

El llamado tanino de la yerba mate (*Ilex paraguayensis*)

Un producto cristalino que da por hidrólisis ácido cafeico

Por V. DEULOFEU, H. DIAZ, M. E. FONDOVILA y J. R. MENDIVE

DETERMINACIÓN DE SU ESPECTRO DE ABSORCIÓN

(Con el Dr. A. T. WILLIAMS)

En el estudio de las sustancias que habitualmente se clasifican como taninos, se producen a menudo confusiones que derivan de no definirse previamente los límites de dicho término.

Así ha ocurrido al investigarse los llamados taninos de la yerba mate (*Ilex paraguariensis*). Un extracto acuoso de esas hojas da un contenido en tanino variable según el método que se emplee, según se indica en el cuadro I. Esas mismas infusiones no dan sin embargo las reacciones que se consideran más características de los taninos, como la fijación sobre el intestino de buey (*gold better's skin*; en la Argentina se llama tripón de buey) o precipitación con antipirina. La discrepancia entre los datos cuantitativos y las reacciones cualitativas debe atribuirse a que los métodos de dosaje no son específicos.

Al considerar el tanino de la yerba mate, que continuamos llamando así por tradición; nos referimos a las sustancias fenólicas presentes en la planta, que precipitan en medio básico con acetato de plomo.

Con esta limitación, quien parece haber investigado por vez primera el tanino de la yerba mate fué Rochleder. Sus trabajos fueron realizados en los años 1847-1848 (citado por Kunz-Krause 1893-1894).

Rochleder, pensó que el ácido tánico del mate era idéntico al del café, lo que fué discutido por Graham, Stenhouse y Campbell (1857) (véase además Kunz Krause (1893-94).

Presentado para publicar el 20 de julio de 1943.

CUADRO I

Tanino contenido en la yerba mate

Autor	Tanino	Método
Katz (1896)	7, 6-7, 74	Polvo de piel
Polenske y Busse (1898)	6,68-9,59	Eder.
Moureau de Tours (1904)	6,68	Fijación sobre proteínas.
Bertrand y Devuyt (1910)	11,22 (prom.)	Polvo de piel (internacional).
Sánchez (1915)	0-0,8	Carpény y Sisley.
Herrero Ducloux (1916)	4,2-10,59	Lowenthal.
Hennings (1920)	9,79 (prom.)	Acetato cobre.
Schlotdmann (1928)	6,5 (prom.)	Eder.
Eisenbrand (1932)	6,5	Eder.
Peyer y Gstirner (1932)	10,12-14,63	
	11,81 (prom.)	Acetato cobre.
Krauze (1932)	7,8-10,98	Bonifazi y Capt (acetato de cobre).
Heuschild (1935)	4,2-14,36	Polvo de piel (internacional).
Woodard y Cowland (1935)	12	Id.
Autores	10	Id.

Posteriormente a Rochleder y a Stenhouse, fué Arata (1877), quien estudió el ácido tánico de la yerba mate y lo comparó con el del café.

La circunstancia de que algunas reacciones cualitativas que realizara con los ácidos llamados tánicos, de ambos orígenes fueran diferentes y que la fusión con potasa diera substancias algo distintas, le hizo afirmar que el tanino de la yerba no era idéntico al ácido cafetánico.

Considera al tanino como un glucósido que preparado en ciertas condiciones no reduce el reactivo de Fehling, pero donde el poder reductor aparece por hidrólisis. Pensó que se trataba de la combinación de un ácido aromático con un azúcar (glucosa o cuerpo análogo).

Se debe a Kunz Krause (1893) un estudio más detenido del problema. Preparó el tanino bruto de la yerba mate por el método habitual y demostró que en parte era una combinación del ácido cafeico con otra substancia, caracterizando al primero perfectamente. Sostiene que el ácido cafeico está unido a un azúcar que sería reductor pero que no desvía la luz polarizada. Termina conside-

rando idénticos a los ácidos tánicos del mate y del café, basándose especialmente en que ambos dan ácido cafeico por hidrólisis.

Hacia ya mucho tiempo que se conocía que el tanino bruto del café daba ácido cafeico por hidrólisis y Payen (1849) había aislado del mismo una sustancia cristalina, el ácido clorogénico, que encerraba en su estructura ácido cafeico.

El ácido clorogénico no es un verdadero tanino (véase Freudenberg, 1933) y algunos autores consideran al tanino real del café (véase Nierenstein, 1934) un producto de transformación de ese ácido.

