

00023

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
MUSEO (FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES)

CONTRIBUCION AL ESTUDIO
DE LAS HOJAS DE
VILLARESIA MEGAPHYLLA
— Y —
VILLARESIA CONGONHA (Miers)

TESIS PRESENTADA A LA FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES DE LA UNIVERSIDAD
DE LA PLATA

PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN QUÍMICA Y FARMACIA

POR

ANTONIO CERIOTTI

FARMACEUTICO DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

BUENOS AIRES

— IMPRESORES

Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Exactas
Biblioteca
50 y 115 1º subsuelo
biblioteca@exactas.unlp.edu.ar
Tel 0221 422-6977/79 int. 129



DEX-56318

ION

56318



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
MUSEO (FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES)

CONTRIBUCION AL ESTUDIO
DE LAS HOJAS DE
VILLARESIA MEGAPHYLLA
— Y —
VILLARESIA CONGONHA (Miers)

TESIS PRESENTADA A LA FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES DE LA UNIVERSIDAD
DE LA PLATA
PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN QUÍMICA Y FARMACIA
POR
ANTONIO CERIOTTI
FARMACEUTICO DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

BUENOS AIRES
N. SPINELLI & CIA. — IMPRESORES
1918

(043.2)
TESIS
00023

Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Exactas
Biblioteca
50 y 115 1º subsuelo
biblioteca@exactas.unlp.edu.ar
Tel 0221 422-6977/79 int. 129



DEX-56318

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

MUSEO Y FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

CONSEJO ACADEMICO

Presidente: doctor Samuel A. Lafone Quevedo. M. A. (Cantab.).

Consejero titular: doctor Pedro T. Vignau.

— doctor Juan Carlos Delfino.

— doctor Enrique Herrero Ducloux.

— doctor Luis María Torres.

— doctor Santiago Roth.

— doctor Miguel Fernández.

Consejero suplente: señor Carlos Bruch.

— doctor Enrique J. Poussart.

Secretario: doctor Carlos E. Heredia.

ACADEMICOS HONORARIOS Y CORRESPONDIENTES NACIONALES

ESCUELAS DE CIENCIAS NATURALES

ACADEMICOS HONORARIOS

Doctor Angel Gallardo (Buenos Aires), 1907.

Doctor Carlos Spegazzini (La Plata), 1912.

ACADEMICOS CORRESPONDIENTES

Doctor Juan B. Ambrosetti (Buenos Aires), 1907 †.

Doctor Francisco Latzina (Buenos Aires), 1907.

Señor Miguel Lillo (Tucumán), 1907.

Ingeniero Francisco Seguí (Buenos Aires), 1907.

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS

ACADEMICO HONORARIO

Doctor Juan J. J. Kyle (Buenos Aires), 1907.

MUSEO Y FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

ACADEMICOS HONORARIOS
Y CORRESPONDIENTES EXTRANJEROS



Biblioteca Central
Fac. Cs. Exactas
U.N.L.P.

ESCUELAS DE CIENCIAS NATURALES ACADEMICOS HONORARIOS

S. A. S. Albert I de Mónaco, 1910.
Doctor Eugen Bülow Warming (Dinamarca), 1907.
Doctor Alberto Gaudry (Francia), 1907 †.
Doctor Ernest Haeckel (Alemania), 1907.
Doctor Théodore Jules Ernest Hamy (Francia), 1907 †.
Doctor Enrico Hillyer Giglioli (Italia), 1909 †.
Profesor William H. Holmes (Estados Unidos), 1907.
Doctor Otto Nordenskjöld (Suecia), 1907.
Doctor Santiago Ramón y Cajal (España), 1907.
Doctor Johannes Ranke (Alemania), 1910.
Profesor Eluar^l Suess (Austria-Hungría), 1907.
Profesor Frédéric Ward Putnam (Estados Unidos), 1908.
Doctor William Jacob Holland (Estados Unidos), 1912.

ACADEMICOS CORRESPONDIENTES

Doctor Henry Fairfield Osborn (Estados Unidos), 1907.
Doctor Hermann von Ihering (Brasil), 1907.
Doctor Yoshikiyo Koganei (Japón), 1907.
Doctor Albert Auguste de Lapparent (Francia), 1907 †.
Doctor Abraham Lissauer (Alemania), 1907 †.
Doctor Richard Lydekker (Inglaterra), 1907.
Doctor Rudolf Martín (Suiza), 1910.
Doctor Stanilas Meunier (Francia), 1910.
Doctor Giuseppe Sergi (Italia), 1907.
Doctor Gustav Steinmann (Alemania), 1907.
Doctor Paul Vidal de la Blache (Francia), 1907.
Profesor J. Wardlaw Redway (E. Unidos), 1907.
Doctor Ricardo J. Hunt (Inglaterra), 1914.

*Tesis no
23*

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS

ACADEMICO HONORARIO

Profesor Wilhelm Ostwald (Alemania), 1907.

ACADEMICOS CORRESPONDIENTES

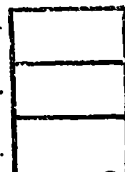
Profesor Armand Gautier (Francia), 1907.
Profesor José Rodríguez Carracido (España), 1908.
Profesor Harvey W. Wiley (Estados Unidos), 1909.

DONACION.....

A.....

Fecha..... 20-8-99.....

Inv. E..... Inv..... B. 56.318



MUSEO Y FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

PERSONAL DIRECTIVO Y CIENTIFICO

DOCTOR SAMUEL A. LAFONE QUEVEDO, M. A. (Cantab.)
Director

DOCTOR ENRIQUE HERRERO DUCLOUX
Vicedirector

DOCTOR CARLOS E. HEREDIA
Secretario, bibliotecario y director de publicaciones
Señor MAXIMINO DE BARRIO
Pro-Secretario

ESCUELAS DE CIENCIAS NATURALES

DR. SANTIAGO ROTH
Jefe de Sec. y Prof. de Paleontología

DR. GUALTERIO SCHILLER
Jefe de Sec. y Prof. de Mineralogía

SR. AUGUSTO C. SCALA
Jefe de Sec. y Prof. de Botánica

DR. CARLOS BRUCH
Jefe de Sec. y Prof. de Zoología

DR. MIGUEL FERNANDEZ
Profesor de Anatomía comparada

SR. HORACIO ARDITI
Profesor suplente de Zoología

DR. EDUARDO CARETTE
Prof. adj. de Paleontología

Dr. SAMUEL A. LAFONE QUEVEDO
Profesor de Lingüística

DR. ROBERTO LEHMANN-NITSCHKE
Jefe de Sec. y Prof. de Antropología

ING. AMIN REINMANN
Prof. de Geografía Física

ING. VICENTE AÑON SUAREZ
Profesor de Cartografía

DR. LUIS MARIA TORRES
Jefe de Sec. y Prof. de Etnografía

ING. MOISES KANTOR
Jefe de Sec. y Prof. de Geología

DR. SALVADOR DEBENEDETTI
Profesor de Arqueología

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS

DR. E. HERRERO DUCLOUX
Director y Prof. de Quím. analítica

DR. FEDERICO LANDOLPH
Prof. de Química orgánica

SR. L. HERRERO DUCLOUX
Prof. de Farmacología

SR. EDELMIRO CALVO
Prof. de Quím. orgánica Farmacéut.

ING. ALEJANDRO BOTTO
Prof. de Quím. anal. cual. general

DR. ALEJANDRO OYUELA
Prof. de Terapéutica

DR. CARLOS E. HEREDIA
Prof. de Medicamentos sintéticos

DR. JUAN C. DELFINO
Profesor de Higiene

Dr. GUILLERMO F. SCHAEFER
Prof. de Quím. analítica especial

DR. PEDRO T. VIGNAU
Prof. de Análisis mineral

DR. ALEJANDRO COGLIATI
Prof. de Farmacia práctica

DR. P. ABEL SANCHEZ DIAZ
Prof. de Quím. Tecnológica

DR. ATILIO A. BADO
Prof. de Química especial

SR. JUAN E. MACHADO
Prof. auxiliar de F. Práctica

DR. SEGUNDO J. TIEGHI
Prof. suplente de Quím. orgánica

DR. M. LEGUIZAMON PONDAL
Prof. sup. de Complem. de Química

DR. MANUEL CARBONELL
Prof. suplente de Higiene

DR. ENRIQUE J. POUSSART
Prof. de Química General

ESCUELA ANEXA DE DIBUJO

SR. E. COUTARET
Prof. de Dibujo Geom. y de persp.

SR. A. BOUCHONVILLE
Prof. de Dibujo cartog. y de relieve

SR. JOSE FONROUGE (h.)
Prof. de Dibujo natural

SR. ANTONIO ALICE
Prof. de Dibujo de arte y pintura

SR. R. BERGHMANS
Profesor de Caligrafía

Dr. ROBERTO LEHMANN-NITSCHKE
Prof. de Anatomía artística

SR. JUAN E. JORGENSEN
Prof. aux. de acuarela y modelado

SR. JOSE M. REY
Prof. aux. de Cartografía

DR. CARLOS BRUCH
Prof. aux. de Fotografía

SR. ANTONIO PAGNEUX
Prof. de Dibujo de arte y pintura

✓

✓

MUSEO Y FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

MATERIAS DE CORRELACION

DR. RICARDO GANS
Prof. de Físico-Química y Física

ING. TEOBALDO RICARDONI
Prof. de Complementos de Física

ING. VIRGILIO RAFFINETTI
Prof. Complementos de Matemáticas

DR. FEDERICO SIVORI
Prof. de Microbiología

DR. JUAN C. DELFINO
Prof. de Hig. y Quím. Biológica

ING. FELIX AGUILAR
Prof. de Análisis matemático

DR. HUGO BROGGI
Prof. de Análisis Matemático

PADRINO DE TESIS

DR. ENRIQUE HERRERO DUCLOUX

A LA MEMORIA DE MI PADRE

A LOS MIOS

•



Señores Académicos:

Señores Profesores:

Cábeme el alto honor de presentar a vuestra elevada consideración el trabajo realizado para dar término a los estudios universitarios, en los cuales con tanto empeño y sabiduría me habéis dirigido.

Espero con serenidad vuestro fallo justiciero, pues conozco la ecuanimidad de vuestros procedimientos y he tenido ocasión de valorar en los años que he estado bajo vuestra observación directa y permanente que la equidad, dentro de su concepto más inflexible, es la característica inalterable de vuestras sanciones.

Debo anhelar sin embargo que la obra presentada, modesta por las cualidades de su autor pero representativa de un esfuerzo sinceramente aplicado, pueda llevar a vuestra convicción el grado de aprovechamiento y de asimilación emanados de la cátedra y del laboratorio, en los cuales tantas enseñanzas se adquieren y donde tantos espíritus amantes del saber educan y moldean sus incipientes y congénitas aptitudes.

El trabajo exterioriza las provechosas lecciones recibidas y enaltece vuestra obra educativa.

Su valor material e intrínseco estará sujeto sin duda a criterios comparativos más o menos estrictos y contrapuestos; pero su esencia moral, que lo constituyen el conjunto de vuestra empeñosa enseñanza y eficaces consejos no puede en ningún modo dejar de traducir en sus finalidades el altruísmo con que educáis a vuestros alumnos y les señaláis el derrotero único para que la ciencia y la patria alcancen sus felices destinos.

Séame permitido dejar particularmente expresados en esta hora solemne los sentimientos de mi intensa gratitud hacia mi ilustrado Profesor Doctor Enrique Herrero Ducloux, a cuyas sabias lecciones e inolvidables y sanos consejos queda ligado el altísimo honor con que me distingue al acompañarme en este acto.

Muy expresivos deseo dejar aquí sellados los testimonios de reconocimiento hacia los dignos y eminentes Profesores Señores Augusto C. Scala, Doctor Guillermo F. Schaefer y Doctor Felipe A. Justo, por las atenciones recibidas.

Y en esta circunstancia, en que todos los recuerdos se suceden y reviven en la mente surgen espontáneos los sentimientos de la mayor gratitud hacia los doctores Pedro N. Arata, José S. Arata y Pablo C. Arata, por la protección y consideración distinguida que invariablemente me dispensaron en mi vida de estudiante y de profesional.

INTRODUCCION

Es materia de nuestro programa de trabajo la contribución al estudio de dos especies del género *Villaresia* de la familia de las Icacináceas, plantas originarias del Brasil y señaladas como los principales adulterantes de la Yerba mate: *Ilex Paraguariensis* Saint Hilaire.

Si bien existen dentro de la misma familia otras especies de *Villaresia*, las que serán descritas en el capítulo correspondiente, la importancia que indudablemente tienen la *Villaresia Megaphylla* o Yerba de Anta, y la *Villaresia Congonha* o Congonha, deriva de la propiedad que le es peculiar de presentar apreciables condiciones de similitud para ser adicionadas al producto noble sin que se aminoren sus especiales caracteres organolépticos.

Sería inoficioso que tratásemos de explicar las razones que motivan la imposibilidad de desligar nuestras investigaciones de las efectuadas en época reciente en nuestro país, en la que este asunto alcanzó pública notoriedad y menos

aún de aquellas efectuadas sobre la yerba mate por numerosos analistas, por cuanto este producto tan ampliamente estudiado no lo ha sido en forma de dejarlo resuelto definitivamente, aún del punto de vista químico.

La publicación de una contribución valiosa por su esencia y por sus proyecciones relativa al estudio de la yerba mate y sus falsificaciones [1] tuvo la virtud de provocar un inusitado interés en nuestros centros intelectuales, interés desde luego explicable por la importancia del tema tratado y que alcanzó hasta ser motivo de comentarios generales en los órganos de la prensa, cuyas columnas tradujeron las más animadas controversias y en las que tuvieron también su buena parte algunos industriales establecidos en la Capital Federal.

Indudablemente la yerba mate por la extensión de su uso entre los habitantes del país representa una industria importante, no siendo ajena a ella la cuestión primordial de que tratándose de un producto existente en determinadas zonas del mismo y que es motivo de comercio considerable, existen intereses y situaciones creadas a su favor a las cuales no pueden serle indiferentes modificaciones substanciales en su forma de evolución ni en sus bases fundamentales de existencia.

La yerba mate se recoje y elabora actualmente en cantidades elevadas en los territorios próximos a nuestras fronteras con el Brasil y Para-

Nota.—Las cifras indicadas entre corchetes corresponden a las obras consultadas y cuyo detalle figura en el capítulo Bibliografía.

guay, hallándose estimulada su producción por una parte por la facilidad de encontrar en el mismo país su mercado de consumo y por otra tratando de desalojar al producto similar de las Repúblicas vecinas, imponiéndose por su calidad y menor cotización de venta.

Pero si este programa de acción es proseguido con laudables propósitos por los industriales interesados en la marcha progresiva de sus establecimientos y en la independencia económica de la Nación, existen factores de acción abiertamente contraria que no van precisamente en busca de análogas finalidades, sino que al procurar obtener el mayor rendimiento a los capitales empleados desnaturalizan y menoscaban a la sana industria, introduciendo elementos perturbadores con el fin de establecer y sostener una fácil competencia y buscando acaparar el consumo mediante el expendio de productos inferiores o adulterados.

Ello explica el desconcierto y clamor de los industriales deshonestos cuando aparece la Ley que ha de condenar sus procedimientos o cuando el paciente investigador de laboratorio proporciona el elemento de prueba para descubrir al falsificador oculto.

Es notorio que el producto de que se trata es objeto de frecuentes falsificaciones, bastarían para probarlo las inculpaciones recíprocas de los industriales y lo confirman innegablemente la desproporción entre los precios corrientes en el co-

mercio de las diferentes marcas de mayor demanda y circulación.

Evidentemente a ello contribuyen la falta de procedimientos analíticos adecuados, derivados por el desconocimiento de los vegetales inculpados y cuya ocultación preocupa a los interesados y también por las dificultades que se presentan para obtenerlos al estado de pureza.

En las sesiones celebradas por el Congreso Farmacéutico Argentino [2], este hecho fué claramente expuesto y dió motivo para la sanción de un voto unánime, recomendando el estudio sistemático tanto del punto de vista histológico como del punto de vista químico de todas las especies sindicadas como adulterantes, reconocida la imposibilidad de descubrir falsificaciones si se ignoran los caracteres especiales de cada uno de los vegetales mencionados.

Iniciamos pues con nuestra contribución el cumplimiento de sanción tan oportuna, la que completada con el estudio de las demás especies puede suministrar las características indispensables para resolver este problema arduo y difícil, cuya solución indudablemente depende de la magnitud de los esfuerzos que se dispongan para alcanzarla.

CONSIDERACIONES GENERALES

Dejando expresada en su parte fundamental la labor que nos hemos propuesto, réstanos exponer las consecuencias prácticas a las cuales nos han de conducir las investigaciones a efectuar. Como lo manifestamos precedentemente, nuestro trabajo queda limitado a dos especies de adulterantes únicamente y solamente con el fin de establecer cierta correlación con el *Ilex Paraguariensis* hemos considerado conveniente ampliarlo en los puntos de mayor importancia sin abordar el estudio comparativo general, que es impostergable sin duda alguna.

Inspirados en el propósito de propender a la resolución de una cuestión tan ampliamente debatida, queda iniciada con esta contribución una labor parcial, la que nos proponemos continuar siguiendo el mismo criterio, por cuanto ella en nuestro juicio es la única vía que nos podrá conducir al conocimiento absoluto del asunto.

Simultáneamente y a pesar de que parezca superfluo conviene iniciar nuevamente el estudio sistemático completo de todas las especies de *Ilex*, tanto en sus caracteres histológicos como químicos,

por cuanto los trabajos realizados son incompletos y no han sido orientados en una ruta definida, motivando la publicación de datos que no responden a la realidad.

La afirmación por cuanto parezca injustificada, tiene sus fundamentos, y la transcripción de algunos análisis practicados por profesionales eminentes nos lleva al convencimiento de que el *Ilex paraguariensis* no es conocido en su composición química en forma completa como parece serlo.

El primer problema pues, sería el estudio del *Ilex paraguariensis* y de todas las variedades semejantes, para continuarlo luego con el de los adulterantes conocidos.

Armando Gautier [3], en una de sus obras, transcribe el siguiente análisis centesimal de la yerba mate, atribuyéndoselo a Peckolt:

Celulosa y humedad	90.84
Cafeína	0.55
Acido matetánico	1.68
» piromatetánico	0.15
Clorofila y resina	0.61
Materias extractivas y caramelo	1.79
Dextrina y sales	1.82
Resina ácida parduzca	2.55
Aceite volátil	rastros

La simple observación de las cifras dadas, demuestra que si en ellas no se han deslizado apreciables transposiciones tipográficas, o de cálculo, con toda certeza Peckolt incurrió en inverosímiles errores de procedimiento al considerar como celulosa y humedad el 90 por ciento de las hojas por él estudiadas.

La discusión promovida respecto de la yerba mate en el Congreso Internacional celebrado en Paris en el año 1909 [4], es otra prueba de lo que dejamos dicho.

Al ser propuesta la fijación de un límite mínimo de alcaloide en los productos comerciales, el Presidente de la Sesión M. Perrot, profesor de Materia médica en la Escuela Superior de Farmacia de Paris y hombre de ciencia de renombre indiscutido, sostuvo que la yerba mate argentina contiene hasta 3.50 por ciento de cafeína, por lo que no se oponía al establecimiento de la cifra mínima de 1.25 por ciento que fué adoptada.

Este hecho revela en su esencia el desconocimiento de la verdadera composición del *Ilex paraguariensis*, como también ocurrirá con la importancia excepcional que para nuestro país representa su industria, mirada la cuestión en su aspecto económico.

Kóenig [5], por su parte, establece cifras medias en las cuales la cafeína quedaría comprendida entre 0.30 y 1.85 %, el ácido tánico entre 4.10 y 9.59 %, el extracto acuoso entre 24.00 y 42.75 %, y las cenizas solubles en 4.39 %.

Guareschi [6], en su importante obra, anota ciertos datos que son realmente curiosos y confirman desde luego las afirmaciones formuladas.

Al efecto expresa que la cantidad de cafeína oscila entre 0.13 (Stablschmidt) y 1.85 % (Byasson) al mismo tiempo que transcribe resultados obtenidos por Charles (1893), quien establece cifras para la cafeína entre 0.20 y 1.05 por ciento,

en tanto que fija una cifra de 21.9 % para el tanino, resultado este último muy digno de llamar la atención.

Este dato, por otra parte, lo ratifica Strauch, quien fija una proporción de ácido tánico igual a 20.8 %.

Estudios realizados en el país sobre numerosas muestras de yerba mate (1), sostienen por otra parte que las cifras medias de 7.032 % de tanino dadas por algunos investigadores era exagerada, y al efecto, se han publicado datos obtenidos con el excelente método de Carpeni Sisley, que se alejan tanto de los suministrados por otros procedimientos hasta el punto de ser imposible su comparación y si a ellos nos atuviésemos, podríamos afirmar que la yerba mate no contiene sino *rastros de tanino*.

Análogas situaciones se producen con cualquiera de los otros elementos contenidos en el vegetal; por lo que el examen de las cifras dadas por diferentes autores no pueden servir como elementos de juicio para establecer conclusiones y sea indispensable iniciar el nuevo estudio que hemos propuesto al principio de nuestra exposición.

El análisis químico a realizar tanto del *Ilex paraguariensis* y sus variedades como de los adulterantes, debe ser precedido por la clasificación botánica y por el estudio micrográfico efectuado por los especialistas de la materia, para evitar que

(1) Anal. Soc. Quim. Arg. III. 418 y sig.

los resultados de los análisis puedan ser referidos a plantas que no corresponden.

Pretender identificar falsificaciones de productos de composición tan compleja como los vegetales, con conocimientos parciales de las distintas especies es tarea indudablemente insegura, y cuyos resultados si logran alcanzarse, exigirán mayor suma de esfuerzos que los que la resolución del asunto hubiera demandado.

Si bien a primera vista la cuestión relativa al estudio de la yerba mate y sus falsificaciones exige una contracción decidida por parte de los profesionales, porque se trata de la resolución de un problema técnico, el asunto adquiere excepcional importancia si al aspecto técnico del tema se le agregan los intereses económicos que le están vinculados.

Apartándonos por ahora de las propiedades que sobre el organismo pueda tener la yerba mate, la difusión de su uso en el país está representada por cifras que encierran una importancia mayor de la que generalmente se le asigna.

