



---

**UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO**  
**FACULTAD DE FARMACIA**  
**NUTRICIÓN Y DIETÉTICA**



**ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, CONTENIDO DE POLIFENOLES  
TOTALES Y ESTUDIO SENSORIAL DE INFUSIONES DE YERBA MATE**

*(Ilex paraguariensis)*

Tesis para optar al Grado Académico de Licenciado en Nutrición y Dietética y

Título Profesional de Nutricionista

**ROCÍO FIGUEROA GAMBOA**

**DIRECTOR: PAOLA VERA, MSc**

**CODIRECTOR: MAGDALENA CORTÉS, MSc**

**VALPARAÍSO, CHILE 2015**



## **DEDICATORIA**

Dedicado a la memoria de mi padre y al sacrificio de mi madre.

## **AGRADECIMIENTOS**

Durante este camino lleno de momentos difíciles y pequeñas victorias, agradezco a todos y cada uno de aquellos que participaron en este proceso, formativamente como emocionalmente. En primer lugar a mis profesoras Paola Vera y Magdalena Cortés por su paciencia, dedicación y comprensión. A todos aquellos que con buena voluntad participaron de este estudio, compañeros y amigos. Agradezco enormemente al equipo del laboratorio de Farmacopea Srta. Daniela Irrázabal y Don Denis Beltrán por su activo apoyo en el laboratorio, por su cariño y por enseñarme todo lo que sé. A mis compañeros Víctor Gómez, Francisco Morales y en especial a Isabel Sáez por su compañía, apoyo y amistad. Sin cada uno de ustedes este proyecto habría sido mucho más difícil de desarrollar. Y finalmente pero no menos importante a mi querida familia y amigos, en especial a Valentina Verdejo, quienes con sus palabras de aliento me dieron el ánimo para trabajar y cumplir finalmente este bello sueño.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	6
ABSTRACT .....	7
MARCO TEÓRICO.....	8
OBJETIVOS .....	19
METODOLOGÍA .....	21
RESULTADOS.....	30
DISCUSIÓN .....	38
CONCLUSIÓN .....	52
ANEXOS .....	54
BIBLIOGRAFÍA .....	62

## RESUMEN

Durante las últimas décadas el interés en el estudio de los compuestos bioactivos, en especial de los polifenoles ha aumentado debido a sus potenciales efectos beneficiosos en la salud. La finalidad de este estudio fue caracterizar sensorialmente tres infusiones de yerba mate disponibles en el mercado chileno, determinar su capacidad antioxidante y contenido de polifenoles (PFT) a medida que la infusión se va diluyendo. Finalmente se comparó estos resultados con infusiones de té verde y suplementos dietéticos según su formato de consumo. La evaluación sensorial para las tres muestras ( $M_1$ ,  $M_2$  y  $M_3$ ) se llevó a cabo por medio de una escala hedónica de siete puntos que midió seis atributos sensoriales. Para la determinación de capacidad antioxidante se utilizó el método FRAP. Los resultados fueron expresados como valores promedios  $\pm$  DE en mM  $\text{FeSO}_4$ . Finalmente se llevó a cabo el método de Folin Ciocalteu para la determinación de PFT. Los resultados fueron expresados como los valores promedios  $\pm$  DE en  $\mu\text{g}$  de ácido gálico/ mL de infusión.

El análisis sensorial de las infusiones de yerba mate no presentó diferencias significativas pero si las hubo ( $p < 0.05$ ) en su capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales a medida que se diluye la infusión, además al comparar las muestras entre sí, destacándose  $M_3$  en ambos análisis. Las infusiones de yerba mate poseen una mayor capacidad antioxidante y contenido de polifenoles que las infusiones de té verde y que algunos suplementos dietéticos disponibles en el mercado.

## ABSTRACT

The last few decades the interest of bioactive compounds and mainly polyphenols has increase because of the potential positive effects in health. The purpose of this study was to perform a sensory characterization of three yerba mate infusions available in Chilean market and determine the antioxidant capacity and total polyphenol content (TPC) of this infusions as times goes on. Finally compare this results with infusions of green tea and dietary supplemant according to their consumption format.

The sensory evaluation of three samples ( $M_1$ ,  $M_2$  y  $M_3$ ) was perform by an hedonic scale model of seven points to measurement six sensory attributes. For the antioxidant determination has been used FRAP assay. The results were expressed as averages  $\pm$  SD in mM  $FeSO_4$ . Finally Folin Ciocalteu method was perform on the samples to determine polyphenol content. The results were expressed as averages  $\pm$  SD in  $\mu$ g of galic acid/ mL of infusion.

The sensorial analysis of mate infusions did not demonstrate statistical differences ( $p < 0.05$ ) but there was differences in antioxidant capacity and in polyphenol content as time goes on and the infusion is diluted, moreover there are differences between samples highlighting  $M_3$  for both analysis. Mate infusions has an antioxidant capacity and polyphenol content higher than green tea infusions and some dietary supplemant available in the Chilean market.

## MARCO TEÓRICO

La yerba mate (*Ilex paraguariensis*) es conocida desde hace cientos de años. Los Guaraníes (aborígenes habitantes de Paraguay, Noreste Argentino y sur de Brasil) utilizaban esta planta por sus propiedades estimulantes. La yerba mate, es un arbusto perenne, perteneciente a la familia *Aquifoliáceas* (1). En Chile, según el Reglamento Sanitario de los Alimentos del Ministerio de Salud, la yerba mate se clasifica como un estimulante, así como el té, el café y las hierbas aromáticas. La cual debe estar constituida con un mínimo de 0,7% de cafeína y de 25% de extracto acuoso expresados en base seca. El reglamento además, establece las características de calidad que debe cumplir en Chile para que se comercialice en el país (2).



**Figura 1.** Flores y frutos Yerba mate (*Ilex paraguariensis*).

La yerba mate industrializada requiere de operaciones que definen las características que presentará el producto final. Las hojas verdes de yerba mate son cosechadas y se les aplica diferentes procesos: blanqueado, secado y añejado dependiendo del productor, en el tratamiento pueden variar los tiempos de blanqueado y secado, además no todos los productores añejan las hojas. El proceso en general se describe en Anexo 1 (3). La industrialización de la yerba mate modifica la composición química de ésta, debido principalmente a si se utiliza humo durante la etapa de secado o sólo aire caliente.

Una de las formas más comunes de preparar la infusión de yerba mate es adicionando alrededor de 50 g de yerba y 0,5 L de agua (4). El contenedor donde se prepara suele conocerse como mate, y para cebarlo se utiliza una bombilla que posee forma de cuchara al final con agujeros pequeños que actúan como filtro al succionar la infusión (1). Esta forma particular de beber la infusión permite una extracción continua de los componentes de las hojas (1).

Esta bebida se ha popularizado alcanzando mercados como el de Estados Unidos, donde se comercializa en formato de bolsitas de entre 1 y 2 g de yerba mate o como concentrado para su utilización en la industria de suplementos dietéticos (4). En Chile, según cifras de la Cámara de Comercio de Santiago, las internaciones de yerba mate a Chile subieron 61%, alcanzando US\$ 5,6 millones entre enero y abril de 2013, frente a igual lapso de tiempo en el año 2012, desde Argentina, se abastece el 63% del mercado Chileno (US\$ 3,5 millones) y el restante 36% proviene de Brasil (US\$ 2 millones) (5).

Los beneficios que se le atribuyen a la yerba mate (*I. paraguariensis*) se refieren a su poder como energizante natural, contener minerales como el fósforo, el hierro y el calcio; ser fuente de vitaminas como la vitamina C, B1 y B2 (3). Según diversos estudios la yerba mate poseería propiedades hipocolesterolemiantes, hepatoprotectoras, diuréticas, tener beneficios cardiovasculares, en el manejo de la obesidad, preventivas de la oxidación del ADN *in vitro*, evitar la lipoperoxidación de proteínas de baja densidad, la prevención de algunos tipos de cáncer y principalmente beneficios asociados a su acción como antioxidante (3).

Los antioxidantes son compuestos que poseen la habilidad de reducir radicales libres, sustancias que son pro-oxidativas, puesto que poseen un electrón desapareado en su estructura atómica, lo cual los convierte en especies altamente reactivas. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) son las que poseen mayor relevancia y dentro de este grupo, se pueden encontrar moléculas como el anión superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), radical hidroxilo ( $OH^-$ ) y radical peroxinitrito ( $OONO^-$ ) (6). Estas especies, entre otras, poseen gran afinidad por las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos (ADN), por lo tanto son bastantes susceptibles a la acción de los radicales libres. Como resultado de lo anterior el desbalance de las reacciones redox supone alteraciones en el metabolismo de estas macromoléculas y un factor de riesgo para la salud (6).

El equilibrio entre los radicales libres y los antioxidantes es mantenido internamente por las barreras antioxidantes tanto endógenas como de fuentes exógenas. Dentro de los antioxidantes endógenos se encuentran algunas enzimas como la superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, entre otras (7). Las fuentes de antioxidantes exógenos suelen

atribuirse a fuentes alimentarias que contienen vitaminas, minerales y fitoquímicos con capacidad antioxidante. Para que un alimento se considere antioxidante biológico debe poseer actividad antioxidante en presencia de un sustrato oxidable que se encuentre en bajas concentraciones, retrasando o evitando su oxidación (8).

Los fitoquímicos son metabolitos secundarios de las plantas que no están, en general, directamente involucrados con el crecimiento y desarrollo, ni participan en procesos tales como la obtención de energía, esto los diferencia de los compuestos primarios que corresponden a todos aquellos que son esenciales para el funcionamiento celular, que comprenden los glúcidos, los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos (9,10). Independiente de lo anterior se ha estudiado que los fitoquímicos ejercen beneficios saludables en las personas que los incorporan a su dieta de forma habitual. La importancia saludable de estos fitoquímicos, en general está asociada a su capacidad antioxidante y a sus potenciales beneficios a la salud (8). Existe estudios que relacionan el estrés oxidativo con el desarrollo de enfermedades, estos señalan que representa un factor de riesgo, aumentando la probabilidad de desarrollar enfermedades crónicas no transmisibles, tales como cáncer, diabetes, hipertensión y enfermedades neurodegenerativas (11-13). Una dieta alta en antioxidantes constituiría un factor protector frente al daño oxidativo, previniendo la posterior incidencia de dichas enfermedades.

### Antioxidantes de la yerba mate.

Los **principales grupos fitoquímicos** que se encuentran disponibles en la yerba mate, pertenecen a 4 grupos diferentes:

1. **Metilxantinas** derivados de alcaloides: Donde destaca la cafeína, teobromina y teofilina (3,14). Las metilxantinas representarían un 7,6 mg/g en yerba mate secada (15). Dentro de este grupo, la cafeína es el que se encuentra en mayor proporción, ya que se encuentra en concentraciones que representan entre 1% y 2% del peso seco, seguido por teobromina que se encuentra disponible entre un 0,3% y 0,9% del peso seco (3). Estos compuestos se encuentran en su mayoría en las hojas de la planta y en menor proporción en los palos (3). Las propiedades estimulantes de la yerba mate se deben principalmente a la presencia de cafeína.
2. **Saponinas:** En su mayoría asociadas a grupos triterpenoides derivadas del ácido ursólico conocidas en la yerba mate como matesaponinas 1, 2, 3, 4 y 5. (1, 3). Son compuestos altamente solubles en agua y a los cuales se les atribuye el sabor amargo de la yerba mate (3). Las saponinas no sólo participan del sabor, sino que también se les atribuyen propiedades antiparasitarias, antiinflamatorias e hipocolesterolemiantes (3,16). Algunos estudios mencionan que en extractos acuosos de yerba mate se pueden encontrar concentraciones de alrededor de 352 µg/ a partir de 15 g de yerba seca en 100 mL de agua (3).
3. **Compuestos aromáticos:** La yerba mate secada posee furanonas, pirazinas y pirroles que contribuyen al aroma tostado. La yerba mate que no ha sido sometida a tratamiento es rica en limoneno que brinda un aroma floral y finalmente cuando ha

sido sometida a ahumado, los compuestos aromáticos que toman mayor relevancia es metilfurfural y furfural (3,17).

