



GRADO EN FARMACIA

Caracterización y valoración de metabolitos secundarios activos de Té Pu-Erh (Camellia sinensis var. assamica) en diferentes preparados comerciales

Autor: Noelia Jordá Llorens.

Tutor: Dr. José Antonio Picó Monllor.

Modalidad: Experimental.

Fecha: 29-05-2019

ÍNDICE

PÁGINAS

- AGRADECIMIENTOS.....	3
- RESUMEN.....	4
- 1. ANTECEDENTES.....	5
1.1. TÉ ROJO (TÉ Pu-Erh)	8
1.2. ASPECTOS REGULATORIOS.....	11
- 2. OBJETIVOS.....	12
- 3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
3.1. FASE DE EXTRACCIÓN.....	16
3.2. PREPARACIÓN FASE MÓVIL.....	18
3.3. PREPARACIÓN RECTA PATRÓN DE CAFEÍNA Y EPIGALOCATEQUIN GALATO.....	18
3.4. INYECCIÓN DE LAS MUESTRAS.....	20
- 4. RESULTADOS.....	21
- 5. DISCUSIÓN.....	24
- 6. CONCLUSIÓN.....	29
- 7. BIBLIOGRAFÍA.....	30

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría dar las gracias a mi tutor el Dr. José Antonio Picó Monllor por toda su dedicación, apoyo y paciencia durante todo este trabajo y durante mi trayectoria como estudiante de farmacia, y por permitirme tener el lujo de trabajar en su laboratorio durante estos meses. Además, me gustaría agradecer a todo el personal de Korott® toda la amabilidad y buen trato que he recibido, sobre todo a Alexandre Agulló, quien me ayudó tanto a llevar a cabo la parte experimental de mi trabajo. Por último, me gustaría agradecer a mi pareja, a mi familia y a mis amigas todo el apoyo y el cariño que he recibido siempre.



RESUMEN

El té Pu-Erh (té rojo) es una variedad obtenida mediante procesos de fermentación a partir de hojas de té (*Camellia sinensis var. assamica*). Estos procesos producen cambios en la composición química. Sus efectos sobre la salud como su capacidad antioxidante son debidos a dichos metabolitos.

OBJETIVO: Caracterizar e identificar cuantitativamente distintos metabolitos secundarios activos (MSA,s) del té Pu-Erh, como la cafeína (CAF) y la epigallocatequin galato (EGCG), en infusiones.

METODOLOGÍA: Tres infusiones de té Pu-Erh comercializados en el supermercado (S), la herboristería (H) y la farmacia (F), a las que se les realizó una extracción de la CAF y EGCG según el procedimiento normalizado de trabajo del departamento de calidad del laboratorio Korott[□] con las condiciones cromatográficas adaptadas de la Farmacopea Europea 9.4.

RESULTADOS: Tanto la CAF como la EGCG se hallaron en los tres preparados comerciales. Entre ellos se obtuvieron diferencias en sus concentraciones: supermercado (CAF: $27,371 \pm 0,392$ y EGCG: $1,403 \pm 0,007$ mg/g), herboristería (CAF: $37,550 \pm 0,068$ y EGCG: $0,125 \pm 0,005$ mg/g) y oficina de farmacia (CAF: $17,302 \pm 0,217$ y EGCG: $0,637 \pm 0,034$ mg/g). Existen diferencias notables entre las concentraciones de CAF y EGCG entre los diferentes preparados comerciales.

CONCLUSIONES: Los diferentes preparados comerciales (S, H y F) estudiados, poseen dos de los principales MSA,s mayoritarios del té Pu Erh, aunque en diferente concentración. El acondicionamiento primario y secundario carece de información para el consumidor, respecto a las concentraciones de dichos MSA,s. La falta de normativa podría dar lugar a un problema de seguridad en su consumo.

