



Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas,
Químicas y Naturales. Secretaría de Investigación y Postgrado. Maestría
en Tecnología de los Alimentos.

Maestranda
Bqca. Ana Eugenia Thea

Diferencias en los parámetros fisicoquímicos de calidad entre los distintos tipos de té (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) elaborados en Argentina

**Tesis de Maestría presentada para obtener el título de “Magíster
en Tecnología de los Alimentos”**

“Este documento es resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto
queda sujeto al cumplimiento de la Ley N° 26.899”.

Director
Dr. Ing. Miguel Eduardo Schmalko
Co-Director
Dr. Ing. Luis Alberto Brumovsky

Posadas, Misiones 2013



Esta obra está licenciado bajo Licencia Creative Commons (CC) Atribución-NoComercial-
CompartirIgual 4.0 Internacional. <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

**MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, QUÍMICAS Y
NATURALES**



UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES

**Diferencias en los parámetros fisicoquímicos de calidad
entre los distintos tipos de té (*Camellia sinensis* (L.) O.
Kuntze) elaborados en Argentina**

Tesista: Bqca. Ana Eugenia Thea

Director: Dr. Ing. Miguel Eduardo Schmalko

Codirector: Dr. Ing. Luis Alberto Brumovsky

A mis padres,

Nosotros aprobamos la tesis de Maestría de la Bioquímica Ana Eugenia Thea

Dra. María Alicia Judis
Evaluadora Externa
Universidad Nacional del Chaco Austral

Fecha

Dra. Beatriz del Valle Arguello
Evaluadora Interna – FCEQyN
Universidad Nacional de Misiones

Fecha

Mag. Ing. Rodolfo Guillermo Kanzig
Evaluador Interno – FCEQyN
Universidad Nacional de Misiones

Fecha

Dr. Ing. Miguel Eduardo Schmalko
Director de Tesis – FCEQyN
Universidad Nacional de Misiones

Fecha

Dr. Ing. Luis Alberto Brumovsky
Co-Director de Tesis – FCEQyN
Universidad Nacional de Misiones

Fecha

CALIFICACIÓN: Elaboración de Tesis.....

CALIFICACIÓN: Defensa de Tesis.....

AGRADECIMIENTOS

A quienes me han brindado su apoyo incondicional, su tiempo y su experiencia sin límites, guiándome a lo largo de este camino, Dr. Miguel Schmalko y Dr. Luis Brumovsky, Dra. Martha Medvedeff y Mgter. Celina Vedoya. Gracias por convertir en sencillo lo que parecía tan complicado.

Quien ha trabajado en el campo experimental sabe de las horas que se pasan dentro de un laboratorio. Al personal de la Fundación DINCYT, Bqca. Raquel María Fretes, Paola Novo y Adriana Yagas por su colaboración absolutamente desinteresada, por su amistad, y por hacer de aquellas horas, horas alegres.

A mis queridos compañeros de trabajo y amigos quienes han transitado conmigo esta etapa y siempre me han apoyado, muy especialmente, Vanesa y Andrea.

A mi compañero en todo momento, Álvaro, por la paciencia que me tiene, su comprensión y aliento.

Gracias mamá y papá por su constante apoyo y por haberme hecho la vida sencilla y feliz.

RESUMEN

La producción nacional de té está constituida por alrededor del 3 % de té verde y té semifermentado y el resto por té negro y sus subproductos (denominados industrialmente BT), teniendo como destino principal la exportación. La región tealera argentina se ubica en la zona noreste del país, en las provincias de Corrientes y Misiones, siendo la más austral del mundo. Muchos factores influyen en la composición química del té, y por lo tanto en su calidad; entre ellos, del área de producción, su clima, variedad implantada, las prácticas culturales y su manufactura. Debido a esto, la caracterización fisicoquímica de los tés de diversos orígenes es muy importante, teniendo en cuenta que estos estudios son muy escasos.

Para determinar las diferencias en los parámetros fisicoquímicos de calidad de los distintos tipos de té elaborados en Argentina, se analizaron 51 muestras industriales de tés disponibles en el mercado incluyendo té negro (28), té verde (11), BT (11) y una de té semifermentado. Los ensayos realizados fueron: contenido de humedad, extracto acuoso, cenizas totales, cenizas insolubles en ácido, cafeína, fibra cruda, contenido de polifenoles totales (CPT), capacidad antioxidante (CAO) y los parámetros de color (*L*, *a* y *b*).

Las muestras de té negro y té verde fueron las que presentaron mayores contenidos de extracto acuoso (40,3 % bs y 40,7 % bs, respectivamente), mientras que las muestras de BT y el té semifermentado se caracterizaron por presentar un alto contenido de fibra cruda (20,4 % bs y 22,3 % bs, respectivamente). El contenido de cafeína fue superior en el té negro (2,7 % bs) respecto de los otros tipos de té estudiados. El té verde presentó los mayores contenidos de polifenoles totales y capacidad antioxidante (14,9 g equivalentes de ácido gálico/100 g de la materia seca y 30,0 g equivalentes de ácido ascórbico/100 g de la materia seca, respectivamente). Los resultados también pusieron en evidencia diferencias significativas ($p < 0,05$) en los parámetros de color entre los diferentes tipos de té.

Palabras claves: *Camellia sinensis*; té negro; té verde; té semifermentado; parámetros de calidad.

ABSTRACT

Argentinean tea production includes only an average of 3 % of green tea and semifermented tea, and the rest corresponds to black tea and black tea sub-product (BTSP) which is mainly sold to foreign markets. The production area is located in the northeast part of the country, in the provinces of Misiones and Corrientes, the southernmost region in the world. Many factors, such as geographical location, cultivar species, climate and agricultural and manufacture practices may influence the chemical composition of tea leaves, and therefore the tea quality. Because of these factors, the physicochemical characterization of teas from different origins is very important considering that these studies are currently scarce.

To determine differences in quality parameters between different types of tea elaborated in Argentina, moisture content, total ash, acid insoluble ash, water extract, crude fibre, caffeine, total polyphenol content, antioxidant activity, and colour parameters (L, a, b) were determined. Fifty-one industrial samples of commercially available teas including black tea (28), green tea (11), BTSP (11) and semifermented tea (1) were used for this study.

Water extract contents were significantly higher in black tea and green tea (40.3 % and 40.7 % w/w, respectively), while semifermented tea and BTSP showed higher levels of crude fibre (22.3 % and 20.4 % w/w, respectively). Caffeine contents of black teas (2.7 % w/w) were significantly higher than in the other types of tea. Green teas revealed the highest concentrations of phenolic compounds and the major antioxidant activities (14.9 g gallic acid equivalents/100 g of the dry matter and 30.0 g ascorbic acid equivalents /100 g of the dry matter, respectively). The results also highlighted significant differences ($p < 0.05$) in colour values between the different types of tea.

Keywords: *Camellia sinensis*; black tea; green tea; semifermented tea; quality parameters.

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I	1
I.1 INTRODUCCIÓN.....	2
I.2 ALCANCES Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	3
I.3 OBJETIVOS.....	4
I.4 JUSTIFICACIÓN.....	5
CAPÍTULO II	6
II.1 EL TÉ	7
II.2 EL MERCADO DEL TÉ.....	10
II.3 ELABORACIÓN DE LOS DIFERENTES TIPOS DE TÉ	12
II.4 LA QUÍMICA DE LA FERMENTACIÓN.....	17
II.5 CONDICIONES QUE AFECTAN LA CALIDAD DEL TÉ.....	23
II.6 PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS PARA EVALUAR LA CALIDAD DEL TÉ	27
II.7 ASPECTOS NORMATIVOS	31
CAPÍTULO III	34
III.1 PROPUESTA METODOLÓGICA.....	35
III.2 MATERIALES Y MÉTODOS	36
III.2.1 Muestras	36
III.2.2 Preparación de las muestras	36
III.2.3 Contenido de humedad	36
III.2.4 Cenizas totales y cenizas insolubles en ácido	37
III.2.5 Extracto acuoso	39
III.2.6 Contenido de fibra cruda.....	40
III.2.7 Contenido de cafeína	41
III.2.8 Parámetros de color	43
III.2.9 Contenido de polifenoles totales: Método de Folin-Ciocalteu.....	44
III.2.10 Capacidad antioxidante: Ensayo del radical libre DPPH.....	48
III.2.11 Análisis estadístico	51
III.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
III.3.1 Contenido de humedad	52

III.3.2 Cenizas totales y cenizas insolubles en ácido	53
III.3.3 Extracto acuoso	54
III.3.4 Fibra cruda	55
III.3.5 Cafeína	57
III.3.6 Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante	60
III.3.7 Color	66
III.3.8 Té semifermentado	67
III.3.9 Análisis de Correlación entre las variables	69
III.4 CONCLUSIONES	70
CAPÍTULO IV	72
IV.1 PROPUESTAS DE TRABAJOS FUTUROS	73
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
ANEXOS	85

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de las hojas frescas de <i>C. sinensis</i>	8
Tabla 2. Requisitos para el té negro y el té verde según el CAA.....	32
Tabla 3. Requisitos fisicoquímicos para el té negro (ISO 3720, 2011) y para el té verde (ISO 11287, 2011).....	33
Tabla 4. Contenido de humedad de los diferentes tipos de té.....	52
Tabla 5. Cenizas totales de los diferentes tipos de té	53
Tabla 6. Cenizas insolubles en ácido de los diferentes tipos de té.....	53
Tabla 7. Extracto acuoso de los diferentes tipos de té.....	55
Tabla 8. Contenido de fibra cruda de los diferentes tipos de té.....	56
Tabla 9. Contenido de cafeína de los diferentes tipos de té.....	58
Tabla 10. Contenido de polifenoles totales de los diferentes tipos de té.....	61
Tabla 11. Capacidad antioxidante de los diferentes tipos de té	65
Tabla 12. Parámetros de color de los diferentes tipos de té.....	67
Tabla 13. Parámetros fisicoquímicos del té semifermentado argentino.....	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama esquemático de los procesos de manufactura del té negro, té verde y té oolong	13
Figura 2. Estructura química básica de los flavonoides y de las principales catequinas del té	18
Figura 3. Estructuras químicas de las teaflavinas y de las tearrubiginas.....	19
Figura 4. Mecanismo propuesto para la oxidación enzimática de los <i>o</i> -difenoles.....	21
Figura 5. Reacción de oxidación enzimática de las catequinas del té verde y formación de las teaflavinas del té negro	22
Figura 6. Posibles vías de formación de las tearrubiginas.....	23
Figura 7. Diagrama del modelo de color Hunter Lab	44
Figura 8. Reacción del ácido gálico con el molibdeno, componente del reactivo Folin-Ciocalteu	46
Figura 9. Estructura química del radical 2,2-Difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•).....	48
Figura 10. Mecanismo de la reacción entre el DPPH• y compuestos antioxidantes.	49
Figura 11. Extracto acuoso de los diferentes tipos de té	55
Figura 12. Fibra cruda de los diferentes tipos de té	58
Figura 13. Contenido de cafeína de los diferentes tipos de té	59
Figura 14. Curva de calibración CPT	61
Figura 15. CPT de los diferentes tipos de té.....	62
Figura 16. Curva de calibración DPPH	64
Figura 17. Capacidad antioxidante de los diferentes tipos de té.....	66

NOMENCLATURA

A•: radical libre estable formado por el antioxidante

AAE: *Ascorbic Acid equivalent*

AH: antioxidante

a_w: actividad de agua

bh: base húmeda

bs: base seca

C: Catequina

CAA: Código Alimentario Argentino

CAO: capacidad antioxidante

CPT: contenido de polifenoles totales

CV: coeficiente de variación

DPPH•: radical libre 2,2-Difenil-1-hidracilo

DPPH-H: 2,2-Difenil-1-picrilhidracina

EAA: Equivalentes de Ácido Ascórbico

EAG: Equivalentes de Ácido Gálico

EC: Epicatequina

ECG: Epicatequina galato

EGC: Epigallocatequina

EGCG: Epigallocatequina galato

FC: Folin-Ciocalteu

GAE: *Gallic Acid equivalent*

IRAM: Instituto Argentino de Normalización y Certificación

ISO: International Organization for Standardization

ms: materia seca

PPO: polifenoloxidasas

TFs: teaflavinas

TRs: tearrubiginas

CAPÍTULO I

I.1 INTRODUCCIÓN

El té (*Camellia sinensis* L. O. Kuntze), luego del agua, es la bebidas no alcohólica más consumida a nivel mundial (Astill et al., 2001; Muthumani y Senthil Kumar, 2007; Sang et al., 2011; Chaturvedula y Prakash, 2011).

De acuerdo al proceso de manufactura, específicamente al grado de fermentación, el té se clasifica en tres tipos: té verde (no fermentado), té semifermentado (oolong o pouchong) y té negro (completamente fermentado) (Astill et al., 2001; Lin et al., 2003; Chan et al., 2007; Chaturvedula y Prakash, 2011; Kim et al., 2011). Aproximadamente el 78% de la producción mundial de té corresponde a té negro, mientras que un 20 % a té verde y un 2 % al té semifermentado (Chan et al., 2007; Chaturvedula y Prakash, 2011; Sang et al., 2011).

En la actualidad, el mercado mundial del té se encuentra en permanente desarrollo, principalmente debido a las demostradas propiedades biológicas que presenta el producto, las cuales son potencialmente benéficas para la salud (Khokhar y Magnusdottir, 2002; Lin et al., 2003; Gramza y Korczak; 2005; Muthumani y Senthil Kumar, 2001; Mahmood et al., 2010; Chaturvedula y Prakash, 2011; Kim et al., 2011).

Argentina se encuentra entre los 10 principales productores de té a nivel mundial y exporta aproximadamente el 95 % del volumen producido, siendo Estados Unidos y Chile los principales compradores. El sector tealero argentino que se desarrolla en la provincias de Misiones y Corrientes, genera millones de dólares de ingresos anuales a nuestro país, lo que lo convierte en una actividad de suma importancia económica, principalmente a nivel de economías regionales (Prat Kricun y De Bernardi, 2002; Parra, 2012). Es importante resaltar que la actividad tealera nacional ha evolucionado marcadamente en la última década gracias a la demanda externa sostenida, y actualmente es el principal proveedor de té de los Estados Unidos (Parra, 2012).

La región tealera argentina es la más austral del mundo (Prat Kricun y De Bernardi, 2002; Parra, 2007; Anesini et al., 2008). Cada región de cultivo de té origina un producto de cualidades particulares como resultado de la localización geográfica de la plantación y las condiciones agroecológicas específicas que ofrece el medio (Lin et al., 1998; Astill et al., 2001; Lin et al., 2003; Saito et al., 2007; Owuor et al., 2008; Jayasekera et al., 2011).

Muchos otros factores influyen sobre las características fisicoquímicas de un té, entre ellos, la variedad implantada, la constitución genética de la planta, las prácticas agronómicas y culturales y las condiciones de manufactura del producto (Owuor y Obanda, 1997; Lin et al, 1998; Astill et al., 2001; Obanda et al., 2001; Khokhar y Magnúsdóttir, 2002; Lin et al., 2003; Muthumani y Senthil Kumar, 2007; Owuor et al., 2008; Jayasekera et al., 2011 Kim et al., 2011).

Debido a esto, tanto la caracterización fisicoquímica como la evaluación de las propiedades biológicas de los tés originarios de diferentes regiones productoras del mundo es muy importante, considerando que este tipo de estudios son muy escasos (Saito et al., 2007).

I.2 ALCANCES Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

El Código Alimentario Argentino establece los requisitos fisicoquímicos de calidad que deben cumplir el té negro y el té verde para su comercialización en nuestro país. Asimismo, existen normas internacionales (Normas ISO, de inglés *International Organization for Standardization*) que fijan los estándares de calidad del té. Los parámetros fisicoquímicos utilizados para evaluar la calidad del té incluyen el contenido de humedad, cenizas totales, cenizas insolubles en ácido, el extracto acuoso, el contenido de cafeína, la fibra cruda, el contenido de polifenoles totales, entre otros. Valores fuera de los límites fijados en las normas anteriormente mencionadas, actúan en detrimento de la calidad del té. Es por esto, que la adecuación a los requerimientos establecidos es de suma importancia para la comercialización nacional e internacional del producto, y los elaboradores tealeros que quieran continuar compitiendo y creciendo dentro del mercado actual deben priorizarla.

En el último tiempo se ha experimentado un alto interés público hacia el consumo de té. Este hecho es debido a las numerosas propiedades biológicas protectoras de la salud que se le adjudican, la mayoría de ellas relacionadas con su capacidad antioxidante debida al alto contenido de compuestos bioactivos de la planta de *C. sinensis*, entre los que se destacan los flavonoides (Yoshida et al., 1999; Khokhar y Magnúsdóttir, 2002; Lin et al., 2003; Valenzuela, 2004; Gramza y Korczak; 2005; Anesini et al., 2008; Erturk et al., 2010; Mahmood et al., 2010; Jayasekera et al., 2011;

von Staszewski et al., 2011; Sang et al., 2011; Chaturvedula y Prakash, 2011). En la última década se han realizado numerosos estudios sobre la capacidad antioxidante de los diferentes tipos de té. El ensayo del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•) ha sido ampliamente aplicado en la determinación de la capacidad antioxidante del té (Chan et al., 2007; Saito et al., 2007; Anesini et al., 2008; Erturk et al., 2010; Kim et al., 2011; von Staszewski et al., 2011).

Actualmente se considera que los parámetros fisicoquímicos y los ensayos biológicos, son indicadores complementarios en el establecimiento de la calidad de un té (Anesini et al., 2008). Además, el estudio de las propiedades biológicas del té garantiza su explotación comercial como “alimento saludable”.

Los diferentes tipos de té elaborados en Argentina incluyen principalmente té negro (97 %) y en escasa proporción té verde y té semifermentado (llamado “té rojo”) (Parra, 2007). Según Prat Kricun y De Bernardi (2002), la calidad de los tés de producción nacional está catalogada como “media-baja” en el mercado internacional. El presente trabajo de tesis presenta el estudio de los parámetros fisicoquímicos indicadores de calidad y actividad antioxidante (mediante el ensayo del radical libre DPPH) de los diferentes tipos de té producidos en las provincias de Corrientes y Misiones, Argentina.

I.3 OBJETIVOS

Objetivo general

- Caracterizar fisicoquímicamente los diferentes tipos de té elaborados en Argentina.

Objetivos específicos

- Comparar las propiedades fisicoquímicas de los diferentes tipos de té.
- Establecer parámetros fisicoquímicos diferenciadores de los tipos de té.
- Justificar la utilización de estos parámetros para identificar la calidad de un té.

I.4 JUSTIFICACIÓN

La comprensión y el establecimiento de parámetros fisicoquímicos para la evaluación de un té no sólo permiten la determinación de su calidad, sino también la oportunidad de ser utilizados en programas de mejoramiento del producto final, evaluando cambios en las prácticas agronómicas y/o en las condiciones de manufactura. Producir un té de mejor calidad repercute favorablemente en la industria, ya que genera aumentos en el precio del producto, beneficiando a todas las partes involucradas en el sector.

CAPÍTULO II

II.1 EL TÉ

El té, la infusión preparada con las hojas y brotes de *Camellia sinensis* (L) O. Kuntze (Theaceae), es una de las bebidas más consumidas a lo largo del mundo (Khokhar y Magnusdottir, 2002; Anesini et al., 2008; Kim et al., 2011). La gran popularidad de esta infusión es debida a su aroma y sabor característicos, que la hacen única, aunque en los últimos años ha adquirido una mayor popularidad debido a los beneficios potenciales para la salud que le han sido atribuidos (Khokhar y Magnusdottir, 2002; Anesini et al., 2008; Kim et al., 2011).

El cultivo del té se extiende por diversas áreas del mundo presentando la particularidad de encontrarse plantaciones en los cinco continentes. China e India son los países originarios de la especie, pero su cultivo a gran escala se ha extendido por otras regiones de Asia, África y América del Sur (Prat Kricun y Bernardi, 2002; Parra, 2007; Saito et al., 2007).

En Argentina las plantaciones de té se iniciaron en el año 1923, en el sur de la provincia de Misiones (zona de Tres Capones), con semillas traídas desde Georgia. A partir de la década de 1930, el cultivo de té comenzó a extenderse hacia las regiones Centro Norte y Alto Paraná en la provincia de Misiones y la zona de Colonia Liebig en la vecina provincia de Corrientes. No fue hasta pasada la primera mitad del siglo XX, cuando el gobierno nacional por medidas arancelarias restringió la importación de té, que su cultivo adquirió una gran importancia económica y comenzó a realizarse a gran escala, logrando no sólo satisfacer las demandas del mercado local, sino comenzando a conquistar destinos internacionales (Prat Kricun y De Bernardi, 2002; Parra, 2007).

La región tealera argentina se encuentra al noreste del país, comprendida entre los 26° y los 28° de latitud sur, lo que la convierte en la región productora más austral del mundo. El cultivo y manufactura de *C. sinensis* se lleva a cabo en las provincias de Corrientes y Misiones, siendo esta última la principal elaboradora con una participación del 90-95 % de la producción total del país (Prat Kricun y De Bernardi, 2002; Parra, 2007).

La composición química del té depende principalmente de las características propias de la variedad implantada (var. *assamica*, variedad *sinensis* o sus híbridos), las condiciones edáficas y climáticas de la región geográfica de origen y de las prácticas agrícolas y de manufactura involucradas en su elaboración (Lin et al., 1998).

Como cualquier tejido vegetal, los brotes y las hojas de té presentan un complejo químico de enzimas, carbohidratos, proteínas, lípidos y minerales, pero su contenido de sustancias bioactivas, entre las que se destacan los polifenoles y ciertas metilxantinas, es lo que lo diferencia del resto de las especies vegetales (Parra, 2007; Saito et al., 2007; Prat Kricun, 2011a) (véase la Tabla 1).

Tabla 1. Composición química de las hojas frescas de *C. sinensis* (% bs) (Graham, 1992)

Polifenoles	36
Carbohidratos no digeribles	25
Proteínas	15
Ligninas	6,5
Minerales	5
Aminoácidos	4
Metilxantinas	3-4
Lípidos	2
Ácidos orgánicos	1,5
Clorofila	0,5
Carotenoides	<0,1
Volátiles	<0,1

Entre las metilxantinas presentes en las hojas de té, la más abundante es la cafeína, y en menor concentración, se encuentran la teofilina y la teobromina (Lin et al., 1998). La cafeína, además de aportar su cuota de amargor (Takeda, 1994; Lima et al., 2009), es uno de sus componentes característicos, ya que solamente se encuentran altas concentraciones de cafeína en ciertas especies vegetales que incluyen al té, cacao, café, guaraná y yerba mate. Por otra parte, la cafeína posee propiedades estimulantes de sistema nervioso central (Pearson, 1993; Takeda, 1994; Yao, 2006b).

Los principales compuestos presentes en las hojas y brotes de té corresponden al grupo de los polifenoles, presentes en concentraciones muy elevadas, entre el 25 % y el

36 % de su peso seco (Graham, 1992; Lin et al., 1998; Gramza y Korczak, 2005; Parra, 2007; Lima et al., 2009; Chaturvedula y Prakash, 2011; Sang et al., 2011). Los polifenoles son un amplio grupo de compuestos químicos presentes en las plantas, que son producto de su metabolismo secundario. El 90% de los polifenoles del té, desde las catequinas del té verde a las teaflavinas (TFs) y tearrubiginas (TRs) del té negro, corresponden al grupo químico de los flavonoides (Yao et al., 2006a).

