001
Zn	0,043 ± 0,003	0,503 ± 0,003

Tabla III. 18. Contenido total de minerales

El orden de abundancia de los macroelementos en ambas especies es coincidente: $\text{K} > \text{Ca} > \text{Mg} > \text{Na}$, siendo en todos los casos mayor el contenido en *I. paraguariensis* que en *I. dumosa*. Se destaca el escaso contenido de Na en ambas especies.

De los llamados microelementos, el orden es $\text{Mn} > \text{Fe} > \text{Zn} > \text{Cu}$, con contenidos similares en ambas especies. *I. dumosa* es diez veces más rica en Zn y dos veces más en Cu. El contenido de Fe es bajo en las dos especies, con valores muy próximos (seca), y caen dentro de las previsiones del Código Alimentario Argentino (CAA 2001, Maiocchi *et al.* 2010, 2011b).

El orden de abundancia de macro- y micronutrientes obtenido durante este trabajo resulta coincidente con lo informado para yerba mate por Tenorio Sanz & Torrija Isasa

(1991), que expresados en mg/g son los siguientes: Na 0,17; K 9,71; Ca 7,24; Mg 4,14; Fe 0,036; Mn 0,86; Cu 0,01 y Zn 0,09.

b. Contenido mineral en cebadura

El contenido de 8 minerales, obtenidos en la simulación de cebaduras, se presenta en las Tablas **III.19** (Na), **III.20** (K), **III.21** (Ca), **III.22** (Mg), **III.23** (Fe), **III.24** (Mn), **III.25** (Cobre) y **III.26** (Zn), expresando en cada una los resultados en mg por mate y por porción. Los correspondientes perfiles acompañan a las mismas. Los resultados presentan diferencias significativas entre ambas especies, con una $p < 0,05$.

Sodio

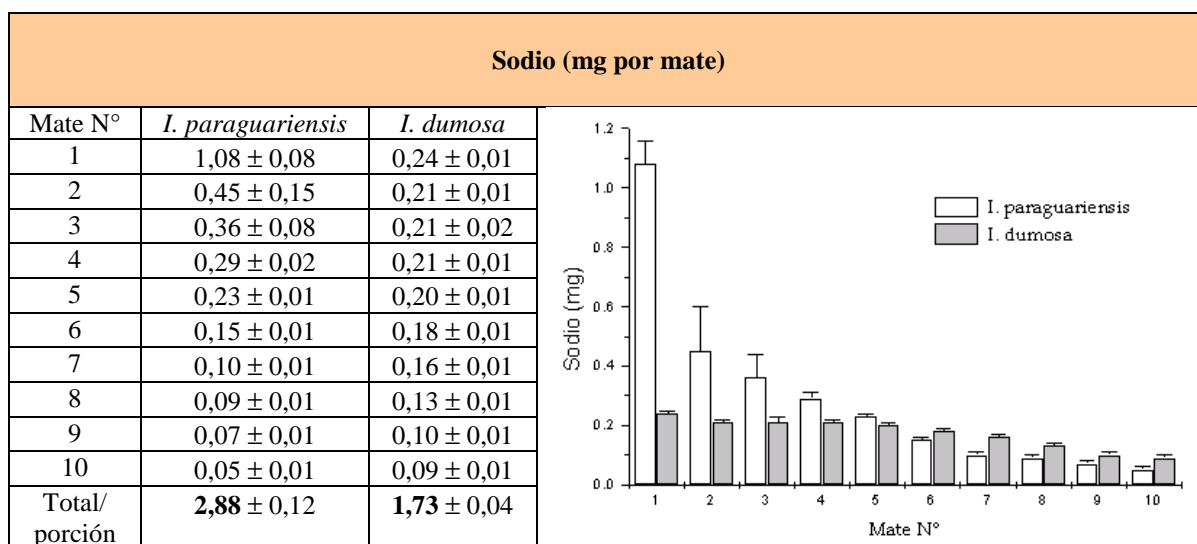


Tabla III. 19. Sodio por porción de cebadura

Los perfiles de extracción de Na en las cebaduras de las dos especies (Tabla **III.19**) difieren notablemente en magnitud, y la distribución por mate no guarda una relación directa. En ambas especies el primer mate muestra mayor concentración de este mineral.

En *I. paraguariensis* la máxima extracción de Na ocurre en el primer mate, con el 37% del total de Na obtenido por porción de cebadura; a partir del mate n° 2 (15% del total) tiene lugar una disminución gradual. En el caso de *I. dumosa*, si bien el primer mate es el de mayor contenido (con aproximadamente el 14% del total de Na de la porción de cebadura), los mates subsiguientes van disminuyendo su concentración de Na en forma paulatina, y mucho menos

marcada que en *I. paraguariensis*, al punto tal que desde el mate n° 6 la cebadura de *I. dumosa* rinde más concentración de Na que los mates correspondientes de yerba mate.

El contenido de Na total de las cebaduras de ambas especies es considerado bajo; sin embargo, es destacable que el correspondiente a *I. paraguariensis* es 1,63 veces mayor que el de *I. dumosa*. Por otra parte, los tres primeros mates de *I. paraguariensis* suministran el total de Na que aporta una porción de cebadura completa de *I. dumosa* (seca), y caen dentro de las previsiones del Código Alimentario Argentino (CAA 2001, Maiocchi *et al.* 2010, 2011b).

Potasio

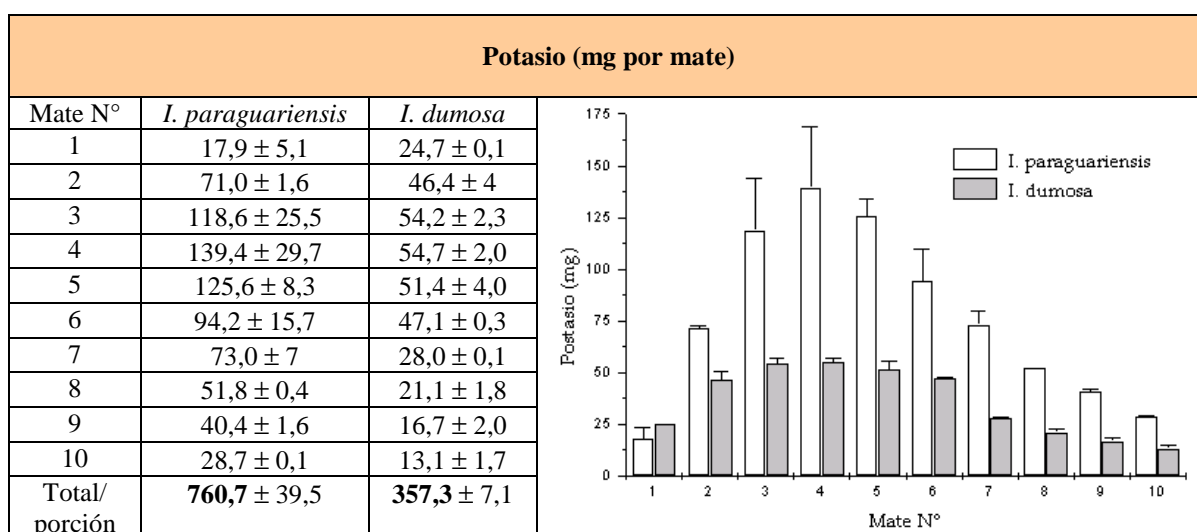


Tabla III.20. Potasio por porción de cebadura

Los perfiles de extracción de K de ambas especies (Tabla III.20) son semejantes en su forma pero difieren notablemente en magnitud. La cebadura de *I. paraguariensis* aporta prácticamente el doble del K que la de *I. dumosa*. Los cuatro primeros mates de *I. paraguariensis* aportan el total del K que correspondería a una porción de cebadura completa de *I. dumosa*.

Calcio

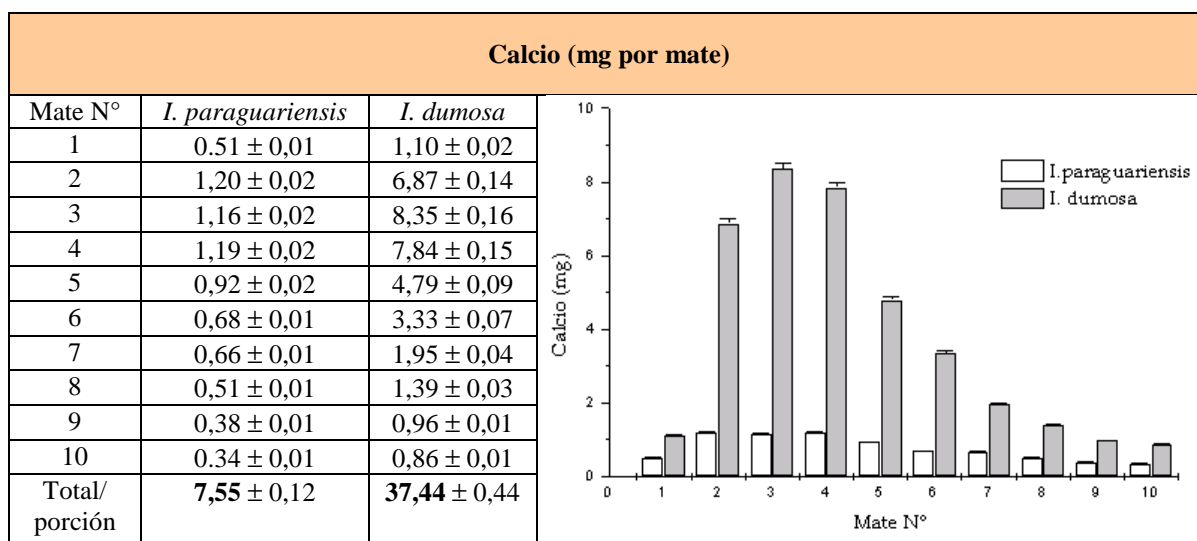


Tabla III.21. Calcio por porción de cebadura

Los perfiles de extracción guardan relación en la forma, pero difieren en magnitud. La cebadura de *I. dumosa* muestra una mayor riqueza en Ca, al punto tal que la cantidad total de este elemento que se extrae de dicha especie prácticamente quintuplica a la que se obtiene con la cebadura de *I. paraguariensis*. Los dos primeros mates de *I. dumosa* aportan el total de Ca de la porción de cebadura completa de *I. paraguariensis*.

Magnesio

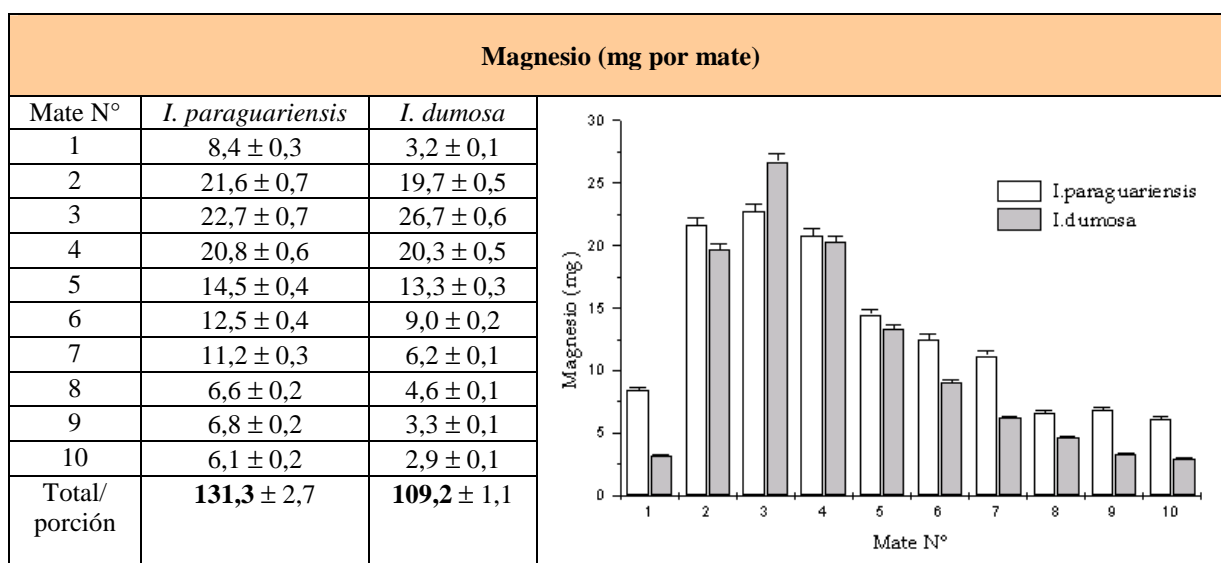


Tabla III. 22. Magnesio por porción de cebadura

Los perfiles de extracción de Mg de ambas especies guardan una relación directa, tanto en forma como en proporción, con cantidades similares de extracción total, aunque la de *I. dumosa* representa el 83% de la obtenida de *I. paraguariensis*.

La mayor extractabilidad de Mg se produce entre los mates n° 2 al 4, a los que corresponde el 50% del Mg extraído por porción de cebadura de *I. paraguariensis* y el 61% del correspondiente a *I. dumosa*.

En el mate n° 3 de *I. dumosa* se registra un pronunciado aumento en la extracción de Mg, superando en ese único momento al obtenido de *I. paraguariensis*.

Hierro

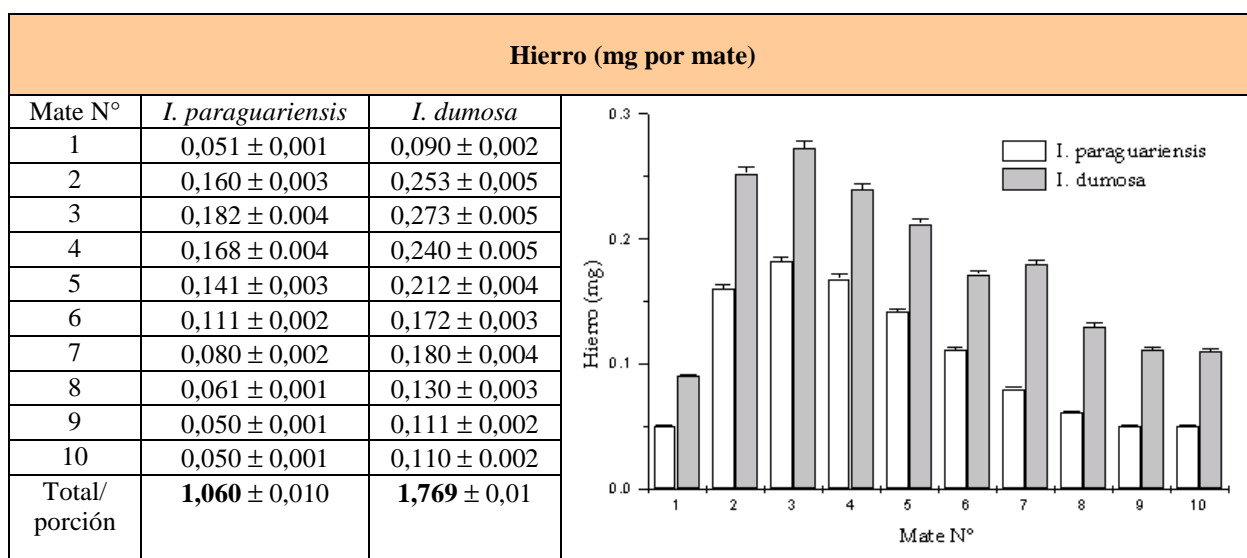


Tabla III. 23. Hierro por porción de cebadura

Los perfiles de extracción de Fe resultaron similares en la forma, pero durante todo el perfil *I. dumosa* superó en la extracción de Fe a *I. paraguariensis*. En las condiciones de trabajo, la cebadura de *I. dumosa* aportó un 70% más de Fe que la de yerba mate.

Manganeso

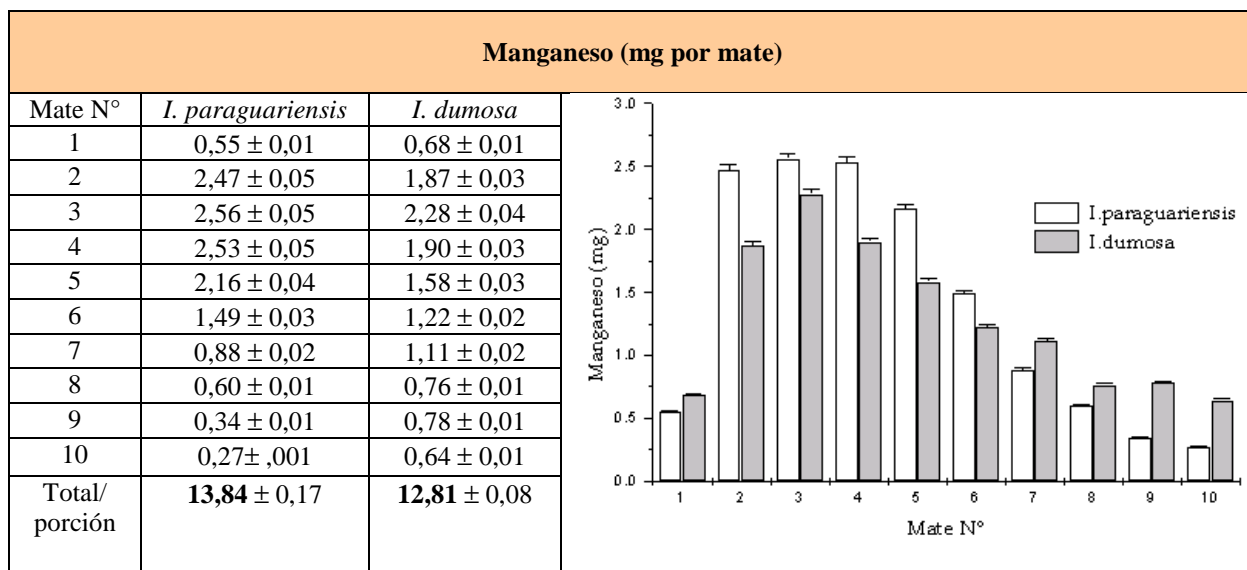


Tabla III. 24. Manganeso por porción de cebadura

Los perfiles de extracción de Mn son similares en forma y magnitud. La cantidad total de Mn obtenida en “yerba mate” supera en un 8 % a la correspondiente a *I. dumosa*.

Cobre

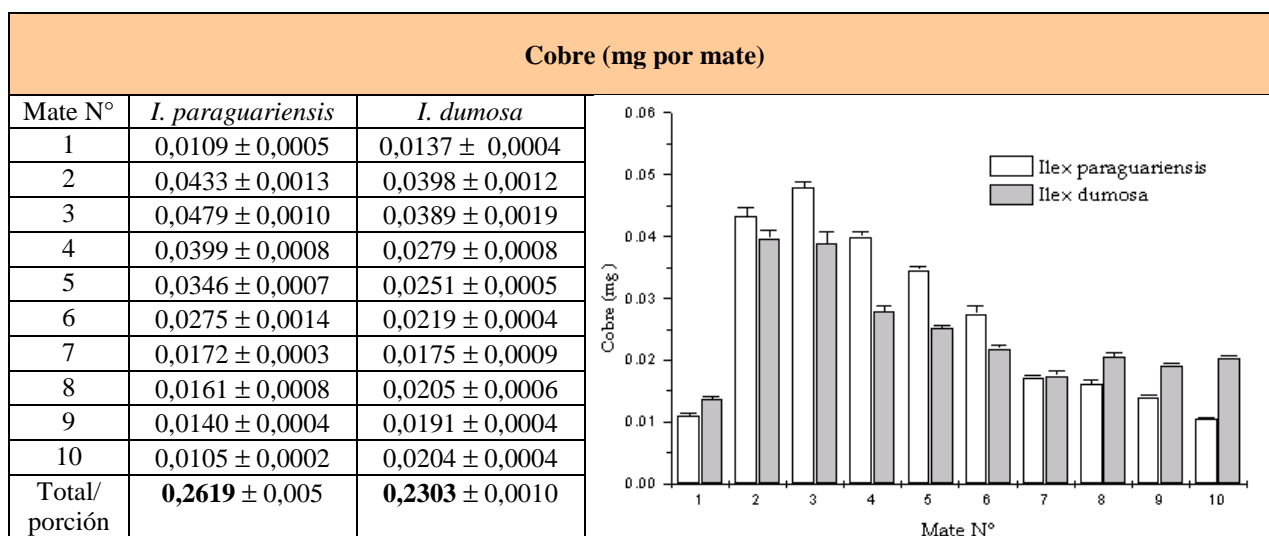


Tabla III. 25. Cobre por porción de cebadura

Los perfiles de extracción de Cu son similares en forma y magnitud. La cantidad total de Cu obtenida en “yerba mate” supera en un 7 % a la correspondiente e *I. dumosa*.

Los perfiles de extracción de Zn son similares en la forma, pero en cada mate el contenido en *I. dumosa* resulta muy superior al de *I. paraguariensis*. Los dos primeros mates de *I. dumosa* aportan la totalidad de Zn que aporta la cebadura total de *I. paraguariensis*. En las condiciones de extracción, la cebadura de *I. dumosa* aporta 6 veces más Zn que la de “yerba mate”.

Zinc

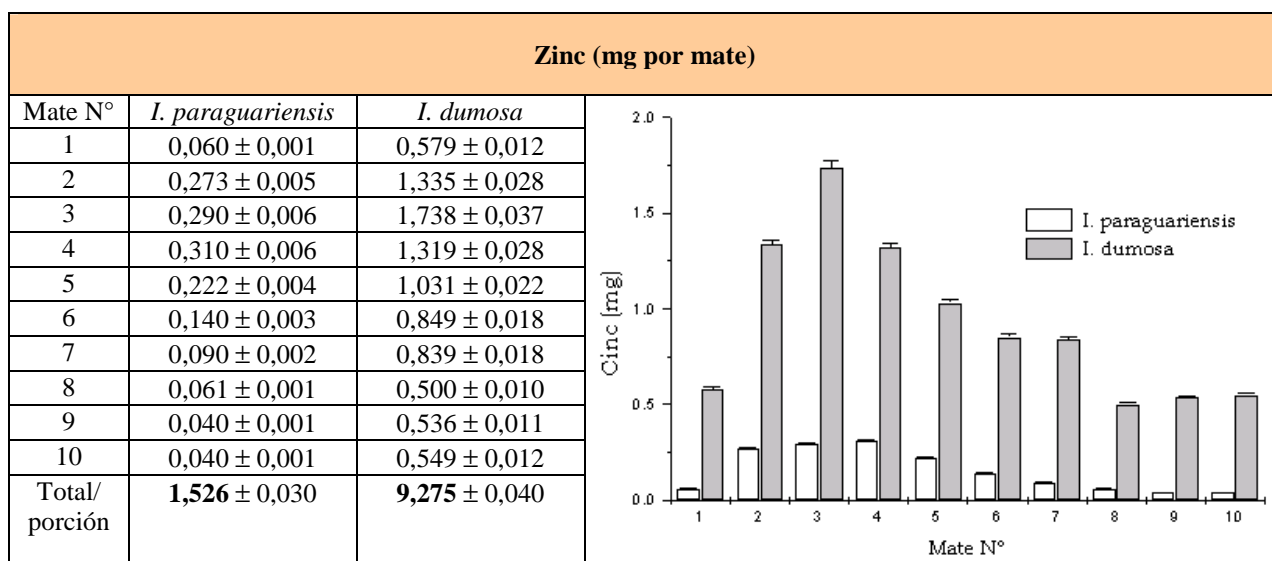


Tabla III. 26. Zinc por porción de cebadura

Concentración de minerales y extractabilidad

La extracción de los minerales estudiados mediante cebadura es variable, agrupándose en tres conjuntos: con alta extractabilidad (>70%), en ambas especies Na, K y Cu, en *I. dumosa* Fe y en *I. paraguariensis* Zn; con mediana extractabilidad (entre 35 y 50%), en ambas especies Mg y Mn, en *I. dumosa* Zn y en *I. paraguariensis* Fe; y con bajos valores de extractabilidad (<12%) el Ca, en ambas especies.

Los resultados reportados por Ramallo *et al.* (1997) para simulación de cebadura de *I. paraguariensis* expresados en mg%g son: Na 14,04; K 100,59; Ca 80,94; Mg 58,58 y Fe 2,22. Se trata del mismo orden de abundancia que se obtuvo en este trabajo pero con valores significativamente diferentes, a excepción del caso del Cu. Los autores citados trabajaron con 100 g de yerba mate comercial por litro de agua a 70°C. Delfino (1990) informó los perfiles de extracción de Fe y Mn en cebadura, con resultados similares a los obtenidos en este trabajo.

En la Tabla III.27 se resumen los contenidos de minerales en la simulación de cebadura, expresados en mg por porción (50g de droga cruda en 500ml). Se incluye entre paréntesis la extractabilidad bajo esta forma de consumo expresada en % (mg aportados por porción de cebadura/mg presentes en 50g de droga cruda).

Analito	<i>I. paraguariensis</i> (mg/porción) (% de extractabilidad)	<i>I. dumosa</i> (mg/porción) (% de extractabilidad)
Na	2,88 ± 0,12 (85%)	1,73 ± 0,04 (80%)
K	760,7 ± 39,5 (90%)	357,3 ± 7,1 (85 %)
Ca	7,55 ± 0,12 (1,8%)	37,44 ± 0,44 (12%)
Mg	131,3 ± 2,7 (37 %)	109,2 ± 1,1 (50%)
Fe	1,060 ± 0,01 (45 %)	1,769 ± 0,01 (70%)
Mn	13,84 ± 0,17 (46%)	12,81 ± 0,08 (47%)
Cu	0,218 ± 0,005 (89%)	0,232 ± 0,001 (88%)
Zn	1,526 ± 0,03 (70%)	9,275 ± 0.040 (37%)

Tabla III.27. Contenido de Minerales por porción y Extractabilidad en cebadura

c. Mate cocido:

Los resultados obtenidos en la simulación de mate cocido se presentan en la Tabla III.28, expresados en mg por porción (3g en 200ml). Se incluye entre paréntesis la extractabilidad bajo esta forma de consumo expresada en % (mg aportado por porción/mg presentes en 3 g de droga cruda).

Analito	<i>I. paraguariensis</i> (mg / 3 g material)	<i>I. dumosa</i> (mg / 3 g material)
Na	5,76 ± 0,01 (86 %)	3,46 ± 0,02 (80 %)
K	46,08 ± 1,01 (91%)	22,39 ± 0,67 (89 %)
Ca	1,23 ± 0,01 (5 %)	2,21 ± 0,02 (12 %)
Mg	8,33 ± 0,27 (39 %)	6,90 ± 0,16 (52 %)
Fe	0,07 ± 0,01 (50 %)	0,09 ± 0,01 (60%)
Mn	0,92 ± 0,05 (51 %)	1,22 ± 0,08 (75 %)
Cu	0,013 ± 0,001 (93 %)	0,012 ± 0,001 (40 %)
Zn	0,06 ± 0,01 (46 %)	0,36 ± 0.01 (24 %)

Tabla III. 28. Minerales por porción de mate cocido

Los resultados obtenidos para ambas especies muestran diferencias significativas ($p < 0,05$), y en general se ajustan al comportamiento observado en las cebaduras, excepto en el caso del Mn para el cual el aporte de *I. dumosa* supera en un 30 % al de “yerba mate”. Las cantidades de Mg y Cu son similares para las dos especies. *I. dumosa* presenta mayores aportes de Ca, Fe y sobre todo Zn (este último sextuplica el valor de la porción de mate cocido de *I. paraguariensis*). El aporte de Na y K en mate cocido de *I. paraguariensis* resulta superior al de *I. dumosa*.

En referencia a las cantidades extraídas bajo esta forma de consumo, se obtiene una alta proporción (entre 80 y 90%) del Na y K presentes en ambas especies; para el Ca, Mg, Fe y Mn es mayor la extracción en *I. dumosa* respecto a *I. paraguariensis* (12 y 5%; 52 y 39%; 60 y 50%; y 75 y 51%, respectivamente); y finalmente la remoción de Cu y Zn es superior en *I. paraguariensis* respecto a *I. dumosa* (93 y 40%; y 46 y 24% respectivamente).

En condiciones semejantes de operación, para *I. paraguariensis* Ramallo *et al.* (1997) informaron el siguiente contenido de minerales por porción: Na 0,74; K 2,70; Ca 2,91; Mg 2,36 y Fe 0,07; estos valores resultan sensiblemente menores que los hallados en nuestro estudio, salvo el Fe, que coincide exactamente. Por su parte, Tenorio Sanz & Torrija Isasa (1991) reportaron los siguientes resultados, en mg por taza: Na 0,30; K 11,80; Ca 1,39; Mg 3,23; Fe 0,07; Mn 0,67, Cu 0,019 y Zn 0,084; exceptuando los valores de Na y K, que son sensiblemente menores, los demás resultados están en el orden de los obtenidos en nuestros estudios.

6. SAPONINAS

Los resultados correspondientes a cinco extracciones realizadas en los materiales procesados en forma industrial, correspondientes a las dos especies en estudio, se presentan en la Tabla III.29. Los mismos están expresados en gramos, incluyendo el promedio y el % correspondiente en base a la cantidad inicial utilizada (40 g).

Por su solubilidad, la fracción bruta de saponinas es obtenida en el extracto butanólico, el que no registró diferencias significativas entre *I. paraguariensis* e *I. dumosa*. Del análisis de los demás valores de la tabla se desprende que sólo los extractos clorofórmicos y de acetato de etilo presentaron diferencias interespecíficas significativas ($p < 0,05$).

Con la fracción obtenida mediante la extracción butanólica se realizó el ensayo de persistencia de espuma. Las dos muestras presentaron abundante formación de espuma, siendo más persistente la correspondiente a *I. dumosa*. Una hora después de iniciado el ensayo, la espuma de “yerba mate” había disminuido considerablemente, mientras que la de *I. dumosa* no presentó cambios. Luego de 20h, la espuma en *I. paraguariensis* había desaparecido por completo, observándose aún claramente la correspondiente a *I. dumosa* (Maiocchi & Avanza 1997, Maiocchi *et al.* 2011 b).

Ensayos	Extractos				
	etanólico	clorofórmico	acetato de etilo	butanólico	acuoso
<i>Ilex paraguariensis</i>					
1	15,09	3,25	1,48	4,79	3,78
2	14,95	3,05	1,50	3,78	4,69
3	16,69	3,24	1,29	3,96	4,46
4	16,08	3,82	1,09	4,12	4,45
5	15,50	3,65	1,16	3,87	4,37
Promedio	15,66 ± 0,72	3,40 ± 0,32	1,30 ± 0,18	4,10 ± 0,40	4,35 ± 0,34
% Extracto total	39,3 %	8,5%	3,2%	10,2%	10,9%
<i>I. dumosa</i>					
1	16,35	4,47	0,38	5,77	3,12
2	15,63	5,50	0,34	3,74	3,12
3	15,83	4,94	0,64	3,96	4,48
4	15,09	4,08	0,54	4,64	5,74
5	15,26	4,89	0,59	4,29	4,79
Promedio	15,63 ± 0,50	4,78 ± 0,53	0,50 ± 0,13	4,48 ± 0,80	4,25 ± 1,13
% Extracto total	39,1 %	12 %	1,3 %	11,2 %	10,6

Tabla III. 29. Extractos de *Ilex dumosa* e *I. paraguariensis* obtenidos con solventes de polaridad creciente

7. ACEITES ESENCIALES

En los ensayos con las dos especies en estudio se obtuvieron bajas concentraciones de aceites esenciales, ya que se trata de plantas no aromáticas. En efecto, los rendimientos fueron de 0,05% en *I. paraguariensis* y 0,02% en *I. dumosa*.

En la Tabla III.30 se presentan los componentes identificados, acompañados del tiempo de retención y el % de coincidencia con el patrón del banco de datos instrumental. Los componentes comunes a ambas entidades taxonómicas se indican con la celda sombreada.

N° referencia	Tiempo de retención (min)	Nombre del compuesto	<i>Ilex paraguariensis</i>	<i>I. dumosa</i>
			Porcentaje de coincidencia con el patrón instrumental	
1	2,62	<i>Furfural</i>	85	80
2	3,3	<i>3-hexén-1-ol</i>	91	
3	4,33	<i>5 metil -2-furanocarboxaldehído</i>		81
4	5,25	ácido 3-hexenoico	94	
5	5,55	<i>alcohol bencílico</i>	96	90
6	6,04	ácido 2-hexenoico	93	
7	6,18	<i>cis-linalóxido</i>	90	
8	6,8	<i>3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol (linalool)</i>	94	93
9	7,26	Alcohol feniletílico	95	
10	7,73	2-metil-1,3-ciclohexadieno	91	
11	7,83	1-ciclohexen-1-carboxaldehído		80
12	8,97	<i>α-terpineol</i>	91	91
13	9,19	1,3-ciclohexadien-1-carboxaldeído		98
14	10,44	<i>3,7-dimetil- 2,6-octadien-1-ol (geraniol)</i>	93	93
15	10,82	<i>3,7-dimetil-2,6-octadienal (geranial)</i>		96
16	11,38	1,2,3,4-tetrahidro-naftaleno		95
17	11,95	2-metoxi-4-vinilfenol	94	81
18	11,98	anhídrido ftálico	93	
19	12,93	1,2-dihidro-1,1,6-trimetilnaftaleno		97
20	13,05	<i>Eugenol</i>	96	
21	13,71	<i>2-buten-1-ona</i>	94	95
22	14,08	Vainillina	86	
23	14,39	3-buten-1-ona	98	98
24	14,84	Bencental	91	92
25	15,23	<i>6,10-dimetil -5,9-undecadien-2-ona</i>	83	90
26	15,69	2,5-ciclohexadién-1,4-diona	98	
27	16,26	2,6-dimetil-biciclo-(3.1.1)hept-2-eno	95	
28	16,18	<i>3-buten-2-ona</i>	96	91
29	17,12	<i>6,10-dimetil -3,5,9-undecatrien-2-ona</i>		86
30	17,39	5,6,7-trimetil-2(4H)-benzofuranona	97	96
31	17,9	3,7,11-trimetil -1,6,10-dodecanotrien-3-ol	93	
32	18,09	benzoato de 3-hexen-1-ol	90	
33	18,65	Hexadecano	98	
34	18,84	3,4-dihidro-1-(2H)naftalenona,	94	
35	19,39	Megastigmatrienona	98	98
36	19,57	3,7,11-trimetil -1-dodecanol	91	
37	19,75	2,6,10-trimetilpentadecano	94	
38	20,05	2-metilhexadecano	91	
39	20,37	2-ciclohexen-1-ona		90
40	20,55	2,4,4-trimetil-2-ciclohexén-1-ona,		94
41	20,82	4-ciclohexiliden-2-pentanona	83	
42	21,01	2,6,10,14-tetrametilpentadecano	96	
43	21,43	ácido 12-metiltridecanoico	96	
44	21,55	7-metil-6-trideceno	89	
45	21,64	1-hexadeceno	89	
46	22,37	ácido tetradecanoico	96	
47	22,39	benzoato de bencilo	90	
48	23,01	Octadecano	98	
49	23,95	<i>6,10,14 trimetil-2-pentadecanona</i>	96	99

50	24,64	1-nonadeceno	95	
51	25,04	Nonadecano	96	
52	25,44	6-metil -5,9,13-pentadecatrien-2-ona		81
53	25,68	ácido 14-metilpentadecanoico	98	
54	26,01	Isofitol	93	
55	26,31	di-n-butilftalato		96
56	26,71	ácido n-hexadecanoico	99	
57	26,97	éster etilhexadecanoico	98	
58	27,03	Eicosano	99	
59	27,61	3,7,11-trimetil-2,6,10-dodecatrien-1-ol	93	80
60	28,93	ácido 9,12,15-octadecatrienoico	99	
61	29,13	Fitol	96	
62	29,33	éster metiloctadecanoico	98	
63	29,48	ácido 9,12-octadecadienoico	97	
64	29,65	2-hidroxi-ciclopentadecanona	93	
65	29,97	éster etilnoleico	99	
66	30,35	éster butilhexadecanoico		96
67	33,72	éster butiloctadecanoico		87
68	36,42	bis(2-etilhexil)ftalato	86	

Nota: en las celdas grisadas se indican los compuestos comunes entre ambas especies

Tabla III.30. Identificación de compuestos en aceite esencial de *Ilex paraguariensis* e *I. dumosa* var. *guaranina* procesadas.

