

Tesis de Posgrado

Algunos estudios químicos sobre la yerba mate

Diaz, Héctor

1941

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Diaz, Héctor. (1941). Algunos estudios químicos sobre la yerba mate. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0271_Diaz.pdf

Cita tipo Chicago:

Diaz, Héctor. "Algunos estudios químicos sobre la yerba mate". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1941.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0271_Diaz.pdf

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES

FCFMA

ALGUNOS ESTUDIOS QUÍMICOS SOBRE LA YERBA MATE

Tesis: 271

TESIS

presentada para optar al título de Doctor en Química

HECTOR DIAZ

1941

FECHA.

Me es grato presentar a la consideración de los señores Profesores el presente trabajo de Tesis para optar al título de Doctor en Química.

Me complazco mencionar con mi mas profundo agradecimiento al Profesor Doctor Venancio Deulefeu a quien debe la gentil e inteligente dirección del presente trabajo.

Agradezco al Doctor Alfredo Sardelli por haber puesto gentilmente a mi disposición los elementos necesarios para la realización del mismo en el Institute Bacteriológico.

Debe mencionar que parte de este trabajo fué realizado en colaboración con el Doctor Jorge Mendive.

Mi agradecimiento al Doctor R. Labriola por haber realizado el desaje de nitrógeno de la teobromina obtenida.

))))o((((

Con motivo de un estudio general sobre la yerba mate que se está realizando bajo la dirección del Profesor Houssay en combinación con la Junta Reguladora de la Yerba Mate, se hizo una distribución de los trabajos sobre los diferentes temas a tratar en dicho estudio.

La circunstancia de que en el Instituto Bacteriológico se haya estudiado la existencia de la vitamina C en la yerba mate, determinó que se tomara en el presente trabajo algunos de los aspectos químicos más interesantes del estudio iniciado.

Uno de ellos, ya completamente terminado, fué la investigación sobre el insaponificable del extracto etéreo o clorofórmico de la yerba mate. Dio ésta por resultado el hallazgo de α -amirina y ácido ursólico en la yerba.

Nos hemos propuesto estudiar, después de ello, el problema del llamado tanino de la yerba mate, tratando principalmente de aislarlo al estado puro para el mejor estudio de su constitución o por lo menos estudiar su naturaleza de acuerdo a su comportamiento químico.

También hemos tratado de estudiar las sustancias reductoras presentes en los extractos de yerba mate y su posible naturaleza.

Otro de los aspectos que nos ocupa es la existencia de teobromina acompañando a la cafeína existente en el citado vegetal. Hemos abordado principalmente el problema de la caracterización del alcaloide mencionado.

En todo momento hemos empleado la misma muestra de yerba mate

enviada por la Junta Reguladora de la Yerba Mate, con la seguridad de que se tratara de la especie *Ilex Paraguariensis* sin contaminación con otras especies vegetales.

Dicha yerba procede del yerbal "Santa Inés", del Señor Pedro Núñez, del Radio Capital, en Misiones; de plantas en pleno desarrollo. Corresponde a la cosecha de 1937, que se realizó desde el primero de mayo al 15 de octubre y que ha sido elaborada por el sistema "Barbacuá" y molida "para infusiones".

-----00-----

PURINAS TOTALES DEL MATE.

-----000-----

Desde que fué encontrada la cafeína en la yerba mate, han sido muy numerosos los trabajos realizados para establecer la cantidad de la misma presente en la yerba. Muchos de estos estudios fueron realizados con la esperanza de que el contenido en cafeína sirviera para establecer falsificaciones de la yerba; pero la gran variación en el contenido en yerbas que se pueden considerar legítimas ha demostrado que no puede utilizarse para tal fin.

Hauschild(1935) presenta un cuadro de las determinaciones realizadas por diversos autores y en él puede verse cifras desde 0.09% por Herrero Ducloux(1917) hasta la de 4% de Gay, citada por ese mismo autor.

Es seguro que los valores máximo y mínimo encontrados no representan los reales para la yerba mate y su diferencia está sobre todo en los métodos empleados, muchos de ellos deficientes. Pero aunque las diferencias son menores, éstas se encuentran aún empleando métodos bien controlados que consideramos dan poco error; por supuesto, menor que las diferencias encontradas entre las distintas muestras de yerba. Como ejemplo puede mencionarse el trabajo de Krauss, Kleucker y Kollath(1933) donde los mencionados autores encuentran muestras de yerba con un contenido en cafeína entre 0.3 y 1.5 % empleando el método de Leudrich y Hottelun modificado que han estudiado en su parte experimental Grossfeld y Steinhoff (1931) y que puede considerarse que da valores muy aceptables, y que a nuestro juicio tiene el solo inconveniente de emplear inicialmente poca yerba para realizar la determinación lo que hace que un pequeño error se multiplique por 20 al darse la cifra final.

En las muestras estudiadas por nosotros, con el método citado se obtuvo valores de 1.40 a 1.53%, es decir que se trata de un tipo de yerba de alto contenido en cafeína.

Con referencia al contenido en cafeína de la yerba mate, se ha planteado siempre el problema de la existencia de cafeína libre y cafeína combinada. Hay en esta diferencia una gran parte de definición y se ha definido así como ~~como~~ cafeína libre, aquella porción del total que se puede extraer directamente de la yerba mate sin necesidad de alcalinizarla. El álcali tiene precisamente la misión de separar la cafeína de las sustancias ácidas a las que se supone unida.

Hauschild encontró, según la muestra, valores de cafeína combinada que representaban del 0 al 52.9 % del total. En las muestras por nosotros estudiadas la porción de cafeína combinada es también muy pequeña y los valores encontrados para la libre representan cifras desde 80 al 100 % del total, como puede verse en la tabla respectiva de la parte experimental.

Resulta igualmente interesante ver qué proporción de esta cafeína pasa fácilmente al agua. Se preparó una infusión en las condiciones que se detallan en la parte experimental y como puede observarse, desde un 60 al 100 % de la cafeína pasa a la misma. Es evidente que en la forma típica de preparar la infusión, pronto debe quedar la yerba agotada en cafeína.

DETERMINACION DE LAS PURINAS DEL MATE.

Se empleó el método original de Leudrich y Nottbohm (1909) modificado por Grossfeld y Steinhoff (1931) y que ha sido adoptado por Hauschild en su trabajo. La severa crítica experimental a que lo sometieron Grossfeld y Steinhoff da seguridad en los resultados que con él se obtie-

nen. El método consiste en pesar 10 g de yerba finamente pulverizada, tratarla con 5 ml. de amoníaco al 10 % en un vaso de precipitación y mezclarla bien de inmediato agitando de vez en cuando durante una hora. Se mezcla entonces con 10 g. de arena gruesa y se pasa sin pérdidas a un aparato de extracción de Soxhlet para extracción en caliente, donde se extrae durante dos horas con cloroformo hirviendo fuertemente. En general basta este tiempo para extraer todos los solubles en cloroformo en esas condiciones; pero puede comprobarse por evaporación de una porción del disolvente y continuar si éste diera aún vestigios de extracto.

Se añade un gramo de parafina sólida al extracto y se destila el cloroformo. El residuo se extrae con 50 ml. de agua hirviendo y se lava con agua caliente, pasando los extractos a un matraz aforado de 200 ml hasta que esté lleno aproximadamente en sus tres cuartas partes. Después de enfriada la solución acuosa, se añade a la misma 10 ml. de una solución al 5 % de permanganato de potasio. Luego de 15 minutos se agrega 5 ml. de una solución al 20 % de sulfato de cobre y finalmente, para destruir el permanganato en exceso, 5 ml. de una solución al 10 % de hiposulfito de sodio. Después de añadir 5 ml. de hidrato de sodio normal, se enrasa a 200 ml., se mezcla bien y se filtra por papel plegado.