Datos oficiales publicados recientemente [7] indican que durante los nueve primeros meses del año 1917, la importación de yerba mate al país está representada en las siguientes cifras:

Yerba Brasileña	canchada	...	23.430.677	kilogramos	
»	»	elaborada	..	12.393.501	»
»	Paraguaya	canchada	..	2.700.176	»
»	»	elaborada	.	26.670	»

lo que forma un total de 38.551.024 kgs. para los nueve meses mencionados y equivalente a un promedio mensual de 4.283.447 kgs.

Dicho promedio mensual de producto importado de las Repúblicas vecinas, al que aún debe serle adicionado lo recogido en el país, expresa por sí solo por la magnitud de sus cifras, el valioso comercio de que es objeto y los intereses industriales que afecta, si se piensa que su precio de venta al detalle oscila entre \$ 0.60 y 1.20 moneda nacional el kilogramo.

Para hacer resaltar la importancia del consumo de yerba mate comparada con el de café y té en el mismo período, anotamos los datos respectivos tomados de la misma fuente oficial citada:

Café en grano	13.026.406	kilogramos
» molido	2.455	»
» de malta	100	»
<hr/>		
Importación total en 9 meses..	13.028.961	»
Promedio mensual	1.447.662	»
Té importado en nueve meses .	763.802	»
Promedio mensual	84.866	»

La elocuencia de las cifras señala los dos aspectos fundamentales de la cuestión:

1.º La necesidad imperiosa de efectuar los estudios indispensables para el debido contralor de un producto de gran consumo popular, adoptándose métodos de análisis oficiales y fijándose límites máximos y mínimos resultantes de estudios completos realizados sobre productos genuinos y adulterantes.

2.º La acción inmediata y decidida del Gobierno Nacional a quien incumbe la explotación racional de las riquezas del país, estimulando la producción y dictando las leyes protectoras requeridas para que las necesidades del consumo puedan ser satisfechas sin estar subordinadas a la influencia de países extranjeros.

Al cumplimiento de este propósito podrán concurrir con grandes beneficios los Institutos Oficiales haciéndose ensayos de cultivos de *Ilex paraguariensis* en diversas zonas del país y proporcionando informes sobre las mejores condiciones en que pueda emprenderse la explotación en gran escala y las ventajas que en la práctica traduciría su implantación definitiva.

ESTUDIO QUIMICO E HISTOLOGICO

DE LA

Villaresia Megaphylla y Villaresia Congonha

Las especies por nosotros estudiadas, que como hemos dicho son originarias del Brasil, han sido aclimatadas en el país, existiendo ejemplares de ellas en la ciudad de La Plata.

Las hojas que nos han servido para nuestro trabajo fueron recojidas de una planta existente en el bosque de La Plata y de otra cultivada en los viveros de la Facultad de Agronomía y Veterinaria.

Las dos especies se desarrollan normalmente, sin que las diferencias del clima con el país de origen denote en ellas influencia alguna en su evolución.

Iniciaremos nuestra exposición con los caracteres botánicos de las especies nombradas, prosiguiendo con la descripción histológica de las mismas y con la clave diferencial que resume las características específicas de cada una de ellas.

CARACTERES BOTANICOS

Bentham y Hooker [8] dan los siguientes caracteres botánicos del género *Villaresia*, familia de las Icacináceas.

VILLARESIA. — Ruiz et Pav.—*Fl. Per.* iii 9 t. 231 (*Citronella*, Don, in *Edimb. New. Phil. Journ.* xiii 243).

Flores hermaphroditi v. polygami. — *Calyx* 5. *partitus, segmentis late imbricatis.*—*Petala* 5, *intus costata, imbricata v. apice inflexo valvata.* — *Stamina* 5, *petalis alterna et iis basi cohaerentia, filamentis complanato-subulatis; antherae cordato reniformes. Discus inconspicuus. Ovarium* I—*loculare, loculo intus costa elevata percurso; stylus brevis crassus, stigmatе oblique recurvo fimbriato; ovula* 2, *ab apice costae interioris ovarii pendula (v. rarius ex Miersio ovarium 2-loculare, loculis 2-cvulatis)* *Drupa elipsoidea, putamine intus semisepto longitudinali imperfecte diviso.* — *Semen pendulum, semiseptum intra sulcum ventralem recipiens, testa membranacea, albumine carnosocorrugato, embryo intra apicem albuminus minimus. Arbores procerae v. frutices alte scadentes, sempervirentes.*—*Folia alterna, oblonga, integerrima v. spinuloso-dentata, crasse coriácea, lucida.* — *Cymae parvae, capituliformes, in paniculos racemiformes v. ramosas axilares v. terminales dispositae.* — *Flores albi.*

Species 8-10, I in Insulis Pacificis, I in Australia tropica, I in Archipelago Indico, ceterae in Brasilia v. Chili crescentes. Walp. Rp. i 541 Anniv 431. Reissek, in Mart Fl. Bras. Celastr, etc. 75 t. 22.— Miers in Ann Nat. Hist. ser 3 ix 110.

Flores hermafroditas o polígamas, cáliz pentapartido, de segmentos anchos e imbricados.—Pétalos 5, en la parte interna imbricados o valvados e inflexos en el ápice.—Estambres 5, alternipétalos y coherentes en su base, filamentos aplanados aplanados, anteras cordato reniformes, disco poco visible.—Ovario unilocular, el lóculo en su región interna está recorrido por una costilla levantada; estilo breve carnoso con estigma encorvado oblicuamente y fimbriado; dos óvulos péndulos en el ápice de las costillas internas del ovario (o rara vez según Miers ovario bilocular con lóculos biovulados).—Drupa elipsóidea, semiseptada a lo largo e imperfectamente dividida.—Semilla péndula alojada en un surco ventral dentro del semisepto.—Testa membranosa, albúmen carnoso, embrión pequeño alojado entre el ápice del albúmen.

Arboles o frutices erguidos, siempre verdes.—Hojas alternas, oblongas, íntegras o dentado espinulosas, muy coriáceas, lustrosas.

Inflorescencia en cimas pequeñas capituliformes, en panículos racemiformes o ramosos, axilares o terminales.

Flores blancas. — Especies 8 a 10; I en las

islas del Pacífico, I en Australia Tropical, I en el Archipiélago Indico y las restantes en el Brasil y Chile.

Los caracteres de las diferentes especies de *Villaresia* dados por A. Engler [9] son los siguientes:

DISPOSITIO SPECIERUM:

- A—*Flores in apice ramulorum sessiles, ramuli paniculas vel racemos spurios terminales aut axillares componentes.*
a) *Ovarium plus minusve pilosum.*
Folia membranacea, margine integra.
α *Ovarium dense pilosum.*
I) — *Petala glabra triplum sepalorum aequantia.*
Folia longius petiolata.

I. V. Megaphylla. Miers

- 2) *Petala extus sparse atque minutissime pilosa, duplum sepalorum aequantia.*

2. V. Paniculata. (Mart) Miers

β *Ovarium parce pilosum.*

- I) *Petala sepalis triplo longiora. Sepala breviter pubescentia.*

3. V. Virescens.—Miers

- 2) *Petala sepalis duplo longiora. Sepala villosa.*

4. V. Ramiflora.—Miers

- b) *Ovarium omnino glabrum.—Folia coriaceas integra aut sinuato-dentada atque spinosa.*

a Folia integra.

5. *V. Cuspidata.*—Miers

β Folia sinuato-dentata. — Inflorescentiae axillares et terminales.

6. *V. Congonha.*—Miers

γ Petala ovato-lanceolata. — Inflorescentiae terminales.

7. *V. Mucronata.* —Ruiz et Pav.

B. Flores in paniculas laxas dichotomas digesti.

8. *V. Dichotoma.*—Miers

VILLARESIA MEGAPHYLLA.—Miers

Ramulis teretibus, vix angulatis, opacis, rimosis; foliis majusculis, membranaceis, supra opacis, utrinque pallide viridibus, supra loco nervi medii subtus prominentis profunde sulcatis, nervis lateralibus atque venis subtus distincte prominentibus, margine reflexo undulatis, oblongis apice breviter attenuatis et acutis, basi acutis, petiolo longiusculo semitereti canaliculato suffultis; floribus 3-5 in apice ramulorum sessilibus, ramulis brevibus patentibus basi bracteatis, in paniculas axillares et terminales divaricatas folio dimidio vel triente breviores puberulas dispositis; alabastris urceolatis; sepalis parvis ovatis puberulis; petalis triplum sepalorum aequantibus, glabris oblongo-lanceolatis, medio lamina longitudinalis, latiuscula promi-

nente instructis; staminibus petalis subaequilongis, basi dilatati; ovario dense albido pilosa, stylo breviusculo glabro.

VILLARESIA MEGAPHYLLA. Miers. Contrib. II - 119, t. 71.

α Grandifolia—Fisch et Meyer. Feste Reissek in sched.

Arbor.—*Ramuli pallide virides, remote foliosi, internodiis 4-5 cm. longis. Folia pallide viridia, membranacea nec coriacea, maxima, lamina I 1½-2 dm. longa atq 7-9 cm. lata, utriusque subaequaliter attenuata, petiolo 1-1½ cm. longo instructa.*—*Paniculae rami secundarii inferiores primario subaequilongi, 6-8 cm., superioris 2½ cm. longi.*—*Bractee atque bracteolae ovato-lanceolatae, concavae densissimae pilosae.* — *Alabastra primum globosa, serius urceolata, apice latiosa. Sepala 1-½ mm. longa minus lata. Petala 3 mm. longe vel etiam paullo longiora, 1 mm. lata albida, lamina longitudinali brunnea.* — *Staminum filamenta petalis aequilonga, e medio basim versus dilatata albida.* — *Anterae flavae.*

VAR. β *OBTUSIFOLIA.* — Engl. — *Foliis apice obtusis. Habitat in prov. R. Janeiro ad pedem montium Organensium: Miers; locis haud notatis Luschnath ¡Schott! var. β ad Lagoa Santa prov. Minas Geraes: Engler in herb Warmingt-Dryas. Hamadryas.*

Adnot I. — *Quanovis in speciminibus a cl. Luschnath collectis a me visis ramuli non angulati atque foliorum nervi satis distincti exstant, in speciminibus autem a cl. Miers descripti ramuli angulati atque foliorum nervi indistincti praedicantur, tamen ob reliquarum partium aequam indolem non dubito, plantam Luschnatii huc pertinere, eo minus, quem cum icone a cl. Miers data supra citata satis congruat.*

VILLARESIA CONGONHA. — *Miers: — Ramulis flavidis rimosis; foliis coriaceis, supra nitidis lacti viridibus, subtus pallidioribus opacis, nervis medio lateralibusque atque venis reticulatis subtus paullum prominentibus, subtus glandulis cavis in axillis nervorum immersis instructis, margine cartilagineo reflexo rarius integris saepius breviter et remote sinuato-dentatis atque spinosis oblongo ovatis, apice fere obtuso longius mucronatis, basi cuneatim attenuatis, petiolo brevi crasso canaliculato suffultis; floribus 3-6 in apice ramulorum sessilibus, ramulis brevissimis in racemos spurios axillares et terminales flavido-pilosos, tertiam partem folii vix aequantes digestis; sepalis parvis rotundatis acutis, extus pilosis; petalis oblongo-linearibus subspathulatis, quam sepala triplo longioribus, suberectis, cucullatis; staminibus brevissimis quam sepala vix longioribus; ovario glabro, ventre 2- sulcato.*

Gongonha v. Congonha Brasil in prov. S. Paulo et Minas Geraes; Yapon, Maté, Yerva de palos ad Flumen Paraguay.

Arbor. — *Ramuli pallide ferruginei, crassiusculi, diam. 4-5 mm. densius foliosi, internodiis 2-2 ½ cm. Folia plerumque 8-10 cm. longa atque 4-5 cm. lata vel etiam majora, apice mucrone fere 2 mm., longo instructa, petiolo 8 mm. longo valde incrassato atque profunde canaliculato suffulta. — Racemi spurii 2-3 cm. longi, ramulis 2-3 mm. longis. — Petala 1 ¼-1 ½ mm. longa, ½ mm. lata, erecta, apicibus aestivatione inflexis.*

VAR. β PUNGENS. — Miers. — (subtitulo speciei), foliis margine cartilagineo undulato-crispatis atque spinosis, ovatis, apice acutis at mucronatis vel obtusis, basi obtusis atque brevissime petiolatis, nervis medio lateralibusque subtus, venis reticulatis supra prominentibus.

Villaresia pungens Miers in Contrib. II 117 t. 68!

Adnot. — *Cum cl. Miers. Flores non observaverit foliorumque forma formis intermediis cum illa plantae normalis conjungatur, non habeo quod Miersii opinionem comprobarem.*

Habitat pr. Corallinho pr. Minas Geraes: Pohl; pr. Concepción Paraguariae: Cuming-Oreas.

VILLARESIA - RUIZ Y PAVON

Disposición de las especies

A.—Flores sésiles en el ápice de las ramas, ramas formando panículas o falsos racimos axilares o terminales.

a. Ovario más o menos piloso. Hojas membranosas de borde íntegro.

α Ovario densamente piloso.

1.—Pétalos glabros, de largo triple al de los sépalos. Hojas con largo peciolo.

I.—*V. Megaphylla*.—*Miers*

2.—Pétalos exteriormente pilosos, pelos escasos y diminutos; de largo igual al doble de los sépalos.

2.—*V. Panículata*.—(*Mart*).—*Miers*

β Ovario escasamente piloso.

1.—Pétalos de triple largo al de los sépalos.—
Sépalos brevemente pubescentes.

3.—*V. Virescens*.—*Miers*

2.—Pétalos de doble largo al de los sépalos. —
Sépalos vellosos.

4.—*V. Ramiflora*.—*Miers*

b. Ovario completamente glabro.— Hojas coriáceas, íntegras o sinuoso-dentadas y espinosas.

α Hojas íntegras.

5.—*V. Cuspidata*.—*Miers*

β Hojas sinuosas dentadas. Inflorescencias axilares y terminales.

6.—*V. Congonha.*—*Miers*

γ Pétalos oval. lanceolados. Inflorescencias terminales.

7.—*V. Mucronata.* *R. et P.*

B.—Flores agrupadas en panículas laxas dicótomas.

8.—*V. Dichotoma.*—*Miers*

VILLARESIA MEGAPHYLLA.—*Miers*

Ramillas cilíndricas, apenas angulosas, opacas, hendidas, hojas muy grandes, membranosas, superiormente opacas, de ambos lados pálido verde; profundamente surcadas por las nervaduras medias, las nervaduras laterales y venas por debajo distintamente prominentes, borde reflexo, onduladas, oblongas, brevemente atenuadas y agudas en el ápice, base aguda, peciolo de largo mediano semicilíndrico escavado canaliculado; flores de 3-5 sésiles en el extremo de las ramillas, ramillas brevemente patentes de base bracteada y dispuestas en panículas axilares y terminales divaricadas, más breves que la mitad o tercio de la hoja, pubescente; yemas florales urceoladas; sépalos pequeños, ovales y pubescentes; pétalos de largo triple al de los sépalos, glabros, oblongo lanceolados, estambres de largo casi igual al de los pétalos, de base dilatada, ovario con pilosidad blanquecino. Estilo breve y glabro.

V. — *Megaphylla*. — Miers. — *Contrib. II* 119.
t. 71.

α *grandifolia* Fisch et Meyer. *Feste Reissek in sched.*

Arbol. — Ramillas verde pálidas, con hojas ralas, internodios de 4-5 cm. de largo. — *Hojas* verde pálido, membranosas, no coriáceas, grandes, lámina de 1 ½ a 2 dm. de largo y 7-9 cm. de ancho, en ambos extremos casi igualmente atenuadas, peciolo 1-1 ½ cm. largo. Panículas de las ramillas inferiores casi de igual largo a las primarias, 6-8 cm. superiores 2 ½ cm. de largo. Bracteos y bracteolas oval lanceoladas, cóncavas, densamente pilosas. Yemas florales al principio globosas, luego urceoladas, ápice ancho.

Sépalos 1 ½ mm. largo, menos anchos. Pétalos 3 mm. largo y aún algo más largos, 1 mm. de ancho, lámina longitudinal parduzca. Filamentos estaminales de igual largo al de los pétalos, hacia el medio de la base dilatados, blancos. Anteras amarillas.

VAR. — β *OBTUSIFOLIA*. — Engl — Hojas de ápice obtuso. Habita en la provincia de Río de Janeiro al pié de los montes Organenses: Miers, lugar no anotado por Luschsnath! Schott!

VAR. β EN LAGOA SANTA, provincia Minas Geraes: Engler in herb. Warmingt. Dryas. Hamadryas.

Nota I. — Aunque en las especies coleccionadas por Luschnath y que yo he visto, se presentan las ramas no angulosas y las nervaduras de las hojas bastante distintas, y en las descritas por Miers las ramas son angulosas y las nervaduras de las hojas no aparentes, las restantes partes son de la misma índole, la planta de Luschnath corresponde con el dibujo de Miers.

VILLARESIA CONGONHA. — Miers. — Ramillas amarillentas, opacas, hendidas; hojas verdes claro por arriba, por debajo pálidas y opacas, coriáceas, nervaduras medias y laterales así como el retículo de nervios poco prominentes en la cara inferior y provistas de glándulas excavadas en las axilas de las nervaduras. Borde cartilaginoso, reflejado, rara vez entero, por lo común breve y laxamente sinuoso dentado y espinoso, oblongo-ovales, ápice casi obtuso largamente mucronado, base cuneada atenuada, peciolo breve, craso y canaliculado; flores 3-6 sésiles en el ápice de las râmulas, râmulas breves reunidas en racimos espurios y axilares y terminales amarillos pilosos, e igualando apenas la tercera parte del largo de la hoja. Sépalos pequeños redondeados agudos, exteriormente pilosos, pétalos oblongo lineares subespatulados, tres veces más largos que los sépalos, suberectos, de forma de capuchón, estambres muy cortos apenas tan largos como los sépalos; ovario glabro, bisulcado.

n. v. GONGONHA v. CONGONHA. — Brasil in
pro. San Paulo et Minas Geraes; YAPON, MATE,
YERBA DE PALOS ad flumen Paraguay.

Arbol. — Ramas pálido ferrugineas, bastante gruesas (crasas) de 4-5 mm., densamente foliosas, entrenudos de 2 a 2 ½ cm. *Hojas* por lo común de 8 a 10 cm. largo y 4-5 cm. de ancho y aún más grandes, ápice con mucron de casi 2 mm. de largo, peciolo de 8 mm. de largo muy grueso y profundamente canaliculado. *Racimos* espurios 2-3 cm. largo, ramillas 2-3 mm. largo.—*Pétalos* 1 ¼-1 ½ mm. largo ½ mm. de ancho, erguidos y doblados hacia adentro en la prefloración.

VAR. — β PUNGENS. — Miers. — Hojas con borde cartilaginoso, ondulado escrespado y espinoso, ovales, ápice agudo y mucronado u obtuso, base obtusa y brevemente pecioladas, nervadura central y laterales con venas reticuladas por debajo, por arriba prominentes. — (*Villaresia pungens* Miers in Contrib. II 117 t. 68).

Habita prov. Corallinho prov. Minas Geraes: Pohl; pr. Concepción Paraguariae: Cuming Oreas.

ESTRUCTURA HISTOLOGICA

DE LAS HOJAS DE

Villaresia Megaphylla, Villaresia Congonha MIERS

Y

Villaresia Mucronata - R. Y P.

Aprovechando la buena oportunidad de que el Señor Profesor D. Augusto C. Scala ha dado a la publicidad una interesante contribución al estudio histológico de las hojas de *Villaresia Mucronata*, Ruiz y Pavón, especie originaria de Chile y conocida con los nombres populares de *Guilli patagua* y *Naranjillo*, y habiéndosele señalado por algunos autores como uno de los numerosos adulterantes de la yerba mate, hemos creído conveniente incluir en nuestro estudio las características de este vegetal, para que colocado frente a las dos especies por nosotros estudiadas pudieran establecerse las diferencias específicas que entre ellas pudieran existir.

Serán materia de nuestra exposición los datos referentes a la *Villaresia Megaphylla* y *Villaresia Congonha*, plantas estudiadas con toda detención desde el punto de vista histológico con la

eficaz y permanente dirección de nuestro profesor de Botánica, Señor Scala, transcribiéndose, luego los relativos a la *Villaresia Mucronata* publicados en la Revista Chilena de Historia Natural [10].

Precediendo a ambos estudios y con el propósito de acumular el material indispensable para hacer derivar de él las conclusiones que pudieran surgir, se han tomado de la obra de Villiers, Collin y Fayolle [11] las características de la yerba mate conjuntamente con las notas gráficas que le acompañan.

Estructura histológica de las hojas de ILEX
PARAGUARIENSIS, ST. HIL.

Examinada al microscopio esta hoja presenta los caracteres siguientes:

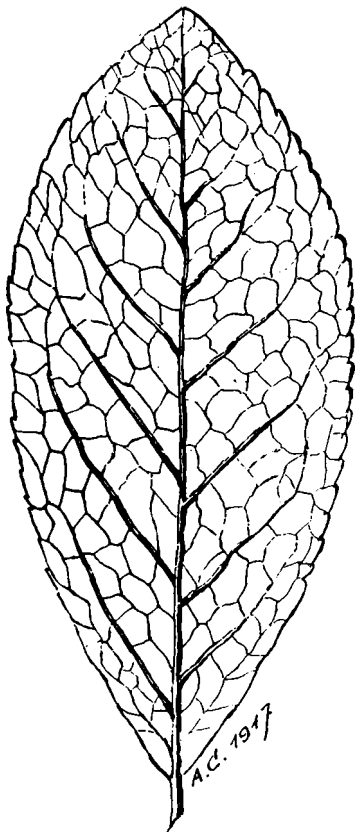
La epidermis es glabra, compuesta por células poligonales, irregulares, cuyas paredes son derechas; está recubierta por una cutícula muy espesa, provista de crestas que dan a las células de la epidermis vista de frente un aspecto estriado.

Esta epidermis glabra está provista en la cara inferior de estomas que están rodeados y parcialmente recubiertos por tres o cuatro células irregulares de forma y de dirección.

En diferentes lugares se observan sobre la epidermis inferior estomas acuáticos, más anchos que los estomas ordinarios; las estrias que surcan irregularmente las dos epidermis afectan una di-

rección radial muy regular en las proximidades de estos estomas acuáticos.