Que la yerba mate no contenía un verdadero tanino fué señalado por vez primera por Guglielmelli y Crivelli (1916) los cuales tampoco encontraron diferencias notables entre el producto obtenido del mate y el logrado del café, atribuyendo las diferencias halladas por Arata a distintas concentraciones de las infusiones empleadas.

En 1935 Woodard y Cowland confirman con un mayor aporte experimental la primera afirmación de Guglielmelli y Crivelli, por no dar los extractos de yerba mate las reacciones más características de las sustancias tánicas. Sostienen en cambio que el café y el té contienen verdaderos taninos aunque el primero en pequeña cantidad. Realizaron ensayos para separar al estado puro los componentes fenólicos de la yerba mate y aunque no lo lograron, encontraron indicaciones de la existencia de dos tipos bien diferenciados. Uno que consideran un pseudo o falso tanino que produce pirocatequina por fusión con álcalis y quinona por oxidación de los productos de hidrólisis, de donde concluyeron, la posible presencia de ácidos cafeico y quínico en el compuesto, es decir de los componentes del ácido clorogénico. El otro fenol es una sustancia coloreada que da por fusión pirocatequina, ácido protocatético y floroglucina por lo que suponen es una flavona o derivado.

Al mismo tiempo Hauschild (1935) fraccionó las sustancias presentes en la yerba mate que precipitan con sales de plomo, utilizando una propiedad señalada por Peacock y Peacock (1922), quienes al estudiar el principio astringente del mate, indicaron la solubilidad del supuesto tanino en acetato de etilo.

Obtuvo dos fracciones, cuyas propiedades frente a los diversos reactivos son muy similares, y del examen de ambas, concluye diciendo que el mate no contiene taninos gálicos ni catéquicos. De una de estas fracciones Hauschild obtuvo una sustancia cristalizada en agujas amarillas de punto de fusión 235°-236° y poder rotatorio muy ligeramente dextrógiro. La sustancia da reacciones

del ácido clorogénico (coloración a verde con cloruro de hierro, reacción de Höpfner positiva), pero no es idéntica al mismo principalmente por las diferencias en su análisis elemental y en sus propiedades físicas. Las tentativas realizadas por Hauschild de hidrolizarla en medio ácido no condujeron a la identificación de ningún producto.

Trabajando en la forma que se ha descrito en la parte experimental, hemos podido aislar nuevamente la sustancia de Hauschild. Este producto si se hidroliza en medio alcalino y no en medio ácido como lo hizo ese autor da ácido cafeico, identificado por comparación de sus propiedades con una muestra auténtica.

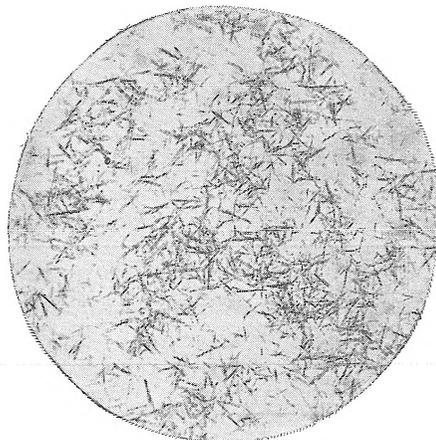


FIG. 1.

Es posible que esta sustancia sea la responsable de la mayor parte del ácido cafeico que en buena cantidad puede aislarse de la yerba mate por el método de Charaux (1910) y también responsable de la fracción que precipitada como sal de plomo daba ácido cafeico en las hidrólisis de material amorfo en las experiencias llevadas a cabo por Kunz Krause.

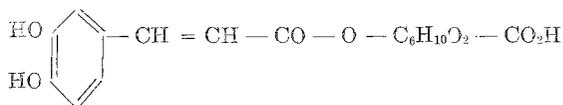
La sustancia es además de naturaleza ácida (véase parte experimental) y posee un espectro muy semejante al del ácido cafeico, con un máximo en aproximadamente $321,5 \text{ m}\mu$ algo desplazado hacia el visible con respecto al espectro del ácido cafeico y de la infusión de yerba mate.

Es sin duda alguna diferente del ácido clorogénico pues su solubilidad en agua es mucho menor, lo que impide la determinación adecuada de su poder rotatorio.

Aceptando los análisis que Hauschild realizara como exactos, la

substancia contendría C, 56,85 % e H, 5,1 % cifras que concuerdan bastante bien con la fórmula $C_{16}H_{18}O_8$ donde C, 56,94 % y H, 5,32 %.

Esta fórmula contiene un oxígeno menos que la del ácido clorogénico y teniendo en cuenta la obtención de ácido cafeico por hidrólisis y que se trata de un ácido, podemos escribirla



donde queda el resto $C_6H_{10}O_2$ con estructura desconocida.