1. ANTECEDENTES

Civilizaciones como las de Babilonia, Egipto, China, etc. Desarrollaron toda una materia médica con lo que la naturaleza les proporcionaba. En el famoso papiro d'Ebers, 1550 aC, se nombran plantas como el aloe, la escila y sustancias como el opio o el aceite de ricino, con el fin de combatir enfermedades. En la cultura asiática, el té o *Camellia sinensis* (L) O. Kuntze (= *Theasinensis* L. = *C. thea* Link) ha sido una bebida ancestral utilizada durante siglos, como revitalizador físico y espiritual. Su uso se ha extendido mundialmente por oriente y occidente, hasta tal punto que existe una "filosofía del té" llevada a cabo por Kakuzo Okakura en su escrito El libro del Té.

La difusión por el continente asiático se debe sobre todo a los monjes budistas, que lo difundieron por Asia y en el siglo XVII la Compañía Holandesa de las Indias Orientales lo exportó a Europa, juntamente con la nobleza inglesa. Hay diversas historias que hablan del origen del té. Una de las más conocidas es la referida al emperador Sheng Nung el cual, en el 2737 a.C., descubrió la bebida de té durante una siesta junto al arbusto de éste. Sin embargo, se dice que no fue hasta la dinastía T'ang que se produjo la difusión del té a través de un monje budista mediante la recopilación de información de sus antepasados. De lo que podemos estar seguros es que el té es una bebida ancestral que la cultura asiática ha utilizado durante muchos siglos como revitalizador físico y espiritual ⁽¹⁾.

La *Camellia sinensis* es un arbusto de hoja perenne que posee flores axiales amarillas y blancas, solitarias o bien 3 en un racimo. Estas flores miden de 2,5 a 3,5 cm de diámetro y tienen entre 6-8 pétalos, los exteriores son sepaloides y los internos obovados. Por otra parte, las hojas son serradas. Las jóvenes tienen pelos blancos cortos en su parte inferior (Figura 1.A). Además, existen diversos estambres de entre 0.8-1.3 cm. ⁽²⁾



Figura 1.A: Morfología de la planta *C. sinensis*. B: Droga vegetal (hojas jóvenes).

La droga vegetal de *Camellia sinensis* se encuentra en la yema terminal antes de abrir (pekoe) y en las primeras hojas, es decir, las más jóvenes y ligeras (Figura 1.B). Estas suelen recolectarse manualmente excepto en India y Corea donde se suele practicar, además, una recolección mecanizada.

El mercado del té ha sufrido un crecimiento exponencial a nivel mundial en estos últimos años. Este crecimiento es debido a un incremento importante de los principales países productores de té, entre los que se encuentra China, el cual es el principal productor mundial con una producción de 1,9 millones de toneladas, suponiendo el 38% del mercado mundial de té. Otros de los principales países productores y exportadores a su vez son: India, Kenia, Sri Lanka, Turquía, Vietnam, Indonesia, Japón y Argentina (Figura 2).



Figura 2. Principales productores de té a nivel mundial: Argentina, Uganda, Kenia, Tanzania, Turquía, Irán, India, China, Indonesia y Japón.

Además de la producción, la cual es muy importante, también se debe tener en cuenta la exportación de té, la cual fue de 1,77 millones de toneladas en el año 2013. Con estos datos es posible preguntarse en qué se focaliza el mercado para obtener semejantes cifras y es que se estima que el 60% del té es consumido domésticamente y el 40% es exportado a países no productores ⁽³⁾.

Según Bruneton J. (2001) en su libro “Farmacognosia: fitoquímica, plantas medicinales”, existen numerosas variedades de tés comerciales según las diferentes variedades botánicas, la edad de las hojas, los diferentes procesos de tratamiento, origen geográfico, etc. Las más destacadas y conocidas son:

- Verde, el cual puede estar estabilizado por calor seco o por vapor, enrollado, desecado rápidamente y más o menos torrefactado.
- Negro, el cual es marchitado durante aproximadamente 20 horas, y es enrollado y fermentado en una atmósfera húmeda. Posteriormente es secado con aire caliente, y es importante destacar que esta variedad representa el 80% del mercado mundial.
- Oolong, el cual es menos conocido en Europa y está parcialmente fermentado ⁽⁴⁾.

