

EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES DEL EXTRACTO DE YERBA MATE PARA SU UTILIZACIÓN COMO ANTIOXIDANTE NATURAL EN FRUTAS FRESCAS CORTADAS

MARIANA RODRÍGUEZ ARZUAGA¹
ANDREA MARCELA PIAGENTINI²

Universidad Nacional del Litoral
Facultad de Ingeniería Química - Instituto de Tecnología de Alimentos
Santa Fe, Argentina
marianitarod.86@gmail.com¹, ampiagen@fiq.unl.edu.ar²

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, los cambios en el estilo de vida de las personas junto con la concientización de los consumidores sobre la alimentación saludable, han generado una demanda creciente de frutas y vegetales mínimamente procesados, con atributos de calidad similares a los de los productos frescos (Soliva-Fortuny *et al.*, 2001). Las frutas y hortalizas mínimamente procesadas o frescas cortadas se pueden definir como aquellas que en su preparación para el consumo, han sufrido un procesamiento mínimo que incluye las etapas de lavado, acondicionamiento, pelado y cortado, entre otros. También puede incluirse una etapa de tratamiento químico con agentes antioxidantes y antimicrobianos (Ahvenainen, 1996; Pirovani *et al.*, 2001; Piagentini *et al.*, 2003; Allende *et al.*, 2006). El color de superficie es uno de los atributos de calidad más importantes porque los consumidores usualmente juzgan la calidad de frutas y vegetales frescos cortados en base a su apariencia. La vida útil de estos productos está acotada por los daños fisiológicos que resultan de las operaciones esenciales de procesamiento, que incluyen pelado, descorazonado y cortado (Jang y Moon, 2011). Estas operaciones causan el oscurecimiento de las superficies cortadas al poner en contacto enzima y sustrato. El pardeamiento enzimático involucra la oxidación enzimática inicial de los compuestos fenólicos localizados principalmente en la vacuola, por la enzima polifenoloxidasas (PPO), ubicada en el citoplasma, para formar quinonas. La adición de agentes químicos es la forma más común de controlar el pardeamiento y el ácido ascórbico es uno de los agentes más utilizados para este fin. El interés en la utilización de compuestos naturales para prevenir la pérdida de calidad en estos productos ha aumentado considerablemente en respuesta al deseo del consumidor de reducir o eliminar los aditivos sintetizados químicamente de los alimentos (Alandes *et al.*, 2009). Martín-Diana *et al.* (2008) estudiaron la utilización del extracto de té verde como un antioxidante natural, para extender la vida útil de lechuga fresca cortada y concluyeron que es un método de preservación satisfactorio si se aplica a bajas concentraciones. El “mate” es una bebida tradicional ampliamente consumida en Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay, que consiste en una infusión de las hojas desecadas y molidas de *Ilex paraguariensis* St. Hill., *Aquifoliaceae* (comúnmente conocidas por el nombre de yerba mate) (Dellacassa y Bandoni, 2001; Heck & Mejía, 2007). Se ha encontrado que el consumo de “mate” contribuye significativamente a la ingesta general de antioxidantes y provee grandes cantidades de derivados del ácido *caffeoylquinico* (Heck y Mejía, 2007). El alto contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del “mate” lo convierten en un posible candidato para inhibir el desarrollo de pardeamiento enzimático en frutas frescas cortadas. Martín *et al.* (2010) aplicaron infusiones de yerba mate al 1 y 2% (m/v) a extractos de la enzima PPO de manzanas variedad *Princesa* y concluyeron que los extractos de yerba mate (YM) ejercen un efecto inhibitorio importante sobre la actividad de dicha enzima. Sin embargo, la infusión de YM presenta un color amarillo verdoso por lo que, para evitar que el producto fresco cortado adquiera el color de la infusión, ésta debe ser previamente decolorada.

¹ M. RODRÍGUEZ ARZUAGA

² A. M. PIAGENTINI

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo fue estudiar las propiedades de infusiones de yerba mate (YM) de distinta concentración y con diferente grado de decoloración, para evaluar su utilización como inhibidores del pardeamiento enzimático en frutas frescas cortadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Para la preparación de las infusiones se utilizó yerba mate (YM) comercial de origen argentino, del mismo año de producción y lote, adquirida en un comercio de la zona.

Preparación de extractos de YM

Se calentaron 500 mL de agua hasta 90°C. Una vez alcanzada la temperatura se detuvo el calentamiento y se agregaron 10 y 20 gramos de YM, para las infusiones al 2 y 4% (m/v), respectivamente. Se agitó y la solución tapada se dejó en reposo durante 5 minutos. Al cabo de este tiempo se realizó una filtración con algodón y se dejó alcanzar la temperatura ambiente. Se agregó agua hasta alcanzar un volumen total de 500 mL y la solución fue nuevamente filtrada, esta vez utilizando papel de filtro.

