

Contenido de catequinas en cultivares argentinos de té (*Camellia sinensis*), elaborados como té negro

PRAT KRICUN, S. D.¹

RESUMEN

El presente proyecto tuvo como objetivo determinar el contenido de materia seca de las siguientes catequinas, epigalocatequina-3-galato (EGCG), epigalocatequina (EGC), epicatequina (EC), catequina (C) y catequina galato (CG), en los cultivares de té CH 14 INTA, CH 112 INTA, CH 318 INTA, CH 410 INTA y CH 732 INTA elaborados como té negro, durante tres épocas de zafra. Se empleó un sistema de extracción acuosa y la determinación de los compuestos se efectuó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), con elución isocrática.

Los contenidos de catequinas se analizaron por análisis de variancia ($P < 0,05$), se estudiaron las diferencias entre cultivares y la población control, épocas e interacciones. Se compararon las medias entre cultivares y la población control por medio de la prueba de Comparación Múltiple ($P < 0,05$). Los resultados obtenidos permiten establecer que el contenido total promedio de todas las catequinas analizadas, alcanzó a 1,53 de materia seca (%). EGCG fue la catequina con más alta concentración, alcanzado un promedio $1,10\% \pm 0,13$, no registrando diferencias significativas entre cultivares. EGC alcanzó un segundo nivel con una concentración de $0,16\% \pm 0,03$. Para EC, C y CG las concentraciones fueron de $0,16\% \pm 0,06$; $0,06\% \pm 0,016$ y $0,04\% \pm 0,009$, respectivamente.

Entre los cultivares se presentaron diferencias significativas respecto al resto, el cultivar CH 410 INTA presentó los mayores contenidos de EGCG, EGC, EC y C, con 1,30; 0,19; 0,29 y 0,11% respectivamente; para CG el cultivar CH 318 INTA presenta el mayor contenido con 0,068%.

Entre las épocas de zafra, se registraron diferencias significativas, con los mayores contenidos promedio al inicio de zafra para todas las catequinas analizadas. Sus contenidos para EGCG, EGC, EC, C y CG, fueron 1,47; 0,22; 0,27; 0,13 y 0,063% respectivamente.

Palabras clave: Té negro, polifenoles, catequinas, HPLC.

¹ Ing. Agr. Mgter. EEA Cerro Azul-INTA. C. C. 101, 3315 Leandro N. Alem, Misiones, Argentina. e-mail: pkricun@cerro.inta.gov.ar

ABSTRACT

The present project was conducted with the objective of evaluation the content of the following catechins, epigallocatechin-3-gallate (EGCG), epigallocatechin (EGC), epicatechin (EC), catechin (C) and catechin gallate (CG), in the tea cultivar CH 14 INTA, CH 112 INTA, CH 318 INTA, CH 410 INTA and CH 732 INTA elaborated as black tea, during three harvest times. A system of water extraction was used and the determination was made by high performance liquid chromatography (HPLC), with isocratic elution.

The catechin contents were analyzed by analysis of variance ($P < 0.05$), the differences were studied among cultivars and the population control, times and interactions. The means were compared among cultivars and the population control by Multiple Range Test ($P < 0.05$). The obtained results allow to establish the following conclusions.

The total average content of all the analyzed catechins, reaching at 1.53 of dry matter (%). EGCG was the catechins with higher concentration, reaching at an average of $1.10\% \pm 0.13$, not registering significant differences among cultivars. EGC reached a second level with a concentration of $0.16\% \pm 0.03$. For EC, C and CG the concentrations were $0.16\% \pm 0.06$; $0.06\% \pm 0.016$ and $0.04\% \pm 0.009$, respectively.

Among the cultivars they presented significant differences, cultivar CH 410 INTA present the biggest contents in EGCG, EGC, EC and C, with 1.30; 0.19; 0.29 and 0.11% respectively; for CG cultivar CH 318 INTA presents the biggest content with 0.068%.

For the harvest times, they registered significant differences, with the biggest contents average to the beginning for all the analyzed catechins. Their contents for EGCG, EGC, EC, C and CG, were 1.47; 0.22; 0.27; 0.13 and 0.063% respectively.

Key words: Black tea, polyphenols, catechins, HPLC.

INTRODUCCIÓN

La región tealera argentina está comprendida entre los 54° y 56° W, 26° y 28° S, constituyéndose en la más austral del mundo, con aproximadamente 45.000 ha en su momento de máxima expansión (1976-77) de las cuales 41.850 ha (93%), se encontraban en la provincia de Misiones y 3.150 ha (7%) en la provincia de Corrientes (De Bernardi y Prat Kricun, 2002; International Tea Committee, 2005).

El clima es subtropical húmedo, isohídrico, las precipitaciones van de los 1800 a 2200 mm anuales. Con estas condiciones el cultivo desarrolla su período de zafra entre los meses de octubre a mayo. Durante el período otoño-invernal, por disminución de las temperaturas medias y la heliofanía diaria, inicia un periodo de receso fisiológico que se aprovecha para la realización de las podas anuales, periódicas y de formación.

El cultivo se realiza a altitudes de 150 a 550 m, en suelos de los ordenes alfisoles y ultisoles con buena aptitud productiva, que si bien en general responden a sus necesidades, presentan limitaciones nutricionales posteriores, que deben ser corregidas por medio de la fertilización en función a su estado nutricional y nivel de extracción.