4. **Compuestos fenólicos:** La yerba mate posee compuestos fenólicos tales como ácidos clorogénicos que corresponden a una familia de ésteres formados entre algunos ácidos transcinámicos y quínicos. El ácido cafeico, derivados de cafeoil, flavonoides como kaempferol, quecetina y rutina y finalmente los taninos que le confieren atributos sensoriales como sabor amargo característico y que además contribuyen a la astringencia del producto final (3,4,14).

Dentro de los compuestos con capacidad antioxidante más estudiados se encuentran los **polifenoles**, con más de 8000 compuestos fenólicos identificados, los compuestos fenólicos son compuestos secundarios generados por las plantas, que generalmente se encuentran asociados a defenderla de agresiones como la radiación ultravioleta o por patógenos, del mismo modo se les adjudica capacidad antioxidante (18). Contienen un anillo de benceno con uno o más grupos hidroxilos y se clasifican en función del número de anillos fenólicos y de sus uniones con otras moléculas.

Se ha determinado que la yerba mate es especialmente rica en polifenoles derivados de los ácidos fenólicos denominados **ácidos clorogénicos** (1, 4, 19). Los ácidos clorogénicos son una familia de ésteres formados por ácidos transcinámicos y ácido quínico, son los compuestos fenólicos más abundantes en otros alimentos tales como el café, las frutillas, arándanos, entre otros (20). Los ácidos clorogénicos son potentes antioxidantes actuando como donadores de hidrógeno o electrones y también como quelante de metales (20, 21). Poseen capacidad antioxidante y además actúan como moduladores en la expresión de

enzimas antioxidantes (1). Por otro lado se ha descrito que los ácidos clorogénicos poseerían el efecto saludable de disminuir la producción de glucosa hepática y que por lo tanto podrían tener participación en la homeostasis de la glucosa (22).

El ácido caféico y sus derivados se encontrarían en proporciones de 1,5 mg/g (15), destacándose por la posible habilidad de actuar contra la glicosilación de proteínas (20).

Los **flavonoides** corresponden a otra familia de **polifenoles** que se encuentran en la yerba mate y son rutina, quercetina y kaempferol (4). Estos flavonoides según cromatografía de capa fina, pueden encontrarse en proporciones de alrededor 5.2mg/g de rutina, 2,2 mg/g de quercetina y 4,5 mg/g de kaempferol (15). Entre las principales propiedades de la quercetina destaca su poder removedor de radicales libres y la propiedad de disminuir mediadores de la inflamación (1). Un estudio realizado por Knekt *et al.* (2002), sugiere que dietas altas en quercetina disminuirían la mortalidad por enfermedad cardiaca isquémica, por otro lado la incidencia de enfermedades cerebrovasculares fue menor en dietas con alto contenido de alimentos ricos en kaempferol; Este mismo estudio concluyó que en el grupo de hombres cuya ingesta de quercetina fue alta, se presentó menor incidencia en la aparición de cáncer de pulmón y además se estimó que dietas altas en quercetina disminuirían el riesgo de contraer a futuro diabetes tipo 2 (23).

En términos de proporción, los ácidos fenólicos y sus derivados son los que se encuentran en mayor cantidad, en comparación con los compuestos derivados de la familia de los flavonoides (rutina y quercetina) (14). La cantidad de quercetina es diez veces menor que la cantidad de ácidos fenólicos, a pesar de lo anterior, la capacidad antioxidante del mate se debe mayoritariamente a la quercetina (14).

Otra fuente de polifenoles que ha sido bastante estudiada y que también se consume como infusión, es el té verde (*Camellia sinensis*), que al igual que la yerba mate es una fuente de polifenoles siendo las catequinas las más representativas (19). El té verde si bien puede ser comparable con la yerba mate en términos de contenido de polifenoles, la naturaleza de los mismos es diferente, como se refirió anteriormente, la capacidad antioxidante de la yerba mate se debe en primera instancia por su contenido de quercetina, en cambio en el caso del té verde, su capacidad antioxidante se debe a la presencia de catequinas (19), ambos polifenoles pertenecientes a la familia de los flavonoides (24). Un estudio previo realizado por Bastos *et al.* (2007) identificó el perfil de polifenoles a través de la técnica de espectrometría de masas ionización por electrospray (ESI-MS) en infusiones de té verde, yerba mate verde y yerba mate sometida a secado (19). Los compuestos fenólicos encontrados en yerba mate verde fueron: ácido caféico, ácido quínico, rutina, entre otros. Luego del proceso de secado aparecen el ácido cafeoilshikímico y el ácido dicafeoilshikímico. En cambio en los extractos de té verde se identificaron ácidos quínicos, catequina-epicatequinas, galocatequina, epigalocatequina, entre otros (19). Por lo tanto ambas infusiones poseen polifenoles lo cual las vuelve comparables desde el punto de vista saludable.

Durante los últimos años, el interés por aquellos alimentos con alto contenido de polifenoles, debido a sus beneficios en términos saludable, ha aumentado y por lo mismo la industria ha comenzado a desarrollar suplementos dietéticos asociados a alimentos que son fuentes de polifenoles. Los suplementos dietéticos según el Reglamento Sanitario de Alimentos (2010) son productos elaborados o preparados especialmente para suplementar la dieta con fines saludables y contribuir a mantener o proteger estados fisiológicos característicos tales como adolescencia, adultez o vejez (25). Un ejemplo de lo anterior son aquellos suplementos en base a frutos como el cranberry (*Vaccinium macrocarpon* o *V. oxycoccos*) y noni (*Morinda citrifolia*).

El cranberry o arándano es un fruto estudiado por sus potenciales farmacológicos tanto en el fruto como en su jugo. El arándano ha demostrado ser una fuente de flavonoides y ácidos fenólicos y se destacan por su capacidad antioxidante (26). Por su parte el noni es una fruta de origen Hawaiano cuyo uso en suplementos dietéticos en Estados Unidos ha aumentado debido a las posibles actividades biológicas de los fitoquímicos presentes tales como ácidos fenólicos, ácidos orgánicos y derivados de los alcaloides. Los compuestos fenólicos que adquieren relevancia en los frutos de noni son las antraquinonas, acubina, ácido asperulósido y escopoletina (27,28). Los suplementos en base a estos frutos se comercializan en nuestro país para complementar la dieta, sería interesante contrastar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de estos suplementos con infusiones de yerba mate.

## Análisis utilizados en la determinación de capacidad antioxidante y contenido de polifenoles

La capacidad antioxidante se define como la habilidad que tiene un compuesto de reducir un radical. Con el objetivo de determinar la capacidad antioxidante de los alimentos, se han desarrollado diferentes análisis químicos. Dentro de los análisis más frecuentemente utilizados se encuentran (29):

1. Ensayo de la capacidad antioxidante como equivalentes de Trólox (TEAC) basado en la habilidad de un antioxidante de captar al catión radical ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS • ) como agente oxidante (30).
2. Ensayo de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) basado en la capacidad de un antioxidante para donar un electrón y de este modo neutralizar el agente oxidante DPPH (30).
3. Ensayo de la capacidad de reducción férrica del plasma (FRAP), método basado en la medición de la reducción del ión férrico ( $Fe^{+3}$ ) a su forma ferrosa ( $Fe^{+2}$ ) en presencia de un compuesto con capacidad antioxidante (30).
4. Ensayo de la capacidad de absorción radical del oxígeno (ORAC) que mide la capacidad de un antioxidante de romper la cadena radical, es decir, inhibiendo la acción del radical peroxil (30).

La determinación de la capacidad antioxidante de un alimento según ensayos *in vitro* es una buena aproximación de lo que podría considerarse la ingesta de antioxidante. Los ensayos mencionados anteriormente solo determinan capacidad antioxidante, pero no se distingue qué componentes son los que participan. Un análisis para determinar el contenido de polifenoles totales (PFT) es la prueba de Folin Ciocalteu (F.C), basada en la reducción del reactivo de Folin Ciocalteu por los compuestos fenólicos en un medio alcalino. El reactivo de F.C contiene complejos ácido fosfomolibdico/fosfotúngstico, quienes se reducen formando un complejo coloreado (25).

El estudio contempló una evaluación sensorial para determinar características sensoriales y aceptabilidad de tres marcas comerciales disponibles en el mercado chileno. Se determinó la capacidad antioxidante utilizando la prueba capacidad de reducción férrica del plasma (Ferric Reducing Ability of Plasma - FRAP) ya que es una prueba sencilla, que no requiere demasiados equipos especializados, rápida, con una buena relación entre costo-beneficio (25). En principio este ensayo se llevó a cabo para medir el poder reductor del plasma, pero su utilización se ha extendido a otros fluidos corporales, alimentos y extractos de plantas. Sin embargo existen ciertas desventajas asociadas a que los resultados del análisis dependerían del tiempo de observación de la reacción entre  $Fe^{+3}$  que va desde algunos minutos a horas. Por lo tanto un punto de absorbancia podría no representar la reacción completa ya que distintos antioxidantes requerirían distintos tiempos para su detección (30). Y finalmente se llevó a cabo la determinación del contenido de polifenoles totales (PFT) con la prueba de Folin Ciocalteu (F.C). Ya que es un método ampliamente utilizada para realizar mediciones en extractos de hierbas, especias, frutas, cereales y leguminosas. Si bien este análisis fue inicialmente diseñado para el análisis de proteínas (tirosina), otros autores

han realizado este ensayo en alimentos y extractos de plantas (30). De este modo, a partir de ambos análisis, no solo es posible determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles presentes en infusiones de yerba mate, si no también plantear la relación existente entre ambos indicadores.

## **OBJETIVOS**

### Objetivo general

Evaluar la capacidad antioxidante, contenido de polifenoles totales y las características sensoriales de infusiones de yerba mate de diferentes marcas comerciales. Y analizar su capacidad saludable.

### Objetivos específicos

1. Caracterizar sensorialmente tres infusiones de yerba mate del mercado local, a través del análisis hedónico del color, sabor, aroma, textura en boca, sensación somatosensorial de temperatura de infusión habitual y aceptabilidad general en individuos jóvenes, habituales consumidores de mate.
2. Determinar la capacidad antioxidante de tres infusiones de yerba mate comerciales según tiempo de cebado.
3. Determinar el contenido de polifenoles totales de tres infusiones de yerba mate comerciales según tiempo de cebado.
4. Comparar bibliográficamente la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles totales de las infusiones de yerba mate con infusiones similares y suplementos dietéticos.

## METODOLOGÍA

### Equipos

- Balanza granataria Radwag modelo As 220/C/2.
- Baño termorregulado Memmert.
- Centrífuga Eppendorf modelo Centrifuge 5702 R.
- Computador conectado a espectrofotómetro Dell.
- Equipo ultra sonido Elma modelo E 3 OH Elmasonic.
- Espectrofotómetro UV-Visible (Shimadzu modelo U.V 1800)
- pHmetro Thermo Scientific modelo Orion 3 Star.
- Placa calefactora (Thermo Scientific modelo Cimarec).