Fueron identificados un total de 68 compuestos, de los cuales 28 correspondieron a *I. dumosa* y 57 a *I. paraguariensis*. En ambas se hallaron 17 compuestos coincidentes. Estos datos fueron publicados oportunamente por Maiocchi *et al.* (2003).

De acuerdo a trabajos anteriores (Kawakami & Kobayashi 1991) han sido hallados 250 componentes volátiles en *I. paraguariensis* procesada, 196 de los cuales han sido debidamente identificados. De estos últimos, en nuestro estudio 17 fueron coincidentes con lo informado en el trabajo de referencia para esa especie, por lo cual por nuestra parte se ha informado oportunamente (Maiocchi *et al.* 2003) 42 compuestos volátiles adicionales, debidamente identificados, en *I. paraguariensis*. Nueve de los hallados por Kawakami & Kobayashi (1991) también fueron encontrados durante nuestro estudio en *I. dumosa*. Los compuestos volátiles coincidentes con el mencionado trabajo se indican en bastardilla y negrita en la Tabla **III.30**, identificando con letra azul los comunes a ambas especies, con letra roja los exclusivos de *I. paraguariensis*, y finalmente con letra verde los propios de *I. dumosa*. Los compuestos volátiles comunicados oportunamente para *I. dumosa* (Maiocchi *et al.* 2003) han sido los primeros publicados para esta especie.

Los cromatogramas obtenidos para cada muestra pueden observarse en la Fig. **III-1**.

De nuestro estudio se concluye que el rendimiento en aceite esencial es inferior en *I.*

dumosa respecto a *I. paraguariensis*. Más de la mitad (60%) de los componentes identificados en *I. dumosa* son detectados también en *I. paraguariensis*, no obstante los aceites esenciales de ambas especies presentan diferencias significativas en su composición.

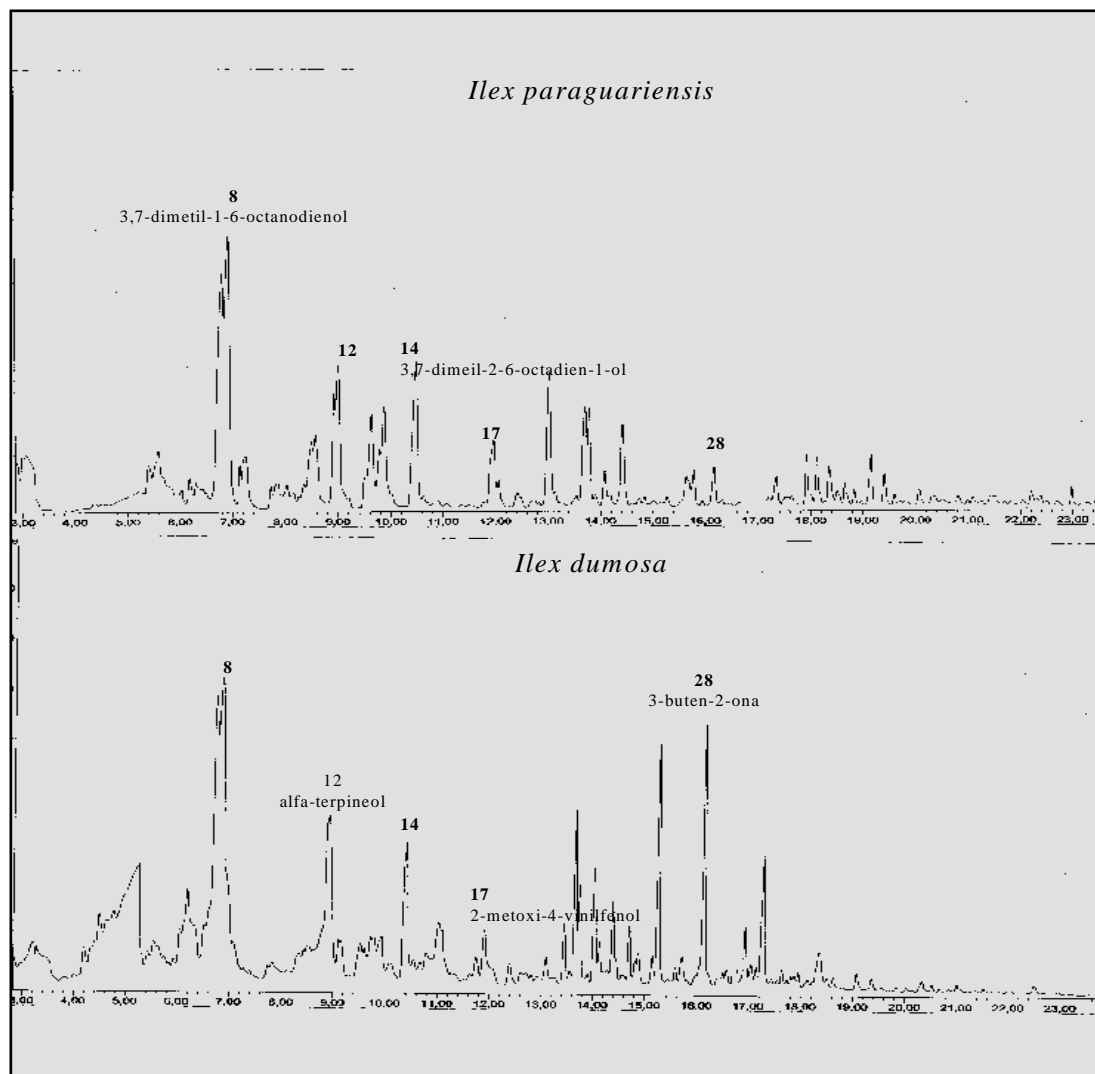


Fig. III.1. Cromatogramas GC-MS de *I. paraguariensis* e *I. dumosa*

RESULTADOS DE SIMULACIÓN DE LOS MÉTODOS INDUSTRIALES

1. ALMACENAMIENTO EN PLAYA

Luego de la cosecha, el material es transportado al secadero, y al llegar es almacenado en playa hasta el inicio de su procesamiento. Durante ese período habitualmente suceden cambios enzimáticos notorios, que de acuerdo al tiempo de la permanencia en playa y las características ambientales, pueden influir radicalmente en el producto final. El estudio de los factores que afectan al material en esas condiciones fue abordado durante el presente trabajo, simulando diversas condiciones ambientales en material de ambas especies; sus resultados son informados a continuación.

a. Estudio de degradación de ácidos clorogénicos y la relación con el pardemiento

Con la permanencia en la playa de almacenamiento, los principales cambios que sufre el material vegetal cosechado consisten en un **pardeamiento enzimático**, acompañado de una importante **deshidratación**.

En la Tabla **III.31** se presentan los valores obtenidos en las determinaciones de ácidos clorogénicos y de humedad en el material, lo largo del tiempo de permanencia en playa, a tres temperaturas experimentales que simulan condiciones de trabajo medias y extremas.

Tiempo (h)	Temperatura (°C)					
	25°C		35 °C		45°C	
	Humedad g agua/ 100 g material	Ácidos Clorogénicos g/100 g material seco	Humedad g agua/ 100 g material	Ácidos Clorogénicos g/100 g material seco	Humedad g agua/ 100 g material	Ácidos Clorogénicos g/100 g material seco
<i>Ilex paraguariensis</i>						
0	68,13 ± 0,75	18,01 ± 0,45	68,13 ± 0,75	18,01 ± 0,45	68,13 ± 0,75	18,01 ± 0,45
6	66,56 ± 0,81	17,8 ± 0,49	61,14 ± 0,55	17,4 ± 0,36	41,99 ± 1,03	15,96 ± 0,25
24	63,09 ± 0,35	16,61 ± 0,54	41,93 ± 1,93	15,94 ± 0,15	29,92 ± 1,23	13,76 ± 0,35
48	56,27 ± 0,81	15,35 ± 0,39	28,37 ± 0,67	14,36 ± 0,19	8,05 ± 0,70	11,83 ± 0,32
72	49,42 ± 0,36	13,59 ± 0,29	21,23 ± 0,46	12,6 ± 0,25	3,89 ± 0,23	10,24 ± 0,15
<i>I. dumosa</i>						
0	57,89 ± 0,44	5,05 ± 0,04	57,89 ± 0,44	5,05 ± 0,04	57,89 ± 0,44	5,05 ± 0,04
6	55,35 ± 0,35	5,03 ± 0,06	49,59 ± 1,10	4,90 ± 0,05	31,30 ± 2,83	4,91 ± 0,06
24	52,80 ± 0,23	5,01 ± 0,06	40,92 ± 1,81	4,75 ± 0,07	19,11 ± 1,29	4,56 ± 0,08
48	49,01 ± 1,81	4,97 ± 0,04	30,56 ± 2,52	4,71 ± 0,06	5,30 ± 0,28	4,37 ± 0,07
72	44,10 ± 1,27	4,95 ± 0,04	24,78 ± 0,31	4,66 ± 0,06	4,76 ± 0,22	4,28 ± 0,08

Tabla III.31. Humedad en base húmeda y contenido de ácidos clorogénicos en hojas de *Ilex paraguariensis* e *I. dumosa*

Los datos anteriores han sido graficados, y en las Figs. III.2 y III.3 se muestra la evolución del contenido de humedad (deshidratación) para *I. paraguariensis* e *I. dumosa*, respectivamente.

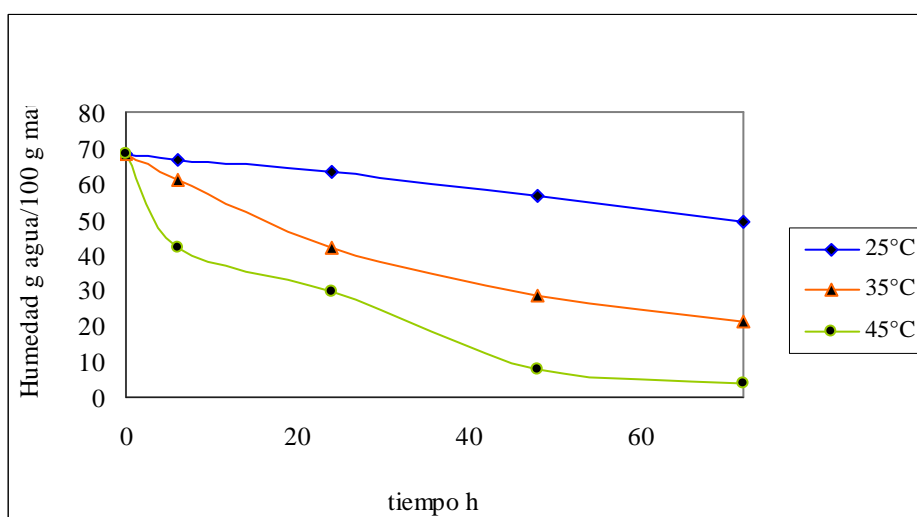


Fig. III. 2. Evolución del contenido de humedad en *Ilex paraguariensis* durante el estacionamiento en playa a tres temperaturas

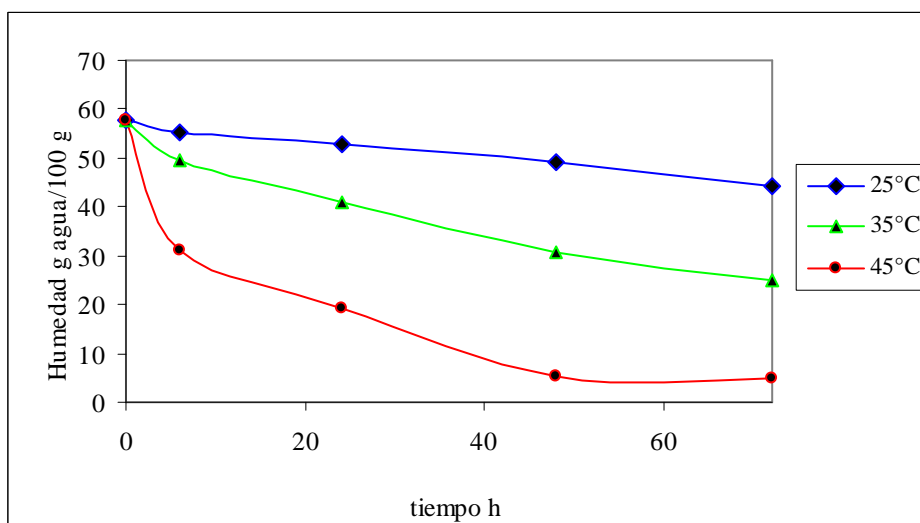


Fig. III. 3. Evolución del contenido humedad en *Ilex dumosa* durante el estacionamiento en playa a tres temperaturas

Para el caso de *I. paraguariensis*, a 25°C no se detectaron cambios aparentes a las 6h, mientras que a las 24h las hojas perdieron la turgencia característica del momento de la cosecha. A las 48h las hojas se presentaron blandas y con moteado negro en superficie, y en particular se observaron cambios de coloración en los bordes. A las 72h las hojas se presentaron íntegramente oscuras.

A 35°C, ya a las 24h comenzaron a oscurecer los bordes aserrados, con zonas que permanecen verdes y otras que se tornaron pardas. A las 48h todas las hojas se vieron afectadas con puntos y/o zonas pardas, algunas íntegramente negras. A las 72h la totalidad del material se tornó negro y crujiente al tacto por efecto de la deshidratación.

A 45°C, los cambios comenzaron a manifestarse a las 6h, observándose puntos negros; a las 24h las hojas se presentaron pardeadas y con la superficie rugosa, y en adelante ya no hubo cambios aparentes, presentándose crujientes por el avanzado grado de deshidratación.

Para el caso de *I. dumosa*, a 25 y 35°C, no se observaron cambios notorios en la coloración de las hojas. A 45°C el fenómeno de pardeamiento se manifiesta visualmente en algunos lugares preferenciales de las hojas, como los bordes, por ejemplo.

En las Figuras III.4 y III.5 se muestra la evolución del contenido de ácidos clorogénicos en el material de ambas especies almacenado en playa a diversas temperaturas.

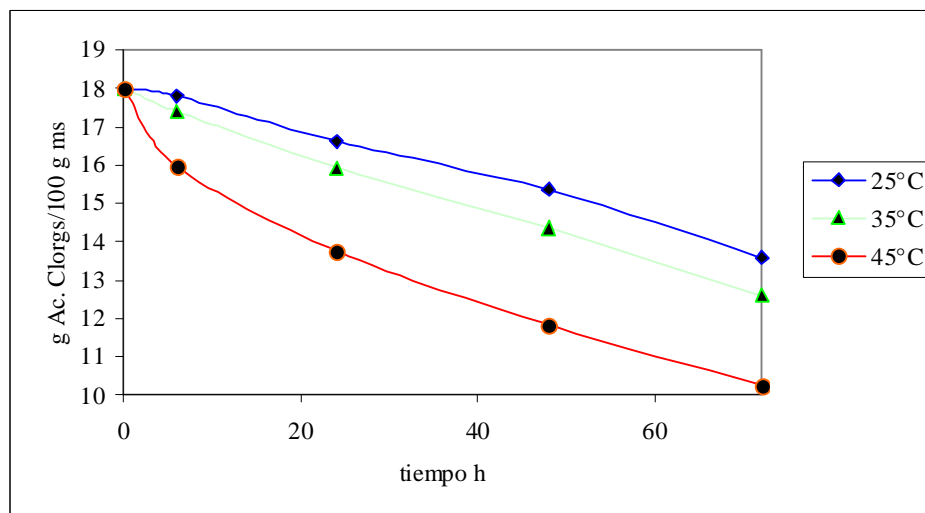


Fig. III. 4. Evolución del contenido de ácidos clorogénicos en *Ilex paraguariensis* durante el estacionamiento en playa a tres temperaturas

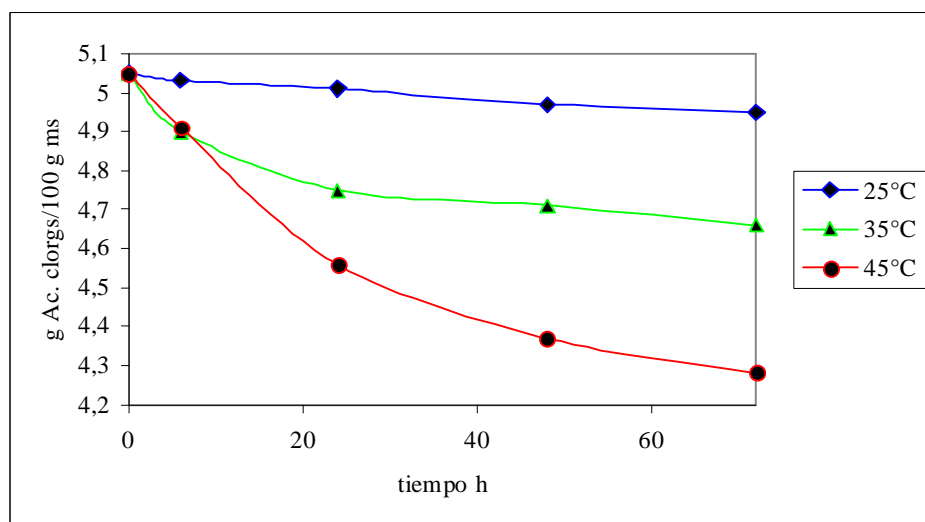


Fig. III. 5. Evolución del contenido de ácidos clorogénicos en *Ilex dumosa* durante el estacionamiento en playa a tres temperaturas

Paralelamente a los análisis de ácidos clorogénicos, se procedió a la observación del pardeamiento. Se determinó la evolución de la absorbancia (a 420 nm) de los extractos obtenidos con hojas tratadas a las tres temperaturas establecidas (25, 35 y 45°C). Los datos se representan en las Figs. III.6 y III.7. Los resultados se expresan en % con respecto al valor inicial.

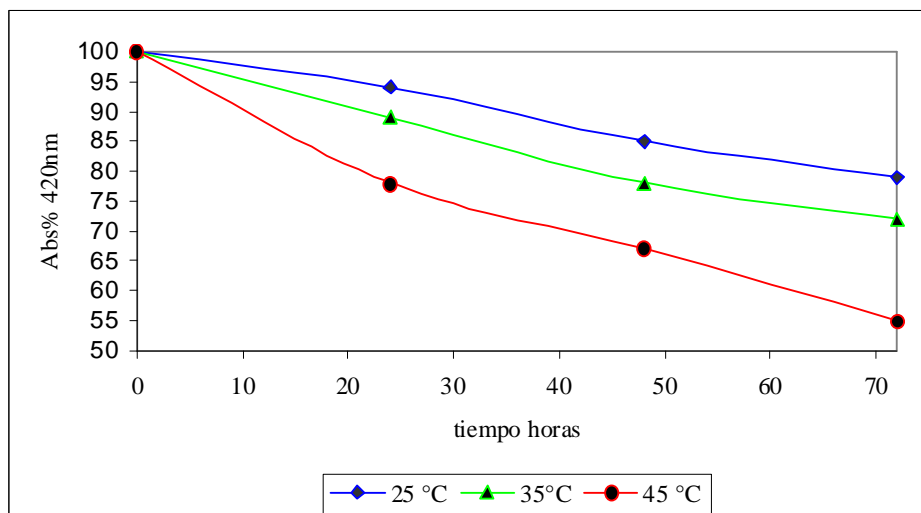


Fig. III. 6: Evolución de la absorbancia % en *Ilex paraguariensis* durante el estacionamiento en playa

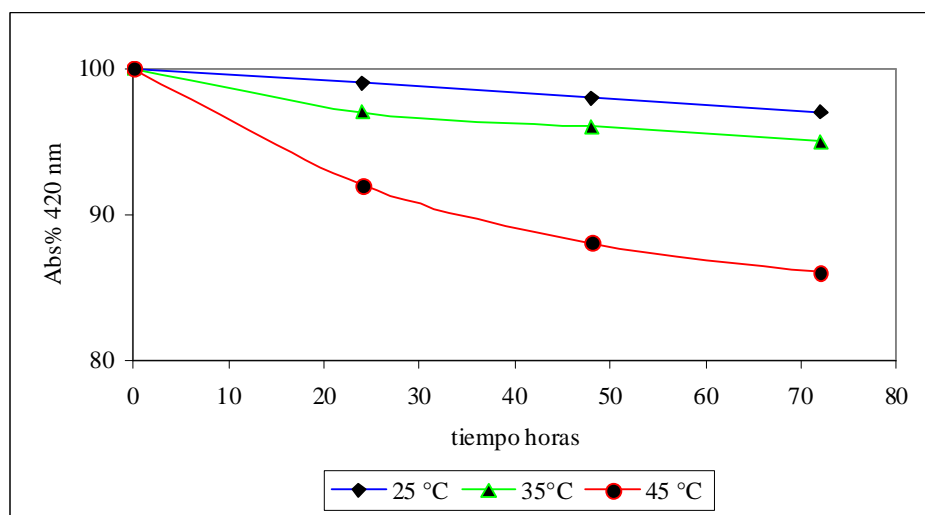


Fig. III. 7: Evolución de la absorbancia % en *Ilex dumosa* durante el estacionamiento en playa

La degradación de los ácidos clorogénicos y la caída porcentual de la absorbancia siguen un comportamiento similar para las dos especies, a las temperaturas ensayadas, presentando diferencias significativas ($p < 0,05$) cuando se comparan las dos especies.

b. Modelado cinético

Al correlacionar los datos de contenido de ácidos clorogénicos frente al tiempo, los mismos se ajustan a una cinética de orden uno, con la siguiente expresión matemática:

$$C = C_0^{-k.t}$$

C es el contenido de ácidos clorogénicos al tiempo t (g/100 g masa seca)

C_0 es el contenido de ácidos clorogénicos al t_0 (g/100 g masa seca)

k es la constante de velocidad (h^{-1})

t es el tiempo (h).

Los valores obtenidos de las constantes de velocidad se presentan en la Tabla III. 32.

Temperatura	25°C	35°C	45°C
Constante de velocidad (k) de <i>I. paraguariensis</i> h^{-1}	3,87. 10 ⁻³ (R ² = 0.995)	4,87. 10 ⁻³ (R ² = 0.998)	7,43. 10 ⁻³ (R ² = 0.997)
Constante de velocidad (k) de <i>I. dumosa</i> h^{-1}	3,01. 10 ⁻⁴ (R ² = 0.998)	1,33. 10 ⁻³ (R ² = 0.996)	2,72. 10 ⁻³ (R ² = 0.999)

Tabla III.32. Constantes de velocidad de degradación de ácidos clorogénicos

Aplicando la ecuación de Arrhenius, es posible obtener las energías de activación correspondientes. Los valores obtenidos fueron los siguientes: 25,6kJ.mol⁻¹ para el caso de *I. paraguariensis* y de 86,5 kJ.mol⁻¹ para *I. dumosa*.

La degradación de los ácidos clorogénicos en hojas de *I. paraguariensis* e *I. dumosa*, mantenidas en atmósfera estática de aire, está fuertemente influenciada por la temperatura, y guarda una relación directa con el pardeamiento en las dos especies. En *I. paraguariensis* el pardeamiento, cuantificado en las condiciones de trabajo, es significativo de 25 a 45°C hasta tiempos de 72h. En *I. dumosa* el pardeamiento en idénticas condiciones de trabajo, prácticamente no es cuantificable en el rango de 25 a 35°C hasta tiempos de 72h, pero sí es significativo a 45°C.

Estos resultados permiten inferir que las hojas de *I. dumosa* pueden ser almacenadas a temperaturas no mayores de 35°C durante períodos de hasta 24h, situación diferente al caso de *I. paraguariensis* para la cual, como ha sido comprobado en todos los secaderos de yerba mate, las hojas deben ser procesadas dentro de las primeras horas contadas a partir de la cosecha.

La secuencia de fotografías que se presenta corresponde a hojas de las dos especies durante el tratamiento que designamos como “almacenamiento en playa”. La barra de referencia equivale a 5 cm.



Fig. III. 8. Hojas de *Ilex paraguariensis* maduras tiempo cero

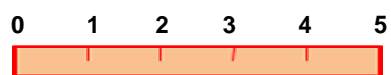


Fig. III.9. Hojas de *Ilex paraguariensis* maduras a las 6 h

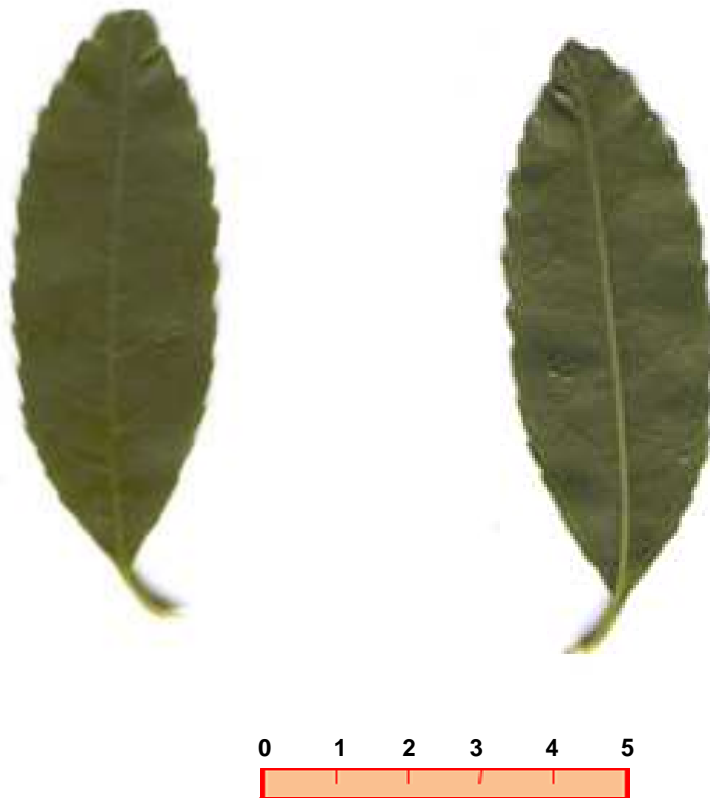


Fig. III. 10. Hojas de *Ilex dumosa* maduras tiempo cero (haz y envés)





Fig. III. 11. Hojas de *Ilex dumosa* maduras tiempo 24 horas (haz y envés)



b. Zapecado

El zapecado de hojas fue realizado reemplazando la acción directa de la llama por la acción de microondas. En una primer etapa, se realizaron ensayos de zapecado con hojas verdes de reciente corte de *Ilex paraguariensis*, cuyo contenido inicial de humedad fue $64,3 \pm 1,1$ % (base húmeda). Los resultados obtenidos en la simulación del zapecado en horno de microondas a 750W de potencia se presentan en la Tabla III.33.

TIEMPO s	POTENCIA W	REMOCIÓN AGUA %	%Humedad g agua/100g sol. húm.
30	750	41,5±1,8	38,4±1,8
60	750	57,8±1,3	14,8±2,7
90	750	61,2±1,0	7,1±2,4

Tabla III. 33. Valores Potencia – Tiempo para zapecado en microondas de *Ilex paraguariensis*

En las condiciones de trabajo se encontró que tiene lugar una remoción de agua del 30 a 40% en el horno de microondas con 30s a 750W. El tiempo de tratamiento y el % de remoción resultaron similares a los que se aplica y obtiene durante el zapecado industrial de hojas de *Ilex paraguariensis* recién cortadas. La humedad resultante luego de los tratamientos potencia-tiempo presentó diferencias significativas ($p < 0,05$). Con estos resultados, adoptamos como equivalente a la acción del zapecado “un tratamiento térmico en horno de microondas de 30s a 750W para las dos especies vegetales, para 10g de material verde”.

Los resultados obtenidos en muestras de ambas especies, sometidas al tratamiento descrito se muestran en la Tabla III.34.

<i>Ilex paraguariensis</i> (g H ₂ O / 100 g material)	<i>Ilex dumosa</i> (g H ₂ O / 100 g material)
38,5 ± 1,8	34,7 ± 0,9

Tabla III. 34. Humedad de los materiales zapecados (10g /750W/30seg.)

El efecto del zapecado en microondas, puede observarse en las fotografías que ilustran las Figs. III.12 (*I. paraguariensis*) y III.13 (*I. dumosa*). El aspecto de las hojas y el ampollado provocado resultan similares al efecto de los gases calientes en el zapecado realizado a nivel industrial.

Precisamente durante el zapecado tiene lugar la oxidación de algunos volátiles, así como la disminución de otros (limoneno), junto a la formación de furfural y metilfurfural, responsables todos del flavor que caracteriza a la yerba mate elaborada. Por ello, el conocimiento de los compuestos volátiles de estas especies es de sumo interés, no sólo desde el aspecto organoléptico, ya que por su concentración relativamente alta el *linalool* y el *cis-linalóxido* resultan responsables de gran parte del aroma y sabor característicos de la yerba mate, sino que muchos de ellos participan también en la actividad antioxidante (Bastos *et al.* 2006).



Fig. III. 12. Hojas de *Ilex paraguariensis* zapecadas

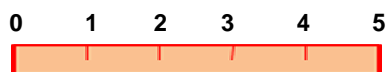




Fig. III. 13. Hojas de *Ilex dumosa* zapecadas

c. Secado

En la simulación del secado, se comprobó que la pérdida de agua entre la salida del zapecado y la entrada al secadero es de unos 8 a 10 puntos porcentuales de humedad, debido a que el material sale caliente del horno de microondas y la evaporación continúa. En recientes investigaciones de secado intermitente de yerba mate (Ramallo *et al.* 2010, Holowaty *et al.* 2011), se informaron situaciones similares.

En la Tabla III. 35 se presentan los datos experimentales obtenidos durante el secado de hojas de *I. paraguariensis* e *I. dumosa* a 65, 80 y 95 °C, previamente zapecadas por microondas. Los resultados son expresados como humedad en base seca.

En las Figs. III.14 y III.15 se muestran los perfiles de secado de ambas especies, a las distintas temperaturas aplicadas. Como era de esperar, los mismos indican que la velocidad de deshidratación aumenta con la temperatura del aire de secado, presentando *Ilex dumosa* un gradiente mayor que *Ilex paraguariensis* para 65 y 80 °C, lo que podría relacionarse con las características foliares que presentan cada una de ellas (Cf. *Anatomía foliar*).

Se observa una cierta semejanza entre los perfiles de ambas especies para cada temperatura, resultando mayor la velocidad de secado en el caso de *I. dumosa* para las tres temperaturas ensayadas.

Tabla III. 35. Variación del contenido de humedad de hojas de *Ilex paraguariensis* e *I. dumosa* secadas a 65, 80 y 95°C

Tiempo min.	X par 65 g agua /100g ss	X dum 65 g agua /100g ss	X par 80 g agua /100g ss	X dum 80 g agua /100g ss	X par 95 g agua /100g ss	X dum 95 g agua /100g ss
0	32,00 ± 0,58	31,55 ± 0,27	35,66 ± 0,35	34,75 ± 0,30	33,50 ± 0,47	33,15 ± 0,46
3	24,21 ± 0,34	25,40 ± 0,52	26,31 ± 0,54	24,55 ± 0,24	20,00 ± 0,20	19,00 ± 0,19
6	19,68 ± 0,19	17,31 ± 0,15	17,61 ± 0,15	17,52 ± 0,15	10,00 ± 0,22	9,50 ± 0,13
9	17,04 ± 0,35	12,61 ± 0,11	13,54 ± 0,12	12,17 ± 0,10	3,40 ± 0,07	3,20 ± 0,07
12	14,72 ± 0,21	9,62 ± 0,10	11,01 ± 0,09	8,30 ± 0,12	2,75 ± 0,02	2,80 ± 0,05
15	13,08 ± 0,23	7,34 ± 0,06	8,90 ± 0,12	5,98 ± 0,12	2,70 ± 0,06	2,40 ± 0,05
18	11,38 ± 0,07	6,26 ± 0,11	7,45 ± 0,06	4,43 ± 0,09	2,60 ± 0,05	2,20 ± 0,05
21	9,62 ± 0,10	5,05 ± 0,05	6,29 ± 0,05	3,58 ± 0,04	2,24 ± 0,05	1,65 ± 0,02
24	8,68 ± 0,14	4,41 ± 0,09	5,79 ± 0,08	2,53 ± 0,05	2,10 ± 0,04	1,40 ± 0,03
27	7,86 ± 0,06	4,10 ± 0,08	5,06 ± 0,10	2,25 ± 0,05	1,90 ± 0,04	1,35 ± 0,02
30	7,24 ± 0,06	3,78 ± 0,08	4,48 ± 0,09	2,04 ± 0,03	1,80 ± 0,04	1,30 ± 0,02
33	6,73 ± 0,05	3,78 ± 0,03	4,41 ± 0,08	1,90 ± 0,04	1,70 ± 0,02	1,20 ± 0,03
37	5,92 ± 0,14	3,52 ± 0,03	4,34 ± 0,04	1,90 ± 0,02	1,60 ± 0,03	1,15 ± 0,01
40	5,41 ± 0,08	3,14 ± 0,03	4,26 ± 0,06	1,90 ± 0,04	1,54 ± 0,02	1,11 ± 0,02

En condiciones de operación a nivel industrial, durante el zapeado y el secado de *I. dumosa* se ha visto la necesidad de disminuir la potencia térmica para evitar que el material resulte incinerado (comunicación personal del responsable del Secadero *Las Marías*). Esta evidencia confirma que para el material vegetal *I. dumosa* “cuesta menos desprender el agua” (*ibid.*).