El mesófilo es heterogéneo, asimétrico; está formado en su parte superior por células dispues-



Hoja de Yerba Mate *ILEX PARAGUARENSIS*. St. Hil.

Tamaño natural

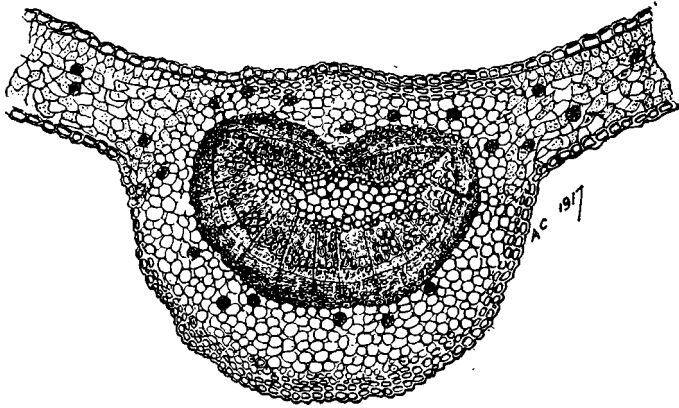
tas en empalizada en dos hileras, y en su parte inferior por células lagunosas irregulares que dejan entre ellas meatos muy anchos.

Varias de estas células contienen cristales

estrellados de oxalato cálcico: *drusas extrapalídicas*.

La nervadura mediana es plano convexa.

La epidermis que recubre esta nervadura está compuesta por células muy regulares, más pequeñas que aquellas que recubren al limbo.



Corte transversal de la hoja de Yerba Mate para estudiar la nervadura central (120 D.)

Vistas de frente son poligonales un poco más largas que anchas y dispuestas en largas filas superpuestas y paralelas.

Debajo de esta epidermis se encuentra un colénquima formado por tres a cuatro hileras de células con paredes espesas que recubre al tejido fundamental compuesto por un parénquima lagunoso de células redondeadas; en el espesor de este tejido se observan numerosos cristales estrellados de oxalato de calcio.

El sistema libero-leñoso comprende: un cordón leñoso inferior fuertemente arqueado y dos

cordones superiores, opuestos, ligeramente doblados cuyas extremidades están generalmente muy próximas.

En varias hojas de mate del comercio estos dos cordones superiores se confunden en un cordón único que presenta en su parte media una depresión bien aparente.

Cada uno de ellos está formado por tráqueas, vasos y fibras, dispuestas en filas radiales y recubiertos por un liber blando, acristalígeno, así como por un periciclo fibroso, continuo, más o menos ancho.

El espacio comprendido entre los cordones superiores y el cordón inferior está ocupado por una médula poco desarrollada, en la cual las células tienen sus paredes notablemente espesadas.

Estructura histológica de las hojas de VILLARESIA
MEGAPHYLLA. MIERS.

Examinados los cortes transversales de la hoja de *Villaresia Megaphylla* o Yerba de Anta presentan los siguientes caracteres:

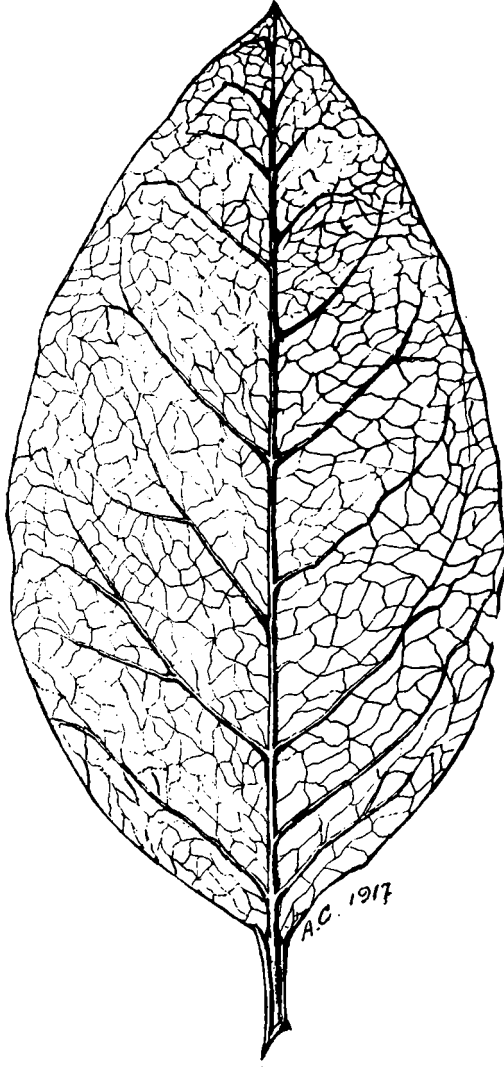
1.° Corte transversal esquemático pasando por la nervadura central (120 D).

Comprende las siguientes partes:

E—Epidermis superior simple, de cutícula espesa y estriada.

Cl—Parénquima clorofílico de empalizada, con grandes drusas de oxalato de calcio (Dr), alojadas en la masa misma del tejido y en con-

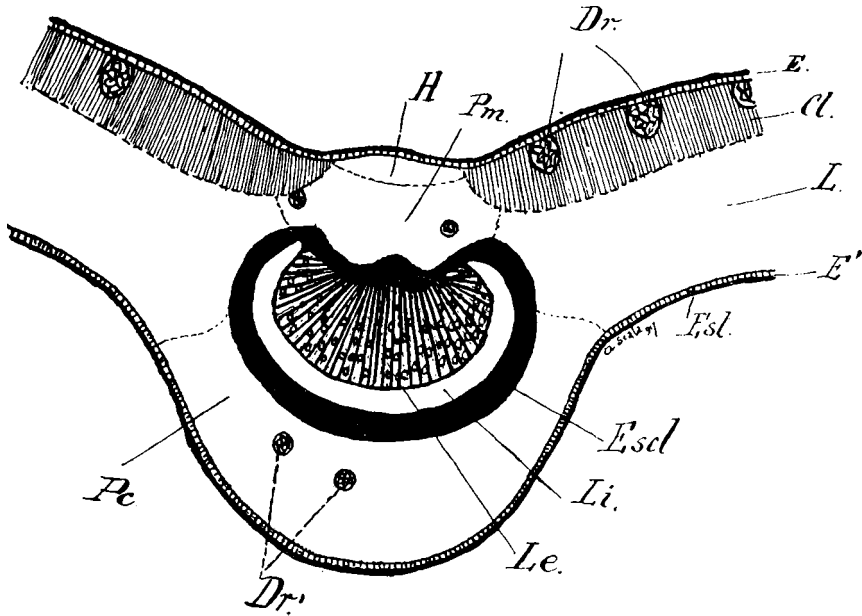
tacto inmediato con las células epidérmicas E.
H—Epidermis de células espesadas (colenquimática).



Hoja de Yerba de Anta *VILLARESIA MEGAPHYLLA* - Miers

Tamaño natural

Pm.—Parénquima medular de la nervadura central; provisto también de drusas esféricas de oxalato de calcio, de tamaño menor que las del limbo (Dr).



Corte de la misma hoja para estudiar la nervadura central

L.—Tejido lagunoso clorofílico.

E'—Epidermis inferior con estomas.

Est.—Estomas.

Pc.—Parénquima cortical de la nervadura central con drusas de oxalato de calcio (Dr.).

Escl.—Vaina esclerosa continua de la nervadura central.

Li.—Haz liberiano, semilunar del haz libero leñoso central.

do por tres capas de células alargadas, cilíndricas, en algunas de las cuales se alojan cristales romboédricos (Cr) de oxalato cálcico.

L.—Parénquima clorofílico lagunoso en el cual se nota un haz terciario (Hl) muy reducido. Es un tejido laxo y con grandes lagunas y meatos entre sus elementos.

E'—Epidermis inferior con cutícula espesa, y provista de pelos unicelulares (P) de forma ovóidea o esférica.

Dr'—Drusa esférica de oxalato cálcico.

Est.—Estoma. Células estomáticas características por su extremo en garfio.

Estructura histológica de la hoja de VILLARESIA

CONGONHA. MIERS.

Los cortes transversales de la hoja de Villaresia Congonha o Congonilla, vistos al microscopio presentan los siguientes caracteres:

1.º Corte transversal esquemático pasando por la nervadura central (120 D).

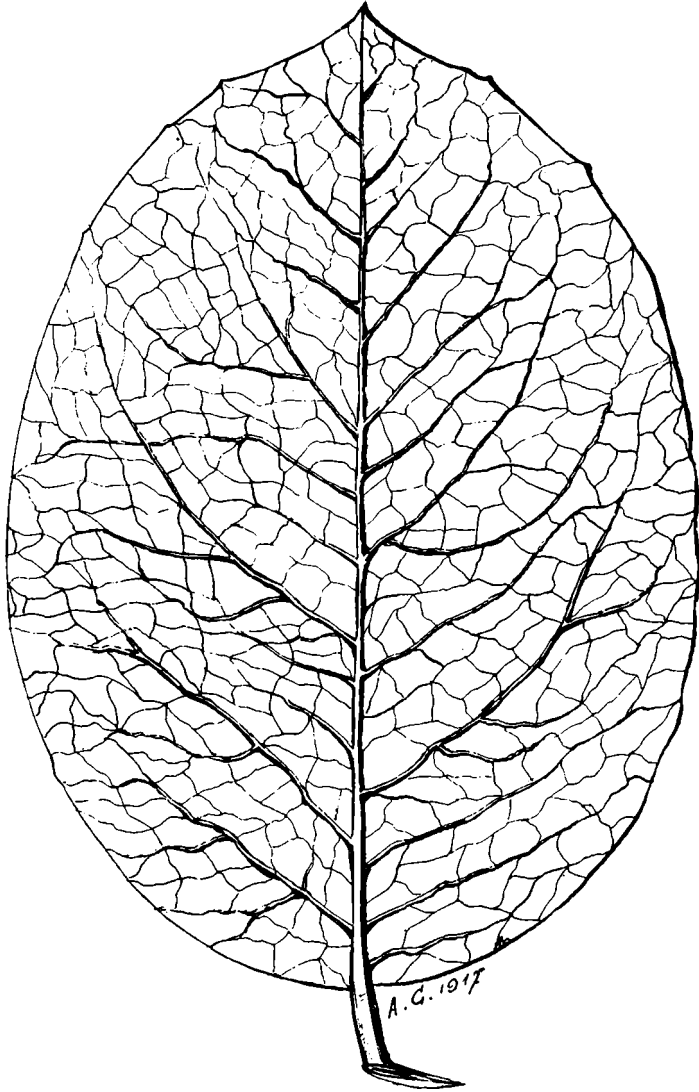
Comprende las siguientes partes:

E.—Epidermis superior.

Cl.—Parénquima clorofílico de empalizada.

Pm.—Parénquima medular del haz libero leñoso central.

L.—Tejido lagunoso clorofílico.



Hoja de Congonilla VILLARESIA CONGONIA - Miers

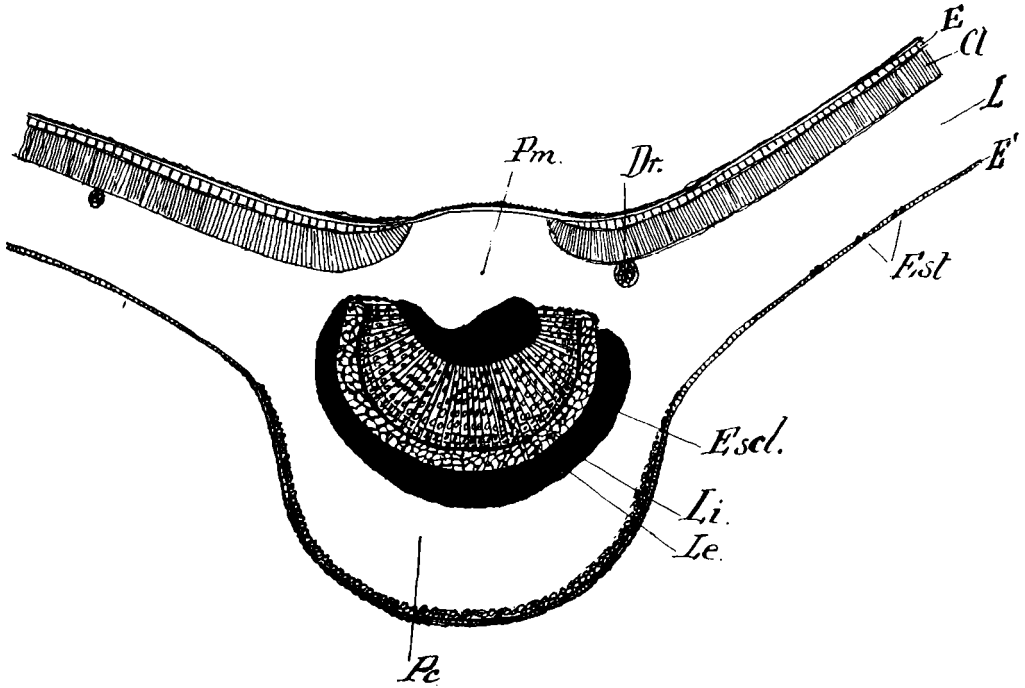
Tamaño natural

E'—Epidermis inferior con estomas.

Est.—Estomas.

Pc.—Parénquima cortical del haz libero leñoso central.

Escl.—Vaina esclerosa semilunar interrumpida en sus extremos y continuándose con un haz escleroso que corona el haz leñoso (Le).



Corte de la misma hoja para estudiar la nervadura central

Dr.—Drusa de oxalato cálcico situada inmediatamente por debajo del tejido clorofílico de empalizada (*drusas extrapalizádicas*) por oposición a las de *Villaresia Megaphylla* que son *intrapalizádicas*.

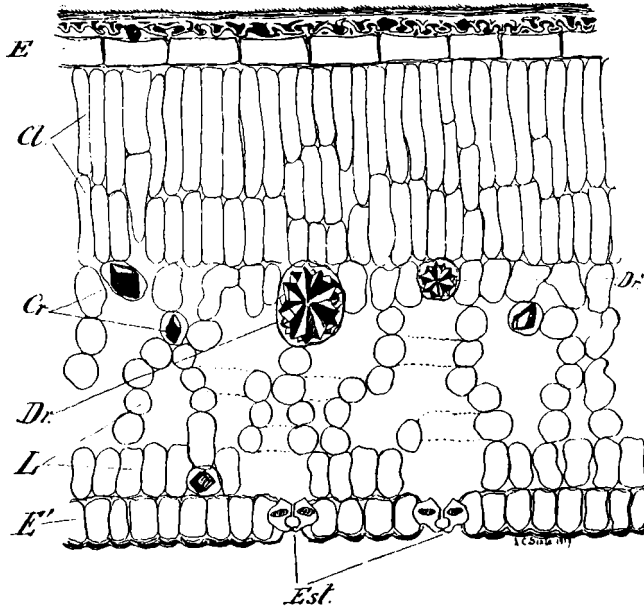
Esta disposición es constante y puede servir

de carácter diferencial entre las dos especies estudiadas.

2.º Corte transversal del limbo (aumento 550 D).

E.—Epidermis superior con estomas cuticulares exteriores y espesamientos cuticulares interiores, de contornos sinuosos y lobados muy característicos, mucho más pronunciados que en la *Villaresia Megaphylla*.

Cl.—Parénquima clorofílico de empalizada formado regularmente por dos series de células alargadas, cilíndricas y algo arqueadas en algunas de sus células.



Hoja de VILLARESIA CONGOGHA - Miers

LIMBO (Corte transversal)

L.—Parénquima clorofílico lagunoso con grandes drusas de oxalato cálcico (Dr); drusas medianas (Dr') y cristales aislados romboédricos (Cr) muy abundantes.

E'—Epidermis inferior con estomas.

Est.—Estomas.

*Estructura histológica de la hoja de VILLARESIA
MUCRONATA, Ruíz y Pavón*

Se han estudiado ambas epidermis (superior e inferior), el limbo y la nervadura central.

1.º Corte transversal esquemático de la hoja comprendida la nervadura central.

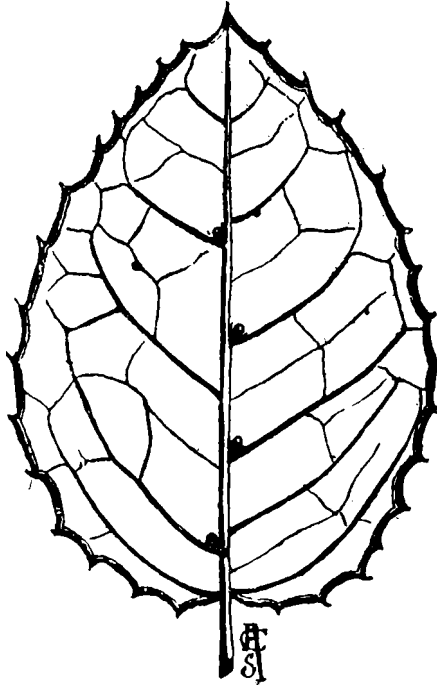
El esquema general de este corte muestra una región ensanchada, dentro de la cual se halla alojada la nervadura central, y dos porciones de limbo, cuyo espesor total se atenúa paulatinamente hasta llegar al borde duro y rígido de la hoja.

El ensanchamiento contiene en su centro un solo haz libero-leñoso (L Li) coronado en su porción leñosa (L) por un haz de fibras esclerosadas (Fl) y en su porción liberiana (Li) por otro haz idéntico de las mismas fibras (Fl').

Este doble cordón fibroso no cierra lateralmente sus extremos próximos de modo que el haz libero-leñoso queda libre en sus porciones latera-

les, en contacto con el parénquima clorofílico lagunoso (La, La').

Las hipodermis, superior (He) e inferior (Hi) sub-divididas en zonas colenquimática y pa-



Hoja de VILLARESIA MUCRONATA R y P.

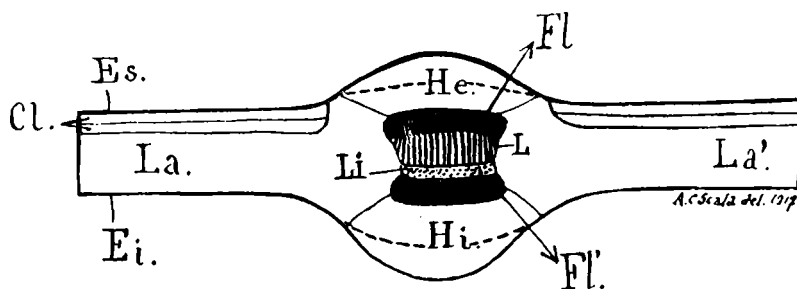
RAMA VIEJA (Tamaño natural)

renquimática, tanto por encima como por debajo del haz libero-leñoso central, completa el ensanchamiento de forma biconvexa y el todo queda englobado por ambas epidermis (Es, Ei).

Limbo. — El mesófilo se halla encerrado en-

tre las dos epidermis (Es, Ei), es de estructura bifacial, subdividido por tanto en parénquima clorofílico de empalizada (Cl) y parénquima clorofílico lagunoso (La).

La epidermis inferior (Ei) lleva exclusivamente los estomas.



Hoja de VILLARESIA MUCRONATA - R. y P. (35 D.)

Corte transversal esquemático

Por último, en algunos ejemplares se ha podido notar sobre la epidermis superior, la presencia de algunos pelos de lúmen ancho y paredes delgadas finamente puntuadas.

2.º Epidermis superior (en superficie, figura 1).

Está formada por células epidérmicas de contornos fuertemente ondulados, de membranas gruesas, con espesamientos cutinizados que penetran profundamente en el lúmen de la célula (Véase el corte transversal del limbo (fig. 4).

No existen estrías cuticulares regularmente formadas.

Cuando se observa esta epidermis por su cara interna se puede notar la forma circular de las bases de las células clorofílicas de empalizada y aparecen además en los preparados algo gruesos las grandes drusas de oxalato cálcico que se encuentran debajo de la empalizada en contacto con el tejido lagunoso.

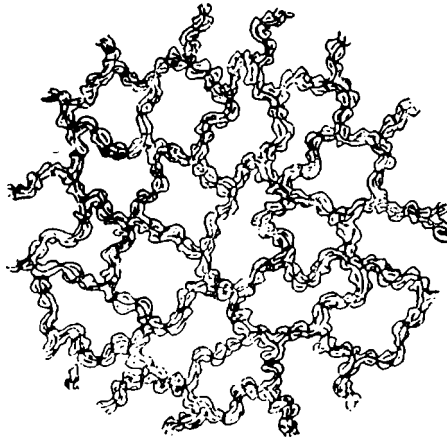


Fig. 1 — Epidermis superior o dorsal de la misma hoja, vista en superficie. (800 D.)

Es conveniente, por tanto, al hacer la dislaceración mecánica, no arrancar la epidermis con violencia para obtenerla completamente desprovista del tejido subyacente y cuidar de colocar la película desprendida sobre el porta-objeto, con su cara exterior mirando al observador.

3.º Epidermis inferior (en superficie fig. 2).

Se halla formada por células epidérmicas de contornos poligonales irregulares, de ángulos agudos u obtusos no redondeados.

En estas células se hallan implantados los estomas, formados por dos células estomáticas, reniformes con ustiolo alargado, sub-dividido en preustiolo y ustiolo propiamente dicho.

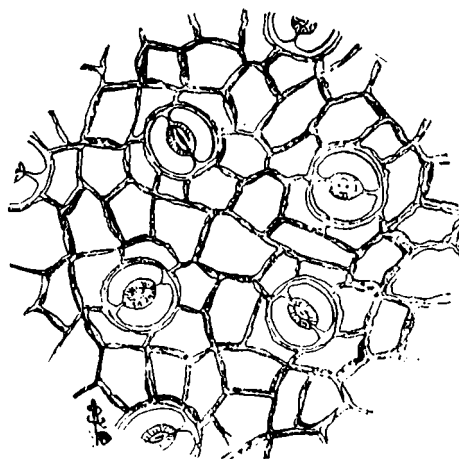


Fig. 2. — Epidermis inferior o ventral de la misma hoja, vista en su superficie. (800 D)

Los estomas están rodeados por cinco a seis células anexas. No existen estrías cuticulares pronunciadas.

Observada la epidermis inferior por su cara interna deja ver numerosas drusas de oxalato cálcico, más pequeñas que las que se observan en la epidermis superior.