### Reactivos para la determinación de capacidad antioxidante:

- Acetato de sodio triple hidratado (Laboratorio Merck)
- Ácido acético 99,8% Laboratorio Sigma – Aldrich.
- Ácido clorhídrico 37% Laboratorio Sigma Aldrich.
- Ácido Gálico Laboratorio Merck.
- Carbonato de Sodio Laboratorio Sigma – Aldrich
- Cloruro férrico hexahidrato. Laboratorio Loba Chemie.
- Hidróxido de sódio em lentejas Laboratorio Ga.
- Reactivo de Folin Ciocalteu Merck (FC).
- Reactivo TPTZ Laboratorio Fluka.
- Sulfato ferroso heptahidratado (Laboratorio Merck)

### Selección de muestras

En el estudio se utilizó tres muestras de yerba mate comerciales disponibles en el mercado chileno de marcas: Doña Javiera: M<sub>1</sub>; Rosamonte: M<sub>2</sub>; y Taragüí: M<sub>3</sub>.

Cuyos criterios de inclusión fueron los siguientes:

- Todas las muestras fueron compradas en el mismo mercado local.
- Fecha de vencimiento no menor al año 2015.
- Las muestras se componen de yerba mate tradicional, sin ningún tipo de aditivo o saborizante (té verde, naranja, u otro).
- Dentro de muestras existen variedades con y sin palo.
- Ninguna de las muestras tuvo la presentación en bolsitas.
- Las marcas no superaron el valor de 3500 pesos.

### **EVALUACIÓN SENSORIAL**

La evaluación sensorial se llevó a cabo en las dependencias de CENUVAL, en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valparaíso. La selección de los evaluadores, se realizó por medio de una encuesta (Anexo 2) realizada a los estudiantes de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valparaíso. Las personas seleccionadas fueron contactadas vía telefónica o e-mail para solicitar su participación en el estudio. A cada participante se le explico la finalidad del estudio, el instrumento a utilizar, y se solicitó la lectura y firma de consentimiento informado (Anexo 3).

**Criterios de inclusión:** Jóvenes entre 18 y 27 años de ambos sexos, habituales bebedores de infusiones de yerba mate a través del formato tradicional a granel, por medio de cebados, sin otro componente como azúcar, saborizantes u otras hierbas o especias.

**Criterio de exclusión:** Se consultó oralmente a los participantes que cumplían los criterios de inclusión, si poseían alguna comorbilidad. Si la respuesta era afirmativa la persona no podía participar del estudio.

Se realizó un test de respuesta subjetiva denominado escala hedónica de siete puntos que contempla el nivel de agrado/desagrado de un atributo en donde 1= Me disgusta extremadamente y 7= Me gusta extremadamente con un punto intermedio de 4 = Ni me gusta ni me disgusta (Anexo 4) (31). El instrumento mide según ésta escala los atributos sensoriales de: aceptabilidad, sabor, aroma, color, textura en boca y sensación somatosensorial de temperatura. Preparación de las muestra: según el diseño experimental de la prueba se planteó el uso de tres marcas comerciales ( $M_1$ ,  $M_2$  y  $M_3$ ) y una temperatura de infusión ( $T = 80^{\circ}\text{C}$ ).

1. Se pesó 40 g de yerba mate de cada marca y se traspasó a tazas, colocando en el centro una bombilla para cebar mate de acero inoxidable estándar.
2. Luego se agregó un volumen de 150 mL de agua potable, previamente llevada a ebullición en hervidor y enfriada a temperatura ambiente hasta alcanzar la temperatura óptima de trabajo de  $80^{\circ}\text{C}$ .
3. Se dispuso 3 galletas de agua y un vaso de agua potable con el fin de que los panelistas pudiesen comer y realizar un enjuague entre cada evaluación.

4. Cada panelista analizó un total de 3 muestras correspondientes a cada una de las marcas seleccionadas para el estudio.
5. Se esperó un lapso de 20 min entre cada muestra, y las infusiones se presentaron a cada panelista por separado para evitar el error de contraste entre las muestras.

### **ANÁLISIS QUÍMICO.**

Se estimó el promedio del número de cebados representativos de un cebado tradicional. Con el objeto de analizar químicamente las muestras y con ello poder determinar el comportamiento de la infusión en un tiempo de toma de mate; se determinaron las pruebas químicas en el primer cebado ( $t=0$ ), en el medio de la toma ( $t=1/2$ ) y al final ( $t=1$ ). Para determinar este número, se utilizó un panel cerrado compuesto por bebedores habituales de infusiones de yerba mate. Se prepararon las muestras utilizando las instrucciones del envase, 50 g de yerba mate infundido con 500 mL de agua caliente a  $80^{\circ}\text{C}$ , con un  $n=3$ .

El análisis químico de las muestras se realizó en las dependencias de Farmacopea Chilena. Para realizar las pruebas químicas se preparó una infusión de yerba mate que se describe a continuación:

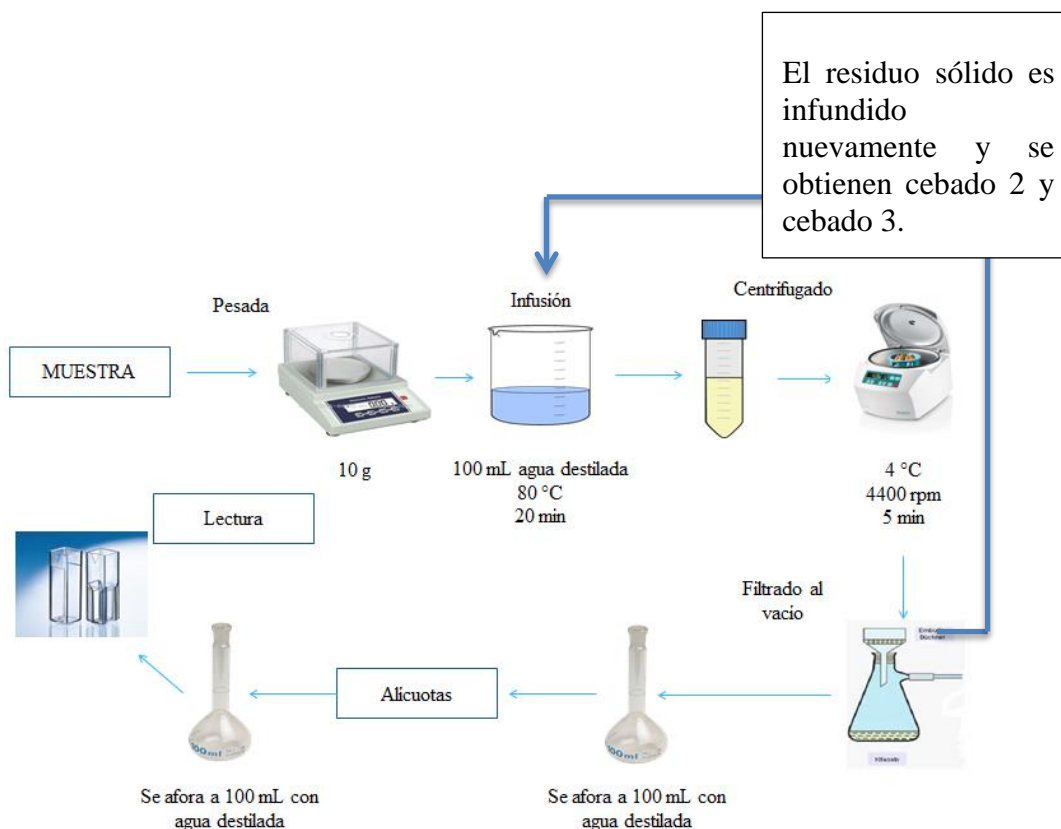
1. Se pesó 10 g de cada muestra seca en balanza granataria.
2. Se adicionó 100 mL de agua destilada, calentada previamente a  $80^{\circ}\text{C}$  en placa calefactora.
3. Se dejó infundir por 20 min.
4. Se centrifugó a 4400 rpm por 5 min a  $4^{\circ}\text{C}$ .

5. Se filtró el sobrenadante de la muestra al vacío con embudo Buchner y papel filtro Munktell grado 388.
6. El filtrado se llevó a un volumen final de 100 mL en matraz aforado con agua destilada (filtrado concentrado).
7. Finalmente, a partir del filtrado concentrado se obtuvo una alícuota de 1 mL ( $M_1$  y  $M_2$ ) o 0,5 mL ( $M_3$ ), según corresponda y se aforó a 100 mL con agua destilada para realizar FRAP (**cebado 1**) y PFT (**cebado 1**).

Para realizar los siguientes **cebados**:

1. El residuo sólido remanente obtenido del filtrado anterior (pto.5) se infundió con 100 mL de agua destilada, calentada previamente a 80°C en placa calefactora durante 20 minutos. Luego se repite el proceso desde el paso 4 al 6 para obtener un segundo filtrado concentrado. A partir de éste se obtuvo una alícuota de 2 mL ( $M_1$  y  $M_2$ ) o 1 mL ( $M_3$ ) y se aforó a 100 mL para realizar FRAP (**cebado 2**) y PFT (**cebado 2**).
2. Para realizar el tercer cebado, el residuo sólido remanente obtenido del segundo filtrado anterior se infunde con 100 mL de agua destilada, calentada previamente a 80°C en placa calefactora durante 20 minutos. Luego se repite el proceso desde el paso 4 al 6 para obtener un tercer filtrado concentrado. A partir de éste se obtuvo una alícuota de 5 mL ( $M_1$ ,  $M_2$  y  $M_3$ ) y se aforó a 100 mL para realizar FRAP (**cebado 3**) y PFT (**cebado 3**).

El esquema según el que se trabajó para realizar las muestras se resume en la Figura 2.



**Figura 2.** Diagrama de proceso para la preparación de las muestras.

### Determinación de capacidad antioxidante – FRAP

Se determinó la capacidad antioxidante de los compuestos presentes en los distintos cebados de la yerba mate, la cual consiste en la reducción del ion férrico ( $\text{Fe}^{+3}$ ) a su forma ferrosa ( $\text{Fe}^{+2}$ ) formando el complejo tripiriditriazina ferroso ( $\text{Fe}^{+2}$ -TPTZ) color azul a pH ácido medido a una longitud de onda de 593 nm, según lo descrito por Benzie y Strain (32). Todas las lecturas se realizaron por duplicado.

Preparación del reactivo FRAP: Se preparó el reactivo mezclando: 300 mM buffer acetato pH 3,6, 10 mM de reactivo 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) en HCL 40 mM, 20 mM

FeCl<sub>3</sub>, en proporción 10:1:1. Este reactivo se preparó diariamente, manteniéndose en baño termoregulado a 37°C, dejándose incubar durante 30 min inicialmente para su uso.

Protocolo de determinación de capacidad antioxidante:

1. En un tubo de ensayo se adicionó 600 µL de agua destilada, 200 µL de extracto diluido y 6 mL de reactivo FRAP.
2. Se dejó incubar por 5 min en baño termoregulado a 37°C protegido de la luz.
3. El contenido se traspasó a celdas de vidrio para su lectura en espectrofotómetro UV-Visible.
4. Se registró lecturas cada 1 s a una longitud de onda de 595 nm durante 15 min. Tomándose como dato la lectura realizada a los 4 min.
5. Para el blanco se realizó el mismo tratamiento cambiando la muestra por agua destilada.