Decoloración de los extractos de YM con carbón activado (CA)

Se tomó una alícuota de 50 mL del extracto de YM y se le agregaron 0,05; 0,1; 0,15; 0,20; 0,30; 0,40 y 0,5 gramos de CA (según se quisiera preparar la solución con 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8 o 1,0 % (m/v)). Se agitó durante 1 minuto y se filtró con papel de filtro *Whatman* 42. Las muestras se prepararon por duplicado.

Determinación de color

El color de los extractos se determinó utilizando un espectrofotómetro Minolta 508d/8, en las siguientes condiciones: iluminante D65, ángulo del observador 10°, SCE (componente especular excluido), evaluándose los parámetros correspondiente al sistema CIE: L*, a*, b*, C_{ab}* y h_{ab}.

Compuestos polifenólicos totales

Los polifenoles totales se determinaron de acuerdo al método de Folin-Ciocalteu modificado por Singleton y Rossi (1965). El método adaptado se basa en que los fenoles son oxidados bajo condiciones alcalinas, alcanzando un máximo en la absorbancia a 760 nm. Se utilizó una curva de calibración de ácido gálico. Las medidas se realizaron en un espectrofotómetro UV-Visible de 200 - 1000 nm - MILTON ROY- Spectronic Génesis 5. Los análisis se realizaron por triplicado y el resultado se expresó en miligramos de ácido gálico equivalente (AGE) por 100 mL de solución.

Capacidad antioxidante

- Reacción con el radical DPPH*

La actividad antirradicalaria de los extractos se cuantificó por la medida de la disminución de la absorbancia de una solución metanólica de DPPH* de 30 mg/L a 517 nm en presencia del extracto de la muestra, después de 30 min de reacción. La actividad antioxidante se expresó como capacidad antioxidante equivalente al ácido ascórbico (AEAC) usando la ecuación de Lim *et al.* (2007) adaptada:

$$\text{AEAC (mg AA/100 mL de extracto)} = (\text{IC}_{50(\text{AA})} / \text{IC}_{50(\text{muestra})}) * 100$$

Donde: IC_{50(AA)} es la cantidad de ácido ascórbico en 1 ml de reacción necesaria para disminuir al 50% la concentración inicial de DPPH*, obtenida de la gráfica de % de DPPH* remanente vs. Concentración (mg de AA/ml reacción).

IC_{50} (muestra) es la cantidad de muestra en 1 ml de reacción necesaria para disminuir al 50% la concentración inicial de DPPH*, obtenida de la gráfica de % de DPPH* remanente vs. Concentración (mL de extracto/ml de reacción).

$$\% \text{ de DPPH}^*_{\text{remanente}} = [A_{\text{muestra}}/A_{\text{control}}]*100$$

Donde: A_{muestra} = absorbancia muestra

A_{control} = absorbancia solución de DPPH*

- Actividad antioxidante por el método FRAP (*ferric reducing-antioxidant power*)

El ensayo de FRAP se llevó a cabo de acuerdo al método propuesto por Rodríguez Vaquero *et al.* (2010), que es una modificación del método original de Benzie y Strain (1996). El reactivo FRAP se preparó con un buffer acetato 300 mM (pH 3,6), una solución de 10 mM de TPTZ en HCl 40 mM y una solución de cloruro de hierro (III) 20mM, en una proporción de 10:1:1 (v/v), respectivamente. El reactivo FRAP fue preparado el día del análisis y se mantuvo a 37°C hasta el momento de su utilización. Se agregaron 50 μ L de muestra a 1,5 mL de reactivo de FRAP y se midió la absorbancia a 593 nm al cabo de 4 minutos. Se utilizó una curva de calibración de sulfato de hierro (II) y los resultados se expresaron en μ moles de Fe/100 mL de extracto. Todas las medidas se realizaron por triplicado.

Análisis estadístico

Se realizó un ANOVA unifactorial para comparar los resultados obtenidos para las distintas concentraciones de CA. Se utilizó el Test de Tukey, con un nivel de confianza del 95% para detectar diferencias significativas entre muestras. Se utilizó el software Statgraphics Centurion XV versión 15.2.06.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Color

Figura 1.a. Imagen de las infusiones preparadas con 2% de YM y distintas concentraciones de CA.

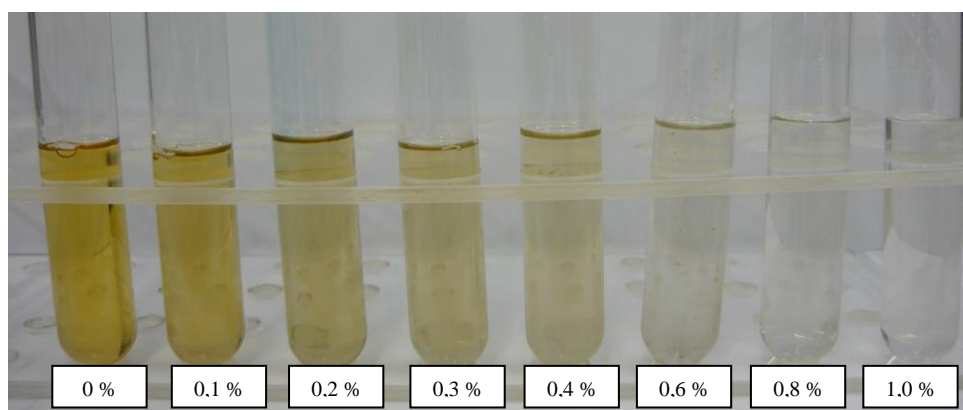


Figura 1.b. Imagen de las infusiones preparadas con 4% de YM y distintas concentraciones de CA.

