

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN FENÓLICA Y CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE DEL TÉ (*Camellia sinensis*) EN PRODUCTOS DE
DIFERENTES MARCAS COMERCIALIZADAS EN CHILE.**

FRANCISCO JOSÉ DE FERIA CARDET

Santiago, Chile

2011

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

**CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN FENÓLICA Y CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE DEL TÉ (*Camellia sinensis*) EN PRODUCTOS DE DIFERENTES
MARCAS COMERCIALIZADAS EN CHILE.**

**CHARACTERIZATION OF PHENOLIC COMPOSITION AND ANTIOXIDANT
CAPACITY OF DIFFERENT TEA BRANDS (*Camellia sinensis*) TRADED IN
CHILE.**

FRANCISCO JOSÉ DE FERIA CARDET

Santiago, Chile

2011

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

**CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN FENÓLICA Y CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE DEL TÉ (*Camellia sinensis*) EN PRODUCTOS DE DIFERENTES
MARCAS COMERCIALIZADAS EN CHILE.**

Memoria para optar al Título Profesional de
Ingeniero Agrónomo

FRANCISCO JOSÉ DE FERIA CARDET

PROFESOR GUÍA:	Calificaciones
Álvaro Peña N. Ingeniero Agrónomo, Dr.	7,0
PROFESORES EVALUADORES:	
Ítalo Chiffelle G. Bioquímico, Dr.	7,0
Héctor Manterola B. Ingeniero Agrónomo, M.S.	6,5

Santiago, Chile

2011

INDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
El té	4
Clasificación.....	5
Composición	6
Antioxidantes	7
Compuestos Estimulantes	8
MATERIALES Y MÉTODOS	9
Lugar de estudio.....	9
Materiales.....	9
Metodología	10
Diseño Experimental y Análisis Estadístico	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
Fenoles Totales.....	12
Taninos Totales	13
Fenoles de Bajo Peso Molecular y Cafeína.....	16
Ácido gálico	18
Cafeína	18
Catequinas	19
Teaflavinas	20
Flavonoles	21
Color.....	22
Capacidad Antioxidante	24
CONCLUSIONES	27
BIBLIOGRAFÍA	28

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la composición fenólica y la capacidad antioxidante de 20 productos de té verde y negro, adquiridos en un supermercado en la ciudad de Santiago de Chile, seleccionando productos dentro de un amplio rango de precios. Como procedimiento se utilizó la extracción líquida emulando el consumo doméstico del producto.

La determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu permitió observar una gran variabilidad del orden del 880 a 1822 mg de equivalentes de ácido gálico/L. En su conjunto, la variedad Darjeeling obtuvo mayores resultados, y las mezclas los menores.

El contenido de taninos totales fue en promedio significativamente mayor en el té negro (1013 mg/L) que en el verde (570 mg/L). Las variedades Darjeeling y Ceylán presentaron conjuntamente la mayor cantidad de estos compuestos.

Utilizando la técnica de HPLC-DAD se identificaron y cuantificaron los 8 compuestos de mayor presencia en las muestras, correspondientes a ácido gálico, epigallocatequina, cafeína, epigallocatequina galato, epicatequina galato, quercetina, kaempferol y teaflavina. El té negro mostró de manera significativa la mayor cantidad de los compuestos mencionados, a excepción de las catequinas, las cuales en promedio se encontraron en mayor cantidad en el té verde. Entre las muestras de té negro analizadas, Darjeeling mostró los mayores contenidos de catequinas. Por otro lado Ceylán exhibió mayor cantidad de teaflavinas, seguido por las mezclas y Darjeeling, mientras que en las muestras de té verde no se detectaron.

El color determinado a una longitud de onda de 420 nm reveló una alta correlación negativa de -0,82 con el total de catequinas. Las menor intensidad colorante y mayor contenido de fenoles fueron observados conjuntamente en las muestras de té verde y negro de la variedad Darjeeling.

La capacidad antioxidante medida a través de $ORAC_{-FL}$ y expresada como μM Equivalentes de Trolox/g fue considerablemente mayor (1426 - 2557,9 $\mu MET/g$) en el té verde que en el té negro (1020,2 - 1321,7 $\mu MET/g$), concordando con la mayor parte de la literatura citada.

Los resultados obtenidos proveen información sobre la composición fenólica y capacidad antioxidante de un número considerable de productos consumidos en Chile, y otorgan al consumidor la posibilidad de elegir objetivamente aquellos productos que reporten mayores efectos beneficiosos para su salud.

Palabras claves

Infusión, HPLC-DAD, Catequinas, Compuestos fenólicos.

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate the phenolic composition and antioxidant capacity of 20 different tea products (4 green and 16 black teas) purchased in a local supermarket of Santiago, Chile. Products were selected within a wide price range with the purpose of encompass most of the population consumption. In order to simulate household brewing conditions for a cup of tea, teas were prepared using an aqueous extraction procedure.

Determination of the total phenols by Folin-Ciocalteu method showed high variability among samples (880 to 1822 mg gallic acid equivalents/L). In average, the results were higher in Darjeeling variety, while blended teas showed the lowest values.

The total tannin content in black teas was in average (1013 mg/L) significantly higher than in green tea (570 mg/L). Both, Darjeeling and Ceylon exhibit the highest value of these compound types.

By using the technique of HPLC-DAD were identified and quantified the 8 major compounds present in the samples, corresponding to: gallic acid, epigallocatechin, caffeine, epigallocatechin gallate, epicatechin gallate, quercetin, kaempferol and theaflavin. Black tea samples presented the highest amount of the aforementioned compounds, with the exception of catechins, which on average were higher in green tea. Among the tested black teas samples Darjeeling variety showed the highest content of catechins. Ceylon exhibited the highest concentration of theaflavins, followed by blended teas and Darjeeling samples, while in Green tea theaflavins were not detected.

The color assay determined using a wavelength of 420 nm showed a high negative correlation of -0.82 with total catechins. Samples with less color intensity and higher content of phenols were both the green tea and Darjeeling variety.

The antioxidant capacity measured by ORAC_{FL} exhibited substantially higher ranges (1426 to 2557.9 μ MET/g) in green tea samples than in black tea samples (1020.2 to 1321.7 μ MET/g), agreeing with other authors.

The results provide information on the phenolic composition and antioxidant capacity of a considerable number of tea products consumed in Chile, and allow the consumer to objectively select those that generate greater benefits for their health.

KEYWORDS:

Infusion, HPLC-DAD, Catechins, Phenolic compounds.

INTRODUCCIÓN

Actualmente la nutrición se ha convertido en un factor eminentemente importante cuando se habla de salud, cada vez son más utilizados los términos de “alimentos nutraceuticos”, “funcionales”, “prebióticos y probióticos”, entre otros.

Los polifenoles exhiben una selección amplia y diversa de efectos beneficiosos tanto en las plantas como en los seres humanos. Por ejemplo, éstos son reconocidos como antioxidantes, hormonas, componentes de los aceites esenciales, neurotransmisores naturales y por poseer muchas funciones biológicas. Su capacidad antioxidante es conocida por conferir beneficios para la salud como reducir el riesgo de padecer ciertas enfermedades de tipo degenerativo. También aportan actividad antimicrobiana a la defensa propia de las plantas contra los patógenos invasores. Tanto la diversidad de su estructura, como la actividad de los compuestos fenólicos han dado lugar a una multiplicidad de áreas de investigación tales como la química, la biotecnología, la ecología, la fisiología, la nutrición, la medicina y la cosmética (Daayf y Lattanzio, 2008).

Las dietas ricas en frutas y vegetales promueven protección contra las enfermedades cardiovasculares y el cáncer, siendo este efecto protector atribuido principalmente a la abundancia de antioxidantes, incluyendo flavonoides, presentes en estos grupos de alimentos. Estudios realizados en la ciudad de Zutphen, Holanda, demostraron una correlación inversa entre el consumo de flavonoides en la dieta y la incidencia de enfermedades cardiacas e infartos (Hertog *et al.*, 1993). Estos resultados fueron confirmados posteriormente en el “Estudio de los siete países”, donde se demostró una correlación inversa entre el promedio diario de ingesta alimentaria de flavonoides y la mortalidad ajustada por edad causada por enfermedades del corazón después de 25 años de seguimiento (Hertog *et al.*, 1995).

La dieta mediterránea, característica de países como España, Grecia e Italia está determinada por un alto consumo de alimentos ricos en antioxidantes como aceite de oliva, frutas y vegetales. Esta dieta ha sido objeto de estudio de numerosos científicos y médicos, trascendiendo como el principal factor responsable de la denominada "paradoja francesa", vale decir, la extraordinariamente baja incidencia de mortalidad ocasionada por enfermedades cardiovasculares en la zona sur de Europa, a pesar de la coexistencia de factores de riesgo como el tabaquismo y el consumo de dietas ricas en grasas saturadas al mismo nivel que el resto de los países industrializados (De Lorgeril *et al.*, 2002).

En este sentido, las hojas del té contienen una serie de compuestos bioactivos que son responsables de las propiedades benéficas para la salud atribuidas a la bebida, entre estos los de mayor relevancia son los compuestos antioxidantes. Los polifenoles del té poseen fuertes propiedades de antioxidantes que destruyen los radicales libres de oxígeno, disminuyendo así el riesgo de padecer enfermedades degenerativas (Jain *et al.*, 2006).

El té

El té es una infusión realizada a partir de las hojas secas de *Camellia sinensis*, planta de hoja perenne nativa del sur de China, parte de la India, Birmania, Tailandia, Laos y Vietnam. Todas las variedades de té son producidas a partir de la misma planta. La planta del té requiere fundamentalmente climas cálidos y húmedos, con abundante presencia de lluvias, suelos ácidos y bien drenados (Harler, 1964).

El té es la bebida más consumida en el mundo después del agua. Chile en particular, es el mayor consumidor de té en América latina, aspecto que se ve reflejado en el elevado nivel de importaciones del producto con respecto al resto del continente (Balentine *et al.*, 1998; FAO, 2008). Según cifras que maneja la industria local, en el país se consumen 9500 toneladas de té al año, equivalentes a cerca de 700 g por persona (unas 350 bolsitas por persona en el año o 1 bolsita diaria). Le siguen Argentina con 300 g y Perú y Bolivia con 200 g. En el contexto mundial, Chile se encuentra entre los diez países de mayor consumo per cápita como se puede apreciar en la Figura 1 (INFOR, 2008).

La creciente popularidad del té ha sido consecuencia, adicionalmente a las características organolépticas propias de la bebida, de sus evidentes propiedades benéficas para la salud (Horžić *et al.*, 2009). Numerosos estudios epidemiológicos *in vitro* e *in vivo* han relacionado su consumo con efectos preventivos sobre cáncer (Khan y Hasan, 2008; Manna *et al.*, 2009), alzhéimer (Rezai-Zadeh *et al.*, 2005), enfermedades cardiovasculares (Arts *et al.*, 2001), disminución de colesterol plasmático (Vermeer *et al.*, 2008; Bursill *et al.*, 2000) y bacterias patógenas (Almajano *et al.*, 2008).