Freudenberg (1933) ha señalado en diversas oportunidades que el ácido clorogénico y el eriodictiol encontrado por Tutin (1910) eran las únicas sustancias vegetales, obtenidas al estado puro, que daban por hidrólisis ácido cafeico.

El eriodictiol es una flavanona, y se aleja notablemente del ácido clorogénico que debe considerarse cercano a los depsidos.

La sustancia cristalina del mate se acerca a esta última estructura y constituye así una incorporación interesante al grupo de productos que pueden generar ácido cafeico, y merece por este motivo un ulterior estudio que asegure definitivamente este punto.

ESPECTROS DE ABSORCIÓN DE LOS PRODUCTOS ESTUDIADOS

(Con el Dr. A. T. WILLIAMS) (*)

Eisenbrand (1932) encontró que los extractos acuosos de yerba mate daban una absorción en el ultravioleta 270 y 350 $m\mu$ con un máximo en aproximadamente 320 $m\mu$. Este autor señaló que esta absorción era muy semejante a la que presentaba el ácido cafeico, que la sustancia que producía la fuerte absorción de los extractos era precipitable por sales de plomo y que debía tratarse de un derivado de ese ácido, lo cual puede considerarse comprobado por nuestras experiencias.

Estos resultados de Eisenbrand son diferentes a los de Loyarte y Bose (1926) quienes si bien en extractos alcohólicos de yerba encuentran un máximo en aproximadamente 320 $m\mu$ no ocurre lo mismo con sus infusiones acuosas donde encuentran un máximo en alrededor de 370 $m\mu$ y otro 260 $m\mu$. Este último máximo podría

(*) Agradece nos al Dr. R. Wernicke, Director del Instituto de Química del Departamento Nacional de Higiene, el haber puesto a nuestra disposición los elementos necesarios para realizar la toma de los espectros de absorción.

corresponder a la cafeína cuyas soluciones según Eisenbrand lo presentan en $275 \text{ m}\mu$. Las diferencias entre ambos experimentadores podrían provenir de la distinta forma de preparación de las infusiones.

Nosotros hemos estudiado nuevamente los espectros de absorción de una infusión de yerba mate, de ácido cafeico puro y de la sustancia cristalina aislada de la fracción precipitada por sales de plomo.

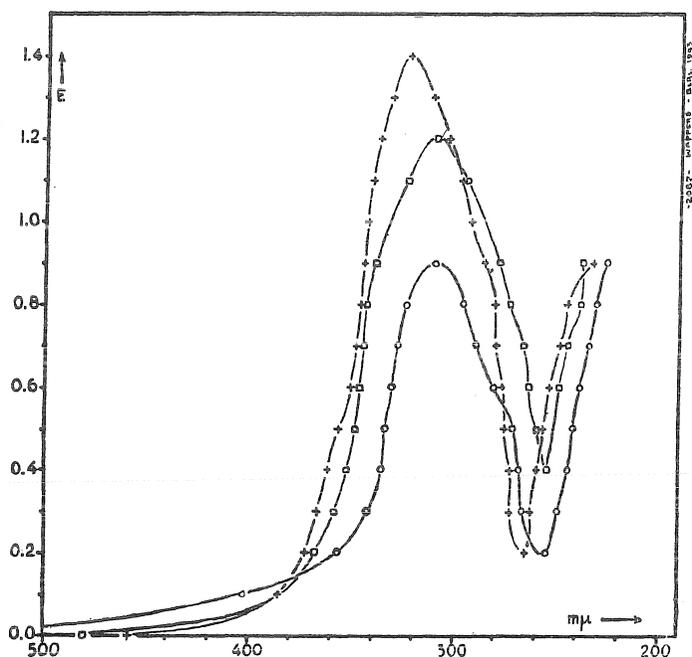


Fig. 2. — Cuba de 10 mm de espesor.

- + — + — + Substancia de p. f. 235° . 1.25 mg en 100 ml gua.
- O — O — O — Ácido cafeico. 1 mg en 100 ml agua.
- — □ — □ — Infusión acuosa de yerba mate. Residuo seco 10 mg en 100 ml.

Para la infusión y el ácido cafeico hemos obtenido un espectro con un máximo en aproximadamente $310 \text{ m}\mu$, lo cual coincide con lo encontrado por Loyarte y Bose para soluciones alcohólicas y por Eisenbrand para soluciones acuosas. Ambos espectros presentan un mínimo en aproximadamente $254 \text{ m}\mu$.