100 ml. del filtrado, que tiene un color azul débil, se extraen en un extractor a líquido con cloroformo hasta extracción total. El extracto clorofórmico se filtra, se lava bien el balón de extracción y el papel, uniendo los líquidos de lavado al filtrado original; se evapora a sequedad todo el líquido en un cristizador tarado.

El peso del residuo multiplicado por 20 da la cafeína por 100 g de yerba. La cafeína así obtenida era completamente incolora y por su punto de fusión estaba muy ligeramente impurificada con teobromina.

CAFEINA TOTAL.-

	Determinación	Cafeína g % g.	P. de fusión.
Muestra I:	1	1.52	220-3°
	2	1.53	223°
	3	1.40	220-2°
	4	1.40	220-2°
	5	1.40	219-23°
Muestra II:	6	1.54	219-22°
	7	1.53	219-24°

CAFEINA LIBRE.- Se empleó el mismo método con excepción del tratamiento con amoníaco.

	Determinación	Cafeína g % g.	P. de fusión.
Muestra I:	1	1.26	219-22°
	2	1.42	-----
Muestra II:	3	1.54	216-20°
	4	1.57	219-22°
	5	1.47	215-21°

CAFEINA EN LA INFUSION DE MATE.- La infusión fué preparada siguiendo la técnica estandarizada de calentar 5 g. de yerba mate con 100 ml. de agua y hervir durante 5 minutos, comenzando a contar desde el primer hervor. Se filtró la solución, se llevó a 100 ml. con agua y se extrajo con cloroformo para extraer dos preparaciones, o sea en total 10 g. de yerba. Luego se evaporó el cloroformo siguiendo la marcha como en el método anterior.

	Determinación	Cafeína g % g.	P. de fusión.
Muestra I:	1	1.53	215-219°
	2	1.48	218-23°
Muestra II:	3	1.12	218°
	4	1.08	-----
	5	1.45	218-21°
	6	1.15	218-22°
	7	1.26	219-21°

Conclusiones.- Las muestras de yerba mate empleadas en estos estudios contienen una cantidad de cafeína de alrededor de 1.50 %, cifra que está dentro de las que señala la literatura, aunque se acerca a los datos

altos sobre su contenido. La llamada cafeína libre es de aproximadamente de 85% en una de las muestras hasta llegar prácticamente al 100 % en otras. La porción de cafeína que pasa en solución al preparar la infusión de mate es algo variable. En unos casos se ha encontrado ser prácticamente el 100 %, en otros entre 60 y 70 % aproximadamente.

-----000-----

CARACTERIZACION DE CAFEINA Y TEOBROMINA.-

-----oOo-----

En 1836 Trommsdorff estableció la presencia de un alcaloide en el mate, y mas tarde Stenhouse (1843) aceptó que se trataba de teína, la que luego resultó similar a la cafeína. Estos trabajos han sido citados por otros autores que se han ocupado del problema, no hallándose los originales en el país.

En base a experiencias de sublimación de los extractos brutos conteniendo cafeína, Oehrlí sugirió en 1927 la casi seguridad de que aquélla se hallaba acompañada de teobromina, hecho que según Hauschild, fué sugerido también por Schliedtman (1928). Mas tarde Hauschild pudo establecer la presencia de teobromina en la yerba mate.

Hemos pensado conveniente repetir el aislamiento y la caracterización de dicha substancia para comprobar una vez más la existencia de la misma y confirmar así el trabajo de Hauschild. Aprovechamos al mismo tiempo la oportunidad para realizar una caracterización de la cafeína en los extractos obtenidos.

En primer lugar decidimos repetir exactamente tal cuál lo realizara dicho investigador, el método de aislamiento de la teobromina. Pero no pudimos llegar a ninguna separación neta de cafeína y teobromina, a pesar de haber aislado una cantidad relativamente grande¹⁶ la primera.

Partimos entonces de un extracto etéreo-clorofórmico que contenía las purinas. Lo sometimos a un proceso de purificación que se describe en la parte experimental y que es similar al empleado en el método de dosaje. Las purinas totales obtenidas fueron separadas por bencol y en

la fracción insoluble pudo caracterizarse la teokromina.

PARTE EXPERIMENTAL. -

Se repitió el procedimiento llevado a cabo por Hanschild, en la siguiente forma:

Se preparó una infusión con 1.5 kg. de yerba finamente molida con 5 l. de agua ligeramente acidulada (2 ml. de ácido clorhídrico concentrado por 100 de agua) en baño de vapor durante una hora. Filtrado el extracto a través de una tela y prensado en la misma el residuo, volvió a repetirse la operación dos veces más en las mismas condiciones con la misma yerba, juntando los extractos.

Luego de precipitar con una solución al 20% de acetato neutro de plomo, se separó el precipitado por centrifugación y se pasó ácido sulfhídrico sobre el líquido sobrenadante hasta total eliminación del plomo. Filtrado sobre papel el sulfuro de plomo formado, se hizo pasar por el filtrado una corriente de anhídrido carbónico durante cuatro horas para eliminar el exceso de ácido sulfhídrico.

El líquido fue evaporado a vacío en baño de vapor hasta 2 l. que, después de llevar a pH 6 con amoníaco, se siguió evaporando a baño maría agregando previamente arena y magnesia calcinada, hasta obtener un polvo muy higroscópico. Se extrajo éste durante tres días con cloroformo en un aparato de Soxhlet, y luego de evaporar el disolvente se obtuvo un residuo de 2.5 g. que fue disuelto en 114 ml. de agua a ebullición. Después de dejar enfriar la solución acuosa, se pudo separar por centrifugación un residuo 1 de un líquido 2.

La solución acuosa 2 se llevó a sequedad a vacío y el polvo blanco obtenido fue recristalizado dos veces de agudando las agujas

características de la cafeína. Se tomó el punto de fusión, dando 232°C . Hecha una mezcla con cafeína pura, fundía a 235°C . Todo ello demuestra su identidad con la cafeína.

El residuo 1, en el cual Hauschild estableció la existencia de teobromina, se trató de cristalizar de agua pero no se pudo obtener substancia alguna que indicara la presencia de dicho alcaloide.

Atribuyendo el fracaso de dicha experiencia a la extracción hecha con un aparato que extrae en frío y a la insolubilidad de la teobromina en cloroformo frío, se buscó otro camino para su aislamiento. Se aprovechó así un extracto etéreo-clorofórmico de yerba obtenido para otros fines y se siguió una marcha similar a la empleada en el dosaje de las purinas totales según el método de Leudrich y Hottbom, descrito en la parte que trata del dosaje de los citados alcaloides.

Este procedimiento tiene la ventaja de que se obtiene una substancia más pura y de que hay seguridad de obtener el alcaloide en su totalidad pues la extracción se realiza con un aparato que extrae con cloroformo en caliente.

Se tomó 80 ml. de un extracto etéreo-clorofórmico (correspondiente a una fracción de 250 g. de yerba extraída). Llevado a sequedad, se trató el residuo con agua a ebullición, destruyendo la materia orgánica por agregado de permanganato de potasio a la solución acuosa filtrada. Eliminado el exceso de permanganato, se evaporó el líquido acuoso hasta 100 ml., extrayendo luego con cloroformo en un aparato de extracción en caliente durante 20 horas. Evaporado el disolvente, se obtuvo un residuo cuyo punto de fusión fué de 209° .

Se aprovechó aquí el hecho de que la cafeína es completamente soluble en benceno, en el cual es insoluble la teobromina. Así, se extrajo

tres veces el residuo obtenido con benceno en frío, disponiéndolo en un agitador por varias horas. Se obtuvo de esta forma 169 mg. de una sustancia que, recristalizada de agua, dio un punto de fusión de 335°.

Dicha sustancia se adicionó de 9 ml. de agua, haciendo hervir durante varios minutos y luego se filtró. El residuo que quedó sobre el papel se adicionó nuevamente de agua (alrededor de 6 ml.) filtrando más tarde otra vez. La fracción soluble precipitó una sustancia algo amarillenta que se separó por filtración y se tomó su punto de fusión resultando ser 338°, con ennegrecimiento a 310° (A). El segundo extracto acuoso dio un precipitado blanco cuyo punto de fusión fué de 338°, con ennegrecimiento a 325° (B).