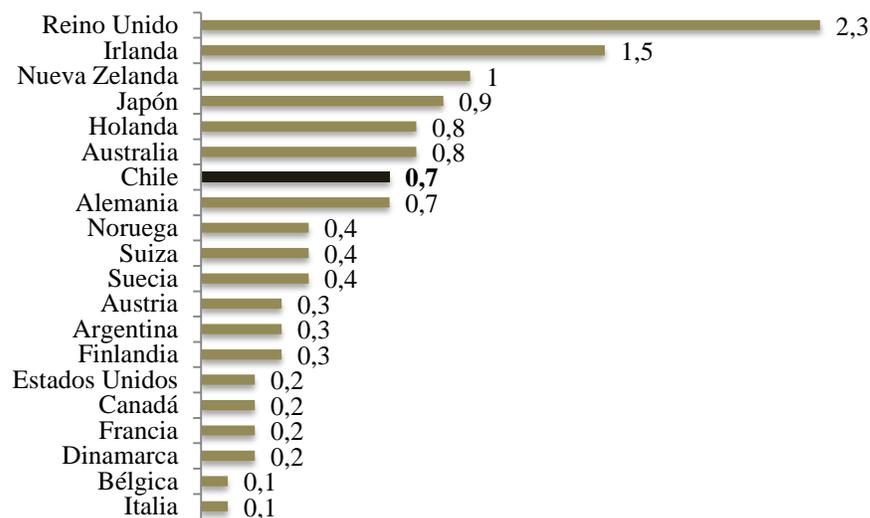


Figura 1. Consumo mundial per cápita de té (kg) (INFOR, 2008)

Clasificación

El té puede clasificarse de forma general en tres categorías: té verde (no fermentado), oolong (semi fermentado) y té negro, rojo o pu-erh (totalmente fermentado) (Lin *et al.*, 1998). El proceso comúnmente llamado fermentación involucra la oxidación enzimática de las catequinas y conduce a la formación de teaflavinas y tearubiginas, principales responsables del color en el té negro. Dicha reacción está catalizada por el complejo enzimático polifenol oxidasa presente en las hojas (Wheeler y Wheeler, 2004).

La producción del té negro involucra los siguientes procesos:

- 1. Marchitamiento:** Las hojas son sometidas a circulación de aire caliente provocando pérdida de humedad hasta alcanzar 55-65%. Las hojas se extienden en capas de 8 a 10 cm. Se distribuye aire caliente de los hornos de secado a través de las capas para facilitar la evaporación. Sistemas más modernos y eficientes utilizan canales en los cuales pueden ser secadas capas de hasta 30 cm de profundidad por un flujo forzado de aire caliente. El tiempo se reduce en estas técnicas. Ocurren cambios químicos y físicos independientes a la pérdida de humedad. Este proceso puede durar entre 6 a 18 horas.
- 2. Enrollamiento:** Dependiendo del sistema utilizado, las hojas pasan a través de cilindros o rodillos con texturas que la cortan y la maceran, alterando la estructura celular y permitiendo el contacto entre fenoles, enzimas oxidasas y oxígeno.
- 3. Fermentación:** El proceso de fermentación en realidad empieza al inicio del enrollamiento. Las hojas se permiten oxidar en camas de 5 a 8 cm en bandejas dentro de la sala de fermentación a temperaturas bajo 30°C y alta humedad. Este proceso permite la acción enzimática. Cambios en color, aroma y composición son relevantes. El tiempo de oxidación depende de la temperatura, grado de maceración, grado de marchitamiento y el tipo de té que se producirá. Puede durar entre 46 minutos y 3 horas.
- 4. Secado:** La fermentación termina en el secado. Por lo general se realiza pasando bandejas con hojas fermentadas a través de un secador de aire caliente en modo contracorriente. Las altas temperaturas interrumpen la actividad enzimática y reducen la humedad hasta 2-3%. La duración aproximada es de 20 minutos.
- 5. Selección:** A través de tamices se separan en distintos grados de tamaño de partícula, alguno de los grados de fragmentación más comunes (de mayor a menor) son: “orange pekoe” (OP), “pekoe”, “broken orange pekoe” (BOP), “broken orange pekoe fannings” (BOPF), “fannings” y “dust”. Además pueden ser aromatizados en esta etapa.

El proceso de producción del té verde difiere de la del té negro, principalmente en la carencia de fermentación. En este tipo de té, una vez cosechadas las hojas, son sometidas a vapor que inactiva la actividad enzimática y por lo tanto, impide la oxidación de los compuestos fenólicos (Balentine *et al.*, 1998).

Composición

Diversos factores determinan la composición química del té, siendo los más relevantes: la variedad, edad de las hojas, posición al cosechar, clima, las condiciones de cultivo (suelo, agua, fertilizantes, etc.) y el procesamiento; encontrándose de esta manera una variabilidad considerable tanto entre los distintos tipos de té como entre marcas comerciales de un mismo tipo (Fernández *et al.*, 2002). Debido a esta variabilidad, no existe una composición exacta de esta infusión. Datos basados en el extracto sólido del té verde y negro se pueden apreciar en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Composición del extracto sólido del té verde y negro.

Compuesto	Té (% MS)	
	Verde	Negro
Catequinas	30	9
Teaflavinas		4
Polifenoles simples	2	3
Flavonoles	2	1
Otros polifenoles	6	23
Teanina	3	3
Aminoácidos	3	3
Péptidos/proteínas	6	6
Ácidos orgánicos	2	2
Azúcares	7	7
Otros carbohidratos	4	4
Lípidos	3	3
Cafeína	3	3
Otras metilxantinas	< 1	< 1
Potasio	5	5
Otros Minerales/Cenizas	5	5
Aromas	Trazas	Trazas

Balentine *et al.* (1998). MS (Materia Seca)

Otro factor que interviene de manera considerable en la composición del extracto de té es el modo de preparación, donde los factores incidentes son principalmente el tiempo y la temperatura. Para efectos sensoriales comúnmente se recomiendan temperaturas de extracción distintas para cada tipo de té, no obstante, con el propósito de garantizar la mayor extracción de fenoles y compuestos estimulantes se recomienda preparar la infusión con agua a 100°C por 5 minutos (Khokhar y Magnusdottir, 2002), tiempos de extracción superiores no repercuten significativamente en los niveles de compuestos encontrados en la infusión final (Friedman *et al.*, 2005).

Antioxidantes

Los principales fenoles presentes en las hojas de té son los flavonoides, dentro de los cuales las catequinas constituyen hasta un 30% de la materia seca. Dependiendo de la configuración estereoquímica del 3',4'- dihidroxifenil y de los grupos hidroxilos en la posición 2 y 3 del anillo C, las catequinas del té se encuentran formando 2 isómeros: *trans*-catequinas y *cis*-epicatequinas. Cada uno de estos a su vez poseen dos isómeros ópticos: (+)-catequina y (-)-catequina, (-)-epicatequina y (+)-epicatequina, respectivamente. La (-)-catequina puede ser modificada por medio de una esterificación con ácido gálico para formar (-)-catequina-3-galato, (-)-epicatequina-3-galato, (-)-epigallocatequina-3-galato y (-)-galocatequina-3-galato (Friedman *et al.*, 2005).

Daayf y Lattanzio (2008) definen a los flavonoides como un extenso grupo de compuestos fenólicos producidos en el metabolismo secundario de las plantas. Las propiedades biológicas de los flavonoides pueden ser responsables de los beneficios para la salud atribuidas al consumo del té.

Freeman y Crapo, (1982), citados por Wheeler y Wheeler, (2004) describen que durante la actividad metabólica de la célula, aproximadamente el 98 % del oxígeno molecular es completamente reducido a agua a través de la transferencia de electrones y la fosforilación oxidativa. El 2 % restante es parcialmente reducido, produciendo el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Estos compuestos oxigenados parcialmente reducidos pueden posteriormente ser convertidos en especies altamente reactivas como el radical hidroxilo ($\cdot OH$), produciendo un daño directo en los tejidos a través de la oxidación de proteínas celulares, lípidos y ácidos nucleicos. Dicha oxidación favorece el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, cáncer y enfermedades neurodegenerativas especialmente cuando la defensa antioxidante endógena no es suficiente para contrarrestarlas completamente (Rietveld y Wiseman, 2003).

Se ha demostrado que los flavonoides pueden controlar múltiples rutas regulatorias que están involucradas en procesos de división celular, coagulación, inflamación y respuesta inmune (Wheeler y Wheeler, 2004).

Compuestos Estimulantes

Conjuntamente a la composición fenólica expuesta, el té es una fuente importante de compuestos estimulantes como el aminoácido teanina y el alcaloide cafeína, presentando otros alcaloides en menor proporción como la teobromina y la teofilina (Balentine *et al.*, 1998).

La teanina (γ -glutamiletilamida) es un aminoácido no proteico raramente encontrado en la naturaleza y presente casi exclusivamente en la planta del té. La teanina constituye del 1,5 al 3 % del peso seco de las hojas del té, porción concerniente aproximadamente al 50 por ciento del total de aminoácidos presentes (Tsuge *et al.*, 2003).

La teanina influye positivamente sobre las concentraciones de dopamina y serotonina, neurotransmisores moduladores del estado anímico de las personas, causando efecto de relajación y sensación de bienestar. Del mismo modo se ha demostrado que su consumo tiene efecto en el incremento de la memoria, capacidad de aprendizaje y regulación de la presión sanguínea (Wan *et al.*, 2008).

Otros compuestos estimulantes presentes en la infusión de té son los alcaloides de la familia de las metilxantinas. Entre éstos la cafeína constituye el de mayor proporción (1,5–4% del peso seco), seguido por la teofilina (0,2–0,4%) y la teobromina (~0,02%) (Lin *et al.*, 1998). Estos compuestos actúan principalmente estimulando el sistema nervioso central, produciendo efectos similares a los atribuidos a la teanina. Kelly *et al.* (2008) señalan que existe un efecto sinérgico de la cafeína sobre la acción de la teanina. Otras investigaciones han atribuido a la cafeína propiedades anti carcinógenas (Chung *et al.*, 2003; Castro *et al.*, 2008).

Considerando el alto consumo de té existente en Chile, la escasez de información científica que concierne a la fracción responsable de las propiedades antioxidantes de los productos consumidos comúnmente en el país y el hecho de que gran parte de los estudios existentes comprenden extracciones no acuosas que, si bien pueden ser de utilidad para establecer comparaciones entre productos, no representan una fuente fehaciente de extrapolación al consumo doméstico, es que se planteó el presente trabajo de investigación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

Los análisis se llevaron a cabo en los laboratorios de Química Enológica y Cromatografía del Departamento de Agroindustria y Enología en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Materiales

Se analizaron 20 productos comerciales de té (*Camellia sinensis*) correspondientes a 5 marcas distintas que fueron adquiridas de un supermercado en la ciudad de Santiago. Los tipos y marcas seleccionados se aprecian ordenados por categorías en el Cuadro 2. Los productos que corresponden a una sola variedad son nombrados de acuerdo su país o lugar de origen (Darjeeling, Ceylán), a los productos que corresponden a mezclas se les otorgan nombres genéricos normalmente (English Breakfast, Yellow Label, Etiqueta verde, etc).