Limbo. — El limbo (fig. 3), visto en corte

transversal presenta, desde la epidermis superior a la inferior, las siguientes características:

1.º La cutícula (C), muy espesa, que envía gruesas lobuladuras (C') hacia el interior de las células epidérmicas (C'') cuyos tabiques laterales no presentan espesamiento.

2.º El tejido clorofílico de empalizada (Te), formado por tres a cuatro hileras de células cortamente cilíndricas, que dejan entre sí pequeños meatos intercelulares. El espesor total de la em-

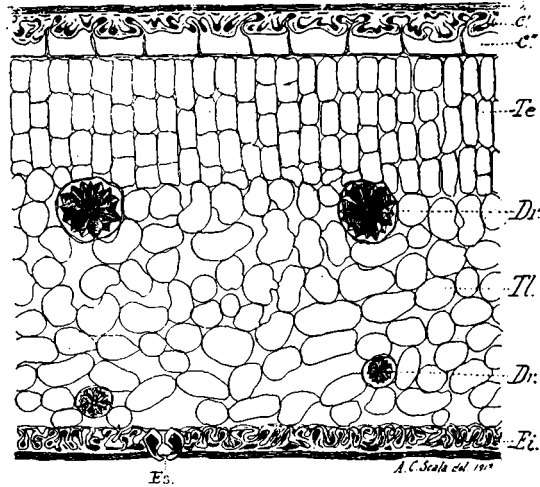


Fig. 3. -- Hoja de VILLARESIA MUCRONATA R. y P.

LIMBO, Corte transversal - 800 D.

palizada es menor que el del tejido lagunoso en una proporción de 1 a 2 aproximadamente (obsérvese también el corte transversal esquemático).

Por debajo de este tejido y en contacto con el lagunoso (Tl) se notan grandes drusas de oxalato

cálcico envueltas por una membrana propia aproximadamente esférica (Dr).

3.º El tejido clorofílico lagunoso (Tl), de mayor espesor total que el de empalizada, está formado por células esféricas, ovoideas y lobuladas que dejan entre sí lagunas más o menos grandes.

En él se hallan también grandes drusas de

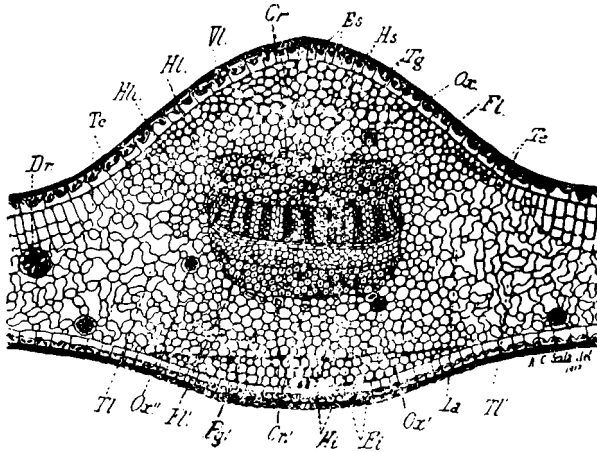


Fig. 4. — Corte transversal de la misma hoja para estudiar la nervadura central (225 D.)

oxalato cálcico (Dr'), aunque de tamaño menor que las de la empalizada.

4.º Epidermis inferior (Fig. 3, Ei).

Está constituida por células más pequeñas que las de la epidermis superior; poseen como aquellas espesamientos lobados que llenan casi por completo su lúmen.

La cutícula es espesa y a través de ella se abre el preestiole del estoma (Es) cuyas dos células estomáticas se terminan en punta curva que se tocan casi por sus extremos.

Nervadura central (fig. 4).

La región central, en la cual se aloja la nervadura principal, consta de la epidermis superior (Es) formada por células cutinizadas exteriormente con espesamientos cuticulares intracelulares, lobulados; son más pequeñas que las del limbo, y como éstas, son de celulosa sus membranas laterales e inferior.

Por debajo de ellas se diferencia el mesófilo en una hipodermis colenquimática cuyas células (Hs) tienen espesamiento celulósico en todo su contorno y algo más pronunciado en los ángulos internos, de modo que su lumen resulta redondeado.

Esta capa de tejido de sostén ocupa más o menos la mitad de la región superior del parénquima hipodérmico y disminuye a ambos lados hasta perderse por encima de las últimas capas de tejido de empalizada (Te).

Debajo de este tejido se halla el parénquima general de la nervadura (Pg) formado por células esféricas de tamaño variable, algunas de las cuales son oxalíferas (Ox) con drusas de tamaño reducido, comparadas con las de la empalizada (Dr). La última capa de células, en contacto con el haz fibroso (Fl), llevan cristales aislados romboédricos de oxalato cálcico (Cr).

En esta región se inicia la nervadura central, única, constituida por numerosas fibras de contorno circular (Fl) fuertemente incrustadas de lignina, dejando por tanto un lumen muy estrecho (o fístula) que envía algunas ramificaciones a las células vecinas. Debajo de este haz fibroso se

encuentra el haz leñoso (Hl) constituido por series de vasos y fibras orientadas radialmente (Vl). El haz liberiano (Hli) ocupa todo el largo por debajo del haz leñoso y en él se notan células y vasos cribosos.

La nervadura central se termina inferiormente por otro haz fibroso (Fl') en forma de media luna y las capas de parénquima inferior (Pg') idéntica a la superior, lleva drusas de oxalato de cal (Ox') y cristales romboédricos, (Cr'). Existe un segundo haz colenquimático, que forma la hipodermis inferior (Hi) con las mismas características que las de la hipodermis superior, y que se atenúa lateralmente a ambos lados, perdiéndose al ponerse en contacto con el tejido clorofílico lagunoso (Tl, Tl').

La epidermis inferior (Ei) está formada por los mismos elementos fuertemente cutinizados como los de la epidermis superior, y no lleva estomas.

Por último, las porciones laterales a la nervadura central, están ocupadas por células lobuladas y esféricas (La) que dejan grandes lagunas intercelulares, y forman parte integrante del tejido clorofílico lagunoso del limbo de la hoja.

Aquí también se notan drusas pequeñas de oxalato cálcico (Ox''). Por el conjunto de sus caracteres, esta hoja se asemeja mucho a la de nuestras dos *Villaresia*: *Congonha* y *Megaphylla* de las cuales difiere especialmente por la ausencia de pelos epidérmicos ovoideos, unicelulares, el poco espesor del tejido de empalizada y la forma y po-

sición de las grandes drusas de oxalato cálcico del mesófilo limbal (Dr).

Por este último detalle la *Villaresia Mucronata* se parece más a la *Villaresia Congonha*, pues en ambas las grandes drusas son inferiores a la empalizada, mientras que en la *Villaresia Megaphylla* son intrapalizádicas y se hallan en contacto con la epidermis superior.

CLAVE COMPARATIVA

Con las tres especies descritas, puede confeccionarse una clave comparativa y diferencial histológica para su determinación, en esta forma:

Pelos epidérmicos, ovóideos, unicelulares. Drusas grandes de oxalato cálcico ubicadas *en el exterior* del tejido clorofílico de empalizada (*drusas extrapalizádicas*). Espesamientos cuticulares sinuosos *muy pronunciados y abundantes*:

VILLARESIA CONGONHA

Pelos epidérmicos ovóideos, unicelulares. Drusas grandes de oxalato cálcico, ubicadas en el *interior* del tejido de empalizada y en contacto con las células de la epidermis superior.

Espesamientos cuticulares *poco pronunciados*.

VILLARESIA MEGAPHYLIA

Ausencia de pelos epidérmicos.— Tejido de empalizada de *menor espesor* que los anteriores.

Espesamientos cuticulares lobulados intracelulares.

Drusas grandes de oxalato cálcico *extrapalizádicas*.

VILLARESIA MUCRONATA.

.

.

ESTUDIO QUIMICO

DE LA

Villaresia Megaphylla y Villaresia Congonha



Tratada la descripción botánica y los caracteres histológicos de las especies nombradas, entraremos a detallar el estudio químico practicado, iniciándolo con los métodos de análisis y prosiguiéndolo con las investigaciones cuyos datos finales figuran en los cuadros sintéticos que se acompañan.

Elección de los métodos de análisis

Indudablemente la elección de los métodos de análisis es la cuestión de mayor importancia tratándose de sustancias de origen vegetal.

La complicada y heterogénea constitución de las materias vegetales, unida a la continua evolución de sus elementos producida por los intercambios vitales y por la influencia decisiva del clima y de las materias minerales del suelo donde se desarrollan, obliga a tratar de compensar tan apreciables oscilaciones con la adopción de procedimientos analíticos invariables y rigurosamente

practicados para que los datos obtenidos sean la fiel expresión de la composición integral del vegetal estudiado en el país de que se trata y para que las cifras que traducen gráficamente sus resultados puedan servir de término de comparación con otras especies análogas.

En la elección de métodos a aplicarse en análisis de esta naturaleza, opinamos que deben elegirse aquellos que a la exactitud de sus resultados vaya aparejada la rapidez de su ejecución y la sencillez de su procedimiento.

La determinación cuantitativa de alcaloides por ejemplo se encuentra en este caso.

Circunscribiéndonos a nuestro estudio, expresaremos que los métodos de nuestra preferencia han sido adoptados previa selección entre los más comunmente seguidos por los investigadores de mayor reputación y aquellos aconsejados por los autores clásicos en sus obras tradicionales.

Trataremos en primer término del análisis inmediato para continuar con las investigaciones especiales hechas para evaluar aquellos principios cuya proporción nos podía suministrar una constante para el vegetal estudiado y al propio tiempo una característica diferencial con especies similares o con productos a los cuales puede ser agregado con propósitos de substituirlo total o parcialmente.

Recolección de las muestras

Recojidas las hojas de *Villaresia Megaphylla* y de *Villaresia Congonha* en los lugares indicados

precedentemente, fueron sometidas a una desecación previa por la acción de los rayos solares, completada luego por una ligera calefacción en estufa y pulverizadas y tamizadas después para obtener muestras uniformes.

Sobre la materia pulverizada en estas condiciones se practicaron las siguientes determinaciones:

- a) Agua a 100-105°
- b) Cenizas totales
- c) Extracto acuoso directo
- d) Extracto alcohólico directo
- e) Extracto clorofórmico directo
- f) Nitrógeno total
- g) Materias protéicas
- h) Materias tánicas
- i) Oxalatos solubles
- j) Oxalatos insolubles.

La suave temperatura a que fueron desecadas las dos clases de hojas, nos permiten colocarlos en idénticas condiciones con la yerba mate del comercio, por cuanto las diferencias anotadas en la cifra correspondiente a la humedad no son susceptibles de modificar la naturaleza íntima de los principios que contienen.

ANÁLISIS INMEDIATO

Para el análisis inmediato hemos meditado sobre la conveniencia de adoptar uno entre los tres métodos clásicos aconsejados: Dragendorff y Schlagdenhauffen [17], Alfredo H. Allen [18] y por nuestro eminente Profesor Dr. Pedro N. Arata. [19]

En principio los tres métodos aconsejan el agotamiento sucesivo de la substancia por disolventes orgánicos en primer término, para efectuar luego maceraciones acuosas y tratamientos con agua acidulada con ácidos minerales y con soluciones alcalinas diluidas.

El método de Dragendorff y Schlagdenhaufen presenta sobre el de Arata la ventaja de incluir entre los disolventes al éter de petróleo, cuya acción sobre las materias vegetales tiene por objeto separar las materias grasas impidiendo que éstas puedan ser disueltas por el éter etílico usado posteriormente.

Además incluye entre los tratamientos posteriores a las soluciones ácidas y alcalinas el empleo del agua de cloro en medio alcalino, lo que responde a la eliminación de algunos principios y facilita la evaluación de la celulosa residual.

El método indicado por A. H. Allen presenta sobre ambos la superioridad de requerir para su ejecución el empleo de aparatos de extracción de funcionamiento continuo, en cambio de las maceraciones de duración variable aconsejadas por aquéllos.

El agotamiento de las substancias haciendo uso de aparatos Soxhlet garantiza buenos resultados, porque a la facilidad que tiene de ponerlas en contacto con grandes cantidades de disolvente, va unida la ventaja de que la extracción se efectúa a una temperatura conveniente para facilitarla en forma considerable.

Por otra parte la marcha sistemática propuesta por este autor para la separación de las espe-

cies químicas, requiere una apreciable economía de tiempo, factor desde luego indispensable en la práctica corriente de las investigaciones analíticas.

Las razones apuntadas nos inclinan a adoptar este método, y en los cuadros sintéticos que se transcriben queda ratificado el fundamento de nuestra elección.

<p>Tratar 50 gr. de la materia pulverizada con benzol que destile alrededor de 86° o con cloroformo. Este tratamiento debe ser continuado durante 6 horas y hecho con un extractor de Soxhlet u otro aparato análogo.</p>	
<p>A Solución — Puede contener: glucósidos, alcaloides, ácidos orgánicos libres, clorofila, ciferas, resinas, aceites, grasas, ceras, alcanforés, aceites volátiles, pero no materias minerales.</p>	<p>Residuo — Secar a 100°. Pesarse y tratar por CH₃.OH redestilado, D: 0.848 por 12 horas en Soxhlet.</p>
<p>B Solución — Puede contener: materias minerales, tanino, ácidos orgánicos, alcaloides, glucósidos, cierta materia colorante y extractiva, resinas y azúcares.</p>	<p>Residuo — Secar a 100°. Tratar por una cantidad conocida de agua fría. Macerar 8-10 horas agitando frecuentemente. Luego filtrar por paño limpio o por papel si es posible.</p>
<p>C Solución — Puede contener: aluminoides solubles, gomas, y en el análisis de frutas y raíces carnosas, cuerpos pépticos, sales de ácidos orgánicos, cuerpos dextrinoides y sustancias colorantes.</p>	<p>Residuo — Lavar con alcohol. Secar a 100° y pesar. Luego tratar con 1500 c3 de agua conteniendo 15 c3 de SO₄ H₂ concentrado y calentar hasta que una gota del líquido no da coloración con agua de iodo.</p>
<p>D Solución — Puede contener: dextrina y maltosa de la conversión de la fécula, también aluminoides y eventualmente ácidos orgánicos libres o salificados.</p>	<p>Residuo — Lavar perfectamente. Secar a 110° y pesar. Hervir por 2 horas con 1500 c3 de solución de Na (OH) al 2 o/o. Filtrar por trapo limpio.</p>
<p>E Solución — puede contener: sustancias aluminoides y pecticas' cutosa humus y productos de descomposición.</p>	<p>Residuo — Lavar perfectamente con agua muy caliente, alcohol y eter. Secar a 110° y pesar. Tratar con aguado bromo y amoniaco y lavar.</p>
<p>F Solución — Lignina y materia colorante</p>	<p>Residuo — Secar y pesar como celulosa.</p>

ñ. **Solución en Benzol o en Cloroformo**— Evaporada a sequedad cuidadosamente se pesa. Se trata por agua y se evapora otra vez a sequedad a 100° luego se calienta á 110° y se pesa de nuevo.

Volatilizado — Aceites volátiles, alcanfor (parcialmente) alcaloides volátiles. Estos últimos pueden ser revelados por la reacción alcalina del líquido y su pérdida evitada por adición de una gota de HCl antes de evaporar.

Residuo —Tratarlo con una cantidad moderada de agua caliente y cuando fría se filtra por papel fino y con bomba de Bunsen.

Solución —Divídirla en dos fracciones:

- a) Evaporar a sequedad y pesar: extr. total incinerar y pesar las cenizas
- b) Porción para investigación alcaloides, glucósidos y ácidos orgánicos por reactivos especiales.

Residuo - Se saca del filtro y vaso usados con benzol o cloroformo y se agita la solución con HCl muy diluido y caliente y se separa por decantación en embudo tapado.

Solución ácida
Se reserva para investigar alcaloides y glucósidos.

Solución bencénica o clorofórmica —Se evapora a sequedad y trata el residuo por alcohol D: 0.848 y se filtra por papel.

Solución — Puede contener: alcanfor (reconocible por el olor), resinas, clorofila (reconocible por el espectro), ciertos aceites fijos (ej. aceite de ricino).

Residuo — Consiste en aceites fijos, grasas, ceras y muy raramente resinas.

B—*Solución en alcohol metílico* D = 0,848.—Concentrar a pequeño volumen, secar y pesar algunos cristales o polvo que hayan podido separarse del líquido enfriado, transvasar, diluir el líquido claro a 200 c3 con CH3.OH y dividirlo en tres partes (20-20 y 160 c3).

<p>20 c3 — Evaporar a sequedad y pesar extracto total.</p> <p>Incinerar y pesar de nuevo para determinar cenizas y extracto orgánico.</p>	<p>20 c3. — Evaporar casi a sequedad, agregar agua y filtrar; evaporar el filtrado a sequedad y pesar: extracto soluble en agua. Incinerar y pesar para determinar cenizas de este extracto.</p>	<p>160 c3.—Si contiene mucho azúcar o tanino, reconocible por el gusto, se empleará el método a), pero si es pequeño o nulo téngase presente el proceso b).</p> <p>a) Evaporar casi a sequedad y adicionar agua, filtrar y llevar el filtrado a 160 c3.</p>
<p>Residuo—Puede contener: resinas, materia colorante, aluminoides, es pecialmente en las semillas, alcaloides y glucósidos.</p>	<p><i>Solución</i> — Dividirla en 8 porciones de 20 c3 cada una: 1) —Precipitar el tanino con acetato de zinc amoniacal. La pérdida de peso por cuidadosa incineración del precipitado desecado a 120º representa tanino de plomo. La pérdida de peso indica ácidos orgánicos, tánico, gálico, materias colorantes y extractivos y raramente albuminoides 2) —Adicionar acetato neutro de plomo. La pérdida de peso indica ácidos orgánicos, tánico, gálico, materias colorantes y extractivos y raramente albuminoides 3) y 4) —Precipitar por acetato básico de plomo y tratar como en 2). Después de separar plomo se trata la mitad del filtrado por solución de Fehling y dosar glucosa. Invertir la otra mitad y determinar nuevamente glucosa. La diferencia corresponde a glucosa de glucósidos y sacarosas 5) y 6) — Tratar por acetato básico de plomo y filtrar. Descomponer filtrado y precipitado por SH2. En el filtrado se busca alcaloides y glucósidos y en el precipitado ácidos orgánicos. 7) y 8) — Se reservan para usar en casos de rectificación ó pérdidas.</p>	<p><i>Solución</i> — Se evapora casi a sequedad y se agrega agua.</p>
<p>Residuo — Tratar por agua.</p>	<p><i>Solución</i> — Añadir acetato básico de plomo. La pérdida de peso por calcinación del precipitado representado en HCl diluido. 1) Alcaloides, glucósidos (raramente) y extractos solubles en HCl diluido. 2) Substancias insolubles en HCl. 3) Resinas ácidas, y colorantes solubles en NH3 dil. 4) Resinas neutras colorantes y materias nitrogenadas insolubles en NH3 diluido</p>	<p><i>Solución</i> — Añadir acetato básico de plomo. La pérdida de peso por calcinación del precipitado representado en HCl diluido. 1) —Disuelve algunos alcaloides y glucósidos. 2) — Insolubles quedan algunas resinas y materia colorante y extractiva. Del filtrado sacar glucosa por Fehling, y glucocohol, evaporar a sequedad y pesarlo después de invertir.</p>

C.—SOLUCION EN AGUA FRIA

Llevar el líquido a volumen conocido y dividir en partes alicuotas.

1.º Determinar la materia sólida total por evaporación y desecación a 110°; determinar cenizas por ignición.

2.º Agregar solución de iodo. Un color azul indica *féculas*. Un color rojo marrón indica *eritro dextrina*.

3.º Agregar oxalato de amonio. Un precipitado blanco indica *calcio*, probablemente *arabinato de calcio*.

4.º Evaporar a volumen conocido, calcinar con cal sodada y multiplicar el nitrógeno hallado por 6.33 y considerar como *albúmina*.

5.º Adicionar ácido clorhídrico diluido. Un precipitado gelatinoso indica *pectina* o *ácido péctico*; si el líquido es filtrado y tratado por cuatro veces su volumen de alcohol un nuevo precipitado puede estar constituido por *arabina* o *dextrina*.

D.—SOLUCION EN ACIDO DILUIDO

Hervir con exceso de carbonato de bario, neutralizar los últimos vestigios exactamente con agua de barita, filtrar, concentrar y llevar el volumen a 500 c.³ exactamente.

Se toma su peso específico y se divide el exceso de 1000 por 8. El dato obtenido es el peso de

fécula en los 50 gramos de substancia tomada. Si la densidad indicada da una pequeña cantidad de *fécula*, se trata la mitad de la solución por 10 c.³ de ácido sulfúrico concentrado y se calienta el líquido a 100° durante 3-4 horas. Luego se neutraliza y se determina glucosa por Fehling. La cifra hallada multiplicada por 0.9 da *fécula*.

La otra mitad (de contralor) neutralizada se trata por tanino: un precipitado blanco o amarillento indica *albuminoides*.

E.—SOLUCION EN ALCALI DILUIDO

Agregar ligero exceso de ácido clorhídrico. Un precipitado puede contener *ácido péctico* y otros cuerpos. Para una nueva precipitación se necesita habitualmente una adición de alcohol.



El análisis inmediato fué practicado sobre 50 gramos de hojas pulverizadas y secadas a 100-105°, las que colocadas en un extractor de Soxhlet fueron agotadas por cloroformo durante seis horas consecutivas.

Las operaciones y métodos analíticos de que se hará mención fueron ejecutadas de la misma manera con las dos claess de hojas, de modo que nuestra exposición las comprende a ambas, registrándose los datos correspondientes a cada una en los cuadros respectivos.

La solución clorofórmica tiene una intensa coloración verde debida a la gran cantidad de clorófila disuelta y deja por evaporación un extracto de color verde muy obscuro cuyo olor recuerda al de la infusión de sen.

El residuo de la substancia perfectamente seco, fué agotado en el aparato empleado anteriormente con alcohol metílico puro durante 12 horas.

La solución metilica posee una coloración amarillo-parduzca y deja por evaporación un extracto brillante de color marrón claro y cuya apariencia recuerda al residuo que dejan los barnices al ser evaporados sobre lámina de vidrio.