Las fracciones A y B se recristalizaron de una cantidad mínima de agua a ebullición. Después de ello fundieron ambas fracciones a 338°, con ennegrecimiento a 322-325°. La teobromina pura funde a 341° con ennegrecimiento muy ligero. Ambas fracciones juntas (A y B) se volvieron a recristalizar de agua con carbón activo. Se obtuvo esta vez cristales cuadrangulares que fundían a 340° sin ennegrecimiento.

Sublimada dicha sustancia a vacío, se obtuvo finalmente un producto muy puro de punto de fusión 340-342°, en la misma temperatura que una muestra de teobromina pura. La mezcla con teobromina pura no dio depresión en el punto de fusión. La reacción de Scoupp realizada con una solución de dicromato de potasio al 5 % en ácido sulfúrico concentrado, dio el mismo viraje de tonos que la teobromina pura, completamente distinto de la coloración que en las mismas condiciones suele dar la cafeína. El análisis del producto aislado dio los siguientes resultados:

Pesada: 3.150 mg.

volumen de nitrógeno: 0.850 a 20 y 760 mm.

N % : 31.41

Calculado : 31.11

CONCLUSIONES.- Se ha comprobado que en el mate, junto con la cafeína, desde hace mucho tiempo encontrada en dicho vegetal, se halla una pequeña porción de teobromina.

-----000-----

SUBSTANCIAS REDUCTORAS DE LA YERBA MATE (REACTIVO DE

BERTRAND)

-----oOo-----

Con este nombre se comprende todas aquellas sustancias que presentan poder reductor frente a un reactivo determinado, de los empleados en dosificación de glúcidos. En nuestro caso se ha empleado el reactivo de Bertrand.

El autor de este reactivo, conjuntamente con Devuyt(1910) encontró un contenido de 6.08 % de productos reductores en la yerba. Hauschild (1935) determinó un contenido entre 7.4 y 11.35 %, de la cual un 24.4 al 39.5 % era directamente reductora, mientras que el resto sólo aparecía por hidrólisis.

En nuestro caso hemos operado también dosificando el poder reductor entre 4 y 4.6 g. de glucosa por 100 g. de yerba. Por hidrólisis este poder reductor aumenta a 7.2-7.6 %. Las cifras se acercan pues a los datos más bajos obtenidos por los autores antes mencionados.

Si del extracto inicial se eliminan las sustancias que precipitan por la adición de acetato de plomo, el poder reductor disminuye a 2-2.8 y después de hidrólisis llega a equivaler a 5.8-6.5 g. de glucosa por 100 g. de yerba. Es decir, que si bien el primero ha disminuido, el producto que hidrolizado determina que la reducción aumenta se mantiene constante.

Es evidente pues, que una parte de las sustancias que determinan el poder reductor inicial deben pertenecer a la categoría de los polifenoles, lo que estaría de acuerdo con los resultados obtenidos en el estudio de la fracción considerada tanino.

Las sustancias restantes, que no precipitan por el plomo, son poco solubles en alcohol, lo que indicaría que en buena parte son hidratos de carbono. Sin embargo del residuo no se logra separar ninguna osazona característica ni aún después de hidrólisis.

Sobre la naturaleza de las sustancias reductoras, sólo podríamos afirmar que si se confirmara la presencia de sacarosa en la yerba mate, que fué aislada por Hauschild y que según este autor se encuentra en una proporción entre 3.6-6.9 %, ésta sería la principal responsable de la mayor reducción después de hidrólisis.

En el capítulo dedicado al tanino, se señala el aislamiento de una osazona muy similar a la glucosazona, pero de identificación no segura por dificultades en la purificación.

PARTE EXPERIMENTAL.

Para la dosificación de las sustancias reductoras se empleó el método de Bertrand.

Se investigó el poder reductor no sólo del extracto original de yerba, sino también del que corresponde a diversas fracciones del extracto.

Para la extracción se trató la yerba con agua hirviendo, repitiendo la operación cuatro veces. La determinación realizada sobre este líquido corresponde a la denominada extracto inicial.

Este extracto inicial se llevó a pH 4 con ácido acético y luego

se trató con acetato de plomo. El precipitado así obtenido se separó por centrifugación, se lavó con agua, reuniendo los líquidos. Se trató con ácido sulfhídrico para eliminar el exceso de plomo, eliminando el exceso de sulfhídrico por burbujeo de anhídrido carbónico. Las segundas determinaciones efectuadas corresponden a este líquido.

Esta solución es elevada a pH 6-6.5 con hidrato de sodio diluido, concentrando a vacío a temperatura inferior a 50 grados. El líquido siruposo de color caramelo así obtenido se extrae 4-5 veces con alcohol hirviendo y los extractos alcohólicos se reúnen. La tercera determinación se realizó sobre el extracto alcohólico.

En todos los casos la hidrólisis se realizó por tratamiento con ácido clorhídrico al 2 % calentando una hora al baño María hirviendo.

PODER REDUCTOR DEL EXTRACTO ACUOSO DE YERBA MATE Y ALGEBIAS DE SUS FRACCIONES. (En g. de glucosa por 100 g. de yerba)

Determinación	I		II		III	
	A.H.	D.H.	A.H.	D.H.	A.H.	D.H.
1	4.60	7.26	2.19	6.10	0.93	-
2	3.93	7.44	2.83	6.57	0.94	2.63
3	4.47	7.45	2.60	5.92	-	-
4	4.40	7.27	2.12	5.83	0.89	-
5	4.50	7.58	2.04	5.98	0.79	-

I: Extracto inicial.

II: Solución después de eliminar el ácido sulfhídrico.

III: Extracto alcohólico.

A.H.: Antes de hidrólisis; D.H.: Después de hidrólisis.

La determinación del poder reductor del extracto alcohólico después de la hidrólisis se vio dificultada en casi todos los casos por la formación de un precipitado obscuro que impedía la valoración del óxido cuproso.

De los residuos insolubles en alcohol no pudo hallarse, ni antes ni después de hidrólisis, glucosazona o p-bromofenilglucosazona siguiendo las técnicas clásicas.

RESUMEN Y CONCLUSIONES .-

La muestra de yerba mate estudiada contiene de 4 a 4.6 g. por 100 g. de substancia reductora calculada como glucosa. Por hidrólisis previa, este poder reductor aumenta a un equivalente de 7.2-7.6 g. de glucosa. Una parte de las substancias que contribuyen al poder reductor inicial precipitan con acetato de plomo, en condiciones que hace pensar se trata de polifenoles.

No se ha podido aislar de estos extractos osazona alguna.

-----oOo-----

ENSAYOS DE AISLAMIENTO DE SACAROSA DE LA YERBA MATE.-

-----000-----

En la yerba mate el poder reductor aumenta en forma acentuada por hidrólisis ligeramente ácida de sus extractos. Entre las sustancias que pueden colaborar en este aumento del poder reductor después de hidrólisis, Hauschild ha descripto a la sacarosa que consiguió aislar en pequeña cantidad. El aumento del poder reductor ha sido ya considerado en un capítulo aparte.

Hemos realizado dos tentativas de aislamiento de sacarosa por el método de Schulze y Frankfurt (1895) que se considera una de los más seguros para realizar esa separación, pero no hemos logrado obtener dicho disacárido. La poca substancia semicristalina obtenida es un producto que funde mal aproximadamente a 220° , que no reduce el licor de Fehling, haciéndolo sólo después de hidrolizado con ácidos. Una solución de la misma substancia en concentración semejante a otra de sacarosa no da la reacción de Seliwanoff, mientras que la segunda la da en forma intensa.