Se realizó una curva de calibración, utilizando una solución estándar de sulfato ferroso 2 mM, se tomaron alícuotas y se llevaron a un volumen final de 10 mL. Los resultados se expresaron en mM de FeSO<sub>4</sub>.

### **Método de Folin-Ciocalteu para la determinación de polifenoles totales (PFT).**

Se determinó el contenido de PFT utilizando el método de Folin-Ciocalteu según la metodología descrita por la Organización Internacional de Estandarización ISO - 14502-1 (33) basada en la capacidad de los compuestos fenólicos presentes en la muestra de reducir los ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico del reactivo formando un complejo color azul medible espectrofotométricamente a 765 nm (33). Todas las lecturas se realizaron por duplicado.

Protocolo de determinación de PFT:

1. En un tubo de ensayo se adicionó 1 mL de muestra y 5 mL de reactivo de FC (1:10).
2. Se incubó 8 min a temperatura ambiente en oscuridad.
3. Se agregó 4 mL de la solución de carbonato de sodio 7,5% p/v. Se agitó en vórtex y se incubó a temperatura ambiente protegido de la luz durante 1 h.
4. Se leyó absorbancia en espectrofotómetro UV-Visible a una longitud de onda de 765 nm.
5. Para el blanco se realizó el mismo tratamiento cambiando la muestra por agua destilada.

Los resultados se calcularon utilizando una curva de calibración de ácido gálico y fueron expresados en  $\mu\text{g}$  de ácido gálico/mL. Para preparar la curva de calibración realizó una solución estándar de ácido gálico de 1mg/mL, se tomaron distintos volúmenes y se llevaron a un volumen final de 100 mL.

### Análisis estadístico de los resultados

Los resultados obtenidos en el análisis sensorial y químico se expresaron como el valor promedio  $\pm$  desviación estándar (D.S). Se realizó el test de Shapiro Wilks para determinar normalidad de los datos. Los resultados que se distribuyeron de forma normal, fueron analizados según análisis de varianza (*Anova*) y los que no presentaron normalidad se analizaron según análisis Kruskal Wallis para determinar diferencias y finalmente se aplicó el test de Tukey para determinar diferencias estadísticamente significativas, con un  $p < 0,05$ . Los análisis químicos se llevaron a cabo por duplicado.

Se utilizó el test de mínimos cuadrados para la determinación de la ecuación de la recta y coeficiente de correlación de Pearson para evaluar linealidad en las curvas de calibrado de ácido gálico y sulfato ferroso.

## **RESULTADOS**

### **EVALUACIÓN SENSORIAL**

La selección para los evaluadores del estudio sensorial se realizó por medio de una encuesta (n=106) cuyos resultados fueron los siguientes: El 21% de los encuestados se identificó como bebedor habitual de infusiones de yerba mate; dentro del grupo de bebedores habituales de yerba mate: el 41% respondió que bebe mate solo algunas veces en el mes, mientras que el 59% restante dijo que bebe infusiones de yerba mate entre 3 a 4 veces por semana. Cuando se consultó a los bebedores de mate sobre cuántos mates bebía durante un día: el 41% respondió que solo uno y el resto (59%) respondió que entre 2 y 3 veces por día. Respecto a la forma de consumo habitual, el 64% dijo consumir el mate a granel sin aditivo, mientras que el 18% lo consume con endulzante, el 14% con azúcar y el 4% con otro tipo de aditivo no especificado.

Según la percepción personal de los consumidores respecto a cómo prefiere la infusión, el 68% lo bebe cargado y el 32% lo prefiere suave. La pregunta fue elaborada de manera abierta y sin especificar cantidad de g de yerba mate y/o concentración de la infusión.

A partir de los datos obtenidos en la encuesta fue posible contactar a 12 participantes, todos estudiantes de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valparaíso, habituales bebedores de infusiones de yerba mate y que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión del estudio. Los cuales realizaron la evaluación sensorial de las marcas de yerba mate: M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> y M<sub>3</sub> aplicando una escala hedónica para cada atributo.

**Tabla 1.** Evaluación sensorial de distintas muestras de yerba mate  $M_1$ ,  $M_2$  y  $M_3$  en valores promedio  $\bar{X} \pm$  desviación estándar SD.

	$M_1$	$M_2$	$M_3$	Valor de $p$
<b>Aceptabilidad</b>	5±2	5±2	5±2	0,99
<b>Color</b>	6±1	5±1	6±1	0,05
<b>Aroma</b>	5±2	5±2	5±2	0,53
<b>Sabor característico</b>	5±2	5±1	5±2	0,86
<b>Sensación de temperatura</b>	5±1	6±1	5±2	0,39
<b>Textura en boca</b>	5±1	5±1	6±1	0,51

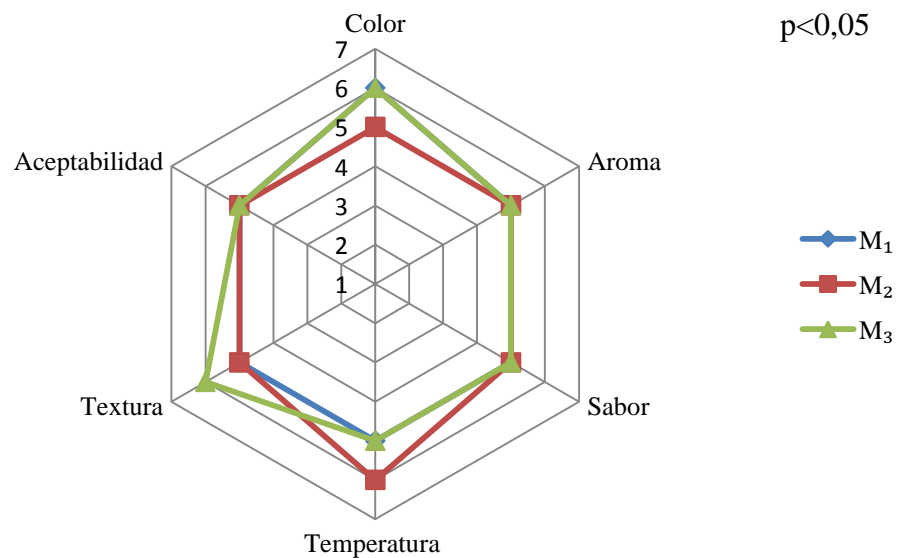
$P < 0,05$  indica diferencias significativas

No existen diferencias estadísticamente significativas entre los atributos sensoriales de las tres yerbas ( $p < 0,05$ ). En la Tabla 1. Se puede evidenciar la similitud que registran los datos obtenidos de la medición, para cada atributo observado con escala hedónica de siete puntos. Sin embargo, los valores promedio máximo obtenidos fue en los siguientes atributos: color en el cual las muestras  $M_1$  y  $M_3$  ( $6 \pm 1$ ) que se clasifica como “me gusta mucho”; textura en boca la marca  $M_3$  ( $6 \pm 1$ ) y finalmente temperatura de infusión habitual la marca  $M_2$  ( $6 \pm 1$ ). La temperatura de infusión manifestó un comportamiento atípico entre las muestras, ya que

se utilizó la misma temperatura de infusión en todas las muestras y aun así hubo diferencias aunque no significativas ( $P < 0,05$ ).

**Figura 3.**

Evaluación sensorial de distintas muestras de yerba mate  $M_1$ ,  $M_2$  y  $M_3$  en valores promedio  $\bar{X}$ .



Con el objetivo de contrastar la medición sensorial de las tres yerbas mates, los promedios presentados en la tabla anterior se representan en un gráfico radial anterior. Los atributos de aceptabilidad general, sabor y aroma se observan promedios bastante similares en la evaluación (5=“Me gusta un poco”), mientras que en color se evidencia que  $M_2$  fue la muestra peor evaluada (5=“Me gusta un poco”). Independiente de las distinciones descritas anteriormente, la evaluación sensorial no pudo determinar que los evaluadores tuviesen una tendencia de aceptar en mayor o menor grado alguna de las infusiones de yerba mate.

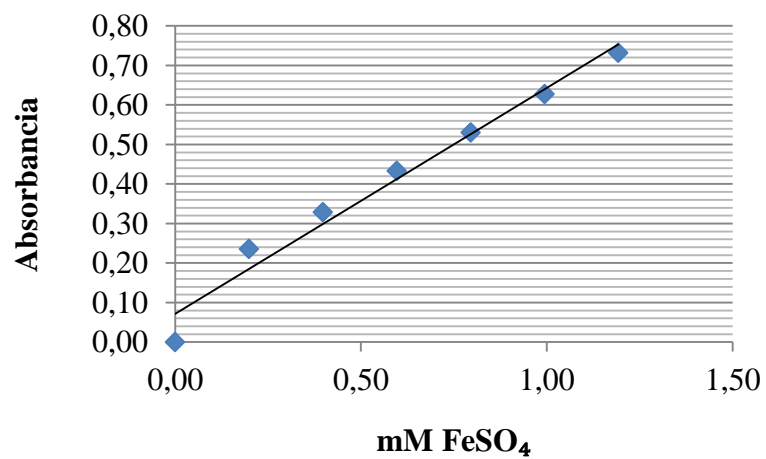
## ANÁLISIS QUÍMICO

### Capacidad antioxidante – FRAP

Para el cálculo de la capacidad antioxidante se realizó una curva de calibrado de  $\text{FeSO}_4$  a partir de las absorbancias obtenidas (Anexo 5).

**Figura 4.**

Curva de  $\text{FeSO}_4$ , ecuación de la recta y coeficiente de correlación de Pearson.



$$y = 0,5718x + 0,0715$$
$$R^2 = 0,9742$$

Los resultados de los tres cebados analizados se resumen en la Tabla 2.

**Tabla 2.**

Capacidad antioxidante de distintas muestras de Yerba mate ( $M_1$ ,  $M_2$  y  $M_3$ ) en mM de  $FeSO_4$ .

<i>Tiempo de cebado</i>	Yerba mate (mM de $FeSO_4$ )		
	$M_1$	$M_2$	$M_3$
Cebado 1	$64,2 \pm 2,9^{a1}$	$64,7 \pm 1,4^{a1}$	$93,8 \pm 2,9^{a2}$
Cebado 2	$36,2 \pm 1,4^b$	$36,7 \pm 2,9^b$	$40,3 \pm 2,9^b$
Cebado 3	$19,0 \pm 1,0^{b1}$	$15,3 \pm 2,4^{b2}$	$20,3 \pm 1,2^{b1}$

Valores en promedio  $\pm$  D.S. Los valores en la misma columna con diferente superíndice <sup>a,b,c</sup> indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores en la misma fila con diferente superíndice <sup>1,2,3</sup> indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), ambas definidas con la prueba Anova – Tukey.