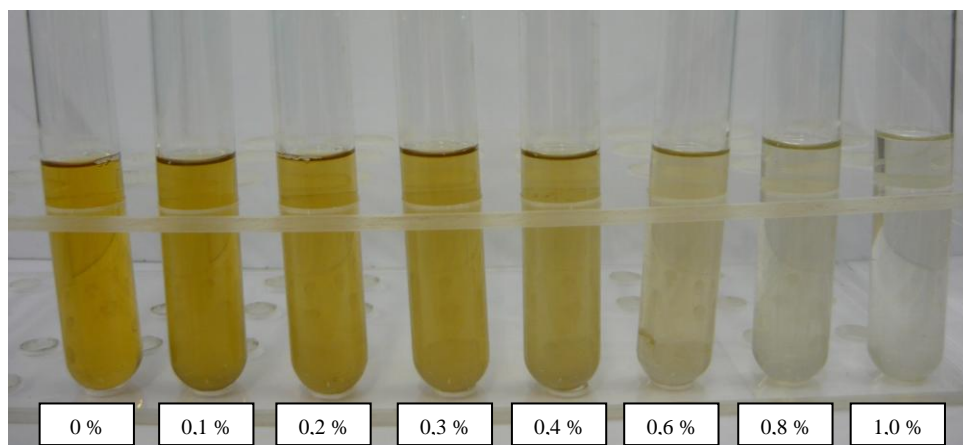


Tabla 1. Color de las infusiones de YM al 2%.

Conc. CA (%)	L*	a*	b*	C _{ab} *	h _{ab}
0	36,72 ± 0,66 ^a	1,54 ± 0,05 ^c	21,44 ± 0,13 ^f	21,49 ± 0,12 ^f	85,89 ± 0,16 ^c
0,1	37,78 ± 0,24 ^b	1,61 ± 0,08 ^c	26,99 ± 0,33 ^g	27,04 ± 0,34 ^g	86,58 ± 0,13 ^c
0,2	38,19 ± 0,27 ^b	0,47 ± 0,15 ^b	16,42 ± 0,38 ^e	16,42 ± 0,38 ^e	88,36 ± 0,49 ^d
0,3	40,05 ± 0,09 ^c	0,32 ± 0,02 ^b	13,42 ± 0,08 ^d	13,42 ± 0,08 ^d	88,61 ± 0,09 ^{d,e}
0,4	41,31 ± 0,15 ^d	0,37 ± 0,04 ^b	10,66 ± 0,03 ^c	10,66 ± 0,03 ^c	89,51 ± 0,17 ^e
0,6	42,66 ± 0,47 ^e	0,41 ± 0,03 ^b	5,78 ± 0,12 ^b	5,79 ± 0,13 ^b	85,97 ± 0,19 ^c
0,8	44,44 ± 0,12 ^f	0,38 ± 0,03 ^b	4,23 ± 0,06 ^a	4,25 ± 0,06 ^a	84,85 ± 0,41 ^b
1,0	45,46 ± 0,23 ^g	0,50 ± 0,06 ^b	4,33 ± 0,14 ^a	4,36 ± 0,15 ^a	83,39 ± 0,71 ^a

Promedios ± desviación estándar. Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre las distintas concentraciones de carbón activado.

La Tabla 1 presenta los resultados de color obtenidos para las infusiones preparadas con 2% de YM. Salvo en el caso de los extractos con 0,1 y 0,2% de CA, donde no se detectaron diferencias significativas, se observa que al aumentar la concentración de CA aumenta L*, o sea que la luminosidad aumenta y por lo tanto las infusiones se van aclarando. No existe diferencia significativa entre los valores de a* de las infusiones con 0 y 0,1% de CA, y éstas a su vez presentan el mayor valor de a*, aunque los resultados obtenidos para todas las muestras fueron muy bajos. No existe diferencia significativa entre los valores de b* de las infusiones con 0,8 y 1,0% de CA. b* aumenta al disminuir el porcentaje de CA, hasta la concentración 0,1% y se observa una disminución en la infusión sin CA. El parámetro C_{ab}* (chroma) representa la intensidad del color y se calcula como $\sqrt{a^2+b^2}$. C_{ab}* presentó el mismo comportamiento que b*. h_{ab} (hue) representa el ángulo de tono y se calcula como $\arctan(b^*/a^*)$. El menor valor de h_{ab} se detectó en la solución con mayor concentración de CA, pero básicamente todas las muestras presentaron un color muy cercano al amarillo puro (h_{ab} = 90°) y la intensidad (C_{ab}*) y claridad (L*) de su color se redujo con el aumento de la concentración de CA.