Esta substancia no puede pues tomarse como sacarosa y sólo puede considerarse como un indicio de la complejidad de los extractos de yerba mate, que contienen numerosos productos entre los cuales existiría una substancia más, posiblemente un glucósido cuyo poder reductor apareciera sólo después de hidrólisis.

PARTE EXPERIMENTAL.-Se realizaron seguidamente dos ensayos de aislamiento de sacarosa según el método de Schulze y Frankfurt, en la forma descripta a continuación.

Dos kilogramos de yerba se hirvieron con 10 litros de alcohol de 92° durante 20 minutos, con un poco de óxido de magnesio para corregir la acidez que en un extracto alcohólico directo de yerba mate está representado por un pH de 5.3. La solución alcohólica, después de filtrada, fué calentada agregando entonces una solución hirviente saturada de hidróxido de estroncio, continuando la ebullición por media hora. El precipitado se filtró, se lavó con solución saturada de hidróxido de estroncio y se secó entre papeles de filtro. En una cápsula se cubrió luego dicho precipitado con una solución caliente de hidróxido de estroncio, haciendo hervir media hora.

La parte insoluble, que es donde debe hallarse la sacarosa, se filtró en caliente. Después de suspender dicha substancia en agua, se hizo pasar una corriente de anhídrido carbónico hasta que la reacción alcalina casi hubo desaparecido. Luego de separar por filtración la sal de estroncio, se evaporó el filtrado hasta consistencia siruposa, cuidando de mantenerlo a un pH alrededor de 7. Se extrajo luego varias veces con alcohol, reuniendo los extractos, realizando las extracciones en caliente. Dicho extracto alcohólico se evaporó nuevamente a jarabe, el que fué extraído otra vez con alcohol.

Este extracto alcohólico depositó, dejado cuatro o cinco días en la heladera, un producto semicristalino, ligeramente obscuro, que fué filtrado. Presentó un punto de fusión de aproximadamente 218°. Este producto se extrajo nuevamente con alcohol de 90°.

El nuevo extracto alcohólico depositó por estacionamiento en frío una substancia semicristalina incolora que fundía con abundamiento aproximadamente a 220°, soluble en agua. Una solución al 3 % de la misma

o de la porción insoluble en alcohol, no dan una reacción de Seliwanoff que pueda considerarse positiva, sino una débil coloración roja.

Una solución de sacarosa de la misma concentración da un color rojo intenso y un abundante precipitado al día siguiente.

De lo considerado anteriormente deducimos que dicha sustancia no puede contener sacarosa.

-----oO-----

ENSAYO DE AISLACION DE INOSITA.-

-----000-----

La inosita es un producto que se halla muy distribuida en el reino vegetal. De ahí que fuera muy posible la existencia de la misma en la yerba mate. Hauschild describió por primera vez la inosita, habiéndola aislado y caracterizado como tal en la yerba.

El ensayo del método empleado por el citado autor para la aislación de la inosita de la yerba mate no dio los resultados por él descriptos. Entonces se procedió a emplear otro método citado por Klein. Este método, basado en el uso de ácido nítrico para destruir los productos extraños fué abandonado pues al añadir el ácido nítrico se obtuvo un extracto muy impuro. Por ello se prefirió la separación de inosita por descomposición de los otros azúcares reductores con magnesia calcinada, según lo indican Fleury y Joly (1932)

A pesar de todos estos ensayos no se logró aislar en ningún momento ningún producto que hiciera pensar en la existencia de inosita.

PARTE EXPERIMENTAL.-

Se procedió primeramente a repetir la marcha seguida por Hauschild para el aislamiento de la inosita. Se la realizó como detallamos a continuación.

Se extrajo 300 g. de yerba con alcohol en un aparato de extracción continua en caliente. El extracto alcohólico, de aspecto pastoso, se dejó reposar 30 días, produciéndose un sedimento verde obscuro en el cual no se pudo reconocer substancia cristalina alguna, como señala Hauschild. Luego de decantar el alcohol, se disolvió el residuo en poca agua hacien-

do hervir la solución con carbón activo durante 20 minutos, sin lograr decoloración. Se dejó nuevamente reposar dicha solución acuosa, pero no produjo ningún precipitado. Por ello fué abandonada.

Se procedió más tarde a emplear el método descrito en Klein (Handbuch der Pflanzen Analyse)

Se hirvió dos kilogramos de yerba con 12 l. de agua durante una hora y media. Luego de filtrar el extracto, sobre el filtrado cuya reacción era ácida (pH 5.1) se agregó en caliente lechada de cal. Se filtró y sobre el filtrado se hizo pasar una corriente de anhídrido carbónico; después de hervir diez minutos para que todo el bicarbonato formado pasase a carbonato y precipitara, se filtró y se precipitó el líquido con acetato neutro de plomo. Fueron necesarios para una precipitación completa 7 ml. de una solución al 10 % de acetato de plomo por cada 100 ml. de extracto. Luego de separar el precipitado formado por filtración, se trató el líquido con acetato básico de plomo agregando amoníaco. El precipitado obtenido con estos últimos reactivos, se suspendió en agua eliminando el plomo con ácido sulfhídrico, haciendo pasar una corriente de anhídrido carbónico después de separar por filtración el sulfuro de plomo formado. Se concentró el extracto hasta consistencia siruposa y al jarabe caliente se agregó 8 % de su volumen de ácido nítrico concentrado. Por una ulterior adición de ácido nítrico no se produjo más desprendimiento de anhídrido carbónico. Se añadió entonces 5 volúmenes de alcohol, y después de enfriar 1 volumen de éter.

En estas condiciones, normalmente la inosita presente precipita del extracto alcohólico-etéreo. En nuestro caso no se obtuvo cristales de inosita. Creemos que la dificultad provenía del tratamiento con ácido nítrico, que no pudo ser regulado. Por ello se siguió la separación

por el método de Fleury y Joly sobre otra parte del extracto concentrado que no había sido tratada con ácido nítrico.

Primeramente se realizó una determinación aproximada del residuo seco del extracto, que resultó de 13.28 g. Se colocó dicha substancia en un balón con 30 ml. de agua por cada gramo de residuo seco, se agregó magnesia recién calcinada y se llevó a bañomaría hirviendo durante media hora. Pasado este tiempo se filtró y luego que el líquido se hubo enfriado, se añadió 20ml. de agua por cada gramo de substancia seca, agitando unos minutos y dejando reposar durante 24 horas. Después de ello se filtró por un Buchner, lavando a fondo con 300 ml. de agua destilada. Se evaporó el líquido a sequedad a presión reducida y luego sobre ácido sulfúrico en un desecador. El residuo se extrajo tres veces con pequeñas porciones de alcohol de 80°. Normalmente la inosita presente precipita de dicho extracto alcohólico. En ninguna de las dos oportunidades en que se llevó a cabo dicho método pudimos obtener un precipitado cristalino, ni de otra naturaleza, de inosita.

-----oOo-----

SUBSTANCIAS TANICAS DE LA YERBA MATE.

-----000-----

Como con el nombre de taninos se designa una serie de substancias químicamente diferentes pero similares en algunas propiedades, como el ser astringentes, transformar la piel en cuero, precipitar determinados alcaloides, etc., no es de extrañar que aparte de las dificultades que de por sí encierra la química de esos productos, exista a menudo divergencias en su aceptación como taninos pues su calificación debe basarse en la importancia que cada autor desea dar a las distintas reacciones de caracterización. Esta aclaración se hace necesaria antes de considerar el tanino de la yerba mate, por tratarse precisamente de un caso límite de una substancia que da algunas reacciones de tanino pero en cambio no da otras.

Conviene además señalar que la importancia que debe darse a cada una de estas reacciones para determinar una clasificación, varía también según los autores y por lo tanto es otra fuente de datos contradictorios.