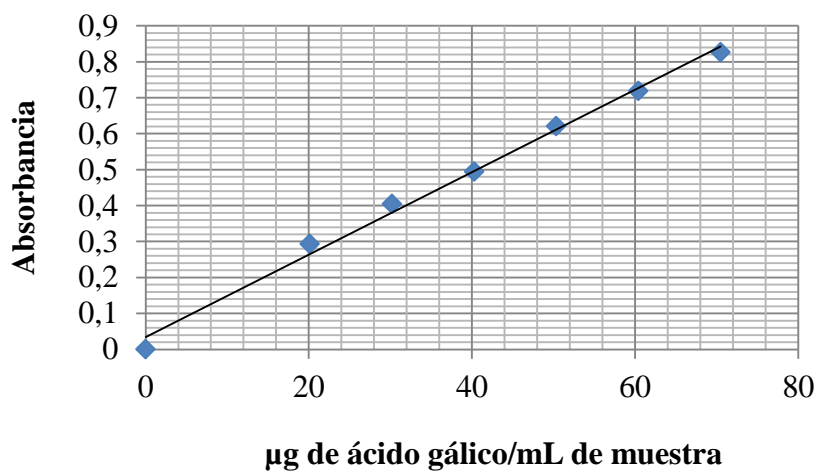
Como se puede observar en la tabla anterior, existen una disminución en la capacidad antioxidante a medida que la infusión se diluye, esta disminución es estadísticamente significativa entre el primer y segundo cebado de marca comercial analizada  $M_1$ ,  $M_2$  y  $M_3$  ( $p < 0,05$ ). Por otro lado en el cebado 1 se pudo determinar que  $M_3$  posee diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con  $M_1$  y  $M_2$ , en el cebado 2 no hubo diferencias significativas entre las muestras ( $p < 0,05$ ) y finalmente en el cebado 3 se observan diferencias significativas entre las muestra  $M_2$  al comparar  $M_1$  y  $M_3$  ( $p < 0,05$ ). En términos de la capacidad antioxidante total en tres cebados de yerba mate, la muestra  $M_3$  es 1,3 veces superior a  $M_1$  y  $M_2$ . Esta tendencia es observable desde el primer cebado ya que  $M_3$  es al menos 1,5 veces superior a las otras muestras. En términos de porcentajes, a partir del segundo cebado  $M_3$  es la muestra que más disminuye su capacidad antioxidante con un 57%,  $M_1$  y  $M_2$  obtuvieron valores similares disminuyendo en un 44% y 43% su capacidad antioxidante respectivamente. A partir del tercer cebado, la muestra  $M_2$  disminuyó su capacidad antioxidante en 58% mientras que  $M_1$  y  $M_3$  disminuyeron en un 48% y 50% respectivamente.

## Determinación de polifenoles totales (PFT)

Para el cálculo contenido de polifenoles totales se utilizó una curva de calibrado de ácido gálico a partir de las absorbancias obtenidas (Anexo 6).

**Figura 5.**

Curva de ácido gálico, ecuación de la recta y coeficiente de correlación de Pearson.



$$y = 0,0115x + 0,0341$$
$$R^2 = 0,9937$$

Los resultados de la determinación de polifenoles totales se presentan en la Tabla 3.

**Tabla 3.**

Contenido de polifenoles totales en distintas muestras de Yerba mate

<i>Tiempo de cebado</i>	Yerba mate ( $\mu\text{g}$ ácido gálico/mL)		
	$M_1$	$M_2$	$M_3$
Cebado 1	$4144,8 \pm 81,1^{a1}$	$3990,4 \pm 80,4^{a1}$	$8724,3 \pm 77,0^{a2}$
Cebado 2	$1960,4 \pm 70,6^{b2}$	$1614,8 \pm 88,6^{b1}$	$4657,8 \pm 63,3^{b3}$
Cebado 3	$1137,2 \pm 58,7^{c2}$	$849,4 \pm 67,4^{c1}$	$734,2 \pm 65,3^{c1}$

Valores en promedio  $\pm$  D.S. Los valores en la misma columna con diferente superíndices <sup>a,b,c</sup> indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores en la misma fila con diferente superíndice <sup>1,2,3</sup> indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), ambas definidas con la prueba Anova – Tukey.

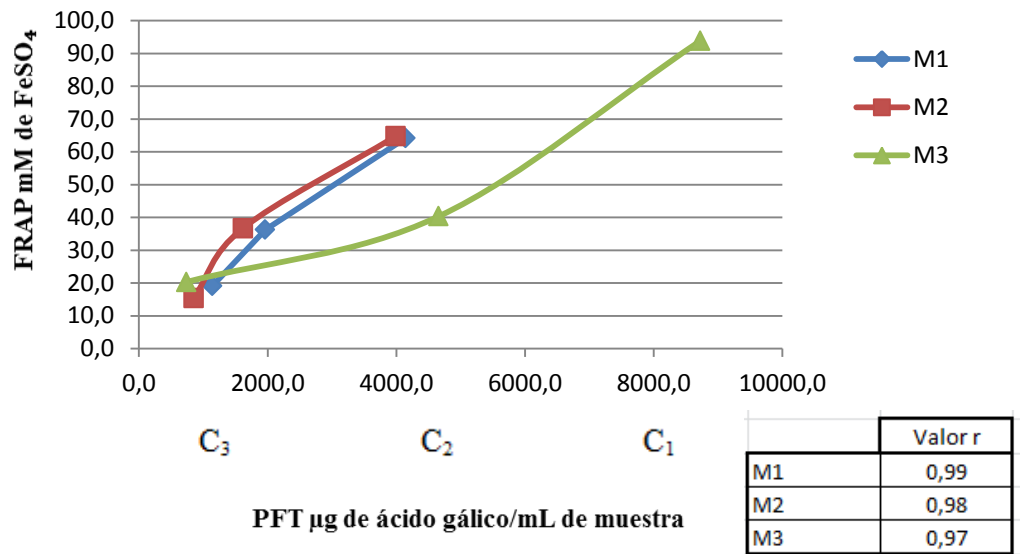
Como se puede observar, hubo diferencias significativas en los resultados obtenidos en el contenido de polifenoles totales entre cada cebado de las muestras de yerba mate analizadas:  $C_1$ ,  $C_2$  y  $C_3$  ( $p < 0,05$ ), en primera instancia se puede observar que a medida que se diluye la infusión, su contenido de polifenoles disminuye de forma significativa en todas las muestras ( $p < 0,05$ ). Por otro lado, en el cebado 1 se pudo determinar que  $M_3$  posee diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con  $M_1$  y  $M_2$ , en el cebado 2 hubo diferencias significativas entre todas las muestras ( $p < 0,05$ ) y finalmente en el cebado 3 se observan diferencias significativas entre las muestra  $M_1$  al comparar  $M_2$  y  $M_3$  ( $p < 0,05$ ). En términos contenido de polifenoles totales en tres cebados de yerba mate, considerados una toma de mate completa, la muestra  $M_3$  es estadísticamente diferente a las demás muestras, siendo

1,9 veces superior a  $M_1$  y  $M_2$  ( $p < 0,05$ ). Esta tendencia es observable desde el primer cebado ya que  $M_3$  es al menos 2,1 veces superior a las otras muestras. A partir de las muestras obtenidas del segundo cebado la tendencia de la muestra  $M_3$  de duplicar a  $M_1$  y  $M_2$  se mantiene. En el tercer cebado, esta tendencia no es observable ya que  $M_3$  disminuye su contenido de polifenoles totales, siendo la muestra que evidenció el menor contenido de los mismos en el tercer cebado, aunque estas diferencias no fueron significativas ( $p < 0,05$ ). La muestra  $M_2$  en términos numéricos fue la que obtuvo el contenido de polifenoles totales menor en los tres cebados de todas las muestras, por lo tanto su contenido de polifenoles totales en una toma de mate completa es inferior al contenido de polifenoles de  $M_1$  y  $M_3$ . Respecto al porcentaje de disminución del contenido de polifenoles en las muestras, la muestra  $M_2$  es aquella que evidencia una mayor pérdida en su contenido de polifenoles con un 60%, seguido por  $M_1$  con 53% y finalmente  $M_3$  con un 47% luego de cebar la infusión en una oportunidad, es decir en el cebado dos. A partir del tercer cebado la muestra que perdió más polifenoles luego de ser diluida fue  $M_3$  que solo experimentó una baja de 84%, seguido por  $M_2$  con un 47% y  $M_1$  con un 42%.

Al realizar un análisis de correlación entre las tres marcas evaluadas y según cada cebado, se determinó que existe una correlación entre las variables en los cebados 1, 2 y 3, estos se comportan de forma directamente proporcional, es decir, que en la medida que aumenta el contenido de polifenoles de las muestras, la capacidad antioxidante de las mismas aumenta como se puede observar en el siguiente figura que evidencia la correlación entre el análisis FRAP y PFT para M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> y M<sub>3</sub>. La correlación entre las variables es buena, por lo tanto posible inferir que la capacidad antioxidante en las infusiones de yerba mate estudiadas, está estrechamente relacionada con su contenido de polifenoles totales.

**Figura 6.**

Análisis de correlación entre capacidad antioxidante medida según FRAP y contenido de polifenoles totales medido según Folin Ciocalteu en valores promedio  $\bar{x}$  en las muestra M<sub>1</sub> M<sub>2</sub> y M<sub>3</sub> en los cebados C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub>.



## DISCUSIÓN

### EVALUACIÓN SENSORIAL

El mercado chileno ofrece diferentes alternativas comerciales de yerba mate, las presentaciones varían no sólo en costo si no también en la procedencia: formato a granel o bolsitas, con y sin palos con y sin aditivos, etc. Al tratarse de una infusión que se está introduciendo de manera masiva en nuestro país desde hace algunos años, resulta interesante identificar el nivel de aceptabilidad frente a este producto por parte del bebedor de mate chileno.

El análisis sensorial de las yerbas mates no determinó diferencias significativas entre las tres muestras ( $p < 0,05$ ). Lo anterior podría explicarse debido a que el análisis de las tres muestras se llevó a cabo el mismo día y solo una vez, aunque los evaluadores se autodefinieran como consumidores habituales y que les gustaba la infusión cargada esto podría haber disminuido la capacidad de distinguir entre las características entre un producto y el otro. Al comparar con otro estudio realizado por Orjuela-Palacio *et al.* (2014) sobre aceptabilidad en muestras de yerba mate desarrollado en Brasil, se estableció que existe una menor aceptabilidad del producto al realizar la encuesta una vez y que la aceptabilidad aumenta a medida que el consumidor es expuesto de forma repetida al estímulo y que se familiariza con el producto (34).

En términos de aceptabilidad, otro estudio realizado por Godoy *et al.* (2013) refiere sobre el perfil del consumidor en Brasil y aceptabilidad de infusiones de yerba mate recién cosechada y luego de 8 meses de almacenamiento utilizando una población de 100 consumidores. Los resultados que se obtuvieron indicaron que los consumidores prefieren las infusiones preparadas con bolsitas de yerba mate, que preferían aquellas infusiones preparadas con yerba mate recién cosechada y por otro lado se estimó que el 61% de los encuestados lo consumía con azúcar (35). Lo anterior difiere de la situación nacional, en base la encuesta realizada en este estudio se determinó que un 64% de los bebedores de habituales de infusiones de yerba mate prefieren el producto a granes y sin azúcar.

En el presente estudio las infusiones no presentaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en los atributos medidos. Si se extrapolan los resultados obtenidos por los estudios Brasileños, esto podría tener relación a que los evaluadores se sometieron al estímulo solo en una oportunidad, mientras los brasileños se sometieron al menos a la evaluación en 4 oportunidades (34). A diferencia de lo ocurrido en el estudio de Brasil, donde se presentaron infusiones de yerba mate con la opción de utilizar algún saborizante como azúcar o limón (35). Este estudio no contempló el uso de infusiones saborizadas y además fueron presentadas según sugerencia de preparación casera recomendada en el envase.