Tabla 2. Color de las infusiones de YM al 4%.

Conc. CA (%)	L*	a*	b*	C _{ab} *	h _{ab}
0	34,81 ± 0,67 ^a	4,11 ± 0,23 ^c	31,34 ± 0,34 ^f	31,60 ± 0,36 ^f	82,54 ± 0,37 ^a
0,1	34,27 ± 0,08 ^a	2,97 ± 0,03 ^d	28,00 ± 0,13 ^e	28,15 ± 0,13 ^e	83,95 ± 0,05 ^b
0,2	34,92 ± 0,35 ^a	2,55 ± 0,09 ^d	24,69 ± 0,24 ^e	24,82 ± 0,25 ^e	84,10 ± 0,15 ^b
0,3	34,69 ± 0,17 ^a	1,85 ± 0,31 ^c	21,22 ± 2,71 ^d	21,30 ± 2,72 ^d	85,05 ± 0,28 ^b
0,4	36,18 ± 0,34 ^b	0,86 ± 0,06 ^b	17,67 ± 1,83 ^c	17,69 ± 1,83 ^c	87,20 ± 0,17 ^c
0,6	38,88 ± 0,36 ^c	-0,0033 ± 0,1041 ^a	12,24 ± 0,32 ^b	12,24 ± 0,32 ^b	90,03 ± 0,51 ^e
0,8	41,32 ± 0,26 ^d	0,14 ± 0,08 ^a	5,56 ± 0,14 ^a	5,56 ± 0,14 ^a	88,59 ± 0,80 ^d
1,0	43,95 ± 0,24 ^e	0,18 ± 0,06 ^a	6,13 ± 0,06 ^a	6,14 ± 0,06 ^a	88,28 ± 0,50 ^{c,d}

Promedios ± desviación estándar. Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre las distintas concentraciones de carbón activado.

En la Tabla 2 se observa que para las infusiones preparadas con 4% de YM, el L* se mantiene constante en los extractos con concentraciones entre 0 y 0,3% de CA y a partir de esta concentración el L* aumenta con la concentración de CA. Las muestras con 1,0; 0,8 y 0,6% de CA presentan el menor valor de a* (menos rojo). En general el valor de b* disminuye con la concentración de CA, salvo en el caso de 0,8-1,0 y 0,1-0,2 % de CA, donde no existen diferencias significativas. Al igual que en los extractos con 2% de YM, C_{ab}* se comporta de igual forma que b*.

Comparando los resultados presentados en las Tablas 1 y 2 y las Figuras 1.a y 1.b, se observa claramente que, como era de esperarse, al duplicar la concentración de YM se requiere un nivel superior de CA para alcanzar un grado aceptable de decoloración. Mientras que para una concentración de YM del 2%, se obtiene un color de infusión aceptable mediante la utilización de 0,3% de CA, al duplicar el porcentaje de YM se requiere una aplicación de al menos, 0,6% de CA.

Compuestos polifenólicos totales

En la Tabla 3 se presenta el contenido de polifenoles totales de las distintas infusiones. Los extractos sin decolorar presentan un alto contenido de polifenoles (109,36 y 194,38 mg AGE/100mL para 2 y 4% de YM, respectivamente). Bravo *et al.* (2007) determinaron el contenido de polifenoles totales en infusiones de tres YM comerciales diferentes, con una concentración del 1% y obtuvieron resultados que variaron entre 72,90 y 76,00 mg AGE/100mL. Rodríguez Vaquero *et al.* (2010) también estudiaron el contenido de polifenoles en *Ilex paraguariensis* obtenida en farmacia y obtuvieron un contenido de 92,5 mg AGE/100mL, para una concentración de 0,8%. Si bien, ambas publicaciones reportan niveles superiores (aunque del mismo orden) a los obtenidos en el presente trabajo, es necesario tener en cuenta que existen muchos factores que influyen en la composición química de la YM, entre los que se destacan el contenido de palos y de polvo, el proceso industrial aplicado para la obtención de la YM comercial y el método de preparación del extracto. Por otro lado, Chandra y González de Mejía (2004) también estudiaron el contenido total de polifenoles del mate, obteniendo resultados similares a los aquí presentados.