Los primeros autores que estudiaron en el mate la presencia de una substancia que calificaron de tanino fueron Rochleder y Blasiwetz (1848;1850) citados por Arata(1877), siendo dicha substancia admitida como idéntica a la que contiene el café. Esta conclusión, según Arata, parece haber sido aceptada por Stenhouse(1843) aunque Kunz-Krause(1894) dice textualmente que los resultados de Rochleder fueron combatidos más tarde por Graham-Stenhouse y Campbell; y afirma en ese trabajo que para dilucidar esa divergencia ha vuelto a estudiar el tanino del mate y confirma la

opinión de Rochleder. El tanino del mate-el ácido matetánico- es idéntico al tanino del café -el ácido cafetánico-. Para detalles del trabajo envía al Arch. der Pharmac., 231, 613 (1893), y funda su afirmación en la circunstancia de que los dos ácidos, el del café y el del mate, dan por hidrólisis ácido cafeico que admite unido a un azúcar con seis carbonos y que sería reductor. En otro lugar dice que el mate contiene un azúcar que reduce el Fehling y es inactivo a la luz polarizada, siendo el producto de un desdoblamiento del tanino. Muchos años antes de estas publicaciones de Kunz-Krause, Arata (1877) había ya sostenido que el tanino del café y del mate eran diferentes, basándose principalmente en su comportamiento químico, y lo consideraba un glucósido o una substancia análoga.

En 1919, Guglielmelli y Crivelli volvieron a comparar el llamado tanino de la yerba mate con el del café. Aunque las diferencias que señalan entre ambos son muy pequeñas y sólo se basan en el comportamiento diferencial frente a reactivos de precipitación y coloración, señalan el hecho importante de que no se comporta como un verdadero tanino. Cuando se dosan los taninos en el mate por el método de Carpeni-Sisley que empleó Sánchez, los resultados son muy bajos; cosa que este último autor amplía al comentar el trabajo de Guglielmelli y Crivelli, diciendo que ha obtenido la cifra de 0,5 (debe ser gramos por cien gramos) como cantidad de tanino presente en el mate cuando se utiliza el método mencionado.

En 1922, Peacock y Peacock volvieron a considerar el problema del principio astringente del mate y aunque sus datos experimentales son escasos afirman que se trata de un flobáfeno.

En todos estos trabajos no se ha llegado nunca a un aislamiento del tanino al estado puro, sino que se ha trabajado con extractos conteniendo casi con seguridad otras substancias.

Hauschild (1935), en el estudio que realizó sobre el mate, consideró también su tanino y después de resumir lo conocido hasta la fecha, en la par

te experimental describe varias fracciones obtenidas al tratar de purificarlo. Por las propiedades de los extractos que obtiene opina que en el mate no hay taninos del grupo del ácido gálico ni del de las catequinas. De una de estas fracciones logra aislar un producto cristalizado cuyas cifras de análisis se acercan, aunque no concuerdan, a las del ácido clorogénico. Tampoco son iguales los puntos de fusión y los poderes rotatorios son de signos contrarios; concluye expresando que la sustancia aislada, a pesar de dar muchas reacciones de precipitación y de coloración similares a las del ácido clorogénico, no es idéntica con éste.

En el mismo año en que Hauschild publicaba su tesis, Woodard y Cowland (1935) daban a conocer un extenso trabajo sobre el problema del tanino del mate. La primera observación interesante de Woodard y Cowland es una confirmación, con mayor aporte documental, de lo dicho por Guglielmelli, Crivelli y Sánchez de que el mate no contiene un verdadero tanino; y esto principalmente resulta de la ausencia de reacciones positivas con intestino de buey, con gelatina, con antipirina, y con citrato de hierro y amonio (reacción de Wade)

Comparado el llamado tanino del mate con extractos similares de te o café, concluyen que éstos contienen una pequeña cantidad de verdadero tanino.

Los autores decidieron entonces hacer ensayos para separar al estado puro los componentes fenólicos del mate y encontraron indicaciones de la existencia de dos tipos bien diferenciados: uno que sería un pseudo o falso tanino y el otro una sustancia colorante amarilla. Los extractos que contenían el pseudo tanino daban pirocatequina por fusión con álcalis y quinona por oxidación de los productos de hidrólisis; de donde se concluye de la presencia de ácido cafeico y quínico, es decir

los componentes del ácido clorogénico. La fracción colorante daba por fusión pirocatequina, ácido protocatéutico y floroglucina; de ello deducen la existencia del derivado de una flavona.

Cuando se dosifica el tanino de un extracto de yerba mate por el método del polvo de piel en cualquiera de sus variantes, que consiste en determinar la porción del extracto seco del mismo que se fija sobre ese polvo, se encuentra en la vieja literatura cifras que varían entre 4.22 y 9.2%, aunque la mayor parte lo son entre 7 y 12%.

Hauschild, aplicando el método internacional del polvo de piel, halló para extractos que tenían entre el 19 y el 28 % de residuo seco, cantidades de tanino entre 7.55 y el 11 % (calculados sobre yerba seca). Si ese extracto primitivo se lleva a sequedad y se disuelve nuevamente el residuo en agua, las cifras de tanino varían entre 4.4 y 7.2% es decir que ha bastado el proceso de secado para modificar una parte del llamado tanino e impedir que la piel lo fije.

Woodard y Cowland encontraron 12% de tanino en los extractos de yerba mate cuando se emplea el método internacional y señalan que ante la ausencia de reacciones cualitativas de tanino debe interpretarse ese valor admitiendo que el polvo de piel fija en esos extractos otras sustancias que no son verdaderos taninos.

En nuestras muestras nosotros hemos encontrado que dan extractos que poseen una porción de sustancia fijada por el polvo de piel cuando se utiliza el método internacional de dosaje de taninos, que representa un 10% del peso de la yerba.

EXPERIENCIAS PERSONALES: Dosificación del tanino por el método internacional.

La determinación se hizo en la forma detallada a continuación y con las soluciones que se describen.

Preparación de la solución analítica. Se prepara una infusión con 10 g. de yerba haciendo hervir durante 10 minutos. Después de centrifugar se lleva el líquido a 500 ml. (dilución de la yerba: 2 %)

Preparación de la piel cromada. - Se pesa alrededor de 7 g. de polvo de piel libre de humedad. Se trata con diez veces su peso de agua y se agita. Luego, por cada gramo de piel seca se agrega un ml. de solución de alumbre crómico al 3 %, agitando diez minutos y dejando reposar hasta el día siguiente. Después de este tiempo se transfiere a un lienzo por el cual se filtra, estrujando fuertemente el residuo. La piel húmeda cromada resultante se usa directamente para detanizar el líquido. Debe obtenerse el dato de humedad de dicha piel cromada para ver en cuanto diluye a la solución a ensayar.

Detanización de la solución. - Se coloca la piel cromada en un frasco, agregando 100 ml. de la infusión de yerba, agitando luego durante diez minutos. Se filtra por placa filtrante y luego, agregando previamente 1 g. de caolín, se vuelve a filtrar por papel. Se evapora 50 ml. del líquido límpido a bañomaría, secando luego durante dos horas en estufa. El peso del residuo equivale a la correspondiente cantidad de sustancia no absorbida, que restada de la de sólidos totales (obtenida por evaporación de la solución analítica) da la cantidad de sustancia absorbida (taninos)

Cálculos. - Sol. analítica: 2 %

Humedad de la piel: 73.57 %

Se usó 23 g. de piel. Estos representan 16.92 g. de agua.

No absorbido (por evaporación): I) 0.2278 ; II) 0.2286 g.

corresponde a: I) 26.36 % ; II) 26.72 %.

Solubles totales: I) 36.72 % ; II) 37.28 % .

Taninos: I) 36.72 - 26.63 10.09 %

II) 37.28 - 26.72 10.56 %.

Resumiendo:

	I.	II.
Absorbido	10.09	10.56
Solubles totales	36.72	37.28
No absorbido	26.63	26.72

---000---

ENSAYOS DE PURIFICACION DEL TANINO.