El té además contiene aproximadamente un 17 % de compuestos nitrogenados entre los que se encuentran las proteínas, aminoácidos y ácidos nucleicos (Sang et al., 2011). De los más de 20 aminoácidos identificados en el té, la teanina es específico de la especie y representa alrededor del 50 % de los aminoácidos totales. El contenido de aminoácidos puede alcanzar hasta un 7 % de la materia seca del té, y se considera que estos compuestos son los protagonistas en la génesis del aroma del producto (Yao et al., 2006b; Chaturvedula y Prakash, 2011).

Los minerales predominantes en las cenizas del té son potasio, calcio, magnesio y aluminio, pero además el té es fuente de fluoruro y selenio (Sang et al, 2011).

La calidad del té se encuentra fundamentalmente influenciada por el contenido de polifenoles, aminoácidos y cafeína de las hojas y brotes utilizados en su elaboración, y también por los cambios químicos que sufren estas sustancias, principalmente los polifenoles, durante el proceso (Liang et al., 2005b).

Debido a sus propiedades biológicas, las sustancias químicas que revisten mayor interés a la hora de estudiar la composición de las hojas de té son los polifenoles (Lin et al., 1998). Numerosos estudios científicos describen las diversas funciones biológicas de los polifenoles del té. Entre ellas se incluyen efectos antimutagénicos, anticarcinogénicos, cardioprotectores, antiaterogénicos, antidiabéticos, antiinflamatorios, antimicrobianos, estimulantes de la respuesta inmune, entre otros, la mayoría de ellas asociadas a su actividad antioxidante (Yoshida et al., 1999; Khokhar y Magnusdottir, 2002; Lin et al., 2003; Valenzuela, 2004; Gramza y Korczak; 2005; Anesini et al., 2008; Mahmood et al., 2010; Jayasekera et al., 2011; von Staszewski et al., 2011; Sang et al., 2011; Chaturvedula y Prakash, 2011). La potente actividad antioxidante de los polifenoles del té ha sido demostrada *in vitro*, donde se observó que actúan secuestrando iones metálicos y especies reactivas del oxígeno y nitrógeno (Khokhar y Magnusdottir, 2002; Chan et al., 2003).

Si bien el sector de mayor utilización del té es el alimentario, por sus demostradas funciones biológicas, en los últimos años se ha abierto a nuevos mercados, principalmente a las industrias farmacéutica (fabricación de suplementos dietarios) y cosmética (Parra, 2007; Saito et al., 2007).

En la actualidad se producen muchos tipos de té, pero básicamente pueden ser clasificados en tres categorías según su proceso de manufactura: té verde (no fermentado), té negro (completamente fermentado) y té oolong o pouchong (parcialmente fermentados) (Lin et al., 2003; Karori et al., 2007; Jayasekera et al., 2011; Kim et al., 2011; Prat Kricun 2011). El grado de fermentación es determinante en el tipo de componentes activos del té y en la proporción en que estos se encuentran en el producto final.

II.2 EL MERCADO DEL TÉ

Existen más de 30 países tropicales y subtropicales donde se cultiva *C. sinensis*, por lo que la producción mundial ha aumentado considerablemente en las últimas dos décadas, y la competencia existente en el mercado ha convertido a la calidad en el parámetro más importante para el establecimiento del precio del producto (Lima et al., 2009).

Los mayores productores de té son China (32,5 %) e India (21,9 %), seguidos por Kenia (8,8 %), Sri Lanka (6,2 %), Turquía (5,2 %), Vietnam (4,4 %), Irán (3,7 %), Indonesia (3,3 %), Argentina (2,2 %) y Japón (1,9%) (FAO, 2012).

La producción nacional de té ha crecido de manera continua desde el año 1961, de una producción anual de 6.486 toneladas a 91.171,9 toneladas en el año 2011 (FAO Statistics Division, 2011) y está constituida por alrededor del 97 % de té negro y el resto por té verde, teniendo como destino principal la exportación (Parra, 2007).

El volumen de té exportado por Argentina representa alrededor del 95% de la producción anual y se vende a más de 40 países, siendo Estados Unidos el principal destino, representando el 58,6 % de las exportaciones del año 2011 (Parra, 2012).

Del total de té exportado por nuestro país, sólo el 1 % corresponde a té verde y el resto a té negro y sus subproductos, industrialmente denominados BT. Es importante señalar que entre el año 2000 y el año 2007 el volumen de BT promedió el 18 % del té negro total exportado (Parra, 2007).

La mayoría de los téns argentinos son considerados de calidad media-baja en el mercado internacional. Los téns de este tipo, especialmente el té negro, suelen ser valorados por su alto contenido en TFs y especialmente en TRs, responsables del color, brillo y fuerza de la infusión (Owuor et al., 2006; Prat Kricun, 2011a).

El color es una de las cualidades más preciadas de los téns fermentados de origen argentino, y es por este motivo que son utilizados para ser mezclados con téns aromáticos de mayor calidad obteniendo un producto final de menor costo, equilibrado en aroma y sabor. También son muy requeridos por la industria de los refrescos de té, ya que su extracto acuoso se caracteriza por un muy buen color sin presencia de sedimentos (Prat Kricun, 2011a).

El volumen de té producido por nuestro país es de baja incidencia en el mercado internacional, a pesar de esto, Argentina se ubica noveno en el ranking de países productores-exportadores de té y es el principal proveedor de té de Estados Unidos (FAO, 2012; Parra, 2012).

Según el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación, en el año 2011, la producción nacional de té seco alcanzó las 91.171,9 toneladas, de las cuales 86.011,3 toneladas (94 %) fueron destinadas a la exportación. En el año 2000 la producción se ubicó en 50.657,8 toneladas, de las cuales 49.999,7 toneladas (99 %) fueron destinadas al mercado internacional. Teniendo en cuenta estos valores, el incremento de la producción nacional de té desde el año 2000 alcanza el 80 %, y las exportaciones dentro del mismo período se han incrementado un 73 % en volumen. Esto ha provocado un aumento en los ingresos generados por las ventas de té al exterior de casi 180 % desde el año 2000, ya que según el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación, el valor del té exportado en el año 2011 alcanzó los 104,6 millones de dólares, mientras que en el año 2000 los ingresos generados por la exportación de téns nacionales promedió 38,4 millones de dólares.

El té representa el 0,4 % del total de ingresos por exportaciones de manufactura de origen agropecuario en Argentina y esto es de gran importancia a nivel de economías regionales (Parra, 2012).

II.3 ELABORACIÓN DE LOS DIFERENTES TIPOS DE TÉ

El período de cosecha del té en Argentina comienza en el mes de Octubre y finaliza con la llegada de las primeras heladas en los meses de Abril o Mayo del siguiente año (Prat Kricun y De Bernardi, 2002; Parra, 2007).

Los brotes y las hojas de *Camellia sinensis* cosechados atraviesan diversas etapas durante el proceso de industrialización, que son la clave para producir los diferentes tipos de té (véase la Figura 1). El té negro resulta de la promoción de la oxidación enzimática de las hojas frescas de té durante su elaboración; este proceso de carácter oxidativo se llamó originalmente “fermentación”, pero no implica acción microbiana de ningún tipo. Para la producción de té verde, la “fermentación” se evita y el té semifermentado se produce mediante una “fermentación” corta.

Básicamente, el proceso de manufactura del té negro consiste en las siguientes operaciones sucesivas:

- 1) Marchitado
- 2) Enrollado
- 3) Fermentación
- 4) Secado
- 5) Despalado y desfibrado
- 6) Tipificación

El proceso de elaboración del té negro incluye una primera etapa conocida como marchitado, en la cual los brotes y hojas de té sufren una deshidratación parcial con la finalidad de acondicionarlos para la siguiente etapa. El marchitado se realiza haciendo circular aire a una temperatura idealmente entre 20 y 25 °C a través del material extendido sobre bandejas o cintas, durante 12 a 18 horas, hasta que las hojas y brotes resulten lo suficientemente flexibles para poder ser enrollados sin romperse y ciertos cambios químicos lleguen a ocurrir. El contenido de humedad de la materia prima se reduce hasta 55-70 % (bh) y se producen además cambios químicos que incluyen un aumento en la concentración de cafeína, azúcares y aminoácidos, y cambios en la proporción de ácidos orgánicos (Tomlins y Mashingaize, 1997; Parra, 2007; Prat Kricun, 2011b).

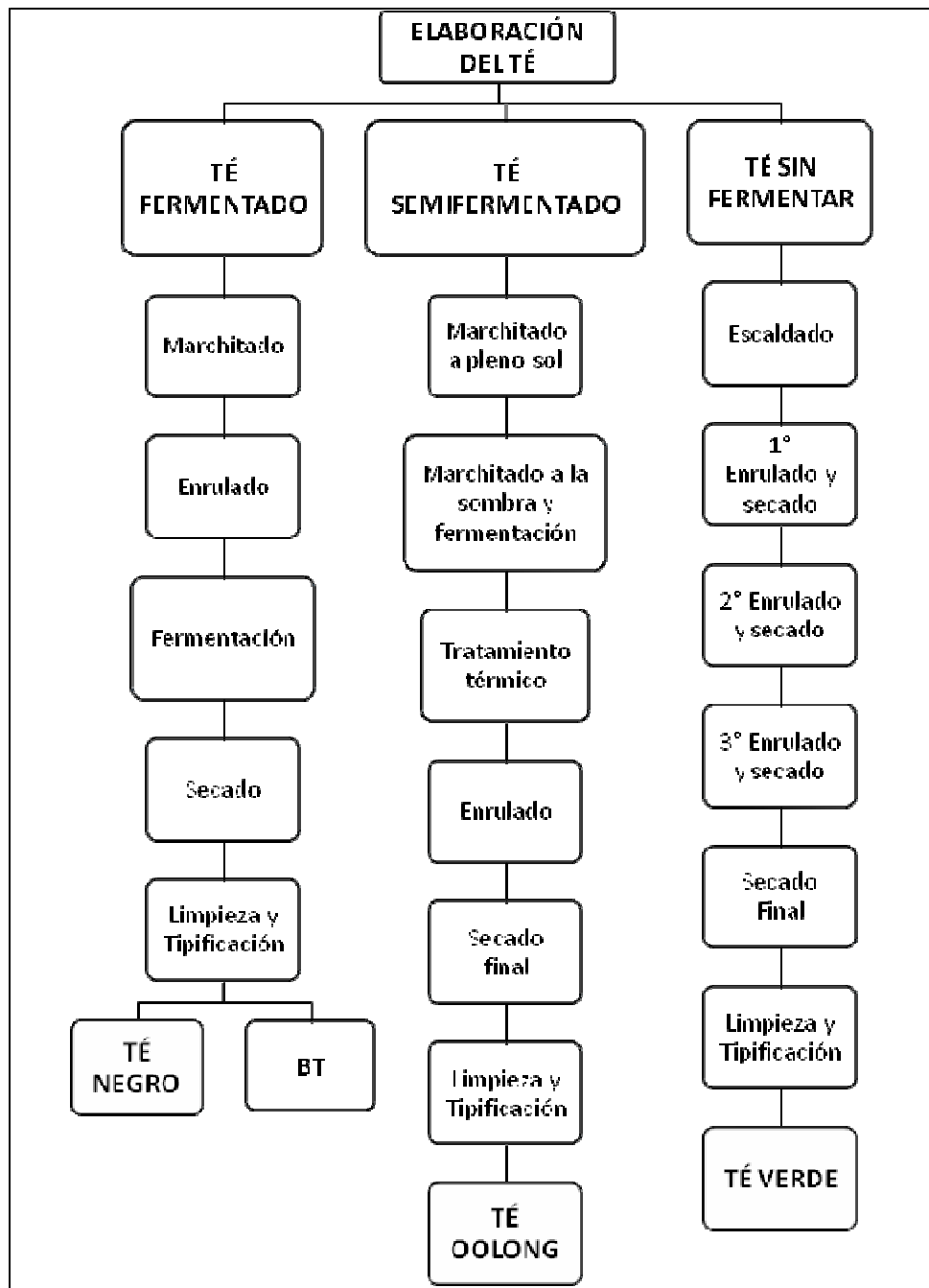


Figura 1. Diagrama esquemático de los procesos de manufactura del té negro, té verde y té oolong

La segunda etapa del proceso de manufactura del té negro denominada enrollado, es un proceso mecánico por el cual se produce la ruptura de las estructuras subcelulares de las hojas y brotes de té marchitadas y se consigue reducir el tamaño de partícula del

material. Mediante la ruptura de los compartimientos celulares, la enzima citoplasmática polifenoloxidasa (PPO) entra en contacto con los sustratos fenólicos vacuolares, en presencia de oxígeno. Este hecho es de suma importancia ya que da inicio al proceso de oxidación que tiene lugar durante el paso siguiente conocido como “fermentación”, que es el proceso fundamental en la elaboración del té negro.

Durante la etapa denominada incorrectamente “fermentación”, se producen cambios químicos que responden a la oxidación aeróbica catalizada por la enzima PPO, y reacciones de condensación subsecuentes de los sustratos fenólicos presentes en las hojas frescas de té. La “fermentación” se realiza en cámaras cerradas, a temperatura controlada (idealmente entre 25 y 30 °C) y en una atmósfera muy húmeda (95 a 100 % HR). La duración de esta etapa es de aproximadamente 1 hora, pero puede ser mayor o menor dependiendo del grado de disrupción celular obtenido en el enrollado y de la temperatura en la cámara de fermentación. Las hojas y brotes de té se disponen en capas homogéneas sobre bateas o cintas continuas, optimizando así las condiciones de temperatura, humedad y la circulación de aire del proceso. Las reacciones bioquímicas y químicas que tienen lugar durante esta etapa son exotérmicas, por lo que el aumento de la temperatura debe ser estrictamente controlado para prevenir una caída en la calidad del producto final debida a reacciones secundarias no deseadas. La circulación de aire a través de las hojas y brotes ofrece el control de la temperatura y proporciona el oxígeno necesario para las reacciones de oxidación.

Cuando la masa de “fermentación” alcanza la temperatura máxima, el proceso oxidativo debe ser detenido. El secado es la operación por la cual se detiene el proceso de fermentación en el momento adecuado y se consigue la deshidratación del producto para conservar su calidad y prolongar su vida útil. El secado se lleva a cabo por exposición del producto a una corriente de aire caliente dentro de un secadero. Las condiciones de operación dependen del equipo utilizado y deben ser estrictamente controladas, ya que un secado muy prolongado puede generar pérdidas de los componentes volátiles del té, que son responsables de su aroma característico, y temperaturas altas pueden otorgarle un flavor tostado que desmerezca su calidad. El contenido de humedad se reduce hasta aproximadamente un 3 %. El aumento de la temperatura y la reducción del contenido de humedad de las hojas tienen un efecto desnaturalizante, con lo que se consigue la inactivación enzimática y por consiguiente

se detiene el proceso de “fermentación”. Los cambios químicos no enzimáticos siguen su curso durante la etapa de secado y el producto continúa desarrollando aún más su sabor, aroma y color característicos.

Tras abandonar el secadero, el té es sometido a un proceso de limpieza conocido como despalado y desfibrado, donde se extraen las porciones de tallos grandes, fibra y polvo propios del producto.

Finalmente, el té elaborado es sometido al proceso de tipificación mediante el cual es separado en fracciones de distinto tamaño de partícula empleando tamices. Las distintas fracciones reciben el nombre de grados o tipos (Prat Kricun y De Bernardi, 2002; Wright, 2002; Parra, 2007).

El BT es un subproducto del té negro que se obtiene durante el proceso de despalado y desfibrado, donde el té es separado de sus residuos fibrosos y tallos, que poseen escaso valor comercial ya que no corresponden a ningún grado de tipificación del producto. Los palos y fibra así obtenidos se muelen y tipifican en forma separada, obteniéndose al final de este proceso el producto conocido industrialmente como BT. Este *off grade* es utilizado en la industria alimentaria para la producción de té soluble; para ser mezclado con grados superiores de té negro, reduciendo el costo del producto final; o en la elaboración de los populares refrescos de té consumidos en los Estados Unidos (Prat Kricun y De Bernardi, 2002; Parra, 2007).

En el proceso de elaboración del té verde se evita la etapa de “fermentación” mediante la inactivación térmica de la enzima PPO a través del escaldado de las hojas frescas de té. El escaldado es realizado rápidamente sobre las hojas y brotes de té recién cosechados con vapor de agua a 95-100 °C, por un lapso de 30 a 45 segundos, consiguiendo fijar el color verde oliva característico de este tipo de té.

Luego del escaldado y previo al secado final, se realizan procesos de enrollado y secado en tres etapas con la finalidad de reducir el contenido de humedad hasta aproximadamente un 13%, y desarrollar la forma y tamaño de partículas de hoja característicos del producto. Finalmente, se procede a un secado definitivo por exposición a una corriente de aire caliente, durante 25 a 30 minutos dentro de un secadero, con temperaturas que varían entre 70 y 90 °C. El contenido de humedad se reduce hasta un 3-5% y el producto adquiere su apariencia y fragancia características (Parra, 2007; Prat Kricun, 2011b).

En el proceso de elaboración del té semifermentado oolong, las hojas y brotes de té recientemente cosechados son extendidos en capas sobre bandejas y marchitados a pleno sol durante aproximadamente una hora, con agitación periódica del material para evitar sobrecalentamientos. Posteriormente, el material se extiende en finas capas sobre bandejas en una marchitadora/fermentadora y es expuesto al aire en condiciones naturales, a una temperatura ideal entre 25 y 30 °C, durante 5 a 8 horas, con agitación suave periódica. En esta etapa el contenido de humedad se reduce hasta un 20% y ocurre el proceso oxidativo de los brotes y hojas de té, que adquieren un color rojizo característico. La “fermentación” se interrumpe mediante la inactivación térmica de las enzimas responsables del pardeamiento, cuando el té ha alcanzado un grado de fermentación de 50-60%. Para ello, el material se seca con aire caliente (160-180 °C) en un secadero rotatorio, durante unos pocos minutos. Luego, las hojas y brotes se curvan y se muelen mediante la acción de una enrutadora ortodoxa y finalmente se secan con aire caliente, reduciendo de manera homogénea y progresiva el contenido de humedad hasta un 4-5% (Parra, 2007; Prat Kricun, 2011b). El té conocido como “pouchong”, es otro té semifermentado, pero a diferencia del oolong esta variedad es muy poco fermentada (8-25 %) (Parra, 2007).

Existe en el mercado un producto de industria nacional que se expende bajo la denominación de “té rojo”. Con respecto a la designación de “té rojo” cabe hacer una aclaración, ya que en diferentes partes del mundo, existen diversos productos que son reconocidos más o menos extensamente con la denominación de “té rojo”.

En África se denomina “té rojo” a la infusión preparada con las hojas de la especie *Aspalathus linearis* (Rooibos), que es una planta perteneciente a la familia de las leguminosas.

En algunos países de habla hispana suele llamarse “té rojo” a los tés oolong y pouchong (semifermentados), ya que la infusión preparada con ellos presenta una coloración rojiza característica.

El té *pu-erh*, de origen Chino, mundialmente conocido como “té rojo”, es un té fermentado. Durante su proceso de elaboración, las hojas y brotes frescos de *C. sinensis* son tratados térmicamente con el objeto de inactivar a la enzima PPO. Luego el material es enrutado y secado al sol. Finalmente, las hojas y brotes de té son estacionados en un ambiente húmedo y cálido durante un tiempo variable (2 a 60 años) para completar el

proceso de fermentación, donde los polifenoles del té son completamente oxidados por acción de microorganismos ambientales en presencia del oxígeno atmosférico (Liang et al., 2005b). Esta etapa hace que el té alcance una tonalidad rojiza característica, y por la participación de microorganismos en la oxidación de los polifenoles, este tipo de té también es conocido como *living tea*.

El producto elaborado en Argentina bajo la denominación de “té rojo”, es un té parcialmente fermentado, y debido a que la totalidad de la literatura científica se refiere a este tipo de tés como “té oolong”, “té pouchong” o simplemente como “té semifermentado”, en el presente trabajo de tesis, para evitar confusiones, nos referiremos a él como té semifermentado.

II.4 LA QUÍMICA DE LA FERMENTACIÓN

La principal diferencia entre el té verde y los tés fermentados es debida a la inactivación de las enzimas foliares durante la manufactura (Lima et al., 2009). Es de suma importancia destacar que las características del té manufacturado y su calidad, están asociadas de manera directa o indirecta con las transformaciones químicas que sufren las catequinas durante el proceso de elaboración.

En el té verde, las hojas retienen el color y características químicas de las hojas frescas de *C. sinensis*, siendo las catequinas los principales compuestos fenólicos presentes (más del 30 %). En el caso de los tés semifermentados, debido a un proceso de fermentación parcial, su composición de polifenoles consta de una mezcla equilibrada de catequinas (hasta 20 %), TFs y TRs. El té negro, completamente fermentado, se caracteriza por la presencia de TFs (2-6 %), TRs y compuestos altamente polimerizados (más del 20 %) y bajo contenido en catequinas (4-3 %) (Chan et al., 2007).

Debido a la inactivación térmica de la enzima PPO, la composición de polifenoles del té verde es semejante a la de las hojas y brotes frescos de la planta de té (Lima et al., 2009; Kim et al., 2011; Keiro et al., 2012). En las hojas y brotes frescos de *C. sinensis* la concentración de polifenoles puede superar el 30% de la materia seca (Lin et al., 1998; Gramza y Korczak, 2005; Parra, 2007; Lima et al., 2009).

Los compuestos fenólicos más abundantes en el té fresco y en el té verde son los 3-flavan-oles, conocidos genéricamente como catequinas (Tanaka y Kouno, 2003;

Luczaj y Skrzydlewska, 2005; Karori et al., 2007; Wang y Ho, 2009; Kim et al., 2011). Estos compuestos son los que definen la calidad organoléptica del té verde, ya que la astringencia, la frescura y el amargo típico de este tipo de té son debidos principalmente a este grupo de polifenoles (Lima et al., 2009; Kim et al., 2011).

Las catequinas constituyen una de las familias flavonoideas más comúnmente distribuidas en la naturaleza. En su estructura poseen dos anillos aromáticos (A y B) unidos por un heterociclo oxigenado saturado de 3 átomos de carbono (C). Esta estructura presenta dos carbonos asimétricos (C_2 y C_3) (véase la Figura 2 a). Dependiendo de la configuración estereoquímica de los sustituyentes de los carbonos quirales del anillo C, pueden originarse dos isómeros: *trans*-catequinas y *cis*-epicatequinas. Cada uno de estos isómeros puede generar 2 isómeros ópticos: (+)-catequina, (-)-catequina, (+)-epicatequina y (-)-epicatequina (Muthumani y Senthil Kumar, 2007).