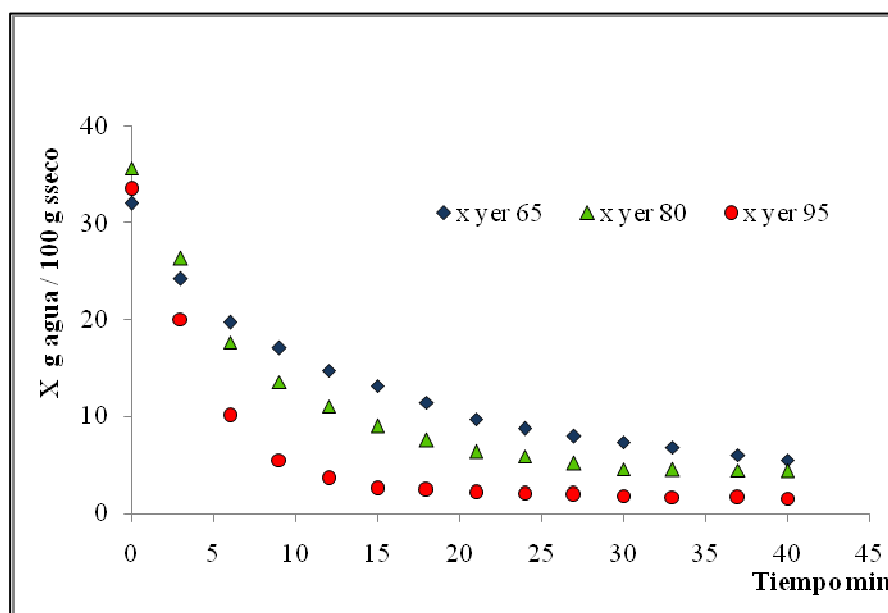


Fig. III. 14. Variación del contenido de humedad de hojas de *Ilex paraguariensis* secadas a 65, 80 y 95°C

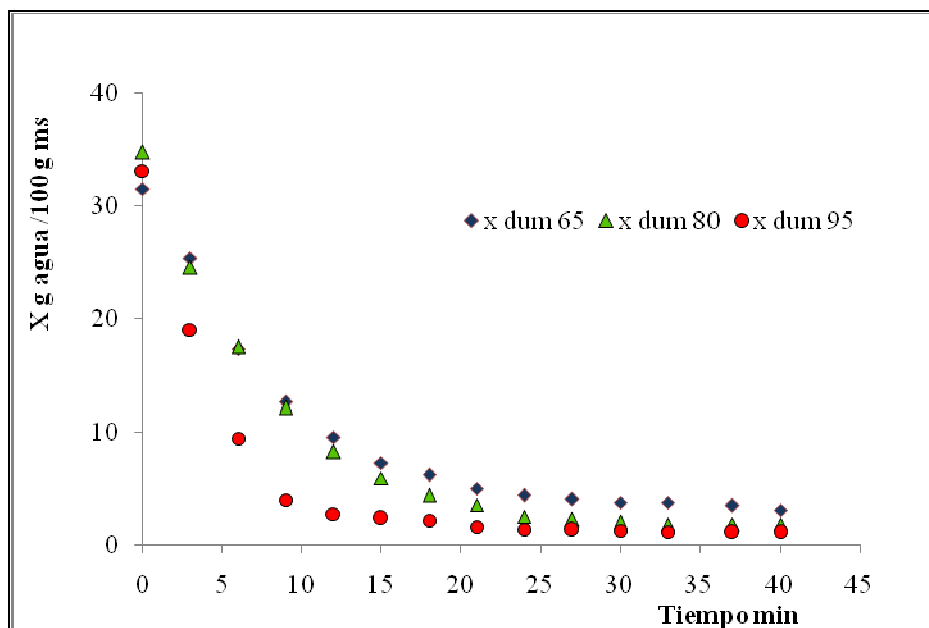


Fig. III. 15. Variación del contenido de humedad de hojas de *Ilex dumosa* secadas a 65, 80 y 95°C

El tiempo total de secado de las hojas de ambas especies se incrementa a medida que disminuye la temperatura de secado. En las Figs. III.16 y III.17 se presentan las curvas de velocidad de secado de hojas de ambas especies, en función del contenido de humedad x . Para ello se calcularon los polinomios correspondientes para cada curva de secado obtenida experimentalmente, M vs. (t) ; y representándose luego r_{sec} , en función del contenido de humedad, M .

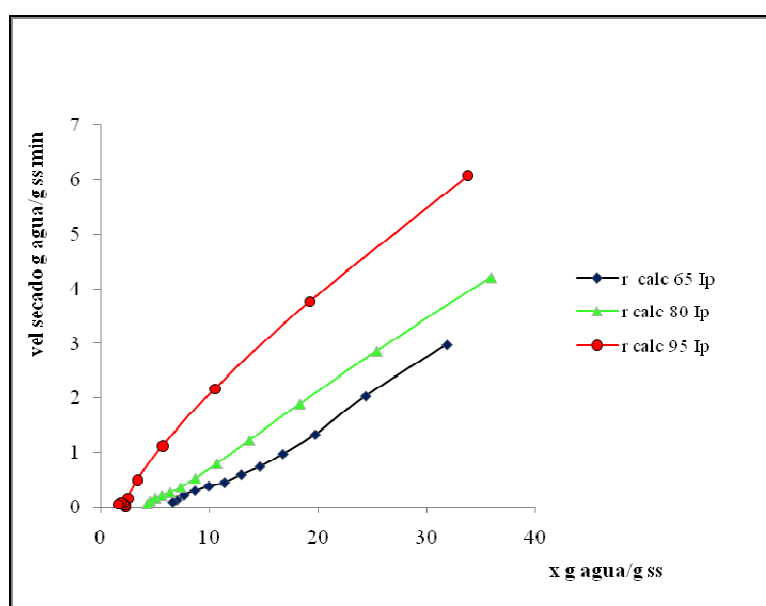


Fig. III. 16. Curvas de velocidad de secado de hojas de *Ilex paraguariensis* a 65°C, 80°C y 95°C

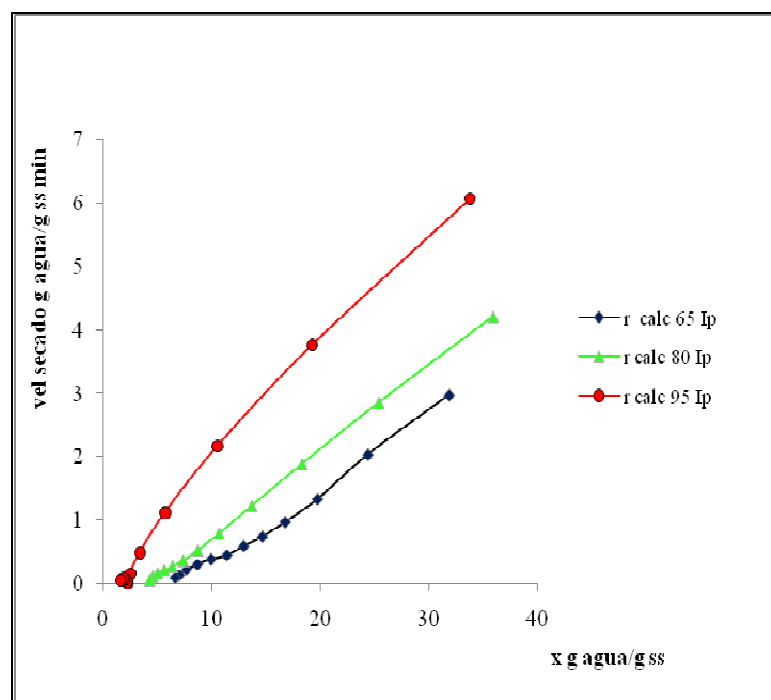


Fig. III. 17. Curvas de velocidad de secado de hojas de *Ilex dumosa* a 65°C, 80°C y 95°C

En todas las condiciones ensayadas se observa que el proceso de secado no presenta un período de velocidad constante, al igual que lo observado por diversos investigadores, entre ellos: Zanoelo *et al.* 2007, Schmalko & Alzamora 2005.

A partir de estos datos experimentales se procedió al tratamiento cinético de los mismos. La aplicación de diferentes modelos matemáticos a los datos experimentales de secado persigue diversos fines, entre ellos la comprensión del proceso de secado propiamente dicho, la predicción de perfiles de humedad, así como el pronóstico del tiempo total de secado para una muestra dada.

Chaves (2010) demostró que para modelar la velocidad de secado, sólo bastaba con seguir el cambio que experimenta la masa de la muestra vegetal en función del tiempo, manteniendo constante el resto de los factores. El modelo seleccionado como más probable (Ec. III.1) era equivalente al que propusieron Wang & Singh (1978) (Ec. III.2). Este modelo, tiene como ventaja la facilidad de manipulación matemática, por cuanto permite estimar los coeficientes cinéticos por regresión lineal, y de la derivada de la variable X respecto del tiempo, resulta la relación entre los dos parámetros.

$$X = b_1 t - b_2 t^2 \quad (\text{Ec. III.1}) \quad \text{donde } X = \frac{x_{bs}^0 - x_{bs}^t}{x_{bs}^0}$$

$$M_R = 1 + At + Bt^2 \quad (\text{Ec. III.2}) \quad \text{donde } M_R = \frac{x_{bs}^t}{x_{bs}^0}$$

El modelo formulado por Wang & Singh, consta de dos coeficientes fenomenológicos: b_1 y b_2 . A través de ellos se toman en cuenta, implícitamente, los efectos combinados de la fuerza impulsora que da origen a la densidad de flujo másico de agua y a los cambios estructurales que experimenta la muestra vegetal durante el proceso de secado.

Ajustando los datos experimentales de humedad en función del tiempo mediante una regresión no lineal (polinómica, grado 2), utilizando software Excel de Microsoft (2003), se estimaron los valores de los parámetros b_1 y b_2 para cada una de las condiciones de secado ensayadas. El tiempo de secado $t_{\text{máx}}$ puede calcularse a partir de la ecuación **Ec. III.3**.

$$t_{\text{máx}} = \frac{b_1}{2b_2} \quad (\text{Ec. III.3})$$

Los resultados obtenidos para cada especie a las temperaturas ensayadas se presentan en la Tabla **III. 36**.

Cálculos	<i>Ilex paraguariensis</i>			<i>Ilex dumosa</i>		
	65 °C	80 °C	95 °C	65 °C	80 °C	95 °C
b_1	1.353	2.254	3.536	2.262	2.613	3.548
b_2	0.020	0.044	0.102	0.047	0.059	0.103
$t_{\text{máx}} \text{ min}$	34	26	17	24	22	17

Tabla III. 36. Parámetros de la ecuación de Wang & Singh y tiempo máximo de secado

Los tiempos de secado disminuyen con el aumento de la temperatura, verificándose que *Ilex paraguariensis* presenta una velocidad de deshidratación menor a 65 y 80°C. A 95°C resultaron coincidentes los tiempos de secado de las dos especies, con lo que resultan similares las velocidades de deshidratación. Esto indicaría que a elevadas temperaturas la velocidad de deshidratación se ve menos influenciada por las características de material.

d. Estacionamiento

Humedad de equilibrio y actividad acuosa

La actividad del agua se define como la relación entre la presión de vapor de agua del alimento (en la interfase sólido-gas) y la presión de vapor del agua líquida pura a la misma temperatura. Así cuando un alimento está en equilibrio con sus alrededores, la presión de vapor de agua del alimento es igual a la presión parcial de vapor de agua de la atmósfera, y por lo tanto a_w del alimento es igual a la humedad relativa de equilibrio del aire, dividida por 100. Es decir, a una temperatura dada T, se tiene que:

$$a_w = \frac{HR}{100} \quad (\text{Ec. III. 4})$$

donde a_w = actividad acuosa y HR = humedad relativa del aire.

Las isothermas de adsorción muestran la relación entre la actividad del agua y la humedad de equilibrio contenida en un producto alimenticio, x_e , a una temperatura y presión constante (Zhang *et al.* 1996). El contenido de humedad equilibrio es una propiedad fisicoquímica específica de la muestra vegetal. La misma es definida como:

$$x_e = \frac{m_{\text{agua.eq}}}{m_{\text{ss}}} \quad (\text{Ec. III.5})$$

donde:

x_e = contenido de humedad en equilibrio

$m_{\text{agua eq}}$ = masa de agua en equilibrio de la muestra vegetal.

m_{ss} = masa de sólido seco.

En la Tabla **III. 37** se presentan las humedades de equilibrio expresadas en base seca de las dos especies sometidas a tratamiento a nivel industrial, sin estacionar, para un intervalo de actividades acuosas entre 0 y 1 a 25 °C. Las determinaciones se realizaron por triplicado, se presentan las humedades de equilibrio expresadas en base seca.

Tabla III. 37. Humedades de equilibrio de hojas de *Ilex paraguariensis* e *I. dumosa* procesadas a 65, 80 y 95°C

Actividad acuosa a_w	<i>Ilex paraguariensis</i> g /100 g mat. seca	<i>Ilex dumosa</i> g /100 g mat. seca
0.0	0,00 ± 0,00	0,00±0,00
0,06	3,20 ± 0,04	2,58±0,05
0,09	4,22 ± 0,07	3,85±0,06
0,21	6,08 ± 0,08	5,53±0,08
0,31	6,78 ± 0,08	6,29±0,10
0,39	7,43 ± 0,06	7,27±0,11
0,46	8,00 ± 0,13	7,62±0,15
0,57	9,27±0,11	8,92±0,09
0,68	11,04 ± 0,19	10,79±0,17
0,79	14,02 ± 0,12	13,60±0,27
0,94	23,37 ± 0,24	22,54± 0,35
1,00	33,35 ± 0,66	29,83± 0,24

En la Figs. III.18 y III.19 se observan las isotermas de absorción a 25°C de *I. paraguariensis* e *I. dumosa*, respectivamente.

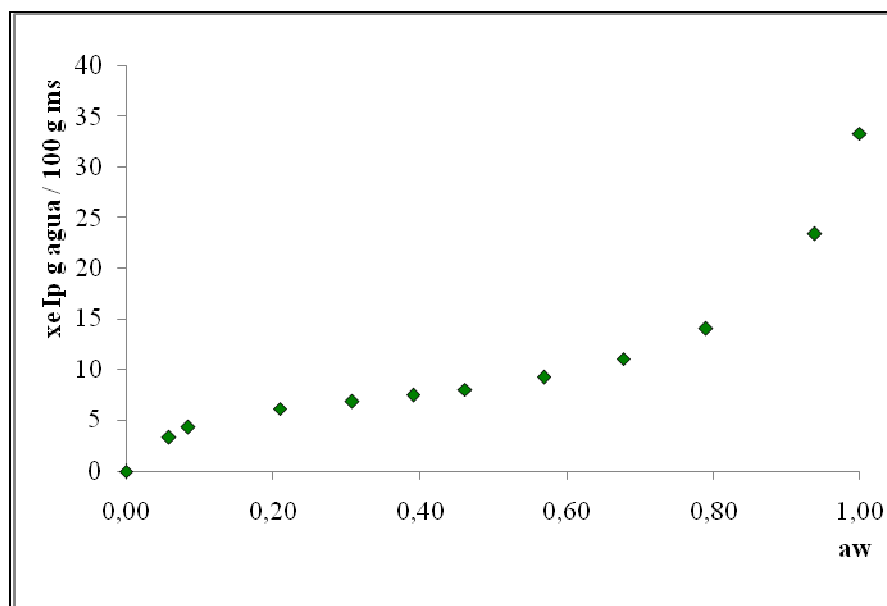


Fig. III. 18 - Humedad de equilibrio en *Ilex paraguariensis*

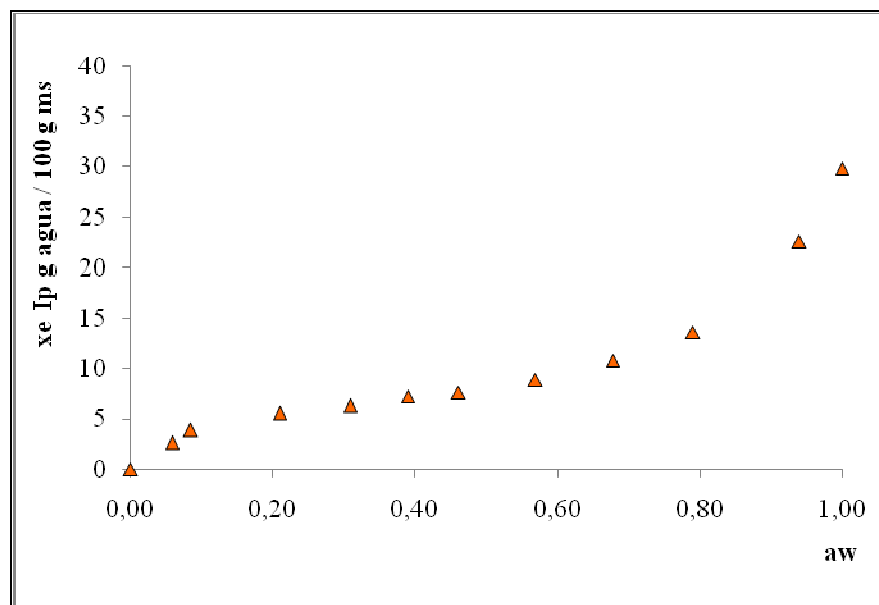


Fig. III. 19 - Humedad de equilibrio en *Ilex dumosa*

La humedad de equilibrio en *Ilex paraguariensis* resultó ligeramente superior a la de *I. dumosa* en todo el intervalo de trabajo.

Estas figuras muestran el incremento del contenido de humedad de equilibrio del material vegetal correspondiente a las dos especies estudiadas con el aumento de la actividad del agua, a temperatura constante, presentando una forma característica y típica de las isotermas de alimentos (Labuza 1968, McLaughlin & Magee 1998, Timmermann *et al.* 2001, Viswanathan *et al.* 2003, Schmalko & Alzamora 2005 y Zanoelo 2005).

De la amplia gama de modelos disponibles en la bibliografía consultada, se ha seleccionado el de Guggenheim, Anderson y Boer (GAB) por ser el más utilizado en el caso de alimentos. Este modelo es una extensión de la ecuación de BET (Brunauer, Emmett y Teller), tomando en cuenta las propiedades modificadas del agua adsorbida en la región multicapa. Fue propuesto para ser aplicado a alimentos por Van den Berg en 1981. El modelo de GAB es muy utilizado para predecir datos de niveles de actividad de agua de aproximadamente 0,90 y da mejores ajustes que la ecuación de BET en un intervalo amplio de contenido de humedad.

Es un modelo de tres parámetros, cuya forma es la siguiente:

$$x_e = \frac{x_{mg} \cdot C_g \cdot K \cdot a_w}{(1 - K \cdot a_w) [1 + (C_g - 1) K \cdot a_w]} \quad (\text{Ec. III. 6})$$

donde:

C_g = constante de Guggenheim

K = constante de corrección de las propiedades de la multicapa líquida.

Para la determinación de las tres constantes de GAB existen diversos métodos que pueden emplearse. Se seleccionó para este trabajo el método que propusieron Schaer & Ruegg (1988), quienes transforman la ec. (III.6) de GAB en la siguiente expresión parabólica:

$$\frac{x_e}{a_w} = \alpha + \beta \cdot a_w + \gamma \cdot a_w^2 \quad (\text{Ec. III. 7})$$

Los coeficientes α , β y γ , pueden estimarse por regresión no lineal y a partir de ellos pueden calcularse los tres coeficientes del modelo GAB, a partir de las siguientes expresiones:

$$k = (f^{1/2} - \beta) / 2\alpha ; x_{mg} = f^{-1/2} ; C_g = f^{1/2} / k\alpha \text{ y } f = \beta^2 - 4\alpha\gamma \quad (\text{Ec. III.8})$$

El modelo de GAB fue aplicado con éxito por diversos investigadores, entre los que se deben mencionar: Giovanelli y col., (2002) con productos derivados del tomate; Viswanathan y col. (2003) con rodajas de tomate y cebollas en trozos; Krokida y col., (2003) con calabaza, ajo, tomates, guisantes verdes, hongos, cebollas, apio y pimientos morrones verdes; Timmermann y col., (2001) con diversos tipos de alimentos.

La bondad de ajuste de las ecuaciones fue evaluada a través del error relativo promedio porcentual, calculado como:

$$\%P = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|x_e^{calc} - x_e^{exp}|}{x_e^{exp}} \quad (\text{Ec. III.9})$$

donde:

n = es el número de datos experimentales

x_e^{exp} = contenido en humedad de equilibrio experimental

x_e^{calc} = contenido en humedad de equilibrio predicho por el modelo

$\%P$ = error porcentual promedio.

Boquet *et al.* (1978) consideran que un modelo es aceptable cuando $\%P < 10$.

Las figuras III.20 y III.21 presentan los resultados obtenidos *Ilex paraguariensis* e *I. dumosa* respectivamente.

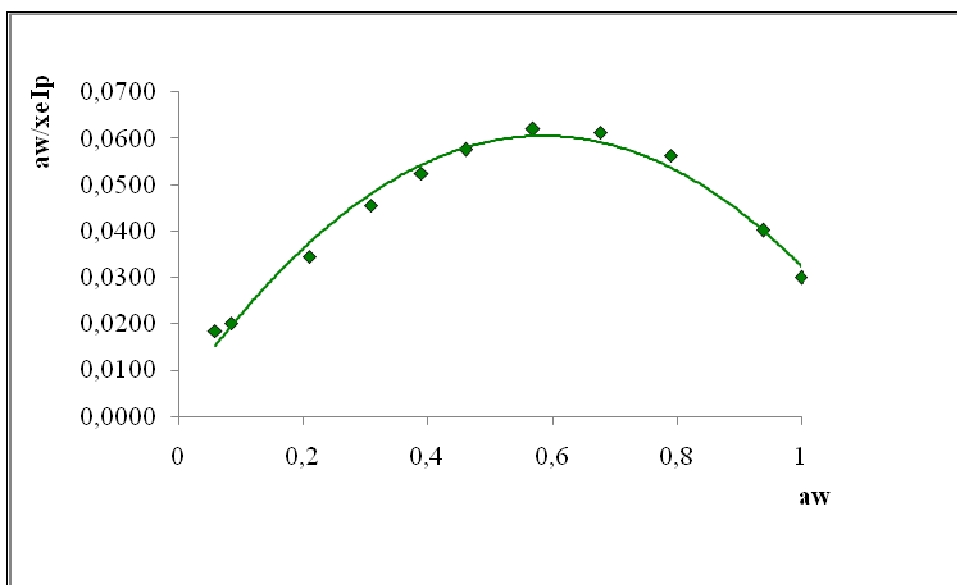


Fig. III. 20. Parabólica datos a_w/x_e en función a_w para *Ilex paraguariensis*

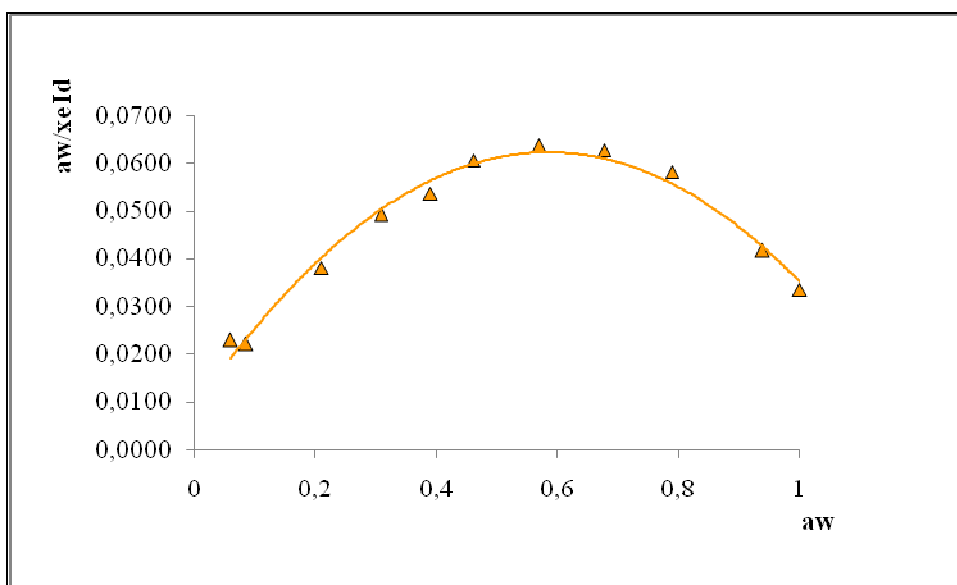


Fig. III. 21. Parabólica datos a_w/x_e en función a_w para *Ilex dumosa*

En la Tabla III.37, se presentan los valores de la correlación y los parámetros GAB obtenidos.

Coefficientes y parámetros estimados	<i>Ilex paraguariensis</i>	<i>Ilex dumosa</i>
K	0,8369	0,8248
C _g	51,5625	27,6278
x _{mg}	5,0378	5,0441
R ²	0,9810	0,9803

Tabla III. 37. Coeficientes y parámetros GAB

No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) en las humedades de la monocapa x_{mg}.

Con los coeficientes obtenidos, fue posible estimar la humedad de equilibrio en función de la actividad acuosa y calcular la bondad del método, obteniéndose los siguientes resultados: 5,69 % para *Ilex paraguariensis* y 4,52 % para *I. dumosa*. Los dos casos cumplen con la condición %P < 10 %.

Al comparar las curvas teóricas obtenidas para ambas especies se observa que las mismas no difieren en más de un 7 % (P < 10 %).

La Figura III.21, presenta las curvas teóricas correspondientes a las dos especies ajustadas por el modelo GAB.

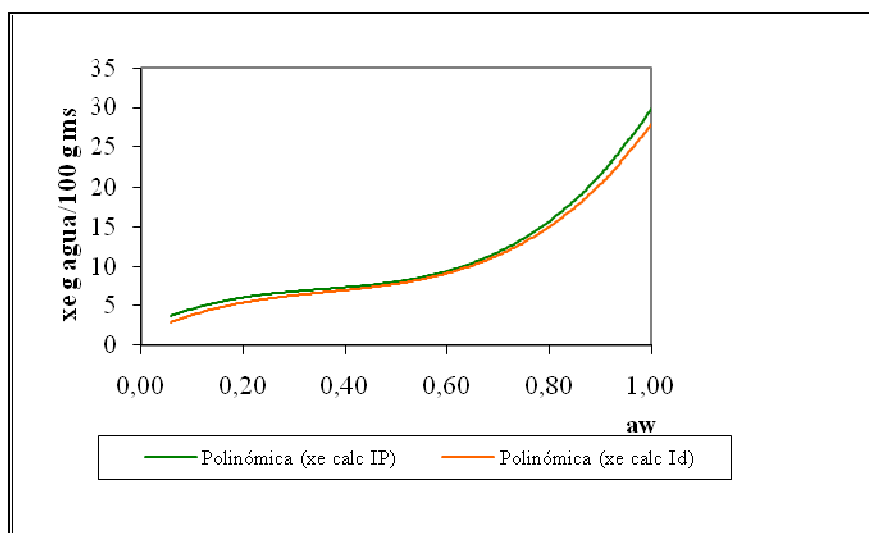


Fig. III. 21. Curvas teóricas ajustadas por el modelo GAB

Se concluye que, mezclas de ambas especies sometidas a intervalos de humedades entre 20 y 80 % HR (0,20 a 0,80 a_w) resultarían estables en el tiempo al no presentar diferencias significativas en las humedades de equilibrio.

e. Clorofilas

Se ha seguido la degradación de clorofilas (a;b) y su conversión a feofitinas (a;b). Los resultados, promedio de tres determinaciones se muestran en la Tabla III.38.

Tiempo	<i>Ilex paraguariensis</i> ($\mu\text{g/g}$ material)						<i>I. dumosa</i> ($\mu\text{g/g}$ material)					
	35°C		50°C		70°C		35°C		50°C		70°C	
	Clorof. a,b	Feofit. a,b	Clorof. a,b	Feofit. a,b	Clorof. a,b	Feofit. a,b	Clorof. a,b	Feofit. a,b	Clorof. a,b	Feofit. a,b	Clorof. a,b	Feofit. a,b
0	1555±35	2622±54	1555±35	2622±54	1555±35	2622±54	1288±67	1756±60	1288±67	1756±60	1288±67	1756±60
1			1201±49	2709±49	1254±25	2522±29					972±37	1792±64
2					883±25	1953±25					871±57	1692±40
3	1352±44	2779±40	1079±26	2343±82			1005±37	2074±87	986±43	1418±30	563±64	1232±62
5					211±20	1471±47	901±21	1936±30				
7			769±16	1962±13					788±20	1044±64		
8	922±20	2454±31			149±13	1039±45					183±16	485±15
10			420±19						639±59	843±35		
14			304±33	1360±25			811±21	1518±21	378±75	590±11		
17	526±25	1911±24										
21							696±26	1460±41				
24	325±6	1685±6	217±23	781±43								
28	251±6	1449±48					501±15	1324±68				

Tabla III. 38. Contenido de clorofilas (a, b) y feofotinas (a, b) en μg / g material a distintas temperaturas en el tiempo

Los perfiles de contenidos de clorofilas a y b y feofitinas a y b, a las tres temperaturas ensayadas, y en función del tiempo, se representan en las Figs. III.22 y III.23 para *I. paraguariensis* y las Figs. III.24 y III.25 para *I. dumosa*. Los resultados en clorofilas a y b y feofotinas a y b presentan diferencias significativas para ambas especies ($p < 0,05$).

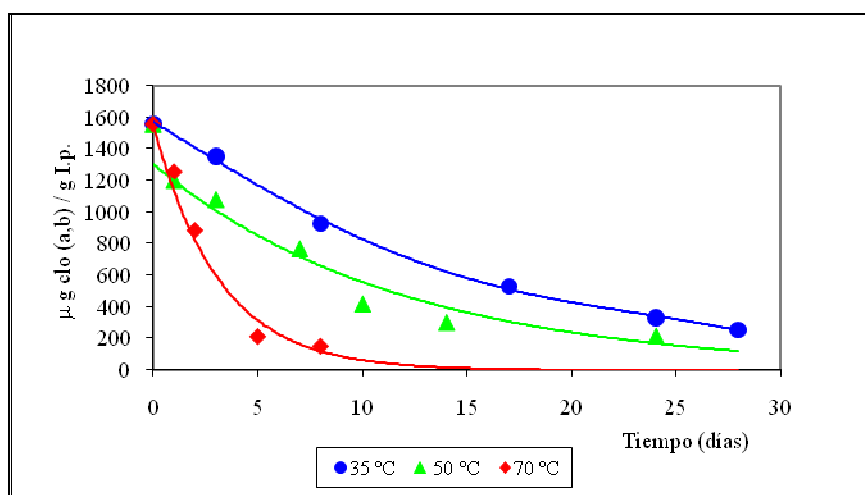
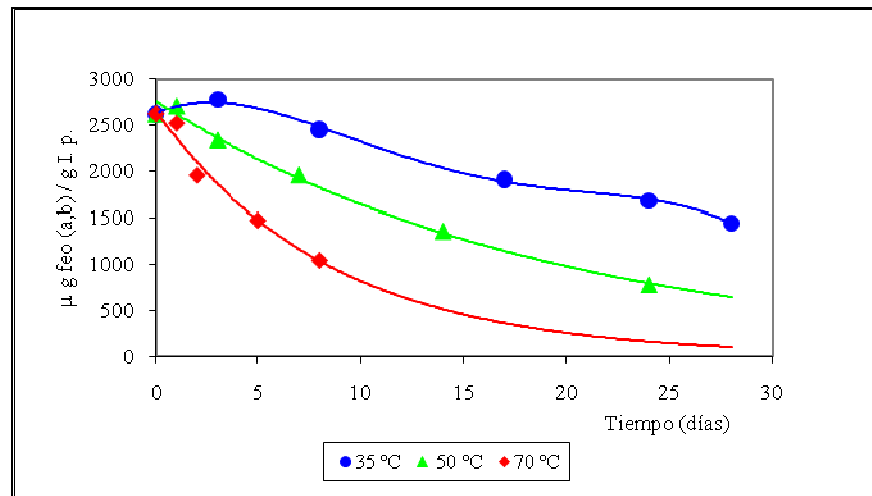
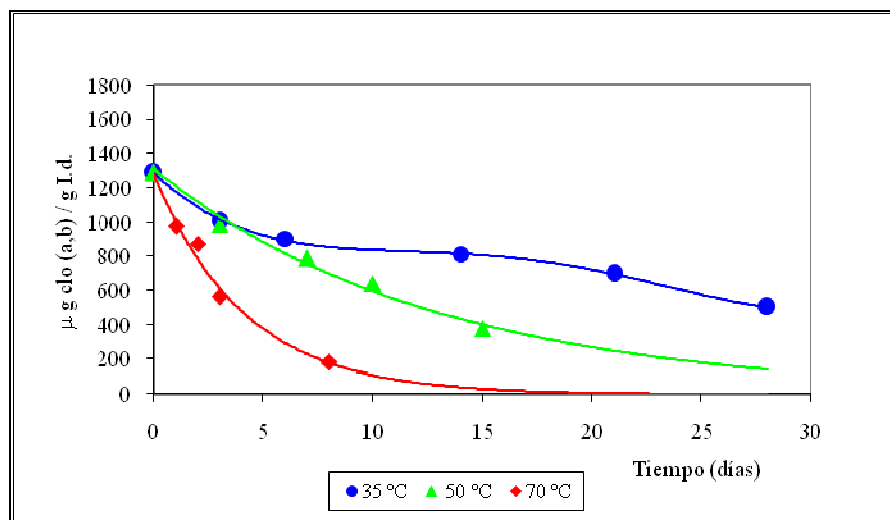


Fig. III. 22. Variación de clorofilas (a, b) en *I. paraguariensis*Fig. III. 23. Variación de feofitinas (a, b) en *I. paraguariensis*Fig. III. 24. Variación de clorofilas (a, b) en *Ilex dumosa*

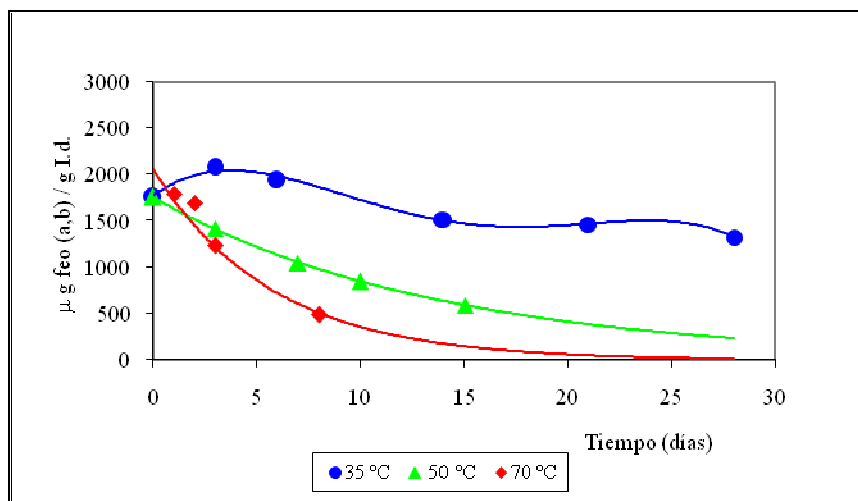


Fig. III. 25. Variación de feofitinas (a, b) en *Ilex dumosa*

Las hojas de *I. paraguariensis* presentan un mayor contenido inicial de clorofilas a y b y feofitinas a y b que las de *I. dumosa*. En ambas especies se observa un incremento respecto a su valor inicial, en los primeros 3 días del tratamiento, a 35 y 50°C (aunque resulta menor a 50°C), pero no se registró incremento alguno a 70°C. Una vez alcanzado el máximo, se verifica un decrecimiento continuo con el tiempo.