En el estudio de los componentes fenólicos del mate, posean actividad curtiente o no, lo interesante sería llegar a identificarlos como especie química pura. Esto, aparte de permitir caracterizarlos exactamente, permitiría establecer clara y definitivamente su comportamiento frente a las llamadas reacciones de los taninos. Desgraciadamente no se tuvo éxito en estas tentativas.

Partiendo del anuncio de Hauschild de haber aislado un producto cristalizado de la fracción curtiente del tanino, se realizó varios ensayos siguiendo su método o ligeras modificaciones del mismo.

-PARTE EXPERIMENTAL.-La yerba se extrae con cloroformo en un aparato de Soxhlet hasta que el líquido de extracción pase incoloro. Se evapora luego el cloroformo que la moja y se obtiene un producto exento de cafeína, clorófila, terpenos, etc. Se extrae entonces la yerba con agua caliente, repitiendo la operación dos o tres veces, reuniendo los extractos

acuosos. Se añade acetato neutro de plomo y se lleva la solución a pH 7 por adición de hidrato de sodio diluido. El precipitado obtenido se centrifuga, se lava con agua, luego se lo suspende en ella y se hace pasar una corriente de ácido sulfhídrico. Se filtra el sulfuro de plomo formado y a la solución amarilla clara se le hace burbujear anhídrido carbónico para eliminar el exceso de sulfhídrico.

Se concentra a vacío a $1/4 - 1/5$ de su volumen y luego se extrae con éter durante 50 horas en un aparato de Kütcher-Steudel. Al cabo de ese tiempo se cambia el éter por acetato de etilo y se continúa la extracción por 120 horas más.

Se añade entonces éter al acetato de etilo con la sustancia extraída, lo que determina la formación de un precipitado amorfo. Este precipitado, muy soluble en agua, se denominará producto a. El líquido mezcla éter-acetato de etilo, dejado reposar en heladera varias semanas, no dio nunca en varias experiencias un nuevo precipitado amarillo como encontró Hauschild y al cual él designa producto b.

Se evaporó entonces la solución a bañomaría, obteniéndose en dos oportunidades productos cristalinos en muy pequeña proporción y con el agregado de que no se pudo volver a repetir su obtención.

En el primer caso los cristales fundían a $213-215^{\circ}$, eran insolubles en agua, solubles en alcohol, piridina, acetona, ácido acético, benzol, acetato de etilo y éter; insolubles en clorhídrico diluido al 10 %, en hidrato de sodio al 10 % y en éter de petróleo.

En el otro caso se obtuvo un residuo totalmente amorfo que dio cristales por disolución en ácido acético añadido de agua. Fundían a 225° , eran solubles en agua caliente y en clorhídrico y en hidrato de sodio al 10 por ciento. Aparte de los cristales el producto amorfo que los acompañaba es muy soluble en agua y a la solución obtenida la llamaremos B.

A continuación se detallan las reacciones que dan los líquidos en las diversas etapas del método descripto.

Reactiva	Extracto primitivo	Subst. pp. con SH ₂	Sobrenadante con Pb	Sobrenadante SH ₂	Substancia A	Substancia B	Subst. A Hauschild	Subst. B
Hidrato de sodio	-	Amarillo verde	Amarillo verde débil	Amarillo canario obscuro	Amarillo canario	Amarillo débil.	Amarillo marrón amarillo verdoso	Amarillo verdoso verde oliva
Amoníaco	Verde intenso	Verde esmeralda	Verde esmeralda	Verde esmeralda.	Verde débil	Verde esmeralda.	Verde	Verde puro
Cloruro de hierro	Verde intenso	Verde esmeralda	Verde esmeralda	Verde esmeralda	Verde débil	Verde intenso	Verde sucio turbiedad	Verde
Cloruro de hierro hidrato de sodio	Rojo oscura	-	Rojo oscura	Rojo oscura	Rojo oscura	-	Rojo oscura límpido	Rojo oscura límpido
Reacción Höpfer-deido regénico	-	Rojo sanguínea positiva	negat.	negat.	negat.	Rojo sanguínea débil positiva	Rojo marrón	Rojo sanguínea positiva

COMENTARIOS.-Aunque las reacciones de la substancia B de Hauschild y de la solución B preparada por nosotros son sensiblemente iguales, no se pudo obtener los cristales descritos por ese autor; por ello se apeló a otros métodos. En la primer variante que se ensayó, el extracto acuoso de la yerba se trató con acetato de plomo en medio acético. El precipitado obtenido, de color verde sucio, se eliminaba y el exceso de plomo de la solución se separó con sulfhídrico; una vez filtrado el sulfuro de plomo se hizo pasar anhídrido carbónico. El líquido se evaporó a vacío y a baja temperatura hasta consistencia siruposa y se extrajo con alcohol hirviente. La parte que no se disuelve, bien secada, es un polvo de color amarillo verdoso que oscurece por exposición al aire.

Es muy soluble en agua y la solución acuosa en contacto con el aire se colorea de verde intenso rápidamente, acelerándose el proceso por agitación. Da reacción de Molisch positiva, reduce el licor de Fehling en caliente y da con cloruro de hierro un color verde intenso.

Se intentó la obtención de un derivado acetilado cristalizado por acetilación con anhídrido acético y piridina, pero el producto amorfo, oscuro, soluble en alcohol e insoluble en agua, no pudo cristalizarse. Tampoco se obtuvo por benzoilación con cloruro de benzoilo y piridina.

El producto no acilado reduce, como ya se ha mencionado, el licor de Fehling, reducción que aumenta por hidrólisis con ácido clorhídrico al 2 % durante 2 horas. El hidrolizado, tratado con fenilhidracina, da una oscuridad que se presenta como unos cristales de color amarillo oscuro que funden a $207-208^{\circ}$ con descomposición. Por recrystalización, sus propiedades físicas no se modifican. Con p-bromofenilhidracina se obtiene cristales de punto de fusión $205-207^{\circ}$, pero que no pueden ser recrystalizados ulteriormente.

La solución alcohólica obtenida primeramente se evaporó a sequedad y el residuo se extrajo con varias porciones de acetato de etilo. Por evaporación lenta del mismo, no se pudo obtener constantemente fracciones cristalizadas. En un caso se logró una pequeña cantidad de cristales que fundían a 274°.

La extracción de la yerba con alcohol hirviendo directamente fué también empleada. El extracto alcohólico se redujo a un pequeño volumen, evaporándolo a vacío y baja temperatura y añadiéndole tres volúmenes de éter. Se obtuvo un precipitado blanco amorfo muy soluble en agua.

La solución alcohólico-etérea fué evaporada y el residuo disuelto en agua.

Las dos fracciones dan las siguientes reacciones:

	Amoni- aco	Hidrato de so- dio	Cloruro de hie- rro	Clor. de Me-Hi- drato de sod.	Acetato de plo- mo	Reacc- de Hóp- fner
Insol. en al- cohol-éter	Verde esme- ralda	Anaran- jado	Verde in- tenso	Rojo caoba	pp. ama- rillo	Anaran- jado
Soluble en al- cohol-éter	Amari- llo	Amari- llo	Verde dé- bil	Rojo claro	pp. ama- rillo	Amari- llo.

---000---

ENSAYO POR EL MÉTODO DE HAUSCHILD.

Además de los métodos anteriormente señalados, se ensayó el método de Hauschild siguiendo exactamente sus indicaciones.

Se preparó una infusión de 1.5 Kg. de yerba finamente molida

con 5 litros de agua ligeramente acidulada(2 ml. de ácido clorhídrico concentrado por 100 de agua) en baño de vapor durante una hora. Filtrado el extracto a través de una tela y prensado en la misma el residuo, volvió a repetirse la operación dos veces más en las mismas condiciones sobre la misma yerba, juntando los extractos.