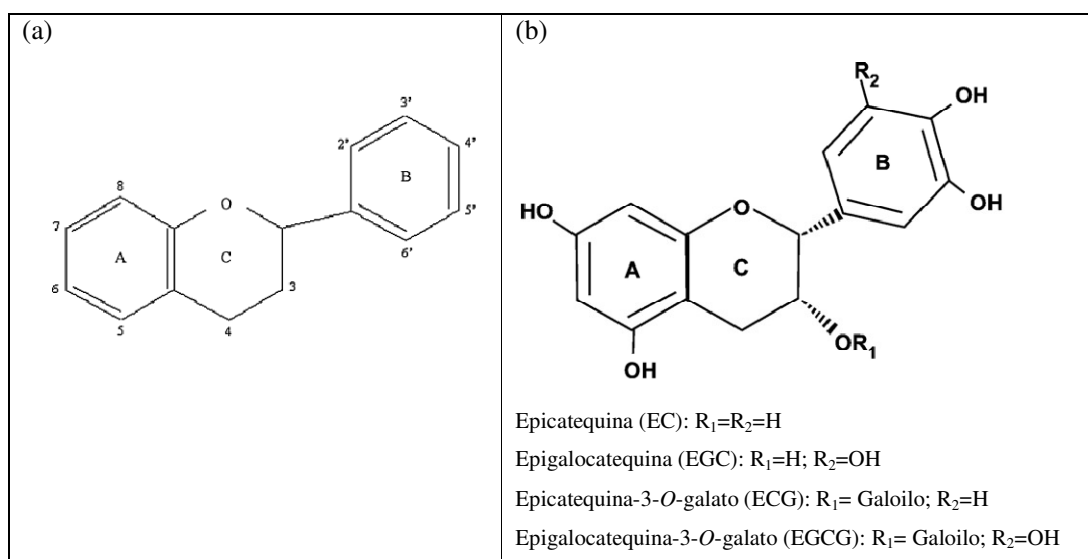


Figura 2. Estructura química básica de los flavonoides (a) (Gramza y Korczak, 2005) y de las principales catequinas del té (b) (Luczaj y Skrzydlewska, 2005)

Es común en la naturaleza que las catequinas se encuentren esterificadas con ácido gálico. El ácido gálico se fija al C_3 del heterociclo, formando así los denominados ésteres gálicos de las catequinas.

Las catequinas más abundantes en las hojas de té son: (-)-epicatequina (EC), (-)-epigalocatequina (EGC), y sus respectivos ésteres gálicos, (-)-epicatequina-3-*O*-galato

(ECG) y (-)-epigallocatequina-3-*O*-galato (EGCG) (véase la Figura 2 b) (Karori et al., 2007; Tanaka et al., 2010; Kim et al., 2011).

En la producción del té negro, las hojas y brotes frescos de té son triturados y macerados para inducir el proceso mediante el cual, las catequinas antes mencionadas, experimentan una reacción de polimerización oxidativa que resulta en la formación de TFs, TRs y otros compuestos de mayor masa molecular, que otorgan al té negro sus cualidades organolépticas típicas (Keiro et al., 2012; Kim et al., 2011; Lima et al., 2009; Liang et al., 2003; Lin et al., 1998).

Los productos más importantes de oxidación de las catequinas son las TFs y sus galatos. Las principales TFs presentes en el té negro son cuatro: teaflavina simple (TF₁), teaflavina-3-galato (TF_{2A}), teaflavina-3'-galato (TF_{2B}) y teaflavina-3,3'-digalato (TF₃) (véase la Figura 3 a) (Luczaj y Skrzydlewska, 2005; Owuor et al., 2006; Prat Kricun, 2011a). En su estructura, las TFs poseen un anillo benzotropolona característico, producto de la condensación entre el anillo B tipo catecol (dihidroxilado) de la EC o de la ECG y el anillo B tipo pirogalol (trihidroxilado) de la EGC o de la EGCG.

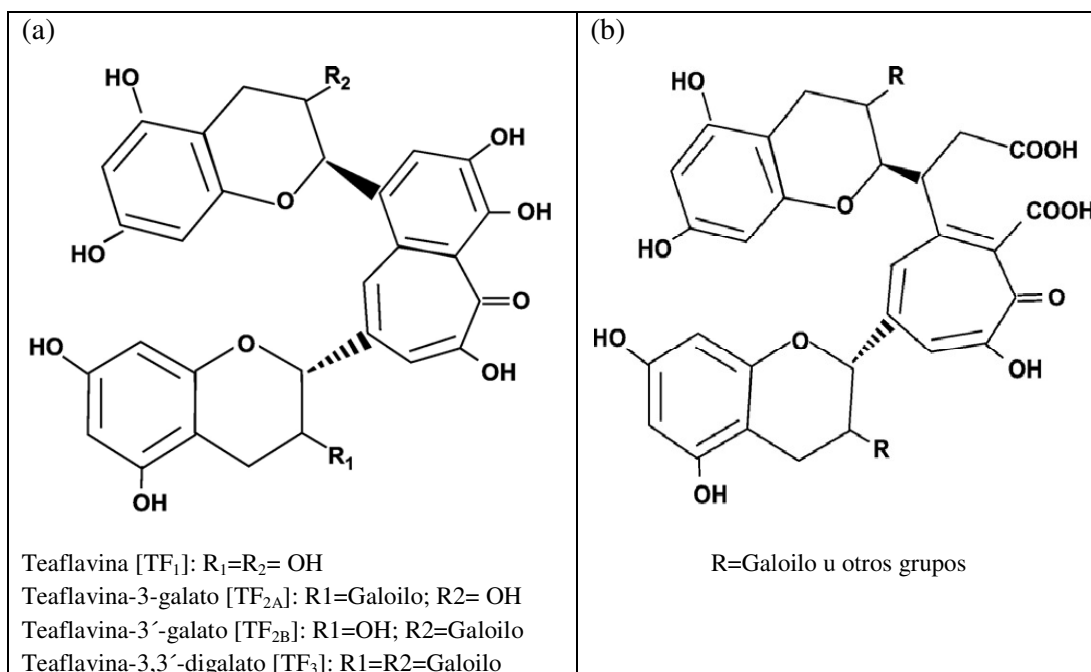


Figura 3. Estructuras químicas de las teaflavinas (a) y de las tearrubiginas (b) (Luczaj y Skrzydlewska, 2005)

Las TFs se forman por una reacción de dimerización oxidativa cuya primera etapa es catalizada por la enzima PPO en presencia de oxígeno (Owuor et al, 2006; Tanaka et al., 2010).

La enzima PPO es una metaloproteína que posee dos átomos de cobre (Cu^{+1}) en su sitio activo, y utiliza al oxígeno molecular como aceptor de electrones para catalizar la oxidación de *o*-difenoles, en este caso, el anillo B de las catequinas y galocatequinas del té. En las células, la PPO se encuentra como protoenzima sujeta a las membranas de los tilacoides de los cloroplastos, previniendo así su posible interacción con los compuestos fenólicos. Cualquier tipo de daño que altere la estructura celular provocará la liberación de la PPO, que por acción de ciertas proteasas toma su forma activa.

La PPO participa en el ciclo de oxidación de los *o*-difenoles bajo tres formas: desoxi-PPO (capaz de unir O_2) y las formas oxi-PPO y met-PPO que intervienen en la oxidación de los sustratos. Una vez activa, la desoxi-PPO liga el oxígeno molecular adquiriendo la forma de oxi-PPO, lo que provoca un cambio en la valencia de los iones cobre de Cu^{+1} a Cu^{+2} , formándose un complejo que tiene un enlace O-O bien polarizado. Los sustratos *o*-difenílicos actúan entonces como donantes de electrones, transfiriendo dos electrones de los átomos de oxígeno de los grupos hidroxilo al centro activo ($\text{Cu}^{+2} - \text{Cu}^{+2}$), formándose un complejo *o*-difenol-PPO- O_2 . Finalmente, el *o*-difenol es oxidado a *o*-benzoquinona y la enzima es reducida a su forma met-PPO. Para completar el ciclo, otra molécula de *o*-difenol se une a la met-PPO, se oxida a *o*-benzoquinona y la enzima se reduce hasta la forma desoxi-PPO (véase la Figura 4) (Haslam, 2003; Belitz et al., 2004).

Se presume que el mecanismo de reacción de formación de las TFs es el que se presenta en la Figura 5. Las *o*-quinonas derivadas de las catequinas simples o sus galatos, altamente reactivas, reaccionan con el anillo B de las *o*-quinonas de las galocatequinas o sus galatos. La formación del grupo benzotropolona requiere la pérdida de un átomo de carbono como CO_2 , por lo que mediante una descarboxilación posterior se generan las TFs. Durante la reacción se cree que se genera un intermediario tipo biciclo de 8 carbonos (véase la Figura 5) (Haslam, 2003; Tanaka et al., 2010).

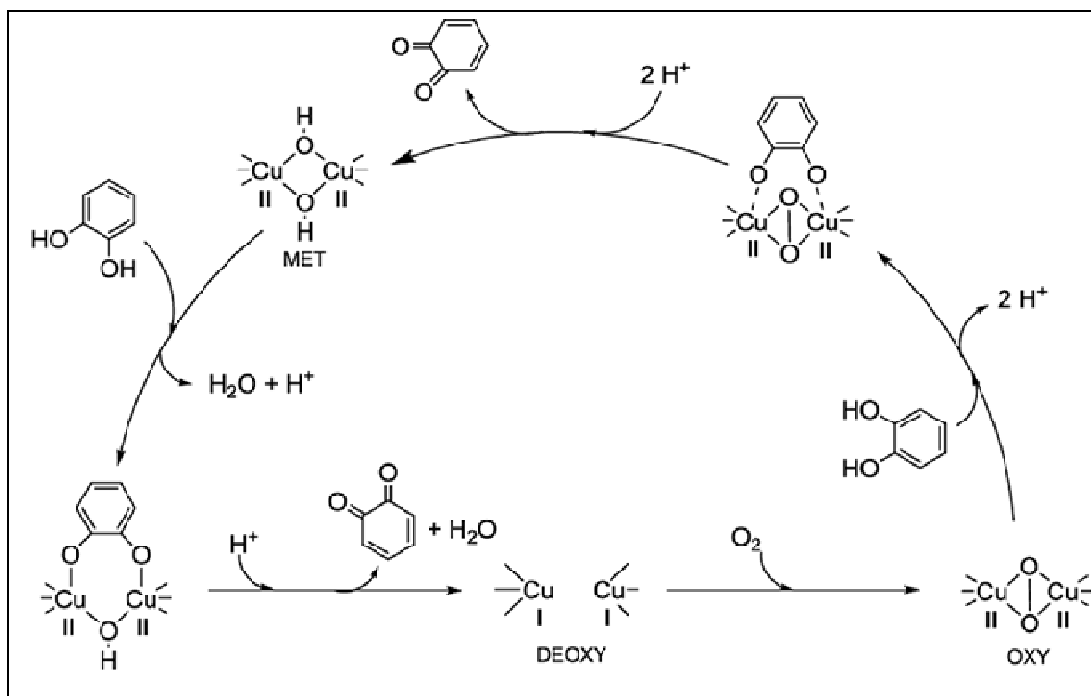
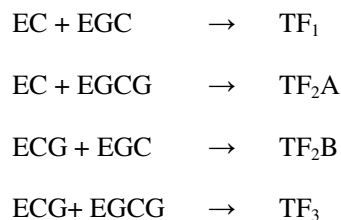


Figura 4. Mecanismo propuesto para la oxidación enzimática de los *o*-difenoles (Ramírez et al., 2003)

Las *o*-quinonas de catequinas simples o sus galatos se condensan con las *o*-quinonas derivadas de las galocatequinas o sus galatos para formar las diferentes TFs de la siguiente manera:



En estudios basados en el monitoreo del proceso de fermentación del té negro, se han identificado otros compuestos, aunque en muy baja concentración, que son producto de la condensación oxidativa de las catequinas entre sí, o de las catequinas con el ácido gálico. Entre ellos podemos mencionar al ácido teaflávic y sus galatos, las teaflagalinas, la teadibenzotropolona A, las teasinesinas y la dehidroteasinesina A (Luczaj y Skrzydlewska, 2005; Wang y Ho, 2009; Tanaka et al., 2010). Estos compuestos son 3-flavan-oles diméricos, con excepción de la teadibenzotropolona A

que es un trímero, en los cuales las unidades estructurales flavan-3-ol están unidas entre sí por enlaces C-C entre sus anillos B (Haslam, 2003).

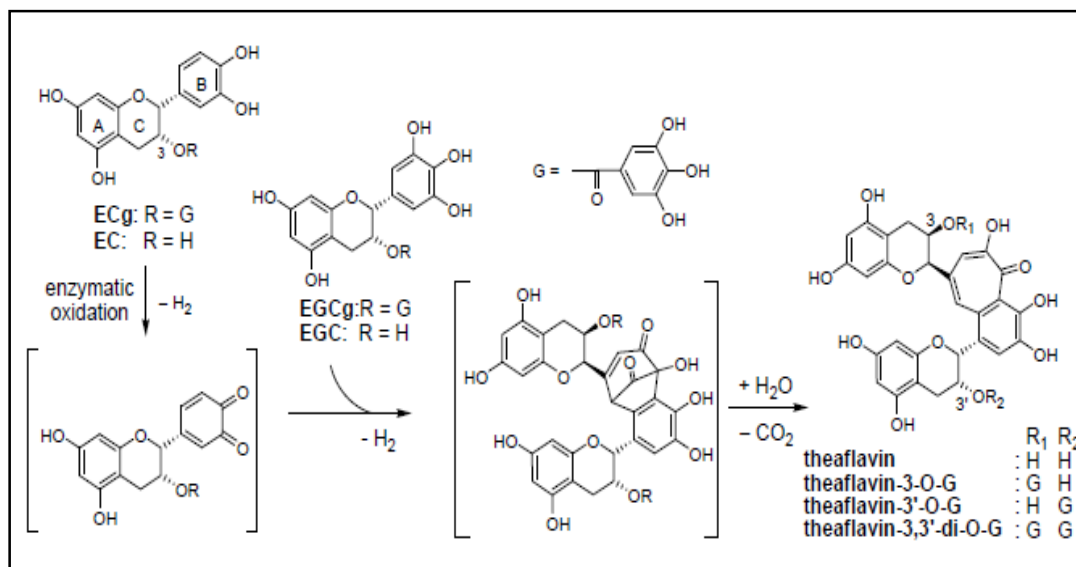


Figura 5. Reacción de oxidación enzimática de las catequinas del té verde y formación de las teaflavinas del té negro (Tanaka et al., 2010)

Las TFs y los compuestos citados anteriormente no son los productos finales de la oxidación que tiene lugar en la etapa de fermentación del té negro, ya que la mayor parte de las catequinas del té se transforma en un grupo heterogéneo de compuestos, con una distribución de pesos moleculares que va de 1.000 a 40.000 Da, que son las denominadas TRs (véase la Figura 3 b). Las estructuras y vías de síntesis de las TRs no son del todo conocidas (Luczaj y Skrzydlewska, 2005; Karori et al., 2007; Wang y Ho, 2009; Tanaka et al., 2010). A pesar de ello, estudios basados en técnicas de degradación química sugieren que las TRs son polímeros heterogéneos de flavan-3-oles y sus galatos en los cuales los enlaces entre las unidades estructurales se sitúan en el C₄, C₆, C₈, C₂' , C₅ y C₆' del núcleo flavan-3-ol (Chen et al., 2012).

El alto potencial oxidativo de algunas de las *o*-quinonas generadas en la primera etapa de la fermentación probablemente es responsable de la generación de las TFs, teasinesinas, teaflagalinas, ácidos teaflávicos y demás benzotropolonas y la subsecuente incorporación de sus productos de oxidación en la formación de las TRs (véase la

Figura 6). Esta hipótesis se ve apoyada por el hecho de que el contenido de todos estos compuestos disminuye durante la fermentación del té negro (Luczaj y Skrzydlewska, 2005; Wang y Ho, 2009; Tanaka et al., 2010).

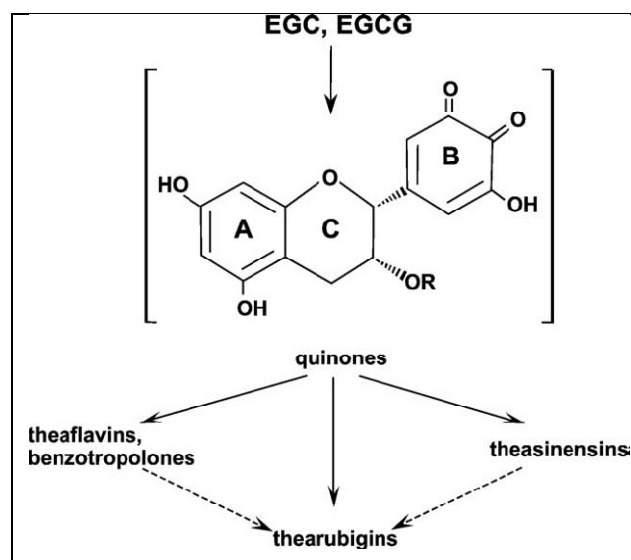


Figura 6. Posibles vías de formación de las tearrubiginas (Luczaj y Skrzydlewska, 2005)

En el té negro, las TFs de colores amarillos y naranjas, y las TRs de tonos pardo-rojizos, contribuyen al brillo, fuerza, cuerpo y color del licor. Respecto al sabor, las diferentes TFs son las responsables de los variados grados de astringencia y de las notas de frescura del té negro (Owuor et al., 2006; Yao et al., 2006a; Muthumani y Senthil Kumar, 2007; Karori et al., 2007; Lima et al., 2009; Kim et al., 2011), mientras que las TRs aportan un sabor amargo intenso y un alto nivel de astringencia (Ostadalova et al., 2011).

En el caso de los tés semifermentados, por la oxidación parcial de las catequinas se evitan las notas a hierba fresca del té verde y el producto adquiere algunas de las cualidades del té negro (Kim et al., 2011).

II.5 CONDICIONES QUE AFECTAN LA CALIDAD DEL TÉ

Junto con las prácticas de manufactura, la calidad del té también depende de factores culturales y ambientales, ya que se ve influenciada por el clima de la región

productora, la estación de cosecha, la altitud de la plantación, la línea genética de la variedad implantada, la madurez de las hojas cosechadas (nivel de recolección), el uso de fertilizantes, entre otros factores (Wright, 2002; Lin et al., 2003; Jayasekera et al., 2011).

De los factores ambientales, la temperatura, la frecuencia de las precipitaciones e intensidad de la radiación solar de la región geográfica de origen del té, son los más importantes (Wright, 2002).

Las condiciones óptimas para el crecimiento de *C. sinensis* se hallan en áreas de clima tropical o subtropical, con abundantes precipitaciones, suelos húmedos, ligeramente ácidos (pH= 4,5 – 5,5) y bien drenados (Parra, 2007; Anesini et al., 2008).

Cabe destacar que existen estudios que demuestran la influencia de la radiación solar en la síntesis de las catequinas del té, y además la variación de los niveles de estos compuestos según la estación del año, siendo máximas durante la estación seca (Yao et al., 2005; Erturk et al., 2010; Kottur, 2010).

Owuor et al. (2008) reportan diferencias en la composición química de tés obtenidos del mismo clon, pero cultivados en regiones geográficas diferentes. La altitud del terreno de cultivo influye directamente en la calidad del té ya que los teales de mayor altitud, si bien presentan una menor velocidad de crecimiento, producen un té de mayor calidad.

Respecto a las prácticas culturales los factores más importantes en el establecimiento de la calidad de un té son: las podas, el nivel de recolección, la frecuencia de recolección y el uso de fertilizantes (Wright, 2002).

La composición fisicoquímica del té, varía en función de las podas, las cuales forman parte de las prácticas culturales esenciales en la manufactura de este producto. La poda anual o liviana, que se realiza en los meses previos a la cosecha, es de suma importancia, ya que promueve la brotación y ramificación de las plantas y por lo tanto la aparición un mayor número de hojas y brotes jóvenes de buena calidad (Prat Kricun, 2011a; Ravichandran, 2004; Lima et al., 2009).

Luego de la primera recolección, se debe definir el intervalo de tiempo para la próxima, de manera tal que se permita la brotación pareja de la planta, y así lograr una producción más equilibrada y una materia prima de mayor calidad. El intervalo entre cosechas depende fundamentalmente de factores inherentes a la especie implantada y a

factores climáticos (Prat Kricun y De Bernardi, 2002). La velocidad de crecimiento de la planta disminuye notablemente luego de cada recolección, y este hecho, causa cambios en la constitución química de las hojas y brotes de té, dando en cosechas sucesivas una materia prima de menor calidad (Ravichandran, 2004).

El nivel de recolección afecta directamente la calidad del té, ya que podas “gruesas”, si bien conducen a un mayor volumen de la cosecha, sacrifican su calidad (Owuor y Obanda, 1998; Wright, 2002).

El método de cosecha utilizado en la producción del té afecta directamente la calidad del producto final (Lima et al., 2009). Con la cosecha mecanizada la selectividad en la recolección se pierde, además este tipo de cosechas causa importantes daños mecánicos a los brotes y hojas cosechados (Ravichandran y Parthiban, 1998). Esto sin duda da lugar a un deterioro de la calidad del té. Ravichandran y Parthiban (1998) demostraron menores concentraciones de polifenoles totales y cafeína en tés obtenidos mediante cosecha mecánica respecto a los cosechados manualmente. También observaron que el extracto acuoso de los tés cosechados manualmente era mayor a los obtenidos por cosecha mecánica.

Cualquier factor que afecte la velocidad de crecimiento de la planta de té, conduce a variaciones en la composición química de la misma, y por tanto a una modificación de su calidad. En general, cualquier práctica que tienda a aumentar la producción de té, tiene efectos negativos en la calidad del producto (Owuor, 2008).

El proceso de marchitado de las hojas y brotes de té tiene inicio ni bien éstos son cortados de la planta, es por esta razón, que el material recolectado debe ser tratado cuidadosamente y es de suma importancia su rápido traslado a la planta elaboradora. El incorrecto manipuleo de la materia prima, que incluye el sobrecalentamiento o el daño físico (flexión, magulladuras, desgarros, etc.) de las hojas y brotes de té recién cosechados, causan una pérdida significativa de su calidad (Tomlins y Mashingaize, 1997; Prat Kricun y De Bernardi, 2002).

Respecto a la manufactura, la etapa que tiene mayor influencia en la calidad del té negro es la etapa de fermentación (Bhattacharyya et al., 2007).

El tiempo, temperatura, humedad relativa y oxígeno disponible durante la fermentación, son factores cruciales en la formación de los compuestos responsables del color y el aroma del té negro. De los factores antes mencionados, el tiempo de

fermentación y la temperatura son los más importantes, ya que tanto su aumento o disminución pueden conducir a la mala calidad del producto final. La concentración de TFs se incrementa notablemente durante las etapas tempranas de la fermentación y con el tiempo alcanza un nivel máximo, para luego disminuir de manera paulatina. La temperatura influye en la formación y degradación de las TFs, ya que a mayor temperatura, las TFs se forman y se degradan más rápidamente. El tiempo en el que se alcanza la máxima concentración de TFs, es considerado el tiempo óptimo de fermentación de un té negro, ya que ha sido demostrado que el té negro con mayor concentración de TFs es de mayor calidad sensorial (Obanda et al., 2001; Muthumani y Senthil Kumar, 2007). A pesar de su valor, este parámetro es de difícil control, ya que se observan variaciones en el tiempo óptimo de fermentación incluso en materia prima obtenida de los mismos clones (Owuor y Obanda, 2001). Durante el proceso de fermentación, el té negro adquiere su aroma floral característico por la formación de compuestos volátiles aromáticos (derivados principalmente de aceites esenciales y aminoácidos). Por este motivo es crítico que las hojas y brotes de té se dejen fermentar solo hasta el límite deseado, ya que una fermentación pobre, y más aún una sobrefermentación, conducen a la disminución de la calidad del té afectando drásticamente sus características sensoriales (Bhattacharyya et al., 2007).

De acuerdo al proceso de manufactura, el té semifermentado requiere técnicas específicas que permiten controlar el grado de fermentación del producto (Lin et al., 1998). Durante la elaboración de este tipo de té, no existe una etapa concreta de fermentación. La fermentación parcial de los polifenoles del té, que caracteriza a este producto, tiene lugar durante las dos etapas de marchitado, cuyo principal propósito es promover la formación de compuestos aromáticos, más que la oxidación de los compuestos fenólicos como en el caso del té negro (Liang et al., 2005a). Para asegurar la calidad de este tipo de té es muy importante el cuidadoso manipuleo de la materia prima luego de su cosecha, y la suave rotación del material durante la etapa de marchitado, que genera la disrupción de las estructuras celulares por la propia fricción entre las hojas, causando un grado limitado de fermentación (Wang et al., 2010).