Cuadro 2. Productos analizados.

N°	TIPO	NOMBRE	MARCA	PRODUCTOR	ORÍGEN
1	Negro	Ceylán Selección Especial	Club	Unilever	Sri Lanka
2	Negro	Ceylán Oro	Supremo	Cambiaso	Sri Lanka
3	Negro	Royal Ceylon	Lipton	Unilever	Sri Lanka
4	Negro	Ceylon Supreme Tea	Dilmah	Dilmah	Sri Lanka
5	Negro	Ceylon Orange Pekoe	Twinnings	Twinnings	Sri Lanka
6	Negro	Royal Darjeeling	Supremo	Cambiaso	India
7	Negro	Darjeeling Himalaya	Lipton	Unilever	India
8	Negro	Darjeeling	Dilmah	Dilmah	India
9	Negro	Darjeeling	Twinnings	Twinnings	India
10	Negro	Etiqueta verde	Club	Unilever	~ Brasil
11	Negro	Etiqueta roja	Club	Unilever	~ Argentina
12	Negro	La rendidora	Supremo	Cambiaso	Arg. y Sri Lanka
13	Negro	Yellow label	Lipton	Unilever	Desconocido
14	Negro	English Breakfast	Lipton	Unilever	Desconocido
15	Negro	English Breakfast	Dilmah	Dilmah	Desconocido
16	Negro	English Breakfast	Twinnings	Twinnings	Kenya y Assam
17	Verde	Verde Sencha Japonés	Supremo	Cambiaso	Desconocido
18	Verde	Té Verde Natural	Lipton	Unilever	Desconocido
19	Verde	Green Tea Natural	Dilmah	Dilmah	Desconocido
20	Verde	Pure Green Tea	Twinnings	Twinnings	Desconocido

Orígenes con el signo “~” son etiquetados como principalmente proveniente del país determinado.
Arg: Argentina

Los análisis espectrofotométricos se realizaron mediante el uso de un espectrofotómetro marca Jasco V-530 UV/VIS (Tokio, Japón).

Los análisis de cromatografía líquida de alta eficacia se realizaron mediante el uso de un equipo HPLC-DAD marca Agilent 1100 (California, USA). La columna cromatográfica empleada fue una Nova Pack C18 fase reversa de 4,9 mm de diámetro interno (Massachusetts, USA). Los estándares de componentes fenólicos fueron adquiridos en Sigma (USA).

Para realizar los análisis de ORAC se utilizó el espectrofluorímetro marca PerkinElmer 2030 Victor X2 (Massachusetts, USA).

Metodología:

Preparación de las muestras para extracción y análisis de los téis: Con el propósito de simular la preparación doméstica de una taza de té, se utilizó como procedimiento la extracción líquida según el método propuesto por Horžić *et al.* (2009). Las muestras de té (2,0 g) fueron vertidas en un matraz, al cual se le agregó 200 mL de agua destilada previamente calentada al punto de ebullición. La muestra se revolvió ligeramente por 4 minutos y subsiguientemente fue filtrada utilizando filtro Millipore de 0,45 μm .

Determinación de fenoles totales: Mediante análisis espectrofotométrico por el método Folin-Ciocalteu, recopilado por Bordeu y Scarpa (2000). Los resultados fueron expresados como miligramos de equivalentes de ácido gálico (EAG) por litro de infusión, la cuantificación fue llevada a cabo en base a una curva de calibración realizada con estándar de ácido gálico.

Determinación de taninos totales: A través del método Metil Celulosa Precipitable (MCP), recopilado por Mercurio *et al.* (2007).

Análisis de compuestos fenólicos de bajo peso molecular: Se utilizó cromatografía líquida de alta definición (HPLC-DAD) mediante el método propuesto por Peña-Neira *et al.* (2007).

Determinación de la capacidad antioxidante: Se siguió la metodología ORAC (Oxygen-Radical Absorbance Capacity, capacidad de absorción de radicales de oxígeno) empleando fluoresceína como sustancia fluorescente (ORAC_{FL}), validado por Huang *et al.* (2002).

Determinación de color: Se utilizó el método propuesto por Tea Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences (1983) citado por Huang *et al.* (2007), determinando la intensidad colorante a una longitud de onda de 420 nm. Con la salvedad de que se utilizó la concentración propuesta en esta investigación (1g/100mL) y no la propuesta por los autores.

Todos los análisis se realizaron por triplicado, excepto la determinación de compuestos fenólicos de bajo peso molecular y el ORAC que se realizaron por duplicado.

Diseño Experimental y Análisis Estadístico

El estudio fue constituido por 20 tratamientos (marcas comerciales de té) y tres repeticiones (bolsitas de té o el equivalente a 2 g de té) por tratamiento. La unidad experimental corresponde a una bolsita de té con un contenido de 2 g. Las diferencias existentes entre las medias de los datos obtenidos de los análisis experimentales fueron sometidas al análisis de varianza (ANDEVA). Se utilizó el test de rango múltiple de Duncan, y las diferencias se expresaron como la media de cada variable seguida del error estándar, con un nivel de significancia del 5%. Para establecer las correlaciones se utilizó el método de Pearson, con un 5% de significancia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fenoles Totales

El método de Folin-Ciocalteu, ampliamente usado en la determinación de fenoles totales, se basa en una reducción química del reactivo (mezcla de óxido de tungsteno y molibdeno), cuyo producto posee un color azul que presenta una amplia absorción de la luz con un máximo a 765 nm. La intensidad de la de absorción de la luz a esa longitud de onda es proporcional a la concentración de los fenoles presentes (Waterhouse, 2002).

El contenido de fenoles totales de las muestras de marcas seleccionadas de té negro varió entre 880,7 y 1822,5 mg/L EAG; en las marcas de té verde varió entre 947,6 y 1678 mg/L EAG como se muestra en la Figura 2.

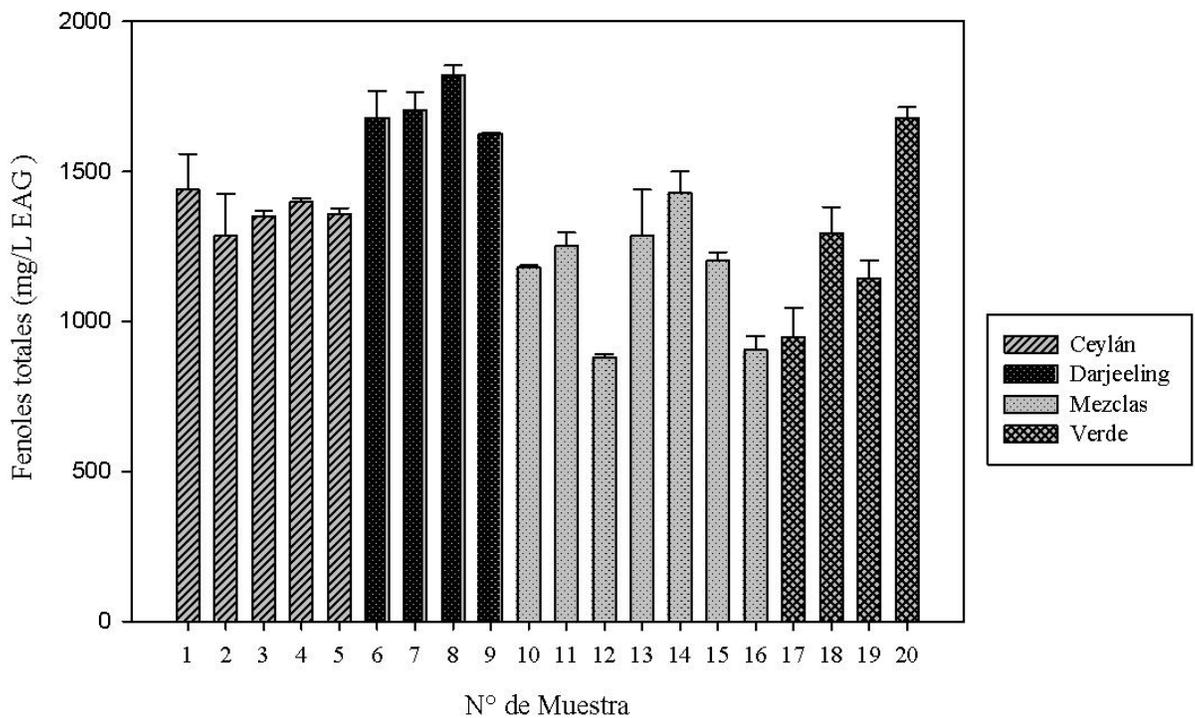


Figura 2. Contenido promedio de fenoles totales en 20 muestras de té expresado como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/L.

En su conjunto las infusiones preparadas con productos de una sola variedad o de origen determinado presentaron mayor contenido de fenoles totales que aquellas preparadas a partir de mezclas, siendo el tipo Darjeeling significativamente mayor al resto ($p \leq 0,05$), seguidos por Ceylán y Té Verde.

Estos resultados se asemejan a los obtenidos por Khokhar y Magnúsdóttir (2002) quienes destacan que el té Darjeeling presenta el mayor contenido de fenoles totales seguido por el té Ceylán.

Horžić *et al.* (2009) obtuvieron resultados similares de fenoles totales, no obstante, en esta investigación el té verde presentó mayor contenido de fenoles (1830 mg/L EAG) que el té negro. Por otro lado Khokhar y Magnúsdóttir (2002) obtienen resultados de fenoles totales significativamente mayores en el té negro (80,5 - 134,9 mg/g EAG) que en el verde (65,8-106,2 mg/g EAG).

Los resultados obtenidos confirman que el nivel de fenoles totales en diferentes tipos de té es muy variable, además que la comparación con otros estudios no es suficiente para concluir que cierto tipo de té es en general alto o bajo en contenido de fenoles totales.

Taninos Totales

Los taninos pueden ser definidos como un grupo único de metabolitos fenólicos de peso molecular relativamente alto que tienen la capacidad de acomplejar fuertemente carbohidratos y proteínas formando precipitados Porter *et al.* (1989), citados por Serrano *et al.* (2009).

Los taninos condensados (proantocianidinas), galotaninos y elagitaninos son los taninos mayormente encontrados en los alimentos (Frazier *et al.*, 2009). Los taninos condensados son oligómeros o polímeros de unidades de flavonoides que se encuentran, en términos generales, en frutas y bebidas como el té, la cerveza y el vino (Serrano *et al.*, 2009).