Luego de añadir una solución al 20 % de acetato neutro de plomo se separó el precipitado por centrifugación y se lo suspendió en 15 litros de agua. Sobre esta suspensión se hizo pasar una corriente de ácido sulfhídrico para separar el plomo. Luego de filtrar el sulfuro de plomo y de hacer pasar anhídrido carbónico por el filtrado, se concentró éste a baño maría a vacío hasta dos litros, sin dejar entrar aire al balón de destilación. Sobre 10 ml. de este extracto concentrado se hizo una determinación del extracto seco, que resultó ser de 7.3 g. %, lo que corresponde a 133.3 g. para el total

La solución acuosa concentrada se colocó en un aparato de Kütscher-Steudel, siendo extraída con éter durante 90 horas. El extracto etéreo obtenido, dejado en la cámara fría(5°) durante dos días, depositó una sustancia pastosa oscura(1) que fué separada del líquido (2).

La sustancia 1, poco soluble en agua pero muy soluble en alcohol, dio los siguientes resultados con las reacciones señaladas como características para el tanino de la yerba mate y utilizadas hasta ahora en el aislamiento del mismo:

- con hidróxido de sodio_____:rojo
- con aroniaco_____ :rojo, que no vira al verde por agitación
- con cloruro férrico_____ :verde
- reacc. de Hópfner _____ :debilmente positiva.

La investigación ulterior de esa masa pastosa no permitió obtener ningún producto cristalizado; y, como las reacciones del llamado tanino no eran muy intensas en esa fracción, fué finalmente abandonada.

El líquido etéreo sobrenadante(2) se secó con sulfato de sodio anhidro y luego se evaporó, dejando un residuo pastoso que por estacionamiento prolongado en desecador dio una substancia cristalina. Esta substancia cristalina, presente en muy pequeña cantidad, fué separada por filtración de la pasta y resultó ser poco soluble en agua en frío y en alcohol frío, más soluble en caliente. Difícil de cristalizar, se encontró que era conveniente hacerlo de acetona. Después de dos recristalizaciones se presentó como agujas largas que fundían a 185-186°. Esta substancia no daba ninguna reacción de fenoles y dejaba un residuo al ser quemada, evidenciando que entraba en su composición una porción mineral. La porción pura obtenida, que no pasaba de 5 mg., no pudo por lo tanto ser ulteriormente investigada.

La solución acuosa agotada por éter, fué luego extraída con acetato de etilo durante 120 horas. La solución de acetato de etilo fué separada por decantación de una ligera fracción que había precipitado, y se adicionó de tres volúmenes de éter, produciéndose un precipitado de color amarillo pálido que fué filtrado y lavado con éter. Estaba representado por un polvo amorfo, higroscópico, que tomaba una coloración oscura en contacto con el aire. Correspondería a la substancia A de Hauschild.

Esta substancia fué ensayada con una serie de reacciones de taninos. El estudio de las mismas, que se detalla en los cuadros que van al final de este capítulo, indica que esta substancia se aleja de lo que se ha considerado siempre el tanino de la yerba mate, que debe dar una reacción

de Hópfner positiva.No da tampoco la reacción de precipitación con gelatina y antipirina,pero éso no debe extrañar porque ya se ha mencionado que la substancia que en el mate se señala como tanino no da precipitado alguno con esos reactivos,en forma contraria a como ocurre con los verdaderos taninos.

La solución de acetato de etilo-éter precipita según Hauschild después de un tiempo largo,dando la substancia por él llamada B que sería el verdadero tanino.Nuestra solución,a pesar de haber permanecido en cámara fría durante ocho semanas,nodio ningún precipitado;por lo mismo, se decidió evaporar una porción de la solución y efectuar ciertas reacciones de taninos sobre el residuo que se obtuviera.Se puede ver en el cuadro que esa substancia da las mismas reacciones de coloración,incluso una intensa reacción de Hópfner,que la fracción denominada B por Hauschild.Pero da una escasa opalescencia con gelatina y una prueba negativa con antipirina,evidenciando el poco carácter tánico que posee.

La solución acuosa restante da reacciones débiles y muchas veces poco características,pero que en el fondo son similares a las que da la substancia que fué extraída por acetato de etilo.

Interpretamos este hecho en el sentido de que las substancias responsables de las mismas no fueron totalmente extraídas,a pesar del largo tratamiento de 120 horas con acetato de etilo.

---oOo---

CONSIDERACION DE LAS REACCIONES QUE SE OBTIENEN CON EL LLAMADO TANINO DE LA YERBA MATE.-

Hemos realizado con la fracción denominada A,o sea la insoluble en éter -acetato de etilo;con la fracción B,o sea la soluble en di-

cho disolvente; y la solución acuosa que originariamente contenía todo el tanino, una serie de reacciones para tratar de aclarar la existencia de un tanino en la yerba mate y su posible composición.

Para ello hemos realizado los siguientes ensayos, comparándolo con un tanino gálico adquirido en el comercio (posiblemente tanino de nuez de agalla), un tanino catéquico utilizando como tal un extracto de quebracho, y un tanino cafeico de un extracto de café verde obtenido en las mismas condiciones que se hace para la yerba mate.

Fueron realizados los siguientes ensayos:

1.- Solución de alumbre férrico al 1 %. Se obtiene una coloración característica de los grupos fenólicos. Los taninos catéquicos (ortodifenoles) dan una coloración verde y los gálicos (nucleo del pirogalol) dan una coloración azul.

2.- Prueba de Sanio, citada por Nierenstein (1934), que consiste en el tratamiento de una solución de tanino con solución saturada de dicromato de potasio. Tanto con los taninos gálicos como con los catéquicos se produce con este reactivo un precipitado obscuro.

3.- Prueba del bromo. Se añade gota a gota a dos o tres ml. de la infusión hasta que la solución huela fuertemente a bromo. En estas condiciones los taninos catéquicos dan un precipitado amarillo que no es dado por los taninos gálicos.

4.- Acido nítrico concentrado. Sobre 2 ml. del ácido se colocó una capa del líquido a ensayar. En estas condiciones los taninos gálicos dan una coloración rojiza debida al ácido elágico.

5.- Acido sulfúrico concentrado. Se colocó encima del ácido una capa de la solución a ensayar. Los taninos catéquicos dan un anillo rojo en estas condiciones, mientras los taninos gálicos dan un precipi-

tado blanco.

6.-Reacción del ácido nitroso.Se agrega a 2 ml. de una solución de tanino, un exceso de una solución recién preparada de nitrito de sodio y luego 3-5 gotas de ácido sulfúrico N/10.-La reacción es positiva (serie de cambios de colores pasando por el rojo y virando al púrpura) con aquellos taninos que dan ácido elágico pero no por otros.-

7.-Sulfato de cobre y amoníaco.-Se empleó una solución de sulfato de cobre al 1%, seguida de adición de amoníaco en ligero exceso. Con tanino gálico se suele obtener un precipitado de color pardo, mientras con un tanino catéquico una coloración violeta.-

8.-Agua de cal.-Se agrega 2 ml. de agua de cal a la solución de ensayo. Habiendo un tanino gálico se obtiene un precipitado pálido que vira al azul; con un tanino catéquico un escaso precipitado, soluble en exceso de agua de cal.-

9.-Solución de hidróxido de sodio. al 10%. -Se suele obtener una coloración amarilla con los taninos gálicos, cosa que no ocurre con los taninos catéquicos.

10.-Reacción de Höpfner, característica del ácido clorogénico. A una solución del mismo se agrega unas gotas de ácido acético y luego unas gotas de solución saturada de nitrito de sodio. Después de destruir el exceso de nitrito con urea, se alcaliniza con solución de hidróxido de sodio y se observa el color. En estas condiciones el ácido clorogénico da una coloración rojo sangre muy intensa.

11.-Prueba de la gelatina.-Se usó una solución de gelatina preparada disolviendo a 70 grados C., 1 g. de substancia en 120 ml. de agua. Según Nierenstein (1934), esta prueba de precipitación no es espe-

cífica de los taninos.