Los tratamientos consecutivos con agua fría, ácido sulfúrico al 1 por ciento, solución de hidrato sódico al 2 % y agua de bromo en solución amoniacal fueron ejecutados siguiendo las indicaciones dadas por Allen, lo que nos evita entrar en repeticiones. Los resultados obtenidos con las muestras examinadas pueden representarse del siguiente modo:

V. Megaphylla V. Congonha

A.—Materias solubles en cloroforno	%	4.51	5.45
B.—Materias solubles en alcohol metílico	»	22.12	22.53
C.—Materias solubles en agua fría	»	7.87	10.03
D.—Materias solubles en ácido sulfúrico diluído	»	24.77	22.44
E.—Materias solubles en hidrato sódico diluído	»	23.58	20.26
F.—Materias solubles en agua bromada amoniacal	»	2.97	3.16
G.—Celulosa pura	»	13.15	14.86
Cenizas residuales	»	1.03	1.27

La separación sistemática de las especies químicas de diferentes grupos se efectuó siguiendo las normas fijadas en los cuadros ya mencionados y en algunos casos adoptando las indicaciones especiales dadas por Dragendorff y Schlagdenhaufen.

Señalada la presencia de cuerpos que nos interesaban fueron estos evaluados siguiendo procedimientos especiales, los cuales serán mencionados oportunamente.

A.—Materias solubles en cloroformo

		V. Megaphylla	V. Congonha
Extracto clorofórmico	%	4.51	5.45
Substancias volátiles a 100-110°..	»	0.38	0.46
Materias solubles en agua	»	0.27	0.26
Cenizas del extracto acuoso	»	0.021	0.02
Materias solubles en Cl II al 4 0 oo	»	0.44	0.38
Materias solubles en CH ₃ OH	»	1.91	2.04
Accites fijos y otras materias grasas	»	1.489	2.29

B.—Materias solubles en alcohol metílico

		V. Megaphylla	V. Congonha
Extracto metílico total	%	22.12	22.53
Cenizas del extracto	»	0.92	0.97
Extracto soluble en agua	»	19.95	20.07
Cenizas del extracto soluble	»	0.53	0.66

Tanino y materias precipitables por las sales de plomo	»	6.45	7.91
Materias colorantes, sustancias extractivas y ácidos orgánicos	»	10.40	9.13
Azúcar reductor en C6 H12 O6 ..	»	0.41	0.37
» no reductor en C12 H22 O11	»	Vestigios	Vestigios
Resinas y materias solubles en alcohol	»	1.03	0.91

C.—Materias solubles en agua fría

		V. Megaphylla	V. Congonha
Extracto acuoso total	%	7.87	10.03
Cenizas	»	1.93	2.36
Eritro dextrina	»	Vestigios	Vestigios
Arabinato de calcio en Ca O	»	1.35	1.87
Albuminoides (N x 6.33)	»	0.46	0.52
Compuestos pecticos	»	1.73	1.92
Arabina y dextrina	»	1.18	1.66

D.—Materias solubles en ácido sulfúrico (1 %)

		V. Megaphylla	V. Congonha
Extracto sulfúrico	%	24.77	22.44
Cenizas	»	5.53	4.26
Almidón	»	6.39	5.78
Albuminoides	»	2.46	2.02
Substancias no determinadas y pér- didas	»	10.39	10.38

E.—Materias solubles en hidrato sódico (2 %)

		V. Megaphylla	V. Congonha
Extracto alcalino	%	23.58	20.26
Materias precipitables por ácido clorhídrico (sustancias péc- ticas, humus y etc.)	»	15.61	13.19
Substancias no determinadas	»	7.97	7.07

F.—Materias solubles en agua bromada y amoniaco

		V. Megaphylla	V. Congonha
Lignina y materias colorantes ...	%	2.97	3.16

		V. Megaphylla	V. Congonha
G. Celulosa pura	»	13.15	14.86
Cenizas residuales	»	1.03	1.27

Humedad

La determinación de humedad fué efectuada colocando 5 gramos de substancia en un vaso de desecación que se mantuvo durante seis horas en una estufa cuya temperatura era invariablemente de 100° C. Habiéndose observado que después del tiempo fijado la substancia no experimenta sensibles pérdidas de peso, opinamos que este término es suficiente y puede ser establecido con carácter general.

		V. Megaphylla	V. Congonha
Agua a 100° - 105°	%	8.01	6.94

Cenizas

En las numerosas determinaciones de cenizas hechas con los vegetales estudiados y con mues-

tras de yerba mate del comercio, hemos podido observar que los datos obtenidos no eran constantes y que las variaciones anotadas alcanzaban a cifras relativamente elevadas.

Examinadas las causas que podían ser motivo de las diferencias observadas, quedan ellas explicadas por la reducción parcial de los carbonatos de las cenizas, sales cuya proporción es elevada y está en relación con los oxalatos existentes en el vegetal.

Considerando que en las especies de *Villarsia* estudiadas, la cantidad de oxalatos totales representa una cifra apreciable, como lo es también en el *Ilex paraguariensis*, aun cuando sea más reducida, es indudable que según el método seguido el por ciento de cenizas estará sujeto a diferencias tanto más sensibles cuando mayor sea la temperatura a que se efectúe la incineración.

La incineración de la misma muestra en cápsulas de platino usando mechero de gas modelo Mecker o en crisoles de porcelana y en horno de mufla no nos ha proporcionado en muchos análisis datos concordantes, siendo imputable las causas de error a la inevitable pérdida sufrida por los carbonatos a la que se agregarán también otros elementos volátiles.

Para evitar estos inconvenientes y tratando de buscar un método adecuado para que el dato de las cenizas tenga un valor real y efectivo, hemos pensado que convendría eliminar el anhídrido carbónico existente que es la principal causa de error, a cuyo efecto se determinarían las cenizas sulfatadas.

La transformación de todas las bases al estado de sulfato permite efectuar la calcinación sin temores de sufrir pérdidas por la acción del calor, siendo posible obtener de este modo resultados más comparables y exactos que los que proporciona el manual operatorio general.

		V. Megaphylla	V. Congonha
Cenizas totales directas %	9.39	10.80
» solubles »	2.87	3.96
» insolubles »	6.52	6.84
» sulfatadas »	16.27	18.28

Transcribimos un cuadro demostrativo en el que se representan las determinaciones de cenizas directas y sulfatadas efectuadas sobre muestras de yerba mate del comercio, las que según “informaciones de los comerciantes”, no contenían sustancias extrañas agregadas:

DETERMINACION DE CENIZAS

Cuadro demostrativo

		Directas	Sulfatadas	
1	Villaresia Megaphylla %	9.39	16.27
2	» Congonha »	10.80	18.28
3	Yerba mate Flor de Lys »	5.55	9.66
4	» » Guarani »	6.06	9.93
5	» » Rolando »	6.32	10.02
6	» » Coseena »	6.41	10.53
7	» » Gloria »	6.47	10.07
8	» » David »	6.60	10.50
9	» » Cruz Malta »	6.74	10.63
10	» » Gabriel »	6.94	10.90
11	» » Record »	7.21	11.24
12	» » La Sultana »	7.90	11.80

Extracto Acuoso Directo

El extracto acuoso directo se obtuvo haciendo macerar durante cinco días, dos gramos de sustancia en 200 centímetros cúbicos de agua destilada a la temperatura ambiente, agitando frecuentemente la solución.

Una parte del líquido filtrado fué evaporado a sequedad en cápsula de platino calentando a baño maría, luego desecando en estufa a 100°-105° hasta constancia de peso.

El mismo extracto fué incinerado al rojo sombra obteniéndose las cenizas correspondientes a las materias solubles en agua, las que posteriormente fueron utilizadas para evaluar la alcalinidad correspondiente, calculándola en ácido sulfúrico.

Con otras porciones del líquido de maceración se determinaron el poder rotatorio utilizando el Polarímetro de Lippich y tubos de cien milímetros y el *índice de refracción* con el Refractómetro de Abbé perfeccionado.

Esta última determinación fué practicada teniendo en cuenta que podía suministrar algún dato de valor, comparando las cifras de los adulterantes con aquellas de los productos genuinos, análogamente a lo observado en el té, con los cuales se practica este ensayo conocido con la designación de método de Hanauser. (1)

(1) J. Herail, pág. 356.

El mismo extracto fué utilizado para la evaluación de las materias tánicas siguiendo el procedimiento de Fleck que trataremos en oportunidad, y para practicar las reacciones cualitativas de tanino aconsejadas por Procter para su caracterización. [20]

		V. Megaphylla	V. Congonha
Extracto acuoso directo	%	26.80	24.40
Cenizas	»	3.60	3.30
Alcalinidad de las cenizas en $S O_4 H_2$..	»	2.99	3.16
Materias tánicas	»	5.74	4.57
Poder rotatorio	»	+ 0°19	+ 0°18
Indice de refracción	(agua destilada	»	1.333
Reacciones del tanino	{ Agua de bromo	negativa	lig. opal.
	{ Alumbre de hierro	p.p. verde	p.p. azul ver.
	{ Acido sulfúrico	anill. am.	an. blanq.

Extracto alcohólico directo

El extracto alcohólico directo fué determinado en la misma forma que el extracto acuoso, reemplazando el agua por alcohol etílico puro cuya concentración era de 95 %.

El líquido resultante fué empleado igualmente para la evaluación de las materias tánicas y para el índice de refracción, siguiendo las mismas normas que el caso anterior.

		V. Megaphylla	V. Congonha
Extracto alcohólico directo	%	18.75	19.10
Materias tánicas	»	4.41	3.96
Indice de refracción	{ del alcohol ...	»	1.3632
			1.3641

Extracto clorofórmico directo

El extracto clorofórmico directo fué determinado agotando en un aparato Soxhlet 10 gramos de la substancia secada a 100° con cloroformo puro, durante seis horas.

La solución clorofórmica fué evaporada en baño maria previa separación de la mayor parte del disolvente por destilación, luego desecado el residuo en estufa a 100°-105° hasta constancia de peso.

Esta determinación fué practicada teniendo presente la cifra de 9 % establecida en la Farmacopea Nacional Argentina [21] y los datos obtenidos por nosotros en el análisis inmediato de las yerbas de *Anta* y de *Congonha*.

Sin embargo, para colocarnos en igualdad de condiciones con la yerba mate del comercio, esta evaluación debe ser efectuada, teniendo en cuenta la cantidad de humedad, pues nuestro Codex no hace al respecto referencia alguna.

Para facilitar el procedimiento y considerando que esta evaluación puede proporcionar una constante de alguna importancia, proponemos que sea determinada utilizando la misma muestra que sirve para la determinación de la humedad, refiriéndose los resultados a substancia seca.

Ensayos preliminares hechos con el propósito enunciado sobre algunas muestras de yerba mate comerciales, nos inducen a insistir sobre la conveniencia de repetirlo con todos los adulterantes y

con muestras de *Ilex paraguariensis* de distintas procedencias, a fin de examinar si es posible asignar al extracto clorofórmico un valor efectivo, y poderlo admitir como constante diferencial en los análisis de contralor.

En el cuadro demostrativo que se transcribe quedan anotadas las primeras determinaciones practicadas, conjuntamente con las del alcaloide evaluado por el método Dommergue y Nicolás, refiriéndose los resultados respectivos a cien partes de materia seca.

Entre las determinaciones hechas figura una practicada sobre tallos de *Ilex* exclusivamente, cuyo extracto clorofórmico bastante reducido comparado con hojas de los mismos vegetales, señala la importancia que tiene la proporción de tallos en los productos comerciales.

Como es notorio, existe entre los industriales la perniciosa costumbre de abaratar los productos mediante la adición de tallos, cuya proporción debiera ser en lo posible reglamentada, para evitar la venta de sustancias inertes o de escaso valor mezclados a las hojas para las cuales representa una sobrecarga que aminora su precio de venta en la misma proporción en que se rebajan sus virtudes estimulantes.

Como dato ilustrativo expresaremos que los mismos tallos contenían 0.28 por ciento de cafeína en tanto que las hojas contenían 1.20 por ciento.

		Extracto clorofórmico	Cafeína (mateína?)
Villaresia	Megaphylla	4.51	no contiene
»	Congonha	5.45	no contiene
Yerba mate	Gloria	12.98	0.99
»	» La Sultana	12.18	0.94
»	» Record	12.49	0.92
»	» David	12.97	1.20
»	» Brasileña «Tercio»	10.46	0.73
»	» Paraguaya «Gato»	8.62	0.86
»	» Brasileña 2. ^a	7.11	0.54
»	» Paraguaya «Asunción» .	7.49	0.56
»	» Misionera	7.12	0.91
»	» (Tallos de)	1.61	0.28

Nitrógeno total

La determinación del nitrógeno total fué practicada siguiendo el método clásico de Kjeldahl adoptando la modificación propuesta por Wilfart recomendada por Fresenius [22].

El modo operatorio seguido por nosotros queda resumido en estos términos:

Se calientan dos gramos de la substancia con 40 centímetros cúbicos de una mezcla ácida formada por 25 centímetros cúbicos de ácido sulfúrico puro y por 15 centímetros cúbicos de ácido sulfúrico fumante, añadiendo previamente a la substancia 1gr.50 de bióxido de mercurio purísimo.

Se hace uso de un recipiente de vidrio resistente el que colocado sobre una tela metálica se calienta a fuego directo, muy suavemente al principio, luego con mayor intensidad y finalmente a una temperatura conveniente para que el líquido hierva regularmente.

Tratándose de efectuar varias determinaciones simultáneas preferimos el calentamiento en baño de arena que si bien demanda mayor lapso de tiempo para la decoloración, exige menos atenciones de parte del operador, a quien le permite ocuparse de otros trabajos sin que pueda malograrse el éxito de la operación.

El líquido se calienta hasta decoloración casi completa, añadiéndose luego algunos cristales de permanganato de potasio para que la oxidación sea total.

La solución enfriada se diluye con agua pura y transvasa a un recipiente de vidrio adecuado para la destilación repitiéndose los lavados del contenido hasta tanto sea necesario.

El recipiente destinado a la destilación deberá tener una capacidad aproximada de 750 centímetros cúbicos y se pondrá en comunicación con un refrigerante descendente cuya extremidad inferior será unida a un tubo de vidrio afilado que quedará sumergida en el seno del líquido ácido valorado en el que serán recogidos los vapores amoniacales que pasan conjuntamente con el agua.

Colocada la solución en el recipiente mencionado se proyectan en el líquido algunas grana-

llas de zinc para regularizar la ebullición y añaden con rapidez cantidades suficientes de solución de sulfuro sódico al 40 por mil y solución concentrada de hidrato sódico para precipitar el mercurio al estado de sulfuro y para desplazar el amoniaco combinado respectivamente.

La solución alcalina es sometida a la destilación hasta expulsión total del amoniaco formado, lo que en general se obtiene al haberse destilado aproximadamente la mitad del líquido.

Recogido el destilado en un vaso de Erlenmeyer que contiene una cantidad conocida de ácido sulfúrico N/10 y algunas gotas de heliantina en calidad de substancia indicadora, se determina el exceso de ácido no combinado con solución valorada de hidrato potásico equivalente; teniéndose por diferencia la cifra correspondiente al ácido combinado al amoniaco formado y en consecuencia el nitrógeno contenido en dos gramos de la substancia examinada, el que referido a cien gramos de ella nos proporciona la cifra que debe inferirse al nitrógeno total.

Materia protéica. — La materia protéica fué calculada multiplicando la cifra del nitrógeno total correspondiente a cien gramos de substancia por el factor empírico 6.25, que es el adoptado por la generalidad de los investigadores.

Los datos obtenidos en las muestras examinadas son las siguientes:

		V. Megaphylla	V. Congonha
Nitrógeno total	%	1.386	1.575
Materia protéica	»	8.662	9.843

MATERIAS TÁNICAS

Dentro de la compleja constitución de estas substancias y en el interés de efectuar determinaciones comparables con las obtenidas por otros investigadores sobre muestras de yerba mate y de té, hemos considerado conveniente adoptar los procedimientos seguidos por aquéllos y que están basados en la precipitación de las materias tánicas por las sales metálicas.

El primero de los métodos elegidos y que describimos a continuación es el de Fleck, aconsejado por su rapidez y exactitud por Gerard y Bonn [23] y por G. Pellerin [24] en los análisis de té el cual según las actas del Congreso de Roma celebrado en el año 1906 [25] tiene carácter Oficial en Suiza.

El modo operatorio seguido puede resumirse así:

Dos gramos de substancia son agotados por tres veces consecutivas con cien centímetros cúbicos de agua hirviendo en el término de media hora, luego filtrado por papel.

A la infusión filtrada se le añaden 30 centíme-

tros cúbicos de una solución acuosa de acetato de cobre al 4 por ciento, se filtra y lava el precipitado con agua caliente hasta que el agua de lavaje sea incolora.

Se seca el precipitado recogido y calcina en crisol de porcelana o cápsula de platino, se tratan las cenizas enfriadas con algunas gotas de ácido nítrico y se calcina nuevamente pesándose el óxido de cobre formado.

La cantidad de óxido de cobre pesado, referida a cien gramos de substancia y multiplicada por el factor empírico 1.306 nos dará en gramos la proporción de materias tánicas contenida en la muestra examinada.

Los datos obtenidos siguiendo este método con las yerbas de *anta*, *congonha* y algunos productos comerciales, son las que se expresan a continuación:

	Tanino %
Villaresia Megaphylla	5.746
» Congonha	4.571
Yerba mate Record	6.595
» » Imperio	7.850
» » H. H.	6.009
» » Ayala	7.400
» » La Negrita	6.600
» » Don Luis	7.680
» » León	7.600
» » La Florida	7.900

Determinación de las materias tánicas por el método volumétrico

Con el propósito de seleccionar un método para la evaluación de las materias tánicas, que a las condiciones requeridas de exactitud reuniera las de rapidez en su ejecución, se han hecho ensayos del método volumétrico propuesto por Allen y aconsejado por Villiers, Collin y Fayolle (1) en la determinación de las materias tánicas en el té.

Método volumétrico de Allen

El procedimiento está fundado en la precipitación del acetato de plomo por el tanino, utilizando como indicador para el final de la reacción una solución amoniacal de ferricianuro de potasio que dá una coloración rosada cuando el líquido contiene rastros de tanino en exceso. Las soluciones a emplear son:

- a) Una solución de 5 gramos de acetato neutro de plomo en un litro de agua.
- b) Una solución conteniendo un gramo de tanino puro y seco por litro (10 c.³ de la primera solución, precipitan aproximadamente 10 miligramos de tanino puro, los

(1) T, III, pág. 319.

dos líquidos son entonces precipitados de una manera casi completa, el uno por el otro cuando se mezclan a igualdad de volumen).

- c) Una solución de 10 miligramos de ferricianuro de potasio en 10 c.³ de amoníaco.

La comprobación del final de la reacción con el indicador se efectúa con ensayos en la piedra de toque, para lo cual se disponen sobre varios puntos de una placa de porcelana algunas gotas de ferricianuro de potasio, se hace caer sobre una de ellas una gota del líquido proveniente del ensayo, tomando un centímetro cúbico de este último con una pipeta y vertiéndolo en un pequeño filtro. Después de cada afluencia del líquido de la bureta se hace un nuevo ensayo hasta que una última gota determine el viraje del reactivo indicador.

Modo operatorio. — Se determina previamente el volumen exacto de la solución de tanino que se debe agregar a 10 c.³ de la solución de acetato de plomo, para que la reacción precedente permita constatar la presencia de un exceso de tanino.

Para ello se miden 10 c.³ de la solución de plomo y se le agregan 100 c.³ de agua hirviendo. Se vierten sobre el líquido con una bureta graduada 10 c.³ de la solución de tanino y se continúan agregando de esta última pequeñas porciones sucesivas hasta que el ferricianuro de potasio amoniacal indique la presencia de un ligero exceso, operando como se ha indicado anteriormente.

Se determina así el peso p de tanino correspondiente a 10 c.³ de la solución de acetato de plomo.

Con el líquido así titulado, se determina el tanino proveniente del agotamiento por agua de un peso determinado de substancia.

Se puede emplear el extracto acuoso obtenido en ensayos precedentes y disolverlo en 250 c.³ de agua.

Pero es preferible agotar una nueva pesada de 2 grs. pues la evaporación puede haber alterado en mayor o menor grado las substancias extractivas.

Más simplemente aún se pueden agotar 4 grs. de substancia con agua, dividir en dos partes iguales el líquido proveniente del agotamiento y reservar una mitad para la determinación del extracto acuoso y utilizar la otra mitad para la evaluación del tanino diluyéndolo a 250 c.³

Se efectuaron los ensayos sobre varias muestras de té haciendo caer el líquido proveniente del agotamiento de las substancias con una bureta dividida, sobre 10 c.³ de la solución de acetato de plomo colocada en un vaso de precipitación y determinando como anteriormente el volumen a partir del cual la presencia de un exceso de tanino puede ser caracterizada con el ferricianuro de potasio en solución amoniacal.

Si han sido necesarias n divisiones de la bureta para obtener este resultado, el peso x del tanino contenido en los 250 c.³ es decir en 2 grs. de

substancia será dado por la proporción :

$$\frac{x}{p} = \frac{2500}{n}; \quad x = \frac{2500 p}{n}$$

y la proporción de tanino en 100 partes será :

$$\frac{125000 p}{n}$$

Los resultados obtenidos aplicando este método sobre muestras de té comerciales han dado resultados bastantes comparables con los obtenidos con el procedimiento de Fleck citado precedentemente.

Sin embargo no nos ha sido posible aplicarlo a la yerba mate y adulterantes, por cuanto los líquidos provenientes del agotamiento de las substancias tienen una coloración amarillo verdosa que se acentua sensiblemente cuando se hacen las pruebas en la piedra de toque, originada indudablemente por la acción del amoníaco del reactivo indicador sobre la clorófila de la solución lo cual impide asegurarse del final de la reacción.

En vista de tales dificultades se hicieron ensayos para eliminar la clorófila por medio de disolventes orgánicos, pero los trabajos realizados no han dado resultados satisfactorios.

La bondad del método y la rapidez de su ejecución nos estimulan a proseguir los ensayos, quedando desde luego comprometidos a dar a cono-

cer en oportunidad el resultado de las investigaciones que se efectuen.

Procedimiento de Lowenthal-Schroeder

No habiéndose obtenido los resultados esperados en la ejecución del método de Allen, se efectuaron nuevas determinaciones con el método de Lówenthal modificado por Schroeder, cuyo detalle minucioso y completo tomamos del importante tratado de G. Lunge titulado: *Analyse chimique industrielle*, II. p. 435. París 1908.