El método seleccionado para medir taninos totales (Metil Celulosa Precipitable), es ampliamente utilizado en la producción de vinos por su sencillez y versatilidad. Este ensayo se basa en la capacidad que tienen los taninos de interactuar con polímeros y formar complejos tanino-polímero insoluble que luego precipita. El polímero utilizado es el polisacárido metil celulosa (Mercurio *et al.*, 2007).

En la Figura 3 se muestra el gráfico de la concentración de taninos totales presentes en las muestras estudiadas. Existe una baja correlación positiva de 0,46 entre el contenido de taninos y fenoles totales ($p \leq 0,05$), dejando en evidencia que en algunas muestras, un elevado contenido de fenoles totales no refleja la presencia de un alto contenido de taninos. Estas diferencias se manifiestan tanto en té negro como en té verde, viéndose mayormente reflejado en este último.

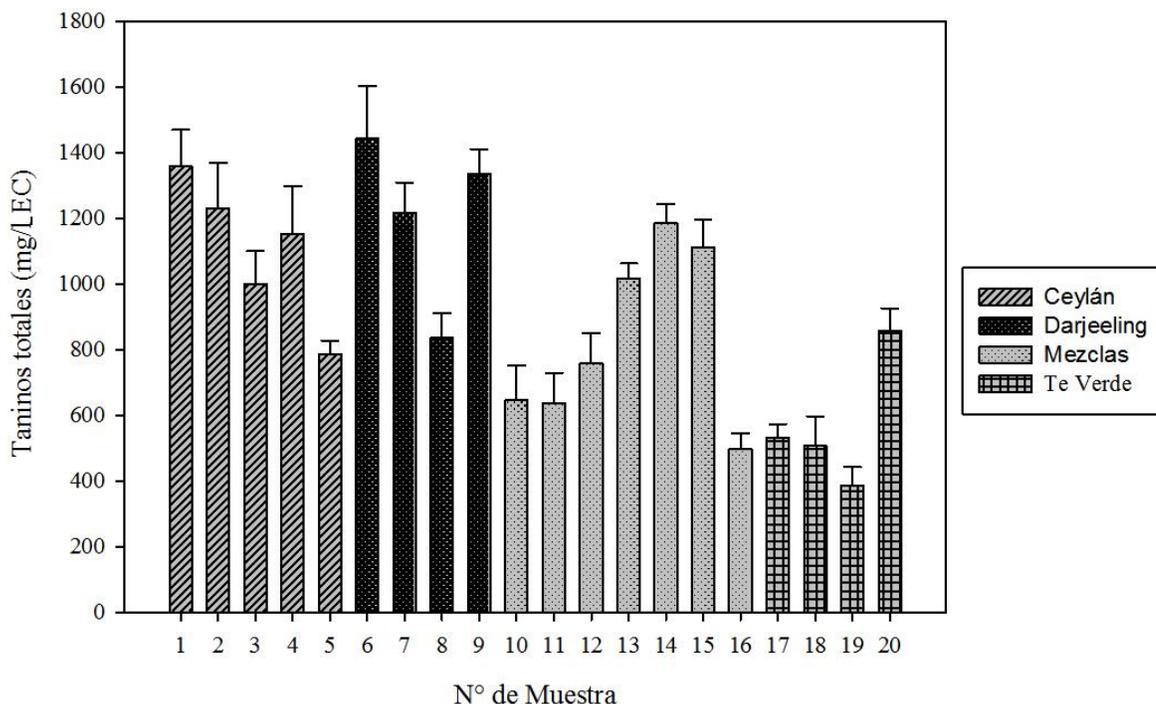


Figura 3. Contenido promedio de taninos totales en 20 muestras de té expresado como mg de equivalentes de (+)- epicatequina (EC)/L.

Esto se explica dado que el té verde, al ser un producto no fermentado contiene mayor número de catequinas monoméricas y oligoméricas que son los principales compuestos responsables del contenido de fenoles totales, existiendo pocos polímeros capaces de precipitar la metil celulosa, en comparación al té negro. La variedad Darjeeling posee la mayor diferencia entre los dos parámetros mencionados; esta variedad al igual que el té verde presenta alto contenido de monómeros y oligómeros de catequinas. Khokhar y Magnusdottir (2002) han determinado que las catequinas contribuyen un 37% al contenido de fenoles totales en dicha variedad.

Es importante destacar que, si bien ambos experimentos se basan en mediciones espectrofotométricas del contenido de fenoles, para evaluar los fenoles totales presentes en las muestras se utilizó un método colorimétrico mientras que para determinar el contenido de taninos totales se utilizó el método espectral midiendo a 280 nm. Este último difiere en mayor medida entre muestras distintas o cuando el contenido y tipo de fenoles difiere entre una muestra y otra, dado que cada compuesto tiene una absorción distinta a 280 nm (Waterhouse, 2002).

Las variedades Darjeeling y Ceylán presentaron conjuntamente el contenido significativamente ($p \leq 0,05$) más alto de taninos totales (Figura 4), tal como fue apreciado en los resultados de fenoles totales (Figura 2), seguidos por las mezclas, y por último el té verde. En términos globales, los resultados de las muestras analizadas de té negro (1013 mg/L) duplicaron en promedio a los resultados hallados en las muestras de té verde (570 mg/L).

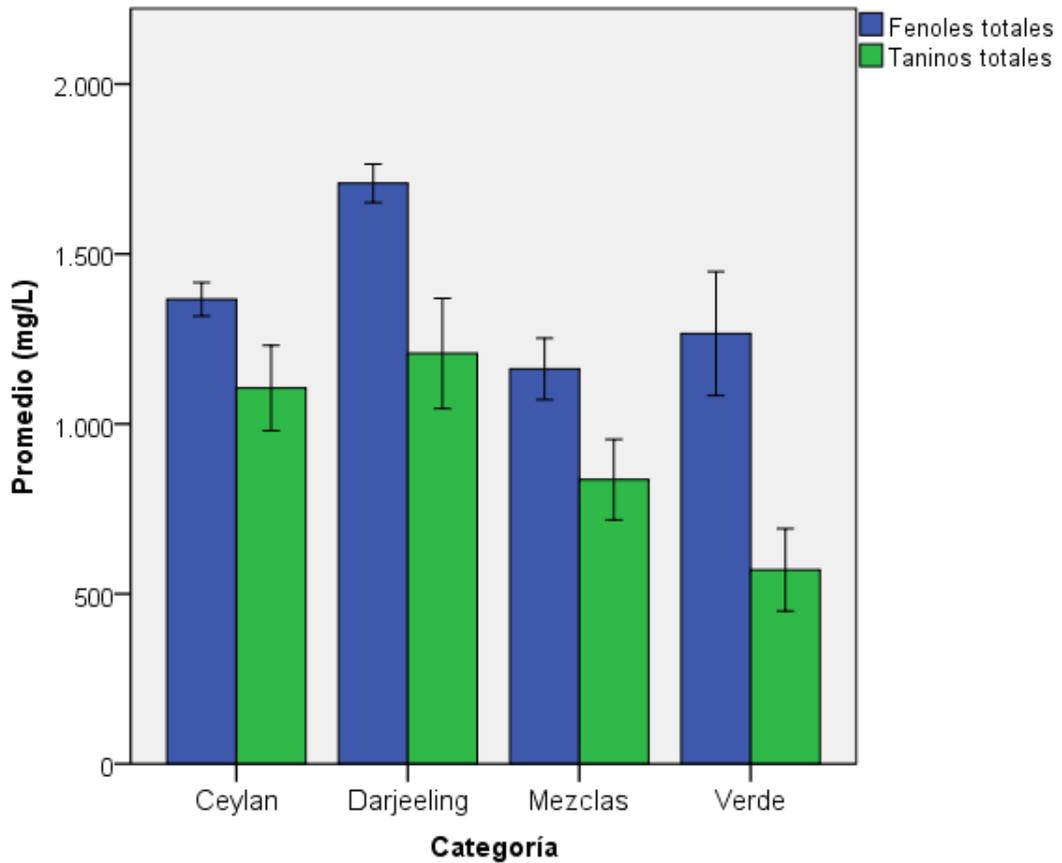


Figura 4. Contenido promedio de fenoles y taninos totales para las categorías de té analizadas.

Estos resultados evidencian la mayor presencia de taninos poliméricos (derivados de teaflavinas y tearubiginas) en el té negro producto de la fermentación ocurrida, a diferencia del té verde que contiene principalmente derivados de catequinas menos capaces de precipitar la metil celulosa.

El contenido de taninos es un índice clave en la clasificación y procesamiento de té, debido a las necesidades de control de calidad y a la incidencia en temas relacionados con la salud (Hung *et al.*, 2008). Por lo tanto, es pertinente escoger un método rápido y confiable en la determinación de taninos tanto en la línea de producción industrial como en el momento de selección o clasificación cualitativa del té.

Fenoles de Bajo Peso Molecular y Cafeína

El análisis detallado de fenoles presentes en las muestras se ejecutó mediante el HPLC-DAD. Los picos obtenidos en el cromatograma (Figura 5) fueron identificados por medio de la comparación de los espectros de absorción UV con estándares, su tiempo de retención y antecedentes bibliográficos. El Cuadro 3 resume el contenido de flavonoides y cafeína identificados en las muestras analizadas.

Las catequinas están presentes en niveles de 30 a 40 % del peso seco de las hojas del té verde. El té verde contiene (respecto al total de flavonoides) aproximadamente 70 % de catequinas, 10 % de flavonoles (principalmente quercetina, kaempferol y sus glicósidos) y el 20 % de flavonoides poliméricos. Debido a que durante el proceso de marchitamiento ocurre cierto nivel de oxidación, el 20-30 % de los flavonoides totales en el té verde pueden ser oxidados a polímeros como ocurre en el té negro. El té negro contiene principalmente tearubiginas (70 %), teaflavinas (12 %), flavonoles (10 %) y catequinas (8 %) (González de Mejía *et al.*, 2009).