Los panelistas no entrenados que participaron de este estudio, podrían haber disminuido su umbral de percepción del sabor, aunque se tratase de habituales consumidores de mate. Dadas las características de amargor del producto, puesto que la infusión se preparó con <sup>3/4</sup> de la taza o mate con yerba mate, tal como se consume habitualmente. El sabor amargo es aquel que posee un menor umbral de percepción, habitualmente utilizando quinina como

estándar (1 ppm) (31). Como se puede observar, existe una mayor sensibilidad al sabor amargo, ya que en las concentraciones mencionadas anteriormente, estos sabores serían perceptibles por el 75% de la población (31). Resultaría interesante medir sensorialmente características de amargor en estos productos, ya que el contenido de polifenoles tiene incidencia en atributos organolépticos, su contenido podría estar asociado al amargor en la infusión. Según los resultados obtenidos, se podría sugerir que para analizar características sensoriales de la YM, no basta con consultar a bebedores habituales de la infusión, sino que es necesario entrenar un panel sensorial para este producto para que independiente del amargor de la infusión, fuesen capaces de distinguir matices entre las mismas y de éste modo haber obtenido mayores datos respecto de las diferencias de las muestras en términos sensoriales y comerciales.

Se podría establecer entonces que a nivel sensorial las muestras de YM no presentan diferencias, y por lo tanto para un consumidor habitual del producto no debería mostrar alguna tendencia por aceptar más o menos una determinada marca de yerba mate de las muestras comerciales evaluadas, de este modo los valores comerciales asociados a estos tres productos, no necesariamente se traducen en un producto de mayor o menor aceptabilidad por parte de un consumidor chileno.

## ANÁLISIS QUÍMICOS

Durante las últimas décadas el interés en el estudio de la capacidad antioxidante de algunos alimentos a aumentado, una revisión llevada a cabo por Oyinloye *et al.* (2015) sugieren que la mayoría de las enfermedades crónicas no transmisibles tendrían como causa inicial los radicales libres que atacan las biomoléculas del organismo (6). Del mismo modo se ha establecido una relación entre el consumo de dietas ricas en antioxidantes como un mecanismo de protección frente a estas, aumentando el valor biológico de los alimentos que son fuentes de antioxidantes y sus beneficios saludables (36). Los antioxidantes se encuentran en los alimentos de origen vegetal, tales como frutas, verduras, cereales e infusiones a base de hierbas (37).

La presente investigación, establece que las infusiones de yerba mate poseen capacidad antioxidante y que a medida que la yerba mate aumenta el número de cebados, de forma inversamente proporcional su capacidad antioxidante disminuye de forma significativa en función del tiempo ( $p < 0,05$ ). Al calcular la sumatoria de la capacidad antioxidante en cada muestra de yerba mate con el objetivo de emular una toma de mate con tres cebados, se observó que la muestra  $M_3$  posee una capacidad antioxidante significativamente superior ( $p < 0,05$ ), entre un 129 % y un 132% en comparación con las muestras  $M_1$  y  $M_2$ , aun cuando estos productos tienen características similares.

Un estudio previo realizado por Aguilera y Córdova (2013) en las dependencias de la Farmacopea Chilena, de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valparaíso, tuvo por objetivo determinar la capacidad antioxidante de diferentes presentaciones comerciales de

té verde (*Camellia sinensis*), disponibles en la Región de Valparaíso (38). En esa oportunidad, y tal como en el presente estudio se utilizaron los mismos estándares en cuanto a las pruebas realizadas y las unidades medidas, para la determinación de capacidad antioxidante, los valores promedios obtenidos por porción de consumo para las marcas de té verde fueron los siguientes: Supremo Natural formato en bolsita (12,3 mM FeSO<sub>4</sub>), Té Supremo Limón formato en bolsita (11,1 mM FeSO<sub>4</sub>), Té Lipton Natural formato en bolsita (16,7 mM FeSO<sub>4</sub>), Té Lipton Berries formato en bolsita (8,1 mM FeSO<sub>4</sub>) y Té Alive Noni formato bolsita (5,0 mM FeSO<sub>4</sub>) (38). Por otro lado también se realizó un análisis en muestras de té verde en formato granel: Té Supremo Natural Hoja (23,2 mM FeSO<sub>4</sub>), Tea Pot Frutilla Hoja (5,2 mM FeSO<sub>4</sub>) y Tea Cornen Kiwi Hoja (9,1 mM FeSO<sub>4</sub>) (38).

Al comparar la capacidad antioxidante de las tres marcas comerciales de yerba mate en valor promedio 130,2 mM FeSO<sub>4</sub>, por porción de consumo, con las de estas distintas presentaciones de té verde tanto en bolsitas (2g) como a granel (6g) infundidos en 200 mL y 400 mL respectivamente, según su formato de consumo, la yerba mate posee una capacidad antioxidante evidentemente mayor en un rango de entre 3 y 27 veces. Las marcas de té verde que poseían algún tipo de aditivo (Berries, frutilla o kiwi) no obtuvieron valores superiores a ninguna las marcas de yerba mate, pese a incorporar frutas que en las que se ha descrito que tienen una capacidad antioxidante alta (39). Un estudio previo realizado por Bastos *et al.* (2007) determinó la capacidad antioxidante en infusiones de té verde, yerba mate verde y sometida a secado por medio del ensayo 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (19). Los resultados obtenidos en el ensayo antes descrito, para los extractos acuosos

evidenciaron solo la yerba mate sin someterse a secado posee una mayor capacidad antioxidante en comparación con los extractos de té verde según DPPH ( $p < 0,05$ ) (19).

El hecho de que existan diferencias significativas entre la capacidad antioxidante de cada marca, podría tener relación con el tratamiento de temperatura recibido según su proveedor. Durante su procesado industrial la yerba mate, es sometida a temperatura, secado y añejado (Anexo 1), si bien el proceso utiliza altas temperaturas ( $500^{\circ}\text{C}$ ), es aplicado por un periodo muy corto de tiempo de entre 10 s y 3 min. Por otro lado el té verde posee un tratamiento distinto respecto de la yerba mate, puesto que las hojas frescas de té no son fermentadas sino que son secadas en estufa a  $100^{\circ}\text{C}$  (3, 40).

Se describe que estas diferencias dependerían de factores como tipo y localización del cultivo, clima, suelo, agua que dice relación con los procesos agro-productivos, las condiciones de almacenamiento y finalmente la forma de preparación por parte del consumidor (36). Una investigación realizada por Peralta *et al.* (2011) identificó y cuantificó los compuestos presentes en extractos acuosos de yerba mate no procesadas y extractos comerciales a través de la técnica de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y cuáles de estos compuestos tienen mayor participación en la capacidad antioxidante de la yerba mate por medio de DPPH (41). En este estudio se determinó que la yerba mate es rica en compuestos como los ácidos clorogénicos, ácido caféico y rutina y que éstos tienen la mayor participación en su capacidad antioxidante. En este estudio se determinó también el contenido de cafeína, este compuesto fue más abundante en la yerba mate procesada y sugieren que la cafeína poseería un efecto antagónico prooxidativo que interferiría con la capacidad antioxidante de la yerba mate, indicándose como posible causa

de que los extractos comerciales presentaran una menor capacidad antioxidante que aquellos preparados con hojas no procesadas (41). Los extractos realizados en este estudio fueron preparados a partir de yerba mate comercial, dado que no existen en el mercado nacional los preparados con yerba mate no procesada y además se trabajó con las presentaciones comerciales a granel con y sin palos. La muestra M<sub>3</sub> fue la que presentó una capacidad antioxidante total mayor durante una toma de mate completa, la presentación comercial de esta marca es con palos, resultaría interesante realizar una proyección de este estudio y analizar la relevancia que adquiere el tamaño de las partículas en la adecuada infusión de los componentes en infusiones de yerba mate.

Un estudio realizado por Pellegrini *et al.* (2006) determinó la capacidad antioxidante en bebidas, alimentos vegetales, frutas, entre otros, a través de tres pruebas *in vitro*, si bien las condiciones según las cuales fueron preparadas las muestras en este ensayo difieren de las empleadas en esta tesis, sí se pueden extrapolar (42). Los resultados obtenidos para el análisis FRAP indicaron que las infusiones de té negro, distintas bebidas alcohólicas como la cerveza y algunas variedades de vino poseen una menor capacidad antioxidante que las infusiones de té verde (42). Si en la presente tesis se determinó que la yerba mate poseería una mayor capacidad antioxidante que las infusiones de té verde según FRAP, se podría extrapolar que las infusiones de mate poseerían una capacidad antioxidante mayor que las bebidas mencionadas anteriormente. Cabe destacar que sería necesario realizar un análisis FRAP en las mismas condiciones y en la medida de lo posible realizar otra prueba para determinar capacidad antioxidante como DPPH para establecer dicha aseveración bajo los mismo parámetros de comparación.

En la presente investigación, se cuantificó el contenido de polifenoles en infusiones de yerba mate y se determinó que hay diferencias entre el contenido de polifenoles de los distintos cebados, todo a una misma temperatura de infusión ( $p < 0,05$ ). A medida que la yerba mate aumenta el número de cebados ( $C_1, C_2, C_3$ ), de forma inversamente proporcional su contenido de polifenoles disminuye en función del tiempo. Al realizar un sumatoria para el contenido PFT de cada muestra, se determinó que  $M_3$  es la muestra que posee un contenido de polifenoles entre un 195 y un 219% superior en relación a  $M_2$  y  $M_1$ , según su formato de consumo que involucraría cebar al menos tres veces la infusión. La marca  $M_3$  es también la que posee una mayor capacidad antioxidante, al realizar la correlación entre el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante, se pudo establecer una fuerte correlación entre ambos, lo cual permite inferir que la capacidad antioxidante de esta yerba mate estaría relacionada con el contenido de polifenoles totales que posee.

Respecto al contenido de polifenoles en infusiones de distintas marcas comerciales de té verde, y en las que al igual que en el presente estudio se utilizaron los mismos parámetros de evaluación y unidades de medida para determinar su contenido, los valores promedios obtenidos en las marcas de té verde según su formato de consumo en las marcas comerciales descritas anteriormente se encontraron entre los valores de 3,9 – 11,5  $\mu\text{g}$  de ácido gálico/mL muestra (38). Al comparar el contenido de polifenoles de las tres marcas comerciales de yerba mate en promedio (9271,1  $\mu\text{g}$  de ácido gálico/mL porción de consumo) con el contenido de polifenoles del té verde según su formato de consumo, tanto en bolsitas (2g) como a granel (6g) infundido en 200 mL y 400 mL respectivamente, la

yerba mate posee un contenido de polifenoles como mínimo 808 veces mayor. Parte de las diferencias presentadas pueden deberse al formato de consumo de la yerba mate, que contempla una mayor cantidad de hierba (10g) infundido en 100 mL, en contraste con los 2g a 6g que se utilizan para una infusión de té y mayor cantidad de agua (200 mL – 400 mL). La yerba mate se bebe en un mate con bombilla lo cual permite la constante extracción y aporte de polifenoles en al menos 3 veces durante una toma completa, independiente de que vaya disminuyendo su contenido a medida que se diluye la infusión, diferente a lo ocurre habitualmente al beber una taza de té.