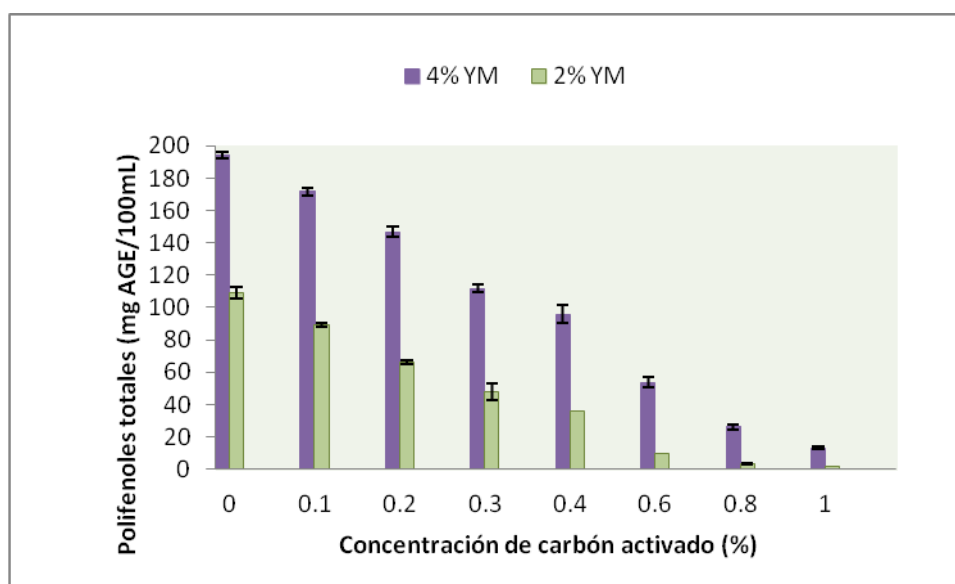
También puede observarse en la Tabla 3 que en todos los casos la concentración de polifenoles disminuye con la concentración de CA, salvo en el caso de las infusiones con 2% de YM y 0,8 y 1,0% de CA, donde no se detecta diferencia significativa en el contenido polifenólico. El descenso de los valores se representa gráficamente en la Figura 2. Rodríguez Vaquero *et al.* (2010) determinaron el contenido de polifenoles en una infusión con 0,8% de YM (m/v) sin clarificar y en una infusión con igual concentración de YM y 3% (m/v) de CA y detectaron un fuerte descenso en el contenido de polifenoles. Obtuvieron como resultado concentraciones de 92,5 y 0,6 mg AGE/100 mL, respectivamente.

Tabla 3. Contenido de polifenoles totales.

Concentración CA (%)	Concentración de polifenoles totales (mg AGE/100mL)	
	2% YM	4% YM
0	109,36 ± 3,48 ^g	194,38 ± 2,12 ^h
0,1	89,27 ± 1,26 ^f	171,61 ± 2,09 ^g
0,2	66,42 ± 1,10 ^e	146,81 ± 2,95 ^f
0,3	47,82 ± 4,84 ^d	111,84 ± 2,14 ^e
0,4	35,59 ± 0,27 ^c	95,91 ± 5,57 ^d
0,6	9,89 ± 0,03 ^b	53,81 ± 2,95 ^c
0,8	3,32 ± 0,09 ^a	26,29 ± 1,63 ^b
1,0	1,57 ± 0,01 ^a	13,22 ± 0,56 ^a

Promedios ± desviación estándar. Letras distintas indican diferencia significativas ($p < 0,05$) entre las distintas concentraciones de carbón activado.

Figura 2. Contenido de polifenoles totales según concentración de YM y CA.



Las barras sobre las columnas indican la desviación estándar.

Actividad antioxidante

La capacidad antioxidante de los extractos se determinó por dos métodos, el de la reacción con el radical DPPH* y FRAP. Ambos métodos presentaron una muy buena correlación, obteniéndose un $R^2 > 0,99$ tanto para las infusiones con 2% (no se muestran los datos) como para las de 4% de YM (Figura 3). Esto indica que ambos métodos son equivalentes y son adecuados para la determinación de la actividad antioxidante en este tipo de infusiones.

Tal como se esperaba, los extractos de YM sin decolorar presentaron actividades antioxidantes muy altas, que fueron decreciendo al aumentar el grado de decoloración (Tabla 4, Figuras 4 y 5). En el caso de las infusiones con 2% de YM, los niveles de CA de 1,0; 0,8 y 0,6% presentaron una AEAC similar, que fue aumentando al disminuir la concentración de CA. En el caso del método del FRAP, los resultados arrojan que las infusiones con 1,0-0,8% y 0,8-0,6% de CA no presentan diferencias significativas respectivamente, y que las diferencias sí se vuelven significativas al ir disminuyendo el porcentaje de CA. Por otro lado, las infusiones con 4% de YM presentaron un aumento constante de la AEAC al ir disminuyendo el nivel de CA, salvo en el caso de los extractos con 0 y 0,1%, que no presentaron diferencias significativas. En el caso del FRAP, los μ moles de Fe/100 mL fueron similares desde el punto de vista estadístico en las

infusiones con 0,8 y 1,0% de CA, mientras que las diferencias se tornaron significativas al ir disminuyendo el grado de decoloración.