En el caso del té verde la etapa del proceso de elaboración que define su calidad es la de escaldado. Este tratamiento térmico inicial define el color, sabor y aroma del té verde. Un escaldado insuficiente va en detrimento de la calidad del producto final, ya

que genera una inactivación incompleta de la enzima PPO, lo que generará la aparición de catequinas oxidadas.

Debido a la alta competencia existente en el mercado internacional del té, la calidad del producto se ha convertido en un parámetro muy importante para fijar el precio del mismo (Ravichandran, 2004; Lima et al., 2009). Producir un té de mayor calidad, genera incrementos en el precio del producto, lo que se traduce en un aumento de la viabilidad de la actividad y mayores beneficios económicos para el sector productor.

II.6 PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS PARA EVALUAR LA CALIDAD DEL TÉ

La calidad de un té depende principalmente de los componentes químicos presentes en la infusión y ha sido tradicionalmente evaluada mediante el catado del producto (Liang et al., 2003; Lima et al., 2009). El catado es una técnica rápida, económica y sencilla para valorar la calidad de un té, aunque tiene ciertas limitaciones (Prat Kricun y De Bernardi, 2002). Los expertos en catado de té han desarrollado un lenguaje propio para describir los atributos de calidad del producto, pero este lenguaje es difícil de entender para los consumidores y elaboradores tealeros, por lo que es de suma importancia el uso de métodos físicos y químicos que permitan identificar la calidad de un té de manera objetiva (Liang et al., 2003; Lima et al., 2009).

Los parámetros fisicoquímicos utilizados para evaluar la calidad del té incluyen el contenido de humedad, cenizas totales, cenizas insolubles en ácido, extracto acuoso, cafeína, fibra cruda, contenido de polifenoles totales, entre otros. Para todos ellos se han fijado límites fuera de los cuales la calidad del té se ve afectada de manera negativa.

El contenido de agua de un alimento es uno de los factores que más influye en su alterabilidad. Los cambios deteriorativos que ocurren en los alimentos dependen de su actividad acuosa (a_w). Estos cambios incluyen fundamentalmente al crecimiento microbiano, reacciones enzimáticas y reacciones químicas. El seguimiento del porcentaje de humedad es esencial para controlar y evitar la formación de cultivos de microorganismos que de alguna forma puedan alterar la calidad del alimento, y también para garantizar su máxima estabilidad química (Hart y Fisher, 1991). Por este motivo, este parámetro es un factor determinante, especialmente en los alimentos deshidratados. Cada alimento cuenta con un límite superior de contenido de humedad que le garantiza

su conservación. Este valor es determinado mediante las isothermas de adsorción, ya que no existe desarrollo microbiano a una a_w inferior a 0,6. El punto de máxima estabilidad fisicoquímica de los productos alimentarios es el contenido de humedad correspondiente al valor de a_w de la monocapa de BET, denominada así en función de que el cálculo teórico de su valor fue propuesto por primera vez por Brunauer, Emmet y Teller. A ese valor de a_w todas las reacciones deteriorativas son nulas o mínimas, ya que el agua de la monocapa es agua que se encuentra químicamente ligada a los sitios polares de los componentes macromoleculares del alimento, no estando disponible para actuar como disolvente. La predicción del valor de humedad de la monocapa para cada alimento particular mediante las isothermas de adsorción, permite conocer la máxima estabilidad del mismo. El contenido de humedad de un alimento considerado como el más seguro con referencia a su estabilidad, se encuentra comprendido entre el porcentaje de humedad correspondiente a la monocapa y el porcentaje de humedad correspondiente a una a_w de 0,6 (Badui Dergal, 2006; Reid y Fennema, 2010).

Las cenizas se definen como el residuo del alimento después de su combustión en un horno de mufla a 550–750 °C. A esta temperatura, el agua y los componentes volátiles del alimento se evaporan y los componentes orgánicos son completamente oxidados hasta la formación de dióxido de carbono, agua, óxidos de nitrógeno, azufre y fósforo que se volatilizan. Los constituyentes minerales permanecen en el residuo principalmente como óxidos metálicos, fosfatos, sulfatos, silicatos y halogenuros de metales de transición, especialmente cloruros (Hart y Fisher, 1991). El valor de las cenizas totales puede considerarse como una medida general de la calidad, ya que se utiliza para identificar la autenticidad de un alimento. Valores superiores a los límites preestablecidos pueden indicar la presencia de un adulterante inorgánico, y, en estas circunstancias es recomendado determinar las cenizas insolubles en ácido.

Las cenizas insolubles en ácido se definen como la proporción de las cenizas totales que resulta luego de haber sido tratadas con ácido clorhídrico (HCl) diluido. La determinación de cenizas insolubles en ácido se aplica con el fin de comprobar la presencia y el volumen en la muestra de material de origen silíceo tal como arena, grava o tierra, que se traduce en un aumento de los valores del parámetro, indicando la contaminación del alimento con productos térreos. Los minerales presentes en el suelo, especialmente sílice (SiO_2) y silicatos complejos son solubles únicamente en HBr o HF.

Asimismo, esta determinación permite evidenciar la presencia de iones de metales pesados como la plata (Ag), el mercurio (Hg) o el plomo (Pb), los cuales pueden resultar tóxicos para el organismo en caso de ingestión. Los halogenuros de estos elementos que se generan en las cenizas no se solubilizan en el HCl al 10% (Hart y Fisher, 1991; Pearson, 1993).

El extracto acuoso hace referencia al porcentaje en masa de sustancias solubles en agua que contiene el té (Stahl, 1962). Su importancia como parámetro analítico en el caso de este producto, reside en que representa la porción de sustancias que se consumen al preparar la infusión. Los compuestos que se solubilizan en el extracto acuoso son aquellos que presentan una estructura molecular polar como los polifenoles, azúcares, minerales, metilxantinas, aminoácidos y pigmentos (Hart y Fisher, 1991; Pearson, 1993; Yao et al., 2006b).

La cafeína es un alcaloide que se encuentra naturalmente a altas concentraciones en las hojas y brotes de té, y junto con otros compuestos imparte fuerza a la infusión (Yao et al., 2006b). Los altos niveles de cafeína indican un buen estándar de hoja ya que su concentración disminuye con la madurez de los brotes (Lin et al., 2003; Parra, 2007).

El término “fibra”, en anatomía vegetal, se encuentra asociado a algunos de los constituyentes de la pared celular de las células vegetales que engloban estructuras químicas muy complejas. La fibra cruda es la porción orgánica no nitrogenada del alimento que resiste una doble hidrólisis (ácida y alcalina) bajo condiciones específicas. Está constituida esencialmente por celulosa (90 %), y porciones variables de hemicelulosas, polisacáridos no celulósicos y de lignina provenientes de la pared celular de los tejidos vegetales (Smiechowska y Dmoswski, 2006; García Ochoa et al., 2008). Las células vegetales jóvenes poseen una pared celular delgada que, a medida que la célula madura o se especializa para formar tejidos asociados al sostén y transporte, se engrosa y modifica su composición química. La pared celular de células maduras o especializadas es rica en celulosa, hemicelulosas y ligninas, mientras que en la pared celular de células jóvenes dominan las hemicelulosas y los polisacáridos no celulósicos (Curtis y Barnes, 1993). El contenido de fibra cruda es un buen parámetro para evaluar el proceso de recolección del té. Su porcentaje se encuentra aumentado en caso de podas que superen los niveles indicados de recolección lo que aumenta la cantidad de palos y hojas maduras, obteniendo así materia prima de baja calidad con alto porcentaje de

fibra. (Stahl, 1962; Smiechowska y Dmoswski, 2006). El concepto de fibra cruda describe exclusivamente una magnitud analítica, siendo un parámetro sumamente útil en el control de calidad de los alimentos de origen vegetal y no debe confundirse con el concepto de “fibra dietaria”, ya que el método de determinación de la fibra cruda no estima la digestibilidad de los alimentos en ningún aspecto.

Los compuestos fenólicos, antiguamente llamados “taninos”, presentes en las hojas y brotes de té son conocidos por ser uno de los principales factores que determinan la calidad del producto final (Yao et al., 2006a; Erturk et al., 2010). Se ha encontrado que la cantidad y proporción de polifenoles correlaciona significativamente con los parámetros de calidad del té (Lin et al., 1998); clones con bajos contenidos de polifenoles totales, producen tés de baja calidad (Yao et al., 2005). Ha sido demostrado que las hojas y brotes jóvenes de té contienen mayores concentraciones de polifenoles que las hojas maduras (Chan et al., 2007), por lo que este parámetro es otro indicador de la calidad de la materia prima utilizada en la elaboración de los diferentes tipos de té.

Prat Kricun et al. (2000) realizaron un estudio en el cual demostraron que existe correlación entre los parámetros fisicoquímicos del té negro y los resultados de su evaluación sensorial. Ellos reportan que la calificación por catado del té correlaciona de manera positiva con las variables cuyos valores altos indican buena calidad de producto (extracto acuoso, cafeína y taninos) y presenta una correlación negativa en aquellos parámetros en los que valores altos significan mala calidad del producto (fibra cruda). Liang et al. (2003) también demuestran la relación entre la calidad sensorial del té negro y los parámetros químicos. Ellos encontraron correlación positiva entre el grado de calidad del té negro determinado por análisis sensorial y las variables químicas contenido de cafeína, contenido de aminoácidos y contenido de polifenoles totales. Esto demuestra la utilidad de los parámetros fisicoquímicos en la estimación de la calidad final del té. Y más aún, debido a que las técnicas para su determinación se encuentran estandarizadas y los resultados obtenidos son objetivos, los parámetros fisicoquímicos son herramientas muy importantes cuando se busca calificar la calidad de un té.

II.7 ASPECTOS NORMATIVOS

En Argentina, la normativa vigente de alcance nacional que establece la definición y requisitos básicos que debe cumplir el té, es el Código Alimentario Argentino (CAA), que dedica un capítulo entero al tema (Capítulo XV).

Según el Artículo 1.181 (Resolución Conjunta SPReI N° 51/2011 y SAGyP N° 107/2011) del CAA:

“Se conoce con la denominación genérica de té exclusivamente al producto obtenido por el procesamiento conveniente de las yemas, hojas jóvenes, pecíolos y tallos tiernos de la especie Camellia sinensis L.

El té destinado a la preparación de infusiones podrá ser:

1) Té o té negro, que corresponde al producto obtenido mediante marchitado, enrulado, fermentado y secado de las yemas, hojas jóvenes, pecíolos y tallos tiernos.

2) Té verde, que corresponde al producto obtenido por calentado, enrulado, secado de las yemas, hojas jóvenes, pecíolos y tallos tiernos sin que hayan experimentado ningún proceso de fermentación.

3) Té tipo Oolong, que corresponde al producto obtenido mediante marchitado al sol, luego a la sombra, oxidación enzimática incompleta, tratamiento térmico, enrulado y secado de las yemas, hojas jóvenes, pecíolos y tallos tiernos.

4) Té rojo, que corresponde al producto obtenido mediante el marchitado, oxidación enzimática incompleta, tratamiento térmico, enrulado, secado y estacionamiento en condiciones controladas por un período de tiempo suficiente para completar la oxidación de las yemas, hojas jóvenes, pecíolos y tallos tiernos”.

Además, en el Capítulo XV, Artículo 1.185 - (Res 1542, 17.9.85) se establecen los requisitos fisicoquímicos con los que deberá cumplir tanto el té negro como el té verde que se expende envasado para el consumo en nuestro país (véase la Tabla 2).

Tabla 2. Requisitos para el té negro y el té verde según el CAA.

Parámetro	Requisito
Tallos y pecíolos	Máximo: 5,0 %
Humedad, a 100 - 105 °C	Máximo: 7,0 %
Cenizas totales a 500 - 550 °C	Máximo: 8,0 % sobre producto seco
Cenizas solubles en agua	Mínimo: 45 % de las cenizas totales
Cenizas insolubles en HCl	Máximo: 1,0 % sobre producto seco
Extracto acuoso	Mínimo: 28 % sobre producto seco
Caféina	Mínimo: 1,6 % sobre producto seco
Tanino	Mínimo: 7,5 % sobre producto seco
Fibra cruda	Máximo: 20 % sobre producto seco

También en nuestro país se encuentran vigentes las normas IRAM (Instituto Argentino de Normalización y Certificación). IRAM es una asociación civil, sin fines de lucro, que tiene por objeto establecer normas técnicas cuya aplicación en cada sector específico, garantice la calidad del producto, promoviendo las actividades de certificación y la práctica de sistemas de calidad en las empresas, para brindar seguridad al consumidor. IRAM es el representante de la Argentina en la International Organization for Standardization (ISO). ISO es un organismo mundial que nuclea a los grupos de normalización de cada país, con el fin de trabajar en la confección de normas internacionales que garanticen la calidad de un producto, a través de comités de expertos en cada sector específico. Las normas IRAM y las normas ISO son normas cuyo cumplimiento no es obligatorio, pero la adecuación a los requisitos optativos de calidad establecidos en ellas son indispensables para la comercialización internacional del té.

Las normas ISO 3720 (2011) e ISO 11287 (2011) establecen los requisitos fisicoquímicos básicos con los que deben cumplir el té negro y el té verde, respectivamente (véase la Tabla 3). Estas normas fijan los requerimientos para ciertos

parámetros que si son cumplidos, son indicadores de que el té ha sido elaborado siguiendo buenas prácticas de manufactura.

Tabla 3. Requisitos fisicoquímicos para el té negro (ISO 3720, 2011) y para el té verde (ISO 11287, 2011)

Parámetro	Requisitos para el té verde	Requisitos para el té negro
Extracto acuoso	Mínimo: 32 % sobre producto seco	Mínimo: 32 % sobre producto seco
Cenizas totales	Máximo: 8 % sobre producto seco Mínimo: 4 % sobre producto seco	Máximo: 8 % sobre producto seco Mínimo: 4 % sobre producto seco
Cenizas solubles en agua	Mínimo: 45 % de las cenizas totales	Mínimo: 45 % de las cenizas totales
Alcalinidad de las cenizas solubles en agua	Mínimo: 1 % sobre producto seco Máximo: 3 % sobre producto seco	Mínimo: 1 % sobre producto seco Máximo: 3 % sobre producto seco
Cenizas insolubles en ácido	Máximo: 1 % sobre producto seco	Máximo: 1 % sobre producto seco
Fibra cruda	Máximo: 16,5 % sobre producto seco	Máximo: 16,5 % sobre producto seco
Catequinas totales	Mínimo: 7% sobre producto seco	-----
Contenido de polifenoles totales	Mínimo: 11 % sobre producto seco	Mínimo: 9 % sobre producto seco
Relación Catequinas totales/polifenoles totales	Mínimo: 0,5	-----

CAPÍTULO III

III.1 PROPUESTA METODOLÓGICA

Para el estudio de los parámetros fisicoquímicos de los distintos tipos de té elaborados en Argentina se trabajó con muestras de té negro, té verde, té semifermentado y BT de producción nacional.

Los ensayos fisicoquímicos realizados fueron: contenido de humedad, extracto acuoso, cenizas totales y cenizas insolubles en ácido, según lo establecido en las normas IRAM; contenido de polifenoles totales, fibra cruda y cafeína según los métodos establecido por ISO; capacidad antioxidante, mediante el ensayo del radical libre DPPH; y determinación de los parámetros de color L , a y b (sistema HunterLab).

Una vez obtenidos los resultados se evaluaron estadísticamente con el objeto de conocer si existían diferencias significativas entre los diferentes tipos de té respecto de los parámetros fisicoquímicos estudiados, y se realizó un análisis de correlación entre ellos.

III.2 MATERIALES Y MÉTODOS

III.2.1 Muestras

Se analizaron 51 muestras de té provenientes de establecimientos industriales localizados en las provincias de Corrientes y Misiones, Argentina. Del total de las muestras 28 fueron de té negro, 11 de té verde, 11 de BT y 1 de té semifermentado (la única marca comercial de producción nacional).

Para la determinación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante total se utilizaron 18 muestras de té obtenidas en una segunda etapa de muestreo. Del total de las muestras 7 fueron de té negro, 5 de té verde, 5 de BT y 1 de té semifermentado.

III.2.2 Preparación de las muestras

Las muestras de cada uno de los tipos de té se obtuvieron según lo especificado en la norma IRAM 20601 (1997). Fueron molidas según lo establecido en la norma IRAM 20602 (1997) hasta un tamaño de partícula que atravesase una malla de 500 μm , y finalmente acondicionadas en frascos de vidrio con cierre hermético encontrándose preparadas para comenzar con los procedimientos analíticos.

III.2.3 Contenido de humedad

El contenido de humedad de las muestras de té fue determinado en una estufa a $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ procediendo según la norma IRAM 20603 (2006).

Se pesaron aproximadamente 2 g de la muestra de té en un pesafiltros debidamente acondicionado. Luego, el pesafiltros conteniendo la muestra de té fue llevado a una estufa a $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 6 h. Transcurrido el tiempo de secado, el pesafiltros fue retirado de la estufa et al.ocado en un desecador hasta enfriarse. Finalmente se pesó el pesafiltros.

El contenido de humedad expresado como un porcentaje en masa (% bh) fue calculado según la fórmula:

$$\textit{Contenido de Humedad} = (m_0 - m_1) \cdot \frac{100}{m_0}$$

siendo:

m_0 , la masa inicial de la muestra antes de secar, en gramos.

m_1 , la masa de la muestra seca, en gramos.

Cada muestra fue procesada por duplicado tomando como resultado la media aritmética de las dos determinaciones.

III.2.4 Cenizas totales y cenizas insolubles en ácido

A temperaturas que superan los 500 °C la materia orgánica presente en el alimento se oxida hasta la formación de dióxido de carbono, agua y óxidos volátiles de nitrógeno, azufre y fósforo. El residuo blanco obtenido luego de la calcinación recibe el nombre de “cenizas totales” y se corresponde con el contenido de minerales del alimento.

Las cenizas totales fueron determinadas por incineración de las muestras de té en una mufla a 525 °C ± 25 °C según la norma IRAM 20605 (1997). Para ello, fueron pesados aproximadamente 5 g de la muestra de té en una cápsula de porcelana debidamente acondicionada. Se colocó la cápsula en una mufla que fue llevada lentamente hasta una temperatura de 525 °C ± 25 °C, permaneciendo allí por 5 h.

Una vez transcurridas las 5 h, la cápsula fue retirada de la mufla, enfriada en un desecador y pesada.

El contenido de cenizas totales expresado como un porcentaje en masa con relación a la materia seca (% bs) fue calculado según la fórmula:

$$\text{Cenizas Totales} = \frac{m_1}{m_0} \cdot \frac{100}{RS} \cdot 100$$

siendo:

m_0 , masa inicial de la muestra de ensayo, en gramos.

m_1 , masa de las cenizas totales, en gramos.

RS , contenido de materia seca, en porcentaje en masa de la muestra.

Se efectuaron dos determinaciones sobre cada una de las muestras, tomando como resultado la media aritmética calculada a partir de los dos datos experimentales obtenidos.

A partir de las cenizas totales fueron determinadas las cenizas insolubles en ácido por extracción con una solución de ácido clorhídrico, filtración y posterior incineración en mufla a $525^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ procediendo según lo establecido en la norma IRAM 20607 (1997).

El ácido clorhídrico disuelve la mayor parte de las sustancias oxidadas insolubles en agua. Al humedecer las cenizas totales con ácido clorhídrico diluido, los óxidos y sales presentes son disueltos al estado de cloruros metálicos, con excepción de los óxidos argéntico, mercúrico y plúmbico, cuyos cloruros son insolubles y precipitan. Asimismo, el ácido clorhídrico no es capaz de disolver SiO_2 (sílice) ni los silicatos naturales presentes en la arena y tierras silíceas (Burriel Martí et al., 2008).

Se agregaron 25 mL de una solución de ácido clorhídrico (un volumen de ácido clorhídrico concentrado más 2,5 volúmenes de agua) sobre las cenizas totales contenidas en la cápsula de porcelana. Se llevó la cápsula a ebullición suave durante 10 min. Luego de enfriar, se filtró el contenido de la cápsula a través de un papel de filtro libre de cenizas bajo presión reducida. La cápsula y el papel de filtro fueron lavados con agua caliente hasta que los líquidos de lavado no presentaron precipitado ni turbidez lechosa tras la adición de unas gotas de nitrato de plata, asegurando que el filtrado esté libre de cloruros solubles. El nitrato de plata pone en evidencia la presencia del ión Cl^- procedente de los cloruros solubles o del HCl en el agua de lavado por precipitación de un sólido pálido, el cloruro de plata (Burriel Martí et al., 2008).

El papel de filtro con las cenizas insolubles en ácido fue colocado en la cápsula de porcelana original e incinerado en un horno de mufla a $525^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ hasta quedar libre de partículas carbonosas.

Finalmente, la cápsula fue retirada de la mufla, enfriada en un desecador y pesada.

El contenido de cenizas insolubles en ácido expresado como un porcentaje en masa con relación a la materia seca (% bs) fue calculado por la fórmula:

$$\text{Cenizas insolubles en ácido} = \frac{m_2}{m_0} \cdot \frac{100}{RS} \cdot 100$$

siendo:

m_0 , la masa inicial de la porción de ensayo utilizada en la determinación de las cenizas totales, en gramos.

m_2 , la masa de las cenizas insolubles en ácido, en gramos.

RS , contenido de materia seca, en porcentaje en masa de la muestra.

Se realizaron dos determinaciones por cada muestra y se tomó como resultado la media aritmética obtenida de estas dos determinaciones.

III.2.5 Extracto acuoso

Se determinó el extracto acuoso por extracción de las sustancias solubles en agua de las muestras de té con agua en ebullición basándose en lo especificado en la norma IRAM 20610 (1997).

La muestra de té (2 g) fue llevada a ebullición en un balón con 200 mL de agua para análisis durante 1 h. Luego, el contenido del balón fue filtrado en caliente bajo presión reducida a través de un papel de filtro. El balón y el residuo insoluble fueron lavados con 200 mL de agua para análisis previamente calentada. Se tomó una alícuota de 100 mL del extracto acuoso obtenido y se la colocó en un pesafiltros previamente acondicionado. Se llevó el pesafiltros a una estufa a $103 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 h. Finalmente, se retiró el pesafiltros de la estufa y se lo pesó.

El extracto acuoso de la muestra de té expresado como un porcentaje en masa con relación a la materia seca (% bs) fue calculado según la fórmula:

$$\text{Extracto acuoso} = \frac{m_1}{m_0} \cdot \frac{100}{RS} \cdot V$$

siendo:

m_0 , la masa inicial de la muestra, en gramos.

m_1 , la masa del residuo soluble de la alícuota de 100 mL del extracto acuoso obtenido, en gramos.

V , el volumen del extracto acuoso total obtenido, en mililitros.

RS , contenido de materia seca, en porcentaje en masa de la muestra.

Se tomó como resultado la media aritmética de las dos determinaciones realizadas a cada una de las muestras.

III.2.6 Contenido de fibra cruda

El contenido de fibra cruda se determina mediante hidrólisis secuencial de la muestra, con ácido y álcali, consiguiendo la solubilización de todos los componentes del alimento excepto ciertos componentes parietales de las células vegetales y las sales minerales insolubles. El material remanente obtenido por filtrado, formado por fibra cruda y minerales, se seca y se calcina. La diferencia de peso entre el residuo seco y el calcinado es la fibra cruda.