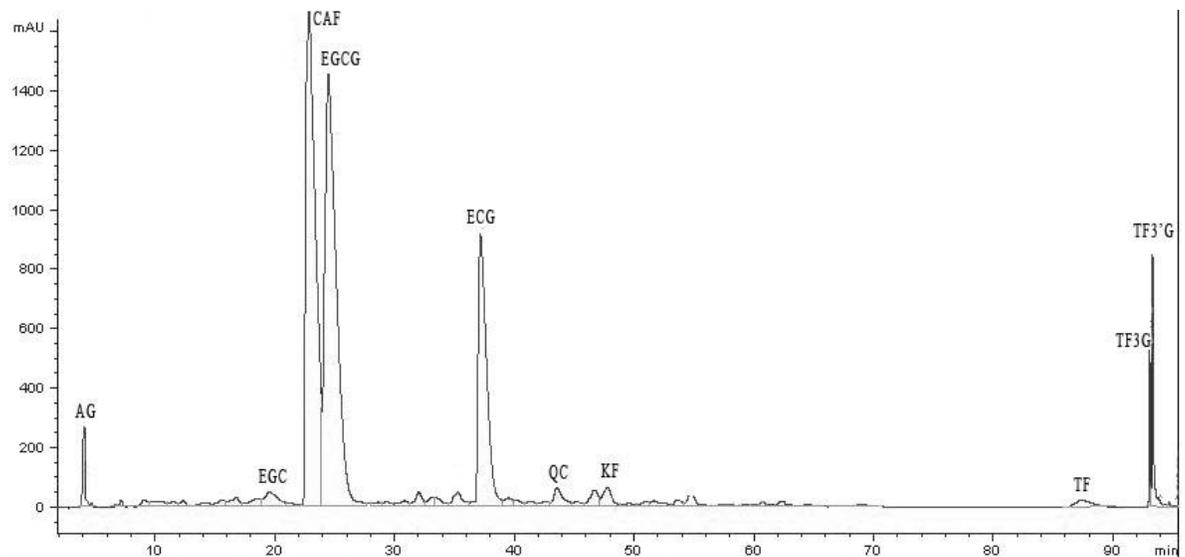


Figura 5. Cromatograma tipo a 280 nm de infusión de té negro.

AG: Ácido gálico; EGC: Epigallocatequina; CAF: Cafeína; EGCG: Epigallocatequina galato; ECG: Epicatequina galato; QC: Quercetina; KF: Kaempferol, TF: Teaflavina; TF3G: Teaflavina-3-galato; TF3'G: Teaflavina-3'-galato.

Cuadro 3. Contenido de fenoles de bajo peso molecular y cafeína.

	AG	EGC	CAF	EGCG	ECG	QC	KF	TF
Ceylán								
1	1,26 ±0,18	0,63 ±0,06	24,66 ±1,92	1,86 ±0,31	4,23 ±1,01	1,10 ±0,12	0,99 ±0,22	10,29 ±2,06
2	0,84 ±0,16	0,46 ±0,23	21,14 ±3,73	1,66 ±0,47	2,62 ±0,78	1,16 ±0,31	0,84 ±0,05	8,16 ±1,39
3	0,64 ±0,03	0,61 ±0,02	20,01 ±0,93	1,56 ±0,03	2,34 ±0,33	1,87 ±0,32	1,34 ±0,28	12,01 ±4,86
4	0,73 ±0,06	0,73 ±0,11	25,02 ±0,89	1,52 ±0,27	3,59 ±0,36	1,75 ±0,20	1,29 ±0,14	11,67 ±0,62
5	0,75 ±0,10	0,71 ±0,12	23,44 ±1,87	1,22 ±0,25	2,01 ±0,41	1,85 ±0,27	1,23 ±0,18	13,12 ±1,16
Darjeeling								
6	0,54 ±0,08	0,30 ±0,10	23,16 ±0,23	37,38 ±4,23	9,73 ±1,01	0,92 ±0,02	0,53 ±0,01	3,43 ±1,94
7	0,53 ±0,09	0,39 ±0,07	21,58 ±1,79	34,00 ±0,28	7,84 ±2,64	1,41 ±0,26	0,70 ±0,08	3,52 ±0,44
8	0,63 ±0,16	0,55 ±0,21	25,02 ±0,99	39,24 ±0,49	10,24 ±1,32	1,71 ±0,00	0,91 ±0,16	4,32 ±1,53
9	0,47 ±0,01	0,70 ±0,29	25,02 ±1,22	51,22 ±3,14	16,80 ±1,10	2,02 ±0,03	1,06 ±0,06	4,52 ±0,21
Mezclas								
10	0,49 ±0,13	0,54 ±0,32	21,94 ±5,44	2,40 ±1,04	2,46 ±0,97	1,64 ±1,06	1,22 ±0,83	7,45 ±1,25
11	0,39 ±0,06	0,37 ±0,12	17,35 ±2,77	1,28 ±0,24	1,41 ±0,26	0,99 ±0,09	0,66 ±0,04	5,23 ±1,72
12	0,55 ±0,01	0,28 ±0,04	14,89 ±0,42	1,45 ±0,23	1,28 ±0,23	1,02 ±0,31	0,53 ±0,14	3,72 ±1,23
13	0,83 ±0,08	0,36 ±0,02	20,67 ±0,10	1,74 ±0,03	2,23 ±0,22	1,41 ±0,26	1,04 ±0,18	4,64 ±1,94
14	1,42 ±0,03	0,68 ±0,11	26,39 ±0,85	2,34 ±0,06	3,01 ±0,34	1,72 ±0,53	1,45 ±0,33	8,70 ±4,80
15	0,68 ±0,07	0,52 ±0,08	19,66 ±0,07	0,87 ±0,10	2,13 ±0,26	1,37 ±0,12	1,02 ±0,16	5,58 ±3,06
16	0,54 ±0,02	0,42 ±0,08	20,71 ±1,49	1,29 ±0,29	1,72 ±0,67	1,72 ±0,82	1,61 ±0,44	15,66 ±1,68
Verde								
17	0,10 ±0,00	0,60 ±0,03	14,46 ±0,72	35,87 ±6,29	4,02 ±0,50	0,23 ±0,01	0,56 ±0,03	ND
18	0,12 ±0,00	0,52 ±0,04	16,88 ±1,08	50,13 ±8,44	7,82 ±1,21	0,61 ±0,47	0,61 ±0,28	ND
19	0,14 ±0,00	0,45 ±0,01	18,20 ±0,06	49,52 ±0,43	5,64 ±0,25	0,31 ±0,01	0,60 ±0,01	ND
20	0,13 ±0,00	0,70 ±0,03	18,47 ±0,06	95,77 ±2,98	19,15 ±0,31	1,33 ±0,03	1,00 ±0,05	ND

Resultados expresados en mg/g de materia seca. AG: Ácido gálico; EGC Epigallocatequina; CAF: Cafeína; EGCG: Epigallocatequina galato; ECG: Epicatequina galato; QC: Quercetina total; KF: Kaempferol total, TF: Teaflavina total. ND: no detectado

Ácido gálico

Es el ácido fenólico de mayor importancia en el té. Como se aprecia en el Cuadro 3 su contenido es significativamente menor en el té verde ($p \leq 0,05$), tal como ha sido descrito por Fernández *et al.* (2002). Lin *et al.* (1998) explican que cuantitativamente el ácido gálico aumenta durante la fermentación debido a su liberación desde los galatos de catequinas. En relación al contenido promedio de ácido gálico en las distintas variedades analizadas, se aprecia que al té verde con el menor promedio de 0,12 mg/g le sigue en magnitud Darjeeling (0,58 mg/g), luego las mezclas (0,69 mg/g) y por último Ceylán que posee 0,86 mg/g.

Cafeína

Al igual que ocurre con el ácido gálico y como se puede advertir en la Figura 6, el contenido de cafeína es menor en el té verde, con un promedio de 17 mg/g; resultados similares han sido obtenidos por Friedman *et al.* (2005) y Fernández *et al.* (2002). Por otro lado Horžić *et al.* (2009) describen en sus resultados mayores niveles de cafeína en el té verde respecto al negro, no obstante el número de muestras utilizados en la investigación es considerablemente menor (6) y por lo tanto menos representativo que los utilizados por los dos autores anteriormente citados (77 y 45 respectivamente).

El nivel de cafeína varió entre 14,9 y 26,4 mg/g en el té negro y entre 14,5 y 18,5 en el té verde. Entre los productos de té negro, las muestras de Darjeeling obtuvieron el mayor promedio (23,6 mg/g) seguido por las de Ceylán y las mezclas con 22,7 y 20,2 mg/g respectivamente (Figura 6). De manera contradictoria a los resultados señalados, Khokhar y Magnúsdóttir (2002) detectaron que el té de la variedad Darjeeling poseía el menor contenido de cafeína (22 mg/g), respecto al resto de los té negros analizados (25-28 mg/g). Si bien estos valores son similares a los obtenidos en este estudio, los autores mencionados, utilizan un solo producto de esta variedad, desestimando toda la variabilidad estadística que les podría haber entregado un mayor número de muestras. Balentine *et al.*, (1998) describen que el incremento de cafeína se produce en la fermentación del té negro, específicamente durante el proceso inicial llamado marchitamiento, siendo este incremento proporcional tanto a la temperatura como la duración del proceso.

Lin *et al.* (1998) realizaron un seguimiento a la fermentación detectando que los niveles de cafeína no variaban cuando el grado de fermentación era bajo (10-25 %), pero se incrementaban significativamente cuando el grado de fermentación fue alto (85 %). Si se deduce que el grado de fermentación está directamente relacionado con el contenido de taninos, dado que a mayor fermentación se incrementa la polimerización y formación de tearubiginas y teaflavinas, entonces es posible explicar la correlación positiva de 0,64 entre el contenido de taninos y el de cafeína ($p \leq 0,01$). Por otro lado Cloughley (1983) citado por Balentine *et al.* (1998) observa una pérdida de cafeína extractable de entre un 5 y 7 % durante la fermentación, asumiendo que se debe a posibles reacciones de acomplejamiento entre la cafeína y los polifenoles de mayor peso molecular.

Este mismo autor atribuye el incremento de cafeína durante el proceso total de producción del té negro exclusivamente a la etapa de marchitamiento, donde observa incrementos que pueden exceder el 20 %.

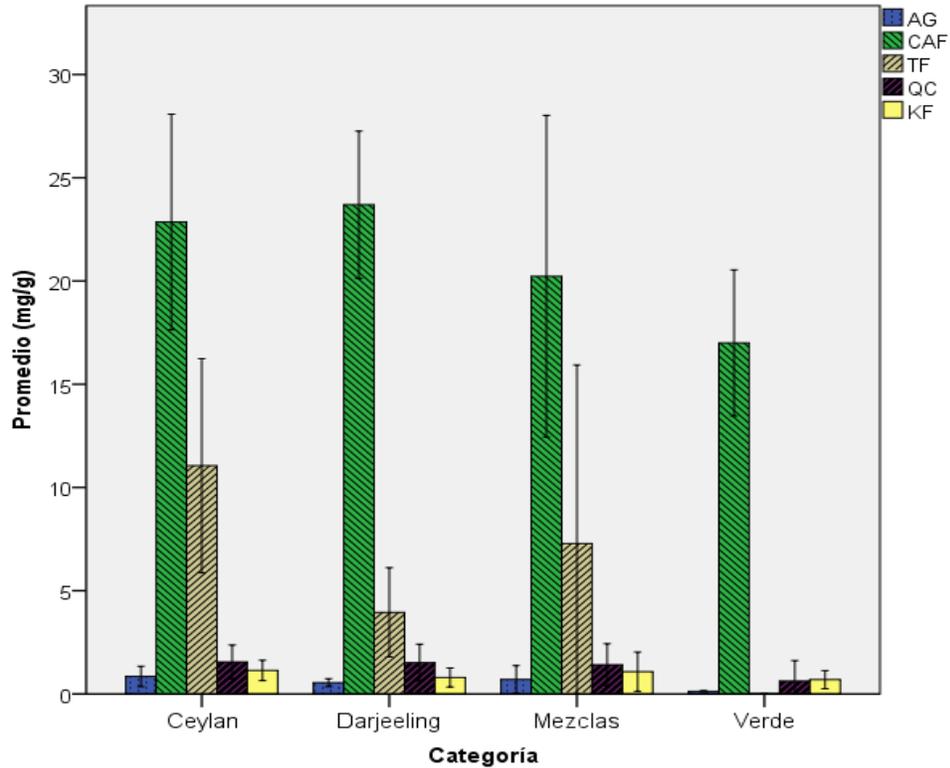


Figura 6. Contenido promedio de Acido gálico (AG), Cafeína (CAF), Teaflavinas (TF), Quercetina (QC) y Kaempferol (KF) en las categorías de té analizadas.