Se encontró una excelente correlación entre el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante determinada por ambos métodos ($R^2 > 0,98$ para ambas concentraciones de YM y ambos métodos de actividad antioxidante, no se presentan los datos de AEAC versus contenido de polifenoles). En la Figura 6 se presenta la relación entre la actividad antioxidante determinada por FRAP y la concentración de polifenoles totales obtenida para las infusiones con 2% de YM. Estos resultados demuestran que la capacidad antioxidante de los extractos de YM, se explica por su contenido de compuestos polifenólicos. La actividad antioxidante de los fenoles se debe principalmente a sus propiedades redox, que les permiten actuar como agentes reductores, dadores de hidrógeno y captadores de oxígeno singlete (Kähkönen *et al.*, 1999).

Figura 3. Correlación entre la actividad antioxidante determinada por el método del radical DPPH* y por FRAP para las infusiones con 4% de YM.

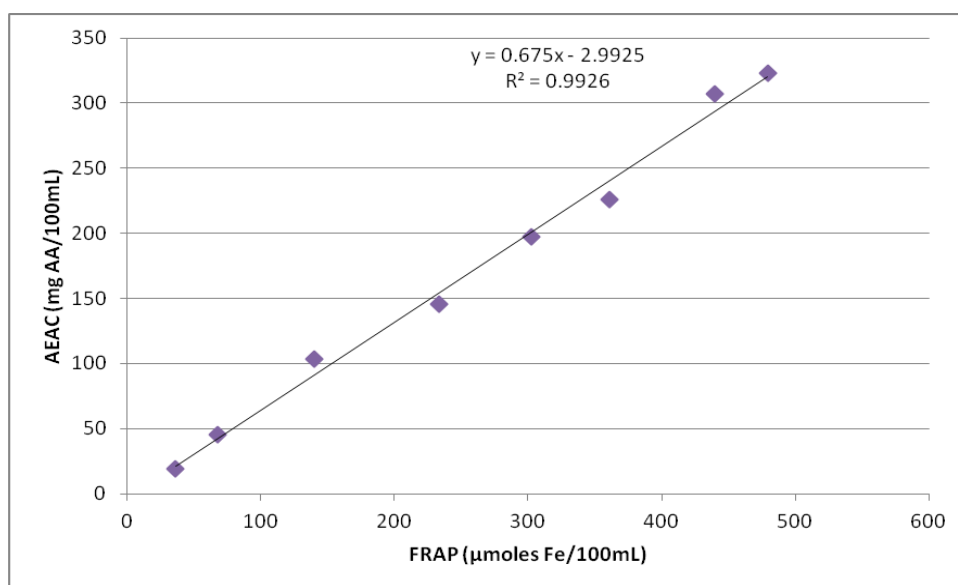


Tabla 4. Actividad antioxidante de las infusiones de YM, determinada por dos métodos distintos.

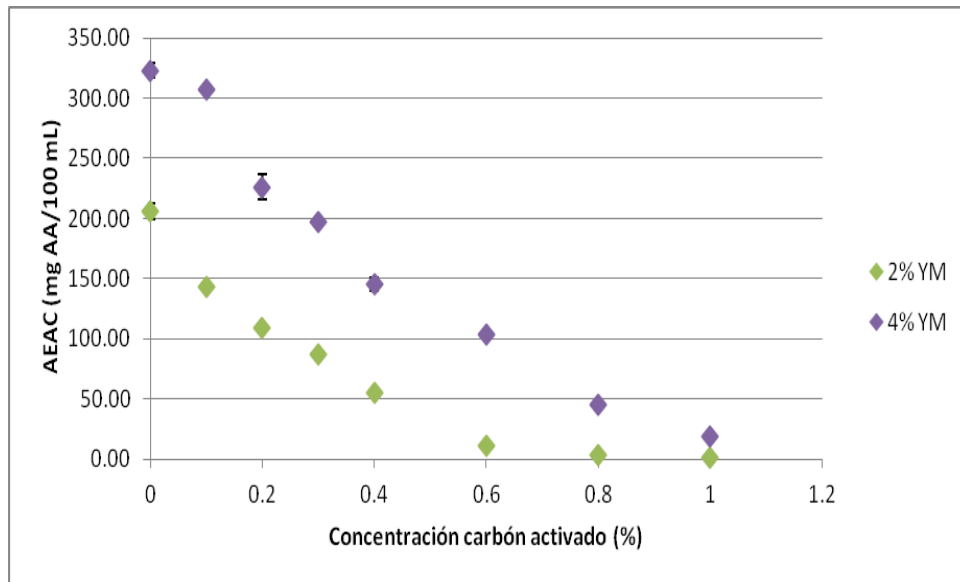
Concentración CA (%)	Actividad antioxidante			
	2% YM		4% YM	
	AEAC (mgAA/100mL)	FRAP (µmolesFe/100mL)	AEAC (mgAA/100mL)	FRAP (µmolesFe/100mL)
0	205,88 ± 6,79 ^f	246,17 ± 11,82 ^g	323,05 ± 5,69 ^g	479,43 ± 17,89 ^g
0,1	143,72 ± 2,97 ^e	200,28 ± 2,07 ^f	307,08 ± 1,87 ^g	440,14 ± 31,49 ^f
0,2	108,62 ± 8,57 ^d	143,40 ± 1,66 ^e	226,04 ± 10,54 ^f	361,18 ± 2,06 ^e
0,3	86,60 ± 3,21 ^c	119,71 ± 1,55 ^d	197,26 ± 0,10 ^e	302,65 ± 4,23 ^d
0,4	55,04 ± 1,91 ^b	75,44 ± 0,31 ^c	145,46 ± 5,41 ^d	233,70 ± 3,10 ^c
0,6	10,78 ± 1,45 ^a	20,88 ± 0,54 ^b	103,69 ± 1,22 ^c	139,79 ± 1,00 ^b
0,8	3,28 ± 0,36 ^a	7,05 ± 0,15 ^{a,b}	45,41 ± 2,25 ^b	67,45 ± 2,55 ^a
1,0	1,18 ± 0,01 ^a	2,58 ± 0,02 ^a	18,77 ± 0,62 ^a	36,07 ± 1,13 ^a