La sustancia cristalina que por hidrólisis da ácido cafeico presenta un espectro de caracteres similares con un máximo de $320 \text{ m}\mu$ y un mínimo de $264 \text{ m}\mu$ (fig. 2).

Puede pues afirmarse que el espectro de una infusión de yerba mate proviene en la zona entre 270 m μ y 350 m μ de la existencia en la misma de un derivado del ácido cafeico.

PARTE EXPERIMENTAL

La yerba mate empleada en este trabajo fué provista por la Junta Reguladora del Comercio de Yerba Mate y provenía del Yermal « Santa Inés » del señor Pedro Núñez, en el Radio Capital (Misiones) de plantas en pleno desarrollo. Corresponde a la cosecha de 1937 y fué recogida del 1º de mayo al 15 de octubre del año citado; ha sido elaborada por el sistema « barbacuá » y molida para infusiones.

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 1 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 10 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 a bañomaría, secando luego durante dos horas en estufa. El peso del residuo equivale a la correspondiente cantidad de substancia no absorbida, que restada de la de sólidos

(*) Agradecemos al Dr. Pelisch haber puesto a nuestra disposición los elementos de laboratorio para realizar estos dosajes.

totales (obtenida por evaporación de la solución analítica) da la cantidad de sustancias absorbida (taninos).

Cálculos:

Sol. analítica: 2 %.

Humedad de la piel: 73,57 %.

Se emplean 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 %.

Sustancias solubles totales: I) 36,72 %; II) 37,28 %.

Taninos: I) $36,72 - 26,63 = 10,09$ %

II) $37,28 - 26,72 = 10,56$ %

Obtención de la sustancia cristalina. — Se empleó el método descrito por Hauschild con pequeñas modificaciones. 1.500 g de yerba finamente molida se trataron con 5.l de agua ligeramente ácida (2 % de ácido clorhídrico) y calentaron a baño de vapor (100°) una hora. Se filtró por tela y se repitió la operación dos veces más.

Los extractos reunidos se trataron con una solución al 20 % de acetato neutro de plomo, hasta que no se lograra más precipitación. El precipitado se separó por centrifugación y suspendido en 15 litros de agua. Se hizo pasar una corriente de ácido sulfhídrico, se filtró el sulfuro de plomo y concentró el filtrado a vacío hasta unos dos litros, procediendo en lo posible en ausencia de aire. El concentrado contiene 156 g de residuo sólido.

Este concentrado se extrajo con éter en forma continua 90 horas. El extracto etéreo estacionado a 5° dió un residuo que daba una reacción débilmente positiva de ácido cafeico (Höpfner) y fué eliminado. Por evaporación del éter no se obtuvo ningún residuo en cantidad importante.

La solución acuosa fué extraída 120 horas con acetato de etilo y deshechada. Al extracto se añadieron tres volúmenes de éter lo que determinó la formación de un precipitado amarillo pálido que se filtró y lavó con éter. Polvo amorfo higroscópico, que da una reacción de cafeico (Höpfner) muy débil.

La mezcla acetato de etilo-éter dió por largo estacionamiento un precipitado ligeramente amarillento, macroscópicamente amorfo, que fué separado y secado pesando 2,85 g. Estos se disolvieron en agua hirviendo y dejando enfriar se obtuvieron 1.42 g de agujas finas, ligeramente amarillas.

Se recrystalizaron de acético agua, obteniéndose agujas finas, ligeramente amarillas, que funden a 235-37° con descomposición.

Da una intensa coloración verde con cloruro de hierro que pasa

a rojo caoba por adición de hidrato de sodio. Toma color amarillo verdoso con amoníaco y amarillo con hidrato de sodio. Da una intensa reacción positiva de Höfner. No da precipitado con solución de gelatina al 1 % ni con antipirina al 2 %. No reacciona con tripón de buey (gold beater's skin).

HIDRÓLISIS. — *Identificación del ácido cafeico.* — 100 mg de los cristales anteriores se disolvieron en 18 ml de agua, se añadió hidrato de potasio hasta concentración del 10 % e hirvió media hora. Se enfrió, acidificó con ácido sulfúrico al tercio y se extrajo con éter.

El éter se destiló y dejó un residuo cristalino que recrystalizado de agua con carbón, dió poliedros amarillos claro que fundían a 210-211° y daban las reacciones del ácido cafeico. El punto de fusión no se alteró por mezcla con ácido cafeico sintético de punto de fusión 212°.