Catequinas

Los cuatro flavanoles mayormente encontrados en el té son EGCG: epigalocatequina galato, EGC: epigalocatequina, ECG: epicatequina galato y EC: epicatequina. El contenido de catequinas en el té negro varió entre 2,7 y 68 mg/g, mientras que en el té verde varió entre 39,9 y 114,9 mg/g.

En el Cuadro 4 se presenta la distribución promedio de catequinas y teaflavinas dentro de las 4 categorías en las que se dividen los productos estudiados. Peterson *et al.* (2004) investigaron el contenido de flavonoides en distintas variedades de té negro y encontraron que entre los monovarietales o no mezclados, Darjeeling mostraba en promedio el mayor número de catequinas, mientras que Ceylán el menor. Estos resultados se asemejan a los obtenidos en este estudio, donde el resultado promedio de contenido de catequinas en orden creciente es Verde > Darjeeling > Ceylán ≥ Mezclas.

Por otro lado, Fernández *et al.* (2002); Henning *et al.* (2003) y Friedman *et al.* (2005) analizando 45, 18 y 77 productos comerciales de té respectivamente, encontraron igualmente que los valores más altos de catequinas eran representados por el té verde seguido por el negro variedad Darjeeling.

Cuadro 4. Composición promedio de catequinas en los 4 grupos analizados

Categoría	Nº Muestras	EGC	EGCG	ECG
mg/g de materia seca				
Mezclas	14	0,45 a	1,62 a	2,03 a
Ceýlán	8	0,61 a	1,65 a	3,19 a
Darjeeling	10	0,53 a	32,61 b	9,33 b
Verde	8	0,57 a	57,82 c	9,16 b

Letras iguales en una misma columna implican que no existe diferencia estadística significativa para la prueba de Duncan con una significancia de 0,05.

La marcada diferencia entre los resultados del té negro de la variedad Darjeeling y el resto de los productos analizados del mismo tipo puede deberse a las condiciones agroclimatológicas asociadas a la zona del cultivo. El distrito de Darjeeling es un sector montañoso que encuentra situado al noreste de la India, donde las plantaciones son ubicadas a alturas entre 1000 y 2000 msnm (Harler, 1964). Períodos largos de dormancia causados por baja temperatura o disminución de las precipitaciones son generalmente beneficiosos en términos de calidad. En la zona de Darjeeling el período de dormancia causado por corrientes de aire frío provenientes del Himalaya dura varios meses (Balentine *et al.*, 1998).

El mayor contenido de galatos de catequina encontrados en las variedades Darjeeling explican los elevados resultados de fenoles totales. Para el caso de la variedad Ceýlán, compuestos de mayor peso molecular como las teaflavinas y tearubiginas representan los fenoles de mayor proporción y por lo tanto los principales responsables del resultado obtenido en los análisis de taninos y fenoles totales.

Teaflavinas:

Las teaflavinas corresponden a compuestos fenólicos complejos, derivados de la oxidación de las catequinas y sus galatos durante la etapa de fermentación, en el procesamiento del té negro. En la comercialización del té negro se mide el contenido de estos compuestos como parte del procedimiento regular de control de calidad. Las teaflavinas y sus galatos son los primeros productos de oxidación estables formados durante la fermentación del té. Éstas experimentan posteriores oxidaciones para formar compuestos más polimerizados llamados tearubiginas (Caffin *et al.*, 2004).

El contenido de teaflavinas varió entre 3,4 y 15,7 mg/g en el té negro, mientras que en el té verde analizado no fueron detectados estos compuestos.

Con excepción de las catequinas las teaflavinas presentaron la mayor variabilidad entre las variedades en las que fueron detectadas (Figura 6), esta variabilidad puede ser consecuencia de la alta dependencia que tiene su concentración a las condiciones de manufactura a la que es expuesta la hoja del té.

Si bien como se aprecia en la Figura 5, las teaflavinas identificadas corresponden a tres compuestos distintos, para efectos de esta investigación se consideró el total para cada muestra. Los resultados se asemejan a los obtenidos por Friedman *et al.* (2005), quienes exponen un rango de 3,7 a 8,8 mg/g. El promedio y distribución de las teaflavinas en las categorías estudiadas se aprecia en la Figura 6.

Es importante destacar que el método utilizado para separar los compuestos, solamente es capaz de detectarlos cuando estos poseen bajo peso molecular, esto implica que las teaflavinas más polimerizadas no son detectadas y del mismo modo tampoco son detectables las tearubiginas, compuestos cuya estructura molecular aún no es dilucidada totalmente (Wheeler y Wheeler, 2004).

Flavonoles

Los flavonoles más importantes contenidos en el té son la quercetina y el kaempferol (Kyle y Duthie, 2006) encontrándose en menor proporción que los flavanoles. Tanto la quercetina como el kaempferol se hallan comúnmente glicosilados, no obstante, para efectos de facilitar la cuantificación y presentación de datos se consideró el total y no el contenido individual de cada compuesto (Cuadro 3).

En promedio la cantidad de flavonoles cuantificados varió en los rangos de 0,2 a 2,0 mg/g para la quercetina y 0,5 a 1,6 mg/g para el kaempferol. Como puede verse en la Figura 6, al comparar el contenido de este compuesto entre el té verde y el negro, este último posee cantidades significativamente superiores, no encontrándose diferencias significativas entre las concentraciones de estos compuestos dentro de un mismo tipo de té.

Color

La calidad del té es principalmente evaluada a través de su apariencia (color, intensidad colorante y turbidez), sabor (astringencia, amargor y dulzor), y su aroma (floral, dulce, herbáceo). El amargor y la astringencia se atribuyen a la presencia de cafeína y catequinas (taninos), respectivamente. El dulzor se atribuye a los aminoácidos, especialmente teanina, cuyo gusto se ha descrito como “umami”. La apariencia de las hojas y el color de la bebida desempeñan un papel importante en la evaluación del té verde; hojas jóvenes y un brebaje claro con un tinte de color verde pálido amarillento son indicadores de alta calidad. La calidad del té verde declina con signos de turbidez y pigmentación de color marrón-rojizo (González de Mejía *et al.*, 2009).

Respecto a la coloración del té negro, cabe mencionar que esta está determinada por la relación entre las concentraciones de los fenoles de alto peso molecular como las teaflavinas y tearubiginas. Las teaflavinas generalmente aportan coloración amarilla y las tearubiginas coloración rojiza, por lo tanto las distintas relaciones entre estos dos compuestos constituyen los diferentes tonos de color rojo en el té negro (Chen *et al.*, 2005)

Los valores de absorbancia resultantes son exhibidos en el Cuadro 5, donde se aprecia que las muestras proveniente de la variedad Darjeeling y el tipo Verde poseen los valores significativamente menores y al mismo tiempo significativamente mayores en términos del total de catequinas ($p \leq 0,05$). A diferencia de los resultados obtenidos los autores Huang *et al.* (2005b) y Huang *et al.* (2007) quienes investigando exclusivamente té verde describen que a mayor absorción a 420 nm mayor es el contenido de flavonoides y mejor la calidad del producto. Este comportamiento distinto probablemente se ve reflejado al analizar solamente muestras de té verde. Dado que este estudio se centró en el té negro, la cantidad de muestras de té verde analizadas no son suficientes para establecer una conclusión respecto la relación entre el color del té verde y la concentración de catequinas en este, y por lo tanto para comparar los resultados con los dos autores anteriormente citados.

Tal como fue mencionado anteriormente las teaflavinas y tearubiginas son los principales compuestos que confieren el color al té negro; esto se ve claramente reflejado en la correlación de 0,75 entre el total de teaflavinas y el color a 420 nm ($p \leq 0,01$), así como en la alta correlación de $-0,82$ entre el total de catequinas y el color a 420 nm ($p \leq 0,01$). Lo anterior indica que una mayor absorción de luz a 420 nm supone mayor presencia de polímeros de catequinas y por lo tanto un contenido reducido de monómeros (Figura 7). La correlación entre el total de catequinas y teaflavinas de $-0,69$ ($p \leq 0,01$) es levemente menos negativa que la anteriormente expuesta, probablemente debido a que en el factor color está incluido el efecto atribuido a las tearubiginas.

Khokhar y Magnusdottir (2002) señalan que los tés de mayor calidad aparentan ser producidos bajo un control más estricto de los procesos de fermentación y secado en comparación a los de menor calidad, los cuales exhiben colores más fuertes debido a la oxidación incrementada de catequinas.

Si bien estos autores definen calidad como el nivel de especialización de la marca (usar variedades de origen y no mezclas genéricas) y su precio, la aseveración se puede extrapolar a la calidad en términos del contenido de catequinas, como pudo evaluarse anteriormente.

Cuadro 5. Absorbancia a 420nm

Muestra	Absorbancia	SD
Ceylán		
1	2,67	0,01
2	2,35	0,04
3	2,32	0,02
4	2,47	0,06
5	2,47	0,05
Darjeeling		
6	1,77	0,00
7	1,39	0,06
8	0,86	0,03
9	1,11	0,03
Mezclas		
10	2,13	0,02
11	1,83	0,09
12	1,97	0,02
13	2,76	0,05
14	2,95	0,05
15	2,99	0,05
16	2,36	0,03
Verde		
17	0,43	0,00
18	0,61	0,03
19	0,66	0,02
20	0,69	0,03

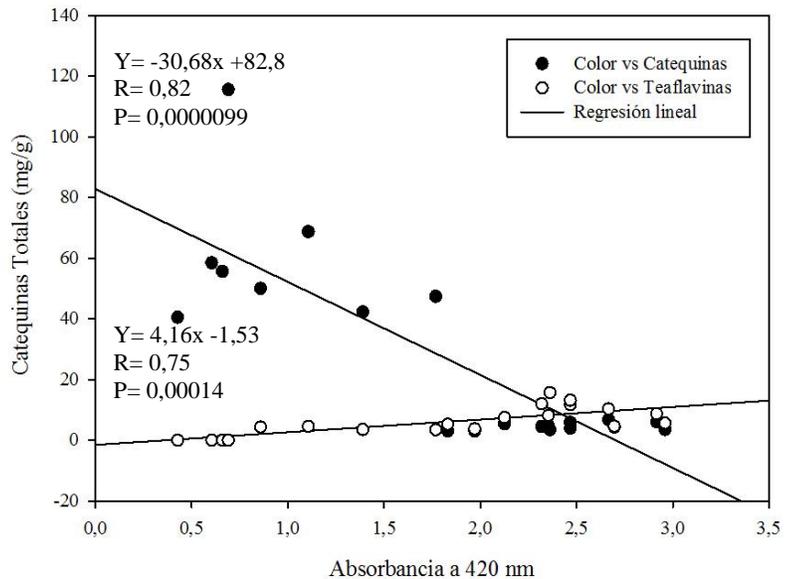


Figura 7. Representación gráfica de dos correlaciones: Color - Catequinas totales y Color - Teaflavinas.