Promedios ± desviación estándar. Letras distintas indican diferencia significativas ($p < 0,05$) entre las distintas concentraciones de carbón activado.

Como se dijo anteriormente, las infusiones con 2 y 4% de YM requieren como mínimo un 0,3% y un 0,6% de CA para obtener una decoloración apreciable, respectivamente. A su vez, en el caso del 2% de YM la aplicación de una

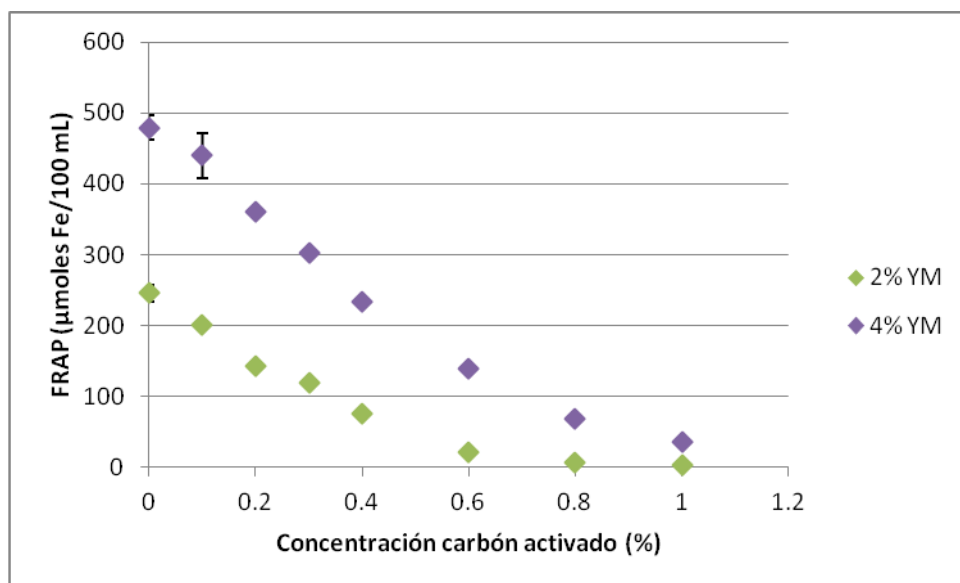
concentración de CA superior al 0,3 genera una pérdida de polifenoles y por lo tanto de actividad antioxidante, significativa y lo mismo ocurre en el caso de la solución al 4% de YM, si el nivel de CA supera el 0,6%.

Figura 4. Actividad antioxidante de las infusiones de YM según la concentración de CA, determinada por el método del radical DPPH*.



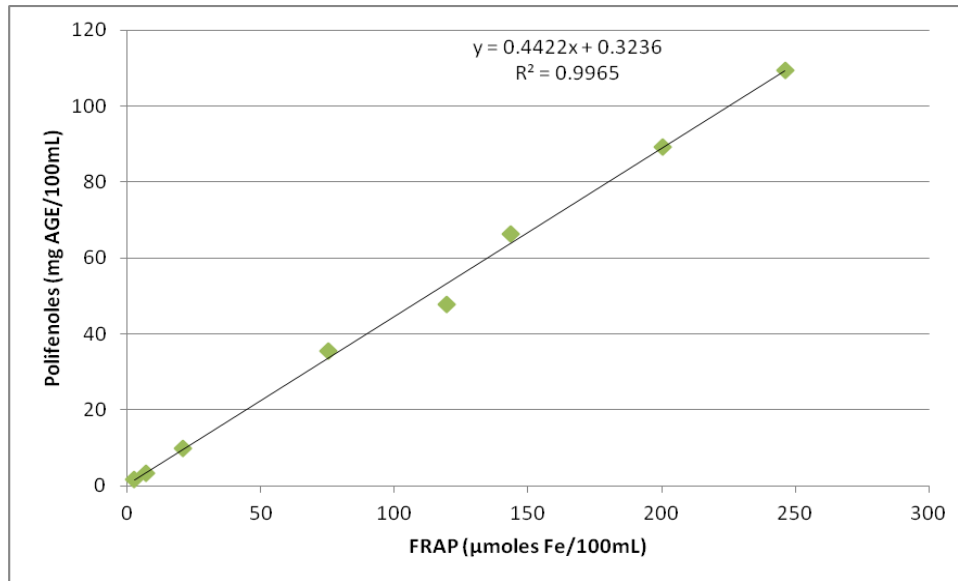
Las barras sobre los puntos representan la desviación estándar.