Acido cafeico de la yerba mate. — 500 g de yerba mate se extrajeron durante 20 minutos con 5 litros de alcohol a 80 % hirviendo. Se filtró en caliente y del extracto se eliminó el alcohol por destilación. El residuo se trata con 500 ml de agua hirviendo, se filtra lo insoluble y el filtrado frío se extrae con éter. La solución acuosa se trata con solución de subacetato de plomo hasta precipitación total, se filtra el precipitado, se lo suspende en agua y elimina el plomo por añadido de ácido sulfúrico al 10 % hasta tener un ligero exceso. Se filtra el sulfuro de plomo y al filtrado después de neutralizado se añade hidrato de potasio hasta una concentración del 10 %. Se hierve media hora, se vuelve a acidificar con sulfúrico diluido y se extrae con éter. El éter evaporado dió un residuo cristalino rojo-pardo que se disuelve en la mínima cantidad de agua hirviendo añadiendo carbón activo. Se filtra. Por enfriamiento se obtienen cristales poliédricos de color amarillo claro, que funden a 213° y no dan depresión con ácido cafeico sintético.

CONCLUSIONES

La substancia aislada por Hauschild de la yerba mate y que precipita con sales de plomo en medio alcalino es un ácido que da por hidrólisis ácido cafeico.

El espectro de absorción de la substancia anterior con un máximo en 320 μ y un mínimo en 264 μ es una contribución importante al espectro de las infusiones de la yerba mate.

BIBLIOGRAFÍA

- ARATA (1877). — *Anal. Soc. Cientif. Arg.* **3**, 257.
- BERTRAND y DEVUYST (1910). — *Bullet. Scienc. Pharm.* **17**, 249.
- CHARAUX (1910). — *J. Pharm. Chim.* **2** (7), 292.
- EISENBRAND (1932). — *Berich. Deut. Pharm. Gessll.* **42**, 369.
- FREUDENBERG (1933). — *Tannin, Cellulose, Lignin*. Berlin, pág. 26.
- GRAHAM, STENHOUSE y CAMPBELL (1857). — *Chem. Soc. Quart. J.* **9**, 33.
- GUGLIAMMELLI y CRIVELLI (1916). — *Act. y Trabajos I Cong. Nac. Medicina* **5**, 244.
- HAUSCHILD (1935). — *Über die Restandteile des Mates*. Diss. Zurich.
- HAUSCHILD (1935). — *Mitt. Lebens. Hygiene*, **26**, 329.
- HENNINGS (1920). — *Ber. Deut. Pharm. Gesell.* **30**, 23.
- HERRERO DUCLOUX, E. y L. (1916). — *Rev. Museo La Plata*, **13**, 121; *Anal. Asoc. Quím. Arg.*, **3**, 244.
- KATZ (1896). — *Central Nahrungs Genus-smit.*, **2**, 268. Cit. HAUSCHILD (1935).
- KRAUZE (1932). — *Mitt. Lebens. Hygiene*, **23**, 218.
- KUNZ KRAUSE (1893). — *Arch. Pharm.*, **231**, 613.
- KUNZ KRAUSE (1894). — *Bull. Soc. Vandoise Scienc. Nat.*, **30** (3), 140.
- LOYARTE y BOSE (1928). — *Contrib. Est. Fisicomat.*, N° 82, 199.
- MOUREAU DE TOURS (1904). — *Le Maté*. París.
- NIERESTEIN (1939). — *The Natural Organic Tannings*. Londres, pág. 207.
- PAYEN (1849). — *Am. Chim.* **26** (3), 108, cit. FREUDENBERG (1933).
- PEACOCK y PEACOCK (1922). — *J. Ann. Pharm. Assoc.*, **11**, 609.
- PEYEN y GSTIRNER (1932). — *Apoth. Zeit.*, **47**, 672.
- POLENSKE y BUSSE (1898). — *Arb. Kaiserl. Gesundheits.* **15**, 171.
- ROCHLEDER (1847-1848). — *Jahresbericht*, pág. 525, cit. KUNZ KRAUSE (1893).
- ROCHLEDER (1845-1849). — *Ann. Chemie*, **66**, 39, 82, 194. Cit. KUNZ KRAUSE (1893).
- ROCHLEDER (1857). — *J. Prak. Chem.*, **72**, 392. Cit. KUNZ KRAUSE (1893).
- SANCHEZ (1915). — *Anal. Asoc. Quím. Arg.*, **3**, 407.
- SCHLODTMANN (1928). — *Mediz. Welt.*, **2**, 1153.
- STENHOUSE (1854). — *Ann. Chemie*, **89**, 244.
- TUTIN (1910). — *J. Chem. Soc.*, **97**, 2054.
- WOODARD y COWLAND (1935). — *Analyst*, **60**, 135.