El análisis de color muestra una manera rápida de inferir la calidad de la infusión, a través de la determinación indirecta del contenido de catequinas y de compuestos que infieren la coloración a la infusión.

Capacidad Antioxidante

La capacidad antioxidante de las muestras fue medida a través del método ORAC-FL que utiliza a la fluoresceína como sustancia fluorescente. La reacción se basa en la degradación de la fluoresceína mediada por la acción del radical AAPH (2,2'-Azo- bis (2-Amidino-propano) dihidroclorado), donde la pérdida de fluorescencia es un indicador de la magnitud del daño causado por el radical a la fluoresceína. El efecto protector del antioxidante se mide mediante la evaluación del área bajo la curva de caída de fluorescencia de la muestra con respecto al área del blanco, en la cual el antioxidante no está presente (Ou *et al.*, 2001).

Existe un gran número de métodos para medir la capacidad antioxidante de un compuesto. En base a la reacción química involucrada la mayor parte de estos métodos se pueden dividir en dos categorías: los basados en la transferencia de electrones y los basados en la transferencia del átomo de hidrógeno, perteneciendo el ORAC a este último (Huang *et al.*, 2005a). Es importante destacar lo anterior dado que muchas publicaciones obvian el fundamento químico de estas reacciones y utilizan métodos populares y rápidos basados en transferencia de electrones como TEAC y FRAP sin advertir que estos miden en realidad el poder de óxido/reductor no equivalente a la actividad antioxidante del compuesto (Ou *et al.*, 2001).

Recientemente se ha prestado mayor atención e importancia al té verde por sobre el té negro, debido a las concentraciones más elevadas de galato de epigallocatequina en el primero. No obstante, aunque los estudios han confirmado mayores niveles de catequinas en el plasma humano después de la ingesta de té verde, no han demostrado diferencia en la capacidad antioxidante después de la ingesta de té verde o té negro. Estos hallazgos sugieren que la capacidad antioxidante del té negro puede ser atribuida al contenido de teaflavinas y tearubiginas (Ryan y Petit, 2010).

Los valores de ORAC obtenidos variaron en un rango de 1020,2 - 1321,7 $\mu\text{MET/g}$ para las muestras de té negro analizadas y 1426 - 2557,9 $\mu\text{MET/g}$ para las muestras de té verde, valores similares fueron obtenidos por Prior y Cao, (1999), Ou *et al.*, (2001) y Chandra y Gonzalez de Mejial (2004). Cao *et al.* (1996) obtienen valores promedio similares y mayores en té negro que en té verde. Por otro lado Henning *et al.* (2003) alcanzan valores 1000 veces mayores a los mencionados anteriormente, utilizando mismo método a pH más bajo dado que argumentan que las catequinas son más estables en pH cercanos a 4 y muy poco estables en pH cercanos a 7 (pH utilizado en la presente investigación), mientras que Roy *et al.* (2010) encuentran resultados hasta 10 veces y Tsai *et al.* (2008) 4 veces mayores.

En términos de categorías, no existen diferencias significativas entre el té Ceylán y las mezclas, ambos obtienen los promedios más bajos de 1083,57 y 1122,86 $\mu\text{MET/g}$ respectivamente ($p \leq 0,05$). Nuevamente como se ha reflejado en gran porción de los análisis anteriores, los promedios significativamente más altos ($p \leq 0,05$) pertenecen a al té de la variedad Darjeeling con 1259,2 $\mu\text{MET/g}$ siguiéndole el verde de 1908,29 $\mu\text{MET/g}$, como puede ser apreciado en la Figura 8.

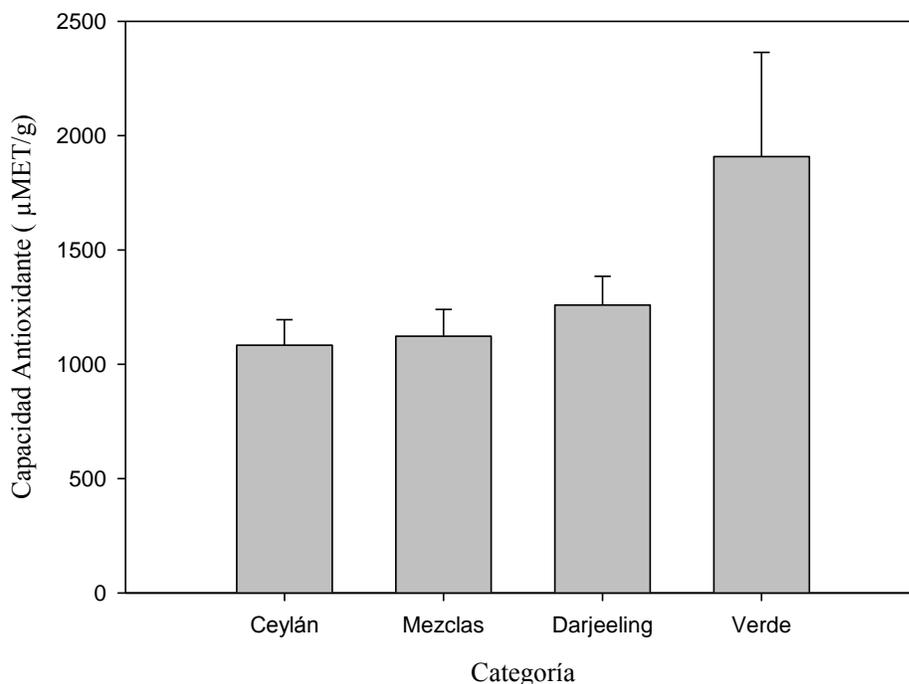


Figura 8. Capacidad antioxidante promedio expresada en μM de equivalentes de trolox/g.

Los galatos de catequina son reconocidos por poseer mayor capacidad antioxidante, entre éstos, la EGCG, la catequina de mayor presencia en el té, ha sido identificada por diversos autores como la de mayor actividad antioxidante (Karori *et al.*, 2007; Horžić *et al.*, 2009), explicándose así el alto valor ORAC alcanzado por las muestras correspondientes a té verde.

La enorme variabilidad entre los resultados alcanzados por los autores citados refleja la gran complejidad del método, dado que cambios de temperatura, pH, sustancia fluorescente, métodos de extracción, concentración del radical, entre otros, influyen en gran medida en el resultado. Dada la dificultad de encontrar resultados comparables donde las condiciones experimentales sean similares, es más consistente utilizar los resultados obtenidos para realizar un contraste entre las muestras analizadas que con el propósito de comparar con la bibliografía existente.

Es preciso validar y estandarizar un solo método de ORAC y aplicarlo a los alimentos de interés utilizando extracciones también estandarizadas con el propósito de generar una base de datos íntegra y comparable entre las investigaciones que la apliquen. Además es pertinente llevar a cabo paralelamente, dentro de lo posible, métodos que posean el mismo fundamento químico para poder establecer comparaciones más precisas.

Adicionalmente a los análisis realizados, se calculó una correlación entre el precio unitario del producto al momento de adquirir las muestras de té para los análisis y el contenido total de fenoles medidos por HPLC-DAD (catequinas + flavonoles + teaflavinas + ácido gálico), obteniéndose un resultado de 0,48 ($p \leq 0,05$).

Finalmente, una vez concluido este estudio es pertinente destacar aspectos relevantes respecto al mercado, la composición y el consumo que no han sido tomados en cuenta con anterioridad y que en parte, resumen o finiquitan la investigación realizada:

Si bien, el té es una fuente importante de antioxidantes, altamente concentrado, de fácil preparación y de bajo costo; es pertinente recomendar su consumo junto a otros productos como el vino, las frutas y verduras, dado que así se garantiza un espectro más amplio de fenoles. Esto último es relevante debido a que los compuestos fenólicos presentan distintos modos de acción así como también niveles de absorción y biodisponibilidad dentro del organismo.

Dado que existe una gran variabilidad entre las cantidades de compuestos fenólicos y estimulantes que son extraídos en la infusión final por razones expuestas con anterioridad, es pertinente que en el etiquetado de todos los productos presenten el contenido de fenoles de manera clara, precisa y normalizada, otorgando información objetiva al consumidor.

Los resultados obtenidos en esta investigación proveen información sobre la composición fenólica de un número considerable de productos consumidos en Chile, y otorgan al consumidor la posibilidad de elegir aquellas marcas, tipos o variedades que posean mayor contenido de compuestos beneficiosos para su salud.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten establecer diferencias claras entre las variedades de té verde y negro, así como también caracterizar cada variedad de acuerdo a su composición fenólica promedio.

Se pudo constatar que la concentración y la composición de fenoles en el té están fuertemente influenciadas por el procesamiento de las hojas en la formación del producto final, presentando el té negro la mayor variabilidad debido al elevado número de factores que intervienen en su producción.

El tipo de té negro que compone el producto final sean mezclas o variedades de orígenes exclusivos tienen incidencia en la composición fenólica final, es así que, las infusiones preparadas a partir de las muestras de Ceylán y Darjeeling presentaron en sus resultados mayores contenidos de antioxidantes que aquellas preparadas a partir de productos que contienen diversas combinaciones y orígenes indeterminados.

Globalmente entre las variedades y tipos de té analizados, las muestras de té provenientes de la variedad Darjeeling presentaron en promedio el mayor contenido de antioxidantes.