Las modernas plantaciones se efectúan (Hampton, 1992; Obanda *et al.*, 1992; Prat Kricun y Belingheri,

2003) empleando cultivares clonales, seleccionados por su homogeneidad, rendimiento, calidad de taza y adaptabilidad ambiental. El método de propagación por semilla es cada vez menos empleado en el país, si bien resulta más económico, su uniformidad productiva y cualitativa son bajas debida a la alta heterogeneidad genética.

La cosecha se extiende en promedio entre 7 a 8 meses, su inicio y fin está estrechamente ligado a las heladas tardías y tempranas, respectivamente. La recolección es mecanizada, con intervalos de 12 a 30 días. El nivel de recolección coincide con el despunte o "tipping", según el tipo de poda que se haya realizado, partiendo de este nivel correspondiente a la primera recolección después del despunte, se debe elevar el nivel de recolección 1 a 3 cm, cada 2 a 4 recolecciones y así sucesivamente hasta concluir la campaña con la poda liviana. Durante la recolección, la materia prima debe conservarse sana, entera, no compactada y aireada. Debe conservar su color verde y aroma típico, evitando la exposición directa al sol, contacto con tierra, malezas o cualquier otro contaminante. Su transporte a la planta elaboradora debe realizarse de forma rápida e higiénica en envases o contenedores adecuados (EEA Cerro Azul, 1996).

Las podas anuales o de producción, tienen como objetivo mantener la altura de la planta entre 50 a 100 cm y promover el desarrollo de tallos productivos, a partir de las yemas adventicias presentes en la ramazón. La poda

de rebaje, fuerte o periódica se efectúa en ciclos de 4 a 6 años, con los objetivos de reducir la altura de la planta, aumentar la relación masa foliar/madera, reemplazar las ramas muertas o dañadas y recuperar los rendimientos en un nuevo ciclo. La poda de renovación, rejuvenecimiento o recepado se efectúa cada 30 a 35 años con un corte a nivel del suelo del eje o los ejes principales de la planta, con el objetivo renovar completamente el esqueleto de la planta.

La manufactura se efectúa como té negro sobre el 98,5% de la materia prima, exportándose del total de té seco un 95% con destino principal a EEUU, Chile, Inglaterra, Holanda y Alemania (International Tea Committee, 2005). El proceso comprende las típicas etapas de marchitado, enulado, fermentado, secado, clasificación, mezcla y envasado; existen diversidades entre las diferentes plantas en los sistemas de enulado, secado y clasificación (Werkhoven, 1974; EEA Cerro Azul, 1996; Jose, 2001; Prat Kricun, 2003).

Es importante conocer la composición química del brote y de las hojas, por las reacciones que estos compuestos sufren durante sus diferentes procesos de manufactura, así como la importante contribución de los mismos a las características de astringencia, color, brillo, pungencia, flavor y propiedades estimulantes propias del producto (Herath *et al.*, 1993). Además de los componentes normales de cualquier tejido vegetal como hidratos de carbono, lípidos, proteínas y minerales, encontramos otros constituyentes como los polifenoles en cantidades tales que distinguen al té de otros vegetales (EEA Cerro Azul, 1996; Laurens *et al.*, 1998; Tocklai Exp. St., 2003b). Estos están presentes en los jugos celulares y sufren una serie de cambios químicos cuando la hoja es desintegrada durante la manufactura. Son derivados del ácido gálico y las catequinas. Los métodos de análisis químicos tradicionales y la cromatografía, permiten separar más de una docena de diferentes compuestos, con configuración química basada en la catequina y el ácido gálico. No todos ellos están presentes en forma natural en la hoja de té; algunas de ellas son formas isoméricas producidas durante el proceso de extracción y análisis. Las 6 que se reconocen en los trabajos a campo son: epigalocatequina-3-galato (EGCG), epigalocatequina (EGC), epicatequina-3-galato (ECG), epicatequina (EC), galocatequina (GC) y catequina(C). Si bien el rol de los polifenoles en general y las catequinas en particular está asociado a la resistencia a plagas y enfermedades, su función en té es estudiada con detenimiento en función a las tolerancias y resistencias en nuevos cultivares (Punyasiri *et al.*, 2000). Con respecto a sus propiedades biológicas cuando se consumen, se absorben intestinalmente (Dashwood, 1999, 2002) y rápidamente se metabolizan, para formar compuestos metilados, glucuronizados y sulfatados. Se ha encontrado que puede ocurrir el metabolismo por bacterias, que normalmente colonizan el colon. EGCG representa del 10-50% de las catequinas totales y parece ser la más poderosa de las catequinas; su actividad antioxidante es aproximadamente 25-100 veces más potente que las vitaminas C y E. Los más importantes efectos

biomédicos son la protección contra el cáncer y las enfermedades cardiovasculares (Flores *et al.*, 2003). En los trabajos experimentales, la actividad preventiva del té, se documentó bien para los tumores en diferentes órganos. En los humanos, se informó que el té es protector contra tumores en pulmón, tracto gastrointestinal e hígado, además previene la salud bucal (Udagama *et al.*, 2000).