El contenido de fibra cruda se determinó según la norma ISO 15598 (1999) con ciertas modificaciones. La muestra de té (0,5 g) fue llevada a ebullición con 50 mL de una solución de ácido sulfúrico 0,255 N durante 30 min. La mezcla fue transferida a un tubo cónico de 50 mL de capacidad y centrifugada a 377 x g durante 5 min. El residuo insoluble obtenido fue separado mediante filtración bajo presión reducida a través de un crisol filtrante con filtro de vidrio de borosilicato N° 3. El residuo insoluble separado fue llevado a ebullición con 50 mL de una solución de hidróxido de sodio 0,313 N durante 30 min. La mezcla fue transferida a un tubo cónico de 50 mL de capacidad y centrifugada a 377 x g durante 5 min. Se separó el residuo insoluble mediante filtración bajo presión reducida utilizando el mismo crisol filtrante, se enjuagó con 12,5 mL de la solución de ácido sulfúrico 0,255 N a 100 °C y se lo lavó con 12,5 mL de etanol. Todo el residuo reunido en el crisol filtrante se secó en estufa a 103°C ± 2 °C durante 4 h, luego se enfrió y se pesó. Finalmente, el residuo se calcinó en mufla a 550 °C ± 10 °C, se enfrió y se pesó.

El contenido de fibra cruda expresado como un porcentaje en masa con relación a la materia seca (% bs) fue calculado según la fórmula:

$$Fibra\ cruda = \frac{(m_1 - m_2)}{m_0} \cdot 100 \cdot \frac{100}{RS}$$

siendo:

m_0 , la masa de la porción de ensayo, en gramos.

m_1 , la masa total, en gramos, del residuo seco y su soporte luego del secado.

m_2 , la masa total, en gramos, del residuo seco y su soporte luego de la incineración.

RS, contenido de materia seca, en porcentaje en masa de la muestra.

Se realizaron dos determinaciones por muestra, tomando como resultado la media aritmética calculada a partir de los dos datos experimentales obtenidos.

III.2.7 Contenido de cafeína

El contenido de cafeína fue determinado según lo establecido en la norma ISO 10727 (2002) utilizando cromatografía líquida de alta performance (HPLC) y detección ultravioleta.

La cafeína es un alcaloide que se encuentra naturalmente en las hojas y brotes de té y es poco soluble en agua a temperatura ambiente, pero su solubilidad se incrementa de manera directa con la temperatura, siendo muy soluble en agua hirviendo. A 25 °C se disuelven aproximadamente 20 mg de cafeína en 1 mL de agua, mientras que su solubilidad asciende a 166 mg/mL y a 670 mg/mL, a temperaturas de 80 °C y 100 °C respectivamente. En el té la cafeína se encuentra acompañada de otros compuestos de los cuales hay que aislarla para su posterior análisis por HPLC. Se trata principalmente de compuestos polifenólicos y pigmentos que también son solubles en agua caliente. Por este motivo, la extracción de la cafeína se realiza por ebullición suave del té con agua y en presencia de óxido de magnesio, que precipita los polifenoles y parte de los pigmentos presentes en la muestra, separándolos de la fase acuosa (Sonsalla, 2003).

Una vez realizada la extracción, se procede a la separación cromatográfica por HPLC que consiste en pasar los componentes del extracto obtenido a través de una columna rellena con una fase estacionaria adecuada, mediante el bombeo de la fase móvil a presión elevada. Para la determinación de la cafeína, el método de elección es HPLC en fase reversa, utilizando una columna de octadecilsilano (C₁₈) (apolar) y una mezcla metanol agua como fase móvil (polar). El tiempo de elución del analito, depende de su naturaleza química y su interacción con las fases móvil y estacionaria.

La cafeína es detectada a la salida de la columna cromatográfica por su capacidad de absorción de la radiación UV a 280 nm.

La identificación de la cafeína se realiza comparando el tiempo de retención de la muestra con el tiempo de retención correspondiente al pico cromatográfico de un patrón de cafeína. La cuantificación se realiza integrando el área bajo la curva de la cafeína detectada y aplicando la ecuación de regresión obtenida durante la calibración con soluciones patrón de cafeína.

III.2.7.1 Reactivos

Los reactivos utilizados fueron: cafeína (Sigma Ultra, Argentina), metanol grado HPLC (Merck, Argentina), agua grado HPLC (Merck, Argentina) y óxido de magnesio (Anedra, Argentina).

III.2.7.2 Preparación de las soluciones patrón de cafeína

Para la preparación de las soluciones patrón utilizadas en la construcción de la curva de calibración, se disolvió 0,125 g de cafeína en 250 mL de una mezcla metanol:agua (1:4), obteniendo así una solución de cafeína de concentración de 500 µg/mL. Luego, se transfirieron alícuotas de 1, 2 y 3 mL de esta solución a matraces aforados de 100 mL y los mismos fueron enrasados con agua destilada, obteniéndose así soluciones patrón de cafeína con las respectivas concentraciones nominales (15, 10 y 5 µg/mL). Finalmente se transfirieron 20 mL de la solución de cafeína de concentración 10 µg/mL a un matraz aforado de 100 mL y se lo llevó a volumen con agua destilada, obteniéndose así una solución patrón de cafeína de concentración 2 µg/mL.

III.2.7.3 Extracción

Para la extracción del compuesto se pesó 1 g de la muestra de té y se lo colocó en un erlenmeyer junto con 4,5 g de óxido de magnesio y 300 mL de agua para análisis. Se mezcló muy bien en contenido del erlenmeyer y se lo llevó a ebullición suave durante 20 min con agitación ocasional. La mezcla se dejó enfriar dejándola en reposo para que se produzca la sedimentación. Luego, se trasvasaron aproximadamente 10 mL de la solución sobrenadante a un tubo cónico. El extracto fue centrifugado a 1508 g durante 10 min. Finalmente, se tomó 1 mL del sobrenadante y se lo diluyó (1:10) con agua grado HPLC.

III.2.7.4 Determinación del contenido de cafeína

La HPLC fue llevada a cabo en un cromatógrafo equipado con un detector UV (Modelo Lambda Max 481, Waters).

Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes:

<i>Volumen de inyección:</i>	20 µL
<i>Columna:</i>	Beckman Ultrasphere C ₁₈ (4,6 mm x 250 mm, 5µm)
<i>Temperatura de la columna:</i>	40 °C

<i>Fase móvil:</i>	metanol/agua (3:10, v/v)
<i>Caudal de la fase móvil:</i>	1 mL min ⁻¹
<i>Longitud de onda detector:</i>	280 nm

El contenido de cafeína expresado como un porcentaje en masa con relación a la materia seca (% bs) fue calculado según la siguiente fórmula:

$$\text{Cafeína} = A_m \cdot FR \cdot \frac{300 d}{m} \cdot \frac{100}{RS} \cdot \frac{100}{10^6}$$

siendo:

A_m , el área del pico de la muestra de ensayo.

FR , factor de respuesta para la cafeína (obtenido a partir de la curva de calibración).

d , factor de dilución (10).

m , la masa de la porción de ensayo, en gramos.

RS , contenido de materia seca, en porcentaje en masa de la muestra.

Las muestras fueron procesadas por duplicado y el resultado se calculó como la media aritmética de ambas determinaciones.

III.2.8 Parámetros de color

El color se midió con un medidor de Color Hunter Lab D25-9 (Hunter Associates Laboratory, USA), en una escala de color Hunter Lab (parámetros L , a y b), con ángulo de observador de 10°.

El modelo de color Hunter *Lab* es un modelo cromático tridimensional utilizado para describir todos los colores que puede percibir el ojo humano. El parámetro L mide la luminosidad, claridad o visibilidad del color (grado de blancura) y la cromaticidad se evalúa por los parámetros a y b . El parámetro L hace corresponder a cada color con la escala de grises y sus valores oscilan entre 0 (negro) y 100 (blanco perfecto). El parámetro a mide el componente rojo del color en el eje positivo, el componente verde en el eje negativo y adopta el valor 0 para los grises. El parámetro b mide la posición del color entre el amarillo y azul (valores negativos de b indican azul, mientras que

valores positivos indican amarillo y adopta el valor 0 para los grises) (véase la Figura 7).

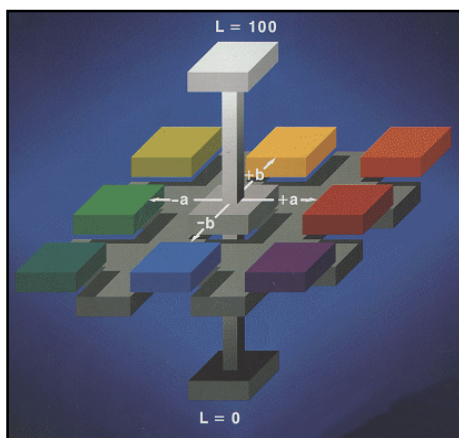


Figura 7. Diagrama del modelo de color Hunter Lab

Las muestras fueron procesadas por triplicado y a cada una de estas tres submuestras se le realizaron 3 mediciones, rotando el material contenido en una placa de Petri, 120° .

Se tomó como resultado la media aritmética obtenida a partir de los nueve valores que fueron determinados para cada parámetro.

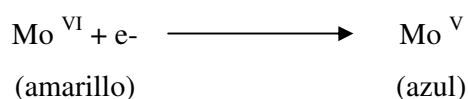
III.2.9 Contenido de polifenoles totales: Método de Folin-Ciocalteu

El ensayo espectrofotométrico desarrollado por Folin-Ciocalteu (FC) es utilizado para la determinación del contenido de polifenoles totales en diversos alimentos incluyendo vinos, frutas, vegetales, jugos naturales, infusiones, entre otros (Roginsky y Lissi, 2005). Se basa en una reacción de transferencia electrónica en la cual el reactivo (oxidante) extrae un electrón del antioxidante presente en la muestra de ensayo, generando un cambio de color. La intensidad del color generado es proporcional a la concentración del antioxidante en la muestra. El punto final de la reacción se alcanza cuando el cambio de color se detiene. El cambio de absorbancia se representa frente a diferentes concentraciones de una sustancia antioxidante patrón (en este caso, ácido gálico) para dar una curva lineal. La pendiente de la curva refleja la capacidad reductora del antioxidante patrón, y esto permite calcular la capacidad reductora de la muestra,

proporcional al contenido de compuestos fenólicos totales, expresada como equivalentes de ácido gálico (EAG) (Huang et al., 2005).

Si bien la naturaleza química exacta del reactivo de FC aún no está dilucidada, se cree que contiene una mezcla de polímeros complejos de los ácidos fosfomolibdico y fosfowolfrámico, en la cual el molibdeno se encuentra en estado de oxidación (VI), lo que otorga al reactivo un color amarillo (Roginsky y Lissi, 2005; Huang et al., 2005; Oliveira et al., 2009).

En presencia de sustancias antioxidantes, el reactivo de FC sufre una reacción de reducción que conduce a la formación de complejos azules de molibdeno y wolframio, cuya naturaleza química precisa se desconoce, que poseen una absorción máxima a una longitud de onda de 765 nm. En esencia, se cree que el molibdeno es más fácil de reducir dentro del complejo del reactivo y la reacción de transferencia electrónica ocurre entre este elemento y la sustancia reductora presente, produciéndose un cambio en el estado de oxidación del molibdeno como sigue:



Los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de FC exclusivamente en medio alcalino (ajustado por la adición de carbonato de sodio al medio de reacción). Bajo condiciones alcalinas se produce la disociación del protón del grupo fenólico dando origen al anión fenolato, capaz de reducir al reactivo de FC (Roginsky y Lissi, 2005; Huang et al., 2005; Oliveira et al., 2009). En la Figura 8 se muestra la deprotonación de los compuestos fenólicos (en el ejemplo, el patrón ácido gálico) en medio alcalino y la subsecuente reacción redox entre el anión fenolato y el reactivo de FC, en la cual el molibdeno se reduce y genera un cambio de coloración en el medio de reacción.

III.2.9.1 Reactivos

Los reactivos utilizados fueron: metanol (Merck, Argentina), ácido gálico (MP Biomedicals, Argentina), reactivo de Folin-Ciocalteu (Fluka, Argentina) y carbonato de calcio (Anedra, Argentina).

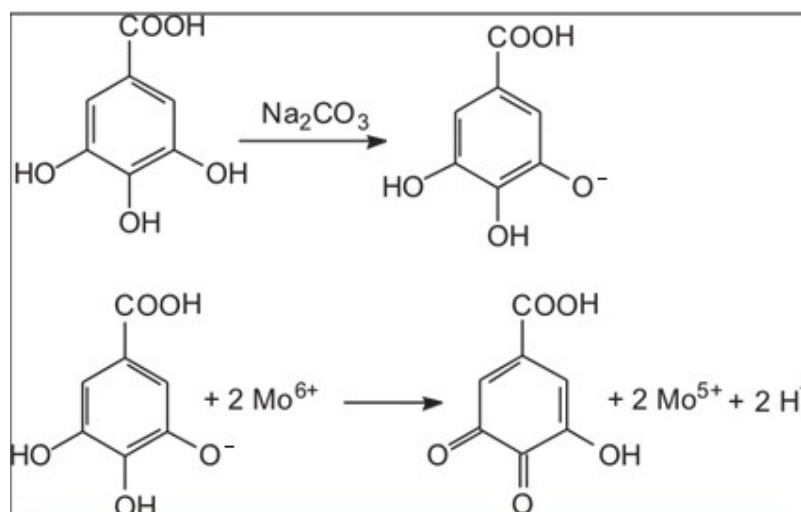


Figura 8. Reacción del ácido gálico con el molibdeno, componente del reactivo Folin-Ciocalteu

III.2.9.2 Preparación de las soluciones patrón

Para la preparación de las soluciones patrón utilizadas en la construcción de la curva de calibración, se disolvieron 0,11 g de ácido gálico en 100 mL de agua destilada, obteniendo así una solución de ácido gálico de concentración de 1.000 $\mu\text{g/mL}$. Luego, se transfirieron alícuotas de 1, 2, 3, 4 y 5 mL de esta solución a matraces aforados de 100 mL y los mismos fueron enrasados con agua destilada, obteniéndose así soluciones patrón de ácido gálico con las respectivas concentraciones nominales (10, 20, 30, 40 y 50 $\mu\text{g/mL}$).

III.2.9.3 Extracción

La extracción se realizó según lo establecido en la norma ISO/FDIS 14502-1(E) (2004). Se mezclaron 0,2 g de la muestra de té con 5 mL de metanol al 70 % a 70 °C. La mezcla fue llevada a un baño termostatzado a 70 °C con agitación por 10 minutos. Luego de enfriado a temperatura ambiente el extracto fue centrifugado a 1508 g durante 10 minutos. El sobrenadante fue retirado y reservado en un tubo graduado. El proceso de extracción se realizó nuevamente y el sobrenadante obtenido fue combinado con el ya reservado. El volumen final de los extractos de té combinados fue llevado a 10 mL con metanol al 70 %.

III.2.9.4 Determinación de los polifenoles totales

El CPT se determinó por duplicado mediante el método espectrofotométrico de FC y se expresó como g de polifenoles totales equivalentes a ácido gálico (EAG) en 100 g de materia seca, según lo descrito en la norma ISO/FDIS 14502-1(E) (2004).

Para ello, 1 mL del extracto de té obtenido según el ítem III.2.9.3 fue diluido (1:100) con agua destilada. Luego, 1 mL del extracto de té diluido 1:100 fue mezclado con 5 mL del reactivo de FC 1:10 v/v y transcurridos entre 3 a 8 min se agregaron 4 mL de una solución de carbonato de calcio 7,5% p/v. La mezcla fue homogeneizada y luego incubada durante 1 h a temperatura ambiente y protegida de la luz. Como blanco de reactivos se reemplazó 1 mL del extracto de té diluido por 1 mL de agua destilada.

La curva de calibración se preparó con las soluciones patrón de ácido gálico (10, 20, 30, 40 y 50 µg/mL) obtenidas según el ítem III.2.9.2, procediendo de igual manera que con la muestra.

Las lecturas de absorbancia se realizaron a 765 nm en un espectrofotómetro UV/Vis (Espectro SP- 21029) calibrado con agua, usando una cubeta de cuarzo de 1 cm de camino óptico.

El CPT (g EAG/ 100 g materia seca) fue calculado según la siguiente fórmula:

$$CPT = \frac{(A_m - A_{intercepto}) \cdot V_m \cdot d \cdot 100}{a \cdot m \cdot 10.000 \cdot RS}$$

siendo:

A_m , la absorbancia a 765 nm de la muestra.

$A_{intercepto}$, la absorbancia observada en el punto donde la curva de calibración intercepta el eje y.

V_m , el volumen de extracción de la muestra (10 mL).

d , factor de dilución utilizado.

a , es la pendiente de la curva de calibración.

m , es la masa, en gramos, de la porción de ensayo.

RS , contenido de materia seca, en porcentaje en masa de la muestra.

III.2.10 Capacidad antioxidante: Ensayo del radical libre DPPH

Uno de los métodos más utilizados para verificar la capacidad antioxidante de los alimentos es evaluar la capacidad de captación del radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•). El ensayo del radical libre DPPH• ha sido extensamente utilizado en la determinación de la CAO de vinos, jugos, frutas y té (Saito et al., 2007; Hartwig et al., 2012; Jayasekera et al., 2011).

El radical libre DPPH• (véase la Figura 9) es un radical orgánico nitrogenado, estable y disponible comercialmente. Es intensamente coloreado (púrpura) y posee un espectro de absorbancia característico, con una absorción máxima en la región visible a una longitud de onda de 517 nm (Roginsky y Lissi, 2005; Huang et al., 2005; Oliveira et al., 2009; Hartwig et al., 2012).

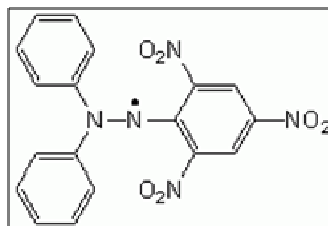


Figura 9. Estructura química del radical 2,2-Difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•)

El DPPH• posee en su estructura un átomo de nitrógeno con un electrón desapareado capaz de aceptar un electrón o un radical hidrógeno para convertirse en una molécula estable. Al entrar en contacto con sustancias antioxidantes (AH), el DPPH• se reduce formando 2,2-Difenil-1-picrilhidracina (DPPH-H) de color amarillo, lo que implica una disminución de la absorbancia a 517 nm. Una vez reducido, el cambio de coloración se mide espectrofotométricamente y se calcula el porcentaje de DPPH• remanente, siendo este valor proporcional a la concentración de sustancias antioxidantes presentes en el medio de reacción (Huang et al., 2005; Oliveira et al., 2009; Hartwig et al., 2012).

En un estudio basado en la actividad antirradicalaria de compuestos fenólicos, se demostró que el mecanismo de acción de las sustancias antioxidantes frente al DPPH•, consiste fundamentalmente en la transferencia de electrones. La teoría de transferencia de un átomo de hidrógeno se supone es una vía marginal dentro del mecanismo de

acción global, ya que la sustracción de un átomo de hidrógeno a partir de un antioxidante neutral por parte del DPPH•, ocurre muy lentamente en presencia de solventes aceptores de puentes de hidrógeno tales como el metanol, utilizado como medio de reacción en el ensayo (véase la Figura 10) (Foti et al., 2004).

Transferencia de un átomo de hidrógeno	Transferencia electrónica
DPPH• + AH → DPPH-H + A•	AH ↔ A ⁻ + H ⁺
	A ⁻ + DPPH• → DPPH ⁻ + A•
	DPPH ⁻ + H ⁺ → DPPH-H

Figura 10. Mecanismo de la reacción entre el DPPH• y compuestos antioxidantes.

III.2.10.1 Reactivos

Los reactivos utilizados fueron: metanol (Merck, Argentina), DPPH• (radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidracilo, Sigma, Argentina) y ácido ascórbico (Sigma Ultra, Argentina).

III.2.10.2 Preparación de las soluciones patrón

Para la construcción de la curva de calibración se prepararon soluciones patrón de ácido ascórbico de concentraciones nominales de 100, 120, 140, 160, 180, 200 y 220 µg/mL. Para ello, se disolvieron 0,25 g de ácido ascórbico en 250 mL de agua destilada obteniendo una solución estándar de ácido ascórbico de concentración 1.000 µg/mL. Luego, diferentes volúmenes de la solución estándar fueron transferidos a matraces aforados de 100 mL de capacidad. Cada matraz aforado fue enrasado con agua destilada, obteniéndose así las soluciones patrón de diferentes concentraciones de ácido ascórbico (Hartwig et al., 2012).

III.2.10.3 Extracción

Para la obtención de los extractos de té se procedió según lo especificado en la norma ISO/FDIS 14502-1(E) (2004) para la determinación del contenido polifenoles totales descripta en el ítem III.2.9.3.

III.2.10.4 Determinación de la capacidad antioxidante

La CAO de los diferentes tipo de té se determinó por duplicado mediante el ensayo espectrofotométrico del radical libre DPPH•, usando ácido ascórbico como estándar.

Para ello, 1mL de cada extracto de té obtenido según el ítem III.2.10.3 fue diluido con agua destilada (dilución 1:25 para los extractos de té negro, semifermentado y BT y 1:40 para extractos de té verde). Luego, se mezclaron 100 µL del extracto de té diluido con 3 mL de una solución metanólica de DPPH (100 µL/L) en un frasco de reacción color caramelo. Los frascos de reacción se incubaron protegidos de la luz en una estufa a 37 °C durante 2 h. Para la lectura del blanco de reactivos, se procedió según lo descrito en este ítem, pero reemplazando la alícuota de la muestra por metanol (Hartwig et al., 2012).

Para la realización de la curva de calibración del estándar ácido ascórbico se mezclaron 100 µL de cada una de las soluciones patrón obtenidas según el ítem III.2.10.2, con 3mL de la solución metanólica de DPPH 100 µM en un frasco de reacción color caramelo, la mezcla fue homogeneizada y la absorbancia fue leída inmediatamente.

Las lecturas de absorbancia se realizaron a 517 nm en un espectrofotómetro UV/Vis (Espectro SP- 21029, China) calibrado con metanol, usando una cubeta de cuarzo de 1 cm de camino óptico.

Los resultados se expresaron como g equivalentes a ácido ascórbico (EAA) por cada 100 g de materia seca y se calcularon a partir del porcentaje de radical DPPH remanente en el equilibrio ($\% DPPH_R = DPPH_{ee} * 100 / DPPH_0$, donde $DPPH_{ee}$ es la absorbancia de la muestra en el estado estable y $DPPH_0$ es la absorbancia de la solución del radical DPPH 100 µM). Para cada concentración de ácido ascórbico ensayada, se graficó $\% DPPH_R$, obteniéndose así la curva de calibración.

La CAO (g EAA/ 100 g de materia seca) fue calculada según la siguiente fórmula:

$$CAO = \frac{(\% DPPH_R - b) \cdot d \cdot V_m}{a \cdot m \cdot RS \cdot 100}$$

siendo:

$\% DPPH_R$, porcentaje remanente del radical DPPH en el equilibrio ($\% DPPH_R = DPPH_{ee} * 100 / DPPH_0$, donde $DPPH_{ee}$ es la absorbancia de la muestra en el estado estable y $DPPH_0$ es la absorbancia de la solución del radical DPPH 100 μ M).

b , ordenada al origen de la curva de calibración.

d , factor de dilución utilizado

V_m , el volumen de extracción de la muestra (10 mL).

a , la pendiente de la curva de calibración.

m , es la masa, en gramos, de la porción de ensayo.

RS , contenido de materia seca, en porcentaje en masa de la muestra.

III.2.11 Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el software Statgraphics Centurion (versión 2009).

Los resultados obtenidos para cada una de las determinaciones se expresaron como la media aritmética \pm desvío estándar.