Los polifenoles son compuestos altamente sensibles a la temperatura, los procesos industriales hacen que se pierda parte de ellos en el producto final, por otro lado, al preparar las infusiones se suele aplicar el agua a una temperatura de alrededor de 80 – 100 °C, lo que puede disminuir su contenido inicial por efecto de la temperatura. Las instrucciones de preparación de cada producto sugieren una temperatura de infusión entre los 70 – 80°C para que no se quemé el producto. Un estudio realizado en Brasil por Peres *et al.* (2013) llevó a cabo pruebas para determinar el contenido de polifenoles en dos infusiones preparadas a partir de yerba mate, "Chimarrao" y "Terere"; ambas infusiones consumidas habitualmente por la población y cuya diferencia es la temperatura de la infusión, 70°C y 5°C, respectivamente (14). El contenido de polifenoles obtenido para estas muestras fue superior en infusiones que se aplicó una mayor temperatura (70°C). Esto podría deberse a que no ocurre una correcta infusión del producto con agua fría. Estos resultados se contraponen a un estudio realizado por Damiani *et al.* (2014) en infusiones de té blanco, infundido con agua a temperatura ambiente 20 – 25 °C y agua caliente a 70°C, que

evidenció una gran pérdida de compuestos fenólicos al exponerlos a una temperatura de infusión mayor (43). Según lo anterior, se puede inferir que temperaturas muy frías no permitirían una adecuada infusión del producto y que existiría la posibilidad de que los polifenoles presentes en el té sean de naturaleza más sensibles que los que se encuentran en la yerba mate, sometida a una temperatura de infusión de 80°C.

Otro factor importante es el tiempo de infusión, las muestra de té fueron infundidas durante 4 min, en cambio las yerba mate, según referencias previas, fueron infundidas durante 20 min (41). Se podría suponer que las infusiones de yerba mate tuvieron mayor infusión de sus componentes al ser infundidas por más tiempo. Una investigación realizada por Ramalho *et al.* (2013) tuvo por objetivo determinar el contenido de polifenoles en distintas variedades de té negro tanto en bolsita como a granel y verificar el efecto del tiempo de infusión en la disponibilidad de los compuestos fenólicos presentes (44). Se dejó las muestras infundir entre 2,5 – 30 min con intervalos de 10 min. Para determinar el contenido de polifenoles se utilizó la prueba de Folin Ciocalteu, los resultados concluyeron que el contenido de polifenoles es mayor a medida que aumenta el tiempo de infusión (44).

Independiente de los factores mencionados anteriormente, no se debe olvidar que ambas infusiones tanto de yerba mate como de té verde son conocidas por su contenido de polifenoles, aunque la naturaleza de los mismos es diferente, la yerba mate según lo investigado debe su capacidad antioxidante a los ácidos clorogénicos, la quercetina y rutina. El té verde en cambio se caracteriza por ser rico en catequinas (19). Un estudio llevado a cabo por Anesini *et al.* (2008) determinó el contenido de polifenoles utilizando el método

de Folin Ciocalteu según los parámetros de la Organización Internacional de Estandarización (ISO) 14502-1 en infusiones de té disponibles en el mercado Argentino (45). Los resultados que obtuvieron fueron variados, en muestras de té verde se determinó que contenían entre 1,52 – 14,32 g de ácido gálico/ 100g de muestra, mientras que el té negro varió en un rango de 0,42 – 8,42 g de ácido gálico/ 100g de muestra (45). En este estudio, las muestras de té verde poseían un contenido de polifenoles mayor a las muestras de té negro. Al extrapolar estos resultados se podría presumir que la yerba mate también poseería un contenido de polifenoles totales superior al té negro.

Los polifenoles son un tema ampliamente estudiado, del mismo modo, existe interés por parte de la industria en el desarrollo de suplementos dietéticos relacionados. En el año 2013 se llevó a cabo una investigación realizada por Estay y Gallardo en las dependencias de la Farmacopea Chilena, de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valparaíso, tuvo por objetivo determinar el contenido de polifenoles en suplementos alimentarios comerciales de cranberry y noni. Utilizando los mismos parámetros para la determinación del contenido de polifenoles totales que se utilizaron en el presente estudio, los valores promedio obtenidos según su porción de consumo fueron los siguientes: Suplemento Cranberry Aura Vitalis (9,2 µg de ácido gálico/mL muestra), Suplemento Spring Valley (10,5 µg de ácido gálico/mL muestra), Suplemento Cranberry GNC (8,5 µg de ácido gálico/mL muestra), Suplemento Noni Vitalis (4,2 µg de ácido gálico/mL muestra) y Suplemento Noni GEA (0,5 µg de ácido gálico/mL muestra) (46). Estos resultados equivalen al consumo de 500 mg del suplemento, si comparamos el contenido de polifenoles de la yerba mate con estos productos, la yerba mate posee un contenido de polifenoles totales como mínimo 833 veces

superior según su formato de consumo, por lo tanto el aporte de un mate (preparado en proporción a lo sugerido según el envase) cebado tres veces es superior al aporte del consumo de éstos suplementos (500 mg/día).

En términos de consumo habitual, las infusiones de té en sus diferentes presentaciones, y en especial de yerba mate constituyen un aporte de polifenoles a la dieta que actúan como antioxidantes y que podrían constituir un factor protector para la salud (1,37). Para que este beneficio pueda ser observado, se deben tener en cuenta otros factores además de una adecuada ingesta de polifenoles. Los polifenoles ingresan a nuestro organismo a través de la ingesta y experimentan una disminución de su biodisponibilidad al ser metabolizados en los procesos digestivos. A pesar de lo anterior, existe gran variedad de estudios que relacionan dietas ricas en antioxidantes con un efecto preventivo o protector (47). Actualmente, se continúa estudiando el efecto protector de los antioxidantes en distintos modelos con el fin de conocer no sólo la cantidad de antioxidantes y capacidad antioxidante de los alimentos sino su identificación y efecto en el control del estrés oxidativo (48).

De acuerdo a los resultados obtenidos y en conjunto con la revisión bibliográfica, las infusiones de yerba mate poseerían capacidad antioxidante y un aporte destacable de polifenoles, por lo tanto se podría proponer como una buena alternativa de infusión con posibles efectos benéficos en la salud teniendo en consideración que es una bebida que posee un contenido de cafeína de entre 1% - 2% de peso seco (3), aporte comparable al de una taza de café. La cafeína actúa como un estimulante del sistema nervioso central, en tal caso se sugiere moderar su consumo en personas sensibles a este tipo de estimulantes.

## CONCLUSIÓN

1. La evaluación sensorial de las muestras de yerba mate, objetos de este estudio, mostró igual aceptabilidad por parte de los consumidores para los atributos medidos, no teniendo relación con el valor monetario comercial asociado a los productos.
2. Los resultados de estos análisis indicaron que la yerba mate disminuye su capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales a medida que se diluye la infusión. Por otro lado, una de las marcas comerciales evaluadas ( $M_3$ ) obtuvo promedios considerablemente mayores para ambos análisis. Cabe distinguirse que independiente de que  $M_3$  se destacara como la mejor marca comercial evaluada, a partir del tercer cebado su contenido de polifenoles disminuye en más del 80%. Por lo tanto, de las tres veces que se pueden infundir las muestras, el primer cebado es el más rico en polifenoles.

3. A partir de esta comparación se pudo establecer que la yerba mate poseería una capacidad antioxidante y contenido de polifenoles superior al de las infusiones de té verde y de los suplementos dietéticos de cranberry y noni, contemplando diferencias de gramajes, tiempo de infusión en el caso del té verde, en la porción de consumo y forma de consumo habitual. De éste modo y según el análisis de éstos resultados, se podría inferir que las infusiones de yerba mate podrían ser potenciadas como bebidas saludables en términos de su capacidad antioxidante y contenido de polifenoles.

## ANEXOS

### Anexo 1

Proceso industrial de la yerba mate.

Cosecha	Blanqueado (Sapeco)	Secado (Barbaqua)	Añejado (Cancheada)	Envasado
Las hojas tiernas y sus palos son cosechadas embaladas para trasportarlas y facilitar el proceso	El producto es calentado rápidamente (500°C) sobre madera o fuego propano entre 10 seg y 3 min. Lo que destruye la epidermis y los estomas para minimizar la oxidación e inhibir las enzimas de las hojas.	Las hojas son depositadas en cámaras de secado. Donde humo filtrado o no filtrado (100°C) es utilizado para secar las hojas. Desde un 10 a un 12% de humedad disminuyen a un 4,5%. Esto toma entre 8h- 24h.	El producto seco es depositado en cámaras de cemento durante 12 meses. Esto ayuda al desarrollo del sabor de la yerba mate.	El producto añejado es pesado según el productos y envasado

Anexo 2



**ENCUESTA DE SELECCIÓN PARA EVALUADORES  
EN ESTUDIO SENSORIAL  
YERBA MATE**



Nombre:

Número de contacto o e- mail:

Fecha:

Edad:

Responda las siguientes preguntas, puede marcar más de una alternativa si así lo desea

¿Bebe mate con regularidad?	a)Si	b)No
¿Con que frecuencia bebe infusiones de mate?	a) Todos los días b) 3 a 4 veces por semana c) Algunas veces al mes d) Casi nunca e) Nunca	
¿Cuantos mates bebe al día?	a) Solo 1 b) 2 a 3 c) 4 a 6 d) 8 y más	
Cuando bebe mate, lo toma:	a) Con azúcar b) Endulzante c) Con aditivos (mate con sabor o agregándole algo para cambiar el sabor) d) Mate solo e) Saquitos de yerba mate	
Prefiere beberlo:	a) Cargado b) Más bien suave c) Casi sin yerba	

### Anexo 3



## *CONSENTIMIENTO INFORMADO EVALUACIÓN SENSORIAL ESTUDIO DE YERBA MATE*



### *Facultad de Farmacia – Universidad de Valparaíso*

El Estado garantiza que usted tiene el Derecho para tomar decisiones que involucran el cuidado de su Salud. Este documento tiene por objeto proponerle participar en el estudio que se realizará en las dependencias de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valparaíso (UV).

El estudio consta en la degustación de tres muestras de Yerba Mate comercial, preparada según las condiciones de consumo habitual o casero. Por lo mismo no representa un riesgo o algún beneficio en la salud, ya que se trata de un producto de consumo masivo y el procedimiento no involucra alteraciones que no se consideren propias en la preparación del mismo, no se adicionarán aditivos de ningún tipo y todo el material a utilizar se encuentra limpio.

El fin del estudio es lograr la obtención de la muestra mejor calificada según los evaluadores, valorando las características más adecuadas que debiese tener una muestra de Yerba Mate. De forma posterior, dicha muestra será parte de un estudio químico que pretende determinar la capacidad antioxidante y la determinación de polifenoles totales. La capacidad antioxidante de los alimentos y sus potenciales beneficios a la salud es una temática ampliamente abordada por la comunidad científica, por la misma naturaleza de los estudios, estos abarcan una gran cantidad de alimentos, tales como frutas y verduras e infusiones de distintas hierbas. Este estudio desea contribuir a la base de datos sobre la capacidad antioxidante y de polifenoles totales de estas muestras, para que se utilice como parámetro en la realización de estudios referentes a los potenciales beneficios que representarían para salud a modo de proyección. La información recopilada y los resultados obtenidos serán expuestos en una tesis de pregrado y una vez publicados estarán

disponibles para fines académicos e informativos, en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valparaíso. Le ofrecemos la posibilidad de abandonar el estudio en cualquier momento. En caso de dudas/preguntas remitirse a la investigadora principal:

Rocío Figueroa Gamboa

+56 (9) 61240291

Facultad de Farmacia

Universidad de Valparaíso

### **CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Yo, .....RUT.....

de forma completamente voluntaria e independiente, participo como evaluador en el estudio Sensorial de la Yerba Mate que se llevará a cabo en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valparaíso, con conocimiento del protocolo y asegurando no tener conflicto de interés de ningún tipo. Del mismo modo, aseguro conocimiento de la utilización de los resultados obtenidos en el estudio y su posterior publicación con fines exclusivamente de investigación y no otros.