La investigación ha mostrado que el té es antiaterogénico reduciendo colesterol y triglicéridos (Vinson *et al.*, 1998); reduce coágulos sanguíneos, refuerza la función inmune, la pérdida de peso y es anticancerígeno (Yang *et al.*, 1997). Teóricamente, la alta actividad antioxidante del té, lo hace beneficioso protegiendo el cuerpo del daño oxidativo, debido a los radicales libres. Las enfermedades que están asociadas con el daño por radicales libres incluyen cáncer, enfermedades cardíacas, función inmune suprimida y el envejecimiento acelerado.

Una gran cantidad de evidencia científica indica los beneficios de beber té, por su amplia gama de propiedades medicinales (Tocklai Exp. St., 2003a). Así, el té se presenta por su esfera de acción, como el quimiopreventivo más práctico, incluido en una dieta saludable para protección de los consumidores en general, reduciendo el riesgo de diferentes tipos de cáncer. La Asociación de Investigación de té (TRA), en Tocklai (India) en la colaboración con el Instituto Indio de Biología Química (IICB), en Kolkata ha llevado a cabo los estudios sobre diferentes aspectos de salud y consumo de té negro. En estos estudios, se examinó la influencia de té en su conjunto y sus distintos componentes aislados. Los resultados indicaron lo siguiente:

*La administración regular de dosis bajas de extracto de té negro (0.002-0.2%) reduce significativamente los niveles de colesterol total en ratas.

*Las proporciones normales de extracto de té negro reducen significativamente los niveles del triglicéridos.

*El nivel de HDL (lípidos de alta densidad) aumentó, sin embargo, su nivel no resultó significativo.

*Los niveles de VHDL (lípidos de muy alta densidad) y LDL (lípidos de baja densidad) mostraron una disminución ligera pero el efecto no era significativo.

Así, los resultados indicaron que la administración permanente de té negro en animales, es capaz de reducir el colesterol total y triglicéridos a niveles saludables. Los flavonoides del té previenen oxidación del colesterol LDL.

La determinación del contenido de antioxidantes en té, constituyen parámetros con efectos sobre la salud de los consumidores (Cheng, 1999). Determinarlos en los cultivares difundidos, su relación con los tés comunes originados en plantaciones de semilla y su variación a lo largo del período de zafra tealera (Jose, 2001), permitirá a la actividad negociar su producto, con un conocimiento más profundo de sus cualidades.

La adopción rutinaria de la determinación de catequinas en té negro, permitirá mejorar las ventajas competitivas del té argentino como un producto de calidad no sólo valorado por su buen color y adaptabilidad a las mezclas.

El objetivo del presente proyecto es determinar el contenido de catequinas de los cultivares comerciales más difundidos en la región tealera argentina, elaborados como té negro.

MATERIALES

Se emplearon los cultivares CH 14 INTA, CH 112 INTA, CH 318 INTA, CH 410 INTA, CH 732 INTA y la población Larraburu como control. El lote fue implantado a campo en julio de 1966, con un distanciamiento de 1,60 x 0,80m y una densidad de 7.810 pl ha⁻¹, se ubica en la EEA Cerro Azul del INTA, Cerro Azul, Misiones, 27°39' S, 55°26' W y una altitud de 283 m. Su mantenimiento se efectuó de acuerdo a las prácticas de manejo recomendadas por la EEA Cerro Azul-INTA. Las recolecciones se efectuaron con una cosechadora mecánica de tiro manual, estableciendo 3 épocas de recolección dentro de la zafra. Inicio del 27/11 al 7/12, plena zafra del 22/01 al 27/01 y fin de zafra del 3/04 al 10/04. Las recolecciones se efectuaron entre las 11 a 14 horas, por triplicado para cada uno de los 5 cultivares y la población control.

PROCESAMIENTO

Las muestras de brotes verdes sin clasificar, fueron en promedio de 500 g; su micromanufactura se inició con un marchitado en forma natural hasta un porcentaje de marchitado del 60 a 65% (^{ec.1}), por un período de 18 a 21 horas posteriores a la recolección. (^{ec.1}) *Porcentaje de marchitado = (Peso marchitado / Peso fresco) x 100.*

El brote marchito fue enlulado en 2 pasos sucesivos, por una micro enluladora Rotorvane (6,5 cm diámetro x 22 cm de longitud). Luego el material enlulado fue desagregado en forma manual para facilitar su "fermentación", por medio de un tamiz de alambre y distribuido en una capa de uniforme de 2 cm ± 0,5 sobre una bandeja de aluminio. Las bandejas con el material enlulado fueron llevadas a sala de fermentado, con una humedad relativa de 95 a 100% y una temperatura de 23,8 °C ± 1,6; por un tiempo de 60 a 90 minutos hasta alcanzar un color marrón habano y su aroma característico. Luego el material fermentado fue distribuido en una fina capa, sobre una bandeja de madera con fondo de alambre tejido de fina malla. Cada bandeja fue introducida a un microsecadero eléctrico con aire forzado, a una temperatura de 100 °C ± 2 por un tiempo de 25 a 30 minutos, hasta alcanzar una humedad del 3 al 5% y su típico color negro. Cada muestra fue envasada en bolsas multipliegos de aluminio, etiquetada y conservada en cámara frigorífica a -18 °C ± 2.