Modelado cinético:

Para explicar el comportamiento de la degradación de las clorofilas (a, b) en feofitinas (a, b) y de éstas en pirofeofitinas, se propone un mecanismo de reacciones en serie:



Desde el punto de vista cinético, la degradación de las clorofilas a y b puede modelarse a través de una expresión de primer orden.

$$-\frac{d[\text{Clo}_{(a,b)}]}{dt} = k_{\text{Clo}_{(a,b)}} [\text{Clo}_{(a,b)}]$$

$[\text{Clo}_{(a,b)}]$ = contenido de clorofilas (a, b) [$\mu\text{g/g}$ material]

$k_{\text{Clo}_{(a,b)}}$ = constante de velocidad [días^{-1}]

En forma análoga, la degradación de feofitinas a y b en pirofeofitinas, también sigue una cinética de orden uno, considerando el valor máximo alcanzado (en los casos de 35 y 50°C).

$$-\frac{d[Feo_{(a,b)}]}{dt} = k_{Feo(a,b)} [Feo_{(a,b)}]$$

[Feo] = contenido de feofitinas (a, b) [$\mu\text{g/g}$ material]
 k_{Feo} = constante de velocidad [días^{-1}]

El tratamiento matemático de los datos presentados, permitió obtener las constantes de velocidad a las distintas temperaturas ensayadas, así como el coeficiente de determinación. Esta información se muestra en la Tabla III.39.

	35°C – 308 K		50°C – 323 K		70°C – 343 K	
	Clorofilas a y b	Feofitinas a y b	Clorofilas a y b	Feofitinas a y b	Clorofilas a y b	Feofitinas a y b
<i>Ilex paraguariensis</i>						
$k \cdot \text{día}^{-1}$	0,064	0,025	0,116	0,054	0,309	0,114
R^2	0,998	0,998	0,978	0,998	0,988	0,980
<i>Ilex dumosa</i>						
$k \cdot \text{día}^{-1}$	0,035	0,023	0,076	0,074	0,246	0,157
R^2	0,976	0,994	0,992	0,996	0,994	0,986

Tabla III. 39. Constantes de velocidad de degradación de clorofilas (a, b) y feofitinas (a, b) [días^{-1}]

Los datos regresionados según la ecuación de Arrhenius permitieron encontrar las correspondientes energías de activación aparentes de cada proceso estudiado. En la Tabla III.40 se presentan los valores de dichas energías y los coeficientes de determinación correspondientes.

	<i>Ilex paraguariensis</i>		<i>I. dumosa</i>	
	Clorofilas a y b	Feofitinas a y b	Clorofilas a y b	Feofitinas a y b
Energía de activación ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)	39,69	37,99	48,94	51,15
R^2	0.992	0.996	0.994	0.958

Tabla III.40. Energía de activación aparente para los procesos de degradación de clorofilas a y b y feofitinas a y b en *Ilex paraguariensis* e *I. dumosa*

Comparando los resultados obtenidos, se infiere que la velocidad de degradación de las clorofilas a y b en *I. paraguariensis* es mayor a la correspondiente a *I. dumosa*, y que el paso de feofitinas a pirofeofitinas transcurre a mayor velocidad en esta última.

El contenido inicial de clorofilas a y b y feofitinas a y b es inferior en *I. dumosa* con respecto a *I. paraguariensis*. El contenido de feofitinas a y b supera al de clorofilas a y b en las dos especies; esto responde a la conversión de las clorofilas de la hoja fresca en las correspondientes feofitinas por acción de los tratamientos térmicos, durante el procesamiento a que fue sometido el material.

Los procesos de degradación de clorofilas a y b y feofitinas a y b para ambas especies se ajustan a una cinética de primer orden, con energías de activación aproximadas en cada especie (Maiocchi & Avanza 2004). Estos resultados son similares los obtenidos por Montiel & Avanza (1996).

La transformación de clorofilas a y b en las correspondientes feofitinas a y b aparece inicialmente como una reacción consecutiva, lo que explicaría los incrementos en las primeras horas de las feofitinas a y b operados a relativamente bajas temperaturas.

Los dos procesos estudiados se ven influenciados de manera determinante por el aumento de temperatura.

ANÁLISIS NUTRICIONAL Y MINERAL COMPARATIVO DE *ILEX DUMOSA*, *I. PARAGUARIENSIS* Y SU MEZCLA 70:30 EN DIFERENTES FORMAS DE CONSUMO

La “yerba mate” elaborada (*Ilex paraguariensis*) es un producto nutricional particularmente interesante por su contenido en xantinas, vitaminas y minerales.

Con la reciente incorporación al mercado de la especie congénérica *I. dumosa* Reissek, (CAA, Cap. XV, art. 1192, “dumosa”), que resulta de interés por su bajo contenido en xantinas, se ha puesto de relieve la necesidad de realizar el estudio nutricional y mineral comparativo entre dichas especies, abarcando también el de la forma rotulada “suave - relax”, preparada con una proporción mayoritaria de *I. dumosa* en mezcla con *I. paraguariensis* (70:30 P/P), teniendo en cuenta en todos los casos las dos modalidades más comunes de consumo en nuestro país: la extracción acuosa discontinua (“cebadura” o “cimarrón”) y la infusión teiforme al 1,5% (“mate cocido”).

El análisis nutricional comparativo ha sido llevado a cabo mediante la metodología descrita en el Cap. II, apartado 3.9.

La composición elemental de la droga cruda y de los extractos acuosos realizados mediante las simulaciones correspondientes a cebadura y mate cocido se obtuvo por aplicación de ICP-OES (Cap. II, apartado 3.4.2).

1. VALOR NUTRICIONAL DE LA DROGA CRUDA

Los análisis efectuados han permitido establecer los principales valores nutricionales de la droga cruda (“yerba mate” elaborada) de las dos especies de *Ilex* estudiadas, tanto como su mezcla en proporción 70% de *I. dumosa* y 30% de *I. paraguariensis*. Los resultados se muestran en la Tabla **III.41**.

La **humedad de equilibrio** resultó ligeramente más alta en muestras de *I. paraguariensis*, cuyos valores oscilaron entre 4,8 y 5,2g%g, mientras que la menor humedad higroscópica fue registrada en muestras de *I. dumosa*, variando desde 4,2 hasta 4,7g%g.

Tabla III.41. Valor nutricional y composición de droga cruda de *Ilex dumosa*, *I. paraguariensis* y su mezcla 70:30 (p/p)

Parámetros nutricionales	<i>Ilex dumosa</i> (ID) g%g sobre peso seco	<i>I. paraguariensis</i> (IP) g%g sobre peso seco	Mezcla ID+IP (70:30 p/p) g%g sobre peso seco
Humedad de equilibrio (Pérdida de masa a 103°C)	4,46 ± 0,19	4,98 ± 0,21	4,63 ± 0,32
Proteínas	2,87 ± 0,38	3,04 ± 0,56	2,98 ± 0,69
Grasas Totales	0	0	0
Colesterol	0	0	0
Carbohidratos	16,87 ± 0,53	21,71 ± 1,32	18,28 ± 0,86
Fibra Dietaria Total	20,18 ± 0,16	22,81 ± 0,34	20,96 ± 0,28
Cenizas Totales*	4,33 ± 0,24	5,77 ± 0,47	4,76 ± 0,43
Nitrógeno Total	1,29 ± 0,34	1,99 ± 0,63	1,50 ± 0,47
Cafeína	0,17 ± 0,05	1,45 ± 0,11	0,563 ± 0,08
Ácidos Clorogénicos	5,57 ± 0,32	14,73 ± 0,57	8,32 ± 0,18

*La composición elemental es analizada en particular en el apartado (4)

Los demás valores nutricionales también resultaron mayores en *I. paraguariensis*, y en algunos casos se presentaron diferencias significativas entre muestras de ambas especies. Así, las **proteínas** oscilaron entre 2,3 hasta 4g%g, con una variación continua de los valores muestrales desde en el límite inferior (que corresponden a los de *I. dumosa*) hasta el límite superior (los de *I. paraguariensis*).

Una situación semejante se presentó en el nivel de **nitrógeno total**, oscilando entre 0,9 y 2,7g%g. En cambio, en el nivel de **carbohidratos**, **fibras dietarias** y **cenizas**, se presentaron diferencias apreciables (pero no significativas) entre muestras de ambas especies.

A su vez, se destacó el bajo porcentaje de **cafeína** de las muestras de *I. dumosa* (desde 0,1 hasta 0,25g%g) en comparación con las correspondientes a *I. paraguariensis* (1,25 hasta 1,7g%g), con diferencias altamente significativas entre las dos poblaciones de datos. Otro tanto se puede afirmar del contenido en **ácidos clorogénicos**, ya que variaron entre 5,1 a 6g%g en *I. dumosa*, mientras que las muestras de *I. paraguariensis* mostraron valores entre 14 y 16 g%g. En ninguna de las especies fueron detectadas **grasas**.

En cuanto a la mezcla de *I. dumosa* con *I. paraguariensis*, los valores analíticos resultaron estrechamente correlacionados con la relación 70:30 en que fuera preparada.

2. VALOR NUTRICIONAL DE CEBADURA (EXTRACTO ACUOSO DISCONTINUO)

Se han hallado notables diferencias en la contribución que cada porción de cebadura de cada especie realiza a la dieta, ya que *I. paraguariensis* aporta mayor porcentaje que *I. dumosa* en todos los parámetros nutricionales (Tabla III.42).

Tabla III.42. Valor nutricional por porción de “cebadura” de *Ilex dumosa*, *I. paraguariensis* y de su mezcla 70:30 (p/p)

Parámetros nutricionales	Unidades	Ingesta diaria ⁽⁰⁾	<i>Ilex dumosa</i> (ID)		<i>Ilex paraguariensis</i> (IP)		Mezcla ID+IP (70:30 p/p)	
			Cebadura ¹	%VD ²	Cebadura ¹	%VD ²	Cebadura ¹	%VD ²
Valor energético ²	kcal	2.000	36,81 ± 2,83	1,70-1,98	46,12 ± 5,72	2,02-2,59	39,41 ± 1,94	1,87-2,06
	kJ	8.400	154,9 ± 11,9		194,2 ± 24,1		165,9 ± 7,7	
Proteínas	g	46-56	1,15 ± 0,082	2-2,7	1,31 ± 0,19	2-3,2	1,19 ± 0,07	2,4-3
Grasas Totales	g	Indet.	0	0	0	0	0	0
Colesterol	g	-	0	0	0	0	0	0
Carbohidratos	g	130	8,05 ± 0,66	5,6-7	10,22 ± 1,24	7-6,8	8,66 ± 0,41	6,3-7
Fibra Dietaria Total	g	25-38	0	0	0	0	0	0
Vitamina A (RE)	µg	800	73,76 ± 16,19	7-11,2	84,1 ± 20,5	8-13	78,62 ± 25,59	6,5-13
Tiamina (B ₁)	mg	1,1	0,543 ± 0,216	29-69	0,688 ± 0,159	48-77	0,579 ± 0,175	37-68
Riboflavina (B ₂)	mg	1,4	0,247 ± 0,087	11-24	0,386 ± 0,137	18-37	0,294 ± 0,093	14-28
Niacina (B ₃)	mg	16	0,988 ± 0,106	5,5-7	1,22 ± 0,35	5,5-10	1,15 ± 0,242	5,7-9
Ác. Pantoténico(B ₅)	mg	6	1,87 ± 0,59	21-41	2,03 ± 0,77	21-47	1,98 ± 0,73	21-45
Piridoxina (B ₆)	mg	1,3	0,491 ± 0,137	27-48	0,447 ± 0,189	20-49	0,487 ± 0,161	25-50
Ác. Fólico (B ₉)	µg	200-400	37,19 ± 7,06	7-22	40,43 ± 8,49	8-24,5	38,31 ± 9,73	7-24
Cianocobalamina (B ₁₂)	µg	2,5	0,562 ± 0,213	14-31	0,454 ± 0,187	11-26	0,519 ± 0,234	11-30
Ác. L-ascórbico (C)	mg	80	2,48 ± 0,56	2,4-4	3,07 ± 0,73	3-4,7	2,72 ± 0,69	2,5-4
Extracto Seco	g	-	12,24 ± 1,36	-	14,54 ± 1,67	-	12,93 ± 1,15	-
Cenizas Totales*	g	-	1,29 ± 0,22	-	1,63 ± 0,38	-	1,39 ± 0,27	-
Nitrógeno Total	g	-	0,11 ± 0,04	-	0,27 ± 0,09	-	0,18 ± 0,05	-
Cafeína	g	-	0,06 ± 0,007	-	0,50 ± 0,09	-	0,19 ± 0,06	-
Ác. Clorogénicos	g	-	1,54 ± 0,35	-	3,11 ± 0,78	-	2,03 ± 0,51	-

Ref.: (0) Según DRIs (Dietary Reference Intakes) y otras estimaciones, basadas en los requerimientos de hombres y mujeres entre 19-50 años de edad.- (1) Tamaño de porción: 50g:500ml.- (2) % del Valor Dietario (VD) sobre la base de una dieta diaria de 2000 kcal u 8400 kJ, de acuerdo al Reglamento Técnico del Mercosur. (RE) Retinol Equivalente para vitamina A.- *La composición elemental es desarrollada en el apartado (4).

Así, la porción de cebadura de *I. paraguariensis* supera a *I. dumosa* en valor calórico (entre 15 y 25% mayor), proteínas totales (un 12% más altas), y carbohidratos totales (el 21% más).

Igualmente sucede con los valores de extracto seco (c. 15% mayor), nitrógeno total (60% más alto), cafeína (un 88% mayor) y ácidos clorogénicos (50% más alto). Sin embargo, la contribución de estas especies a la dieta no es significativa en los parámetros nutricionales mencionados, ya que aún el mayor aporte, registrado en carbohidratos totales, no supera el 9% del requerimiento dietario diario.

En cuanto a las vitaminas, las diferencias entre ambas especies no son significativas, mostrando una amplia variación intraespecífica. La contribución a la dieta es relativamente importante, especialmente en tiamina (en la que una dosis de cebadura suministra entre el 30 y el 77% de la ingesta diaria), y con valores menores aunque interesantes, riboflavina, ácido pantoténico, piridoxina y cianocobalamina.

Respecto a la mezcla de ambas especies, el aporte nutricional tiene lugar en una proporción relacionada linealmente con la razón de esa mezcla.

3. VALOR NUTRICIONAL DEL MATE COCIDO (INFUSIÓN AL 1,5%)

Los parámetros nutricionales de la infusión al 1.5% también muestran diferencias en más a favor de *I. paraguariensis*, con porcentajes casi proporcionales a los hallados en la cebadura (Tabla III.43).

En base a un tamaño de porción sensiblemente menor, la infusión al 1,5% no realiza un aporte significativo a los requerimientos dietarios diarios; por ejemplo, aporta menos del 0,5% del requerimiento diario en carbohidratos, el parámetro nutricional más elevado que presenta la infusión de *I. paraguariensis*.

Al igual que en la cebadura, la infusión al 1,5% de la mezcla de droga cruda de ambas especies aporta valores dietarios proporcionados a la razón de esa mezcla.

Tabla III.43. Valor Nutricional por Porción de “Mate Cocido” (infusión al 1.5%) de *Ilex dumosa*, *I. paraguariensis* y de su mezcla 70:30 (p/p)

Parámetros nutricionales	Unidades	Ingesta diaria ⁽⁰⁾	<i>Ilex dumosa</i> (ID)		<i>Ilex paraguariensis</i> (IP)		Mezcla ID+IP (70:30 p/p)	
			Infusión 1,5% ⁽¹⁾	%VD ⁽²⁾	Infusión 1,5% ⁽¹⁾	%VD ⁽²⁾	Infusión 1,5% ⁽¹⁾	%VD ⁽²⁾
Valor energético (2)	kcal	2.000	2,20 ± 0,32	0,09-0,13	2,76 ± 0,36	0,12-0,16	2,32 ± 0,48	0,09-0,14
	kJ	8.400	9,26 ± 1,35		11,62 ± 1,52		9,77 ± 1,34	
Proteínas	g	46-56	0,07 ± 0,01	0,1-0,15	0,08 ± 0,01	0,1-0,2	0,07 ± 0,01	0,1-0,2
Grasas Totales	g	Indet.	0	0	0	0	0	0
Colesterol	mg	-	0	0	0	0	0	0
Carbohidratos	g	130	0,48 ± 0,07	0,3-0,4	0,61 ± 0,08	0,4-0,5	0,51 ± 0,07	0,3-0,4
Fibra Dietaria Total	g	25-38	0	0	0	0	0	0
Vitamina A (RE)	µg	800	4,38 ± 1,9	0,4-0,7	5,21 ± 1,6	0,5-1	4,69 ± 1,06	0,4-2
Tiamina (B ₁)	mg	1,1	0,036 ± 0,001	1,7-4	0,039 ± 0,094	3-4,6	0,032 ± 0,011	2-5
Riboflavina (B ₂)	mg	1,4	0,012 ± 0,007	0,6-1,4	0,019 ± 0,007	2-2,3	0,018 ± 0,004	1-1,6
Niacina (B ₃)	mg	16	0,059 ± 0,006	0,3-0,4	0,069 ± 0,013	0,3-0,6	0,066 ± 0,013	0,3-0,5
Ác. Pantoténico(B ₅)	mg	6	0,134 ± 0,029	1,3-2,4	0,129 ± 0,084	1,2-3	0,123 ± 0,076	1,3-3
Piridoxina (B ₆)	mg	1,3	0,021 ± 0,08	1,6-3	0,028 ± 0,009	1,2-3	0,026 ± 0,008	1,5-3
Ác. Fólico (B ₉)	µg	200-400	2,42 ± 0,68	0,4-1,3	2,39 ± 0,84	0,5-1,4	2,27 ± 0,76	0,4-1,4
Cianocobalamina(B ₁₂)	µg	2,5	0,031 ± 0,036	0,8-2	0,025 ± 0,008	0,7-1,6	0,036 ± 0,009	0,6-2
Ác. L-ascórbico (C)	mg	80	0,182 ± 0,064	0,1-0,2	0,179 ± 0,036	0,2-0,3	0,159 ± 0,049	0,1-0,2
Extracto Seco	g	-	0,79 ± 0,01	-	0,88 ± 0,02	-	0,81 ± 0,06	-
Cenizas Totales*	g	-	0,08 ± 0,03	-	0,11 ± 0,02	-	0,09 ± 0,02	-
Nitrógeno Total	g	-	0,01 ± 0,001	-	0,03 ± 0,005	-	0,011 ± 0,008	-
Cafeína	g	-	0,005 ± 0,001	-	0,04 ± 0,01	-	0,015 ± 0,008	-
Ácidos Clorogénicos	g	-	0,12 ± 0,006	-	0,29 ± 0,01	-	0,17 ± 0,01	-

Ref.: (1) Tamaño de porción 3g: 200ml; (2) % del Valor Dietario (VD) sobre la base de una dieta diaria de 2000 kcal u 8400 kJ.- *La composición elemental es analizada en particular en el apartado (4)

4. CONTENIDO Y VALOR NUTRICIONAL DE 32 ELEMENTOS MINERALES EN DROGA CRUDA, CEBADURA Y MATE COCIDO

Fueron obtenidos datos analíticos de 32 elementos (Ag, Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Sb, Se, Si, Sn, Sr, Th, Ti, Tl, U, V, y Zn) contenidos en muestras de droga cruda y sus infusiones, así como en la leche empleada para elaborar el “mate cocido con leche”. Ellos comprenden los principales elementos minerales esenciales cuantitativos (requeridos en >100 mg por día), elementos traza esenciales (<100mg por día) y elementos ultra-traza, útiles para la nutrición y el mantenimiento de la salud humana, junto con algunos minerales cuya importancia todavía es objeto de investigación (Bowman & Russell 2003) o que han probado presentar propiedades perjudiciales. La concentración de minerales en las muestras está representada en las Tablas por su media aritmética (promedio) y por la desviación estándar basada en material seco al aire.

4.1. DROGA CRUDA

En general, el contenido de minerales en droga cruda de *Ilex paraguariensis* resultó superior al de *I. dumosa* en todos los elementos analizados, a excepción de Zn, Cu, Ba, Sr y Th (Tabla III.44).

Entre los elementos esenciales mayoritarios, las drogas crudas contienen importantes cantidades de K, Ca, Mg, P y Na, en la misma secuencia en ambas especies vegetales y en su mezcla (Tabla III.42), aunque son más abundantes en *Ilex paraguariensis* (desde 1,2 veces más para Ca hasta 2,5 veces más para Na) que en *I. dumosa*, mientras que el contenido mineral de la mezcla está siempre directamente relacionado a su relación 70:30. Se destaca el escaso contenido de Na en ambas especies.

En cuanto a elementos traza esenciales, no fueron halladas diferencias específicas significativas en la concentración de Mn, Fe y Se, mientras que sí se presentan diferencias significativas en el contenido de Zn, Li, Cu, Ni, Co, Cr y V de ambas especies. Por último, Mo no fue detectado. El elemento traza esencial más abundante es Mn, con contenidos similares en ambas especies (c. 600-700 mg.kg⁻¹).

Tabla III.44. Contenido Mineral en Droga Cruda (PS)

Elementos	Límite detección (mg.kg ⁻¹ cenizas)	<i>Ilex dumosa</i> (ID) (mg.kg ⁻¹ PS) (n=10)	<i>Ilex paraguariensis</i> (IP) (mg.kg ⁻¹ PS) (n=10)	Mezcla ID+IP (70:30 p/p) (mg.kg ⁻¹ PS) (n=10)
Elementos Esenciales Cuantitativos (requerimientos >100 mg.día⁻¹)				
K	0,45	7.957,9 ± 615,6	11.352,1 ± 1.271,4	8.254,3 ± 957,5
Ca	0,021	6.266,3 ± 557,7	7.688,2 ± 1.256,2	6.856,7 ± 1.270,1
Mg	0,06	5.246,2 ± 629,5	6.988,1 ± 1.340,1	5.959,5 ± 869,3
P	0,15	640,7 ± 41,3	1.371,3 ± 259,5	823,1 ± 98,5
Na	0,06	148,1 ± 10,8	372,2 ± 54,7	230,7 ± 27,6
Elementos Esenciales Traza (requerimientos <100 mg.día⁻¹)				
Mn	0,003	630,7 ± 79,9	684,6 ± 148,5	648,2 ± 177,5
Fe	0,012	104,2 ± 13,2	124,1 ± 30,6	109,0 ± 8,7
Zn	0,006	89,97 ± 9,64	37,62 ± 7,28	76,82 ± 21,81
Cu	0,009	15,36 ± 3,31	8,74 ± 1,86	12,73 ± 3,02
Ni	0,03	2,75 ± 0,36	4,91 ± 1,55	3,42 ± 0,64
Co	0,006	0,313 ± 0,027	0,634 ± 0,182	0,396 ± 0,085
Cr	0,012	0,398 ± 0,062	0,997 ± 0,259	0,594 ± 0,159
Se	0,15	0,642 ± 0,115	0,792 ± 0,088	0,698 ± 0,241
V	0,009	0,191 ± 0,086	0,529 ± 0,115	0,272 ± 0,077
Mo	0,015	nd	<ld	nd
Elementos Ultra-traza y Otros				
Si	0,06	137,9 ± 14,8	333,2 ± 42,1	189,1 ± 42,3
B	0,009	59,93 ± 12,58	92,02 ± 16,19	72,74 ± 15,97
Al	0,06	295,8 ± 43,3	642,7 ± 95,7	412,8 ± 92,4
Ba	0,003	97,27 ± 15,89	84,98 ± 19,83	95,24 ± 18,67
Sr	0,001	88,03 ± 13,63	46,04 ± 9,83	76,06 ± 9,88
Li	0,006	7,78 ± 1,57	22,82 ± 4,67	13,09 ± 1,95
Ti	0,006	3,46 ± 0,87	7,62 ± 1,90	4,89 ± 0,76
Th	0,09	3,44 ± 0,64	2,55 ± 0,71	3,12 ± 1,06
Pb	0,084	0,834 ± 0,268	2,91 ± 0,56	1,26 ± 0,35
Sb	0,063	0,352 ± 0,115	0,614 ± 0,091	0,477 ± 0,114

Referencias: PS: peso seco de droga cruda; ld: límite de detección; nd: no detectado.- **Nota I:** los elementos ultra-traza Ag, As, Cd, Hg, Sn, Tl y U fueron detectados por debajo del límite instrumental en las dos especies y en su mezcla

El más abundante elemento ultra-traza es Al, seguido por Si; en ambos casos la concentración es significativamente mayor en *I. paraguariensis*, duplicando a la de *I. dumosa*. Por el contrario, Sr se presenta más abundante en *I. dumosa*, y en cuanto a Ba, las concentraciones en ambas especies son similares.

Otros elementos (Th, Ti, Pb, y Sb) están presentes en baja concentración (menor a 4 mg.kg⁻¹) en la droga cruda de ambas especies, y los demás elementos analizados (Ag, As, Cd, Hg, Sn, Tl y U) fueron hallados por debajo del límite de detección del instrumental.

4.2. CEBADURA (INFUSIÓN DISCONTINUA)

La cebadura de estas especies puede ser considerada una fuente de Mg, Mn, Fe, Cu y Al, ya que una porción proporciona más del 15% de la dieta de referencia de cada uno de ellos (Tabla III.45).

Tabla III.45. Contribución de la Cebadura a la Ingesta Recomendada de Minerales⁽¹⁾

Elementos	DRI y/o UL ⁽¹⁾ (mg.día ⁻¹)	<i>Ilex dumosa</i> (n=10)		<i>I. paraguariensis</i> (n=10)		Mezcla ID+IP 70:30 (p/p) (n=10)	
		mg por porción ⁽²⁾	Contribución a la DRI/UL (%)	mg por porción ⁽²⁾	Contribución a la DRI/UL (%)	mg por porción ⁽²⁾	Contribución a la DRI/UL (%)
Elementos Esenciales Cuantitativos (requerimientos >100 mg.día⁻¹)							
K	4700 ^a	354,1±77,8	7,53 ^a	476,8±85,3	10,14 ^a	393,3±69,2	8,37 ^a
Ca	1000-1200 ^a ; 2500 ^b	25,59±3,03	2,1-2,6 ^a 1,02 ^b	7,69±1,42	0,64-0,77 ^a 0,3 ^b	19,89±4,56	1,65-1,99 ^a 0,8 ^b
Mg	310-320 ^c ; 350 ^b	136,4±30,1	42,6-44 ^c 12,2 ^b	129,3±42,3	40,4-41,7 ^c 36,9 ^b	141,3±35,6	44,1-45,5 ^c 40,4 ^b
P	700 ^c ; 4000 ^b	20,38±5,76	2,9 ^c 0,5 ^b	37,71±4,9	5,4 ^c 0,9 ^b	23,99±5,15	3,4 ^c 0,6 ^b
Na	1500 ^a ; 2300 ^b	6,21±0,89	0,4 ^a 0,3 ^b	16,01±1,4	1,1 ^a 0,7 ^b	8,49±1,22	0,6 ^a 0,4 ^b
Elementos Esenciales Traza (requerimientos <100 mg.día⁻¹)							
Mn	1,8-2,3 ^a ; 11 ^b	23,62±3,51	1.026-1.312 ^a	15,75±3,88	684-875 ^a	21,08±4,99	916-1.171 ^a
Fe	8-18 ^c ; 45 ^b	3,02±0,36	16,8-37,7 ^c 6,7 ^b	2,73±0,73	15,2-34,1 ^c 6,1 ^b	2,96±0,52	16,4-37 ^c 6,6 ^b
Zn	8-11 ^c ; 40 ^b	1,08±0,14	9,82-13,5 ^c 2,7 ^b	0,653±0,132	4,81-8,12 ^c 1,6 ^b	0,994±0,266	9-12,4 ^c 2,5 ^b
Cu	0,9 ^c ; 10 ^b	0,296±0,069	32,2 ^c 0,6 ^b	0,327±0,096	35,5 ^c 0,9 ^b	0,262±0,056	28,9 ^c 0,6 ^b
Ni	no establecido ^a	0,072±0,016	7 ^b	0,105±0,029	10 ^b	0,081±0,033	8 ^b
Co	no establecido ^a	0,004±0,001	-	0,011±0,003	-	0,008±0,002	-
Elementos Ultra-traza y Otros							
Si	no establecido ^a	2,26±0,37	-	5,04±1,25	-	3,24±0,79	-
B	20 ^b	0,269±0,084	1,3 ^b	0,146±0,033	0,7 ^b	0,219±0,049	1,05 ^b
Al	2-10 ^d	0,275±0,050	2,7-13,5 ^d	0,646±0,121	6,4-32 ^d	0,369±0,074	3,6-18 ^d
Ba	8-11 ^c ; 40 ^b	0,198±0,049	1,7-2,4 ^c 0,1 ^b	0,174±0,037	1,54-2,12 ^c 0,4 ^b	0,185±0,238	1,6-2,2 ^c 0,5 ^b
Sr	no establecido ^a	0,152±0,019	-	0,211±0,039	-	0,173±0,052	-
Li	0,2-0,6 ^d	0,008±0,003	1,33-4 ^d	0,026±0,005	3,33-10 ^d	0,018±0,005	1,67-5 ^d

Ref.: ⁽¹⁾ Calculada sobre la base de las DRIs (Dietary Reference Intakes) y/o de las ULs (Tolerable Upper Intake), basadas en los requerimientos de hombres y mujeres entre 19-50 años de edad, donde ^(a) es la Ingesta Adecuada (Adequate Intake, AI, www.nap.edu); ^(b) Tolerancia máxima de ingesta (Tolerable Upper Level, UL); ^(c) Asignación dietaria recomendada (Recommended Dietary Allowance, RDA, www.nap.edu); ^(d) Ingesta diaria típica (Typical Daily Intake, Nielsen 2003); ^(e) Ingesta dietaria estimada (Estimated Dietary Intake, COT 2003). - ⁽²⁾ Tamaño de porción: 50g de droga cruda en 500 mL de agua pura recientemente hervida (c. 84°C).

Nota I: Los elementos traза esenciales Cr, Se, V y Mo no fueron detectados en la cebadura. - **Nota II:** Los elementos ultra-traза Ti, Th, Pb, Sb, Ag, As, Cd, Hg, Sn, Tl, y U no fueron detectadas en la cebadura.

Mn está presente en grandes cantidades (especialmente en el caso de *I. dumosa*), muy por encima del límite de referencia de la ingesta diaria, que es de 11 mg.día⁻¹.

También cubre entre el 40 y el 45% de las necesidades diarias de Mg, entre 15-38% de la demanda de Fe, 28-35% de las necesidades de Cu, y entre 7,5 a 10% de la demanda de K. En cuanto a la contribución de Al, es mayor en la cebadura de *I. paraguariensis* (entre 6-32%), reduciéndose progresivamente en la mezcla (18.03%) y en *I. dumosa* (13.2%).

Otra contribución importante es la de Zn (aprox. 5.13%), y en menor medida lo son las de Ca, P, Li, Ni y Ba.

4.3. MATE COCIDO (INFUSIÓN AL 1,5%)

En el mate cocido de ambas especies y en su mezcla 70:30 (p/p) sólo 3 elementos (Mn, Mg y Cu) aparecen en cantidades apreciables, como muestra la Tabla III.46.