12.-Prueba de la antipirina, propuesta por Ware y Smith(1933). Consiste en tratar 5 ml. de un extracto acuoso de tanino con 0.5 g. de fosfato disódico, filtrar y volcar el filtrado sobre 5 ml. de una solución al 2% de antipirina. Los taninos precipitan en tales condiciones y los citados autores sostienen que esta prueba es específica.

Las soluciones de taninos fueron preparadas en las siguientes formas:

a) Tanino gálico. Se usó una solución al 5%

b) Tanino estéquico. Se empleó una solución al 10% de extracto de quebracho.

c) Tanino cafeico. Se preparó una infusión con 10 g. de granos verdes de café previamente molidos, en 40 ml. de agua, llevando a ebullición durante 15 minutos. Se usó el filtrado de dicha infusión para obtener las reacciones del ácido cafeico.

Los resultados totales de estas reacciones están ordenados en la tabla adjunta:

	1	2	3	4	5	6
I	colorac. azul	ppdo.	col. roja	anillo rojo	ppdo. blanco	colorac. roja
II	colorac. verde	ppdo.	ppdo.	ppdo. claro	anillo rojo	colorac. roja
III	colorac. verde	col. roja	col. roja	anillo rojo	anillo rojo	colorac. roja
IV	verde débil	col. roja	neg.	anillo amari- llo	anillo verdoso	colorac. anaranj.
V	colorac. verde	col. roja	col. roja	anillo rojo	anillo pardo	colorac. roja
VI	colorac. verde	col. roja	neg.	anillo rojo	anillo amari- llo	colorac. roja

I : Tanino gálico ; II : Tanino catéquico; III : Tanino cafeico; IV :
 Substancia insoluble en éter-acetato de etilo; V : Substancia soluble
 en éter-acetato de etilo; VI : Solución acuosa después de extraída.

	7	8	9	10	11	12
I	ppdo. verde	ppdo. azul	colorac. amarilla	neg.	ppdo.	ppdo.
II	rojo vinoso	ppdo. pardo	neg.	neg.	ppdo.	ppdo.
III	color. verde	col. amar.	colorac. amarilla	rojo sangre	neg.	neg.
IV	verde débil	col. amar.	colorac. amarilla	neg.	neg.	neg.
V	verde pard.	col. roja	colorac. amarilla	rojo intenso	opales- cencia (a)	neg.
VI	col. verde	col. roja	colorac. amarilla	rojo sangre	neg.	neg.

a) Opalescencia menor que la que da una solución de extracto de quebracho al 1 % en agua.

La observación de las reacciones que se señalan en las tablas anteriores indica que las reacciones cromáticas de la substancia extraída con acetato de etilo (V) coinciden practicamente en forma total con las reacciones del tanino cafeico obtenido de grano de café verde.

Ambas dan una intensa reacción de Höpfner y la substancia del mate da una ligera opalescencia con la solución de gelatina, la que no es dada por la infusión del café, lo cuál ha sido ya señalado por Freudenberg (1920).

Es bien neta la diferencia de reacciones entre estas substancias y los taninos gálicos; estos dan coloración azul con el alumbre de hierro como principal reacción diferencial; y además, reaccionan netamente con gelatina y antipirina y dan reacción de Höpfner negativa.

Son también distintas las reacciones del tanino catéquico. La precipitación por bromo y la reacción de Höpfner son netamente negativas.

En cuánto a las distintas substancias del mate, es la V que antes hemos comentado la que más se asemeja a los extractos de café. Sus reacciones son más limpias que las dadas por la solución acuosa bruta (VI) que posiblemente contiene todavía una porción del producto V.

En cuánto a la substancia IV (insoluble en éter) su coloración verde débil con alumbre de hierro y su reacción de Höpfner negativa indican que se aleja notablemente de la substancia V y del llamado tanino cafeico.

CONCLUSIONES FINALES.-

Si se acepta como reacción de taninos el que sus soluciones den un precipitado con etras de gelatina, antipiri-

na, etc., el mate no contiene un verdadero tanino. Conviene señalar que según Woodard y Cowland (1935), sus extractos acuosos tampoco dan las reacciones de fijación sobre epitelio intestinal de buey que consideran de las más específicas que dan los taninos.

El fraccionamiento con disolventes de un extracto de yerba ha permitido aislar una fracción cuyas reacciones cromáticas son prácticamente idénticas a las que da un extracto de café verde. Las mismas indican la presencia de un ortodifenol que tendría su origen en la existencia de ácido cafeico o alguno de sus derivados que algunos autores afirman haber aislado al estado puro (Hauschild-1935).

Se ha confirmado la afirmación realizada por distintos investigadores de que en los extractos de yerba mate existe una gran cantidad de sustancias que son fijadas por polvo de piel cuando se emplea éste en las condiciones que establece el método internacional para el desaje de taninos.

Nosotros, en nuestras muestras, hemos obtenido 10-10.5 % de yerba.

-----oOo-----

CONCLUSIONES.-

1.-El dosaje de las purinas totales en la yerba mate dio cifras de alrededor de 1.50 en gramos por 100 gramos de yerba.

Se ha logrado caracterizar teobromina en la yerba.

2.-La muestra de yerba estudiada contiene de 4 a 4.6 g. % de substancia reductora calculada como glucosa, aumentando el poder reductor por hidrólisis, en forma que haría pensar se tratara de un glucósido.

No se ha podido caracterizar sacarosa en la muestra investigada. Tampoco se ha logrado de la misma, aislar inosita.

3.-La yerba mate no contiene un verdadero tanino. Se ha aislado con disolventes una fracción cuyas reacciones son idénticas a las de un extracto de café. Además las reacciones indican la presencia de un ortodifenol, que provendría de la presencia de ácido cafeico.

-----000-----



BIBLIOGRAFIA

- 1.-Allen's Commercial Organic Analysis(1928),5,1-204..
- 2.-Arata(1877),Anal. Soc. Cient. Arg.,3,257;28.B. N. A.
- 3.-Bertrand y Devuyst(1910),Bull. Soc. Pharm.,Paris,17,249.
- 4.-Fleury y Joly(1932),J. Pharm et Chim.,26,341.
- 5.-Freudenberg(1920),Berichte,53,32;232
- 6.-Grossfeld y Steinhoff(1931),Z. Unters. Lebensm.,61,38.
- 7.-Guglielmelli y Crivelli(1919),Actas y Trabajos Primer Congreso Nac. de Med.,5,244.
- 8.-Hauschild(1935),Uber die Bestandteile des Mate.Dissert.Zürich.
- 9.-Herrero Ducloux(1917),Revista del Museo de La Plata,23,121.
- 10.-Krauss,Kleucker y Kollath(1933),Z. Unters. Lebensm.,66,348.
- 11.-Kunz-Krause(1894),Bull. Soc. Vaude Sc. Nat.,30,140.
- 12.-Leudrich y Nottbohm(1909),Z. Unters. Nahrungs u. Genussm.,17,341.
- 13.-Nierenstein(1934),The Natural Organic Tannins.
- 14.-Oehrlí(1927),Pharmaceutica acta Helvetiae,2,155.
- 15.-Peacock y Peacock(1922),J. Am. Pharm. Associat.,11,609.
- 16.-Rochleder y Hlasiwetz(1848),Ann. der Chemie,66,39.
- 17.-Rochleder y Hlasiwetz(1850),Ann. der Chemie,76,339.
- 18.-Schludtmann(1928),Med.Welt.,2,1153.
- 19.-Schulze y Frankfurt(1895),Zeit. Physiol. Chem.,20,511.
- 20.-Stenhouse(1843),Liebig's Ann.,45,336;46,227.
- 21.-Stenhouse(1843),Ann. der Chemie,83,244.
- 22.-Frommendorf(1836),Liebig's Ann.,18,89.
- 23.-Ware y Smith(1933),The Analyst,58,703.
- 24.-Woodard y Cowland(1935),The Analyst,60,135.