Determinación de catequinas

Se procesa cada muestra en un molinillo de café, se determina su contenido de humedad (ISO 1572) y posteriormente se pesan 1,5 g de la misma. Se adicionan 90 mL de agua destilada estéril apirógena en ebullición a los 1,5 g de la muestra, en un vaso de precipitado de 250 mL. Se lleva a un baño de agua a 80°C por 10 minutos, con agitación periódica. La solución se enfría en refrigerador a 4°C, por 5 minutos. Se filtra luego con succión a través de un embudo buchner de 12 cm, con un papel de filtro Whatman N.º1 y se recoge el filtrado en un kitasato de 250 mL (Obando *et al.*, 1996). Se transfiere mediante una pipeta automática, 1 mL del filtrado obtenido a un tubo de ensayo de 10 mL, se diluye con agua apirógena 1:2. Estas soluciones se emplean para la determinación por HPLC.

Se utilizó un cromatógrafo líquido Shimadzu LC 6A, equipado con un integrador CR3 A y un detector UV Shimadzu SPD-6A (195-350nm), calibrado a 280 nm (Shimadzu Corp., 2001). Se utilizó una columna fase reversa Lichrospher RP18 5 Micrón, de 250 mm x 4 mm. La fase móvil A fue 95,45: 4,5: 0,05 (H₂O apirógena / acetonitrilo (HPLC)/ ácido fosfórico), la fase móvil B fue 49,45: 50: 0,05 (H₂O apirógena / acetonitrilo (HPLC)/ ácido fosfórico) (Goto, T. *et al.*, 1996). La fase móvil de trabajo fue A/B (70:30). Flujo 1.0 mL/minuto. Temperatura 25°C ± 1. Inyección 5 µL. Intervalo entre muestras 5 minutos. Para la curva de calibración se utilizaron las misma fase móvil A/B (70:30), con los estándares provistos por Sigma Chemical Co. (St.Louis, Mo) de epigalocatequina-3-galato (EGCG):(E-4143), epigalocatequina (EGC):(E-3768), epicatequina (EC): E-4018), catequina (C): C-0567), catequina galato (CG): C-0692) y cafeína: (C-8960). Estos fueron disueltos en una solución 95/5, agua/metanol (HPLC), en las siguientes concentraciones EGCG 300 mg L⁻¹, EGC 850 mg L⁻¹, EC 250 mg L⁻¹, C 200 mg L⁻¹, CG 250 mg L⁻¹ y cafeína 200 mg L⁻¹.

Para la identificación de las catequinas se tomaron los tiempos de retención de cada compuesto; para la determinación de su cantidad se tomó como referencia el área de los picos obtenida con la inyección de 5 µL de la solución con la mezcla de estándares. Se repetía la inyección de la mezcla de estándares a intervalos regulares, luego de la inyección de seis muestras.

Los contenidos de catequinas y cafeína se analizaron por variancia (P<0,05), se estudiaron las diferencias entre cultivares y población control, épocas e interacciones. Se compararon las medias entre cultivares y población control por medio de la prueba de comparación múltiple (P<0,05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según puede observarse en la curva de calibración de los estándares (figura 1), la misma responde según el

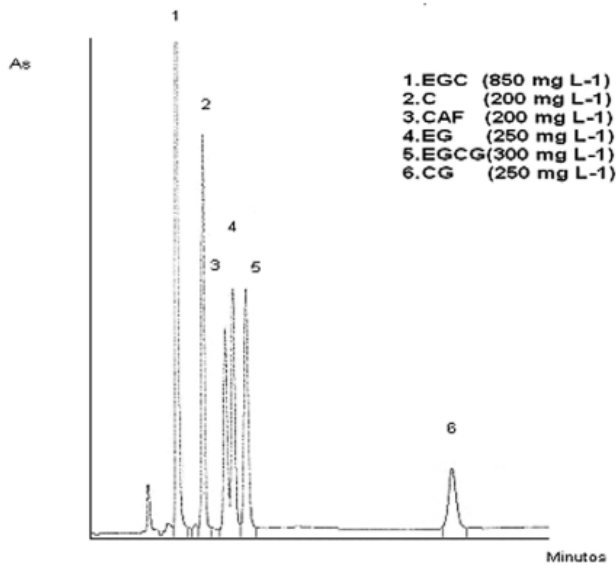


Figura 1. Cromatograma de la mezcla de estándares.

orden de aparición de cada compuesto y tiempo de retención a los determinados por Goto, T. *et al.* (1996). No obstante, corresponder el cromatograma a una elución isocrática con fase móvil A/B (70:30), no presenta mayores diferencias con la elución con gradiente. Esta última para 8 catequinas y cafeína, se inició con A/B (90:10) por 5 minutos, momento en que la fase B se incrementó linealmente a 30% en 3 minutos, luego se mantuvo por 2 minutos, se incrementó linealmente la fase B a 80% por 5 minutos y se mantuvo la composición final A/B(20:80), por otros 5 minutos.

Seis ejemplos de cromatogramas de catequinas y cafeína obtenidos de los diferentes cultivares se observan en las figuras 2, 3, 4, 5, 6 y 7.