Firma del Evaluador

.....

Fecha .....

Anexo 4



**ACEPTABILIDAD SENSORIAL**

**YERBA MATE**



Nombre evaluador:

Fecha:

ESCALA HEDÓNICA

<b>Característica</b>	<b>M1</b>	<b>M2</b>	<b>M3</b>
<b>Color</b>			
<b>Aroma</b>			
<b>Sabor característico (amargor)</b>			
<b>Temperatura de infusión</b>			
<b>Textura en boca</b>			
<b>Aceptabilidad general</b>			

Nota	1	2	3	4	5	6	7
Interpretación	Me disgusta extremadamente	Me disgusta mucho	Me disgusta ligeramente	Ni me gusta ni me disgusta	Me gusta un poco	Me gusta mucho	Me gusta extremadamente

Anexo 5

**Absorbancias obtenidas para curva de calibrado FeSO<sub>4</sub> a una longitud de onda de 593 nm y capacidad antioxidante expresada en mM de FeSO<sub>4</sub>.**

Alícuota solución 2 mM FeSO <sub>4</sub>	Volumen final mL	Absorbancia	Capacidad antioxidante mM FeSO <sub>4</sub>
1	10	0,24	0,20
2	10	0,33	0,40
3	10	0,43	0,60
4	10	0,53	0,80
5	10	0,63	0,99
6	10	0,73	1,19

## Anexo 6

**Absorbancias obtenidas para curva de calibrado de ácido gálico a una longitud de onda de 765 nm y concentración expresados en  $\mu\text{g/mL}$  de ácido gálico.**

Alícuota solución $1\mu\text{g/mL}$ ácido gálico	Volumen final mL	Absorbancia	Concentración $\mu\text{g/mL}$ de ácido gálico
2	100	0,29	20,14
3	100	0,40	30,21
4	100	0,49	40,28
5	100	0,62	50,35
6	100	0,72	60,42
7	100	0,83	70,49

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) Bracesco N, Sanchez A, Contreras V, Menini T, Gugliucci A. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. *J Ethnopharmacol*, 2011, 3: 378 – 384.
- (2) MINSAL. Reglamento Sanitario de los Alimentos. 2011; pp 141.
- (3) Heck C, de Mejía E. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. *J Food Sci*, 2007, 9: 138 – 151.
- (4) Heck C, Schmalko M, de Mejía E. Effect of growing and drying conditions on the phenolic composition of mate teas (*Ilex paraguariensis*). *J Agric Food Chem*, 2008, 18: 8394 – 8403.
- (5) www.ceret.cl. <http://www.ceret.cl/noticias/crece-importacion-y-consumo-de-yerba-mate-en-chile-y-el-negocio-atrae-a-nuevos-inversionistas/> (último acceso: 13 de Marzo de 2015).
- (6) Oyinloye B, Adenowo A, Kappo A. Reactive oxygen species, apoptosis, antimicrobial peptides and human inflammatory diseases. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2015, 2:151 – 175.
- (7) Indo H, Yen H, Nakanishi I, Matsumoto K, Tamura M, Nagano Y, Matsui H, Gusev O, Cornette R, Okuda T, Minamiyama Y, Ichikawa H, Suenaga S, Oki M, Sato T, Ozawa T, Clair D, Majima H. A mitochondrial superoxide theory for oxidative stress diseases and aging. *J Clin Biochem Nutr*, 2015, 1:1 – 7.
- (8) Shahidi F. Antioxidants: principles and applications. In: *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. 2015; pp 1 – 14.
- (9) Gerhard M, Schomburg D. Metabolism. In: *Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology*. John Wiley & Sons. 2012; pp 37 y 93.
- (10) Gerhard M, Schomburg D. The Cell and Its Contents. In: *Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology*. John Wiley & Sons. 2012; pp 21 – 30.
- (11) Mazza M, Pomponi M, Janiri L, Bria P, Mazza S. Omega-3 fatty acids and antioxidants in neurological and psychiatric diseases: An overview. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2007, 31: 12 – 26.
- (12) Korkmaz G, Altinoglu E, Civelek S, Sozer V, Erdenen F, Tabak O, Uzun H. The association of oxidative stress markers with conventional risk factors in the metabolic syndrome. *Metabolism*, 2013, 6: 828 – 835.

- (13) Stephens J, Khanolkar M, Bain S. The biological relevance and measurement of plasma markers of oxidative stress in diabetes and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 2009, 202: 321 – 329.
- (14) Peres R, Tonin F, Tavares M, Rodriguez D. HPLC-DAD-ESI/MS identification and quantification of phenolic compounds in *Ilex paraguariensis* beverages and on-line evaluation of individual antioxidant activity. *Molecules*, 2013, 4: 3859 – 3871.
- (15) Bojić M, Simon Haas V, Sarić D, Maleš Z. Determination of flavonoids, phenolic acids, and xanthines in mate tea (*Ilex paraguariensis* St.-Hil.). *J Anal Methods Chem*, 2013, 2013: 658596.
- (16) Resende P, Verza S, Kaiser S, Gomes L, Kucharski L, Ortega G. The activity of mate saponins (*Ilex paraguariensis*) in intra-abdominal and epididymal fat, and glucose oxidation in male Wistar rats. *J Ethnopharmacol*, 2012, 3: 735 – 40.
- (17) Márquez V, Martínez N, Guerra M, Fariña L, Boido E, Dellacassa E. Characterization of aroma-impact compounds in yerba mate (*Ilex paraguariensis*) using GC–olfactometry and GC–MS. *Food Research International*, 2013, 53: 808 – 815.
- (18) Pandey K, Rizvi S. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev*, 2009, 5: 270 – 8.
- (19) Bastos D, Saldanha L, Catharino R, Sawaya A, Cunha I, Carvalho P, Eberlin M. Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. *Molecules*, 2007, 12: 423 – 432.
- (20) Gugliucci A, Bastos D, Schulze J, Souza M. Caffeic and chlorogenic acids in *Ilex paraguariensis* extracts are the main inhibitors of AGE generation by methylglyoxal in model proteins. *Fitoterapia*, 2009, 6: 339 – 44.
- (21) Bastos D, Oliveira D, Matsumoto R, Carvalho P, Ribeiro M. Yerba mate: pharmacological properties, research and biotechnology. *Med Aromat Plant Sci Biotechnol*, 2007, 1: 37 – 46.
- (22) Lecoultre V, Carrel G, Egli L, Binnert C, Boss A, MacMillan E, Kreis R, Boesch C, Darimont C, Tappy L. Coffee consumption attenuates short-term fructose-induced liver insulin resistance in healthy men. *Am J Clin Nutr*, 2014, 2: 268 – 275.
- (23) Knekt P, Kumpulainen J, Järvinen R, Rissanen H, Heliövaara M, Reunanen A, Hakulinen T, Aromaa A. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr*, 2002, 3: 560 – 8.
- (24) Belitz H, Groschb W, Schieberle P. Café, té y cacao. In: *Química de los alimentos*. Editorial ACRIBIA, S.A. 2009; pp 853 – 855.

- (25) MINSAL. Reglamento Sanitario de los Alimentos. 2011; pp 168.
- (26) Neto C, Vinson J. Cranberry. In: Herbal medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. Ed Benzie I, Wachtel-Galor S. 2011; pp 107 – 124.
- (27) Pawlus A, Su B, Keller W, Kinghorn A. An anthraquinone with potent quinone reductase-inducing activity and other constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (noni). J Nat Prod, 2005, 12: 1720 – 1722.
- (28) Ulloa J, Ulloa P, Ramírez J, Ulloa B. El noni: propiedades, usos y aplicaciones potenciales. Revista Fuente, 2012, 4: 44 – 49.
- (29) Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Hawkins D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis, 2006, 19: 669 – 675.
- (30) Zhong Y. Methods for the assessment of antioxidant activity in foods In: Handbook of Antioxidants for Food Preservation. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. 2015; pp 290 – 305.
- (31) Wittig, E. Evaluación sensorial: una metodología actual para tecnología de alimentos. Universidad de Chile. Biblioteca digital de la Universidad de Chile. 2001.
- (32) Benzie I, Strain J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. Anal Biochem, 1996, 239: 70 – 76.
- (33) Content of total polyphenols in tea - Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent. International Organization for Standardization ISO 14502-1, 2005.
- (34) Orjuela-Palacio J, Zamora M, Lanari M. Consumers' acceptance of a high-polyphenol yerba mate/black currant beverage: Effect of repeated tasting. Food Research International, 2014, 57: 26 – 33.
- (35) Godoy R, Deliza R, Gheno L, Licodiedoff S, Frizon C, Ribani R, Godoy dos Santos G. Consumer perceptions, attitudes and acceptance of new and traditional mate tea products. Food Research International, 2013, 53: 801 – 807.
- (36) Yashin A, Yashin Y, Nemzer B. Determination of antioxidant activity in tea extracts, and their total antioxidant content. Am J Biomed Sci, 2011, 4: 322 – 335.
- (37) Muñoz E, Rivas K, Loarca M, Flavia G, Mendoza S, Reynoso R, Ramos M. Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. Rev. Mex. Cienc. Agríc, 2012, 3: 481 – 495.

- (38) Aguilera N, Córdova A. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en infusiones de té verde en sus diferentes presentaciones comerciales. Tesis para optar al título de Nutricionista. Facultad de Farmacia. Universidad de Valparaíso, 2013.
- (39) Kähkönen M, Hopia A, Vuorela H, Rauha J, Pihlaja K, Kujala T, Heinonen M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem*, 1999, 10: 3954 – 3962.
- (40) Cabrera C, Giménez R, López M. Determination of tea components with antioxidant activity. *J Agric Food Chem*, 2003, 15: 4427 – 4435.
- (41) Anesini C, Turner S, Cogoi L, Filip R. Study of the participation of caffeine and polyphenols on the overall antioxidant activity of mate (*Ilex paraguariensis*). *LWT-Food Science and Technology*, 2012, 2: 299 – 304.
- (42) Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, Brighenti F. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J Nutr*, 2003, 9: 2812 – 2819.
- (43) Damiani E, Bacchetti T, Padella L, Tiano L, Carloni P. Antioxidant activity of different white teas: Comparison of hot and cold tea infusions. *J Food Compost Anal*, 2014, 33: 59 – 66.
- (44) Ramalho S, Nigam N, Oliveira G, de Oliveira P, Silva T, dos Santos A, Narain N. Effect of infusion time on phenolic compounds and caffeine content in black tea. *Food Research International*, 2013, 1: 155 – 161.
- (45) Anesini C, Ferraro G, Filip R. Total polyphenol content and antioxidant capacity of commercially available tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *J Agric Food Chem*, 2008, 19: 9225 – 9229.
- (46) Estay D, Gallardo M. Polifenoles totales y capacidad antioxidante de suplementos alimentarios de cranberry y noni. Tesis para optar al título de Nutricionista. Facultad de Farmacia. Universidad de Valparaíso, 2013.
- (47) Tomás F. Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alim. Nutri. Salud*, 2003, 10: 41 – 53.
- (48) Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*, 2004, 5: 727 - 747.