BIBLIOGRAFÍA

- Almajano, M. P., R. Carbo, J. López and M. Gordon. 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chemistry* 108: 55–63.
- Arts, I., P. Hollman, C. Feskens, J. Edith, and H. Bueno de Mesquita. 2001. Catechin intake might explain the inverse relation between tea consumption and ischemic heart disease: the Zutphen Elderly Study. *American Journal of Clinical Nutrition* 74: 227-232.
- Balentine, D. A., M. E. Harbowy and H.N. Graham. 1998. Tea: The Plant and its Manufacture; Chemistry and Consumption of the Beverage. pp.40-77. In: Spiller, G. A (Ed.). *Caffeine*. California: CRC Press LLC, Florida, U.S. 364p.
- Bordeu, E. y J. Scarpa. 2000. *Análisis Químico del Vino*. 2° ed. Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago. 253 p.
- Bursill, C. A., M. Abbey and P. Roach. 2000. Green tea catechins beneficially modify cholesterol metabolism in the hypercholesterolaemic rabbit. *Atherosclerosis* 151: 109.
- Caffin, N., B. D'Arcy, L. Yao and G. Rintoul. 2004. Developing an index of quality for Australian tea. RIRDC Publication No. 04/033. RIRDC Project No. UQ-88A. The University of Queensland, Australia. 192p.
- Cao, G. E. Soffic, R. Prior. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 3426-3431.
- Castro, D., Z. Yu, C. Löhr, C. Pereina, J. Giovanini, K. Fischer, G. Orner, R. Dashwood and D. Williams. 2008. Chemoprevention of dibenzo[a, l]pyrene transplacental carcinogenesis in mice born to mothers administered green tea: primary role of caffeine. *Carcinogenesis* 29 (8): 1581–1586.
- Chandra, S., and E. González de Mejial. 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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(11): 3583-3589.
- Chen, Z., H. Wang, X. You and N. Xu. 4. 2005. The Chemistry of Tea Non-Volatiles. pp.57-88. In: Zhen, Y. (Ed.), Z. Chen, S. Cheng, M. Chen (Ed.). *Tea Bioactivity and Therapeutic Potential*: Taylor & Francis, New York,, U.S. 364p.
- Chung, F., J. Schwartz, C. Herzog, Y. Yang. 2003. Tea and cancer prevention: studies in animals and humans. *The Journal of Nutrition* 133: 3268S–3274S.

Daayf, F., and V. Lattanzio (Ed.). 2008. Recent advances in polyphenol research. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, United Kingdom. 393p.

De Lorgeril, M., P. Salen, F. Paillard, F. Laporte, F. Boucher y J. de Leiris. 2002. Mediterranean diet and the French paradox: Two distinct biogeographic concepts for one consolidated scientific theory on the role of nutrition in coronary heart disease. *Cardiovascular Research* 54 (3): 503–515.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2008. Situación Actual Del Mercado y Perspectivas a Plazo Medio. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/011/j8332e.pdf>. Leído el 25 de mayo de 2009.

Fernández, P., P. Fernando, M. Martín and A. González. 2002. Study of catechin and xanthine tea profiles as geographical tracers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 1833-1839.

Frazier, R., E. Deaville, R. Green, E. Stringano, I. Willoughby, J. Plant and I. Mueller-Harvey. 2009. Interactions of tea tannins and condensed tannins with proteins. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 51(2): 490-495.

Friedman, M., K. Soo-Yeun, L. Sin-Jung, H. Gyeong-Phil, H. Jae-Sook, L. Kap-Rang and K. Nobuyuke. 2005. Distribution of catechins, theaflavins, caffeine, and theobromine in 77 teas consumed in the united states. *Journal of Food Science* 70: 550-559.

González de Mejia, E., M. Ramirez-Mares and S. Puangpraphant. 2009. Bioactive components of tea: Cancer, inflammation and behavior. *Brain, Behavior, and Immunity* 23: 721-731.

Harler, C. R. 1964. *The Culture and Marketing of Tea*. 3rd. ed. London: Oxford University Press. 389p.

Henning, S., C. Fajardo-Lira, H. Lee, A. Youssefian, V. Go and D. Heber. 2003. Catechin content of 18 teas and a green tea extract supplement correlates with the antioxidant capacity. *Nutrition and Cancer* 45(2):226–235.

Hertog, M., D. Kromhout, C. Aravanis, H. Blackburn, R. Buzina, F. Fidanza, S. Giampaoli, A. Jansen, A. Menotti and S. Nedeljkovic. 1995. Flavanoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the Seven Countries Study. *Archives of Internal Medicine* 155:381–386.

Hertog, M., P. Hollman, M. Katan and D. Kromhout. 1993. Intake of potentially anticarcinogenic flavanoids and their determinants in adults in the Netherlands. *Nutrition and Cancer* 20: 21–29.

Horžić, D., D. Komes, A. Belščak, K. Kovačević, D. Iveković and D. Karlović. 2009. The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. *Food Chemistry* 115: 441–448.

Huang, D., B. Ou, M. Hampsch-Woodill, J. Flanagan and R. Prior. 2002. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 4437- 4444.

Huang, D., B. Ou and R. Prior. 2005a. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:1841–1856.

Huang, Y., J. Sheng, F. Yang and Q. Hu. 2007. Effect of enzyme inactivation by microwave and oven heating on preservation quality of green tea. *Journal of food engineering* 78: 687-692.

Huang, Y., J. Xu and Q. Hu. 2005b. Effect of selenium on preservation quality of green tea during autumn tea-processing season. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(19):7444- 7447.

Hung, Y., P. Chen, R. Chen and T. Cheng. 2008. Determining the levels of tannin in tea by amperometry of ferricyanide pre-reaction with a sample in a flow-injection system. *Sensors and Actuators* 130: 135–140.

INFOR (Instituto Forestal de Chile). 2008. Informe Técnico: Sistematización silvícola, tecnológica y comercial del Boldo (*Peumus boldus* Mol.) en Chile. Disponible en: http://www.gestionforestal.cl:81/boldo/publicaciones/informe_tecnico_boldo.pdf. Leído el 28 de diciembre de 2010.

Jain, N. K. (Ed.), M. Siddiqi (Ed.) and J. H. Weisburger (Ed.). 2006. Protective Effects of Tea on Human Health, CABI, Oxfordshire, UK. 211p.

Karori, S., F. Wachira, J. Wanyoko, and R. Ngure. 2007. Antioxidant capacity of different types of tea products. *African Journal of Biotechnology* 6 (19): 2287-2296.

Kelly, S., M. Gomez-Ramirez, J. Montesi and J. Foxe. 2008. L-Theanine and caffeine in combination affect human cognition as evidenced by oscillatory alpha-band activity and attention task performance. *The Journal of Nutrition* 138: 1572S–1577S.

Khan, N. and M. Hasan. 2008. Multitargeted therapy of cancer by green tea polyphenols. *Cancer Letters* 269: 269-280.

Khokhar, S. and S. Magnusdottir. 2002. Total Phenol, Catechin, and Caffeine Contents of Teas Commonly Consumed in the United Kingdom. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 565-570.

Kyle, J. and G. Duthie. 2006. Flavonoids in Foods. pp.219-259. In: Andersen, Ø. (Ed.) and K. Markham (Ed.). Flavonoids : chemistry, biochemistry, and applications. California: CRC Press LLC, Florida, U.S. 1197p.

Lin, J. K., C. Lin, Y. Liang, S. Lin-Shiau and I. Juan. 1998. Survey of catechins, gallic acid, and methylxanthines in green, oolong, pu-erh, and black teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 3635–3642.

Manna, S., S. Mukherjee, A. Roy, S. Das and C. Panda. 2009. Tea polyphenols can Restrict benzo[a]pyrene-induced lung carcinogenesis by altered expression of p53-associated genes and H-ras, c-myc and cyclin D1. *Journal of Nutritional Biochemistry* 20: 337–349.

Mercurio, M., R. Damberg, M. Herderich and P. Smith. 2007. High Throughput Analysis of Red Wine and Grape Phenolics – Adaptation and Validation of Methyl Cellulose Precipitable Tannin Assay and Modified Somers Color Assay to a Rapid 96 Well Plate Format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 4651 – 4657.

Ou, B., M. Hampsch-Woodill and R.L. Prior. 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4619–4626.

Peña-Neira, A., A. Cáceres, and C. Pastenes. 2007. Low molecular weight phenolic and anthocyanin composition of grape skins from cv. Syrah (*Vitis vinifera* L.) in the Maipo Valley (Chile): Effect of clusters thinning and vineyard yield. *Food Science and Technology International* 13: 153-158.

Peterson, J., J. Dwyer, P. Jacques, W. Rand, R. Prior and K. Chui. 2004. Tea variety and brewing techniques influence flavonoid content of black tea. *Journal of Food Composition and Analysis* 17(3–4): 397–405.

Prior, R. and G. Cao. 1999. Antioxidant capacity and polyphenolic components of teas: implications for altering *in vivo* antioxidant status. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 220(4): 255-61.

Rezai-Zadeh, K., D. Shytle, N. Sun, T. Mori, H. Hou, D. Jeanniton, J. Ehrhart, K. Townsend, J. Zeng, D. Morgan, J. Hardy, T. Town, J. Tan. 2005. Green tea epigallocatechin-3-gallate (egcg) modulates amyloid precursor protein cleavage and reduces cerebral amyloidosis in alzheimer transgenic mice. *The Journal of Neuroscience* 25: 8807– 8814.

Rietveld, A. and S. Wiseman. 2003. Antioxidant Effects of Tea: Evidence from Human Clinical Trials. *Journal of Nutrition* 133: 3285S-3292.

Roy, M., M. Koide, T. Rao, T. Okubo, Y. Ogasawara and L. Juneja. 2010. ORAC and DPPH assay comparison to assess antioxidant capacity of tea infusions: Relationship between total polyphenol and individual catechin content. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 61(2): 109–124.

Ryan, L. and S. Petit. 2010. Addition of whole, semiskimmed, and skimmed bovine milk reduces the total antioxidant capacity of black tea. *Nutrition Research* 30: 14–20.

Serrano, J., R. Puupponen-Pimiä, A. Dauer, A. Aura and F. Saura-Calixto. 2009. Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular nutrition & food research* 53: S310 –S329.

Tsai, T., T. Tsai, Y. Chien, C. Lee and P. Tsai. 2008. In vitro antimicrobial activities against cariogenic streptococci and their antioxidant capacities: A comparative study of green tea versus different herbs. *Food Chemistry* 110: 859–864.

Tsuge, H., S. Sano, T. Hayakawa, T. Kakuda, and T. Unno. 2003. Theanine, γ -glutamylethylamide, is metabolized by renal phosphate-independent glutaminase. *Biochimica et Biophysica Acta* 1620:47–53.

Vermeer, M. A., T. P. Mulder and H. O. Molhuizen. 2008. Theaflavins from black tea, especially theaflavin-3-gallate, reduce the incorporation of cholesterol into mixed micelles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 (24): 12031–12036.

Wan, X., Z. Zhang, and D. Li. 2008. Chapter 16. Chemistry and Biological Properties of Theanine pp.255-274. In: H. Chi-Tang (Ed), J. Lin (Ed), and F. Shahidi (Ed). *Tea and Tea Products Chemistry and Health-Promoting Properties*. CRC Press. Florida, USA. 305p.

Waterhouse, A.L. 2002. Determination of Total Phenolics. II.1.1-11.1.8. In: Wrolstad, R. (Ed). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons: New York.

Wheeler, D. and W. Wheeler. 2004. The medicinal chemistry of tea. *Drug Development Research* 61: 45–65.