Si bien los cromatogramas permiten diferenciar y determinar la concentración de cada uno de los compuestos, se observa cierto solapamiento entre las áreas por tratarse de una elución isocrática. Dicho resultado, además del tipo de elución y las otras catequinas presentes, obedece a otros nuevos compuestos que se generan durante el

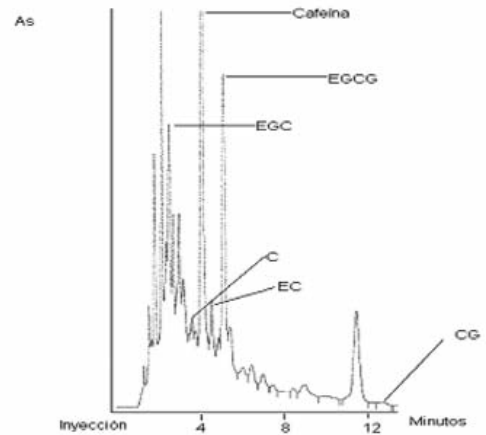


Figura 3. Cultivar CH 112 INTA, inicio de zafra.

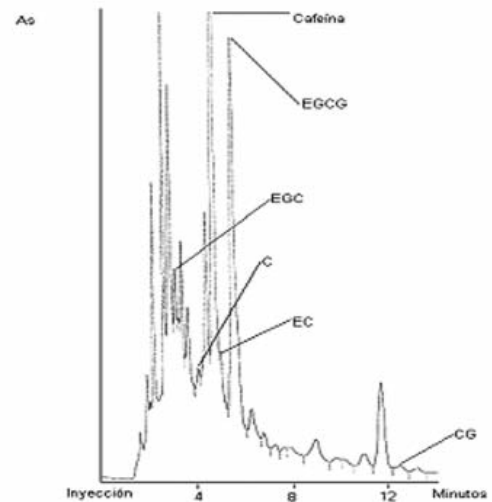


Figura 4. Cultivar CH 318 INTA, plena zafra.

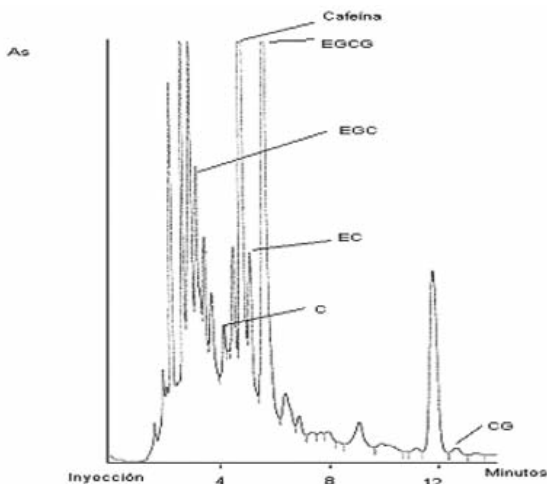


Figura 2. Cultivar CH 14 INTA, inicio de zafra.

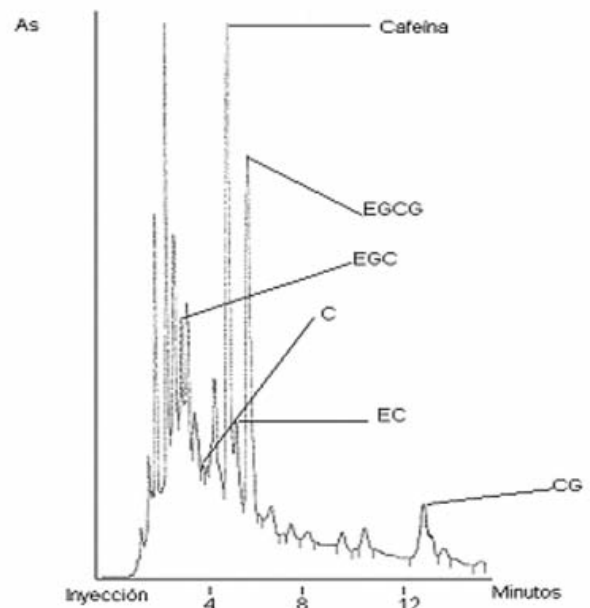


Figura 5. Cultivar CH 410 INTA, plena zafra.

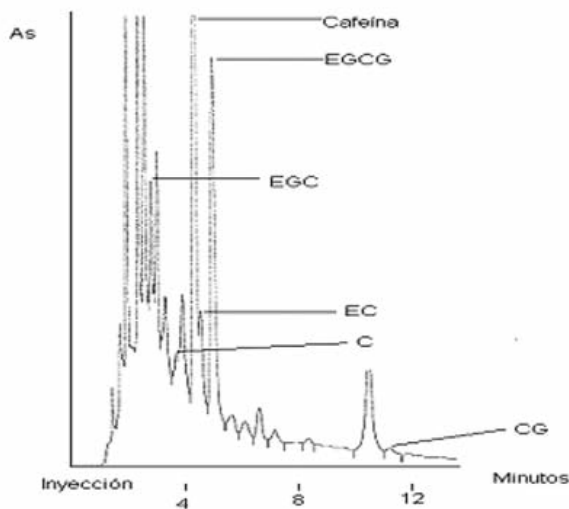


Figura 6. Cultivar CH 732 INTA, fin de zafra.