Tabla III.46. Contribución de la Infusión al 1.5% (“Mate Cocido”) de ambas especies de *Ilex* y “Mate Cocido” a la Ingesta Recomendada de Minerales⁽¹⁾

Elementos	DRI y/o UL ⁽¹⁾ (mg.día ⁻¹)	<i>Ilex dumosa</i> (ID) (n=10)		<i>I. paraguariensis</i> (IP) (n=10)		Mezcla ID+IP 70:30 (p/p) (n=10)	
		mg por porción (2)	Contribución a DRI/UL (%)	mg por porción (2)	Contribución a DRI/UL (%)	mg por porción (2)	Contribución a DRI/UL (%)
Elementos Esenciales Cuantitativos (requerimientos >100 mg.día⁻¹)							
K	4,700 ^a	22.36 ± 3.98	0.47 ^a	32.63 ± 8.02	0.69 ^a	23.39 ± 6.05	0.5 ^a
Ca	1,000-1,200 ^a ; 2,500 ^b	1.52 ± 0.35	0.13-0.15 ^a 0.06 ^b	0.672 ± 0.096	0.05-0.07 ^a 0.03 ^b	1.02 ± 0.23	0.08-0.10 ^a 0.04 ^b
Mg	310-320 ^c ; 350 ^b	7.88 ± 1.72	2.4-2.5 ^c 2.25 ^b	7.53 ± 1.77	2.3-2.4 ^c 2.15 ^b	7.67 ± 2.14	2.4-2.5 ^c 2.2 ^b
P	700 ^c ; 4,000 ^b	1.21 ± 0.43	0.17 ^c 0.003 ^b	3.06 ± 0.77	0.44 ^c 0.08 ^b	1.64 ± 0.37	0.23 ^c 0.04 ^b
Na	1,500 ^a ; 2,300 ^b	0.346 ± 0.085	0.02 ^a	0.963 ± 0.206	0.06 ^a	0.532 ± 0.121	0.03 ^a
Elementos Esenciales Traza (requerimientos <100 mg.día⁻¹)							
Mn	1.8-2.3 ^a ; 11 ^b	1.42 ± 0.58	61.7-78.9 ^a 12.9 ^b	0.945 ± 0.295	40.9-52.2 ^a 8.6 ^b	1.18 ± 0.43	51.3-65.5 ^a 10.7 ^b
Fe	8-18 ^c ; 45 ^b	0.163 ± 0.035	0.89-2 ^c 0.36 ^b	0.181 ± 0.027	1-2.2 ^c 0.4 ^b	0.163 ± 0.052	0.89-2 ^c 0.36 ^b
Zn	8-11 ^c ; 40 ^b	0.062 ± 0.018	0.54-0.75 ^c 0.15 ^b	0.044 ± 0.010	0.36-0.51 ^c 0.11 ^b	0.057 ± 0.008	0.45-0.62 ^c 0.14 ^b
Cu	0.9 ^c ; 10 ^b	0.028 ± 0.006	3.1 ^c 0.3 ^b	0.027 ± 0.009	3.0 ^c 0.3 ^b	0.028 ± 0.009	3.1 ^c 0.3 ^b
Ni	1 ^b	<ld	-	<ld	-	<ld	-
Co	no establecido ^a	<ld	-	<ld	-	<ld	-
Elementos Ultra-traza y Otros							
Si	no establecido ^a	0.121 ± 0.028	-	0.938 ± 0.128	-	0.311 ± 0.056	-
B	20 ^b	0.025 ± 0.053	0.1 ^b	<ld	-	<ld	-
Al	2-10 ^d	<ld	-	0.043 ± 0.008	-	<ld	-
Ba	8-11 ^c ; 40 ^b	0.012 ± 0.007	0.09-0.125 ^c 0.03 ^b	0.009 ± 0.002	0.08-0.11 ^c 0.02 ^b	0.017 ± 0.004	0.09-0.125 ^c 0.04 ^b
Sr	no establecido ^a	0.013 ± 0.005	-	0.026 ± 0.009	-	0.015 ± 0.004	-
Li	0.2-0.6 ^d	<ld	-	<ld	-	<ld	-

Referencias: ld: límite de detección. - ⁽¹⁾ Calculada sobre la base de las DRIs (Dietary Reference Intakes) y/o de las ULs (Tolerable Upper Intake), basadas en los requerimientos de hombres y mujeres entre 19-50 años de edad, donde ^(a) es la Ingesta Adecuada (Adequate Intake, AI, www.nap.edu); ^(b) Tolerancia máxima de ingesta (Tolerable Upper Level, UL); ^(c) Asignación dietaria recomendada (Recommended Dietary Allowance, RDA, www.nap.edu); ^(d) Ingesta diaria típica (Typical Daily Intake, Nielsen 2003); ^(e) Ingesta dietaria estimada (Estimated Dietary Intake, COT 2003). - ⁽²⁾ Tamaño de porción: 3g de droga cruda en 200 mL de agua pura recientemente hervida (c. 84°C) y dejando en reposo 5 min.

Nota I: Los elementos traza esenciales Cr, Se, V y Mo no fueron detectados en la infusión al 1.5%. - **Nota II:** Los elementos ultra-traza Ti, Th, Pb, Sb, Ag, As, Cd, Hg, Sn, Tl y U no fueron detectadas en la infusión al 1,5%.

Una porción de infusión de las 2 especies y también de su mezcla provee entre el 40 y el 80% de los requerimientos diarios de Mn, con significativas diferencias a nivel específico: entre 60-80% de los requerimientos diarios en *I. dumosa* y entre 40-50% en *Ilex paraguariensis*, mientras que el aporte de la mezcla de ambas está directamente relacionado con su relación 70:30; por ello, tanto estas especies como sus mezclas en cualquier proporción pueden ser consideradas una importante fuente de este elemento mineral. Cu y Mg son provistos en una proporción de 3% y 2.3-2.5% de las IDR, respectivamente, con pequeñas diferencias entre las especies. Por su parte, K, Ca, P, Na, Fe, Zn, Si, Ba, Na, Sr y B se encuentran en cantidades menores al 1% del requerimiento dietario diario, mientras que Li, Ni, Co, y Al aparecen por debajo del límite de detección del instrumental. Finalmente, algunos elementos traza esenciales (Cr, Se, V y Mo) y muchos elementos ultra-traza (Ti, Th, Pb, Sb, Ag, As, Cd, Hg, Sn, Tl, y U) no fueron detectados en estas formas de infusión.

5. CONCLUSIONES SOBRE EL VALOR NUTRICIONAL

Desde el punto de vista nutricional, no puede establecerse diferencias interespecíficas significativas entre los extractos acuosos obtenidos a partir de *I. paraguariensis* e *I. dumosa*; en cambio, hay una sustantiva diferencia cuantitativa entre cada tipo de extracto (a favor de la cebadura), en función de la cantidad de materia seca y de solvente utilizados en la preparación de cada porción. En cuanto a la mezcla de *I. dumosa* con *I. paraguariensis*, los valores analíticos resultaron estrechamente correlacionados con la proporción 70:30 con que fue preparada.

Los parámetros analizados resultaron en general más altos en *I. paraguariensis* que en *I. dumosa*, sobre todo en valor calórico, carbohidratos, cenizas, cafeína, ácidos clorogénicos y algunos elementos minerales; otros (proteínas, nitrógeno total, vitaminas y algunos minerales) mostraron valores muy semejantes, y finalmente unos pocos minerales resultaron de mayor magnitud en *I. dumosa*, basado esto en la mayor extractabilidad que presenta esta especie. Por su parte, en ningún caso fueron detectadas grasas ni fibras dietarias.

Entre los minerales, es destacable el aporte nutricional que realiza la ingesta de una porción de cebadura de ambas especies: el total del requerimiento diario de Mn, el 20% del Cu y ca. 40% del Mg, mientras que la porción de cebadura de *I. dumosa* aporta la totalidad del Zn, del cual *I. paraguariensis* sólo aporta el 20%, cubriendo en cambio el 16 % de los requerimientos de K mientras que la de *Ilex dumosa* sólo el 10%.

Por su parte, y a excepción del Mn, la porción de mate cocido de ambas especies no genera un aporte significativo de los elementos analizados en relación a los valores diarios recomendados.

Considerando los estándares establecidos por el CAA, los productos aquí analizados se encuentran comprendidos en las denominaciones “yerba mate” (*Ilex paraguariensis*) y “dumosa” (*Ilex dumosa*), y su composición está incluida en la variabilidad permitida por dicho Código para ambos productos.



A través de los estudios llevados a cabo durante el presente trabajo, se ha arribado a interesantes conclusiones en los aspectos farmacobotánicos, farmacognósticos, químicos, tecnológicos y nutricionales acerca de dos especies estrechamente relacionadas, con amplio uso popular en el Cono Sur de América: *Ilex dumosa* Reissek, “dumosa” o “yerba señorita”, e *I. paraguariensis* A. St.-Hil., “yerba mate” (Aquifoliaceae).

Se ha establecido los caracteres diacríticos diferenciales entre las especies estudiadas, se ha identificado adulterantes no congénéricos, se ha establecido los parámetros nutricionales comparativos, y finalmente se ha aportado al diseño de los procesos tecnológicos que llevaron a la inclusión de *I. dumosa* en el Código Alimentario Argentino, y a su exitosa introducción al mercado.

Las principales conclusiones y los aportes originales de la presente Tesis se detallan a continuación.

1. Aspectos Morfoanatómicos y Micrográficos

Se contribuyó a la optimización del control de calidad de las drogas crudas derivadas de *Ilex dumosa* y de *I. paraguariensis*. Recientemente se ha comunicado algunas de las conclusiones farmacobotánicas de este estudio (Maiocchi *et al.* 2011.a).

- ◆ Ambas especies pueden ser distinguidas por sus caracteres morfoanatómicos, particularmente por el ámbito y margen foliares, y algunos de sus parámetros micrográficos (número de estomas de la epidermis superior, número de islotes y número de terminales de nerviación) resultan determinantes para el control de calidad de las muestras comerciales, particularmente cuando éstas se hallan reducidas a una granulometría muy pequeña, como en el caso de la yerba elaborada y los saquitos para infusión.
- ◆ Entre los parámetros micrográficos cuantitativos calculados para ambas especies, el número de islotes (NI) y el número de terminales de nerviación (NTN) son comunicados por primera vez.
- ◆ Se detectó la presencia de dos adulterantes no congénéricos en “yerba mate”: *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae) y *Ligustrum lucidum* Aiton (Oleaceae), de los cuales se comunica por primera vez sus parámetros micrográficos comparativos: número de

estomas (NE) e índice de estomas (IE) de ambas superficies, relación de empalizada (Remp), número de islotes (NI) y número de terminales de nerviación (NTN).

2. Aspectos Físico-químicos y Nutricionales

Los valores nutricionales de la droga cruda y los extractos acuosos (extracto acuoso discontinuo de 50g de materia seca procesada en 500ml de agua de reciente hervor, llamado aquí y en adelante “*cebadura*”, e infusión al 1,5%, llamada aquí y en adelante “*mate cocido*”) de *I. dumosa* e *I. paraguariensis* no mostraron diferencias interespecíficas cualitativas, aunque sí una sustantiva diferencia cuantitativa en algunos de los parámetros analizados.

Las propiedades físico-químicas de los extractos acuosos han sido objeto de una reciente comunicación en el curso de nuestros estudios (Maiocchi *et al.* 2011 b), al igual que información sobre el valor nutricional comparativo de ambas especies en estudio (Maiocchi *et al.* 2011c).

- ◆ En función de la cantidad de materia seca y de solvente utilizados en la preparación de cada porción, la cebadura supera significativamente al mate cocido en los valores alcanzados por muestras de ambas especies. En las dos formas de consumo se observó una menor remoción de extracto en *I. dumosa*.
- ◆ En cuanto a la mezcla de *I. dumosa* con *I. paraguariensis*, los valores analíticos resultaron estrechamente correlacionados con la proporción 70:30 con que fue preparada.
- ◆ Los parámetros analizados resultaron en general más altos en *I. paraguariensis* que en *I. dumosa*, sobre todo en valor calórico, carbohidratos, cenizas, cafeína, ácidos clorogénicos y algunos elementos minerales; otros (proteínas, nitrógeno total, vitaminas y algunos minerales) mostraron valores muy semejantes, y finalmente unos pocos minerales resultaron de mayor magnitud en *I. dumosa*, basado esto en la mayor extractabilidad que presenta esta especie. En cuanto a la fibra dietaria, es mayor en la droga cruda de *I. paraguariensis*, y resulta nula en los extractos acuosos. Por su parte, en ningún caso fueron detectadas grasas.

2.1. Cafeína

Se destacó sobre todo el bajo porcentaje de cafeína de las muestras de *I. dumosa* (0,1-0,25g%g) en comparación con las correspondientes a *I. paraguariensis* (1,25-1,7g%g), con diferencias altamente significativas entre las dos poblaciones de datos.

- ◆ Se concluye que el contenido de cafeína en extractos acuosos de *I. dumosa* es 8-9 veces inferior al de extractos de *I. paraguariensis*; por ello, la ingesta de una porción de mate cocido de *I. paraguariensis* aporta 8 veces más cafeína que una de *I. dumosa*.
- ◆ En cebadura se extrajo el 63% de la cafeína de *I. paraguariensis* y el 85% de *I. dumosa*. En una serie de 10 mates, los perfiles de extracción de cafeína aumentaron hasta el mate 5° en *I. paraguariensis*, y hasta el 3° y 4° mate en *I. dumosa*, con una disminución gradual en las sucesivas extracciones.
- ◆ La cantidad de cafeína que aportan 5 cebaduras de *I. dumosa* equivale a 1 de *I. paraguariensis*.
- ◆ La extractabilidad de cafeína bajo la forma de mate cocido es similar en las dos especies: 93% en *I. paraguariensis* y 95% en *I. dumosa*.

2.2. Fenoles totales, Ácidos clorogénicos y Actividad antioxidante

- ◆ Los fenoles totales han sido extraídos en ambas especies, y en las dos formas de extractos acuosos ensayados (cebadura y mate cocido) en una proporción del 70%, aunque en *I. paraguariensis* la cantidad total duplica a la extraída a partir de *Ilex dumosa*.
- ◆ Entre los polifenoles de *Ilex paraguariensis* destacan los cafeoil derivados, representados sobre todo por ácidos clorogénico, isoclorogénico y neoclorogénico.
- ◆ Los ácidos clorogénicos están contenidos en mayor proporción en la droga cruda de *I. paraguariensis* (14-16g%g) que en *I. dumosa* (5,1-6g%g), sucediendo lo mismo con cebadura y mate cocido (2,6 y 2,3 veces más en *I. paraguariensis*, respectivamente).
- ◆ En las dos especies analizadas, los ácidos clorogénicos son los principales responsables de la actividad antioxidante, ya que representan casi el 80% de los fenoles totales hallados en *I. paraguariensis*, y el 56% de los correspondientes a *I. dumosa*.
- ◆ La actividad antioxidante de *I. paraguariensis* es casi 3 veces más alta que la de *I. dumosa* tanto en cebadura como en mate cocido.

- ◆ Los ácidos clorogénicos presentes en la cebadura son responsables del 89% de la actividad antioxidante en *I. paraguariensis* y del 94% en *I. dumosa*; en el caso del mate cocido representan el 64% en *I. paraguariensis* y el 76% en *I. dumosa*.
- ◆ Un análisis de la capacidad antioxidante de *I. paraguariensis* ha sido comunicada en el curso de nuestros estudios por Chaves, Maiocchi, Sgroppo & Avanza (2002), demostrando que la actividad antioxidante in-vitro de *I. paraguariensis* resultó mayor que la del “té verde” (*Camellia sinensis*) mientras que la de *Ilex dumosa* fue superior a la del “té negro”.

2.3. Minerales (elementos esenciales mayoritarios y elementos traza esenciales)

En general, la concentración de todos los elementos minerales es mayor en *I. paraguariensis* que en *I. dumosa*. Por su parte, el contenido mineral de la mezcla está siempre directamente relacionado a su razón 70:30. Se destaca el alto contenido en Mn y el escaso contenido de Na en ambas especies.

Un análisis preliminar sobre la composición mineral de ambas especies fue comunicado en el curso de nuestros estudios (Maiocchi *et al.* 2002).

2.3.1. Cenizas

- ◆ El aporte de cenizas en droga cruda de *I. paraguariensis* es aproximadamente 20% mayor que el de *I. dumosa*; las cenizas en cebadura y en mate cocido también son mayores en la “yerba mate” (20 y 40% más que en *I. dumosa*, respectivamente).
- ◆ Los perfiles de extracción de cenizas aumentan hasta el mate n° 3 y luego disminuyen gradualmente.

2.3.2. Elementos minerales en droga cruda

- ◆ Las drogas crudas contienen importantes cantidades de elementos esenciales mayoritarios (K>Ca>Mg>P>Na), siempre en mayor proporción en *I. paraguariensis* (desde 1,2 veces más para Ca hasta 2,5 veces más para Na) que en *I. dumosa*. El contenido en Na es considerado bajo.
- ◆ En cuanto a elementos traza esenciales, el orden de magnitud es Mn>Fe>Zn>Cu en ambas especies. No se hallaron diferencias específicas significativas en la concentración de Mn,

Fe y Se, pero en Zn, Li, Cu, Ni, Co, Cr y V se presentaron importantes diferencias en ambas especies.

- ◆ La cantidad de Zn en *I. dumosa* es diez veces mayor que en *I. paraguariensis*, mientras que la de Cu representa el doble.
- ◆ El contenido de Fe es bajo en las dos especies, con valores próximos.
- ◆ Mo no fue detectado, mientras que el elemento traza esencial más abundante es Mn, con contenidos similares en ambas especies (ca. 600-700 mg.kg⁻¹).

2.3.3. Elementos minerales en cebadura

- ◆ La cebadura de estas especies puede ser considerada una fuente de Mg, Mn, Fe, Cu y Al, ya que una porción proporciona más del 15% de los requerimientos diarios de cada uno de ellos.
- ◆ Es destacable el aporte nutricional de la ingesta de una porción de cebadura de ambas especies: incluye el total del requerimiento diario de Mn, el 20% de Cu y el 40% de Mg.
- ◆ Una porción de *I. dumosa* aporta la totalidad del Zn, del cual *I. paraguariensis* sólo aporta el 20%, cubriendo en cambio el 16% de los requerimientos de K, mientras que la de *I. dumosa* sólo contribuye con el 10% de las necesidades diarias de este elemento.
- La extracción de los minerales en cebadura es variable: con alta extractabilidad (>70%), en ambas especies Na, K y Cu, en *I. dumosa* Fe (su cebadura aporta 70% más de hierro) y en *I. paraguariensis* Zn; con mediana extractabilidad (35-50%), Mg en ambas especies (de una serie de 10 mates, se extrae entre en 50 y 60% de Mg entre los mates 2 al 4), Zn y Mn en *I. dumosa*, y Fe en *I. paraguariensis*; y con bajos valores de extractabilidad (<12%), Ca, en ambas especies.
- Se encontró una baja concentración de Na en ambas especies, aunque la cebadura de *I. paraguariensis* contiene un 60% más que la de *I. dumosa*. Así, de una serie de 10 mates, los 3 primeros de *I. paraguariensis* suministran el total de Na que aporta una porción de cebadura completa de *I. dumosa*.
- La cebadura de *I. paraguariensis* aporta prácticamente el doble del K que la de *I. dumosa*. Los cuatro primeros mates de *I. paraguariensis* aportan el total del K que correspondería a una porción de cebadura de *I. dumosa*.

- La cebadura de *I. dumosa* es más rica en Ca, y la cantidad total extraída quintuplica a la de *I. paraguariensis*, de manera que los dos primeros mates de *I. dumosa* aportan el total de Ca de la porción de cebadura de *I. paraguariensis*.
- Los elementos traza esenciales Cr, Se, V y Mo no fueron detectados en las cebaduras, al igual que los elementos ultra-traza Ti, Th, Pb, Sb, Ag, As, Cd, Hg, Sn, Tl, y U.

2.3.4. Elementos minerales en mate cocido

- ◆ La porción de “mate cocido” de ambas especies no realiza un aporte significativo de los elementos analizados en relación a los valores diarios recomendados, a excepción del Mn, y en menor medida Mg y Cu.
- ◆ Una porción de infusión provee entre el 40-50% (*I. paraguariensis*) y el 60-80% (*I. dumosa*) de los requerimientos diarios de Mn, ya que esta última supera en un 30% el contenido de Mn de la “yerba mate”. Por ende, ambas especies y su mezcla en cualquier proporción pueden ser consideradas una importante fuente de Mn.
- ◆ Las concentraciones de Cu y Mg son similares en infusiones de las dos especies, que aportan entre 2,3 y 3% de los requerimientos diarios.
- ◆ Algunos elementos traza esenciales (Cr, Se, V y Mo) y muchos elementos ultra-traza (Ti, Th, Pb, Sb, Ag, As, Cd, Hg, Sn, Tl, y U) no fueron detectados en las infusiones.

2.3.5. Extractabilidad de los minerales

- ◆ La extractabilidad de K, Mg, P y Na es alta (desde 94% en K hasta 37% en Mg), con variaciones interespecíficas.
- ◆ *I. dumosa* presenta mayor extractabilidad de Mg, lo cual compensa su menor concentración en esa especie.
- ◆ La alta concentración de Mn en la droga cruda de ambas especies aporta ese elemento en grandes cantidades a ambos extractos acuosos, aunque *I. dumosa* presenta mayor extractabilidad.

- ◆ Otros elementos extraídos en alta proporción fueron Fe (40-60%), Cu (35-80%) y Ni (40-50%), con escasas diferencias interespecíficas. Por la baja concentración de Ni en droga cruda, no fue detectado en el mate cocido.
- ◆ El contenido de Fe es comparativamente bajo, con valores similares en ambas especies, y los polifenoles propios de estas plantas actuarían determinando una baja dializabilidad de este elemento.
- ◆ Ca muestra una extractabilidad muy baja (2 á 8%), siempre mayor en *I. dumosa* que en yerba mate.
- ◆ Tanto Cu como Zn fueron extraídos en más alta proporción a partir de *I. paraguariensis* que de *I. dumosa*, lo cual compensa la menor concentración de ambos elementos en la droga cruda de *I. paraguariensis*.

2.3.6. Metales pesados

- Los metales pesados hallados en droga cruda en ningún caso superan los niveles máximos de seguridad establecidos por las autoridades sanitarias a nivel mundial.
- En los extractos acuosos preparados a partir de las especies de *Ilex* en estudio, los metales pesados no fueron detectados, por lo cual desde este punto de vista ambas especies constituyen drogas aptas para el consumo alimenticio y terapéutico, a las dosis usuales.

2.4. Status legal (Codificación)

Considerando los estándares establecidos por el CAA, los productos aquí analizados se encuentran comprendidos en las denominaciones “dumosa” (*Ilex dumosa*) y “yerba mate” (*Ilex paraguariensis*), y por su composición y valor nutricional están incluidas en la variabilidad permitida por dicho Código para ambos productos.

2.5. Saponinas

El extracto butanólico, que contiene la mayor parte de las saponinas, es 10 % mayor en *I. dumosa* que en *I. paraguariensis*. En el curso de este estudio, se ha comunicado ausencia de alteraciones hematológicas, renales o hepáticas en animales de experimentación sometidos

a dosis orales del extracto conteniendo saponinas de ambas especies (Kochol, Malgor, Verges, Valsecia, Mendoza & Maiocchi, 2003).

2.6. Aceites esenciales

Ambas especies muestran un bajo rendimiento en compuestos volátiles (0,05% en *I. paraguariensis* y 0,02% en *I. dumosa*).

- ◆ Aunque el 60% de los componentes volátiles identificados en *I. dumosa* fueron detectados también en *I. paraguariensis*, el *fingerprint* de compuestos volátiles permite identificar indubitablemente ambas especies, pues presentan significativas diferencias cualitativas.
- ◆ En la fracción volátil de ambas especies fueron identificados 68 compuestos químicos, de los que 28 correspondieron a *I. dumosa* y 57 a *I. paraguariensis*, mientras que 17 de ellos resultaron comunes a ambas especies.
- ◆ En el curso del presente estudio se ha dado a conocer 42 compuestos volátiles no mencionados hasta entonces para *I. paraguariensis*, y 28 para *I. dumosa* (Maiocchi *et al.* 2003).

3. Simulación y optimización de los procesos industriales

Los diversos procesos tecnológicos han sido analizados en profundidad y adaptados hasta lograr las mejores condiciones de trabajo, y su simulación a escala de laboratorio ha permitido establecer los parámetros más adecuados para lograr la mayor calidad comercial en *I. dumosa*.

- ◆ Los tratamientos térmicos del material a 25 y 35°C no mostraron cambios notorios en la coloración de las hojas en *I. dumosa*, presentándose pardeamiento localizado (bordes) a 45°C. En cambio, en *I. paraguariensis* se observaron cambios de coloración a todas las temperaturas de trabajo.
- ◆ La degradación de los ácidos clorogénicos en hojas de *I. paraguariensis* e *I. dumosa*, mantenidas en atmósfera estática de aire, es fuertemente influenciada por la temperatura, y guarda una relación directa con el pardeamiento, en las dos especies.
- En *I. paraguariensis* se presenta un pardeamiento significativo hasta las 72 hs, tanto en condiciones de 25, 35 como de 45°C, al contrario de *I. dumosa*, en que ese fenómeno no

es cuantificable en los tratamientos de 25 y 35°C hasta las 72 h, pero sí es significativo y localizado en los bordes a 45°C. Por ello, las hojas de *I. dumosa* pueden ser almacenadas a temperaturas no mayores de 35°C durante períodos de hasta 24h, mientras que las de *I. paraguariensis*, tal como se comprueba en condiciones habituales en los secaderos de yerba mate, deben ser procesadas dentro de las primeras horas desde la cosecha.

- En la simulación del zapecado, una remoción de agua del 30 al 40% en hojas recién cortadas de ambas especies se consiguió mediante el tratamiento en horno de microondas por 30s a 750W. Coincidiendo la pérdida de humedad y los tiempos con los del zapecado industrial de hojas de *Ilex paraguariensis* recién cortadas, puede considerarse equivalentes el zapecado habitual en la industria yerbatera y el tratamiento en horno de microondas en las condiciones indicadas.
- En la simulación del secado, la pérdida de agua entre la salida del zapecador (o microondas) y la entrada al secadero es de 8 a 10% para ambas especies, mientras que en el proceso total, *I. dumosa* presentó mayor velocidad de secado, para las tres temperaturas ensayadas (65, 80 y 95°C). Esto implica que esta especie requiere menos tiempo de tratamiento de secado, con la ventaja de una mayor eficiencia en el consumo de energía en este proceso.
- La humedad de equilibrio en *I. paraguariensis* resultó ligeramente superior a la de *I. dumosa*.
- Las hojas de *I. paraguariensis* presentan un mayor contenido inicial de clorofilas a y b y feofitinas a y b que las de *I. dumosa*, y la velocidad de degradación de las clorofilas a y b en *I. paraguariensis* es mayor que la de *I. dumosa*. En cambio, la transformación de feofitinas en pirofeofitinas transcurre a mayor velocidad en esta última, siendo estos procesos influenciados de manera determinante por el incremento de temperatura.

En resumen, se ha demostrado que *Ilex dumosa* resulta adecuada para su empleo como hierba para uso en cebadura e infusión, y que se adapta al procesamiento industrial actual de la “yerba mate” (*Ilex paraguariensis*) implementando algunas modificaciones técnicas.



CAPITULO V

BIBLIOGRAFIA

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso JR, 2004. *Tratado de Fitofármacos y nutraceuticos*. Buenos Aires : Corpus
- Amat AG & ME Yajía, 1998. Plantas vasculares utilizadas en la fitoterapia popular de la Provincia de Misiones (Argentina). En: AG Amat et al., *Farmacobotánica y Farmacognosia en Argentina, 1980-1998*. La Plata, Buenos Aires, Argentina: ECA. Pp. 119-52
- Amat AG, 1991. Caracteres histofoliares diferenciales de *Ilex paraguariensis* St. Hil. (Yerba mate" y su adulterante *Mangifera indica* L. (Mango). *Acta Farm Bonaer* **10** (1): 9-13
- Andersen T & J Fogh, 2001. Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients. *J Hum Nutr Diet* **14**: 243-50
- Andrade FM, 1999. Diagnóstico da cadeia produtiva da *Ilex paraguariensis* St. Hil., Erva-mate. São Mateus do Sul. 92p
- Andrés JM & F Saura, 1945. Los cromosomas de la yerba mate y otras especies del género *Ilex*. *Publ Inst Genét* (Buenos Aires) **2** (13): 1-10
- Anesini C, G Ferraro & R Filip, 2005. Peroxidase-like activity of *Ilex paraguariensis*. *Food Chem* **97** (3): 459-64
- Anselmo C, 1992. *Plantación de yerba mate. Curso de capacitación en producción de yerba mate*. INTA. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Cerro Azul. P. 23-26
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th Edition. Método n° 925-17: Caffeine in tea, p. 761. Método 957.05: Chlorogenic acid in roasted and instant coffee, p. 759
- Arçari DP, W Jr Bartchewsky, TW dos Santos, KA Oliveira, CC DeOliveira, ÉM Gotardo, J Jr Pedrazzoli, A Gambero, LF Ferraz, O Carvalho Pde, ML Ribeiro, 2009. Antiobesity effects of yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) in high-fat diet-induced obese mice. *Obesity* (Silver Spring) **17**: 2127-33
- Arnao MB, A Cano & M Acosta, 1998. Total antioxidant activity in plant material and its interest in food technology. *Recen Res Devel Agric Food Chem* **2**: 893-904
- Avanza J, J Brioux & M Gómez Vara, 1981. *Investigaciones sobre la tecnología de la yerba mate*. Informe N°2. APRYMA (Asociación Promotora de la Yerba Mate). Buenos Aires
- Azarkevich E, 1996. Misiones: técnicos de japon descubren usos industriales de la yerba mate. Diario *Clarín*, setiembre 2, p. 62
- Barnes H, J Feldman, W White, 1950. Isochlorogenic acid. Isolation from coffee and structure studies. *J Am Chem Soc* **72**: 4178-5182
- Bastos DHM, AC Fornari, YS de Queiroz & EAFS Torres, 2006 a. Bioactive compounds content of chimarrão infusions related to the moisture of yerba maté (*Ilex paraguariensis*) leaves. *Braz Arch Biol Technol* **49**(3): 399-404
- Bastos DHM, EY Ishimoto, MOM Marques, AF Ferri & EAFS Torres, 2006 b. Essential oil and antioxidant activity of green mate and mate tea (*Ilex paraguariensis*) infusions. *J Food Comp Analysis* **19**: 538-43
- Belingheri LD, 1992. Programa Yerba Mate para la obtención de clones y progenies. *Anais II Encontro Nacional sobre la Cultura da Erva Mate*, Erechim: Pag.49-62
- Belitz G, 1985. *Química de los Alimentos*. Zaragoza : Acribia

- Berté K, N Almeida Rucker & R Hoffmann Ribani. Alimentos funcionais – Chá solúvel de mate verde. En: 5° Congreso Sudamericano de la Yerba Mate. Misiones. P. 230
- Bertoni MH, MS Vigo, RG Gomes, SD Prat Kricun, RG Känzig & YP Catáneo, 1991. Hojas frescas de *Ilex paraguariensis* St. Hil. –I. Composición química general en función del grado de desarrollo (joven, intermedio y maduro) y de la época de cosecha para tres clones. *Anales Asoc Quím Argent* **79** (6): 269-76
- Bertoni MH, MS Vigo, SD Prat Kricun, RG Känzig & YP Catáneo, 1992 a. Hojas frescas de *Ilex paraguariensis* St. Hil., II. Composición química de las harinas de extracción en función del grado de desarrollo (joven, intermedio y maduro) y de la época de cosecha para tres clones. *Anales Asoc Quím Argent* **80**: 75-81
- Bertoni MH, S Prat Kricun, RG Känzig & YP Catáneo, 1992 b. Hojas frescas de especies de *Ilex paraguariensis* St. Hil., III. Influencia de las distintas etapas del proceso tradicional de elaboración de Yerba Mate (zapicado, secado, canchado y estacionamiento) sobre la composición de hoja fresca del clon 44/75, cosecha 1988 *Anales Asoc Quím Argent* **80**: 493-501
- Bertoni MH, SD Prat Kricun, RG Känzig & YP Catáneo, 1993. Hojas frescas de especies de *Ilex* (Aquifoliaceae) – IV. Composición química general de hojas de *Ilex dumosa* e *Ilex brevicuspis*. Influencia del proceso de elaboración de “Yerba mate” sobre algunos valores de composición. *Anales Asoc Quím Argent* **81** (1): 1-8
- Binaghi MJ, CB Greco, LB López, PA Ronayne de Ferrer & ME Valencia, 2008. Biodisponibilidad de hierro en la dieta infantil. *Arch Argent Pediatr* **106** (5):387-9
- Bixby M, L Spieler, T Menini & A Gugliucci, 2005. *Ilex paraguariensis* extracts are potent inhibitors of nitrosative stress: A comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. *Life Sci* **77**: 345-58
- Blumenthal M, A Goldberg & J Brinckmann, 2000. Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs. American Botanical Council, USA
- Boletín Oficial de la República Argentina, 2006. “Código Alimentario Argentino, Resolución Conjunta 41/2006-SPRRS y 641/2006-SAGPA, Sustitúyese el artículo 1192 del mencionado Código.” (Fecha: 10/10/06)
- Bonfiglio N, E Valduga, R Paiz, A Stankiewicz, D Cechette, & S Dieterich, 1997. *Avaliação dos possíveis efeitos tóxicos de extrato de Ilex dumosa Reiss parte 2. Determinações hematológicas* En: *I Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, II Reunião Técnica do Cone Sul Sobre a Cultura da Erva-Mate*. Curitiba, Brasil. Anais da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Pp. 413
- Boquet R, J Chirife, H Iglesias.1978. Equations of fitting water sorption isotherms of foods. II. Evaluation of various two parameters models. *J Food Technol* **13**: 329-37
- Bowman BA & RM Russell (eds), 2003. *Conocimientos actuales sobre nutrición*, 8° ed. Washington, DC : Organización Panamericana de la Salud, Publ. Cient. y Téc. N° 592: 297-437
- Bracco D & Y Schutz, 1995. Effects of caffeine on energy metabolism, heart rate, and methylxanthine metabolism in lean and obese women. *Am J Physiol* **269**: 671-8
- Bracesco N, M Dell, A Rocha, S Behtash, T Menini & AEN Gugliucci, 2003. Antioxidant activity of a botanical extract preparation of *Ilex paraguariensis*: prevention of DNA double-strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae* and human low-density lipoprotein oxidation. *J Altern Complement Med* **9** (3): 379–87
- Bracesco N, AG Sanchez, V Contreras, T Menini & A Gugliucci, 2010. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview. *J Ethnofarm* **136**: 378-84
- Brand Williams W, ME Cuvelier & C Berset, 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss, U-Technol* **28**:25-30
- Bridson D & L Forman, 1992. *The herbarium handbook*. Kew : Royal Botanical Garden
- Bridson GDR (ed.), 1991. B-P-H/S, Botanico-Periodicum-Huntianum/Supplementum. Pittsburgh : Hunt Institute for Botanical Documentation
- Bridson GDR, ST Townsend, EA Polen & ER Smith, 2004. BPH-2, Periodicals with botanicals content... 2° ed. de *Botanico-Periodicum-Huntianum*. Pittsburgh : Hunt Institute for Botanical Documentation. 2 vols