1.1 TÉ ROJO (Te Pu-Erh)

Una variedad de té relativamente novedosa en el ámbito europeo es el té rojo o Pu-Erh. Sin embargo, en Asia su conocimiento se remonta a los tiempos de la Dinastía Han Oriental (25-220 d.C) en la provincia de Yunnan en China, concretamente de la región de Pu'er, de ahí el motivo de uno de sus nombres. Una curiosidad es que a los emperadores chinos se les reservaban los tés de mayor calidad, es por ello, que el té rojo llegó a ser conocido como "té imperial" o "té de los emperadores" debido a que era considerado de una calidad excepcional. Su gran popularidad llegó a tal punto que, durante su época de máximo esplendor, se utilizaba como moneda de trueque de mercancía ⁽⁵⁾.

Las hojas y los brotes usados para el té Pu-Erh se extraen de las plantas, que crecen en unos ecosistemas que se encuentran en una altitud de entre 100 y 200 m en climas tropicales y subtropicales, y están formados por diversas áreas. En una de ellas encontramos bosques de poblaciones de plantas de té y en otra, hileras de jardines de éstas (Figura 3.A). En medio de la producción se encuentran agro-bosques y campos de cosechas mixtas que se refieren a ambos como "antiguos jardines de té de bosque" (Figura 3.B).

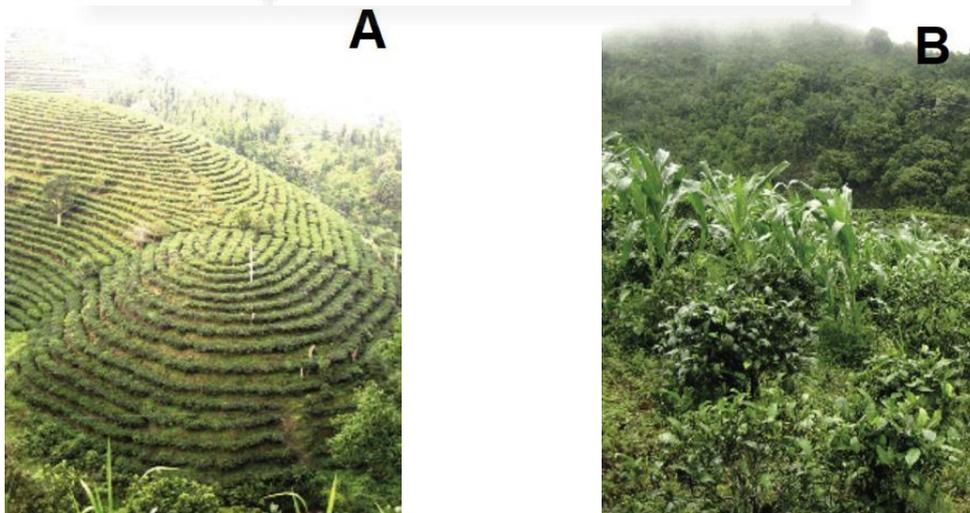


Figura 3. A: Jardines de té. B: Campos mixtos de té.

Obtención de la droga vegetal

Como ya se ha mencionado anteriormente, los granjeros realizan la recolección de forma manual y mecanizada mediante máquinas cortadoras, de las hojas jóvenes y en las yemas terminales, las cuales brotan de otoño a primavera, siendo esta última la época donde más se cosecha. Además, las hojas para la producción del té Pu-erh se marchitan y se fríen o bien se colocan en un horno rotatorio para eliminar la humedad y así desactivar las enzimas que se encuentran en las hojas. Este paso varía en duración de 2 a 10 minutos, a temperaturas alrededor de 250 °C. A continuación, se enrollan a mano para romper las paredes celulares obteniendo un rollo estrecho, y se extienden y secan al aire libre, bajo la luz solar directa o bajo la sombra para capturar el "sabor del sol" y evitar la degradación ⁽²⁾.