Se hace actuar una solución de permanganato de potasio sobre el extracto acuoso de la materia tanante. Se deduce la cantidad de materia tanante, pero como por otra parte, esta solución contiene siempre materias orgánicas extrañas que también reaccionan con el permanganato, se debe efectuar una segunda determinación sobre la solución privada de substancias tanantes por medio del polvo de cuero.

La diferencia entre las dos determinaciones indica la cantidad de permanganato correspondiente a las substancias tanantes reales que el producto contiene.

Líquidos y productos necesarios

1.º Una solución de permanganato de potasio que contiene 1.7 gramos de esta sal por litro (10 gramos en 6 litros, según Lunge).

2.º Una solución de indigo. 30 gramos de carmín de índigo (sulfoindigotato de sodio) secados al aire son disueltos en 3 litros de ácido sulfúrico diluído (1 volumen de ácido y 5 volúmenes de agua).

Se agregan en seguida 3 litros de agua destilada y se agita fuertemente, después de disolución se filtra y conserva en un frasco bien tapado.

3.º Polvo de cuero. Deberá ser blanco, suave al tacto, tratado por agua fría no debe ceder materias que reduzcan al permanganato, siendo conveniente purificarlo por lavados sucesivos antes de hacer uso de él, siguiendo el método que se detalla:

Purificación del polvo de cuero según Kock (1)

Se introducen 100 gramos de polvo de cuero en un ancho tubo de vidrio, cerrado en su parte inferior por un tapón con un agujero. El polvo no debe ser comprimido, debiendo dejarse en el tubo un espacio vacío sobre el polvo de 200 centímetros cúbicos aproximadamente.

Se llena el tubo con agua destilada, el agua que cuele disuelve las substancias orgánicas fácilmente solubles, siendo necesarios dos litros para el lavaje.

Cuando el cuero ha sido lavado, se le comprime entre dos hojas de papel de filtro y se deja secar a la temperatura ordinaria en un local aereado, luego se le pulveriza y conserva en un frasco bien tapado.

(1) Deutsche Gerber Zeitung 1890. Núm. 54.

4.º Tanino muy puro. Se disuelven 2 gramos de tanino en agua destilada y se lleva su volumen a un litro.

*Determinación del título de la solución
de permanganato*

Se miden 10 centímetros cúbicos de la solución de tanino obtenida en 4, se le agregan 20 centímetros cúbicos de la solución de indigo, se agrega agua destilada hasta obtener 750 c.³ y se titula con permanganato.

La introducción del permanganato debe hacerse siempre de la misma manera para que los resultados sean comparables. Como lo recomienda Neubauer se operará de la siguiente manera:

Se entrea bre el robinete de la bureta para que el escurrimiento se haga gota a gota, casi una gota por segundo; durante el escurrimiento se agita fuertemente hasta aparición de una coloración verde pálido, en este momento se cierra el robinete y se continúa la determinación agregando gota a gota hasta que el líquido haya perdido toda coloración verde y haya tomado un color amarillo oro puro.

Por otra parte se miden 50 centímetros cúbicos de la solución de tanino, se introducen en un frasco tapado al esmeril, se agregan 3 gramos de polvo de cuero ablandado y bien escurrido, se le deja en contacto de diez y ocho a veinte y cuatro

etc., se utiliza el aparato de Tharander o más simplemente, operando en la siguiente forma:

La substancia es reducida en polvo tan fino y homogéneo como sea posible, se pesan 20 gramos que se introducen en un frasco Erlenmeyer, se agregan 500 c.³ de agua y abandonan algunas horas a una temperatura de 50° aproximadamente, se decanta rápidamente sobre un filtro, se hace caer el precipitado en el embudo y se continúan los lavajes con agua hirviendo; después de enfriamiento el extracto acuoso es llevado al volumen de 1 litro.

Determinación de las materias tanantes

Se miden 10 centímetros cúbicos de la solución acuosa, se introducen 20 c.³ de la solución de indigo y se titula con permanganato como si se tratara de tanino puro.

Por otra parte se miden 50 c.³ del extracto acuoso, se introducen en un pequeño frasco tapado al esmeril, se agregan 3 gramos de polvo de cuero ablandado en agua y bien escurrido, se deja el todo en contacto durante algunas horas (hasta el día siguiente), se filtra, recoge 10 centímetros cúbicos del líquido y titula con permanganato como en el caso anterior.

La diferencia entre el número de centímetros

cúbicos utilizados en el primer y segundo ensayo representa el permanganato necesario para oxidar las materias tanantes.

Como se conoce por otra parte, la cantidad de tanino que corresponde a un centímetro cúbico de la solución, será fácil calcular la cantidad de tanino contenida en la muestra examinada.

Nota. — Los resultados dados por el método Lówenthal son interesantes desde el punto de vista práctico, pero las cifras obtenidas no tienen sino un valor relativo en lo que se refiere al por ciento en peso.

El método no permite, en todo caso, comparar materias tanantes de orígenes diferentes. El método de F. Jean(basado sobre la absorción del iodo en solución alcalina por el tanino, no presenta ninguna ventaja sobre el de Lówenthal.

Los datos obtenidos en nuestros ensayos siguiendo este método son los siguientes:

	V. Megaphylla	V. Congonha
Materias tánicas	% 4.25	3.86

EVALUACION DEL AZUFRE TOTAL

Al efectuarse la determinación de cenizas de las dos especies de *Villaresia*, ha podido notarse que además de los principios aromáticos que se

desarrollan cuando las hojas son sometidas a la acción del calor, se perciben otros principios de acción irritante y que sospechamos fuesen producidos por compuestos sulfurados.

Esta observación nos indujo a efectuar una evaluación directa del azufre, por lo cual adoptamos el método de W. Knop y R. Arendt aconsejado por Fresenius (1) que transcribimos a continuación:

Cinco gramos de hojas pulverizadas son tratadas por cantidad suficiente de ácido nítrico concentrado y evaporándose a sequedad en baño maría.

Se repite el tratamiento una vez más pero sin desecar la masa completamente, se añade pequeña porción de agua y de 2 a 3 gramos de carbonato de sodio para neutralizar el ácido libre y se lleva la masa a sequedad removiendo constantemente.

El residuo es tratado con una nueva cantidad de agua, se añaden de 20 a 25 gramos de carbonato de sodio pulverizado y seco y después de haber mezclado íntimamente el todo se seca y pulveriza la masa.

El polvo obtenido es calcinado en cápsula de platino o de plata calentando con lámpara de alcohol hasta que la masa sea completamente blanca, evitando que llegue a fundir.

Para facilitar la operación pueden agregarse

(1) Obra citada, pág. 1130.

algunos decigramos de nitrato de potasio y calentar nuevamente.

Se trata finalmente la masa por agua destilada, se sobresatura con ácido clorhídrico y previa eliminación de la sílice se precipita el ácido sulfúrico al estado de sulfato bórico siguiendo las prescripciones mencionadas en el análisis de las cenizas, expresándose los resultados en azufre. ($S O^4 Ba \times 0.1374 = S$).

V. Megaphylla V. Congonha

Azufre total	%	0.137	0.188
--------------------	---	-------	-------

Para obtener datos comparativos con otro método, se efectuó una evaluación especial siguiendo el procedimiento indicado por Friedheim (1) que transcribimos:

En un crisol de platino se mezclan con cuidado 1 gramo de la substancia con 2 gramos de una mezcla íntima formada por dos partes de magnesia anhidra y una parte de carbonato de sodio.

Después de haber cubierto el crisol se calienta la mezcla durante una hora sobre una llama de alcohol, agitando frecuentemente y conduciendo el calentamiento de manera que la mitad inferior del crisol sea llevada al rojo.

(1) Précis d'analyse chimique quantitative des substances minerales, pág. 485.

Cuando la masa calcinada está coloreada en amarillo claro o en pardo claro se deja enfriar, se lava con agua, agrega agua de bromo hasta coloración amarilla, acidifica con ácido clorhídrico, se expulsa el bromo y precipitan los sulfatos en la forma que se detallará en el capítulo correspondiente al análisis químico de las cenizas.

Los resultados obtenidos con este método son los siguientes:

V. Megaphylla V. Congonha

Azufre total	%	0.233	0.302
--------------------	---	-------	-------

De las cifras transcriptas se desprende que este procedimiento proporciona datos más elevados que el anterior, lo que evidencia que en su manual operatorio se salvan en cierto modo las causas de error y se aminoran las pérdidas que en determinaciones de esta naturaleza son muy difíciles de reducir a términos absolutos.

OXALATOS SOLUBLES E INSOLUBLES

Señalada la presencia de abundantes maclas y cristales de oxalato cálcico en las hojas de *Villaresia*, como queda dicho en la descripción histológica correspondiente, y confirmada por las investigaciones generales del análisis inmediato, hemos

considerado como dato de valor su determinación especial y adoptado el procedimiento clásico aconsejado por Berthelot y André [26] que reúne las garantías de exactitud requeridas.

Operamos sobre 100 gramos de hojas secas para la determinación de los oxalatos solubles y sobre 50 gramos para los oxalatos insolubles, siguiendo el manual operatorio que se detalla:

a) *Oxalatos solubles.* — Para separar los oxalatos solubles, las hojas fueron sometidas a la acción del agua hirviendo durante una hora, se dejaron en maceración veinte y cuatro horas, luego se decantó y filtró el líquido obtenido.

El tratamiento acuoso fué repetido sobre los restos de la substancia y reunidos los líquidos resultantes, después de haber sometido a aquellos a una ligera expresión en aparato adecuado.

Las infusiones claras fueron calentadas a la temperatura de ebullición por breves momentos previa adición de ácido clorhídrico diluído y filtradas por papel.

En ellas se precipitó el ácido oxálico bajo la forma de oxalato de calcio, de acuerdo con las normas que se especifican al tratar de los oxalatos insolubles y que expondremos inmediatamente.

El peso de este oxalato de calcio permite deducir la del ácido oxálico que existía en la planta al estado de oxalatos solubles.

b) *Oxalatos insolubles.* — Para obtener el ácido oxálico correspondiente a los oxalatos insolubles, conviene determinar en una nueva operación, bajo forma de oxalato de calcio el peso del ácido oxálico constitutivo de los oxalatos totales, ya sean solubles como insolubles.

Deducido del ácido oxálico total el por ciento que corresponde al ácido oxálico combinado en los oxalatos solubles, por diferencia se tendrá la cifra que debe atribuirse al ácido oxálico combinado en forma insoluble.

Como hemos dicho, se precedió a la determinación de este dato utilizando 50 gramos de hojas, recojidas simultáneamente con aquéllas que se emplearon en la operación anterior.

Se trataron con una solución de ácido clorhídrico diluído, formada por 15 centímetros cúbicos de ácido clorhídrico puro y 200 centímetros cúbicos de agua destilada calentando a una temperatura próxima a 100° durante una hora y dejando en maceración durante veinte y cuatro horas más.

Se separó el líquido por filtración por papel y sobre el resto de las hojas se repitió la operación en la misma forma descripta para los oxalatos solubles.

La precipitación del ácido oxálico en los dos casos se efectuó agregando a los líquidos filtrados un exceso de amoníaco, el que determina la separación de oxalato de calcio impuro, acompañado por materias colorantes, sales insolubles forma-

das por otros ácidos vegetales (tártrico, cítrico) y por ácidos minerales (fosfórico, sulfúrico).

Siendo necesario proceder a la purificación del oxalato de calcio y eliminar los cuerpos extraños que le acompañan, se agregaron 25 centímetros cúbicos de solución saturada de ácido bórico (4 %), cuerpo que unido al cloruro de amonio existente en el líquido por neutralización del ácido clorhídrico con el amoníaco usado en la precipitación dan origen a la formación de sales dobles que impiden la precipitación lenta de los tartratos, citratos y paratartratos redisolviendo los que se hubiesen depositado con anterioridad.

Se acidularon los líquidos por adición de un ligero exceso de ácido acético que redissuelve los carbonatos y sales diversas presentes, y previa agregación de una solución concentrada de acetato de calcio se calienta a baño maría durante una hora.

El precipitado recojido sobre un filtro era aún impuro, por lo que fué necesario repetir el procedimiento de purificación dos veces más.

Purificado el oxalato de calcio, fué calcinado en horno de mufla para transformarlo en carbonato y luego en óxido de calcio, pero considerando que era inseguro pesar este cuerpo en tales condiciones se trató por ácido sulfúrico, desecó en baño de arena, calcinó ligeramente y pesó al estado de sulfato de calcio. Las cantidades de sulfato de calcio pesado en ambas determinaciones, fueron cal-

culadas en ácido oxálico y oxalato de potasio para los oxalatos solubles y en ácido oxálico y oxalato cálcico para los insolubles, obteniéndose las siguientes cifras para 100 gramos de hojas secas: insolubles, obteniéndose las siguientes cifras para 100 gramos de hojas secas:

V. Megaphylla V. Congonha

Oxalatos solubles en	C ²	O ⁴	H ²	%	0.043	0.025
»	»	»	C ² O ⁴ K ²	»	0.081	0.046
» insolubles	»	C ²	O ⁴ H ²	»	2.814	2.033
»	»	»	C ² O ⁴ Ca	»	4.003	2.892

La elevada proporción de oxalatos existentes, especialmente aquella correspondiente a los oxalatos insolubles, nos permiten asignar a esta evaluación una especial importancia y pensamos que este dato puede por su parte proporcionar un elemento de juicio al comparar las cifras obtenidas con estos adulterantes y la *yerba mate*, en la cual si bien existen estas sales como elementos normales sus cantidades son apreciablemente más bajas y pueden suministrar caracteres diferenciales de evidente significación.

COMPOSICION DE LAS CENIZAS

Aun cuando la composición de las cenizas de vegetales se halla íntimamente ligada a la natura-

leza del medio en que habitan y sujetas por tanto a apreciables variaciones en su constitución, hemos creído conveniente ampliar nuestro estudio en este sentido fundados en la convicción de que una investigación minuciosa de todos los elementos pudiera aportar un dato interesante en la diferenciación de los vegetales estudiados.

Las estrechas analogías observadas entre las dos especies examinadas en el análisis general, debía encontrar también en este terreno la confirmación de que se trata de especies cuya constitución íntima solo difiere en características de detalle las que no alteran en forma apreciable su organización ni propiedades fundamentales.

El análisis de las cenizas, así como su preparación ha sido efectuada siguiendo en su parte principal las instrucciones dadas al respecto por Fresenius (1) y solo en casos determinados se han adoptado métodos propuestos por otros autores cuando razones especiales así lo requerían.

a)—*Preparación de las cenizas*

Cien gramos de hojas perfectamente seleccionadas fueron desecadas a la estufa, luego reducidas a pequeños fragmentos y finalmente pulveri-

(1) Obra citada II, pág. 1114.

zadas y tamizadas para favorecer su incineración.

Esta operación se llevó a efecto utilizando un horno de mufla calentado al rojo sombra para evitar posibles pérdidas, fusiones y transformaciones de cloruros, fosfatos y otros elementos que a consecuencia de reacciones internas con el carbón de las cenizas se producen inevitablemente a temperaturas superiores a la indicada. Las proporciones de carbón registradas en los cuadros de resultados demuestran que deliberadamente se han evitado las consecuencias que podían producirse si se aumentaba la acción del calor para conseguir su combustión completa, inconvenientes desde ya menos apreciables que aquellos que derivan del método perjudicial de querer llevar la calcinación hasta sus últimos extremos.

Terminada la calcinación se procedió a la regeneración de los carbonatos, para lo cual las cenizas obtenidas fueron tratadas varias veces con una solución de carbonato de amonio y calentadas a baño maría para expulsar el exceso de reactivo.

Finalmente fueron sometidas a un ligero calentamiento a fuego directo para eliminar los restos de agua y carbonato de amonio que no hubieran sido separados anteriormente.

b)—*Análisis cualitativo*

Con el propósito de orientar la investigación y tener indicaciones sobre los métodos que convenía

adoptar en el análisis ponderal, se practicó un análisis cualitativo general de ácidos y bases siguiendo la marcha sistemática correspondiente.

Por separado se efectuó una investigación cualitativa de manganeso, tratando las cenizas con ácido nítrico diluído y transformando dicho cuerpo en permanganato alcalino por la acción oxidante del bióxido de plomo.

c)—*Análisis cuantitativo*

Los elementos señalados por el análisis cualitativo fueron evaluados siguiendo el método de separación sistemática que se detalla, habiéndose hecho determinaciones especiales de cloro y anhídrido carbónico, cuerpo este último originado por la transformación de los oxalatos existentes en el vegetal en el que se encuentran al estado de oxalatos solubles (Na y K) y al estado de oxalatos insolubles (Ca) y de otros ácidos orgánicos.

1.º—*Evaluación de sílice, carbón y arena*

Cinco gramos de cenizas colocadas en una cápsula de porcelana son tratadas por pequeña cantidad de agua, añadiéndose después ácido clorhídrico y cuidando de evitar las proyecciones que se

producen a causa del desprendimiento de anhídrido carbónico.

Terminada la eliminación del anhídrido carbónico, la cápsula se calienta a baño maría hasta tanto la masa se haya desecado completamente y sea posible pulverizar el residuo.

La masa residual pulverizada y fría es humedecida con ácido clorhídrico concentrado, se deja en contacto durante media hora, se añade una cantidad moderada de agua y calienta a baño maría filtrándose el líquido ácido a través de filtro seco a 100° y pesado.

El residuo que queda sobre el filtro se lava bien con agua caliente acidulada con ácido clorhídrico, luego con agua pura, se seca a 100° y pesa.

El dato corresponde en conjunto a la sílice, arenosa y carbón (α). Después de pesado el filtro se pasa el contenido a una cápsula de platino y se le mantiene en ebullición durante media hora con una solución diluída de hidrato de sodio a efectos de disolver el ácido silíceo solamente.

El líquido es filtrado a través del mismo filtro utilizado anteriormente, se lava bien el residuo, se seca a 100° y pesa.

Deducida de esta pesada la tara del filtro se tendrá la suma de carbón y arena (β) y calcinando el todo en cápsula de platino quedará como residuo la arena (γ): $\alpha - \beta$ será la cantidad de sílice, $\beta - \gamma$ nos dará la cantidad de carbón.

2.°—La solución clorhídrica y las aguas de lavado son reunidas, mezcladas y llevado su volú-

men total a 500 centímetros cúbicos, fraccionándose en cuatro partes iguales: en una de ellas se determina el anhídrico sulfúrico; en otra el hierro, alumina anhídrido fosfórico, manganeso, calcio y magnesio; en otra el anhídrido fosfórico solamente y la última se reservará para emplearla en caso de rectificación.

a)-Anhídrido sulfúrico. — Fue evaluado siguiendo las indicaciones dadas por W. F. Hillebrand [27] y procediendo del siguiente modo: 125 centímetros cúbicos de la solución clorhídrica son neutralizados exactamente con amoníaco, luego acidulados únicamente con ácido clorhídrico en la proporción del uno por ciento y llevados a una temperatura próxima a la de ebullición.

Sobre la solución casi hirviente se hace caer por pequeñas gotas el reactivo precipitante, constituido por cloruro barico cuya concentración no deberá ser mayor del diez por ciento.

Se deja en reposo en sitio caliente durante media hora, se filtra y lava el precipitado con todo cuidado, se seca en parte y quema húmedo en un crisol de platino; finalmente se calcina moderadamente en un pico de Bunsen y se pesa calculándose el resultado en anhídrico sulfúrico

$$(\text{SO}^4 \text{ Ba} \times 0,3433 = \text{SO}^3) \quad (1)$$

(1) Todos los factores usados para los cálculos han sido establecidos según los pesos atómicos adoptados por la Comisión respectiva del Congreso Internacional de Química Aplicada de 1910.

El método seguido puede considerarse bastante exacto, pues salva la mayor parte de los inconvenientes que se presentan en la precipitación de los sulfatos y que ha dado origen a investigaciones minuciosas muy interesantes.

b) *Hierro, alúmina, fósforo 1, manganeso 2, calcio 3, magnesio 4, sodio 5 y potasio 6.*

Para la determinación ponderal de estos elementos puede ser aplicado el método de separación sistemática propuesto por Friedheim [28] para el análisis de los fosfatos, pero con el propósito de obtener datos comparables con otros estudios de esta naturaleza, hemos preferido la adopción de la marcha seguida en trabajos recientes (1) y las indicaciones dadas por Treadwell [29] cuyo manual operatorio es el que se detalla:

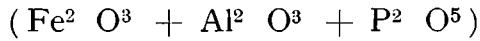
1 125 centímetros cúbicos de la solución primitiva son diluídos con agua hasta llegar a un volumen total de 300 centímetros cúbicos y llevados a ebullición previa adición de algunas gotas de ácido nítrico.

Al líquido hirviente se le añade un exceso de amoníaco manteniéndosele a la temperatura de ebullición hasta tanto el amoníaco empleado en la precipitación haya sido eliminado en su mayor parte. Se filtra en caliente y lava el precipitado con agua,

(1) E. y L. Herrero Ducloux. Obra citada, pág. 141.

reservándose el líquido filtrado para determinaciones posteriores.

El precipitado obtenido se seca, calcina y pesa, anotándose el dato como el conjunto del óxido de hierro, alúmina y anhídrido fosfórico.



Este precipitado se redisuelve en caliente en ácido clorhídrico diluído en un crisol de porcelana; se añade pequeña cantidad de ácido sulfúrico (1 en 5) y evapora a sequedad en baño maría. Finalmente se calienta el crisol a fuego directo hasta producción de abundantes vapores de ácido sulfúrico, se deja enfriar y agrega cantidad suficiente de agua destilada para disolver el contenido del crisol.

En esta solución se evalúa el hierro con líquido valorado de permanganato potásico previa reducción de la sal ferrica, siguiendo las normas indicadas por Denigés [30] y calculando el resultado en óxido ferrico ($\text{Fe}^2 \text{O}^3$).

Deducida esta cifra y la del anhídrido fosfórico que será evaluado en una nueva operación de aquella obtenida anteriormente, se hallará por diferencia la que corresponde a la alúmina ($\text{Al}^2 \text{O}^3$).

2 El líquido filtrado después de la separación de los elementos ya citados se evapora a sequedad, luego calcina ligeramente, redisolviéndose el residuo en ácido clorhídrico al que se le añade pequeña proporción de ácido nítrico.