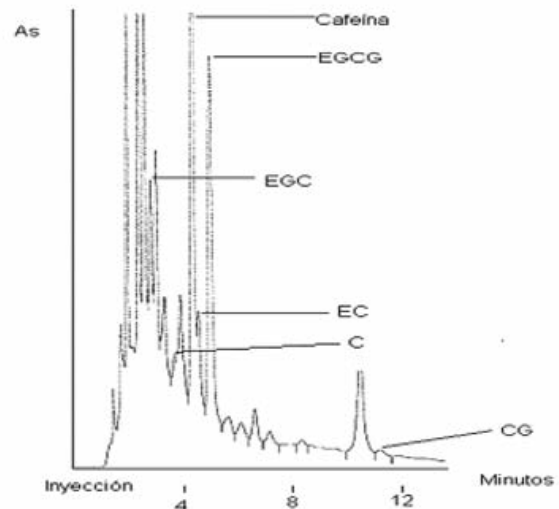


Figura 7. Población Larraburu, fin de zafra.

proceso de "fermentación" o pardeamiento enzimático. Según Obanda *et al.* (1996) y Obanda y Owuor (1997), entre las catequinas se encuentran epicatequina galato (EGC), epicatequina 3,5 digalato (EGCG), epigalocatequina 3,5 digalato (EGCGG), epicatequina-3-(3"-O-metil)galato (ECmetilG) y epigalocatequina-3-(3"-O-metil)galato (EGCmetilG), por efecto del proceso y posterior secado encontramos ácido gálico, ácido teaflávic, bis-flavonoles, teaflavinas (TF1, TF2, TF3 y TF4) responsables de la viveza y brillo y las tearrubiginas responsables del color (Jose, M.S., 2001 y Saijo, *et al.*, 2001).

Los picos dominantes de las áreas corresponden a cafeína y EGCG. La cafeína con una concentración levemente superior, se destaca marcadamente en los cromatogramas (fig. 2 a 7). El EGC se ubica en un tercer nivel, en tanto que EC y C los picos y áreas son pequeños,

incluso EC en algunas muestras no fue detectado. En tanto que la catequina CG generada por conversión térmica (Saijo y Takeda, 1999), fue detectada en muy bajos niveles e incluso no detectada. Las determinaciones promedio por triplicado del contenido de catequinas y cafeína, por cultivar en las diferentes épocas de zafra se observan en las tablas 1 y 2.

Se observa una gran variabilidad en el contenido de catequinas no oxidadas presentes entre los distintos cultivares, alcanzado un valor total promedio de 1,53 de materia seca (%). Si se considera que en la presente evaluación se han considerado las catequinas más importantes, este valor promedio resulta significativamente inferior a los determinados en India y Kenia (Obanda *et al.*, 1996; Obanda y Owuor, 1997 y Tocklai Exp. St., 2003b), donde alcanzaba valores promedio de

Cultivar	EGCG	EGC	EC	C	CG	Cafeína
CH 14	1,1172 c	0,1690b	0,1332 c	0,0578 c	0,0341 d	0,6831 d
CH 112	0,7973 d	0,0962d	0,0267 d	0,0333 d	0,0292 d	0,7298 cd
CH 318	1,2190 bc	0,1329c	0,1165 c	0,0280d	0,0684 a	0,8621 a
CH 410	1,3001 ab	0,1901 ab	0,2941 a	0,1132 a	0,0375 cd	0,6848 d
CH 732	0,8096 d	0,1601 bc	0,2130b	0,0820 b	0,0484 b	0,7693 bc
Población Larraburu	1,3683 a	0,2237 a	0,2140b	0,0790b	0,0460 bc	0,8013 b
Promedio	1,1020	0,1620	0,1662	0,0655	0,0409	0,7551
LSD(P<0,05)	0,1310	0,0343	0,0611	0,0156	0,0092	0,0538
CV (%)	12,10	21,58	37,41	24,47	14,23	7,25

(*) Contenidos con igual letra, por columnas no indican diferencias estadísticamente significativas entre cultivares. CV: Coeficiente de variación.

Tabla 1. Contenido de catequinas y cafeína en cultivares y población Larraburu. Datos en materia seca (%).

Época	EGCG	EGC	EC	C	CG	Cafeína
Inicio	1,4768 a	0,2279 a	0,2794 a	0,1380 a	0,0635 a	0,8291 a
Plena	0,8092 c	0,1239 b	0,1026 b	0,0280 b	0,0411 b	0,7308 b
Fin	1,2020 b	0,1342 b	0,1169 b	0,0307 b	0,0274 c	0,7055 b
Promedio	1,1024	0,1620	0,1663	0,0656	0,0440	0,7551
LSD(P<0,05)	0,0927	0,0243	0,0432	0,0111	0,0066	0,0380
CV (%)	12,10	21,58	37,41	24,47	14,23	7,25

(*) *Contenidos con igual letra, por columnas no indican diferencias estadísticamente significativas entre épocas.*
CV: Coeficiente de variación.

Tabla 2. Contenido de catequinas y cafeína en té recolectado en diferentes épocas de zafra. Datos en materia seca (%).

3 a 6,67% y 1,6 a 10,8%, respectivamente. Diferencias motivadas posiblemente por variables genéticas y ambientales, sistema de manejo, recolección y proceso de elaboración.