Composición química

El té rojo posee numerosos compuestos, muchos de los cuales se encuentran en común con el té verde. Los 10 compuestos más mayoritarios que encontramos en el té son: ácido gálico, teobromina, cafeína, epigallocatequin galato (EGCG), galocatequin galato (GCG), epicatequin galato (ECG), galocatequina, epigallocatequina (EGC), catequina y epicatequina (Figura 4) ⁽⁶⁾.

El proceso de fermentación que sufre el té para convertirse en té rojo modifica las concentraciones de dichos metabolitos, así como sus propiedades organolépticas.

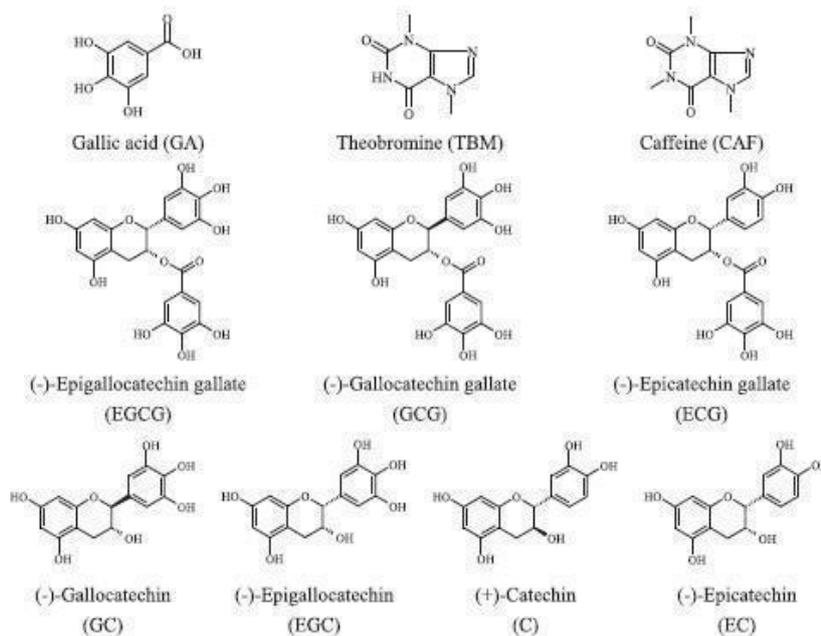


Figura 4. Los 10 principales metabolitos secundarios activos del té rojo ⁽⁶⁾.

Propiedades beneficiosas

En los diferentes estudios de Quesille-Villalobos AM et al (2013), Ping X et al (2014) y Meichun C et al (2017) aparecen muchas propiedades beneficiosas de té rojo. Dichas propiedades, antioxidantes, antiobesidad, hipolipemiantes e incluso potencial hipoglucemiante, son atribuidas al contenido de polisacáridos y fenoles. El poder reductor de los mismos se ven modificados con el tiempo por el proceso de fermentación al que se somete la droga vegetal ⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾. En nuestro caso se van a destacar 2 metabolitos secundarios activos, en primer lugar, la epigallocatequin galato (Figura 5.B), la cual destaca por su gran poder antioxidante, además, se piensa que es beneficioso para la resistencia a la insulina y para la mitigación del daño oxidativo óseo post-menopáusico ⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾ y la cafeína (Figura 5.A), la cual actúa en el sistema nervioso disminuyendo el cansancio y aumentando el estado de vigilia y a nivel cardiovascular, provocando una ligera vasodilatación periférica y efecto diurético ⁽⁴⁾.

Estas propiedades hacen al té, una bebida que, aparte de tener un sabor muy agradable, es un complemento alimenticio muy rico en nutrientes que puede aportar efectos beneficiosos para el cuerpo.