La solución se neutraliza parcialmente con amoníaco, se agrega agua de bromo hasta intensa coloración rojiza y después de adición de nueva cantidad de amoníaco se calienta a ebullición, manteniéndose cubierto el recipiente con un vidrio de reloj para impedir el desprendimiento de nitrógeno que se produciría por la oxidación del hipobromito de amonio en contacto con el aire.

Cuando el precipitado se ha reunido en grandes copos se interrumpe la ebullición, se deja reposar, filtra y lava el residuo con agua caliente, se seca y transforma por calcinación en óxido salino de manganeso (1) pesándose en este estado y calculando el resultado en óxido manganoso ($Mn^3 O^4 \times 0.93101 = Mn O$).

3 El líquido residual de la operación anterior se utiliza para la evaluación del calcio, para la cual después de ser diluído con agua se le añade un exceso de cloruro de amonio y calienta a ebullición.

Sobre este líquido cuya reacción debe ser alcalina, según comprobación previamente hecha por la adición de heliantina, se vierte un exceso de una solución hirviente de oxalato amónico al diez por ciento dejando en reposo durante cuatro horas, término suficiente según T. W. Richards para la precipitación total del calcio al estado de oxalato.

Se filtra y lava el precipitado con una solución caliente de oxalato de amonio al uno por ciento, hasta que el líquido que filtra acidificado con

(1) Oxido manganoso-mangánico.

ácido nítrico no dé precipitado con nitrato de plata.

El filtro y precipitado contenido en él son calcinados en cápsula de platino tarada, y después de haberla cubierto con un vidrio de reloj se añade al residuo ácido sulfúrico diluido, calentando a baño maría hasta expulsión del anhídrido carbónico existente. El líquido contenido en la cápsula es evaporado hasta eliminación completa del ácido sulfúrico, luego el precipitado se calcina ligeramente y se pesa.

Una calcinación efectuada a elevada temperatura ocasionaría pérdidas de anhídrido sulfúrico, por lo que será conveniente como lo aconseja Weber no sobrepasar la temperatura del rojo sombra.

De la cantidad de sulfato cálcico pesada se calculará la correspondiente al óxido cálcico, multiplicando por el factor 0.4117.

4 En el líquido proveniente de la separación del calcio, se determina el magnesio siguiendo el procedimiento de A. Schmitts (1), que según la autorizada opinión de Treadwell es el que da mejores resultados.

A la solución magnésica ácida y que contiene sales amoniacales se le agrega un exceso de fosfato sódico, se calienta a la ebullición y añade de inmediato una cantidad de amoníaco al diez por ciento igual a los $\frac{2}{3}$ de su volumen.

(1) Z. f. anal. Ch. 1906.

Se deja enfriar y filtra después de una hora de reposo, se lava el precipitado con amoníaco al 25 por mil, se seca y calcina hasta que el precipitado sea absolutamente blanco.

Después de enfriamiento se pesa la magnesia al estado de pirofosfato magnésico calculándose como óxido maguésico ($P^2 O^7 Mg^2 \times 0.3622 = Mg O$).

Sodio 5 y Potasio 6 .

La evaluación del sodio y potasio es practicada sobre la fracción de líquido primitivo utilizado para la evaluación del anhídrido sulfúrico, procediendo de la manera siguiente:

125 centímetros cúbicos de la solución primitiva después de la eliminación de la sílice, arena, carbón y precipitación de los sulfatos con cloruro bórico en la forma detallada anteriormente, se tratan con amoníaco gota a gota hasta tanto el precipitado formado demore algunos segundos en redisolverse.

El líquido debilmente ácido se calienta hasta cerca de la ebullición y añade cantidad suficiente de amoníaco para precipitar hierro, alúmina, fósforo, etc.

Se prosigue la ebullición durante un minuto, cubriendo el recipiente y removiendo continuamente; si no se percibe olor de amoníaco se adiciona una nueva cantidad y sin dejar asentar el precipitado se recoje sobre filtro y lava con agua hirviendo.

Se evapora el líquido filtrado a sequedad y

calienta el residuo a una temperatura próxima al rojo sombra para eliminar las sales amoniacaes; se redisuelve en agua caliente y añaden 5 c.³ de Ba (O H)² en solución calentando a la ebullición.

Se deja en reposo durante algunos minutos y ensaya una pequeña porción de líquido con agua de barita para asegurarse de haber agregado suficiente.

Si no da más precipitado se filtra y lava completamente con agua caliente.

El líquido filtrado se calienta a ebullición y añade amoníaco y carbonato de amonio al 10 por ciento con el fin de precipitar todas las bases, excepción hecha del sodio y potasio al estado de carbonatos insolubles.

El líquido filtrado es evaporado en cápsula de platino a sequedad en baño maría, luego calentado en estufa a 130°-150° durante dos horas para expulsar las sales amoniacaes cuidando de cubrir la cápsula para evitar pérdida por proyecciones.

El residuo es tratado nuevamente por una gota de ácido clorhídrico, evaporado en baño maría, luego calcinado ligeramente y pesado. La cifra obtenida representará en conjunto a los cloruros de sodio y potasio.

La separación del sodio y potasio se efectúa redisolviendo el residuo anterior en pequeña proporción de agua destilada y agregando una can-

tividad de ácido cloroplatínico (1) al 10 por ciento un poco superior a la calculada.

La solución se evapora a baño maría a muy baja temperatura hasta sequedad (el agua del baño no deberá hervir), y después de enfriamiento se añaden algunos centímetros cúbicos de alcohol metílico (2), se remueve la masa salina con una varilla se decanta la solución filtrando por filtro humedecido con alcohol metílico y se prosiguen los tratamientos hasta tanto la sal residual tenga una coloración amarillo oro sin ningún punto coloreado en naranjaado ($\text{Na}^2 \text{Pt Cl}_6 + 6 \text{H}^2\text{O}$).

El precipitado insoluble se lleva al filtro en su totalidad, se deja escurrir el alcohol y se seca a 80-90° en estufa.

Se separa completamente el precipitado del filtro y coloca en crisol de platino tarado, se seca a 160° y pesa el cloroplatinato de potasio formado, calculando en cloruro de potasio ($\text{K}^2 \text{Pt Cl}_6 \times 0.3077 = \text{Cl K}$).

Del peso total de cloruro de sodio y potasio obtenido anteriormente se resta el del cloruro de potasio, teniéndose el que corresponde al cloruro de sodio.

Los cálculos son referidos a los óxidos correspondientes, haciendo uso de los factores respectivos.

(Cl Na \times 0.5303 = Na² O; Cl K \times 0.6309 = K² O)

(1) $\text{H}_2 \text{Pt Cl}_6 + 6 \text{H}_2 \text{O}$, comunmente llamado cloruro de platino.

(2) Dupré, Disertación inaugural. Halle 1893.

7 *Evaluación del anhídrido fosfórico.* — El modo operatorio recomendado por Friedheim (1) es el siguiente:

125 centímetros cúbicos de la solución clorhídrica son neutralizados exactamente con amoníaco, luego se añaden algunas gotas de ácido nítrico y un exceso de solución molibídica (2) agitando continuamente.

La cantidad de reactivo molibídico a emplearse deberá ser aproximadamente igual a la tercera parte del volumen del líquido primitivo o sean 45 centímetros cúbicos.

Inmediatamente se agregan a la solución contenida en el vaso de precipitación un número de gramos de nitrato de amonio cristalizado igual a la quinta parte de los centímetros cúbicos de reactivo empleado o sean 9 gramos.

La adición del nitrato de amonio facilita la completa separación del precipitado que es un poco soluble en agua, pero es condición indispensable que no contenga ácido silícico para lo cual se requiere sea perfectamente cristalizado.

El precipitado formado se deja reposar durante 24 horas en frío, o bien de 4 a 6 horas a la temperatura de 50°.

Una pequeña parte de la solución absoluta-

(1) Obra citada, pág. 328.

(2) La cantidad de reactivo a emplear deberá ser siempre una vez y media a dos veces mayor que la calculada.

mente clara filtrada después de este tiempo, es ensayada por adición de $\frac{1}{4}$ de su volumen de reactivo molibídico a fin de saber si la precipitación es completa.

Se recoge el precipitado sobre un filtro sin pliegues previamente humedecido con una solución de nitrato de amonio al 20 por ciento y se lava con una cantidad tan pequeña como sea posible de esta solución hasta que una gota del líquido filtrado no dé coloración parda con una solución recientemente preparada de ferrocianuro de potasio. (1)

Se lava en seguida una vez más con una pequeña cantidad de agua, y se disuelve el precipitado contenido en el filtro en amoníaco diluido y caliente agregado gota a gota (2) y la solución es recibida en el vaso donde se ha efectuado la precipitación y en el cual se encuentran restos de precipitado adheridos a las paredes. El filtro es lavado completamente con agua hirviendo y a la solución límpida y fría se le añade gota a gota mixtura magnesiaana hasta que se forme precipitado, cuidando de agitar el líquido con una varilla

(1) El ferrocianuro de potasio produce en las soluciones ácidas de molibdatos un precipitado pardo; cuando se trata de soluciones diluidas solo se tendrá una coloración.

(2) Se produce una mezcla de molibdato de amonio y fosfato de amonio, de los cuales el primero no es precipitado en solución amoniacal por la mixtura magnesiaana.

de vidrio durante la precipitación. Cuando el precipitado se ha depositado se agrega a la solución por pequeñas porciones y agitando un tercio de su volumen de amoníaco (densidad 0.96) para impedir la formación de cuerpos como el fosfato magnésico $(P O^4)^2 Mg^3$ que por calcinación quedaría inalterado originando errores en los resultados finales.

El vaso de precipitación se deja en reposo durante doce horas, después de cuyo tiempo se filtra el precipitado, se lava con una mezcla de un volumen de amoníaco (densidad 0.96) y tres volúmenes de agua, se seca, calcina y pesa el pirofosfato de magnesio formado, calculándose en $P^2 O^5$ ($P^2 O^7 Mg^2 \times 0.6397 = P^2 O^5$).

8 *Acido clorhídrico.* — El ácido clorhídrico se evalúa sobre la solución obtenida por el tratamiento de un gramo de cenizas con agua destilada, siguiendo el procedimiento volumétrico de Charpentier, indebidamente atribuído a Volhard, quien lo publicó en 1874, es decir, cuatro años después que aquél (Julio de 1870. Bulletin de la Societé des ingenieurs civils).

El líquido resultante del tratamiento acuoso de las cenizas previamente filtrado es tratado con una cantidad medida de solución valorada de nitrato de plata N|10, luego determinado el exceso con una solución del mismo título de sulfocianuro de amonio en presencia del alumbre férrico empleado como reactivo indicador.

Para evitar la filtración del líquido con objeto de separar el cloruro de plata formado, Rothmund y Burgstaller aconsejan calentarlo para reunir el precipitado y después de frío agregar gota a gota la solución de sulfocianuro de amonio hasta el término de la reacción.

Deducida de la cantidad de nitrato de plata N/10 empleada, la de la solución equivalente de sulfocianuro de amonio utilizada para evaluar el exceso de solución precipitante, se tendrá la cifra de nitrato de plata valorado necesaria para combinarse con los cloruros existentes en las cenizas.

Esta cifra multiplicada por el factor 0.003546 y referida a cien gramos, expresará el ácido clorhídrico calculado en cloro.

9 Evaluación del anhídrido carbónico.

La determinación del anhídrido carbónico es practicada por el método directo aconsejado por Treadwell (1) cuyo manual operatorio en el siguiente:

Se pesa un gramo de substancia en una navicilla de porcelana que se introduce en la parte media de un tubo de vidrio infusible de 20 cents. de largo y 1 ½ cents. de diámetro, colocado en posición horizontal.

En las extremidades de este tubo se colocan dos tapones de goma con un agujero y provistos de tubos con cloruro de calcio.

(1) Obra citada, pág. 291.

Por uno de estos se introduce una lenta corriente de aire privado de anhídrido carbónico para lo cual se hace pasar por dos frascos lavadores que contienen lejía de soda concentrada.

El otro tubo de cloruro de calcio comunica con dos tubos pesados con cal sodada, que comunican a su vez con otro cuya rama izquierda contiene cloruro de calcio y la derecha cal sodada para retener el $C O^2$ y la humedad atmosférica.

Se calienta gradualmente la sustancia hasta llegar a la temperatura del rojo vivo, mientras se continúa haciendo pasar una corriente lenta de aire para arrastrar el anhídrido carbónico que se desprende.

El aumento de peso de los tubos de cal sodada dará la cantidad de anhídrido carbónico contenido en la sustancia examinada.

COMPOSICION DE LAS CENIZAS

V. Megaphylla V. Congonha

Color de las cenizas		gris	gris
Carbón	%	1.53	3.85
Arena	»	1.92	1.52
Acido silíceo en $Si O^2$	»	3.88	5.02
» clorhídrico en $Cl ..$	»	0.36	0.63
» sulfúrico en $S O^3$	»	6.11	4.01
» fosfórico en $P^2 O^5$	»	1.95	3.86
» carbónico en CO^2	»	36.51	32.79
Oxido férrico en $Fe^2 O^3$	»	3.08	1.95
» aluminico en $Al^2 O^3$...	»	1.64	0.94
» manganoso en $Mn O$	»	2.53	3.61
» cálcico en $Ca O$	»	26.65	24.32
» magnésico en $Mg O$	»	7.26	10.33
» potásico en $K^2 O$	»	4.36	5.21
» sódico en $Na^2 O$	»	2.22	1.96

INVESTIGACION
DE
PRINCIPIOS ACTIVOS DE NATURALEZA
ALCALODICA

Atribuída una importancia esencial a la cantidad de cafeína que contienen las hojas de *Ilex Paraguariensis*, S. Hil., hemos creído conveniente hacer una revisión general de los métodos analíticos empleados con mayor frecuencia; aplicándolos al estudio de las hojas de *Villaresia*.

Aun cuando los resultados del análisis inmediato nos demostraron la *ausencia absoluta* de principios que respondieran a las reacciones específicas de los alcaloides en estos vegetales, efectuamos una investigación directa sobre las hojas de *Yerba de Anta* y de *Congonha*, empleando el método aconsejado por Grandval y Lajoux [31], que según sus afirmaciones puede ser aplicado igualmente al café, té, mate, nuez de kola, guarana y a todas las sustancias que contienen cafeína.

Por otra parte se practicó un ensayo especial de investigación de alcaloides, siguiendo el procedimiento que se detalla:

10 gramos de la substancia bien pulverizada y seca son colocados en un frasco de boca ancha cerrado al esmeril, se agregan 5.³ de amoníaco y 200 c.³ de una mezcla formada por partes iguales de alcohol etílico al 90 % y éter puro $D = 0.720$.

Se deja en maceración durante 24 horas y filtra la solución lavando el residuo con una mezcla de alcohol y éter.

Se evapora la solución alcohólico-etérea en recipiente apropiado a baja temperatura y redisuelve el residuo en 5 c.³ de éter añadiendo después 20 c.³ de ácido clorhídrico al cinco por mil.

Se calienta a baño maría hasta completa expulsión del éter y sobre el líquido frío se efectúan extracciones con cloroformo en medio ácido, luego en medio neutro y finalmente en medio alcalino. Los resultados han sido *negativos* en los tres casos, como también lo fueron las reacciones específicas de los alcaloides practicados sobre el líquido residual de las extracciones previa neutralización.

Procedimiento Grandval y Lajoux

Cinco gramos de la substancia finamente pulverizada son colocados en una pequeña cápsula de porcelana, y sobre ellos se vierten cinco gramos de éter adicionados de un gramo de amoníaco, teniendo cuidado de agitar vivamente la mezcla y de verterla con rapidez para evitar que los líquidos tengan tiempo de separarse.

Para que el polvo se impregne de una manera uniforme, se le tritura con la extremidad cerrada de un tubo de ensayo; se le adiciona una pequeña cantidad de arena lavada y secada para facilitar su agotamiento e introduce en un aparato de extracción empleando el cloroformo como disolvente.

Generalmente el agotamiento queda terminado en dos horas, pero será conveniente no detener la operación hasta haber verificado que las últimas porciones de disolvente después de atravesar la substancia no dejen residuo.

Se destila la totalidad del cloroformo y si el residuo que queda en el recipiente tiene aun olor de este cuerpo, se eliminarán los últimos rastros calentando a baño maría.

Se agrega en seguida un centímetro cúbico de ácido sulfúrico al décimo, el cual se hace pasar sobre las paredes del matraz dejándolo en contacto durante dos horas.

Esta adición tiene por objeto insolubilizar las materias grasas, colorantes y clorófila para obtener la cafeina perfectamente incolora.

El residuo acidulado es agotado con agua hirviendo por pequeñas adiciones sucesivas, vertiéndose cada vez el líquido sobre un filtro de papel sin pliegues previamente humedecido con agua para retener las materias resinosas y clorófila.

Se verifica que las últimas gotas de líquido filtrado no precipitan con una solución concentra-

da de tanino y cuando se ha obtenido este resultado se lava aún el filtro con una pequeña cantidad de agua hirviendo.

El líquido ácido así obtenido que en general posee una ligera coloración amarilla es sobresaturado con amoníaco, luego evaporado a sequedad en baño maría.

La mayor parte de la materia colorante que ha podido escapar al tratamiento ácido se deposita entonces y se vuelve insoluble en cloroformo.

El residuo se redisuelve en cloroformo, empleando pequeñas cantidades de este disolvente y tantas veces como fuese necesario hasta que evaporada una gota en un vidrio de reloj no deje residuo.

La solución clorofórmica filtrada es evaporada lentamente a baño maría en cápsula tarada, obteniéndose de este modo la cafeína incolora o ligeramente coloreada, perfectamente cristalizada si la evaporación se hace con lentitud y absolutamente privada de tanino.

El procedimiento descrito es con ligeras variantes el que los mismos autores aconsejan como método general para la extracción de alcaloides [32] con la sola diferencia en la elección del disolvente más apropiado según la naturaleza del cuerpo de que se trate.

La investigación practicada con el procedimiento mencionado nos dió resultados concluyentemente negativos, quedando por otra parte de-

mostrada la ausencia de cafeína (mateína ?) aún en pequeñísimas cantidades por las reacciones específicas de este alcaloide hechas en el residuo de las extracciones efectuadas sobre los vegetales estudiados.

La ausencia completa de alcaloides en las dos especies de *Villaresia* examinadas que probablemente será carácter de las demás especies del mismo género, nos proporciona un elemento de juicio para presumir su adición al *Ilex Paraguariensis*, vegetal que contiene *cafeína* en proporciones sujetas a oscilaciones no muy pronunciadas.

Deliberadamente hemos dicho que este dato nos da la *presunción* de que el *Ilex paraguariensis* ha sido adulterado, pues opinamos que la presencia de hojas de *Villaresia* o de cualquier otro adulterante no puede ni debe ser motivo de afirmación mientras no se demuestre su existencia directa, individualizando al vegetal y nunca *deduciéndola por el dato de la cafeína solamente*.

Está demostrado que circula en el comercio yerba mate con un tenor en cafeína que oscila entre 1.20 y 1.50 por ciento y que existen otras que solo alcanzan a 0.70 y 0.80 por ciento, para no tomar sino aquellas de mayor aceptación.

En el estado actual de nuestros conocimientos sería temerario que condenásemos a aquellos productos que contienen 0.70-0.90 por ciento de alcaloide, entre las cuales caerían marcas de renombre cimentado y que pertenecen a comerciantes y

productores de reconocida honestidad. Sin embargo, las yerbas que contienen porcentaje elevado de alcaloides se prestarían a ser adicionadas con otras especies sin cafeína, y nuestro fallo indudablemente sería erróneo, porque al amparo de productos de buena calidad quedarían encubiertos los productos estudiadamente falsificados.

De las ligeras consideraciones expuestas y que nos proponemos ampliar en oportunidad, se desprende la importancia que tiene la elección del método que ha de emplearse para la determinación cuantitativa de la cafeína.

Nuestras investigaciones han sido efectuadas siguiendo los procedimientos de Grandval y Lajoux ya mencionado, el de Lendrich-Nottbohm-Katz [33], el de Dommergue y Nicolás adoptado con carácter oficial en Francia para la evaluación de la cafeína o theína en los tés, según Decreto de fecha 9 de Octubre de 1900 y el de Keller y Beittner, modificado por Katz [34].

Procedimiento de Lendrich-Nottbohm-Katz

El manual operatorio seguido por nosotros, puede explicarse del siguiente modo:

20 gramos de yerba mate pulverizada y tamizada, se mezclan con 10 centímetros cúbicos de agua destilada y se dejan en maceración durante

dos horas, removiendo la masa con mucha frecuencia.

Asignamos a este detalle gran importancia, pues creemos interpretar debidamente el pensamiento de los autores del método, quienes al fijar el término de la operación han previsto que esas eran las condiciones necesarias para su mejor ejecución.

Transcurrido el tiempo establecido, se lleva la materia húmeda a un cilindro de extracción de Schleicher y Schull y en un aparato de Soxhlet se extrae con tetracloruro de carbono *calentando en baño de arena durante seis horas como mínimo.*

Este término de duración de la operación lo hemos adoptado siguiendo la opinión de G. Fendler y W. Stüber, quienes publican en el número del Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs und Genusmittel correspondiente al 1.º de Julio de 1914, una tabla en la que transcriben datos sobre análisis de café que demuestran que a las tres horas el agotamiento no es total y que éste es invariable a las seis o nueve horas.

Nuestras experiencias nos han demostrado la conveniencia de operar en estas condiciones, pues el polvo residual agotado posteriormente con cloroformo no ha cedido a este disolvente cantidad alguna de alcaloide, según lo comprobamos por el resultado negativo de las reacciones cromáticas sobre el residuo de la evaporación.

El extracto obtenido se adiciona con un gra-

mo de parafina evaporando el tetracloruro de carbono a bañomaría.

Se extrae con agua hirviendo cuatro veces, primero con 50 cents. cúbicos y tres veces más con 25 centímetros; luego se filtra el líquido frío a través de filtro mojado lavando finalmente a este con pequeña cantidad de agua caliente.

Después de enfriados los líquidos, se añaden 10-30 centímetros cúbicos de $Mn O^4 K$ al 1 por ciento, dejándolos en reposo por 15 minutos; se agrega agua oxigenada al 3 por ciento (conteniendo 100 c.³, 1 c.³ de ácido acético) hasta decoloración y se calienta en baño maría 15 minutos filtrando en caliente y lavando con agua caliente.