- Briex J, M Gómez Vara & J Avanza, 1981. *Yerba mate: La tecnología se inserta en una tradición secular*. Informes APRYMA (Asociación Promotora de la Yerba Mate), **1**: 539-54
- Brummit RK & CE Powell (eds.). 1992. *Authors of Plant Names*. Kew : Royal Botanic Gardens Cabrera AL, 1946. Nociones sobre redacción de diagnosis y terminología botánica empleada en la misma. *Bol Soc Argent Bot* **1**: 253-79
- Burgardt AC, 2000. Desenvolvimento de uma bebida utilizando extrato de Erva-mate verde (*Ilex paraguariensis* St. Hil). Dissertação do Curso de Pós-Graduação em Tecnologia Química. Curitiba : UFPR. 124 pp
- Burtnik OJ, 2006. Yerba Mate: Manual de producción. 3° ed. Santo Tomé, Corrientes : AER INTA Santo Tomé. 52 pp. il
- CAA, 2009-2010. *Código Alimentario Argentino*. ANMAT/INAME. En <http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp/>, 27/01/2011
- Cabrera AL, 1946. Nociones sobre redacción de diagnosis y terminología botánica empleada en la misma. *Bol Soc Argent Bot* **1**: 253-79
- Cabrera AL, 1965. *Compositae*. En: AL Cabrera (dir.), *Flora de la Provincia de Buenos Aires*. Colecc. Ci. Inst. Nac. Tecnol. Agropec. **4** (6): xiv, 1-443. Buenos Aires : INTA
- Cabrera AL, 1971. *Compositae*. En: MN Correa (dir.), *Flora Patagónica*. Colecc. Ci. Inst. Nac. Tecnol. Agropec. **VIII** (7). Buenos Aires : INTA
- Cabrera AL, 1974. *Compositae*. En: AE Burkart (ed.), *Flora Ilustrada de Entre Ríos*. Colecc. Ci. Inst. Nac. Tecnol. Agropecu. **6** (6a): 106-554. Buenos Aires : INTA
- Cabrera AL, 1976. *Regiones fitogeográficas argentinas*. En: WF Kugler (dir.), *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. 2ª. ed., vol. 2, fasc. 1: 1-85. Buenos Aires : Acme
- Cabrera AL, 1978. *Compositae*. En: AL Cabrera (dir.), *Flora de la provincia de Jujuy*. Colecc. Ci. Inst. Nac. Tecnol. Agropecu. **XII** (10). Buenos Aires : INTA
- Cañigueral S, R Vila & M Wichtl (eds.), 1998. Plantas medicinales y drogas vegetales para infusión y tisana. Manual para Farmacéuticos y Médicos. Milán : OEMF Intl
- Cao G, E Sofic & RL Prior 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids; structure-activity relationship. Free radical. *Biol Med* **22**: 749-60
- Carlquist S, 1961. *Comparative plant anatomy*. New York : Holt, Rinehart & Winston
- Carey F, 1999. *Química Orgánica*. Tercera Edición. Madrid : Mc Graw Hill
- Castellanos A, 1944. *Instrucciones para formar herbarios*. Tucumán : Instituto Lillo
- Celsi SA, GN Dalesio, LR Fontana & NA Iribarren, 1984. *Definiciones fundamentales*. En: J Helman (ed.), *Farmacotecnia Teoría y Práctica*, 4ta. reimpr. México : CECSA
- Ceni GC, EM Baldiserra, M dos Santos Primo, AO Ceva, C Antunes Dariva, JV de Oliveira, D de Oliveira, 2009. Influence of application of microwave energy on quality parameters of mate tea leaves (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). *Food Technol Biotechnol* **47**: 221-26
- Chaves M, M Maiocchi, S Sgroppo & J Avanza, 2002. Poder antioxidante de infusiones de *Ilex paraguariensis* (St. Hil.). *Rev Inf Tecn* **13**: 1-8
- Chaves M, M Maiocchi, S Sgroppo, & J Avanza, 2000. Poder antioxidante de infusiones de *Ilex paraguariensis* e *Ilex dumosa*, su relación con el contenido de ácidos clorogénicos y condiciones de procesamiento. *XXIII Congreso Argentino de Química*. Corrientes. Pp. 21
- Chile, 1996. Reglamento Sanitario de los Alimentos: "De la Yerba Mate" Art. 454. Decreto Supremo n° 977/96, párrafo II, pp 156-7
- Chiffa C, A Ricciardi, 1998. Estudio fitoquímico de órganos activos en plantas del Chaco Argentino: Saponinas. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas Universidad Nacional del Nordeste **8**: 117-19

- Coelho GC, 2000. Variabilidade morfológica e química da erva-mate. Em: 2° Congresso Sul-Americano da Erva-Mate e 3° Reunião Técnica da Erva-Mate. Anais. Porto Alegre : Edigraf. p. 125
- Coelho GC, M Rachwal, E Schnorrenberger & EP Schenkel, 2000. Efeito do sombreamento sobre a sobrevivência, morfologia e química da erva-mate. En: 2° Congresso Sul-Americano da Erva-Mate e 3° Reunião Técnica da Erva-Mate. Anais. Porto Alegre : UFRS/Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária. Pp. 396-9
- CONAL, 2003. *Comisión Nacional de Alimentos*. Reunión Plenaria 24, 25 y 26 de Junio de 2003. Acta N°57 – Tema 11. Exp. N°1-0047-2110-4245-02-09: *Ilex dumosa*
- CONAL, 2010 *Comisión Nacional de Alimentos* Expedientes 2007 a 2010. En <<http://www.conal.gov.ar/>>, 27/01/11
- CONAMATE (Comissão Nacional da Erva-Mate), 1997. Diagnóstico do Setor Ervateiro Brasileiro. Curitiba : CONAMATE. 18 pp
- Consejo Federal de Inversiones, 2010. Exportaciones de Yerba Mate de Corrientes. En: 27/01/11. <<http://www.cfired.or.ar/>>
- Córdoba Bragança VL, P Melnikov & LZ Zanoni, 2011. Trace Elements in Different Brands of Yerba Mate Tea. *Biol Trace Element Res*. On line. DOI: 10.1007/s12011-011-9056-3
- 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. Consultado 2 marzo 2008 en <<http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/TOX-2003-39.PDF>>
- Cozzo D, 1949. A simple micrographic method for investigation of the main adulterants of yerba mate. *Lilloa* **18**: 275-85
- CRYM, 1971. *Comisión Reguladora de la Producción de la Yerba Mate, Comité de propaganda del consumo de yerba mate, La yerba mate*. Buenos Aires : Ministerio de Agricultura y Ganadería
- D'Ambrogio A, 1986. *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*. Buenos Aires : Hemisferio Sur
- De Candolle AP, 1951. *Fitografía, o el arte de describir los vegetales considerados bajo distintos aspectos*. Trad. MM Grassi. Tucumán : Fundac. M. Lillo, Misc. n° 17
- De Coll O, 1992. Insectos y ácaros perjudiciales al cultivo de Yerba Mate. Montecarlo, Misiones : EEA INTA Montecarlo, Publ. n° 1
- Delfino M, 1990. Extractabilidad de Hierro y Manganeso en Yerba Mate en condiciones de consumo. *Rev FACENA* **8**: 122-130
- Di Rienzo JA, F Casanoves , MG Balzarini, L González, M Tablada & CW Robledo, 2008. *Infostat versión 2008*, Grupo Infostat, FCA . Universidad Nacional de Córdoba, Argentina
- Dizeo de Strittmater C, 1973. Nueva técnica de diafanización. *Bol Soc Argent Bot* **15**:126- 29, **58**: 1419-22
- Domínguez JA, 1929. Aimé Bonpland, su vida en la América del Sur y principalmente en la República Argentina, 1817-1858. Buenos Aires : Coni
- Dorr LJ & DHA Nicolson, 2008-2009. Taxonomic Literature. A selective guide to botanical publications and collections, with dates, commentaries and types. Suppl. 7-8. *Regnum Vegetabile* # 149-150. Königstein : Koeltz
- Edwin G & R Reitz, 1967. *Aquifoliáceas*, En: Rettz, R. *Flora Ilustrada Catarinense*, fasc. 1, 47 pp., Itajaí : Aquí
- El cronista comercial, 2010. Estadísticas sobre el consumo de *mate* en Argentina. En: <<http://www.cronista.com/>>, 03/11/2010
- Esau K, 1965. *Plant anatomy*, 2nd. ed. New York : J. Wiley
- Esau, K. 1982. *Anatomía de las plantas con semilla*. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires
- Esmelindro MC, G Toniazco, A Waczuk, C Dariva & D Oliveira, 2002. Caracterização físico-química da erva mate: influência das etapas do processamento industrial. *Ciência Tecnol Alim* **22** (2)

- Establecimiento Las Marías, 2003. “Comunicado de Interés Público. INNOVACIÓN DE LA YERBA MATE”. Diario *El Territorio*, Posadas, 30 de junio de 2003
- Establecimiento Las Marías, 2011. En: <[http:// www.lasmarias.com.ar/](http://www.lasmarias.com.ar/)>, 27/03/11.
- ExportAR, 2011. Informe estadístico Exportaciones Argentinas: YERBA MATE. Fundación Export.AR. Mayo, 2011. En: <[http:// www.exportar.org.ar/](http://www.exportar.org.ar/)>, 03/08/11
- Fahn A, 1987. *Anatomía Vegetal*. Madrid : Pirámide
- Fahn A, 1990. *Plant Anatomy*. 4th. ed. Oxford : Pergamon Press
- Farmacopea Argentina, 2010. 10^a edición. 4 Vols. Buenos Aires, Ministerio de Salud/ANMAT
- Ferreira F, C Güntner, N Suárez, A Vázquez & P Moyna, 1997. Effect of *Ilex paraguariensis* St. Hil. saponins on cholesterol serum levels of rats. WOCMAP II, Mendoza, Argentina
- Filip R, P López, J Coussio & G Ferraro, 1998. Mate Substitutes or Adulterants: Study of xanthine Content. *Phyt Res* **12** (2): 129-31
- Filip R, S Lotito, G Ferraro & C Fraga, 2000. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. *Nutr Res* **20**: 1437-46
- Filip R, PL López, GC Giberti, J Coussio & G Ferraro, 2001. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia* **72** (7): 774-8
- Filip R, Davicino R & C Anesini, 2010. Antifungal activity of the aqueous extract of *Ilex paraguariensis* against *Malassezia furfur*. *Phytother Res* **24** (5): 715-9
- Font Quer P, 1970. *Diccionario de Botánica*. 1ra. ed., 3ra. reimpr. Barcelona : Labor
- FOOD & NUTRITION BOARD, 1998. *Dietary Reference Intakes: A Risk Assesment Model for Establishing Upper Intake Levels for Nutrients*. USA : Institute of Medicine, National Academies Press, p. 22. Consultado 21.11.2007 en <<http://www.nap.edu>>
- Furlong G, 1953. José Cardiel, S.J. y su *Carta-relación* (1747). Buenos Aires : Librería del Plata
- Galarza J, 1914. La Yerba Mate. Buenos Aires : Dirección General de Agricultura y Defensa Agrícola
- García PR, 1968. Novos estudos sobre o mate. Rio de Janeiro : Instituto Nacional de Tecnologia
- Gauer L & S Cavalli-Molina, 2000. Genetic variation in natural populations of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. *Aquifoliaceae*) using RAPD markers. *Heredity* **84**: 647-56
- Giberti GC, 1979. Las especies argentinas del género *Ilex* L. (Aquifoliaceae). *Darwiniana* **22**: 217-240
- Giberti GC, 1987. Sinonimia en el género *Ilex* L. (Aquifoliaceae). En: R Spichinger (ed.), *Notulae ad Floram paraquariensem*, 9-10. *Candollea* **42**: 107-109
- Giberti GC, 1989. Los parientes silvestres de la yerba mate y el problema de su adulteración. *Dominguezia* **7**: 1-22
- Giberti GC, 1994 a. Aquifoliaceae. En: R Spichinger & L Ramella (dirs.), *Flora del Paraguay* 24. Ginebra : Conservatoire et Jardin Botaniques de Geneve/Missouri Botanical Garden. 34 pp. il
- Giberti GC, 1994 b. Aquifoliaceae. En: AT Hunziker (dir.), *Flora Fanerogámica Argentina*. Fasc. 1 (157). Buenos Aires : CONICET/Museo Botánico
- Giberti GC, 1998. Hallazgo de *Ilex brasiliensis* (Aquifoliaceae) en la Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* **33**: 137-140
- Giberti GC, 2008. Aquifoliaceae. En: FO Zuloaga, O Morrone & MJ Belgrano (eds.), *Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur* (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay), Vol. 2, Dicotyledoneae: Acanthaceae-Fabaceae (Abarema-Schizolobium). *Monogr Syst Bot Missouri Bot Gard* **107**: 1143-6
- Gispert G, 1996. *Diccionario de Medicina “Océano Mosby”*. Versión Española Trad. y adapt. de la 4ta. ed. inglesa de “Mosby's Medical, Nursing And Allied Health Dictionary”. Barcelona : Océano
- Gnoatto S, E Schenkel & V Vassani, 2005. HPLC Methods to assay total saponins in *Ilex paraguariensis* aqueous extract. *J Braz Chem Soc* **16**: 723-26

- González-Torres D, 1992. *Catálogo de plantas medicinales usadas en Paraguay*. Asunción
- Gortari J, 1997. *El MERCOSUR y la economía yerbatera. Una aproximación al impacto en la pequeña producción regional*. En: *I Congreso Sul-Americano da Erva-Mate, II Reunião Técnica do Cone Sul Sobre a Cultura da Erva-Mate*. Curitiba, Brasil. Anais da EMBRAPA Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Pp. 23-47
- Gortari J, 2011. *El Instituto Nacional de la Yerba Mate (INYM) y la disputa distributiva en el sector yerbatero*. En: 5° Congreso Sudamericano de la Yerba Mate. Misiones. Pp. 375-80
- Gozalczany S, R Filip, M Alonso, J Mino, G Ferrar & C Acevedo, 2001. Choleric effect and intestinal propulsion of mate (*Ilex paraguariensis*) and its substitutes or adulterants. *J Ethnopharmacol* **75** (2-3): 291-4
- Gosmann G, E Schenkel & O Selinmann, 1989. A new saponin from maté, *Ilex paraguariensis*. *J Nat Prod* **52** (6) 1367-70
- Gosmann G, D Gillaume, A Taketa & E Schenkel, 1995. Triterpenoid saponins from *Ilex paraguariensis* (St. Hil.). *J Nat Prod* **58** (3): 438-41
- Gottlieb AM, GC Giberti & L Poggio, 2005. Molecular analyses of the genus *Ilex* (Aquifoliaceae) in southern South America, evidence from AFLP and ITS sequence data. *Am J Bot* **92**: 352-69
- Greizerstein EJ, GC Giberti & L Poggio, 2004. Cytogenetic studies of Southern South-American *Ilex*. *Caryologia* **57** (1): 19-23
- Grondona EM, 1953. Historia de la yerba mate. *Revista Argent Agron* **20** (2): 68-95
- Gugliucci A & AJ Stahl, 1995. Low density lipoprotein oxidation is inhibited by extracts of *Ilex paraguariensis*. *Biochem Mol Biol Int* **35** (1) 47-56
- Gugliucci A, 1996. Antioxidant effects of *Ilex paraguariensis*: induction of decreased oxidability of human LDL in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* **224** (2): 338-44
- Gupta M. (ed.), 1995. *270 Plantas Medicinales Iberoamericanas*. Bogotá, Colombia : CYTED-SECAB. 617 pp
- Hall JP & C Melville, 1951. Veinlet termination number, a new character for the differentiation of leaves. *J Pharm* **3**: 934-41
- Hamada S & H Slade, 1980. Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev* **44**: 331-84
- Hart F & H Fisher, 1984. *Análisis Moderno de Alimentos*. Zaragoza : Acribia
- Hartwig VG, Brumovsky LA, SM Alzamora & RM Fretes, 2011. *Extracción de polifenoles de yerba mate con mezclas de etanol-agua*. En: 5° Congreso Sudamericano de la Yerba Mate. Misiones. Pp. 259-65
- Heck CI & EG Mejía, 2007. Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. *J Food Sc* **72**: 138-51
- Heinrichs R & E Malavolta, 2001. Composição mineral do produto comercial da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). *Ciência Rural*, Santa Maria 31 (5): 781-5
- Heinzmann BM & EP Schenkel, 1995. Saponins from *Ilex dumosa*. *J Nat Prod* **58**: 1419-22
- Heinzmann BM, 1991. Saponinas de *Ilex dumosa*. Disertación para la obtención del grado de *Magister en Ciencias Farmacéuticas*. Universidad Federal do Rio Grande do Sul. Curso de pos graduación en Ciencias Farmacéuticas. Porto Alegre
- Hernández P, 1913. Organización social de las Doctrinas Guaraníes de la Compañía de Jesús. Barcelona. 2 vols
- Hickey L, 1973. Classification of the architecture of Dicotyledoneous leaves. *Amer J Bot* **60**: 17-33
- Hickey L, 1974. Clasificación de la arquitectura foliar en Dicotiledóneas. *Boln Soc Argent Bot* **16**: 1-26
- Hollowaty LA, ME Ramallo & ME Schmalko, 2011. *Aplicación del secado intermitent a un lecho de yerba mate*. En: 5° Congreso Sudamericano de la Yerba Mate. Misiones. Pp.239-44

- Holmgren PK, NH Holmgren & LC Barnett, 1990. *Index Herbariorum*. 8th ed. New York : New York Botanical Garden
- Horvitz W & GW Latimer Jr (eds.), 2005. *Official methods of analysis of AOAC International*, 18th. ed. Gaithersburg, MD : Association of Official Analytical Chemists International
- Hu CY, 1989. Holly (*Ilex* spp.). En: YPS Bajaj (ed), *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol. 5: 412-87. Berlin : Springer
- Hu SY, 2004. The Biology of Yaupon. En: CM Hudson (ed.), *Black drink: a native American tea*. University of Georgia Press. Pp. 10–39
- INDEC, 2011. En: <http://www.indec.gov.ar>, Documentos de trabajo n° 3 y 8. INDEC/IPA
- INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria), 1997. *Yerba Mate. 3°Curso de Capacitación en Producción*. Estación Experimental Agropecuaria Cerro Azul. Centro Regional Misiones. Resúmenes
- INYM (Instituto Nacional de la Yerba Mate), 2002. Boletín Oficial del 15/03/02. *INYM: Ley 25.564: Creación del Instituto Nacional de la Yerba Mate*
- INYM (Instituto Nacional de la Yerba Mate), 2003. Boletín Oficial del 22/08/03. YERBA MATE Resolución 47/2003. *INYM: Oposición a la propuesta de modificación de los Arts. 1193 y 1194 del Código Alimentario Argentino, por la cual se plantea la incorporación al mismo de la Ilex dumosa, en la sección de Yerba Mate*
- INYM (Instituto Nacional de la Yerba Mate), 2011a. Instituto Nacional de la Yerba Mate. En: *Actas 5° Congreso Sudamericano de la Yerba Mate* Posadas INYM Pp. 37
- INYM (Instituto Nacional de la Yerba Mate), 2011b. Instituto Nacional de la Yerba Mate. *Informe Mensual del Sector Yerbatero/Enero 2001*. En: <http://www.inym.org/>, 02/03/11
- IRAM (Instituto Argentino de Normalización), 1995. Norma IRAM N° 20503, *Determinación de la pérdida de masa a 103°C*
- IRAM (Instituto Argentino de Normalización), 1995. Norma IRAM N° 20510. *Determinación del extracto acuoso*. Ref. ISO 9768 - Tea- Determination of water extract
- IRAM (Instituto Argentino de Normalización), 1999. Norma IRAM N° 20515. *YERBA MATE, Vocabulario*. Primera edición
- IRAM (Instituto Argentino de Normalización), 1999. Norma IRAM N° 20516. *YERBA MATE CANCHADA, Definición y Características Básicas*. Primera edición.
- IRAM (Instituto Argentino de Normalización), 2000. Norma IRAM N° 20550-3. *YERBA MATE, Buenas Prácticas de Manufactura, Recomendaciones para la Transformación Primaria*. Primera edición
- IRAM (Instituto Argentino de Normalización), 2007. Norma IRAM N° 20550-3. *YERBA MATE, Determinación del contenido de fibra cruda*. Buenos Aires, 12 pp
- IRAM (Instituto Argentino de Normalización), 2011. Norma IRAM N° 20513. *Determinación de cafeína en yerba mate por espectrofotometría UV*. Esquema A1 de Norma IRAM 20513, julio 2011
- IUCN, 2011. Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y los Recursos Naturales, 2007 Lista Roja de la UICN de Especies Amenazadas de extinción. En: <http://www.iucnredlist.org/> consultada 9 setiembre 2011
- Giovanelli G, B Zanoni, V Lavelli & R Nani. 2002. Water sorption, drying and antioxidant properties of dried tomato products. *J Food Eng* **52**: 135-41
- Jackson BD, 1953. *A glossary of botanic terms*. 4th. ed. New York : Hafner
- Jacques RA, LS Freitas, VF Pérez, C Dariva, AP Oliveira, JV Oliveira & EB Caramao, 2007. The use of ultrasound in the extraction of *Ilex paraguariensis* leaves: A comparison with maceration. *Ultrason Sonochem* **14** (1): 6-12
- Janaki Ammal EK, 1945. En: CD Darlington & EK Janaki Ammal, *Chromosome Atlas of cultivated plants*. London
- Johansen D, 1940. *Plant Microtechnique*. New York : M° Graw Hill

- Johnston I, 1941. *Preparación de ejemplares botánicos para herbarios*. Tucumán : Instituto Lillo
- Jowett A, 2001. Referencing using the Harvard method. Consultado 15 marzo 2009 en http://www.nhgs.co.uk/technology/harvard_references.html>
- Kawakami M & A Kobayashi, 1991. Volatile Constituents of Green Mate and Roasted Mate. *J Agric Food Chem* **39**: 1275-79
- Keller HA & A Giberti, 2011. Primer registro para la flora argentina de *Ilex affinis* (Aquifoliaceae), sustituto de la “yerba mate”. *Bol Soc Argent Bot* **46** (1-2): 187-94
- Kochol R, L Malgor, E Verges, M Valsecia, L Mendoza & M Maiocchi, 2003. Estudio de efectos adversos de extractos de Saponinas obtenidas de *Ilex paraguariensis* y de una nueva especie de yerba mate: *Ilex Dumosa* Reiss. Reuniones de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas Universidad Nacional del Nordeste. **M-034**
- Labuza TP. 1968. Sorption phenomena in foods. *Food Technol* **23**: 15-19
- Labuza TP, 1984. Moisture sorption: Practical aspects of isotherms measurements and use. St. Paul, Minnesota : American Association of Cereal Chemistry
- Larson R, 1997. Naturally occurring antioxidants. CRC Press LLC. Pp. 119
- Lee R, 2007. Ask the doctor. Is it true that drinking yerba mate can lower blood pressure and cholesterol ? *Harvard Health Lett* **18**: 8
- Leprevost A, 1987. Química e Tecnologia da Erva Mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hill). *Boletín Técnico* 53. Instituto de Tecnologia do Paraná, **1**: 2-18
- Levin FA, 1929. The taxonomic value of vein islet areas based upon a study of the genera *Barosma*, *Cassia*, *Erythroxylon*, and *Digitalis*. *Quart. J. Pharm.* **2**: 17-43
- Liang Y, W Ma, J Lu & Y Wu, 2000). Comparison of chemical compositions of *Ilex latifolia* Thumb and *Camellia sinensis* L. *Food Chemistry*, **75**: 339-43
- Lindley J, 1951. *Glosología, o de los términos usados en Botánica*. Trad. J.E. Rothe. Tucumán : Fund. M. Lillo, Misc. n° 15
- Loizeau PA, 1994. Les Aquifoliaceae péruviennes. *Boissiera* **48**: 1-306
- Loizeau P-A & R Spichiger, 2004. *Aquifoliaceae*. En: N Smith, SA Mori, A Henderson, DW Stevenson & SV Heald (eds.), *Flowering Plants of the Neotropics*, pp. 26-8. Princeton/Oxford : Princeton Univ. Press
- Loizeau PA, G Barriera, JF Manen & O Broennimann, 2005. Towards an understanding of the distribution of *Ilex* L. (Aquifoliaceae) on a World-wide scale. *Biol Skr* **55**: 501-20
- López Campanher A, L Malgor, M Valsecia, M E de Markowsky & L Mendoza L, 2000. Estudio de las acciones farmacológicas de una especie de yerba mate: *Ilex dumosa* Reiss. Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad Nacional del Nordeste. **M 027**
- Luna C, P Sansberro, L Mroginski & J Tarragó, 2003. Micropropagation of *Ilex dumosa* (Aquifoliaceae) from nodal segments in a tissue culture system. *Biocell* **27** (2): 205-12
- Luna C, M Collavino, PA Sansberro & LA Mroginski, 2009. Bacterial contamination in *Ilex dumosa* (Aquifoliaceae) cultures: antibiotic treatment. *Acta Hort.* (ISHS) **812**: 97-102
- Lunceford N & A Gugliucci, 2005. *Ilex paraguariensis* extracts inhibit AGE formation more efficiently than green tea. *Fitoterapia* **76**: 419-27
- Mabberley J, 1998. *The Plant Book. A Portable Dictionary of the vascular plants*. 2nd ed. Cambridge : University Press. xvi, 1-858 pp
- Maiocchi M & J Avanza, 1997. Contenidos en saponinas de los extractos de *Ilex paraguariensis* e *Ilex dumosa*. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas Universidad Nacional del Nordeste. **7**: 83-86

- Maiocchi M & J Avanza, 1998. Contenido de ácidos clorogénicos en *Ilex paraguariensis* e *Ilex dumosa* procesada con idéntica tecnología. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas Universidad Nacional del Nordeste. **8**: 171-74
- Maiocchi M, S Moyano, L Martinez & J Avanza, 2002. Estudio comparativo del contenido de minerales en *Ilex paraguariensis* e *Ilex dumosa*. *Arch Lat Nutr* **2002**: 441-454
- Maiocchi M, A Ocampo & J Avanza, 2003. Estudio comparativo de aceites esenciales de *Ilex paraguariensis* e *I. dumosa* procesadas. Comunicaciones Científicas y tecnológicas, UUNE. Resumen **E-064**
- Maiocchi M & J Avanza, 2004. Degradación de clorofilas y feofitinas a diferentes temperaturas en *Ilex dumosa* e *Ilex paraguariensis*. Universidad Nacional del Nordeste. Reuniones de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas Universidad Nacional del Nordeste. **E-085**
- Maiocchi M, M Téves, L Del Vitto, V Avanza & E Petenatti, 2010. Comparative physicochemical parameters of infusions (“mate”) of two species of *Ilex* (Aquifoliaceae). XXVIII Reunión Científica de la Sociedad de Biología de Cuyo. Mendoza
- Maiocchi M, M Téves, M Petenatti, L Del Vitto, M Avanza & E Petenatti, 2011 a. *Control de calidad farmacobotánico de yerba mate y adulterantes no co-genéricos*. En : 5° Congreso Sudamericano de la Yerba Mate. Misiones. Pp.171
- Maiocchi M, Téves M, Del Vitto L, Avanza M y Petenatti E, 2011 b. Comparative physicochemical parameters of infusions (“mate”) of two species of *Ilex* (Aquifoliaceae). *Biocell* **35**: 54
- Maiocchi MG, Del Vitto LA, Marchevsky EJ, Pellerano RG, Avanza MV & Petenatti EM. 2011 c. Valor nutriciónl y mineral comparativo de *Ilex paraguariensis*, *I. dumosa* y su mezcla. *Biocell* **36** (en prensa).
- Manen JF, G Barrera, PA Loizeau & Y Naciri, 2010. The history of extant *Ilex* species (Aquifoliaceae): evidence of hybridization within a Miocene radiation. *Molec Phylogenet Evol* **57**: 961-977
- Martinet A, K Hostettmann & Y Schutz, 1999. Thermogenic effects of commercially available plant preparations aimed at treating human obesity. *Phytomedicine* **6** (4): 231-8
- Marx F, MJJ Janssens, P Urfer & R Scherer, 2003. Caffeine and Theobromine Composition of Mate (*Ilex paraguariensis*) Leaves in Five Plantations of Misiones, Argentina. *Pl Foods Hum Nutr* **58**: 1-8
- May G & G Willuhn, 1978. Antiviral activity of aqueous extracts from medicinal plants in tissue cultures. *Arzneim Forsch* **28**: 1-7
- McLaughlin C & T Magee. 1998. The Determination of Sorption Isotherm and the isosteric heats of sorption for potatoes. *J Food Eng* **35**: 267-80
- Mercosur, 2011. Anexo A de las Resoluciones GMC-Mercosur 18/94 y 046/003. En: http://www.mercosur.int/msweb/Normas/normas_web/Resoluciones/res94es/9418.pdf
- Merlo JC (dir.), 1966. Diccionario de Ciencias Médicas Dorland (versión y adapt. de la 24^a ed. inglesa del “Dorland's Illustrated Medical Dictionary”). Buenos Aires : El Ateneo
- Metcalf CR & L Chalk, 1950. Anatomy of the Dicotyledon: Leaves, stems and wood in relation to taxonomy, with notes on economic uses. Vol. 2. Oxford : Clarendon Press
- Metcalf CR & L Chalk, 1983. *Anatomy of the Dicotyledons*. 2° ed. Vol. 2. Oxford : Clarendon Press
- Meydav S, I Saguy & I Kopelman, 1977. Browning determination in citrus products. *J Agr Food Chem* **15** : 602-04
- Miranda DC, DP Arcart, J Pedranzoli, P Carvalho, SM Cerutti, HM Bastos & ML Ribeiro, 2008. Protective effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*) on H₂O₂-induced DNA damage and DNA repair in mice. *Mutagenesis* **23** (4): 261-5
- Montes AL, 1963. Aceite esencial de Yerba mate elaborada. *An Soc Cient Arg* **19**-43
- Montes AL, 1965. Producción de plantas aromáticas nativas. *IDIA* **211**: 103-11
- Montes AL, 1967. *Bromatología*. Buenos Aires : Eudeba (Editorial Universitaria de Buenos Aires)

- Montiel G & J Avanza, 1996. Estabilidad del color en yerba mate elaborada. Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas Universidad Nacional del Nordeste. Tomo IV Ciencias Exactas y Tecnológicas. **7**: 121-24
- Mosimann ALP, D Wilhelm-Filho & EL da Silva, 2006. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Biofactors* **26** (1): 59-70
- Mroginski LA, PA Sansberro, HY Rey & MM Collavino, 1997. Micropropagación de la yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): Estado Actual y perspectivas. *Proc. I Congreso Sul-Americano da Erva-Mate*, Curitiba, Brasil, pp. 141-51
- Mroginski LA, SM Rouvier, JC Fabisik, M Levit, MA Marassi, PA Sansberro & HY Rey, 1999. Effect of medium composition and light supply on in vitro shoot proliferation in *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae). *J Plant Nutrition* **22**: 359-68
- Mutinelli A, 1988. La caá miní. Una yerba-mate de antiguo consumo. Número especial N°5 - Año 3 - Publicación de la S G E Univ. de la UNAM. *Rev Univ Nac Misiones* pp.40-55
- Mutinelli A, 1964. *Yerba Mate*. En: Parodi, LR (dir.), *Encicl Argent Agric y Jard.* **II**: 1129-34
- Nájera, M & E Spegazzini, 1995. Parámetros micrográficos cuantitativos para el control de calidad de *Ilex paraguariensis* St. Hil. "yerba mate". *La Alimentación Latinoamericana* **209**: 35-37
- Navajas Artaza A, 1995. *La economía yerbatera*. En: *Erva-Mate- Biología e Cultura no Cone Sul*, – Universidad Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: Editora da Universidade. Pp. 23-26
- Navarro-Beltrán Iracet E (coord.), 1984. Diccionario Terminológico De Ciencias Médicas, 12^a ed. Barcelona : Salvat
- Nielsen FH, 2003. Boro, manganeso, molibdeno y otros oligoelementos. En: BA Bowman & RM Russell (eds.), *Conocimientos actuales sobre nutrición*. 8^a ed. Washington, D.C. : Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica y Técnica n° 592
- Núñez JC & RG Kanzig, 1995. *Secanza de la yerba mate*. En: *Erva-Mate- Biología e Cultura no Cone Sul*. Universidad Feral do Rio Grande do Sul. Porto Alegre Brasil. Editora da Universidade Pp. 175-80
- Obeso JR, M Alvarez-Santullano & R Retuerto, 1998. Sex ratios, size distributions, and sexual dimorphism in the deciduous tree *Ilex aquifolium* (Aquifoliaceae). *Amer J Bot* **85**: 1602-1608
- Ohnishi M, H Morishita, H Iwahashi, S Toda, Y Shirataki, M Kimura & R y Kido, 1994. Inhibitory effects of chlorogenic acids on linoleic acid peroxidation and hemolysis. *Phytochemistry* **36**: 579-83
- Oliveira YMM & E Rotta, 1995. Área de Distribuição Natural de Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). Em: *X Seminário Sobre Atualidades e Perspectivas Florestais – Silvicultura da Erva-Mate*. Curitiba : EMBRAPA-CNPQ. Pp. 17-36
- Pagliosa CM, SM Pereira, MA Vieira, LA Costa, E Teixeira, RD de MC Amboni & ER Amante, 2009. Bitterness in yerba mate (*Ilex paraguariensis*) leaves. *J Sensory Stud* **24** (3): 415-26
- Passardi RL, CE Schvezov, ME Schmalko & AD González, 2006. Drying of *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire by microwave radiation. *Dry Tech* **24**: 1437-42
- Paula SR, 1992. Micropropagação de Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e Comparação das Folhas *in vitro* com as Originadas em Casa de Vegetação. Dissertação de Mestrado em Botânica. Curitiba : UFPR
- Perry R & D Green, 2008. *Perry's Chemical Egnineers Handbook*. Octava edición. New York : Mc Graw Hill
- Petenatti EM, LA Del Vitto & ME Petenatti, 2007. Glosario de Fitomedicina. Definiciones y conceptos sobre usos y aplicaciones de las plantas medicinales y sus principios naturales. *Ser Técn Herbario UNSL* (San Luis, Argentina) **15**: 1-76
- Pharmacopée Européenne, 1971. *Farmacopea Europea*. Conseil de L'Europe. Volume II- Maisonnurve. France
- Pires VS, D Guillaume, G Gosmann & EP Schenkel, 1997. Saponins from *Ilex dumosa*, an erva maté (*Ilex paraguariensis*) adulterating plant. *J Agric Foods Chem* **45**: 1027-31