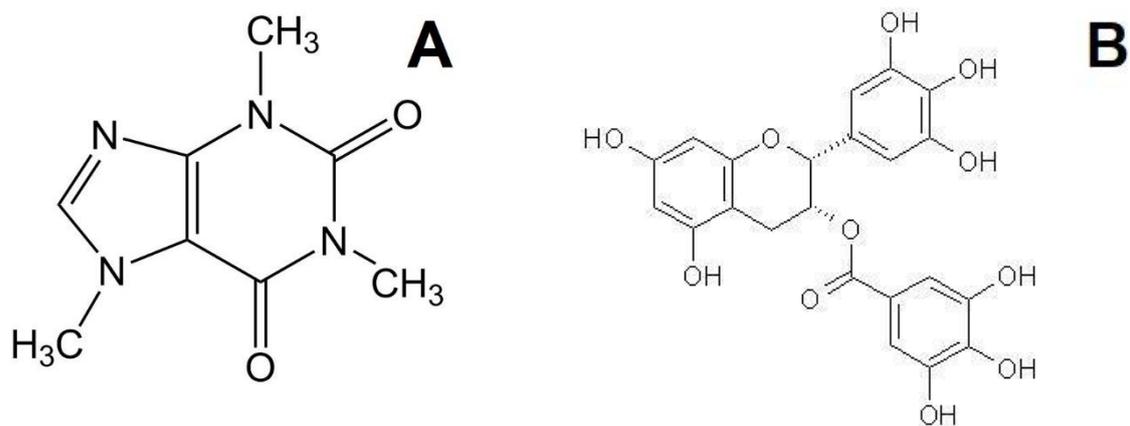


Figura 5. Estructura química de los metabolitos secundarios activos del té A: Cafeína. B: Epigallocatequin galato.

1.2 ASPECTOS REGULATORIOS

Desde un punto de vista regulatorio, en España, existe una norma, el Real Decreto 1354/1983 BOE núm.126, de 27 de mayo de 1983, que define, a efectos legales, lo que se entiende por té y fija, con carácter obligatorio, las normas de elaboración, comercialización y, en general, la ordenación jurídica de los productos. Será de aplicación, asimismo, a los productos importados. Dicho real decreto obliga a los elaboradores, envasadores comerciantes o importadores de té. En él, se define como té a las hojas jóvenes y a las yemas sanas y limpias, de las especies distintas del género botánico "*Thea*", las cuales tengan un buen estado de conservación y estén perfectamente preparadas para el consumo humano ⁽¹²⁾. Clasifica al té en:

- Té verde: Se trata del té sin proceso de fermentación y que no haya sufrido ningún proceso de fermentación.
- Té negro o té: Es el té elaborado por fermentación, aunque conservando sus mismos principios activos.
- Té semifermentado o té oolong: Es el té en cuya preparación se ha interrumpido el proceso de fermentación para obtener unas características organolépticas determinadas.

- Té descafeinado: Es el té, desprovisto de la mayor parte de su cafeína.
- Extracto soluble de té: Es el producto soluble en agua obtenido por parcial o total evaporación de la infusión de té.
- Té aromatizado: Son los tés definidos anteriormente, a los que se les adiciona sustancias aromatizantes autorizadas, plantas aromáticas o especias.

Tanto en esta clasificación como la de Bruneton (2001) ⁽⁴⁾ no se contempla el té rojo o Pu-Erh. Actualmente, no existe a nivel europeo ninguna regulación para la denominación de dicho té. Por ello, es interesante al menos, caracterizar y valorar qué metabolito/s secundario/s activo/s (MSA,s) poseen algunos preparados comerciales de venta directa al consumidor que, posteriormente puedan servir como base para futuras regulaciones por parte de las autoridades sanitarias.