Se seca el residuo a 100° y se extrae con clorofórmico caliente; filtrado este y evaporado en baño maría se obtiene la cafeína (mateína ?) perfectamente cristalizada en agujas sedosas.

Siguiendo este procedimiento hemos obtenido resultados perfectamente comparables con los demás métodos elegidos, y en un caso especial trabajando sobre una muestra de yerba mate se ha obtenido 1.25 por 100 de cafeína con el método de Lendrich-Nottbohm, en tanto que el de Grandval Lajoux nos dió 1.20 por 100 y el de Dommergue Nicolás 1.30 por 100.

Estos resultados han sido análogos en otras muestras por nosotros examinadas, los que abonan por la bondad del procedimiento y desvirtúan las críticas un tanto injustas de que ha sido objeto.

Por otra parte, numerosos análisis practicados en la Oficina Química Municipal de Buenos Aires han dado resultados altamente satisfactorios, los que confirman nuestra aserción y demuestran que las supuestas fallas del método no pueden ser imputables a la insuficiencia del disolvente empleado, sino a detalles de técnica. El resultado obtenido se halla de acuerdo con nuestras previsiones, pues si el principio activo es soluble en el tetracloruro, aun cuando lo sea en menor proporción que en otros disolventes orgánicos, no podría explicarse satisfactoriamente la razón de que solamente una parte de él fuera extraída y la otra quedase incorporada a la substancia.

Con estos antecedentes cabría admitir la hipótesis que la cafeína (mateína ?) estuviera en la yerba mate al estado de dos combinaciones orgánicas diferentes: la una hidrolizable y soluble en el tetracloruro de carbono y la otra no hidrolizable y por tanto insoluble en dicho disolvente o bien que una parte estuviera libre y en condiciones de ser separada por el tetracloruro de carbono y la otra al estado de combinación no hidrolizable en las condiciones aconsejadas.

En tal supuesto, las críticas debieran ser dirigidas al medio de operar la hidrólisis, lo que motivaría fueran condenados igualmente procedimientos reconocidos como exactos que también la emplean.

Además es de hacer notar el hecho de que el

tetracloruro de carbono no actúa en *frío* sobre la substancia, por cuanto calentando el recipiente a *baño de arena* la acción del calor se propaga al tubo de Soxhlet con el cual comunica y aumenta el poder disolvente en grado considerable.

A ello ha de agregarse la cantidad pequeña de alcaloide que normalmente pueden contener los 20 gramos de substancia y que en ningún caso superarán a 0gr.30, y la elevada proporción de disolvente que se hallará en su contacto por los sucesivos pasajes a que se verá obligado por una ebullición rápida y prolongada.

Las razones expuestas vienen a confirmar nuestra opinión de que la hidratación debe ser efectuada en la forma y tiempo indicados por los autores, por cuanto el disolvente por ellos elegido responde ampliamente a la función que le ha sido asignada.

Unicamente podría ser objetado por las múltiples operaciones que exige y por las minuciosas precauciones que deben tomarse para lograr un resultado exacto, pero aparte de tales circunstancias tiene a su favor la indiscutible superioridad de proporcionar el alcaloide en estado de pureza perfecta y en condiciones no iguales al obtenido, siguiendo los demás procedimientos ensayados.

Procedimiento Dommergue y Nicolás

Este procedimiento que según lo hemos manifestado anteriormente, ha sido adoptado con carácter oficial en los análisis de té y que algunos analistas han utilizado en la evaluación de la cafeína (mateína?) en la yerba mate, ha sido objeto de estudio preferente por nuestra parte, a fin de determinar sobre su posible aplicación en los análisis del producto mencionado.

El manual operatorio seguido por nosotros que se describe a continuación, es el mencionado en el tratado de G. Pellerin (1) en el capítulo referente al análisis de té y ha sido ligeramente modificado para aplicarlo a la yerba mate:

10 gramos de yerba mate pulverizada se hacen hervir durante algunos minutos con 120 gramos de agua destilada. A la decocción caliente se le añaden 200 c.³ de una solución de acetato mercurico al 3 por ciento y se continúa la ebullición por algunos minutos. Se filtra por filtro mojado y se lava el residuo con agua caliente hasta que el agua de lavado sea incolora.

Se obtienen de este modo 600 c.³ aproximadamente de líquido, los que son concentrados a baño maría hasta 40 c.³; se agregan 4 gramos de óxido de magnesio y 30 gramos de arena lavada y calcinada, desecándose la masa en baño maría.

(1) Obra citada, pág. 636.

La substancia seca es agotada en un aparato Soxhlet durante tres horas por una mezcla formada por cantidades iguales de benzol y cloroformo, calentando en baño de arena.

Por evaporación del disolvente se obtiene la cafeina (mateina?) cristalizada, la cual no debe ser pesada en estas condiciones por cuanto casi siempre la acompañan substancias extrañas.

Numerosas determinaciones de cafeina (mateina?) practicadas por nosotros en muestras de yerba mate del comercio nos han dado excelentes resultados, comparadas sus cifras con las obtenidas con otros métodos reconocidos como exactos, entre ellos el de Keller y Beitner, modificado por Katz.

Unicamente debe observarse al método de Dommergue y Nicolás que la cafeina (mateina?) obtenida en muchos casos va acompañada de pequeñas proporciones de materias colorantes y resinosas, por lo que el alcaloide debe ser sometido a una purificación previa antes de ser pesado.

Para ello tratamos el residuo de la evaporación clorofórmica con una pequeña cantidad de agua hirviendo que disuelve al alcaloide, se filtra la solución caliente sobre filtro mojado, se lava el filtro debidamente y evaporan los líquidos obtenidos en baño maría.

Redisolviendo el residuo en cloroformo caliente o alcohol etílico, se obtiene por evaporación lenta del disolvente la cafeina perfectamente cris-

talizada y sin rastros de impurezas. En algunos casos la redisolución en agua caliente debe repetirse una vez más, para aislar por completo las materias resinosas.

La modificación propuesta a nuestro juicio completa al procedimiento de Dommergue y Nicolás, haciéndole aplicable al análisis de la yerba mate y presenta superioridad sobre los demás métodos actualmente en uso por su fácil ejecución y por proporcionar datos perfectamente concordantes.

El estudio y revisión de los métodos de evaluación de la cafeína fué practicado sobre la misma muestra de yerba mate uniformemente mezclada y de los datos obtenidos se desprende que los procedimientos de Grandval y Lajoux, Lendrich-Nottbohm-Katz, Dommergue y Nicolás, y Keller-Beittner y Katz son igualmente convenientes para la determinación cuantitativa del alcaloide contenido en la yerba mate, pues las pequeñas diferencias anotadas y que en ningún caso alcanzaron a superar al 10 % entre uno y otro método no puede invalidar a ninguno de ellos, ni puede ser motivo para rechazar un producto cuya bondad no depende *solamente* de la cantidad de cafeína (mateína?) que contiene.

Por otra parte, interesados en proponer un método práctico y de buenos resultados, nuestras investigaciones nos conducen a aconsejar el de Dommergue y Nicolás, adoptado en la Oficina Quí-

mica Municipal de Buenos Aires, cuyo estudio de comprobación y comparabilidad de resultados, nos han demostrado categóricamente que este representa las garantías de exactitud requeridas para esta clase de determinaciones.

La razón de preferirlo al de Keller, Beittner y Katz igualmente recomendable, obedece a que aquél exige una serie de manipulaciones previas que facilitan la separación de principios extraños que pueden alterar los resultados finales, en cambio el tratamiento directo de la yerba mate por el cloroformo que aconseja el de Keller permite la disolución de clorófila, ceras, aceites esenciales y materias resinosas cuya eliminación completa presenta en algunos casos dificultades e inconvenientes para lograr el alcaloide perfectamente puro.

*Procedimiento Keller y Beittner modificado por
Katz*

Este método que como hemos dicho anteriormente, es excelente para la evaluación de la cafeína (mateína ?) en la yerba mate, puede practicarse siguiendo el manual operatorio que se describe:

10 gramos de la substancia pulverizada es colocada en un frasco con boca ancha y con buena tapa a esmeril. Se agrega 5 c.³ de solución común de amoníaco y 200 c.³ de cloroformo; se agita por media hora o mejor se deja de un día para otro.

Se filtra la solución clorofórmica, se evapora el líquido en un matraz apropiado en conexión con un aparato de destilación con el fin de recojer el disolvente para nuevas operaciones, y se redisuelve el residuo con éter (5 c.³) añadiendo luego 20 c.³ de ácido clorhídrico diluido (5 por mil) llevando el matraz a baño maría. Se calienta hasta eliminar el éter; se enfría y se filtra. (Esta última operación es conveniente hacerla directamente sobre el tubo a bromo). Se lava bien el matraz y filtro con el ácido clorhídrico diluido y el líquido de lavaje y el filtrado se extraen con cloroformo durante dos horas.

Se evapora la solución clorofórmica y se tiene la cafeína pura.

Los análisis practicados siguiendo este método nos han dado muy buenos resultados, por lo que no vacilamos en reiterar nuestra convicción de que es uno de los mejores procedimientos para la evaluación de la cafeína.

CONCLUSIONES

La amplitud e importancia excepcional de la cuestión tratada, nos impone dividir nuestra exposición en este capítulo en tres partes: en la primera se establecerán las conclusiones derivadas del estudio particular de las *Villaresia Megaphylla* y *Villaresia Congonha*, en la segunda las cuestiones conexas con el *Ilex Paraguariensis*, comentando resultados comparados de análisis hechos y en la tercera algunas consideraciones sobre métodos y límites que convendría adoptar.

I

La transcripción de los datos analíticos obtenidos en el examen de las dos especies de *Villaresia* y las demostraciones gráficas correspondientes al estudio histológico de las mismas, nos proporcionan elementos de juicio para su diferenciación en esta forma:

- 1.° Por los caracteres *exteriores* de las hojas, atendiendo a su forma y dimensiones.
- 2.° Por los caracteres *botánicos*: a) presencia o ausencia de pelos en el ovario; b) consistencia de las hojas; c) naturaleza del borde de la hoja; d) presencia o ausencia de espinas; e) longitud del peciolo.
- 3.° Por los caracteres *histológicos* diferenciales de cortes transversales de las hojas: a) ubicación de las drusas de oxalato de cal; b) peculiaridad de los espesamientos cuticulares; c) particularidad de la vaina esclerosa en cortes hechos para estudiar la nervadura central.
- 4.° Por los caracteres *químicos*, registrados en los cuadros comparativos de análisis, cuyas variaciones aun cuando sean pequeñas, complementan al examen botánico e histológico.

II

La diferenciación entre las especies estudiadas y la yerba mate atendiendo a los caracteres químicos, puede ser resumida a los siguientes datos, habiéndose tomado como términos de comparación las cifras medias establecidas para las yer-

bas del comercio por los Profesores E. y L. Herrero Ducloux. (1)

- a) A las variaciones de las cantidades de principios solubles en cloroformo.
- b) A las variaciones de las cantidades de cenizas directas y cenizas sulfatadas.
- c) A las variaciones de las cantidades de materias tánicas precipitables por el acetato de cobre.
- d) A las variaciones de las cantidades de oxalatos, especialmente los oxalatos insolubles.
- e) A la ausencia absoluta de alcaloides en los adulterantes estudiados.
- f) A las cantidades de azufre determinadas directamente sobre las hojas.
- g) A las cantidades de anhídrido silíceo, anhídrido sulfúrico, ácido clorhídrico, óxido férrico, óxido manganoso, óxido calcico y óxido de magnesio de las cenizas.

Sin embargo, hacemos constar expresamente que estos datos solo tienen un valor ilustrativo y repetimos que solo será posible asignarles o restarles importancia una vez ejecutada la labor de conjunto señalada, examinando adulterantes previamente clasificados y tomando como términos

(1) Obra citada, págs. 151 - 156.

de comparación *cifras medias* obtenidas sobre muestras de *Ilex* identificadas por técnicos, desechando las que suministren comerciantes o industriales interesados en el asunto y cuyo grado de *pureza* está desde luego supeditado a sus personales conveniencias.

III

Detalladas las características específicas de las dos especies de *Villaresia* examinadas y los índices diferenciales *probables* con el *Ilex Paraguariensis*, quedarían por determinarse los perjuicios de orden técnico, fisiológico y económico que la adición de los nombrados vegetales a la yerba mate podrían ocasionar.

Los análisis practicados sobre las muestras de *Yerba de Anta* y de *Congonha*, comprueban en forma categórica que no existen en ellas principios que puede ser nocivos a la salud, y que por su carencia de cafeína les corresponde la clasificación de adulterantes inocuos.

Sin embargo nuestra opinión es contraria a que se permita su adición a la yerba mate, aun cuando se declare la composición de la mezcla bajo la afirmación de que no se trata de productos nocivos.

Las razones de la medida quedan justificadas en los siguiente hechos:

1.° Que permitiéndose la agregación se estimula un comercio ilícito basado en la desnaturalización de un producto proporcionado abundantemente por la naturaleza y se atenta contra el industrial honesto interesado en expender substancias puras.

2.° Que la declaración previa de la composición de las mezclas es un recurso de dudosos resultados para el consumidor, y constituye en cambio una garantía para el industrial con el fin de rehuir responsabilidades.

3.° Que en materia de alimentos los poderes públicos deben establecer disposiciones de carácter restrictivo que defiendan al producto sano e inalterado, impidiendo el consumo de aquellos que aun cuando no sean nocivos, carecen de los principios útiles de los que tienden a reemplazar.

Respecto de las inconveniencias de orden fisiológico bastaría citar la opinión de los técnicos que es unánime cuando asignan a la yerba mate cualidades tónicas y estimulantes análogas a las del té [35] [36], basadas en su riqueza en cafeína, alcaloide que como es notorio, no existe en los adulterantes estudiados.

Egidio Pollacci [37], en su renombrado tratado de Química comentando la importancia de la cafeína, hace las siguientes consideraciones:

“La cafeína se encuentra sumamente difundi-

“ da y lo que debe ser notado es que se encuentra
“ en plantas pertenecientes a las familias más di-
“ ferentes.

“ Es un fenómeno sorprendente, dice Bunge
“ (1) que los pueblos más variados de todas las
“ partes del mundo, absolutamente independien-
“ tes los unos de los otros, hayan encontrado la ca-
“ feína en distintas plantas.

“ Los árabes en el café, los chinos en el té, los
“ habitantes del Africa central en la nuez de Kola,
“ los habitantes del Africa del Sud en las hojas
“ de una especie de *Cyclopea*, los naturales de
“ América del Sud (Paraguay) en el *Ilex* paragua-
“ riensis y semillas de *Paulinia sorbilis*, y los in-
“ dios de los Apalaches de la América del Norte,
“ en las hojas de muchas clases de *Ilex*. (2)

“ Este fenómeno es tanto más maravilloso con-
“ siderando que la cafeína no puede ser descubier-
“ ta ni por su olor ni por su sabor. A ello debe
“ agregarse que este alimento tan buscado tiene
“ afinidades con un componente de nuestros teji-
“ dos. Será este accidental? O debemos pensar que
“ la molécula de la cafeína en razón de su consti-
“ tución sea capaz de penetrar en los mismos te-
“ jidos en los cuales se encuentra la xantina y lue-

(1) Bunge. Trattato di Chimica Fisiologica, pág. 117.
Traduzione del Prof. Pietro Albertoni.

(2) El autor se refiere a las hojas del “*Ilex vomitoria*”,
que constituyen el té de los Apalaches, las que preparadas en
infusión tienen propiedades eméticas.

“ go como tal o modificada ejerza una acción ex-
“ citante?”

Opiniones tan autorizadas reafirman nuestra convicción de que es menester aplicar medidas adecuadas para impedir la adulteración de un producto que en nuestro país se consume en mayor proporción que otros dotados de cualidades análogas, y que provisionalmente en base de los conocimientos actuales podrían ser adoptadas las proposiciones siguientes:

- 1.º La designación de *Yerba Mate* quedará reservada únicamente para mencionar las hojas desecadas y pulverizadas de las diferentes especies de *Ilex* de la familia de las Aquifoliáceas.
- 2.º La cantidad de cafeína (mateína ?) no deberá ser inferior en ningún caso a 0gr.80 por ciento, calculada sobre substancia seca.
- 3.º Para la determinación del alcaloide se adoptará como método oficial el de Dommergue y Nicolás, con las modificaciones indicadas.
- 4.º Deberá prohibirse la agregación de los tallos en cualquier proporción, pudiéndose utilizar estos en la preparación industrial de la cafeína (mateína?) previa comprobación de su identidad química y efectos fisiológicos.

5.º Será de suma conveniencia para los altos intereses del país que el Gobierno Nacional, fundado en los informes de sus oficinas técnicas fomente la producción, dictando las leyes protectoras que sean indispensables para su mejor evolución.

La Plata, Junio 21 de 1918

La Plata, Julio 23 de 1918

Presentada en la fecha, por disposición del Señor Director, pase a estudio de la Comisión examinadora.

Carlos E. Heredia.
Secretario

La Plata, Julio 25 de 1918

La Comisión examinadora que suscribe considera que la tesis del ex-alumno Señor Antonio Ceriotti, puede aceptarse.

E. Herrero Ducloux. — P. T. Vignau. — A. Cogliati. — Leopoldo Herrero Ducloux. — Carlos E. Heredia.

PROPOSICIONES ACCESORIAS

1.^a Concepto moderno de glucósidos.

Dr. E. Herrero Ducloux.

2.^a Elección de métodos y valor de la determinación del extracto acuoso en los análisis de yerba mate.

Dr. Pedro T. Vignau.

3.^a Estado bajo el cual pueden encontrarse las materias grasas en los tejidos animales y vegetales, y su determinación cuantitativa.

Dr. Guillermo F. Schaefer.

La Plata Agosto 16 de 1918

•

•

BIBLIOGRAFIA

[1]—*E. y L. Herrero Ducloux*. — Datos analíticos de la Yerba mate y sus falsificaciones. Buenos Aires, 1915.

En este importante trabajo se incluye la bibliografía completa sobre la Yerba mate y sus falsificaciones, publicada hasta el mes de Agosto de 1915, fecha de su aparición.

[2]—*Primer Congreso Farmacéutico Argentino*. — Actas y trabajos. Julio 23|30 de 1916.

[3]—*Armand Gautier*. — L'alimentation et les régimes. Paris, 1908, pág. 374.

[4]—*Compte Rendu* des travaux du deuxième Congrès International pour la répression des fraudes. Paris, Octobre 1909, pág. 748.

[5]—*J. Koenig*. — Chemie der menschlichen Nahrungs und Genussmittel. Pág. 1109.

[6]—*Icilio Guareschi*. — Commentario della Farmacopea Italiana. Milano, 1897, II 1a. parte, página 500.

[7]—*Dirección General de Estadística de la Nación*. — Boletín N.º 175, de 1917.

[8]—*Bentham y Hooker*.— Genera plantarum

[9]—*A. Engler*. — Icacinacea in Flora Brasiliensis xii—2 t. 9-12, p. 54.

[10]—*Revista Chilena de Historia Natural*. — Año xxi (1917), págs. 127-136.

[11]—*A. Villiers, E. Collin, M. Fayolle*.—Traité des falsifications et alterations des substances alimentaires. Paris, 1909. III, pág. 365.

[12]—*Miers*. — Contrib. to Botany. I, pág. 48. II, pág. 114.

[13]—*H. Baillon*. — Histoire des plantes, V, p. 277 a 289-328 a 341.

[14]—*Beccari*. — Icacineae in Malesia I. p. 105-134, t. III. VII.

[15]—*A. Engler*. — Pflanzenfamilien, III. 5, p. 233.

[16]—*Venturi y Lillo*. — Contribución al conocimiento de los árboles de la Argentina. Buenos Aires, Agosto 1910, p. 30-31.

[17]—*Dragendorff y Schlagdenhauffen*—Analyse chimique des vegetaux, 1885. Encyclopedie chimique Fremy, t. X.

[18]—*Alfredo H. Allen*. — Commercial Organic Analysis. I. p. 429 y sig. Londres, 1898.

[19]—*Pedro N. Arata*. — Análisis inmediato de los vegetales. Tesis, 1879.

[20]—*H. R. Procter*. — Journ. Soc. Chem. Ind. xiii. 487.

[21]—*Farmacopea Nacional Argentina*—1898.

[22]—*R. Fresenius*. — Traité d'analyse chimique quantitative II. p. 1203.

[23]—*Gerard et Bonn*. — Traité Pratique d'analyse des denrées alimentaires. Paris, 1908.

[24]—*G. Pellerin*. — Guide pratique de l'expert Chimiste en denrées alimentaires. Paris 1910, p. 636.

[25]—*VI. Congresso Internazionale di Chimica Applicata*.—Roma, 26 Aprile, 3 Maggio 1906. VII. Volume, p. 571.

[26]—*M. Berthelot*.—Chimie végétale et agricole III. p. 217 y sig. Paris, 1899.

[27]—*Carlos A. Grau*.—Análisis de rocas carbonatadas. La Plata, 1917, p. 52.

[28]—*Carlos Friedheim*. — Précis d'analyse chimique quantitative des substances minérales. Paris, 1906, p. 342 y sig.

[29]—*F. P. Treadwell*. — Trattato di Chimica Analitica. II parte.

[30]—*Georges Denigés*. — Précis de Chimie Analytique. Paris, 1913. p. 591 y sig.

[31]—*Journal de Pharmacie et de Chimie*. — 1893, t. xxvii, p. 545.

[32]—*Juan A. Boeri*. — Tratado de Farmacognosia Vegetal y Animal. 1903. III. p. 256.

[33]—*K. Lendrich y E. Nottbohm*. — Zeitschr. f. Unters d. Nahrungs und Genussmittel. XVII, 249; XVIII, 299, Berlín, 1909; *J. Katz*, Arch. D. Pharm. XLII (1904).

[34]—*Anales de la Sociedad Química Argentina*. III Septiembre 1915. p. 371.

[35]—*Lemoine y Gerard*.—Consultations médicales.— 5.ª Edition, p. 259.

[36]—*J. Herail*. — *Traité de Pharmacologie*,
p. 360.

[37]—*Egidio Pollacci*. — *Corso di Chimica-
Medico-Farmaceutica e fisiologica. Parte orgáni-
ca.*—Serie grassa. p. 115.



Biblioteca Central
Fac. Cs. Exactas
U.N.L.P

DONACION.....
A.....
Fecha..... 20-8-99
Inv. E..... Inv..... B. 56-318