Dentro del proceso de la elaboración, se debe destacar la operación de enrollado de tipo continuo rotorvane empleado en esta investigación, que se diferencia del proceso discontinuo u ortodoxo, el continuo CTC o sus combinaciones por obtener una mayor ruptura de células, consecuentemente una "fermentación" más completa, menos catequinas no oxidadas y sus derivados como teafloavinas y en particular tearrubiginas. Éstas son las responsables del color y se generan en un proceso de polimerización no enzimático, en función del tiempo hasta llegar al secado. El color ha sido una de las características más reconocidas de los tés argentinos, ya que en mezcla con otros tés de superior aroma y sabor, se obtiene un producto final de equilibradas características, con una materia prima de menor costo. Además, esta característica es también muy apreciada para la preparación de té frío en máquinas expendedoras, obteniéndose y producto final de buen color sin depósitos. La transformación final en tearrubiginas por efecto del energético enrollado, el prolongado tiempo de "fermentación" y sumado al bajo nivel de catequinas no oxidadas detectadas en la presente investigación, explicaría en parte esta particular característica del té negro argentino.

Para EGCG la población Larraburu y el cultivar CH 410 INTA presentan los mayores contenidos (tabla 1), con diferencias estadísticamente significativas del resto de los cultivares, con la excepción del cultivar CH 318 INTA respecto de CH 410 INTA. El contenido promedio de 1,10%, resulta inferior al registrado en Kenia (Obanda *et al.*, 1996), con 1,67%. Para EGC la población Larraburu y el cultivar CH 410 INTA presentan los mayores conteni-

dos medios, superiores estadísticamente al resto de los cultivares para la población Larraburu; su contenido promedio de 0,16%, resulta significativamente menor al té negro de Kenia (Obanda *et al.*, 1996), con 1,26%. Para EC y C con valores promedio de 0,16 y 0,06% respectivamente, resultan inferiores a los registrados en Kenia (Obanda *et al.*, 1996), cuyos promedios alcanzan valores marcadamente superiores con niveles de 2,17 y 0,55%, respectivamente. El valor promedio de CG de 0,04%, indica la mínima relevancia de esta catequina. La cafeína presenta sus mayores niveles en el cultivar CH 318 INTA, con diferencias estadísticamente significativas del resto de los cultivares. El valor promedio de 0,75%, considerando el sistema de extracción acuosa, resulta muy bajo respecto a los contenidos totales de los tés negros de India (Tocklai Exp. Station, 2003), que alcanzan valores promedio de 3%.

Se observa entre las diferentes épocas de zafra diferencias estadísticamente significativas en el contenido de todos los compuestos analizados, con su mayor nivel en el inicio de la zafra (tabla 2). Para todas las catequinas se observa para plena y fin de zafra, una reducción considerable de su concentración, con la excepción de EGCG que sufre una fuerte declinación en plena zafra, para recuperarse a fin de la misma pero sin llegar a los niveles originales. La concentración de cafeína soluble, si bien resulta significativamente superior con el inicio de la zafra, su reducción alcanza para las otras épocas sólo del 12 al 15%.

CONCLUSIONES:

Se analizó el contenido de las siguientes catequinas, epigallocatequina-3-galato (EGCG), epigallocatequina

(EGC), epicatequina (EC), catequina(C) y catequina galato (CG), en los cultivares de té CH 14 INTA, CH 112 INTA, CH 318 INTA, CH 410 INTA y CH 732 INTA elaborados como té negro, durante tres épocas de zafra. Se empleó un sistema de extracción acuosa y la determinación se efectuó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), con elución isocrática. Los resultados obtenidos permiten establecer las siguientes conclusiones.

*El contenido total promedio de todas las catequinas analizadas, alcanzó a 1,53 de materia seca (%).

*EGCG fue la catequina con más alta concentración, alcanzado un promedio de $1,10\% \pm 0,13$, no registrando diferencias significativas entre cultivares.

*EGC alcanzó un segundo nivel con una concentración de $0,16\% \pm 0,03$, sin diferencias significativas por origen varietal.

*Para EC, C y CG las concentraciones fueron de $0,16\% \pm 0,06$; $0,06\% \pm 0,016$ y $0,04\% \pm 0,009$, respectivamente.

*Entre los cultivares que presentaron diferencias significativas respecto al resto, el cultivar CH 410 INTA presentó los mayores contenidos de EGCG, EGC, EC y C, con 1,30; 0,19; 0,29 y 0,11% respectivamente; para CG el cultivar CH 318 INTA presenta el mayor contenido con 0,068%.

*Para las épocas de zafra, se registraron diferencias significativas en té negro, con los mayores contenidos promedio al inicio de zafra para todas las catequinas analizadas. Sus contenidos para CGCG, EGC, EC, C y CG, fueron 1,47; 0,22; 0,27; 0,13 y 0,063% respectivamente.

AGRADECIMIENTOS

Al personal técnico y de apoyo de la EEA Cerro Azul del INTA, por su colaboración para la realización del presente trabajo; en particular al Sr. Justo Díaz Fernández,

por su aporte en todas las tareas de recolección y manufactura de las muestras y al Ing. Químico Darío Ferreira, integrante del Laboratorio Central de la FCEQyN (UNaM), por su apoyo, voluntad, paciencia y profesionalidad durante el desarrollo de los trabajos en laboratorio. A la Asociación Cooperadora de la EEA Misiones, por su apoyo financiero y a las autoridades de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales (UNaM), por facilitar sus instalaciones y equipamientos.