2. OBJETIVOS

En base a los datos mencionados anteriormente los objetivos de este trabajo fin de grado son:

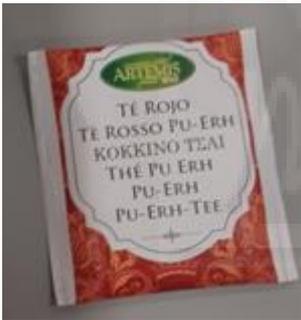
1. Caracterizar y cuantificar los metabolitos secundarios activos, cafeína (CAF) y epigallocatequin galato (EGCG) de la *Camellia sinensis var. assamica*, debido a sus propiedades saludables.
2. Estudiar la presencia de dichos metabolitos en tres preparados de té rojo comercializados en oficina de farmacia, supermercado y herboristería.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio, se visitaron diferentes establecimientos como las oficinas de farmacia (F), supermercados (S) y herboristerías (H) con el fin de encontrar productos cuyo contenido fuera exclusivamente té rojo. Inicialmente se pensó en presentaciones que tuvieran como forma farmacéutica cápsulas de gelatina dura por la comodidad en el manejo por parte del usuario en el uso diario. Sin embargo, no todos los establecimientos poseían dicha forma farmacéutica y en algunas, el té rojo se encontraba juntamente con otras sustancias que podrían interferir durante la extracción en la obtención de los metabolitos secundarios (CAF y EGCG) a estudiar.

Donde se obtuvo homogeneidad, tanto en presentación como ingredientes, fue en la forma farmacéutica de infusión. En la Tabla 1 se presenta el material de acondicionamiento primario, secundario y la composición de los diferentes preparados comerciales a estudiar.

Tabla 1. Características del material de acondicionamiento primario, secundario, y composición que aparece en el etiquetado F: Farmacia. H: Herboristería. S: Supermercado de los productos estudiados de té rojo.

Primario	Composición	Secundario
<p data-bbox="240 510 261 539">F</p> 	<p>Té Pu-Erh.</p>	
<p data-bbox="240 958 261 987">H</p> 	<p>Té rojo de agricultura ecológica.</p>	
<p data-bbox="240 1469 261 1498">S</p> 	<p>Té rojo (Pu-Erh).</p>	



El estudio de caracterización y valoración se realizó mediante el método de cromatografía líquida de alta eficacia (*high pressure liquid chromatography, HPLC*), tal y como realizan en nuestro artículo de referencia Tao Y et al (2015) ⁽⁶⁾. Dicho método, consiste en separar los componentes de una mezcla basándose en diferentes propiedades químicas, así como su polaridad y sin variaciones de presión, temperatura y otras variables dentro de la columna cromatográfica (Figura 6).

Figura 6. Cromatograma líquido de alta eficacia.

Los metabolitos secundarios activos elucidados fueron, la cafeína (CAF) y epigallocatequin galato (EGCG), los cuales suelen encontrarse en mayor concentración en el té rojo ⁽⁶⁾.

El procedimiento general fue de la siguiente manera: Se realizó una extracción sólido líquido de los productos comercializados en diferentes establecimientos (F, H y S). Simultáneamente, se obtuvo mediante patrones estandarizados de CAF y EGCG una recta patrón para poder comparar con los resultados de dichos productos. Finalmente, con los extractos de las muestras problema se inyectaron en el cromatógrafo para identificar y cuantificar los metabolitos secundarios activos a estudiar.

3.1. Fase de extracción:

En esta fase se procede a la extracción exhaustiva de los metabolitos secundarios activos (MSA's) mediante el siguiente proceso:

Se pesan aproximadamente 0,5000g de cada muestra por duplicado. No es necesario que la cantidad sea exacta para dicho método porque se considera que no varía significativamente la concentración máxima de metabolitos secundarios activos que se quieren extraer (Tabla 2).

Tabla 2. Pesos obtenidos de las diferentes muestras a analizar

Muestras	Farmacia (F)		Supermercado (S)		Herboristería (H)	
	I	II	I	II	I	II
Peso (g)	0,51083	0,50113	0,51753	0,50157	0,51056	0,50003

A continuación, se añaden aproximadamente 30 ml de agua destilada en cada uno y son llevados al baño maría (T= 100 °C) durante 10 minutos. Este proceso tuvo lugar 3 veces con el fin de extraer la máxima concentración de metabolitos activos secundarios posibles.