Para comparar las variables de los diferentes tipos de té, se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de un factor, y en el caso de variables que mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) se realizó la prueba de mínima diferencia significativa (LSD) de Fisher, con un nivel de confianza del 95 %.

La correlación entre las variables se estudió mediante una prueba de correlación de Pearson, con un nivel de confianza del 95 %.

III.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.3.1 Contenido de humedad

El contenido de humedad es un importante parámetro de calidad del té que es generalmente desatendido por los investigadores, pero no por la industria o por quienes comercializan té (Yao et al., 2006b). Este parámetro es primordial ya que determina la calidad y estabilidad del producto, principalmente durante el período de almacenamiento. Un aumento en el contenido de humedad de un té actúa muy en detrimento su calidad.

El té luego de ser secado debe presentar un contenido de humedad de aproximadamente 3 %, ya que durante el proceso de clasificado, envasado, transporte, almacenamiento y comercialización, el producto absorberá agua. Si no se ejerce un estricto control sobre el contenido de humedad de un té durante el proceso de industrialización, el producto final será de muy mala calidad.

Según el CAA el contenido de humedad tanto del té negro como del té verde no debe superar el 7 % bh.

En la Tabla 4 se presentan los valores de contenido de humedad hallados en los diferentes tipos de té elaborados en Argentina. De las muestras procesadas, 7 muestras de té negro (33 %), 6 de té verde (55 %) y 5 de BT (45 %) superaron el límite establecido en el CAA.

Tabla 4. Contenido de humedad de los diferentes tipos de té (%bh)

<i>Tipo de té</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Media ± Desvío Estándar</i>	<i>n</i>
Negro	3,8	9,5	5,7 ± 1,8	28
Verde	5,6	9,1	7,3 ± 1,1	11
BT	3,8	11,4	6,9 ± 2,2	11

Estos resultados indican que el contenido de humedad del té debe ser motivo de gran preocupación para la industria y que los controles durante el proceso de elaboración deberían ser más estrictos.

III.3.2 Cenizas totales y cenizas insolubles en ácido

Las cenizas totales son el residuo inorgánico obtenido luego de la calcinación del producto a 525 ± 25 °C (IRAM 20605, 1997). Según los estándares internacionales de calidad (ISO 3720, 2011; ISO 11287, 2011) y el CAA, el té negro y el té verde no deben superar un máximo cenizas totales de 8 % bs.

Las cenizas insolubles en ácido representan la fracción de cenizas totales que persiste luego del tratamiento de las mismas con una solución de ácido clorhídrico (IRAM 20607, 1997). Según el CAA y las normas ISO 3720 (2011) y ISO 11287 (2011) el té negro y el té verde no deben superar un máximo de cenizas insolubles en ácido de 1 % bs.

La importancia de la determinación de las cenizas del té es que este parámetro supone un método sencillo para determinar la calidad del mismo, ya que valores superiores a los límites permitidos indican una probable contaminación con tierra, arena, metales pesados o la presencia de algún adulterante inorgánico.

Las muestras de té negro, té verde y BT procesadas se ajustaron a los requisitos de calidad establecidos en el CAA y en los estándares internacionales para cenizas totales y cenizas insolubles en ácido (véanse las Tablas 5 y 6).

Tabla 5. Cenizas totales de los diferentes tipos de té (%bs)

<i>Tipo de té</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Media ± Desvío Estándar</i>	<i>n</i>
Negro	5,2	7,3	$6,2 \pm 0,5$	28
Verde	5,3	7,2	$6,3 \pm 0,3$	11
BT	4,5	7,3	$6,0 \pm 0,73$	11

Tabla 6. Cenizas insolubles en ácido de los diferentes tipos de té (%bs)

<i>Tipo de té</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Media ± Desvío Estándar</i>	<i>n</i>
Negro	0,0	0,52	$0,1 \pm 0,09$	28
Verde	0,0	0,24	$0,1 \pm 0,07$	11
BT	0,0	0,21	$0,08 \pm 0,08$	11

III.3.3 Extracto acuoso

El extracto acuoso hace referencia al porcentaje en masa de sustancias solubles en agua que posee un té, entre los que se encuentran los compuestos fenólicos, azúcares, aminoácidos, alcaloides y otros componentes menores como minerales y pigmentos, es decir, todos aquellos compuestos que presenten una estructura molecular polar (Yao et al., 2006b; Hart y Fisher, 1991; Pearson, 1993; Stahl, 1962).

La importancia del extracto acuoso como parámetro analítico de calidad de un té, reside en que representa la porción de sustancias solubles que se consumen al preparar la infusión (Stahl, 1962).

Según los estándares nacionales e internacionales de calidad, el extracto acuoso del té verde o negro debe ser mayor o igual al 32 % de la materia seca (IRAM-ISO 3720, 2000; ISO 3720, 2011; ISO 11287, 2011).

El CAA en el capítulo XV, Artículo 1.185, establece que el extracto acuoso del té verde o negro debe superar un contenido mínimo de 28 % de la materia seca.

Las muestras de té negro analizadas presentaron contenidos de extracto acuoso entre 29,5 % y 47,1 %, con una media de 40,3 % de la materia seca (véase la Tabla 7). Comparando los valores obtenidos con el contenido de extracto acuoso de las muestras de té negro producido en otros países (Yao et al., 2006b), China: 36,8 % (bs), India: 36,9 - 41,9 % (bs), Sri Lanka: 36,7 - 46,9 % (bs) y Kenia: 44,9 % (bs) podemos decir que los té de producción nacional presentan valores similares. El contenido de extracto acuoso de 2 de las 28 muestras de té negro analizadas no cumplió con los requisitos mínimos establecidos en las normas ISO e IRAM, aunque todas superaron el mínimo contenido de extracto acuoso fijado en el CAA. La mayoría de las muestras de té negro de producción argentina (26/28) cumplió con los requisitos internacionales de calidad fijados para este parámetro, pero aún así presentaron valores de extracto acuoso menores al de muestras provenientes de países que tradicionalmente producen los té de más alta calidad.

El extracto acuoso de las 11 muestras de té verde analizadas varió entre 32,7 % y 48,7 % (bs), con una media de 40,7 % de la materia seca (véase la Tabla 7), cumpliendo todas con los estándares de calidad citados. Yao et al. (2006b) reportaron contenidos de extracto acuoso entre 31,7 % y 42,5 % (bs) en muestras de té verde de diversos orígenes comercializados en Australia.

Tabla 7. Extracto acuoso de los diferentes tipos de té (% bs)

Tipo de té	Mínimo	Máximo	Media \pm Desvío Estándar	n
Negro	29,5	47,1	40,3 \pm 4,5	28
Verde	32,7	48,7	40,7 \pm 5,4	11
BT	23,4	40,1	33,3 \pm 4,7	11

Las muestras de BT presentaron valores de extracto acuoso entre 23,4 % y 40,1 % (bs), con una media de 33,3 % de la materia seca (véase la Tabla 7), siendo significativamente menores a los de té negro y té verde ($p < 0,05$) (véase la Figura 11).

La gran variabilidad observada en el extracto acuoso de muestras del mismo tipo de té puede ser atribuida a las diferentes calidades de la materia prima utilizada en la manufactura de cada té.

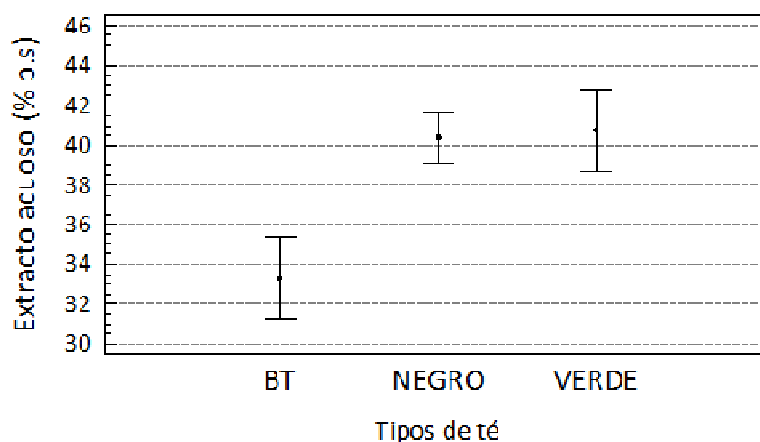


Figura 11. Extracto acuoso de los diferentes tipos de té

III.3.4 Fibra cruda

El contenido de fibra cruda es uno de los parámetros descriptos en las normas de calidad del té. Según los requisitos establecidos, el contenido de fibra cruda de un té no debe exceder el 16,5 % de la materia seca (IRAM-ISO 3720, 2000; ISO 3720, 2011; ISO 11287, 2011). El CAA establece un máximo de 20 % (bs) para el contenido de fibra cruda de un té.

El contenido de fibra cruda en las muestras de té negro varió entre 8,2 % y 14,1 % (bs) con una media de 11,7 % de la materia seca (véase la Tabla 8), cumpliendo con los requisitos de calidad. La fibra cruda de muestras de té negro de diversos orígenes fue determinada por Smiechowska & Dmoswski (2006). Ellos reportaron valores entre 10,9 % y 12,9 % (bs) en té negro proveniente de China, 9,6 % y 27,9 % (bs) en té negro de Malawi y entre 5,8 % y 43,3 % (bs) en té negro de origen indio.

Las 11 muestras de té verde analizadas presentaron valores de fibra cruda que variaron entre 10,8 % y 20,5 % (bs), con una media de 15,6 % de la materia seca (véase la Tabla 8). Del total de las muestras, 4 superaron el contenido de fibra cruda establecido como estándar internacional de calidad y 1 superó el máximo establecido por el CAA.

Tabla 8. Contenido de fibra cruda de los diferentes tipos de té
(% bs)

<i>Tipo de té</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Media ± Desvío Estándar</i>	<i>n</i>
Negro	8.9	14.1	11.7±1.7	20
Verde	1.8	20.5	15.5±3.0	11
BT	1.2	32.8	20.4±6.3	10

El contenido de fibra cruda es considerado un buen parámetro para evaluar la “edad” de la hoja con la que se elabora un té. Las yemas terminales y las cuatro primeras hojas poseen contenidos relativamente bajos de fibra, y representan la materia prima de mayor calidad para la elaboración del producto. A partir de la quinta o sexta hoja, la calidad disminuye y esto se traduce en un aumento significativo en el contenido de fibra cruda del producto. Altos contenidos de fibra cruda indican un proceso de recolección descuidado, con presencia no sólo de hojas maduras, sino también la inclusión de tallos en el material (Smiechowska y Dmoswski, 2006). Valores alterados de este parámetro no sólo pueden indicar una poda excesiva, sino también la probable adulteración del producto por el agregado de BT.

Ha sido demostrado que el contenido de fibra cruda de un té es afectado además por otros factores relacionados con las prácticas agronómicas. Venkatesan y Ganapathy (2004) estudiaron el efecto de fertilizantes ricos en nitrógeno y potasio sobre el

contenido de fibra cruda de muestras té. Ellos reportaron contenidos mayores de fibra cruda en las muestras provenientes de plantas fertilizadas con altas dosis de potasa (hidróxido de potasio) respecto a las muestras provenientes de plantas no fertilizadas. Jayaganesh, Venkatesan y Senthurpandian (2011) hallaron que las plantas de té suplementadas con fertilizantes ricos en magnesio proporcionan un producto con menor contenido de fibra cruda respecto de las no fertilizadas.

Otros autores demostraron que los té obtenidos a partir de materia prima cosechada en períodos de brotación tempranos, poseen un mayor contenido de fibra cruda que aquellos obtenidos de materia prima cosechada en períodos posteriores de brotación (Smiechowska y Dmoswski, 2006). Ravichandran (2004) observó que el contenido de fibra cruda de un té disminuye, a lo largo de los años, con cada una de las podas livianas que se realizan anualmente sobre las plantas con el fin de estimular la brotación y facilitar el proceso de cosecha posterior.

Por lo expuesto anteriormente podemos inferir que el contenido de fibra cruda de un té se ve influido por diversos factores relacionados principalmente a las prácticas agronómicas utilizadas durante su cultivo y manufactura. Esto indicaría que las diferencias observadas en el contenido de fibra cruda de las muestras de té verde y té negro se deben a la calidad de la materia prima utilizada en la elaboración del producto final.

Como es de esperar, debido al modo de obtención, la fibra cruda de los BT varió ampliamente entre 13,2 % y 32,8 % (bs), con una media de 20,4 % de la materia seca (véase la Tabla 8), siendo significativamente mayor a la fibra cruda hallada en las muestras de té negro y té verde (véase la Figura 12).

III.3.5 Cafeína

La cafeína es un alcaloide que se encuentra naturalmente en las hojas y brotes de la planta de té. Esta sustancia posee propiedades estimulantes del sistema nervioso central e imparte robustez y otras características organolépticas al licor (Parra, 2007; Yao et al., 2006b).

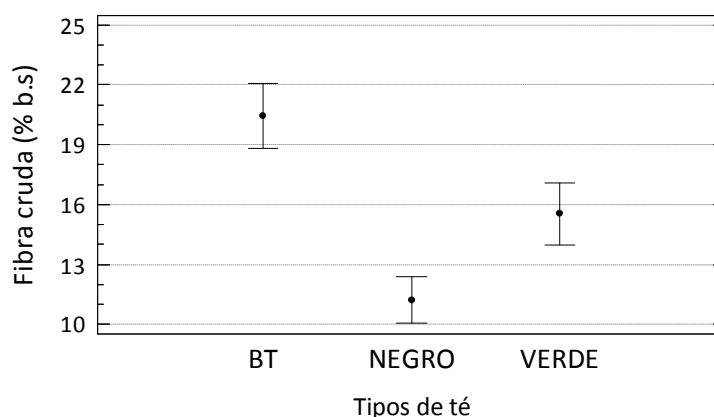


Figura 12. Fibra cruda de los diferentes tipos de té

El contenido de cafeína es considerado un importante parámetro en la evaluación de la calidad de un té. En general, altos niveles de cafeína indican un buen estándar de hoja ya que su concentración disminuye con la madurez de los brotes. Lin et al. (2003) y Owuor y Obanda (1998) han demostrado que los niveles de cafeína en las hojas maduras de té (5^{ta}-6^{ta} hoja) son mucho menores que en las hojas jóvenes (yemas y 1^{era} y 2^{da} hoja del brote).

El contenido de cafeína de las muestras de té negro analizadas varió entre el 1 % y 3,6 % (bs), con una media de 2,7 % de la materia seca (véase la Tabla 9). El contenido de cafeína en muestras de té negro de diversos orígenes reportado por otros autores es muy variable: de 2,6 % a 3,9 % (bs) (Yao et al., 2006; Astill et al., 2001; Fernández et al., 2000; Khokhar & Magnusdottir, 2002).

Las muestras de té verde y BT presentaron valores de cafeína significativamente menores ($p < 0,05$) con respecto a las de té negro (véase la Figura 13).

Tabla 9. Contenido de cafeína de los diferentes tipos de té (% bs)

<i>Tipo de té</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Media ± Desvío Estándar</i>	<i>n</i>
Negro	1,0	3,6	2,7±0,8	28
Verde	1,1	2,8	2,1±0,6	11
BT	1,4	3,0	2,2±0,5	11

El contenido de cafeína de las muestras de té verde varió entre 1,1 % y 2,8 % (bs) con una media de 2,1 % de la materia seca (véase la Tabla 9). Reportes anteriores, demuestran que los contenidos de cafeína en muestras de té verde de diversos orígenes variaron entre 1,5 % y 3,8 % (bs) (Fernández et al., 2000; Astill et al., 2001; Yao et al., 2006; Khokhar & Magnusdottir, 2002).

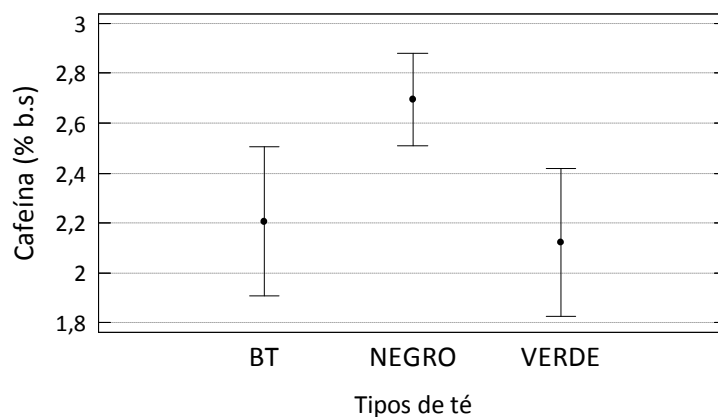


Figura 13. Contenido de cafeína de los diferentes tipos de té

Hay autores que reportan pérdidas de cafeína de aproximadamente un 8 % durante la etapa de zapecado en la elaboración de la yerba mate, producto que posee grandes similitudes al té verde respecto al procesamiento industrial. Estas pérdidas son atribuibles a la degradación térmica del compuesto y a un mecanismo conjunto de difusión-evaporación (Schmalko & Alzamora, 2001).

En contraposición, Astill et al. (2001) y Kim et al. (2011) demuestran que los niveles de cafeína son mayores en muestras té verde que en las de té negro cuando son elaborados con la misma materia prima, y atribuyen esta diferencia a la posible degradación del compuesto durante el proceso fermentativo.

Muthumani y Senthil Kumar (2007) observaron que los niveles de cafeína no se ven afectados durante el proceso de fermentación, y esto coincide con lo reportado por Sang et al. (2011), quienes afirman que la cafeína es un compuesto muy estable durante el proceso oxidativo del té.

Es de destacar además, que el contenido de cafeína varía ampliamente según la variedad botánica de té implantado, cultivar comercial, la ubicación geográfica del

cultivo, el período de cosecha y condiciones de la misma (Yao et al., 2006; Lin et al., 2003). Ha sido demostrado que las hojas frescas de *C. sinensis* var. *assamica* poseen mayores niveles de cafeína (4,09 %) que las hojas de *C. sinensis* var. *sinensis* (3,11 %) (Takeda, 1994). Ravichandran y Parthiban (1997) demostraron que el contenido de cafeína es ligeramente mayor en tés cosechados manualmente respecto a aquellos provenientes de cosechas mecanizadas.

Las controversias expuestas y los hallazgos obtenidos en el presente estudio, nos hacen suponer que las diferencias en el contenido de cafeína de las muestras de té verde y té negro se deben a la calidad de las hojas utilizadas como materia prima en la elaboración del producto.

Las muestras de BT presentaron valores de cafeína entre 1,4 % y 3 % (bs), con una media de 2,2 % de la materia seca (véase la Tabla 9). Existen reportes que indican que el contenido de cafeína cae de manera significativa en cosechas que incluyen hasta la quinta o sexta hoja de los brotes, respecto a cosechas de hojas más jóvenes (Yao et al., 2006). El BT, fruto del desfibrado del té negro durante el proceso de clasificado, es un producto compuesto principalmente por las fibras de hojas maduras y tallos de la planta de té, lo que explica sus bajos contenidos de cafeína.

III.3.6 Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante

Ha sido demostrado que los polifenoles son el grupo de constituyentes químicos más abundantes de las hojas de té, siendo las catequinas los principales compuestos fenólicos de las hojas frescas, encontrándose mayores concentraciones en brotes y hojas jóvenes respecto a las hojas maduras y tallos (Lin et al., 1998; Chan et al., 2007). En general se sostiene que los tés de más alta calidad son aquellos elaborados a partir de brotes y hojas jóvenes, ya que poseen los niveles más altos de polifenoles (Lin et al., 1998; Chan et al., 2007).

El contenido de polifenoles de las hojas de té es considerado uno de los principales parámetros determinantes de la calidad del producto final (Yao et al., 2005). Según los estándares internacionales de calidad del té (ISO/FDIS 3720, 2011; ISO/FDIS 11287, 2011) el CPT de un té negro debe ser mayor o igual al 9 % de la materia seca (g EAG/100 g ms), y el CPT de un té verde debe ser mayor o igual al 11 % de la materia seca (g EAG/100 g ms).

La curva de calibración preparada con concentraciones de ácido gálico entre 0 y 50 $\mu\text{g/mL}$ para la determinación del CPT de los diferentes tipos de té resultó $y = 0,012x + 0,027$ ($R^2 = 0,998$), siendo x la concentración del estándar del ácido gálico (véase la Figura 14).

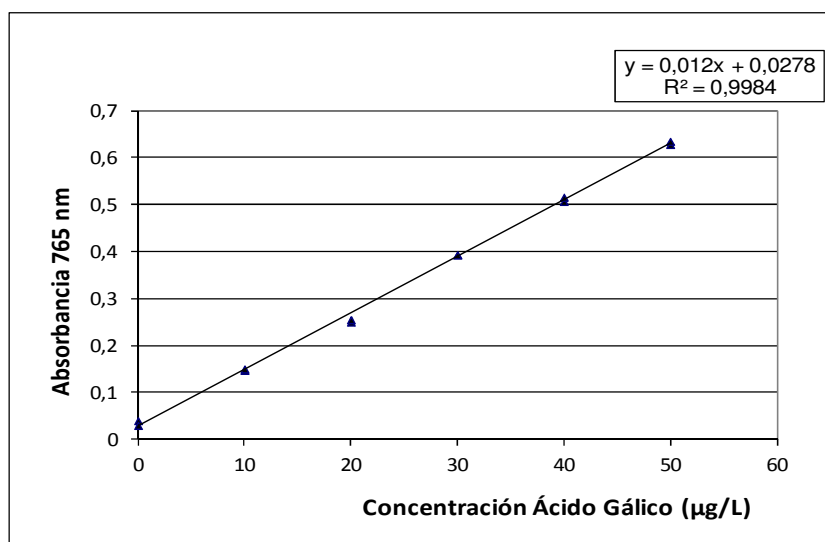


Figura 14. Curva de calibración CPT

Como puede apreciarse en la Tabla 10, el CPT de las muestras de té negro varió entre 9,5 y 13,3 g EAG/100 g ms y el CPT de las muestras de té verde, significativamente mayor ($p < 0,05$) (véase la Figura 15), varió entre 12,9 y 16,1 g EAG/100g ms, ajustándose a los requerimientos internacionales de calidad establecidos.