Figura 5. Actividad antioxidante de las infusiones de YM según la concentración de CA, determinada por el método FRAP.



Las barras sobre los puntos representan la desviación estándar.

Figura 6. Correlación entre el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante determinada por FRAP, para las infusiones con 2% de YM.



CONCLUSIONES

La infusión de YM resulta apropiada para la aplicación en frutas frescas cortadas, debido a su alta concentración en compuestos bioactivos (polifenoles) con actividad antioxidante. Para concentraciones de 2 y 4% de YM se requiere aplicar 0,3 y 0,6% de CA respectivamente, para obtener extractos con un color apropiado, pero que a la vez mantengan la actividad antioxidante necesaria para evitar el pardeamiento enzimático y por lo tanto, extender la vida útil de las frutas frescas cortadas.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado con fondos de Universidad Nacional del Litoral a través de la programación CAI+D 2009 PI N° 103 Programa 18.

REFERENCIAS

- Alandes L., Quiles A., Pérez-Munuera I. y Hernando I. (2009). Improving the quality of fresh-cut apples, pears and melons using natural additives. *J Food Sci.*, 74:90-96.
- Allende, A.; Barberán, F.; Gil, M.I. (2006). Minimal processing for healthy traditional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 17:513-519.
- Ahvenainen, R. (1996). New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruits and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, 71:179-187.
- Benzie I.F.F. y Strain J.J. (1996). The ferric reducing ability plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239:70-76.

- Brand-Williams, M.; Cuvelier, M. E. y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensm-Wise U. Technology*, 28:25-30.
- Bravo L., Goya L. y Lecumberri E. (2006). LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. *Food Research International*, 40:393-405.
- Chandra S. y González de Mejía E. (2004). Polyphenolic compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to mate (*Ilex paraguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas. *J. Agric. Food Chem.*, 52:3583-3589.
- Dellacassa E. y Bandoni A.L. (2001). El mate. *Revista de Fitoterapia*, 4:269-278.
- Heck C.I. y Mejía E.G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. *J Food Sci.*, 72:138-151.
- Jang J. y Moon K. (2011). Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. *Food Chem.*, 124:444-449.
- Kähkönen M.P., Hopia A.I., Vuorela H.J., Rauha J., Pihlaja K., Kujala T.S. y Heinonen M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 47:3954-3962.
- Lim, Y.Y.; Lim. T.T.; Tee. J.J. (2007). Antioxidant properties of several tropical fruits: a comparative study. *Food Chem.*, 103:1003-1008.
- Martín, L.; Bernardi, C.; Piagentini, A.M. (2010). "Inhibición de la actividad de la enzima polifenoloxidasas de manzana var. Princesa con extractos de yerba mate". Actas de la XVIII Jornadas de Jóvenes Investigadores, Asociación de Universidades Grupo Montevideo (AUGM), Santa Fe, Argentina. Versión CD. ISBN: 978-987-657-504-1.
- Martín-Diana A.B., Rico D. y Barry-Ryan C. (2008). Green tea extract as a natural antioxidant to extend the shelf life of fresh-cut lettuce. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9:593-603.
- Piagentini, A.M., Güemes, D.R., Pirovani, M.E. (2003) Mesophilic aerobic population of fresh-cut spinach as affected by chemical treatment and type of packaging film. *J Food Sci.* 68:602-607.
- Pirovani, M.E., Güemes, D.R. y Piagentini, A.M. (2001). Predictive models for available chlorine depletion and total microbial count reduction during washing of fresh-cut spinach. *J. Food Sci.*, 66:860-864.
- Rodríguez Vaquero M.J., Tomassini Serravalle L.R., Manca de Nadra M.C. y Strasser de Saad A.M. (2010) Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from Argentinean herbs infusions. *Food Control*, 21:779-785.
- Singleton, V. L. y Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16:144-158.
- Soliva-Fortuny R.C., Grigelmo-Miguel N., Odriozola-Serrano I., Gorinstein S. y Martín-Belloso O. (2001). Browning evaluation of ready-to-eat apples as affected by modified atmosphere packaging. *J. Agric. Food Chem.*, 49:3685-3690.