REFERENCIAS

CHENG, T.O. 1999. Antioxidants in wine and tea. *Journal of the Royal Society of Medicine* 92(3): pp. 157.

DASHWOOD, R.H. 1999. Tea and cancer. The Linus Pauling Institute, Estados Unidos (<http://lpi.oregonstate.edu/sp-su99/tea.html> , verificado 14/02/04).

DASHWOOD, R. H. 2002. Tea flavonoids. Linus Pauling Institute, Estados Unidos. (<http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/phytochemicals/teaflav/>, verificado 14/02/04).

DE BERNARDI, L. A.; PRAT KRICUN, S. D. 2002. Cadena alimentaria del té "Camellia sinensis". Diagnóstico de la región tealera. Secretaría ed Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, Argentina. (www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/infusion/te/Diagnosticote-01.pdf, verificado 16/02/04).

EEA CERRO AZUL 1996. 1.º Curso de capacitación en producción de té. EEA Cerro Azul-INTA, pp.125.

FLORES, K. Z.; GÁLVEZ, A.; URBINA, C. A. 2003. El Consumo de té negro revierte las disfunciones endoteliales en pacientes con insuficiencia arterial coronaria. Programa de Farmacología Molecular y Clínica - ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile (<http://farmafitolab.med.uchile.cl/Obst/Download/Disert2003/Consumodeteydisfuncionvascular.ppt>, verificado

25/02/2004).

HAMPTON, M.G. 1992. Production of black tea. En Tea: cultivation to consumption. Willson, K.C. & Clifford, M.N. ed., Chapman & Hall, London, U.K., pp. 459-510.

HERATH, N.L.; PUNYASIRI, P.A.N.; de SILVA, M.J. 1993. Correlation of major flavanols of some tea clones with quality of Tea. Sri Lanka Journal of Tea Science 62(1): 4-10, Sri Lanka.

INTERNATIONAL TEA COMMITTEE. 2005. Annual Bulletin of Statistics 2004. Ed. International Tea Committee, London, U.K., pp.158.

JOSE, M. S. F. 2001. Made tea quality in relation to seasonal variations of theflavin (TF). Tea Research Foundation (Central Africa) Quarterly Newsletter 144, 21-27.

OBANDA, M.; OWUOR, P.O.; NJUGUNA, C.K. 1992. The impact of clonal variation of total polyphenols content and polyphenol oxidase activity of fresh tea shoots on plain black tea quality parameters. Tea 13(2): 129-133, Kenya.

OBANDA, M.; OWUOR, P.O.; TAYLOR, S.J. 1996. Chemical composition of some kenyan black teas and their probable benefits to human health. Tea 17(1): 20-26, Kenya.

OBANDA, M.; OWUOR, P.O. 1997. Advances in the understanding of the formation of non-volatile quality constituents during black tea fermentation process. Tea 18(2): 194-204, Kenya.

PRAT KRICUN, S. D. 2003. Té: Procesos de Elaboración INTA, Argentina. (www.inta.gov.ar/cerroazul/investiga/yerba_mate/te_proc.htm, verificado 16/04/04).

PRAT KRICUN, S. D.; BELINGHERI, L. D. 2003. Comportamiento productivo y calidad de clones de té en

cuatro localidades del nordeste argentino. EEA Cerro Azul, Informe Técnico 83, pp.16.

PUNYASIRI, N.; JAYASUNDARA, J.; ABEYSINGHE, ISB. 2000 Role of polyphenols in the tea plant. Tea Research Institute Update 5(2), pp.1.

SHIMADZU CORPORATION. 2001 Application to food analysis (N.º18). Analysis of tea. Shimadzu Application News. High Performance Liquid Chromatography N.º L212. pp.2.

TOCKLAI EXP. ST. 2003. Tea and human healthy. Tea Research Association, India. ([Http://www.tocklai.org/about_tea/tea_health.htm](http://www.tocklai.org/about_tea/tea_health.htm) , verificado 14/02/04).

TOCKLAI EXP. ST. 2003. Tea chemistry. Tea Research Association, India. (<http://www.tocklai.org/tea-chem/index.htm>, verificado 14/02/04).

UDAGAMA, U.R.N.; SENANAYAKA, M.R.D.M; PANAGODA, G.J.; AMARAKOON, AMT. 2000. Tea drinking and oral health: Effect of black tea on oral Candida albicans isolates. Tea Research Institute Update 5(1), pp. 3.

VINSON, J.A.; DABBAGH, Y.A. 1998. Tea phenols: antioxidant effectiveness of teas, Tea components, tea fractions and their binding with lipoproteins. Nutrition Research Newsletter 18(6): 1067-1075.

WERKHOVEN, J. 1974. Tea processing. FAO Agricultural Services, Bulletin N°26, FAO, Rome. pp. 196.

YANG, C. S.; LEE, M.; CHEN, L.; YANG, G. 1997. Polyphenols as inhibitors of carcinogenesis. Environmental Health Perspectives 105 (Suppl 4): 971-976.