Tabla 10. Contenido de polifenoles totales de los diferentes tipos de té (g EAG/ 100 g materia seca)

Tipo de té	Mínimo	Máximo	Media \pm Desvío Estándar	n
Negro	9,5	13,3	11,1 \pm 0,8	7
Verde	12,9	16,1	14,9 \pm 0,6	5
BT	8,3	9,6	8,6 \pm 0,6	5

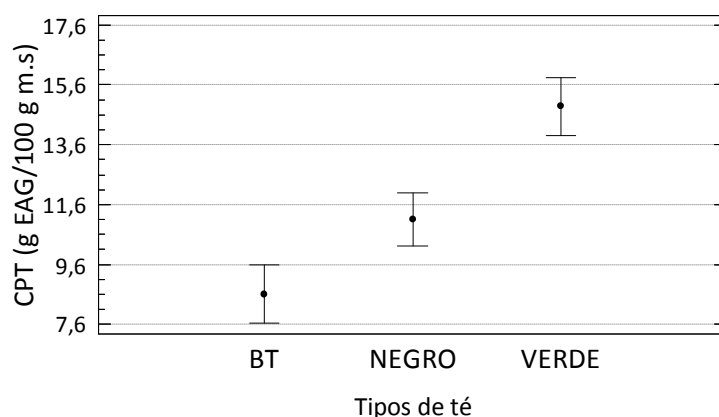


Figura 15. CPT de los diferentes tipos de té

Estos resultados concuerdan con los hallazgos de otros autores que reportan CPT mayores en muestras de té verde respecto a muestras de té negro (Yao et al., 2006a; Anesini et al., 2008; Astill et al., 2001; Chan et al., 2007; Kim et al., 2011). Durante el proceso de elaboración del té verde, las catequinas permanecen relativamente intactas. Esto es debido a la inactivación térmica de la enzima PPO por escaldado con vapor de las hojas recientemente cosechadas. En el proceso de elaboración de los tés fermentados y semifermentados, las hojas son sometidas a un proceso mecánico que produce ruptura de las estructuras subcelulares (enrollado), promoviéndose la oxidación enzimática de los sustratos fenólicos para formar flavonoides poliméricos (principalmente teaflavinas y tearrubiginas) dando inicio al proceso fermentativo (Keiro et al., 2012; Kim et al., 2011; Parra, 2007; Astill et al., 2001). El ensayo de FC es un método común para determinar la cantidad de compuestos fenólicos presentes en un producto midiendo su capacidad reductora total, basado en la oxidación química de estas moléculas por acción de dos oxidantes inorgánicos (fosfomolibdato y fosfowolframato). Sin embargo, este método no sólo cuantifica la presencia de compuestos polifenólicos, sino también la de cualquier otra molécula reductora (Stevanato et al., 2004). Las reacciones de polimerización y otras alteraciones ocurridas durante el proceso de fermentación del té negro, no disminuyen la capacidad reductora de sus compuestos fenólicos (Luczaj y Skrzydlewska, 2005). Por lo tanto, las diferencias en el CPT entre el té negro y el té verde pueden ser atribuidas a las diferencias en el contenido de moléculas reductoras no fenólicas de ambos productos, y a diferencias en la respuesta al reactivo de FC de los

polifenoles del té verde (principalmente monoméricos) y los polifenoles del té negro (principalmente multiméricos) (Yao et al., 2006a; Astill et al., 2001; Kim et al., 2011).

Kim et al. (2011) reportan una reducción gradual en el CPT durante el proceso de fermentación del té. Luego de una fermentación de 20 %, 40 %, 60 % y 80 %, el CPT de las muestras de té se redujo en 20,2 %, 21,5 %, 37,0 % y 37,2 %, respectivamente. Ellos hallaron una correlación positiva entre las tasas de reducción del CPT y la reducción en el contenido de EGCG, EGC, EC y ECG en las muestras de té con diferentes grados de fermentación. Sin embargo, observaron que el ensayo de FC no refleja los cambios químicos de los polifenoles del té ocurridos durante el proceso fermentativo, ya que las tasas de reducción del CPT, correlacionaron de manera negativa con los contenidos crecientes de TF y TR según diferentes grados de fermentación.

El CPT de muestras de té negro y té verde de diversos orígenes fue reportado por otros autores. Astill et al. (2001) analizaron muestras de té provenientes de India, China, Japón, Sri Lanka, Argentina, Bangladesh, Vietnam, Indonesia y África y hallaron valores de CPT entre 7,3 y 21,9 g EAG/100 g ms en muestras de té negro y entre 11,9 y 25,2 g EAG/100 g ms en muestras de té verde. Anesini et al. (2008) estudiaron el CPT de muestras de té verde y té negro producidos en Argentina y hallaron valores entre 8,4 y 17,6 g EAG/100 g ms para el té negro y entre 14,3 y 21,0 g EAG/100 g ms para el té verde.

El nivel de polifenoles de un té es muy variable y no sólo depende del proceso de manufactura del producto, sino también de factores genéticos, agronómicos y ambientales (Yao et al., 2006b).

Hay estudios que demuestran que los té originarios de India o Sri Lanka (*C. sinensis* var. *assamica*) poseen mayores contenidos de polifenoles totales que aquellos elaborados a partir de la variedad de origen chino (*C. sinensis* var. *sinensis*) (Takeda, 1994; Astill et al., 2001; Yao et al., 2006a; Chan et al., 2007; Anesini et al., 2008).

Numerosas investigaciones reportan que el CPT de las hojas de té presenta variaciones estacionales (Yao et al., 2005; Erturk et al., 2010; Jayasekera et al., 2011). Esto es debido a que la biosíntesis de compuestos fenólicos de las hojas de té es promovida por la luz solar y las altas temperaturas, por lo que se ve incrementada en las

estaciones cálidas y cuando la radiación solar es más fuerte y la duración del día es mayor (Erturk, 2010; Jayasekera, 2011).

Teniendo en cuenta las diversas condiciones agroecológicas a las que pueden ser sometidos los cultivares de té y que las prácticas de manufactura difieren según el establecimiento productor, podemos concluir que variabilidad en el CPT observada entre las muestras de un mismo tipo de té ha sido debida a estos factores.

La curva de calibración preparada con concentraciones de ácido ascórbico entre 0 y 22 μg equivalentes/L para la determinación de la CAO de los diferentes tipos de té resultó $y = -0,4125x + 100,79$ ($R^2 = 0,995$), siendo x la cantidad del estándar (μg) utilizada en el ensayo (véase la figura 16).

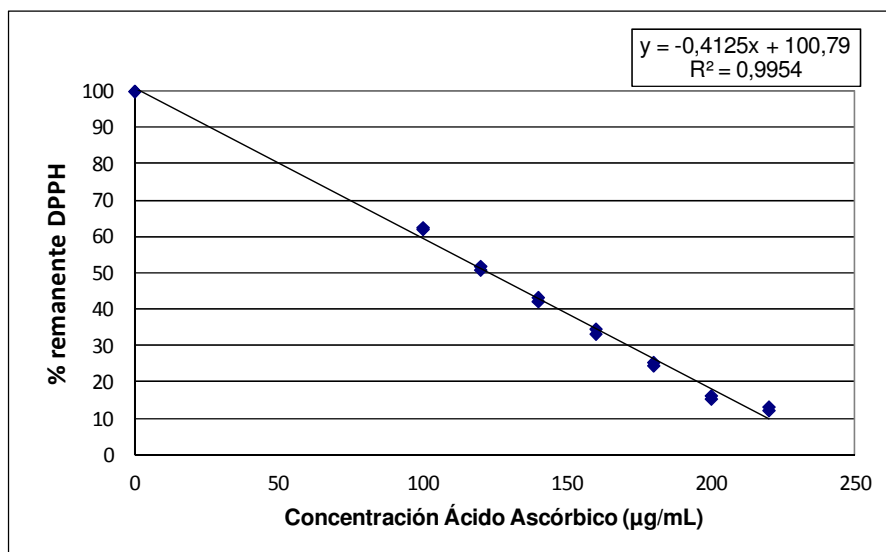


Figura 16. Curva de calibración DPPH

Las muestras de té negro presentaron valores de CAO entre 20,8 y 23,5 g EAA/100 g ms (véase la Tabla 11). La CAO de las muestras de té verde varió entre 26,1 – 35,3 g EAA/ 100 g ms, siendo significativamente mayores ($p < 0,05$) a las de té negro (véase la Figura 17). Esto coincide con muchos estudios que reportan que el té verde posee una CAO significativamente mayor que el té negro cuando es medida utilizando diversos métodos *in vitro* (Anesini et al., 2008; Kim et al., 2011; Jayasekera et al., 2011).

Existen numerosas investigaciones que demuestran que los polifenoles del té negro y de los tés semifermentados (TF y TR) presentan propiedades antioxidantes muy inferiores a las catequinas presentes en el té verde (Gramza y Korckak, 2005). A pesar de esto, otros reportes sostienen que las TF, poseen una actividad antioxidante muy similar a la EGCG (catequina más abundante del té verde) y una mayor actividad de captación de radicales libres que otras catequinas del té verde (EC, EGC y ECG) (Luczaj y Skrzydlewska, 2005; Karori et al., 2007; Kim et al., 2011).

Lee et al., (2002) y Kim et al. (2011) afirman que la capacidad antioxidante reducida de los tés completamente y parcialmente fermentados es debida a la disminución en la concentración de otros compuestos antioxidantes presentes en las hojas frescas de té como los glicósidos flavonoides, saponinas, ácido ascórbico y cafeína por mecanismos de oxidación o exposición al calor durante el proceso fermentativo.

Tabla 11. Capacidad antioxidante de los diferentes tipos de té
(g EAA/ 100 g ms)

<i>Tipo de té</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Media ± Desvío Estándar</i>	<i>n</i>
Negro	20,8	23,5	22,0±1,1	7
Verde	26,1	35,3	30,0±1,2	5
BT	16,0	18,5	17,4±1,2	5

El CPT y la CAO de los BT fueron significativamente menores a los hallados en las muestras de té negro (8,3- 9,6 g EAG/ 100 g ms y 16 - 18,5 g EAA/ 100 g ms, respectivamente) (véanse las Figuras 15 y 17). Esto puede explicarse por el alto contenido de tallos y hojas maduras de los BT, resultado de su proceso de obtención por desfibrado del té negro.

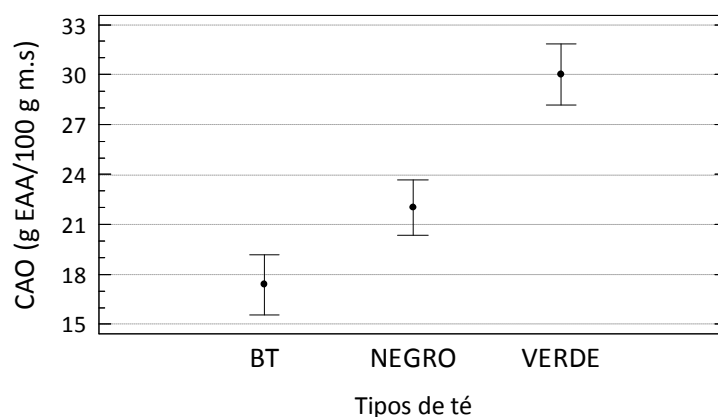


Figura 17. Capacidad antioxidante de los diferentes tipos de té

III.3.7 Color

Durante el proceso de fermentación del té, el producto pasa de tener un color verde oscuro a ser cobre brillante. La oxidación enzimática de las catequinas, que son compuestos incoloros, produce la formación de TF y TR. Las TF son brillantes y de tonos amarillos y naranjas, mientras que las TR, compuestos químicamente más heterogéneos, tienen colores rojo oscuro y marrones (Obanda et al., 2001).

Como puede apreciarse en la Tabla 12, el parámetro L , que mide la luminosidad, fue significativamente menor ($p < 0,05$) en las muestras de té negro que en las de té verde. Esto es debido a que el té se vuelve más oscuro durante el proceso de oxidación enzimática acorde a la formación de TR (Muthumani y Kumar, 2007; Kim et al., 2011). El valor intermedio del parámetro L observado en las muestras de BT es debido al alto contenido de fibra que provee de blancura a este producto totalmente fermentado.

Los parámetros de color a (rojo-verde) y b (amarillo-azul) presentaron diferentes valores según el tipo de té (véase la tabla 12). La variación de estos parámetros se debe principalmente a la formación de TFs que aportan colores amarillos, naranjas y rojos a los tés fermentados (Kim et al., 2011). Así, las muestras de té negro y BT presentaron valores positivos de a ubicándose en la gama de los rojos, y las muestras de té verde valores negativos de a , ubicándose en la gama de los verdes. Respecto al parámetro b todos los tipos de té mostraron valores positivos, hallándose en la región de los matices del color amarillo.

Tabla 12. Parámetros de color de los diferentes tipos de té

(Media aritmética \pm Desvío Estándar)

<i>Tipo de té</i>	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>n</i>
Negro	24,8 \pm 2,2 a	2,9 \pm 1,1 a	9,8 \pm 2,7 a	28
Verde	37,1 \pm 4,8 b	-1,1 \pm 2,1 b	20,5 \pm 4,6 b	11
BT	32,9 \pm 4,3 c	5,0 \pm 1,1 c	16,4 \pm 2,6 c	11

Valores medios acompañados de letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas según el tipo de té (Prueba LSD, $p < 0,05$).

III.3.8 Té semifermentado

Los parámetros fisicoquímicos de la única muestra de té semifermentado producida en Argentina son presentados en la Tabla 13.

La muestra de té semifermentado analizada presentó un contenido de humedad de 4,8 % (bh), ajustándose al nivel máximo establecido en el CAA para té negro y té verde.

Respecto a las cenizas totales y las cenizas insolubles en ácido (6,0 % bs y 0,1 % bs, respectivamente) los valores se adecuaron a los requisitos establecidos en las normas internacionales de calidad y en el CAA para el té negro y el té verde.

El extracto acuoso del té semifermentado (32,9 % bs) superó los contenidos mínimos requeridos para cumplir con los estándares nacionales e internacionales de calidad de té verde y té negro.

El contenido de cafeína (1,6 % bs) fue significativamente menor a la cafeína hallada en las muestras de té negro, té verde y BT.

El contenido de fibra cruda del té semifermentado (22,3 % de la materia seca) superó los niveles máximos permitidos por los estándares internacionales de calidad y lo establecido en el CAA para el té negro y el té verde.

Según las normas ISO 3720 (2011) y ISO 11287 (2011) el CPT de un té negro (fermentado) debe ser mayor o igual al 9 % de la materia seca (g EAG/100 g ms) y en el caso del té verde (no fermentado) debe ser mayor o igual al 11 % de la materia seca (g EAG/100 g ms). El contenido de catequinas en muestras comerciales de té es superior en el té verde, seguido por el té semifermentado y en tercer lugar el té negro (Lin et al., 2003; Chan et al., 2007), ya que como consecuencia de la fermentación, los

niveles de catequinas se reducen acorde se van formando TFs y posteriormente TRs, lo que resulta en una disminución del CPT y CAO del té (Kim et al., 2011). Debido a esto un té semifermentado presenta valores intermedios de CPT y CAO.

El CPT y la CAO de la muestra de té semifermentado analizada fueron de 8,9 g EAG/100 g ms y 17,6 g EAA/100 g ms, respectivamente. El CPT hallado no cumple si quiera con los requisitos mínimos establecidos para el té negro, y junto con la CAO son comparables a los hallados en las muestra de BT.

Tabla 13. Parámetros fisicoquímicos del té semifermentado argentino *

<i>Parámetros fisicoquímicos</i>	
Contenido de humedad (% bh)	4,8
Cenizas totales (% bs)	6,1
Cenizas insolubles en ácido (% bs)	0,1
Extracto acuoso (% bs)	32,9
Fibra cruda (% bs)	22,3
Cafeína (% bs)	1,6
CPT (g EAG/100 g ms)	8,9
CAO (g EAA/100 g ms)	17,6
Parámetros de color	
<i>L</i>	31,6
<i>a</i>	5,1
<i>b</i>	15,1

*Media aritmética de tres determinaciones con un CV menor al 5%.

El alto contenido de fibra cruda, la cafeína, CPT y la CAO bajos respecto del té negro y del té verde y los valores de los parámetros de color (*L*, *a* y *b*) comparables a los hallados en las muestras de BT, sugieren que la materia prima utilizada en la elaboración del “té rojo” argentino es de muy baja calidad.

III.3.9 Análisis de Correlación entre las variables

El contenido de cafeína presentó correlación negativa con la fibra cruda ($r=-0,38$; $p<0,05$) y correlacionó positivamente con el extracto acuoso ($r=0,45$; $p<0,05$). Además, la fibra cruda y el extracto acuoso correlacionaron entre sí de manera negativa ($r=-0,64$; $p<0,05$). Estos tres parámetros son buenos indicadores de la calidad de la materia prima utilizada en la elaboración del té. Productos elaborados con hojas y brotes de té de buena calidad poseen altos niveles de extracto acuoso, alto contenido de cafeína y valores bajos de fibra cruda.

Se observó una fuerte correlación positiva entre el parámetro de color L y el contenido de fibra cruda ($r=0,67$; $p<0,05$) y una fuerte correlación negativa entre L y el contenido de cafeína ($r=-0,37$; $p<0,05$). Así, los té que presentaron valores de L elevados (tendientes a la blancura) fueron ricos en fibra cruda y pobres en cafeína, lo que indica un té de baja calidad. Cabe destacar que la medición de los parámetros de color (L , a y b) se realiza de manera sencilla y en unos pocos minutos. Esto demuestra que la medición de L sería sumamente útil en el monitoreo de la calidad del té *in situ*, es decir, durante el proceso de manufactura o durante su almacenamiento, brindando información valiosa al elaborador tealero.

Se ha observado una fuerte correlación entre el CPT y la CAO ($r= 0,96$; $p<0,05$), lo que señala que los compuestos fenólicos son los principales responsables de la actividad captadora de radicales libres del té.

III.4 CONCLUSIONES

La calidad de los tés elaborados en Argentina es muy variable. Los distintos tipos de té presentaron diferencias significativas en el contenido de fibra cruda, cafeína, extracto acuoso, contenido de polifenoles totales, capacidad antioxidante y los tres parámetros de color.

El té negro y el té verde presentaron altos contenidos de extracto acuoso. El contenido de cafeína fue significativamente mayor en el té negro y el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en el té verde.

El mayor contenido de fibra cruda del té verde manifiesta que la materia prima utilizada en su elaboración es de menor calidad que la utilizada en la elaboración del té negro.

El té semifermentado y las muestras de BT presentaron extracto acuoso bajo, altos contenidos de fibra cruda y bajos valores de contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante respecto a las otras dos variedades de té. El BT es un subproducto del té negro de muy baja calidad y por definición, responde a estas características fisicoquímicas. El té semifermentado, por presentar estas cualidades manifiesta estar elaborado con materia prima de muy pobre calidad.

El extracto acuoso y el contenido de fibra cruda son muy útiles para establecer la calidad de la materia prima utilizada en la elaboración de un té, ya que la presencia de hojas maduras y tallos, generada por podas excesivas, alteran estos parámetros. Además, valores irregulares en ambas determinaciones podrían sugerir la adulteración del producto por el agregado de BT.

El contenido de polifenoles totales es uno de los mejores parámetros de calidad ya que puede ser utilizado como indicador del grado de calidad de la materia prima utilizada en la elaboración de un té. Bajos contenidos de CPT pueden indicar niveles de recolección excesivos, mal manejo del material previo a la manufactura o sobrefermentación en el caso de los tés semifermentado y negro.

El contenido de polifenoles totales, la capacidad antioxidante y el contenido de cafeína son parámetros que reflejan no sólo la jerarquía de la materia prima utilizada en la elaboración de un té, sino también las propiedades biológicas del producto, por lo que deben aplicarse al control de calidad del mismo.

Los parámetros de color (L , a y b) pueden ser utilizados como diferenciadores de los tés negro y verde y el BT. La determinación de estos parámetros puede realizarse de manera fácil y rápida. Esto, sumado a la demostrada correlación existente entre el parámetro L y las variables contenido de cafeína y fibra cruda, convierte a esta determinación en una herramienta muy útil para el monitoreo de la calidad del producto durante la manufactura. Además, debido a las diferencias en L , a y b observadas entre el té verde y el té negro podemos concluir que el análisis de los parámetros de color podría ser aplicado a la vigilancia del proceso de fermentación del té.

CAPÍTULO IV

IV.1 PROPUESTAS DE TRABAJOS FUTUROS

El presente estudio de los parámetros fisicoquímicos de los diferentes tipos de té elaborados en nuestro país constituye un primer ensayo que ha permitido la identificación de su calidad.

En los últimos años, el té ha cobrado mucha importancia por ser un producto natural con demostradas propiedades biológicas potencialmente benéficas para la salud humana, lo que ha generado múltiples posibilidades de comercialización del producto que traspasan la industria alimenticia, para llegar a conquistar el mercado de los productos cosméticos y la industria farmacéutica. Esto sumado a la alta competitividad del mercado y la busca de una mayor rentabilidad mediante la mejora de la calidad, hace necesario entender cómo las prácticas agronómicas y el proceso de manufactura afectan la calidad final del té de nuestra región en particular, por lo que debe ser objeto de futuras investigaciones.

Se ha demostrado que la cantidad y proporción de los principales componentes químicos biológicamente activos, especialmente el perfil de catequinas y teaflavinas, se relacionan directamente con la calidad del producto final. Por esto, identificar y determinar la distribución de cada una de estas sustancias en los diversos cultivares de *C. sinensis* implantados en nuestro país, en las diferentes partes de la planta y las variaciones que éstas experimentan en las diferentes estaciones del año y bajo diferentes condiciones ambientales en la región tealera Argentina, como el estudio los perfiles de compuestos fenólicos de hojas y brotes de té obtenidos con diferentes niveles de recolección y en colectas sucesivas, además del monitoreo de su comportamiento durante el proceso de elaboración de cada uno de los tipos de té, sería de mucha utilidad en la búsqueda de incrementar la calidad del producto y conquistar nuevos mercados.

**REFERENCIAS
BIBLIOGRÁFICAS**

- Anesini, C., Ferraro G. E., Filip R. (2008). Total polyphenol content and antioxidant capacity of commercially available tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, pp. 9225-9229.
- Astill, C., Birch, M. R., Dacombe, C., Humphrey, P. G., & Martin, P. T. (2001). Factors affecting the caffeine and polyphenol contents of black and green tea infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, pp. 5340-5347.
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos*. 4ª edición. Pearson Educación. Capítulo 1, pp. 1-28.
- Belitz, H. D., Grosch, W., Schieberle, P. (2004). *Food Chemistry*. 3ª edición. Editorial Acribia, Capítulo 2, pp. 105-172.
- Bhattacharyya, N., Seth, S., Tudu B., Tamuly, P., Jana, A., Ghosh, D., Bandyopadhyay, R., Bhuyan M. (2007). Monitoring of black tea fermentation process using electronic nose. *Journal of Food Engineering*, 80, pp. 1146-1156.
- Burriel Martí, F., Lucena Conde, F., Arribas Jimeno, S., Hernández Méndez, J. (2008). *Química Analítica Cualitativa*. 18ª edición. Paraninfo. Capítulo IX, pp. 402-404.
- Chan, E. W. C., Lim, Y. Y., Chew, Y. L. (2007). Antioxidant activity of *Camellia sinensis* leaves and tea from lowland plantation in Malaysia. *Food Chemistry*, 102, pp. 1214-1222.
- Chaturvedula, V. S. P. y Prakash, I. (2011). The aroma, taste, color and bioactive constituents of tea. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (11), pp. 2110-2124.
- Chen, H., Shurlknight, K., Leung, T., Sang, S. (2012). Structural identification of theaflavin trigallate and tetragallate from black tea using Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, pp.10850-10857.
- Curtis, H. y Barnes, N. S. (1993). *Biología*. Quinta Edición. Editorial Médica Panamericana. Capítulo 5, pp. 131-132 y Capítulo 30, pp. 650-654.

- Erturk, Y., Ercisli, S., Sengul, M., Eser, Z., Haznedar, A., Turan, M. (2010). Seasonal variation of total phenolic, antioxidant activity and minerals in fresh tea shoots (*C. sinensis* var. *sinensis*). *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science*, 23 (1), pp. 69-74.
- FAO (2012). Current Situation and medium term outlook for tea. Twentieth session of Intergovernmental Group on Tea, Colombo, Sri Lanka. Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Tea/Documents/IGG_20/12-CRS7-CurrentSit_01.pdf. Capturado el 30/08/2012.
- FAO Statistics Division (2011). Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor> Capturado el 05/07/2012.
- Foti, M. C., Daquino, C., Geraci, C. (2004). Electron-Transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH• radical in alcoholic solutions. *Journal of Organic Chemistry*, 69, pp. 2309-2314.
- García Ochoa, O. E.; Infante, R. B.; Rivera, C. J. (2008). Hacia una definición de fibra alimentaria. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 21(1), pp. 25-30.
- Graham, H. N. (1992). Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry, 21, pp. 334-350.
- Gramza, A. y Korczak, J. (2005). Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems. *Trends in Food Science and Technology*, 16, pp. 351-358.
- Hart, F. L. y Fisher, H. J. (1991). *Análisis moderno de los alimentos*. Segunda edición. Editorial Acribia S.A. Capítulo 1, pp. 1-15 y Capítulo 5, pp. 113-130.
- Hartwig, V. G., Brumovsky, L. A., Fretes, R. M., y Sánchez Boado, L. (2012). Estandarización del ensayo del radical DPPH en extractos de yerba mate (*Ilex paraguariensis*) A novel procedure to measure the antioxidant capacity of yerba mate extracts. *Ciencia e Tecnología de Alimentos*, 32 (1), pp. 126-133. 5to. Congreso Sudamericano de la Yerba Mate. Posadas, Misiones, Argentina. 5 y 6 de mayo. Libro de Actas, pp. 215-220.