- Pochettino ML & MR Martínez, 1998. Aporte al conocimiento actual de las plantas medicinales en Argentina: estudio etnobotánico en el Departamento de Molinos, Provincia de Salta, Argentina. En: AG Amat *et al.*, *Farmacobotánica y Farmacognosia en Argentina, 1980-1998*. La Plata, Argentina : ECA. Pp. 55-86
- Prat Kricun SD, 1998. *Ilex dumosa* Reissek. Informe Técnico N° 3. Misiones : EEA INTA Cerro Azul
- Prat Kricun SD & Belingheri LD, 1991. Identificación y recolección de germoplasma de especies del genero *Ilex* L. *Plant Genetic Resources Newsletter* **83/84**: 23-4
- Prat Kricun SD & LD Belingheri, 1992. Disposición, distanciamiento y densidad de plantación de yerba-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) En: Curso de capacitación en producción de yerba mate. Misiones, Argentina: EEA INTA Cerro Azul. Pp. 27-99
- Prat Kricun SD & LD Belingheri, 1995. *Recolección de especies silvestres y cultivadas del género Ilex en las Provincias de Misiones y Tucumán (Argentina) y en los estados de Paraná, Santa Catarina y Río Grande do Sul (Brasil) Período 1988-1992*. En: *Erva Mate. Biología e Cultura no Cone Sul*. Porto Alegre, Brasil : Editora da Univesidade (UFRS). Pp. 313-34
- Ramallo LA, M Smorczewski, E Valdez, A Paredes, & M Schmalko, 1997. *Composición química del extracto acuoso de la yerba mate*. En: *I Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, II Reunião Técnica do Cone Sul Sobre a Cultura da Erva-Mate*. Curitiba, Brasil. Anais da EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria Pp 411-12
- Ramallo LA, M Schmalko, NG Känzing, 1998. Variación de la concentración de ácido ascórbico (Vit C) en el procesamiento de yerba mate. *Revista de Ciencia y Tecnología* (Fac. CEQyN, Univ. De Misiones) **1**: 25-29
- Ramallo LA, NN Lovera & M Schmalko, 2010. Effect of the application of intermittent drying on *Ilex paraguariensis* quality and drying kinetics. *J Food Eng* **97**: 188-93
- Ramírez-Mares MV, S Chandra & G Mejía, 2004. *In vitro* chemopreventive activity of *Camellia sinensis*, *Ilex paraguariensis* and *Ardisia compressa* tea extracts and selected polyphenols. *Mutat Res* **554** (1-2) 53-65
- Reginatto FH, ML Athayde, G Gosmann & EP Schenkel, 1999. Methylxanthines Accumulation in *Ilex* Species – Caffeine and Theobromine in Erva-mate (*Ilex paraguariensis*) and other *Ilex* species. *J Braz Chem Soc* **10** (6): 443-46
- Rey HY, OJ Burtnik, PA Sansberro & LA Mroginski, 1991. Medios de cultivo para el establecimiento in vitro de explantes de la yerba mate (*Ilex paraguariensis*). *Turrialba* **41**: 306-10
- Ricciardi G, J Veglia & A Ricciardi, 1998. Fitoquímica de Verbenáceas del Nordeste: Aceites esenciales de *Aloysia gratissima* (Gill. et Hook.) “niño rupá” y *Lippia alba* (Mill.) “salvia morada”. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas Universidad Nacional del Nordeste* **8**: 53-56
- Robards, K, P Prenzler, G Tucker, P Swatsitang & W Glover, 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem* **66** : 401-36
- Romussi G, S Cafaggi & G Bignardi, 1980. Hemolytic action and surface activity of triterpene saponins from *Anchusa officinalis* L. *Pharmazie* **35**: 498-99
- Salisbury EJ, 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
- Schmalko M, S Alzamora. 2005. Modelling the drying of a twig of “yerba mate” considering as a composite material Part I: shrinkage, apparent density and equilibrium moisture content. *J Food Eng* **66**: 455–61
- Sambiassi A, AM Escalada & ME Schmalko, 2002. Extraction Optimization of Soluble Compounds of Yerba Mate. *Braz Arch Biol & Technol* **45** (2): 189-93
- Sansberro PA, HY Rey, LA Mroginski & MM Collavino, 1999. In vitro plant regeneration of *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae). *In Vitro Cell Dev Biol-Plant* **35**: 401-2
- Sansberro PA, HY Rey, A Bernardis, C Luna, M Collavino & LA Mroginski, 2000. Plant regeneration of *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae) by in vitro culture of nodal segments. *Biocell* **24** (1): 53-63

- Sansberro PA, Rey HY, Mroginski LA, 2001 a. In vitro culture of zygotic embryos of *Ilex* species. *Hort Sci* **36**: 351-2
- Sansberro PA, Rey HY, Mroginski LA, Krivenki MA, 2001 b. Plant regeneration from *Ilex* spp. (Aquifoliaceae) *in vitro*. *Biocell* **25**: 139-46
- Sass J, 1958. *Botanical microtechnique*. Arnes, Iowa State : College Press
- Saura F, 1944. *Los cromosomas de la yerba mate*. Posadas, Misiones, Argentina : Asoc. Rural Yerbatera Argentina
- Scala AC, 1922. Contribución al conocimiento histológico de la yerba mate y sus falsificaciones. *Rev Mus La Plata* **26**: 69-165
- Schaer W, M Ruegg.1988. The evaluation of GAB constants from water vapor sorption data. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* **18**: 225-29
- Schenkel E, G Gosmann, B Heinzmann, J Montanha, M Athayde & A Taketa, 1995.a. Saponinas em espécies do género *Ilex*. En : *Erva-Mate. Biología e Cultura no Cone Sul*. Porto Alegre, Brasil : Editora da Universidade, UFRG. Pp. 251-56
- Schenkel EP, ML Athayde, GC Giberti & D Guillaume, 1995.b. A new Saponin from *Ilex argentina*. *Acta Farm Bonaer* **14**: 217-21
- Schinella G, JC Fantinelli & SM Mosca, 2005. Cardioprotective effects of *Ilex paraguariensis* extract: evidence for a nitric oxide-dependent mechanism. *Clin Nutr* **24** (3): 360-6
- Schmalko M & S Alzamora, 2001. Color, chlorophyll, caffeine and water content variation during yerba mate processing. *Drying Tech* **19**: 599-610
- Schmidt JE, 1974. *Diccionario para Auxiliares de la Medicina*. Buenos Aires : Ed. Médica Panamericana
- Schubert A, Pereira DF, Zanin FF, Alves SH, Beck RCR, Athayde ML, 2007. Comparison of antioxidant activities and total polyphenolic and methylxanthine contents between the unripe fruit and leaves of *Ilex paraguariensis* A. St. Hilaire. *Pharmazie* **62** (11): 876-80
- Silva R, A Carvalho, R Cansian, A Mossi, G Stuart & L Orlov, 2004. Atividade antimicrobiana de plantas aromáticas e mmedicinais cultivadas na região do alto Uruguai gaúcho. Congresso Iberoamericano de Plantas Mediciniais, Rio de Janeiro, 20-23 maio, 2004. Abstract F-T-34
- Simoes CMO, L Auler Mentz, EP Schenkel, B Irgang, J Stehmann, 1986. *Plantas da Medicina Popular no Rio Grande do Sul*. Rio Grande do Sul:UFRGS
- Solereder H, 1908. *Systematic anatomy of the dicotyledons*. Oxford : Clarendon Press. 2 vols
- Spegazzini E, MT Castro, SM Carpano & MT Nájera, 2002. Taxonomic determination of therapeutic Argentine species of *Ilex*. *Pharm Biol* **40**: 2-15
- Stafleu FA & EA Mennega, 1992-2000. *Taxonomic Literature. A selective guide to botanical publications and collections, with dates, commentaries and types*. Suppl. 1-6. Regnum Vegetabile # 125, 130, 132, 134, 135, 137. Königstein : Koeltz
- Stafleu FA & RS Cowan, 1976-1988. *Taxonomic literature. A selective guide to botanical publications and collections with dates, commentaries and types*, 2nd. ed., vols. 1-7. Regnum Vegetabile # 94, 98, 105, 110, 112, 115, 116. Utrecht : Bohn, Scheltema & Holkema
- Standing Committee on the Scientific Evaluation of DRIs, 1997. *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride*. Washington, D.C. : National Academies Press. Pp. 71-249, 288-313
- Standing Committee on the Scientific Evaluation of DRIs, 2000a. *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. Washington, D.C. : National Academies Press. Pp. 284-324
- 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*. Washington, D.C. : National Academies Press. Pp. 197-553

- Standing Committee on the Scientific Evaluation of DRIs, 2004. Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulphate. Washington, D.C. : National Academies Press. Pp. 186-448
- Stearn WT, 1993. *Botanical Latin. History, grammar, syntax, terminology and vocabulary*. 4th. Ed., 6th. Print. Devon, UK : David & Charles
- Streit NM, LHR Hechttheuer, MW Do Canto, CA Mallmann, L Streck, TV Parodi & LP Canterle, 2006. Relation among taste-related compounds (phenolics and caffeine) and sensory profile of erva-mate (*Ilex paraguariensis*). *Food Chem* **102**: 560-4
- Sun Y, D Zhang¹, and J Smagula, 2010. Micropropagation of *Ilex glabra* (L.) A. Gray *Hortscience* **45**(5):805-808
- Systematics Association Committee for Descriptive Terminology, 1960. I. Preliminary list of works relevant to Descriptive Biological Terminology. *Taxon* **9** (8): 245-57
- Systematics Association Committee for Descriptive Terminology, 1962. Terminology of simple symmetrical shapes (Chart I). *Taxon* **11**: 145-56
- Taketa AT, SC Gnoatto, G Gosmann, VS Pires, EP Schenkel & D Guillaume, 2004. Triterpenoids from Brazilian *Ilex* species and their in vitro antitrypanosomal activity. *J Nat Prod* **67** (10): 1697-700
- Tenorio Sanz MD & ME Torrija Isasa, 1991. Elementos minerales en la yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). *Arch Lat Nutr* **41**: 441-54
- Timmerman HA, 1927) Stomatal number: their value for distinguishing species. *J Pharm* **118**: 241-43
- Timmermann E, J Chirife & H Iglesias. 2001. Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters? *J Food Eng* **48**: 19-31
- Toursarkissian M, 1980. *Plantas medicinales de la Argentina*. Buenos Aires : Hemisferio Sur. 178 pp.
- Uruguay, 1957. Ordenanza 445, Resol. del Poder ejecutivo n° 34.059. Ministerio de Salud Pública. Montevideo
- Uruguay, 1980. Reglamento Bromatológico Nacional, Decreto 315/994. Montevideo : IMPO
- Valduga E, 1995. Caracterização química e anatômica da folha de Erva-Mate *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire e de algumas espécies utilizadas na adulteração do Mate. Dissertação do Mestrado em Tecnologia Química, Setor de Tecnologia. Curitiba : Universidade Federal do Paraná
- Van Loey A, V Ooms, C Weemaes, I Van den Broek, L Ludikhuyze, S Indrawati, S Denys & M Hendricks, 1998. Thermal and Pressure Degradation of Chlorophyll in Brócoli (*Brassica oleracea* L. italica) Juice: a Kinetic Study. *J Agr Food Chem* **46**: 5289-94
- Vanaclocha B & S Cañigeral (ed.), 2003. Fitoterapia, Vademecum de prescripción. 4^a ed. Barcelona : Masson
- Vanaclocha B, 1998. Monografías de Plantas Medicinales. En: A Artech (ed.), Fitoterapia, Vademecum de Prescripción. 3^o ed. Barcelona : Masson
- Vázquez A & P Moyna, 1986. Studies on mate drinking. *J Ethnopharmacol* **18**: 267-72
- Veit, M & HG Gumbinger, 1993. Hydroxyzimtsäuren und derivate. *Deutsche Apotheker Zeitung* **133**: 911-28
- Vernon P, 1960. Spectrophotometric determinations of chlorophylls and pheophytins in plants extracts. *An Chem* **32**: 1144-50
- Viera C & O Sabbatella, 2011. Validación de métodos para medir sólidos solubles extraídos durante el consumo de yerba mate en forma de mateada. En : 5^o Congreso Sudamericano de la Yerba Mate. Misiones. Vera. Pp.179-84
- Viswanathan R, D Jayas & R Hulasare. 2003. Sorption isotherms of tomato slices and onion shreds. *Biosystems Eng* **86**: 465-72
- Wang CY & RP Singh, 1978. A single layer drying equation for rough rice. *ASAE (American Society of Agricultural Engineers* **78** : 650
- WHO (World Health Organization), 1996. *Trace elements in human nutrition and health*. Geneva : World Health Organization

- Zanoelo EF, GM di Celso & G Kaskantzis. 2007. Drying Kinetics of Mate Leaves in a Packed Bed Dryer. *Biosystems Eng* **96**: 487–94
- Zanoelo E F. 2005. Equilibrium Moisture Isotherms for Mate Leaves. *Biosystems Eng* **92**: 445–52
- Zbigniew Mazachowski J, 1997. *Controle de Qualidades da Erva-Mate com vistas a certificação*. En: *I Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, II Reunião Técnica do Cone Sul Sobre a Cultura da Erva-Mate*. Curitiba, Brasil. Anais da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria). Pp: 99-120
- Zhang X, L Xie , G De-Xiang Z Wei, W Ren-Li & L Pen. 1996. Desorption isotherms of some vegetables. *J Sci Food Agric* **70**: 303-06
- Zörnig H & G Weiss, 1925. Beiträge zur Anatomie des Laubblattes offizineller und pharmazeutische gebräuchlicher Compositen-Drogen. *Arch Pharm Berl* **263**: 451-70
- Zuin VG, Montero L, Bauer C, Popp P., 2005. Stir bar sorptive extraction and high-performance liquid chromatography-fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Mate teas. *J Chromat A*. **1091** (1-2): 2-10
- Zuloaga FO, O Morrone, MJ Belgrano, C Marticorena & E Marchesi (eds.), 2008. Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). *Monogr Syst Bot Missouri Bot Gard* **107** (1): i–xcvi, 1–983; 107(2): i–xx, 985–2286; 107(3): i–xxi, 2287–3348

BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA

MONOGRAFÍAS FARMACOPEICAS, REVIEWS , ESTÁNDARES Y OTRAS

- Blaschek W, S Ebel, E Hackenthal, 2007. Coffein. En: *Hagers Enzyklopädie der Arzneistoffe und Drogen*. Stuttgart : Wiss. Verlagsgesellschaft.
- Blumenthal M, WR Busse, A Goldberg, J Gruenwald, T Hall, W Riggins, R Rister, S Klein (eds.), 1998. The Complete German Commission E Monographs. The American Botanical Council, Austin, Texas, pp. 167-8
- Caffeine. En: *PharmaMed Datenbank: Monographien B plus Neue Arzneimittel*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH 1998, 2002
- Cahier de l'Agence No 3: Médicaments a base de plantes. Agence du Médicament, Paris 1998
- Coffein. En: Hunnius C, Burger A, Wachter H. *Pharmazeutisches Wörterbuch*; Walter de Gruyter GmbH & Co. Berlin, New York 2009
- Committee on Toxicity (COT), 2008. Statement on the reproductive effects of caffeine. En: <http://cot.food.gov.uk/dfs/cotstatementcaffeine200804.pdf>
- Dralyuk I, Clouatre D, Preuss HG, 2006. Yerba mate: a review. *Original Internist* 13(3)

- Food Standards Agency (FSA), 2008. Food standards agency publishes new caffeine advice for pregnant women. En: <http://food.gov.uk/news/pressreleases/2008/nov/caffeineadvice>.
- Haaf M, 2004. *Ilex paraguariensis* St. Hilaire (Mate). En: http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online/math_nat_fak/2004/haaf_melanie/haaf.htm.
- International Agency for Research on Cancer (IARC), 1991. Summaries & Evaluations. Mate. Mate (group 3), Hot Mate (group 2A). *IPCS Inchem* **51**: 273.
- Pharmacopée Francaise (10^eme ed.), 1994. Maté Vert. Janvier 1994.
- Pharmacopée Francaise (10^eme ed.), 1989. Tisanes. Janvier 1989.
- Mateblätter, geröstete. En: Deutscher Arzneimittel Codex (DAC) 2008, Hrgs: Bundesverband Deutscher Apothekerverbände (ABDA); Govi-Verlag Pharmazeutischer Verlag GmbH; Eschborn; Deutscher Apothekerverlag, Stuttgart, M-065.
- Mateblätter, Grün. en: Deutscher Arzneimittel Codex (DAC) 2008, Hrgs: Bundesverband Deutscher Apothekerverbände (ABDA); Govi-Verlag Pharmazeutischer Verlag GmbH; Eschborn; Deutscher Apothekerverlag, Stuttgart, M-066.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development), 1997. Guideline for testing of chemicals. Bacterial reverse mutation test, 471.
- Pittler MH & E Ernst, 2004. Dietary supplements for body-weight reduction: A systematic review. *Am J Clin Nutr* **79** (4): 529-36.
- Thomson Micomedex, 2007. *Healthcare series. Caffeine*. En: *Drug interaction for the health care professional*, Vol. 1. USP DI 27th ed. p. 665.

SISTEMÁTICA, ETNOBOTÁNICA Y FARMACOBOTÁNICA

- Borges LR, Lazzari SMN, Lazzari FA (2003) Extraneous material in mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil., from native and compact cultivation systems. *Revista Inst A Lutz* **62**: 77-82.
- Clos EC (1939) Bibliografía anotada sobre yerba mate (*Ilex paraguariensis* Saint-Hilaire). *Bol Univ Nac La Plata Fac Agron* **1**: 12-3.
- Coelho GC, de Araujo Mariath JE, Schenkel EP (2002) Populational diversity on leaf morphology of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae). *Braz Arch Biol Technol* **45**: 47-51
- Coelho GC, Rachwal MFG, Dedecek RA, Curcio GR, Nietzsche K, Schenkel EP (2007) Effect of light intensity on methylxanthine contents of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. *Biochem Syst Ecol* **35**: 75-80
- Cotton C, 1996. *Ethnobotany. Principles and Applications*. England : Wiley
- De la Peña MR & JF Pensiero, 2004. *Plantas argentinas, Catálogo de nombres comunes*. Buenos Aires : Editorial LOLA. 373 pp
- De Albuquerque UP, Monteiro JM, Ramos MA, de Amorim ELC, 2007. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. *J Ethnopharmacol* **110** (1): 76-91
- Edwin G & R REITZ, 1967. *Aquifoliceae*. En: PR Reitz (ed.), *Flora Il. Catarinense*. Itajaí : Herbário Barbosa Rodrigues. 47 pp Giberti GC (1990) Bonpland's Manuscript Name for the Yerba Mate and *Ilex-Theezans* C. Martius Ex Reisseck Aquifoliaceae. *Taxon* **39**: 663-5
- Giberti GC, 1990. *Ilex theezans*, especie confirmada para nuestra flora. Clave de las especies argentinas del género *Ilex* (Aquifoliaceae). *Bol Soc Argent Bot* **26**: 159-62
- Martínez-Crovetto R, 1982. Las especies de yerba mate cultivadas por los jesuitas en el siglo XVIII. *Revista Participar* **4** (33): 104-107

- Marzocca A, 1997. Vademecum de malezas medicinales. Buenos Aires : Orientación Gráfica Editora. 363 pp
- Parodi LR, Grondona EM (1949) The original form of *I. paraguariensis*. *Rev Argent Agron* **16**: 199-204
- Rua GA, 1999. *Inflorescencias, Bases teóricas para su Análisis*. Buenos Aires : Sociedad Argentina de Botánica
- Santos RP, Mariath JEA, Hesse M (2003) Pollenkitt formation in *Ilex paraguariensis* A.St.Hil. (Aquifoliaceae). *Pl Syst & Evol* **237**: 185-98.
- Steinhoff B, 1994. New developments regarding phytomedicines in Germany. *British J Phytotherapy* **3**: 190
- Weberling F, 1985. *Morphologie der Blüten und Blütenstände*. Stuttgart : Ulmer
- Weberling F, 1989. *Morphology of flowers and inflorescences*. Cambridge : University Press
- Winge H, 1987. Estudios embriológicos y citológicos en yerba mate (*Ilex paraguariensis* – Aquifoliaceae). *Bonplandia* **6** (1): 45-56

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y BIOACTIVIDAD

- Abnet CC, 2007. Carcinogenic food contaminants. *Cancer Investigation* **25**(3): 189-96
- Actis-Goretta L, GG Mackenzie, PI Oteiza, CG Fraga, 2002. Comparative study on the antioxidant capacity of wines and other plant-derived beverages. *Ann N Y Acad Sci* **957**: 279-83
- Adams J, VJ Palombella, EA Sausville, J Johnson, A Destree, DD Lazarus, J Maas, CS Pien, S Prakash, PJ Elliott, 1999. Proteasome inhibitors: a novel class of potent and effective antitumor agents. *Cancer Res* **59**(11): 2615-22
- Alikaridis F, 1987. Natural constituents of *Ilex* species. *J Ethnopharmacol* **20**(2): 121-44
- Andrade FDP, S Piacente, C Pizza, W Vilegas, 2004. Arbutin-2'-sulphonyl from the infusion of *Ilex theezans* leaves. *Fitoterapia* **75**: 782-4.
- Anghileri LJ, P Thouvenot, 2000. Natural polyphenols-iron interaction: its biological importance. *Biol Trace Elem Res* **73**(3): 251-8
- Arbiser JL, XC Li, CF Hossain, DG Nagle, DM Smith, P Miller, B Govindarajan, J DiCarlo, KR Landis-Piwowar, QP Dou, 2005. Naturally occurring proteasome inhibitors from mate tea (*Ilex paraguayensis*) serve as models for topical proteasome inhibitors. *J Invest Dermatol* **125**(2): 207-12
- Arendt B M, P Winkler, AM Boetzer, H Lemoch, JK Rockstroh, HK Berthold, U Spengler, R Goerlich, 2000. Wirkung polyphenolhaltiger Getränke auf die antioxidative Kapazität im Plasma unter erhöhter oxidativer Belastung. Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Abstracts zum 37 wissenschaftl. Kongress, Proc. Germ. Nutr. Soc. Vol. 2: 40
- Assis Jacques R, L dos Santos Freitas, V Flores Peres, C Dariva, JV de Oliveira, E Bastos Caramao, 2006. Chemical composition of mate tea leaves (*Ilex paraguariensis*): a study of extraction methods. *J Sep Sci* **29**(18): 2780-4
- Athayde ML, GC Coelho, EP Schenkel, 2000. Caffeine and theobromine in epicuticular wax of *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. *Phytochemistry* **55** (7): 853-7.
- Athayde ML, EP Schenkel, G Gosmann, D Guillaume, 1999. Triterpenoids from the leaves of *Ilex theezans* Martius ex Reiss. *Acta Farm Bonaer* **18**: 49-52.
- Athayde ML, EP Schenkel, SB Gnoatto, G Gosmann, GC Giberti, D Guillaume, 2001. Triterpenes and saponins from *Ilex argentina* leaves. *Acta Farm Bonaer* **20**: 13-6.
- Baisch ALM, KB Johnston, FLP Stein, 1998. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of aqueous extracts of *Ilex paraguariensis* on mesenteric arterial bed of rats. *J Ethnopharmacol* **60**(2): 133-9

- Barboza LMV, 2006. Desenvolvimento de bebida à base de Erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) adicionada de fibra alimentar. Tese de Doutorado. Curitiba : UFPR
- Bastos DH, LA Saldanha, RR Catharino, AC Sawaya, IB Cunha, PO Carvalho, MN Eberlin, 2007. Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camellia sinensis*) extracts. *Molecules* **12**: 423-32
- Bastos DHM, AC Fornari, YS de Queiroz, RAM Soares, EAFTS Torres, 2005. The chlorogenic acid and caffeine content of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) beverages. *Acta Farm Bonaer* **24**: 91-5.
- Bates MN, C Hopenhayn, OA Rey, LE Moore, 2007. Bladder cancer and mate consumption in Argentina: A case-control study. *Cancer Lett* **246** (1-2): 268-73.
- Bchir F, M Doqui, RB Fradj, MJ Arnaud, S Saguem, 2006. Differences in pharmacokinetic and electroencephalographic responses to caffeine in sleep-sensitive and non-sensitive subjects. *C R Biol*, **329**(7): 512-19
- Bidau CJ, AG Amat, M Yajia, DA Marti, AG Riglos, A Silvestroni, 2004. Evaluation of the genotoxicity of aqueous extracts of *Ilex paraguariensis* St. Hil. (Aquifoliaceae) using the Allium test. *Cytologia* (Tokyo) **69**: 109-17.
- Bidau CJ, AG Amat, ME Yajia, DA Marti, MD Gimenez, AG Riglos, A Silvestroni, GM Torres, E Fumagalli, 2006. Evaluation of cytotoxic and mitodepressive activity of aqueous extracts from thirteen argentine medicinal plants. *Acta Farm Bonaer* **25**: 555-9.
- Bracken MB, EW Triche, K Belanger, K Hellenbrand, BP Leaderer, 2003. Association of maternal caffeine consumption with decrements in fetal growth. *Am J Epidemiol* **157**: 456-66
- Bravo L, L Goya, E Lecumberri, 2007. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. *Food Res Intl* **40**: 393-405
- Calvino AM, OP Tamasi, MC Ciappini, 2005. Note. Caffeine content and dynamical bitterness of yerba mate *Ilex paraguariensis* infusions. *Food Sci & Technol Intl* **11**: 401-7
- Carini M, RM Facino, G Aldini, M Calloni, L Colombo, 1998. Characterization of phenolic antioxidants from Maté (*Ilex Paraguariensis*) by liquid chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid. Comm. In Mass Spec* **12**: 1813-19
- Castellsague X, N Munoz, E De Stefani, CG Victora, R Castelletto, PA Rolon, 2000. Influence of mate drinking, hot beverages and diet on esophageal cancer risk in South America. *Int J Cancer* **88**(4): 658-64
- Centers For Disease Control (USA). Anticholinergic poisoning associated with an herbal tea - New York City. Morbidity and Mortality Weekly Report 1995, **44**(11): 193-95
- Chandra S, EG de Mejia, 2004. Polyphenolic compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to mate (*Ilex paraguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas. *J Agric & Food Chem* **52**: 3583-9.
- Christian MS, RL Brent, 2001. Teratogen update: evaluation of the reproductive and developmental risks of caffeine. *Teratology* **64**(1): 51-78
- Choi Y, S Sertic, H Kim, E Wilson, F Michopoulos, A Lefeber, C Erkelens, S Prat Kricun, & R Veerpote, 2005. Classification of *Ilex* Species bases on metabolomic fingerprint using nuclear resonance and multivariate data analysis. *J Agric Food Chem* **53**: 1245-67
- Clifford M & J Ramírez Martínez, 1990. Chlorogenic acids and purine alkaloids contents of Mate (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. *Food Chem* **35**: 13-21
- Colpo G, F Trevisol, AM Teixeira, R Fachinotto, RP Pereira, ML Athayde, JB Rocha, ME Burger, 2007. *Ilex paraguariensis* has antioxidant potential and attenuates haloperidol-induced orofacial dyskinesia and memory dysfunction in rats. *Neurotox Res*, **12**(3): 171-80
- Cruz MJS, LV Garitta, G Hough, 2003. Note: Relationships of consumer acceptability and sensory attributes of yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hilarie) using preference mapping. *Food Sci & Technol Intl* **9**: 347-52.

- Da Croce DM, 2002. The physical and chemical characteristics of tea (*Ilex paraguariensis* St Hil) in Santa Catarina state. *Ci Florest* **12**: 107-13.
- Da Silva EL, TJC Neiva, M Shirai, D Wilhelm-Filho, J Terao, D Abdalla, 2006. *Ilex paraguariensis* extract inhibits ex vivo lipid peroxidation of human plasma and LDL. *Free Radic Res* **40**.
- De Mejia E, A Bergschneider, S Chandra, 2005. Ethnic teas and their bioactive components. Abstracts. *Amer Chem Soc* **229**.
- De Mejia EG, YS Song, MV Ramirez-Mares, H Kobayashi, 2005. Effect of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) tea on topoisomerase inhibition and oral carcinoma cell proliferation. *J Agric & Food Chem* **53**: 1966-73
- De Pasquale C (1991) A Controlled Double-Blind Clinical Trial of Mate for Subjects on a Low-Calorie Diet. *Clinica Dietol* **18**: 27-38
- De Pasquale C, 1991. Sperimentazione clinica controllata in doppio cieco del Maté in soggetti sottoposti a regime dietetico ipocalorico. *Clin Dietol* **18**: 27-38
- De Stefani E, P Boffetta, H Deneo-Pellegrini, P Correa, AL Ronco, P Brennan, G Ferro, G Acosta, M Mendilaharsu, 2007. Non-alcoholic beverages and risk of bladder cancer in Uruguay. *BMC Cancer* **29**(7): 57
- De Stefani E, P Correa, L Fierro, E Fonham, V Chen, D Zavala, 1991. Black tobacco, Mate, and bladder cancer. A case-control study from Uruguay. *Cancer* **67**(2): 536-40
- De Stefani E, P Correa, F Oreggia, H Deneo-Pellegrini, G Fernandez, D Zavala, J Carzoglio, J Leiva, E Fonham, S Rivero, 1988. Black tobacco, wine and mate in oropharyngeal cancer. A case-control study from Uruguay. *Rev Epidemiol Sante Publique* **36**(6): 389-94
- De Stefani E, P Correa, F Oreggia, J Leiva, S Rivero, G Fernandez, H Deneo-Pellegrini, D Zavala, E Fonham, 1987. Risk factors for laryngeal cancer. *Cancer Cytopathology* **60**(12): 3087-91
- De Stefani E, Fierro L, Correa P, Fonham E, Ronco A, Larrinaga M, Balbi J, Mendilaharsu M. Mate drinking and risk of lung cancer in males: a case-control study from Uruguay. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996, **5**(7): 515-9
- De Stefani E, L Fierro, M Mendilaharsu, A Ronco, MT Larrinaga, JC Balbi, S Alonso, H Deneo-Pellegrini, 1998. Meat intake, 'mate' drinking and renal cell cancer in Uruguay: a case-control study. *Br J Cancer* **78**(9):1239-43
- De Stefani E, 1990. Esophageal cancer risk mate tea, 15-th international cancer congress, Hamburg, Germany, August 16-22. *J Cancer res Clin Oncol* **116**(2): 1199
- Di Gregorio DE, H Huck, R Aristegui, G De Lazzari, A Jech, 2004. 137Cs contamination in tea and yerba mate in South America. *J Environ Radioact* **76**(3): 273-81
- Di Pentima MC, L Steele-Moore, L Muehlbauer, JD Klein, 2005. Are your patients at risk? Fungal contamination of *Ilex paraguariensis* St. Hil (yerba mate). *Transpl Infect Dis* **7**(1): 47-8
- Dickel ML, SM Kuze Rates, MR Ritter, 2007. Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. *J Ethnopharmacol* **109**: 60-71.
- Dusek B, J Hajslova, V Kocourek, 2002. Determination of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons and their precursors in biotic matrices. *J Chromatogr A* **982**(1): 127-43
- Esmelindro AA, JDS Girardi, A Mossi, RA Jacques, C Dariva, 2004. Influence of agronomic variables on the composition of mate tea leaves (*Ilex paraguariensis*) extracts obtained from CO2 extraction at 30 degreeC and 175. *J Agric & Food Chem* **52**: 1990-5
- Esmelindro MC, G Toniazzo, D Lopes, D Oliveira, C Dariva, 2005. Effects of processing conditions on the chemical distribution of mate tea leaves extracts obtained from CO2 extraction at high pressures. *J Food Eng* **70**: 588-92
- Evans SM, RR Griffiths, 1992. Caffeine tolerance and choice in humans. *Psychopharmacology* **108**: 51-9
- Evans WC, 2002. Trease and Evans' Pharmacognosy. 15th. ed. Edinburgh/London : W.B. Saunders. 585 pp. il

- Felippi R, D Wilhelm-Filho, RM Ribeiro Do Vale Nicolau, EL Silva, 2006. Administration of aqueous extract of *Ilex paraguariensis* reverses endothelial dysfunction in LDL receptor knockout mice. *Free Radical Res* **40** (1): 104
- Ferreira F, A Vázquez, C Güntner, P Moyna, 1997. Inhibition of the passive diffusion of cholic acid by the *Ilex paraguariensis* St. Hil. saponins. *Phytother Res* **11**(1): 79-81
- Fester G, E Martinuzzi, J Retamar, J. & A Ricciardi, 1961. *Aceites Esenciales de la República Argentina*. Córdoba : Academia Nacional de Ciencias
- Filip R, GE Ferraro, 2003. Researching on new species of "Mate": *Ilex brevicuspis*. Phytochemical and pharmacology study. *Eur J Nutr* **42**: 50-4.
- Filip R, T Sebastian, G Ferraro, C Anesini., 2007. Effect of *Ilex* extracts and isolated compounds on peroxidase secretion of rat submandibular glands. *Food Chem Toxicol*, **45**(4): 649-55
- Fonseca CAS, SS Otto, FJR Paumgarten, AC Leitao, 2000. Nontoxic, mutagenic, and clastogenic activities of mate-chimarrao (*Ilex paraguariensis*). *J Environ Path Toxicol Oncol* **19** (4): 333-46.
- Food and Nutrition Board Natural Academy of Sciences USA, 1989. Recommended Dietary Allowances 10th Edition Subcommittee on the Tenth Edition of the RDAs, Food and Nutrition Board Commission on Life Sciences National Research Council
- Ford RPK, PJ Schluter, EA Mitchell, BJ Taylor, R Scragg, AW Stewart, 1998. Heavy caffeine intake in pregnancy and sudden infant death syndrome. *Arch Dis Child* **78**: 9-13
- Fossati C, 1976. On the virtue and therapeutic properties of "yerba-mate" (*Ilex paraguayensis* or *paraguariensis* St. Hilaire 1838). *Clin Ter* **78**(3): 265-72
- Garcia RV, I Basualdo, I Peralta, M de Herebia, S Caballero, 1997. Minerals content of Paraguayan yerba mate (*Ilex paraguariensis* S.H.). *Arch Latinoam Nutr* **47**(1): 77-80
- Ghadirian P, 1987. Thermal irritation and esophageal Cancer in Northern Iran. *Cancer* **60**(8): 1909-14
- Giulian R, Iochims dos Santos CE, de Moraes Shubeita S, da Silva LM, Dias JF, Yoneama ML (2007) Elemental characterization of commercial mate tea leaves (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) before and after hot water infusion using ion beam techniques. *J Agric & Food Chem* **55**: 741-6.
- Goldenberg D, 2002. Mate: a risk factor for oral and oropharyngeal cancer. *Oral Oncol* **38**(7): 646-49
- Goldenberg D, A Golz, HZ Joachims, 2003. The beverage mate: A risk factor for cancer of the head and neck. *Head & Neck* **25**: 595-601.
- Goldenberg D, J Lee, WM Koch, MM Kim, B Trink, D Sidransky, CS Moon, 2004. Habitual risk factors for head and neck cancer. *Otolaryngol Head Neck Surg* **131**(6): 986-93
- Gomes Zuin V, L Montero, C Bauer, P Popp, 2005. Stir bar sorptive extraction and high-performance liquid chromatography-fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Mate teas. *J Chromatogr A* **1091**: 2-10
- Gonzalez de Mejia E, M Ramirez, 2004. Cytotoxicity of *Camellia sinensis*, *Ilex paraguariensis* and *Ardisia compressa* tea extracts and selected polyphenols on human hepatoma (HepG2) cancer cells. *FASEB J* **18** (4-5): 360-10
- Gonzalez de Mejia E, YS Song, MV Ramirez-Mares, H Kobayashi, 2005. Effect of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) tea on topoisomerase inhibition and oral carcinoma cell proliferation. *J Agric Food Chem* **53**(6): 1966-73
- Görgen M, K Turatti, AR Medeiros, A Buffon, CD Bonan, JJ Sarkis, GS Pereira, 2005. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* decreases nucleotide hydrolysis in rat blood serum. *J Ethnopharmacol* **97**(1): 73-7
- Gorzalczy S, R Filip, MDR Alonso, J Mino, GE Ferraro, C Acevedo, 2001. Choleric effect and intestinal propulsion of 'mate' (*Ilex paraguariensis*) and its substitutes or adulterants. *J Ethnopharmacol* **75**: 291-4
- Grigioni G, F Carduza, M Irurueta, N Pensel, 2004. Flavour characteristics of *Ilex paraguariensis* infusion, a typical Argentine product, assessed by sensory evaluation and electronic nose. *J Sci Food & Agric* **84**: 427-32