- Haslam, E. (2003). Thoughts on thearubigins. *Phytochemistry*, 64, pp. 61-73.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, pp. 1841-1856.
- IRAM 20601 (1997). Té - Muestreo.
- IRAM 20602 (1997). Té - Preparación de una muestra molida y determinación de su contenido de materia seca.
- IRAM 20603 (2006). Té – Determinación de la pérdida de masa a 103 °C.
- IRAM 20605 (1997). Té – Determinación de las cenizas totales.
- IRAM 20607 (1997). Té – Determinación de las cenizas insolubles en ácido.
- IRAM 20610 (1997). Té – Determinación del extracto acuoso.
- IRAM-ISO 3720 (2000). Té Negro: Definición y Requisitos básicos.
- ISO 10727 (2002). Tea and instant tea in solid form – Determination of caffeine content – Method using High Performance Liquid Chromatography.
- ISO 11287 (2011). Green tea – Definition and basic requirements.
- ISO 14502-1 (E) (2004). Determination of substances characteristic of green and black tea - Part 1: Content of total polyphenols in tea – Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent.
- ISO 15598 (1999). Tea – Determination of crude fibre content.
- ISO 3720 (2011), Black tea – Definition and basic requirements.
- Jayaganesh, S., Venkatesan, S., Senthurpandian, V. K. (2011). Impact of different sources and doses on Magnesium fertilizer on biochemical constituents and quality parameters of black tea. *Asian Journal of Biochemistry*, 6 (3), pp. 273-281.

- Jayasekera, S., Molan, A.L., Garg, M., & Moughan, P.J. (2011). Variation in antioxidant potential and total Polyphenol content of fresh and fully-fermented Sri Lankan tea. *Food Chemistry*, 125, pp. 536-541.
- Karori, S. M., Wachira, F. N., Wanyoko, J. K. & Ngure, R. M. (2007). Antioxidant capacity of different types of tea products. *African Journal of Biotechnology*, 19 (6), pp. 2287-2296.
- Kerio, L. C., Wachira, F. N., Wanyoko, J. K., Rotich, M. K. (2012). Characterization of anthocyanins in Kenyan Teas: Extraction and identification. *Food Chemistry*, 131, pp. 31-38.
- Khokhar, S. y Magnusdottir, S.G. M. (2002). Total phenol, catechin and caffeine contents of tea commonly consumed in the United Kingdom. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, pp. 565-570.
- Kim, Y., Goodner, K. L., Park, J. D., Choi, J., Talcott, S. T. (2011). Changes in antioxidant phytochemicals and volatile composition of *Camellia sinensis* by oxidation during tea fermentation. *Food Chemistry*, 129, pp. 1331-1342.
- Kottur, G., Venkatesan, S., Senthil Kumar, R. S., Murugesan, S. (2010). Influence of seasons on biochemical parameters of green shoots and quality parameters of made tea under south Indian conditions. *Journal of Bioscience Research*, 1, pp. 74-82.
- Lee, K.W., Lee, H.J, Lee, C.Y. (2002). Antioxidant activity of black tea vs. green tea. *Journal of Nutrition*, 132, p. 785.
- Liang, Y., Lu, J., Zhang, L., Wu, S., Wu Y. (2005a). Estimation of tea quality by infusion colour difference analisys. *Journal of the Science and Food Agriculture*, 85, pp. 286-292.
- Liang, Y., Lu, J., Zhang, L., Wu, S., Wu, Y. (2003). Estimation of black tea quality by analysis of chemical composition and color difference of tea infusion. *Food Chemistry*, 80, pp. 283-290.

- Liang, Y., Zhang, L., Lu, J. (2005b). A study on chemical estimation of pu-erh tea quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, pp. 381-390.
- Lima, J.D., Mazzafera, P., Da Silva Moraes, W., Barboza da Silva, R. (2009). Chá: aspectos relacionados á qualidade e perspectivas. *Ciência Rural* 39 (4), pp. 1270-1278.
- Lin, J. K., Lin, Ch. L., Liang, Y. Ch., Lin-Shiau, S. Y., Juan, I. M. (1998). Survey of catechins, gallic acid, and methylxanthines in green, oolong, pu-erh, and black teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, pp. 3635-3642.
- Lin, Y. S., Tsai, Y. J., Tsay J. S., & Lin J. K. (2003). Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, pp. 1864-1873.
- Luczaj, W. y Skrzydlewska, E. (2005). Antioxidative properties of black tea. *Preventive Medicine*, 40, pp. 910-918.
- Mahmood, T., Akhtar, N., Khan, B. A. (2010). The morphology, characteristics, and medicinal properties of *Camellia sinensis* tea. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4 (19), pp. 2028-2033.
- Muthumani, T., & Senthil Kumar, R. S. (2007). Influence on fermentation time on the development of compounds responsible for quality in black tea. *Food Chemistry*, 101, pp. 98-102.
- Obanda, M., Owuor, O., Mang'oka R. (2001). Changes in the chemical and the sensory quality parameters of black tea due to variations of fermentation time and temperature. *Food Chemistry*, 75, pp. 395-404.
- Oliveira, A. C., Valentim, I. B., Goulart, M. O. F., Silva, C. A., Bechara, E. J. H., Trevisan, M. T. S. (2009). Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Química Nova*, 32 (3), pp. 689-702.

- Ostadalova, M., Pazout, V., Straka, I., Tauferova, A., Bartl, P., Pokorna, J. (2011). Monitoring tea pigments theaflavins and thearubigins in dependence of the method and duration of storage. *Journal of Food Technology*, 9 (2), pp. 50-56.
- Owuor, P. O. y Kwach, B. O. (2012). Quality and yields of black tea *Camellia sinensis* L. O. Kuntze in responses to harvesting in Kenya: a review. *Asian Journal of Biological and Life Science*, 1, 1-7. Disponible en: http://pbsjournals.com/ajbls/files/AJBLS_01_020.pdf Capturado el 25/08/2012.
- Owuor, P. O. y Obanda, M. (1998). The changes in black tea quality due to variations of plucking standard and fermentation time. *Food Chemistry*, 61, pp. 435-441.
- Owuor, P. O., Obanda, M. (2001). Comparative responses in plain black tea quality parameters of different tea clones to fermentation temperature and duration. *Food Chemistry*, 72, pp. 319-327.
- Owuor, P. O., Obanda, M., Nyirenda, H. E., Mandala, W. L. (2008). Influence of region of production on clonal black tea Chemical characteristics. *Food Chemistry*, 108, pp. 263-271.
- Owuor, P. O., Obanda, M., Nyirenda, H. E., Mphangwe, N. I. K., Wright, L. P., Apostolides, Z. (2006). The relationship between some chemical parameters and sensory evaluations for plain black tea (*Camellia sinensis*) produced in Kenya and comparison with similar teas from Malawi and South Africa. *Food Chemistry*, 97, pp. 644-653.
- Parra, P. (2007). Té (*Camellia sinensis*). Análisis de la cadena alimentaria. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Ministerio de Economía y Producción. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/infusion/te-mayo-2006/infusiones_te.htm. Capturado el 07/11/2011.
- Parra, P. (2012). Panorama de la cadena de Té (*Camellia sinensis*) en Argentina. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. Disponible en: http://64.76.123.202/SAGPYA/economias_regionales/_infusiones/_estadisticas/_te/cadenaTeAbril12.pdf. Capturado el 01/09/2012.

- Pearson, D. (1993). Técnicas de laboratorio para el análisis de los alimentos. Tercera edición. Editorial Acribia S.A. Capítulo 2, pp. 68-71 y Capítulo 10, p. 288.
- Prat Kricun, S. D. (2011a). Contenido de catequinas en cultivares argentinos de té (*Camellia sinensis*) elaborados como té negro. Revista de Investigaciones Agropecuarias, 37 (1), pp. 37-45. Disponible en: <http://ria.inta.gov.ar/wp-content/uploads/2011/04/pratkricun.pdf>. Capturado el 13/05/2012.
- Prat Kricun, S. D. (2011b). Té: Procesos de elaboración. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Disponible en: <http://inta.gob.ar/documentos/te-procesos-de-elaboracion/>. Capturado el 24/07/2012.
- Prat Kricun, S. D. y De Bernardi, L. A. - Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Dirección Nacional de Alimentación. Ministerio de Economía y Producción (2002). Cadena alimentaria del Té “*Camellia sinensis*”. Diagnóstico del sector tealero. Disponible en: <http://www.itescam.edu.mx/principal/sylabus/fpdb/recursos/r67179.PDF>. Capturado el 07/11/2011.
- Prat Kricun, S. D., Fontana, H. P., Schmalko, M. E. (2000). Caracterización químico-física del té negro argentino. Información Tecnológica, 11(3), pp. 37-41.
- Ramírez, E. C. y Whitaker, J. R., Virador, V. (2003). Capítulo 39: Polyphenol Oxidase. En: Whitaker, J. R., Voragen, A. G. J., Wong, D. W. S. (eds.). Handbook of Enzymology. Marcel Dekker Inc., pp. 509-523.
- Ravichandran R. (2004). The impact of pruning and time for pruning on quality and aroma constituents of black tea. Food Chemistry, 84, pp. 7-11.
- Ravichandran, R. (2004). The impact of pruning and time of pruning on quality and aroma constituents of black tea. Food Chemistry, 84, 7-11.
- Ravichandran, R. y Parthiban, R. (1998). The impact of mechanization of tea harvesting in the quality of South Indian CTC teas. Food Chemistry, 63 (1), pp. 61-64.

- Reid, D. S. y Fennema, O. R. (2010). Agua y hielo. En: Damodaran, S., ed., Parkin, K. L., ed., Fennema, O. R. (Eds.), ed. Química de los Alimentos. Tercera Edición. Editorial Acribia, pp. 65-76.
- Roginsky, V. y Lissi, E. A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in Food. *Food Chemistry*, 92, pp. 235-254.
- Saito, S. T., Gosmann, G., Saffi, J., Presser, M., Richter, M.F., & Bergold, A.M. (2007). Characterization of the constituents and antioxidant activity of Brazilian green tea (*Camellia sinensis* var. *assamica* IAC- 259 Cultivar) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, pp. 9409-9414.
- Sang, S., Lambert, J. D., Ho, C., Yang, C. (2011). The chemistry and biotransformation of tea constituents. *Pharmacological Research*, 64, pp. 87-99.
- Smiechowska, M. and Dmoswski, P. (2006). Crude fibre as a parameter in the quality evaluation of tea. *Food Chemistry*, 94, pp. 366-368.
- Sonsalla, P. K. (2003). Estimulantes del Sistema Nervioso Central. En: Gennaro, A. R. (Ed.). Remington Farmacia. 20ª edición, tomo 2. Editorial Médica Panamericana, pp. 1748-1755.
- Stahl, W. H. (1962) The chemistry of tea and tea manufacturing, *Advances in Food Research*, 11, pp. 201-262.
- Statgraphics. (2009). Centurion XV. Statpoint Technologies, Inc. Warrenton VA, U.S.A.
- Stevanato, R., Fabris, S., Momo, F. (2004). New enzymatic method for the determination of total phenolic content in tea and wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, pp. 6287-6293.
- Takeda, Y. (1994). Differences in caffeine and tannins contents between tea cultivars, and application to tea breeding. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 28, pp. 117-123.

- Tanaka, T. y Kouno, I. (2003). Oxidation of tea catechins: Chemical structures and reaction mechanism. *Food Science and Technology*, 9 (2), pp. 128-133.
- Tanaka, T., Matsuo, Y., Kouno, I. (2010). Chemistry of secondary polyphenols produced during processing of tea and selected food. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, pp. 14-40.
- Tomlins, K. I. y Mashingaidze, A. (1997). Influence of withering, including leaf handling, on the manufacturing and quality of black teas – a review. *Food Chemistry*, 60, pp. 573-580.
- Valenzuela B., A. (2004). El consumo de té y la salud: características y propiedades benéficas de esta bebida milenaria. *Revista Chilena de Nutrición*, 31 (2), pp. 72-82. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182004000200001&lng=es&nrm=iso>. Capturado el 23/11/2011.
- Venkatesan, S. y Ganapathy, M. N. K. (2004). Impact of nitrogen and potassium fertiliser application on quality of CTC teas. *Food Chemistry*, 84, pp. 325-328.
- von Staszewski, M., Pilosof, A. M. R., Jagus, R. J. (2011). Antioxidant and antimicrobial performance of different Argentinean green tea varieties as affected by whey proteins. *Food Chemistry*, 125, pp. 186-192.
- Wang, K., Liu, F., Liu, Z., Huang, J., Xu, Z., Li, Y., Chen, J., Gong, Y., Yang, X. (2010). Analisis of chemical components in oolong tea in relation to perceived quality. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, pp. 913-920.
- Wang, Y. y Ho, C. (2009). Polyphenolic chemistry of tea and coffee: a century of progress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, pp. 8109-8114.
- Wright, L. P. (2002). Biochemical analysis for identification of quality in black tea (*Camellia sinensis*). Tesis *Philosophiae Doctor* (Biochemistry) of Faculty of Natural and Agricultural Sciences, University of Pretoria (South Africa). Disponible en: <http://upetd.up.ac.za/thesis/submitted/etd-03012005-084935/unrestricted/thesis.pdf>. Capturado el 20/04/2012.

- Yao, L., Caffin, N., D'Arcy, B., Jiang, Y., Shi, J., Sianganusong, R. Liu, X., Datta, N., Kakuda, & Xu, Y. (2005). Seasonal variations on phenolic compounds in Australia-grow tea (*Camellia sinensis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 6477-6483.
- Yao, L., Jiang, Y.M., Caffin, N., D'Arcy, B., Datta, N., Liu, X., Singanusong, R., Xu, Y. (2006a). Phenolic compounds in tea from Australian supermarkets. *Food Chemistry*, 96, pp. 614-620.
- Yao, L., Liu, X., Jiang, Y., Caffin, N., D'Arcy, B., Singanusong, R., Data, N., Xu, Y. (2006b). Compositional analysis of teas from Australian supermarkets. *Food Chemistry*, 94, pp. 115-122.
- Yoshida, H., Ishikawa, T., Hosoi, H., Suzukawa, M., Ayaori, M., Hisada, T., Sawada, S., Yonemura, A., Higashi, K., Ito, T., Nakajima, K., Yamashita, T., Tomiyasu, K., Nishiwaki, M., Ohsuzu, F., Nakamura, H (1999). Inhibitory effect of tea flavonoides on the ability of cells to oxidize Low Density Lipoprotein. *Biochemical Pharmacology*, 58, pp. 1695-1703.

ANEXOS

ANEXO 1

TÉ NEGRO. Contenido de Humedad, extracto acuoso, cenizas totales, cenizas insolubles en ácido, cafeína y fibra cruda

Muestra	Contenido de Humedad (%bh)	Extracto acuoso (%bs)	Cenizas Totales (%bs)	Cenizas insolubles en ácido (%bs)	Cafeína (%bs)	Fibra cruda (%bs)
1	4,7	37,2	6,5	0,15	2,5	11,0
2	6,6	40,9	6,3	0,25	3,0	10,3
3	4,1	44,8	6,9	0,24	3,9	10,8
4	5,8	40,6	6,2	0,08	2,9	
5	4,2	40,8	6,0	0,10	2,1	
6	4,3	46,1	6,0	0,10	3,1	
7	8,0	35,7	6,0	0,10	2,6	
8	3,9	42,5	5,3	0,11	2,6	10,0
9	4,5	47,1	5,2	0,01	2,0	8,2
10	6,1	43,5	6,7	0,00	2,9	
11	4,4	44,4	6,2	0,04	3,4	
12	4,5	40,0	5,8	0,00	3,5	10,6
13	4,4	42,9	5,4	0,00	3,5	
14	4,5	29,2	7,3	0,17	2,4	11,0
15	3,8	45,7	5,9	0,12	3,6	8,8
16	7,8	39,5	5,6	0,04	2,4	13,4
17	8,7	36,4	6,1	0,08	3,5	10,9
18	4,3	42,3	6,6	0,03	3,0	
19	4,4	43,8	6,3	0,03	3,4	10,9
20	5,8	42,9	6,1	0,13	3,2	11,0
21	7,6	43,5	5,9	0,03	3,4	10,2
22	6,2	40,0	6,1	0,01	2,8	13,5
23	3,9	40,5	6,5	0,04	1,7	11,1
24	4,1	41,9	5,9	0,02	3,1	10,0
25	9,4	36,8	6,0	0,01	1,4	11,1
26	9,5	29,3	6,9	0,16	1,0	13,8
27	7,3	36,7	6,1	0,52	1,4	13,8
28	6,4	34,9	6,0	0,06	1,1	14,1
Media aritmética	5,7	40,3	6,1	0,09	2,7	11,2
Desvío estándar	1,8	4,5	0,5	0,11	0,8	1,7
CV (%)	31,5	11,2	7,7	114,75	29,7	14,8

ANEXO 2

TÉ VERDE. Contenido de Humedad, extracto acuoso, cenizas totales, cenizas insolubles en ácido, cafeína y fibra cruda

Muestra	Contenido de Humedad (%bh)	Extracto acuoso (%bs)	Cenizas Totales (%bs)	Cenizas insolubles en ácido (%bs)	Cafeína (%bs)	Fibra cruda (%bs)
1	6,0	39,6	6,0	0,02	2,7	20,5
2	7,0	46,0	6,1	0,08	2,8	10,8
3	7,4	46,1	6,0	0,13	2,2	15,7
4	7,0	35,9	7,2	0,04	1,8	18,6
5	9,1	48,7	5,7	0,00	2,6	11,6
6	6,9	38,7	6,9	0,21	1,7	17,4
7	5,6	46,9	6,4	0,24	2,1	14,4
8	6,6	37,1	5,3	0,13	1,1	15,8
9	8,3	31,8	6,1	0,09	2,8	18,4
10	7,6	39,2	7,2	0,11	2,0	13,1
11	9,1	38,1	7,1	0,11	1,6	14,7
Media aritmética	7,3	40,7	6,4	0,11	2,1	15,5
Desvío estándar	1,1	5,4	0,6	0,07	0,6	3,0
CV (%)	15,4	13,2	10,2	68,62	26,9	19,5

ANEXO 3

BT. Contenido de Humedad, extracto acuoso, cenizas totales, cenizas insolubles en ácido, cafeína y fibra cruda

Muestra	Contenido de Humedad (%bh)	Extracto acuoso (%bs)	Cenizas Totales (%bs)	Cenizas insolubles en ácido (%bs)	Cafeína (%bs)	Fibra cruda (%bs)
1	7,2	40,1	6,3	0,21	2,5	13,2
2	5,7	37,8	6,2	0,10	3,0	18,7
3	5,0	37,8	6,1	0,10	2,0	17,1
4	4,5	29,7	4,5	0,00	1,8	32,8
5	3,8	23,4	7,3	0,17	1,8	23,2
6	11,4	31,1	6,3	0,10	1,4	
7	7,6	33,1	6,3	0,00	2,4	17,1
8	8,1	31,9	6,2	0,01	2,2	21,8
9	6,2	34,9	6,3	0,18	2,4	16,2
10	6,5	36,2	6,0	0,01	2,6	15,3
11	9,4	30,6	5,0	0,00	2,1	28,7
Media aritmética	6,9	33,3	6,0	0,08	2,2	20,4
Desvío estándar	2,2	4,7	0,7	0,08	0,5	6,3
CV (%)	32,5	14,1	12,1	100,59	20,8	30,7

ANEXO 4

TÉ NEGRO. Parámetros de color (*L*, *a* y *b*)

Muestra	Parámetro		
	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
1	26,4	2,0	11,0
2	23,4	3,1	10,4
3	22,7	1,2	6,3
4	22,2	2,7	8,9
5	24,2	3,9	10,2
6	22,6	2,6	9,5
7	26,1	4,6	11,8
8	24,6	1,4	7,4
9	22,0	2,0	5,6
10	24,7	2,6	8,8
11	23,0	1,9	6,5
12	23,2	2,0	6,8
13	22,1	2,5	6,3
14	27,7	4,4	14,1
15	26,4	1,8	9,2
16	25,0	2,1	8,4
17	25,3	1,5	9,1
18	26,7	1,9	7,0
19	24,2	2,5	9,7
20	24,5	3,9	11,8
21	22,6	3,1	10,1
22	26,7	4,6	14,3
23	25,8	3,9	13,3
24	25,2	4,0	12,1
25	23,8	3,1	9,3
26	32,4	4,9	16,5
27	25,8	4,0	9,9
28	26,7	4,2	10,6
Media aritmética	24,9	2,9	9,8
Desvío estándar	2,2	1,1	2,7
CV (%)	8,9	37,8	27,3

ANEXO 5

TÉ VERDE. Parámetros de color (*L*, *a* y *b*)

Muestra	Parámetro		
	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
1	40,5	-1,8	22,7
2	33,8	-1,8	18,7
3	42,4	-1,1	21,2
4	42,2	-1,4	24,9
5	37,3	-4,7	22,7
6	40,5	-0,9	22,9
7	41,4	-3,6	28,6
8	33,3	-1,7	16,7
9	36,8	1,0	19,4
10	28,5	1,9	12,1
11	30,9	2,0	15,3
Media aritmética	37,0	-1,1	20,5
Desvío estándar	4,8	2,1	4,7
CV (%)	13,1	-188,3	22,7

ANEXO 6

BT. Parámetros de color (L , a y b)

Muestra	Parámetro		
	L	a	b
1	28,3	5,4	16,0
2	31,0	4,3	15,6
3	31,7	5,3	15,7
4	38,3	7,5	19,6
5	40,2	3,3	19,9
6	33,8	4,6	17,2
7	29,1	4,7	12,9
8	30,4	4,7	14,0
9	31,1	4,1	15,0
10	29,6	4,5	13,9
11	39,0	6,6	20,4
Media aritmética	33,0	5,0	16,4
Desvío estándar	4,3	1,2	2,6
CV (%)	12,9	23,1	15,9

ANEXO 7

Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de los diferentes tipos de té

	Contenido de polifenoles totales (g EAG/100 g ms)	Actividad antioxidante (g EAA/100 g ms)
Té negro		
1	13,4	22,7
2	9,5	21,1
3	10,1	21,2
4	11,3	22,8
5	12,1	23,5
6	10,2	20,8
Media aritmética	11,1	22,0
Desvío estándar	1,5	1,0
CV%	13,1	4,7
Té verde		
1	16,1	35,3
2	13,3	26,5
3	14,7	27,8
4	12,9	26,1
5	17,5	34,5
Media aritmética	14,9	30,0
Desvío estándar	1,9	4,5
CV%	12,9	15,0
BT		
1	8,31	17,48
2	8,33	18,52
3	8,42	16,73
4	9,62	18,24
5	8,41	15,97
Media aritmética	8,6	17,4
Desvío estándar	0,6	1,1
CV%	6,5	6,1