- Groves FD, DE Zavala, P Correa, 1987. Variation in international cancer mortality: factor and cluster analysis. *Int J Epidemiol* **16**(4): 501-8
- Gugliucci A, T Menini, 2002. The botanical extracts of *Achyrocline satureoides* and *Ilex paraguariensis* prevent methylglyoxal-induced inhibition of plasminogen and antithrombin III. *Life Sci* **72**: 279-92
- Gutnisky A, N Rizzo, ME Castro, G Garbossa, 1992. The inhibitory action of chlorogenic acid on the intestinal iron absorption in rats. *Acta Physiol Pharmacol Ther Latinoam* **42**(3):139-46
- Hin-Pang C, L Jing-Ting, C Jia-Yin, Y Yu-Ling, C Yu-Han, C Meng-Tsan, 2007. Effect of mate tea leaves on plasma and hepatic lipids in type 2 diabetic rats. *Taiwanese J Agric Chem and Food Sci* **45**(3): 172-81
- Hoeflich V, A de Conto, S Bitencourt & J Wohel, 1997. Fire wood consumption in the *Ilex paragueirensis* St. Hil. industrialization. En: *I Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, II. ReuniãoTécnica do Cone Sul Sobre a Cultura da Erva-Mate*. Curitiba, Brasil. Anais da EMBRAPA. (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria). P. 405
- Infante-Rivard C, A Fernandez, R Gauthier, M David, GE Rivard, 1993. Fetal loss associated with caffeine intake before and during pregnancy. *JAMA* **270**(24): 2940-3
- Islami F, A Pourshams, D Nayrollahzadeh, F Kamanger, 2009. Tea drinking habits and oesophageal cancer in a high risk area in northern Iran: population based case-control study. *BMJ* **338**: 929
- Ivanova D, D Gerova, T Chervenkov, T Yankova, 2005. Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. *J Ethnopharmacol* **96**(1-2): 145-50
- Jacques RA, Lds Freitas, VF Peres, C Dariva, JV de Oliveira, EB Caramao, 2006. Chemical composition of mate tea leaves (*Ilex paraguariensis*): A study of extraction methods. *J Separat Sci* **29**: 2780-4
- James JE, J Crosbie, 1987. Somatic and psychological health implications of heavy caffeine use. *Br J of Addtic* **82**: 503-9
- Jones Jr JB, B Wolf & HA Mills, 1991. *Plant Analysis Handbook. A Practical Sampling, Preparation, Analysis and Interpretation Guide*. Athens, Georgia, USA : Micro-Macro Publishing. 213 pp
- Kamangar F, MM Schantz, CC Abnet, RB Fagundes, SM Dawsey, 2008. High level of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in Maté drinks. *Cancer epidem Biomarkers and Prevention* **17**(5): 1262-8
- Kiselova Y, D Ivanova, T Chervenkov, D Gerova, B Galunska, T Yankova, 2006. Correlation between the in vitro antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Bulgarian herbs. *Phytother Res* **20**(11): 961-5
- Knöss W, M Haaf, 2005. Mate von der Tradition zur Gegenwart. *Ztsch für Phytotherapie* **26**: 94-8
- Knöss W, W Schlüter, F Stolte, K Brand, LB Gheno, 1998. Mate (*Ilex paraguariensis*): Control of Natural Constituents during Processing, 46th Annual Congress of the Soc for Med Plant Res, Vienna, **E08**
- Knöss W, 1997. Matetee: Herkunft, Inhaltsstoffe und Wirkungen. *Topics Heft Landeskunde* **2**: 14-7
- Konje JC, JE Cade, 2008. Maternal caffeine intake during pregnancy and risk of fetal growth restriction: a large prospective observational study. CARE study group. *BMJ* **337**: 2332
- Kraemer KH, AT Taketa, EP Schenkel, G Gosmann, D Guillaume, 1996. Mate saponin 5, a highly polar saponin from *Ilex paraguariensis*. *Phytochemistry* **42**(4): 1119-22
- Krokida M, V Karathanos, Z Maroulis, & D Marinos-Kouris. 2003. Drying kinetics of some vegetables. *J Food Eng* **59**: 391-403
- Kubo I, H Mupoi, M Himejima, 1993. Antibacterial activity against *Streptococcus mutans* of Mate tea flavor components. *J Agric Food Chem* **41**(1): 107-11
- Lanzetti M, F Siva-Bezerra, B Romana-Souza, A Brando-Lima, VL Goncalves Koatz, L Cristovao Porto, S Santos Valenzia, 2008. Mate tea reduced acute lung inflammation in mice exposed to cigarette smoke. *Nutrition* **24**(4): 375-81

- Leitao AC, RS Braga, 1994. Mutagenic and genotoxic effects of mate (*Ilex paraguariensis*) in prokaryotic organisms. *Braz J Med & Biol Res* **27**: 1517-25
- Lelo A, DJ Birkett, RA Robson, JO Miners, 1986. Comparative pharmacokinetics of caffeine and its primary demethylated metabolites paraxanthine, theobromine and theophylline in man. *Br J Clin Pharmacol* **22**(2): 177-82
- Lewis CE, B Caan, E Funkhouser, JE Hilner, C Bragg, A Dyer, JM Raczynski, PJ Savage, MA Armstrong, GD Friedman, 1993. Inconsistent Associations caffeine-containing beverages with blood pressure and with Lipoproteine. *Am J Epidem* **138**(7): 502-7
- Lozano PR, KR Cadwallader, E Gonzalez de Mejia, 2007. Identification of characteristic aroma compounds of Maté (*Ilex paraguariensis*) tea. In: Tunick MH, de Mejia EG. editors. Hispanic food: chemistry and flavour. *Am Chem Soc* 143-50
- Lozano PR, CL Nicolalde, KR Cadwallader, E de Mejia, 2005. Identification of characteristic aroma components of mate (*Ilex paraguariensis*) tea. Abstracts. *Amer Chem Soc* **229**: U45-U6
- Marchisio RF, A Sales, S Cerutti, E Marchevski, LD Martinez, 2005. On-line preconcentration/determination of lead in *Ilex paraguariensis* samples (mate tea) using polyurethane foam as filter and USN-ICP-OES. *J Hazardous Mat* **124** (3): 113-8.
- Martin I, MA Lopez-Vilchez, A Mur, O Garcia-Algar, S Rossi, E Marchei, S Pichini, 2007. Neonatal withdrawal syndrome after chronic maternal drinking of mate. *Ther Drug Monit* **29**(1): 127-9
- Martinet A, K Ndjoko, C Terreaux, A Marston, K Hostettmann, Y Schutz, 2001. NMR and LC-MSn characterisation of two minor saponins from *Ilex paraguariensis*. *Phytochem Anal* **12** (1): 48-52
- Matijasevich A, FC Barros, I Santos, A Yemini, 2006. Maternal caffeine consumption and fetal death: a case-control study in Uruguay. *Paediatr Perinat Epidemiol* **20**(2): 100-9
- Matzkies F, 1989. Minimierung von Nebenwirkungen während der Gewichtsreduktion mit matehaltigem Tee. *Therapeutikon* **3**(11): 624-31
- Mazzafera P, 1994. Caffeine, theobromine and theophylline distribution in *Ilex paraguayensis*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* **6**: 149-51
- McGee JOD, RS Patrick, CB Wood, LH Blumgart, 1976. A case of veno-occlusive disease of the liver in Britain associated with herbal tea consumption. *J Clin Path* **29**: 788-94
- Meggs WJ, R Weisman, RS Hoffman, R Shih, SM Weimer, SM Fill, GJ Deannuntis, LR Goldfrank, CK Hsu, S Sabo, P Leo, D Shastry, K Rubin, I Constantine, S Somwaru, A Munshi, 1994. Anticholinergic poisoning associated with an herbal tea-New York City. *Morbidity and Mortality Weekly Report* **44**(11): 193-5
- Mendes FR, EA Carlini, 2007. Brazilian plants as possible adaptogens: an ethnopharmacological survey of books edited in Brazil. *J Ethnopharmacol* **109**: 493-500
- Menini T, C Heck, J Schulze, E de Mejia, A Gugliucci, 2007. Protective Action of *Ilex paraguariensis* Extract against Free Radical Inactivation of Paraoxonase-1 in High-Density Lipoprotein. *Planta Med* **73**(11): 1141-7
- Michl H, F Haberler, 1954. Über die Bestimmung von Purinen in coffeinhaltigen Drogen. *Monatshefte für Chemie / Chemical Monthly* **85**: 779-795
- Milioli EM, P Cologni, CC Santos, TD Marcos, VM Yunes, MS Fernandes, T Schoenfelder, L Costa-Campos, 2007. Effect of acute administration of hydroalcohol extract of *Ilex paraguariensis* St Hilaire (Aquifoliaceae) in animal models of Parkinson's disease. *Phytother Res* **21**(8): 771-6
- Momoi N, JP Tinney, LJ Liu, H Elshershari, PJ Hoffmann, JC Ralphe, B Keller, K Toita, 2008. Modest maternal caffeine exposure affects developing embryonic cardiovascular function and growth. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **294**: 2248-56
- Mosimann ALP, Mantovani CL, Bordignon JC, Pedrosa RC, Silva EL. Reduction of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits by *Ilex paraguariensis* extract (mate). *Free Radic Biol Med* 2002, 33(1): 244

- Muccillo Baisch AL, KB Johnston, FL Paganini Stein, 1998. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of aqueous extracts of *Ilex paraguariensis* on mesenteric arterial bed of rats. *J Ethnopharmacol* **60**(2): 133-9
- Muñoz N, CG Victora, M Crespi, C Saul, NM Braga, P Correa, 1987. Hot mate drinking and precancerous lesions of the oesophagus: an endoscopic survey in southern Brazil. *Int J Cancer* **39**(6): 708-9
- Muñoz SE, A Navarro, MJ Lantieri, ME Fabro, MG Peyrano, M Ferraroni, A Decarli, C La Vecchia, AR Eynard, 1998. Alcohol, methylxanthine-containing beverages, and colorectal cancer in Cordoba, Argentina. *Eur J Cancer Prev* **7**(3): 207-13
- Nestle N, S Pauls, A Wunderlich, 2006. Oral magnetic resonance imaging contrast agent based on *Ilex paraguayensis* herbal extract. *Magn Reson Med* **55**(4): 923-29
- Ohem N, J Hölzl, 1990. Der Mate-eine Genuß- und Heilpflanze aus dem mittleren Südamerika. *Pharmazeutische Zeitung* **41**(135): 2737- 46 (9-18)
- Ohem N, J Holz, 1988. Some New Investigations on *Ilex paraguariensis*: Flavonoids and Triterpenes. *Planta Med* **54**(6): 576
- Ohem N, 1990. Auf den Spuren des Mate. *Dtsch Apoth Ztg* **130**(32): 1769- 73
- Ohem N. Mate, 1996. *Naturw Rdsch* **49**(7): 259-61
- Opala T, P Rzymiski, I Pischel, M Wilczak, J Wozniak, 2006. Efficacy of 12 weeks supplementation of a botanical extract-based weight loss formula on body weight, body composition and blood chemistry in healthy, overweight subjects - a randomised double-blind placebo-controlled clinical trial. *Eur J Med Res* **11**(8): 343-50
- Paganini Stein F, A Bourscheid, E Furlong, MC Vaz, LS Soares, AL Muccillo Baisch, 2002a. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of flavonoid-rich extract from *Ilex paraguariensis* on mesenteric arterial bed of rats (MAB). *Fundam Clin Pharmacol* **16**(5): 419 (A-302), abstract
- Paganini Stein F, B Schmidt, E Furlong, M Cezar Vaz, L Souza Soares, AL Muccillo Baisch, 2002b. Acid butanolic (aBF) and aqueous (AqF) fraction from *Ilex paraguariensis* relaxes rat mesenteric arterial bed (MAB) of normal and cholesterol-fed rats. *Fundam Clin Pharmacol* **16** (5): 419 (A-303), abstract
- Paganini Stein FL, B Schmidt, EB Furlong, LA Souza-Soares, MC Soares, MR Vaz, AL Muccillo Baisch, 2005. Vascular responses to extractable fractions of *Ilex paraguariensis* in rats fed standard and high-cholesterol diets. *Biol Res Nurs* **7**(2): 146-56
- Pang J, Y Choi, T Park, 2008. *Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: Potential role of AMPK in the visceral adipose tissue. *Arch Biochem Biophys* **576**(2): 178-85
- Pasqualotto FF, S Gupta, FM Umezu, EB Pasqualotto, M Salvador, A Agarwal, 2006. Relationship between *Ilex paraguariensis* (Chimarrao) consumption and seminal antioxidants levels in infertile men. *Fertility and Sterility* **86**: 448-9
- Pavei C, Guzzato P, Petrovick PR, Gosmann G, Gonzalez-Ortega G, 2007. Development and Validation of an HPLC Method for the Characterization and Assay of the Saponins from *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil (mate) fruits. *J Liq Chromatogr & Relat Technol* **30**: 87-95.
- Peckolt T, 1883. Maté or Paraguay tea. *Pharmaceutical J and Transaction* **14**: 121-4
- Pereira Jotz G, HS Menzes, CG Zettler, RJ Vargas Alves, R Chacur, C Buzzatti, M Dias de Olivera, TH Maeso Montes, M Hübner, EW Zettler. Mate (*Ilex paraguariensis*) as an etiological agent of neoplasia in the aerodigestive tract. An experiment study. *Intl Ach Otorhinolaryngol Sao Paulo* **10**: 306-11
- Piccolo GA, Galantini JA, Rosell RA, 2004. Organic carbon fractions in a yerba mate plantation on a subtropical Kandihumult of Argentina. *Geoderma* **123**: 333-41.
- Pintos J, EL Franco, BV Oliveira, LP Kowalski, MP Curado, R Dewar, 1994. Mate, coffee, and tea consumption and risk of cancers of the upper aerodigestive tract in southern Brazil. *Epidemiology* **5**(6): 583-90
- Pittler MH, K Schmidt, E Ernst, 2005. Adverse events of herbal food supplements for body weight reduction: systematic review. *Obes Rev* **6**(2): 93-111

- Pomilio AB, S Trajtemberg, AA Vitale, 2002. High-performance capillary electrophoresis analysis of mate infusions prepared from stems and leaves of *Ilex paraguariensis* using automated micellar electrokinetic capillary chromatography. *Phytochem Anal* **13** (4): 235-41
- Reissmann CB, MI Radomski, RM Bianchini de Quadros, 1999. Chemical composition of *Ilex paraguariensis* St. Hil. under different management conditions in seven localities of Parana State. *Braz Arch Biol & Technol* **42**: 187-94
- Rivelli DP, VV da Silva, CD Ropke, DV Miranda, RL Almeida, TCH Sawada, SB de Moraes Barros, 2007. Simultaneous determination of chlorogenic acid, caffeic acid and caffeine in hydroalcoholic and aqueous extracts of *Ilex paraguariensis* by HPLC and correlation with antioxidant capacity of the extracts by DPPH-reduction. *Rev Bras Cienc Farm* **43**(2): 215-22
- Rojo de Camargo M & MC Toledo, 1999. HPLC determination of caffeine in tea, chocolate products and carbonated beverages. *J Science Food Agric* **79**:1861-64
- Rojo de Camargo M, MC Toledo, 2002. Chá Maté e Café como fontes de hidrocarbonetos policíclicos aromaticos (HPAS) na dieta da populacao de campinas 1. *Food Sci Tech* (Cienc Tecnol. Aliment, Campinas) **22**: 49-53
- Rolon PA, X Castellsague, M Benz, N Munzoz, 1995. Hot and Cold Mate Drinking and Esophageal Camcer in Paraguay. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **4**(6): 595-605
- Ruxton CHS, L Kirkwood, B McMillan, D St John, CEL Evans, 2007. Effectiveness of a herbal supplement (Zotrim™) for weight management. *British Food Journal* **109**(6): 416-28
- Ruxton CHS, 2004. Efficaca of Zotrim: a herbal weight loss preparation. *Nutr & Food Sci* **34**(1): 25-8
- Saldaña MD, C Zetzi, RS Mohamed, G Brunner, 2002. Extraction of methylxanthines from guarana seeds, mate leaves, and cocoa beans using supercritical carbon dioxide and ethanol. *J Agric Food Chem* **50**(17): 4820-6
- Saldana MDA, RS Mohamed, MG Baer, P Mazzafera, 1999. Extraction of purine alkaloids from mate (*Ilex paraguariensis*) using supercritical CO₂. *J Agric & Food Chem* **47** (9): 3804-8
- Santa Cruz MJ, L Garitta, G Hough, 2002. Sensory descriptive analysis of yerba mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire), a South American beverage. *Food Sci & Technol Intl* **8**: 25-31.
- Santos IS, A Matijasevich, NC Valle, 2005. Mate drinking during pregnancy and risk of preterm and small for gestational age birth. *J Nutr* **135**(5): 1120-3
- Santos IS, CG Victora, S Huttly, JB Carvalhal, 1998. Caffeine intake and low birth weight: a population-based case-control study. *Am J Epidemiol* **147**(7): 620-7
- Sari F, N Turkmen, G Polat, YS Veloglu, 2007. Total polyphenol, antioxidant and antibacterial activities of black mate tea. *Food Sci and Techn Res* **13**(3): 265-9
- Schenkel EP, G Gosmann, JA Montanha, BM Heizmann, ML Athayde, ATC Taketa, VS Pires, D Guillaume, 1997. Saponins from mate (*Ilex paraguariensis*) and other South American *Ilex* species: Ten years research on *Ilex* saponins. *Ciencia e Cultura* (Sao Paulo) **49**: 359-63.
- Schenkel EP, JA Montanha, G Gosmann, 1996. Triterpene saponins from mate, *Ilex paraguariensis*. *Adv Exp Med Biol* **405**: 47-56
- Scherer R, P Urfer, MR Mayol, LD Belingheri, F Marx, MJJ Janssens, 2002. Inheritance studies of caffeine and theobromine content of Mate (*Ilex paraguariensis*) in Misiones, Argentina. *Euphytica* **126** (2): 203-10
- Schinella GR, G Troiani, V Davila, PM de Buschiazzo, HA Tournier, 2000. Antioxidant effects of an aqueous extract of *Ilex paraguariensis*. *Biochem Biophys Res Commun* **269**(2): 357-60
- Seeger H, 1994. Starker Coffeinkonsum kann zu Fehlgeburten führen. *Dtsch Apoth Ztg* **134**(25): 59-60
- Sewram V, E De Stefani, P Brennan, P Boffetta, 2003. Mate consumption and the risk of squamous cell esophageal cancer in Uruguay. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **12**(6): 508-13
- Shimada A, S Kamiyama, JA Caminha, Y Moriguchi, 1981. Regional differences of death from chronic disease in Rio Grande Do Sul, Brazil from 1970 to 1976. *Soc Sci Med* **15**: 187-98

- Sichieri R, JE Everhart, GA Mendonca, 1996. Diet and mortality from common cancers in Brazil: an ecological study. *Cad Saude Publica* **12**(1): 53-9
- Spinella M, 2001. Herbal Medicines and Epilepsy: The Potential for Benefit and Adverse Effects. *Epilepsy Behav* **2**(6): 524-32
- Stein FLP, B Schmidt, EB Furlong, LAS Soares, MCF Soares, MRC Vaz, ALM Baisch, 2005. Vascular responses to extractable fractions of *Ilex paraguariensis* in rats fed standard and high-cholesterol diets. *Biosaldanalogical Res for Nurs* **7** (2): 146-56
- Tarragó J, PA Sansberro, R Filip, P López, A González, C Luna & LA Mroginski, 2005. Effect of leaf retention and flavonoids on rooting of *Ilex paraguariensis* cuttings. *Scientia Horticulturae* (Amsterdam) **103**: 479-88
- Turkmen N, F Sari, YS Velioglu, 2006. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chem* **99** (4): 835-41
- Turner M, P McCrory, A Johnston, 2005. Time for tea, anyone? *Br J Sports Med* **39**(10): 37
- Vargas-Alves RJ, GP Jotz, V Amaral, TMH Montes, HS Menezes, HHR de Andarde, 2008a. The evaluation of Mate (*Ilex paraguariensis*) genetic toxicity in human lymphocytes by the cytokinesis-block in the micronucleus assay. *Toxicology in vitro* **22**(3): 695-8
- Vargas-Alves RJ, TMH Montes, R Chacur, MD Oliveira, MD Hübner, C Buzzatti, GP Jotz, HS Menezes, C Zettler, 2008b. Yerba/Erva mate (*Ilex paraguariensis*) etiological agent of lingual neoplasia. *Rev Amrigs, Porto Alegre* **51**(1): 7-11
- Vassallo A, P Correa, E De Stefani, M Cendan, D Zavala, V Chen, J Carzoglio, H Deneo-Pellegrini, 1985. Esophageal cancer in Uruguay: a case-control study. *J Natl Cancer Inst* **75**(6): 1005-9
- Victoria CG, N Muñoz, NE Day, LB Barcelos, DA Peccin and NM Braga, 1987. Hot beverages and oesophageal cancer in Southern Brazil: a case-control study. *Int J Cancer* **39**: 710-16
- Wada M, T Takita, S Innami, 1996. Some kinds of teas suppress a sideration of diabetes in streptozotocin-administered rats. *J Clin Biochem Nutr* **20**(1): 61-9
- Weemaes C, V Ooms, A Van Loey A & M Hendrickx, 1999. Kinetics of chlorophyll degradation and color loss in heated broccoli juice. *J Agr Foods Chem* **47**: 2404-09
- Wilson, E G, RV Rondina & JD Cousio, 1981. Valoración de las xantinas presentes en el mate cebado al estilo rioplatense. *Rev Farm* **124**: 41-56
- Woniaczuk M, L Zielke, A Kotik & M Schmalko, 2003. Control estadístico de parámetros de calidad de la Yerba Mate elaborada. En: *Actas 3° Congreso Sul-Americano da erva Mate*. Chapecó, Brasil. Pp.1-6
- Wrobel K, K Wrobel, EM Colunga Urbina, 2000. Determination of total aluminum, chromium, copper, iron, manganese, and nickel and their fractions leached to the infusions of black tea, green tea, Hibiscus sabdariffa, and *Ilex paraguariensis* (mate) by ETA-AAS. *Biol Trace Element Res* **78**: 271-80.
- Zielinsky P, JL Manica, A Jr Piccoli, JC Areias, LH Nicoloso, HS Menezes, R Frajndlich, AK Busato, R Petracco, L Hagemann, MR Moraes, J Silva, M Alievi, P Centeno, M Barra, 2007. Experimental study of the role of maternal consumption of green tea, mate tea and grape juice on fetal ductal constriction. *Ultrasound Obstet Gynecol* **30**(4): 515

CULTIVO Y MEJORAMIENTO

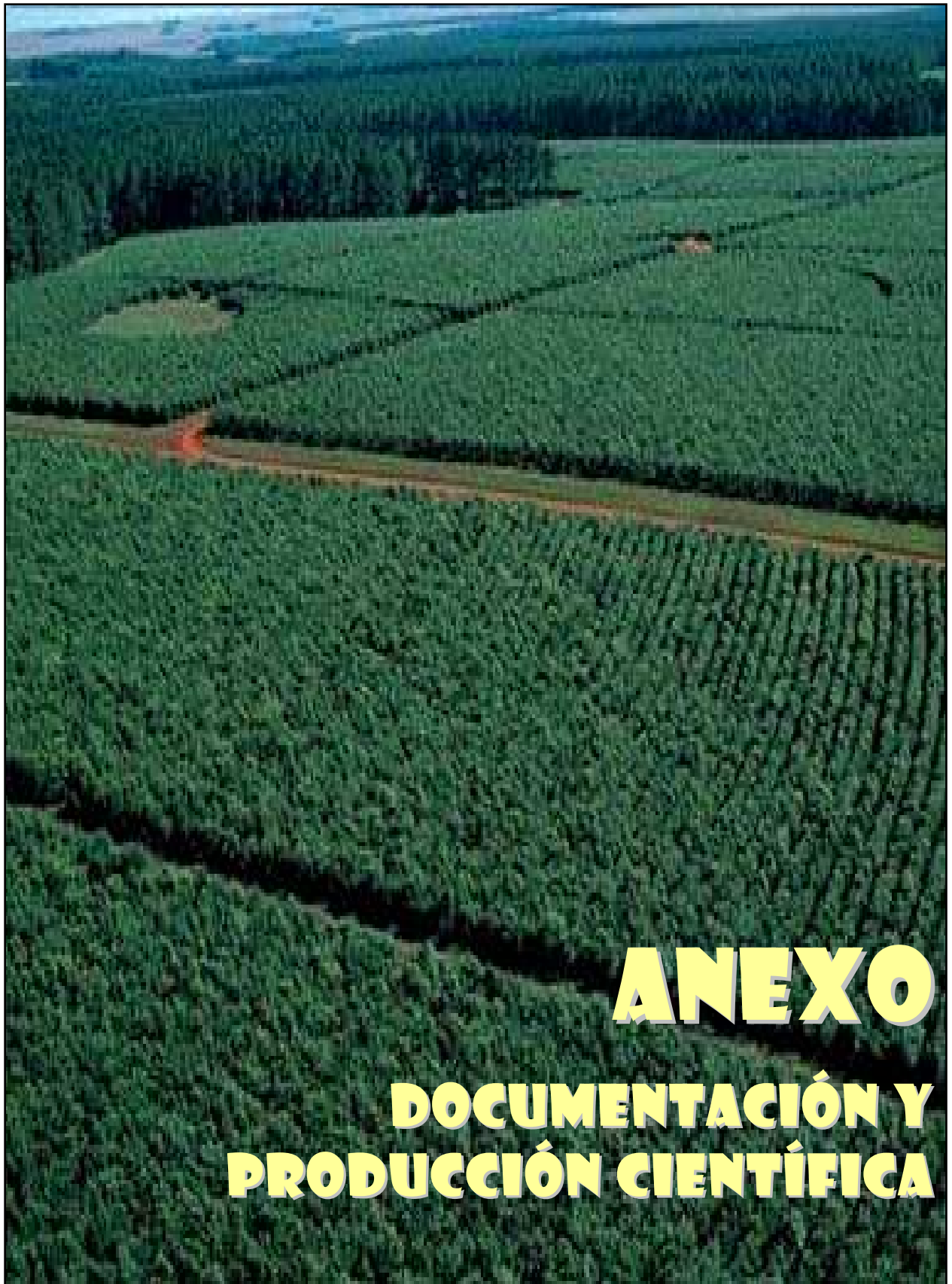
- Auer CG, A Grigoletti Junior, 1995. Diseases of erva-mate. *Summa Phytopathol* **21**: 195-8
- Bernasconi NK, LA Mroginski, PA Sansberro, HY Rey, 1996. Micropropagation of yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): Effect of the explant type on establishment of the in vitro cultures. *Phyton* (Buenos Aires) **58**: 23-31

- Bernasconi NK, LA Mroginski, PA Sansberro, HY Rey, 1998. Micropropagation of yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): Effect of genotype and season on the in vitro establishment of explants. *Phyton* (Buenos Aires) **62**: 95-9
- Borsoi GA, EC Costa, 2001. Nutritional evaluation of erva mate plants, which were attacked, and plants of the same species, which were not attacked by *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825). *Ciencia Florestal* **11**: 131-42
- Brito da Costa R, MD Vilela de Resende, AZ Contini, FL Hilario Rego, RA Rodrigues Roa, WJ Martins, 2005. Genetic evaluation of individuals of erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) progenies, in the Caarapo/MS region, using the REML/BLUP procedure. *Ciencia Florestal* **15**: 371-6
- Cunha GG, AG Ferreira, 1987. Viability of *Ilex-Paraguariensis* St. Hil. Seeds. *Ciencia e Cultura* (Sao Paulo) **39**: 974-6
- Domingos DM, I Wendling, 2006. Survival and vegetative vigor of *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. plants grafted directly in the field. *Ciencia Florestal* **16**: 107-12
- Duenisch O, CB Reissmann, A Oliszeski, 2004. Variability of vessel characteristics in the xylem of *Ilex paraguariensis* (mate-tree) from South Brazil. *IAWA J* **25**: 449-58
- Eibl B, RA Fernandez, JC Kozarik, A Lupi, F Montagnini, D Nozzi, 2000. Agroforestry systems with *Ilex paraguariensis* (American holly or yerba mate) and native timber trees on small farms in Misiones, Argentina. *Agroforestry Systems* **48**: 1-8
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación), 1992. *Cultivos Marginados: otra perspectiva de 1492*. Producción y Protección vegetal. Roma. Editores Hernández Bermejo y León **26**: 245-52
- Ferreira AG, GG Cunha, TSD Silveira, CY Hu, 1991. In-Vitro Germination of Immature Embryos of *Ilex-Paraguariensis* St. Hil. *Phyton* (Buenos Aires) **52**: 27-32
- Fleig FD, PR Schneider, CAG Finger, 2003. Effects of spacement and shoot age on morphometry of *Ilex paraguariensis* St. Hill. stands. *Ciencia Florestal* **13**: 73-88
- Gaiad S, M Rakocevic, CB Reissmann, 2006. N sources affect growth, nutrient content, and net photosynthesis in Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). *Braz Arch Biol & Technol* **49**: 689-97
- Kraemer KH, EP Schenkel, R Verpoorte, 2002. *Ilex paraguariensis* cell suspension culture characterization and response against ethanol. *Pl Cell Tissue & Organ Cult* **68**: 257-63
- Prat Kricun SD, 1983. Yerba-mate: investigación agronómica en la República Argentina. Misiones, Argentina: EEA INTA Cerro Azul. 16 pp
- Prat Kricun SD, 1993. Yerba-mate: técnicas actualizadas de cultivo. Miscelánea n° 27. Misiones, Argentina: EEA INTA Cerro Azul. 14 pp
- Prat Kricun SD, 1994. Segundo curso de capacitación en producción de yerba mate. Misiones, Argentina: EEA INTA Cerro Azul. 165 pp
- Reissmann CB, BMS Prevedello, RMBD Quadros, MI Radomski, 1997. Production and foliar N, P, K, Ca and Mg levels in erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) related to increasing base saturation levels. *Arquivos Biol e Tecnol* (Curitiba) **40**: 241-9
- Rey HY, LA Mroginski, 1988. Regeneration of Mate Plants *Ilex-Paraguariensis* by in-Vitro Cultivation of Shoot Tips and Axillary Buds. *Phyton* (Buenos Aires) **48**: 139-46
- Rey HY, PA Sansberro, MM Collavino, JR Davina, AM Gonzalez, LA Mroginski, 2002. Colchicine, trifluralin, and oryzalin promoted development of somatic embryos in *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae). *Euphytica* **123**: 49-56
- Rosse LN, JSC Fernandes, 2002. Choice of traits for genetic improvement in erva-mate by means of multivariate techniques. *Ciencia Florestal* **12**: 21-7
- Saidelles FLF, DJ Reinert, RL Salet, 2003. Initial growth of "Erva-mate" (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) seedlings in three soil types in central region of Rio Grande do Sul state. *Ciencia Florestal* **13**: 17-25

- Sansberro PA, HY Rey, LA Mroginski, MM Collavino, 1998. In vitro culture of rudimentary embryos of *Ilex paraguariensis*: Responses to exogenous cytokinins. *J Pl Growth Regulat* **17**: 101-5
- Sansberro P, H Rey, L Mroginski, M Collavino (1999) In vitro plant regeneration of *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae). *In Vitro Cell & Develop Biol Plant* **35**: 401-2
- Sansberro PA, LA Mroginski, R Bottini, 2001. In vitro morphogenetic responses of *Ilex paraguariensis* nodal segments treated with different gibberellins and Prohexadione-Ca. *Pl Growth Regulat* **34**: 209-14
- Sansberro P, L Mroginski, R Bottini, 2006. Stimulation of lateral branch formation on *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae) seedlings. *Austral J Experim Agric* **46**: 707-10
- Younging Sun Y, D Zhang & J Smagula, 2010. Micropropagation of *Ilex glabra* (L.) A Gray. *Hort Science* **45** (5): 805-8

TECNOLOGÍA INDUSTRIAL Y METODOLOGÍA ANALÍTICA

- Gómez Vara, M, J Brioux & J Avanza, 1979. Investigaciones sobre la tecnología de la Yerba Mate Informe N° 4. APRYMA. *Asociación para la promoción del consumo de yerba mate* **4**: 182-211
- Jacques RA, EJ Arruda, LC de Oliveira, AP de Oliveira, C Dariva, JV de Oliveira, EB Caramao, 2007. Influence of agronomic variables on the macronutrient and micronutrient contents and thermal behaviour of mate tea leaves (*Ilex paraguariensis*). *J Agric Food Chem* **55**(18): 7510-16
- Maccari AJ & APR Santos, 2000. Produtos alternativos e desenvolvimento da tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate. Curitiba : MCT/CNPq/PADCT
- Ramallo LA, OA Albani, 2004. Prediction and determination of water uptake in packaged yerba mate. *Food Sci & Technol Intl* **10**: 35-40
- Schmalko ME, SM Alzamora, 2005. Modelling the drying of a twig of "yerba mate" considering as a composite material - Part II: mathematical model. *J Food Eng* **67**: 267-72
- Schmalko ME, LA Ramallo, D Ferreira, RD Berlingheri, 2002. Dimethoate degradation in plants and during processing of yerba mate leaves. *Braz Arch Biol & Technol* **45**: 419-22
- Zanoelo EF, 2005. Equilibrium moisture isotherms for mate leaves. *Biosyst Eng* **92**: 445-52
- Zanoelo EF, GM di Celso, G Kaskantzis, 2007. Drying kinetics of mate leaves in a packed bed dryer. *Biosyst Eng* **96**: 487-94



ANEXO

DOCUMENTACIÓN Y PRODUCCIÓN CIENTÍFICA