Posteriormente, se centrifugan a 1300 r.p.m durante 5 minutos con el fin hacer sedimentar los componentes sólidos del té y queden mejor purificadas las muestras problema, para así poderlos decantar con mayor facilidad.

Finalmente, las muestras se introducen en 6 matraces aforados de 100 ml, enrasando con agua destilada (Figura 7). Con este proceso, se consigue agotar exhaustivamente la droga vegetal.



Figura 7. Matraces de 100 ml tras la tercera extracción de té Pu-Erh de los diferentes preparados comerciales.



Para poder ser inyectadas en el cromatógrafo, las muestras son envasadas en viales de 1,5 ml que, previamente, se pasan por un filtro de 0.45 μm de PTFE (nylon) como se observa en la Figura 8.

Figura 8. Filtración y envasado mediante filtro de PTFE de las muestras.

3.2. Preparación fase móvil

Para obtener buenos resultados durante la separación, se debe preparar la fase móvil, la cual consiste en H_3PO_4 0.04% y acetonitrilo (ya preparado). El agua acidificada (H_3PO_4 0.04%) servirá también para realizar la recta de calibrado descrita posteriormente. El procedimiento para la preparación del agua acidificada fue el siguiente:

En primer lugar, se pesan en un matraz Erlenmeyer de 2000 ml 0.8 g de H_3PO_4 (0.85 g reales), se enrasa con agua destilada hasta los 2000 ml y se pone en agitación hasta que se haya homogeneizado la mezcla.



A continuación, se filtra al vacío por un filtro de $0.2\ \mu\text{m}$ para eliminar las impurezas que pudiera contener, según se muestra en la figura 9.

Figura 9. Montaje de filtrado al vacío.

Una vez se ha filtrado el agua acidificada para la fase móvil, ya está lista para ser incorporada al cromatógrafo.

3.3. Preparación recta patrón de cafeína y epigalocatequin galato

Para conocer las concentraciones de metabolitos problema, previamente se necesita una recta patrón con valores de referencia de cafeína (CAF) y epigalocatequin galato (EGCG) y poder así, comparar los valores con las muestras a estudio. La metodología fue de la siguiente:

Primero, se trasvasan 600 ml del agua acidificada preparada anteriormente, a una vaso de precipitados de 1L y se le añaden 400 ml de metanol, con el fin de obtener la fase de extracción de la recta de calibrado, la cual consiste en 60% de agua acidificada y un 40% de metanol. Se añade metanol con el fin de facilitar la solubilización de la cafeína y la EGCG puras que vamos a utilizar.

Se requiere una solución patrón de 200 µg/ml (ppm) formada por cafeína y EGCG. En primer lugar, se pesan 20 mg de cafeína (Sigma-Aldrich 99.95% riqueza) y 21,6 mg de EGCG (Sigma-Aldrich 92.4% riqueza) (se pesa más cantidad de ésta porque su riqueza es menor) y se añade a un matraz aforado de 100 ml. A continuación, se enrasa con la fase de extracción de la muestra patrón (agua acidificada + metanol) anteriormente preparada, tras llevarlo al ultrasonido durante 10 minutos para diluir mejor los componentes.

La solución patrón se diluye en diferentes concentraciones para la obtención de la recta según la Tabla 3 adjunta:

Tabla 3. Diluciones de la recta patrón con cafeína y epigallocatequin galato.

ppm (µg/ml)	Volumen patrón (ml)	Volumen fase de extracción (ml)
200	100	0
100	5	10
50	5	20
20	5	90
10	5	100
6	3	100

Por último, para la solución de 3 ppm se cogen 5 ml de la solución de 6 ppm y se le añade 10 ml de fase de extracción de la muestra patrón.

En la Figura 10 se muestran las disoluciones patrón a diferentes concentraciones. Posteriormente, se filtran a unos viales como los mencionados anteriormente, a través de un filtro de PTFE (Figura 8) con el fin de eliminar impurezas. Estos viales son los recipientes que se introducen en el cromatógrafo donde se han realizado las medidas.

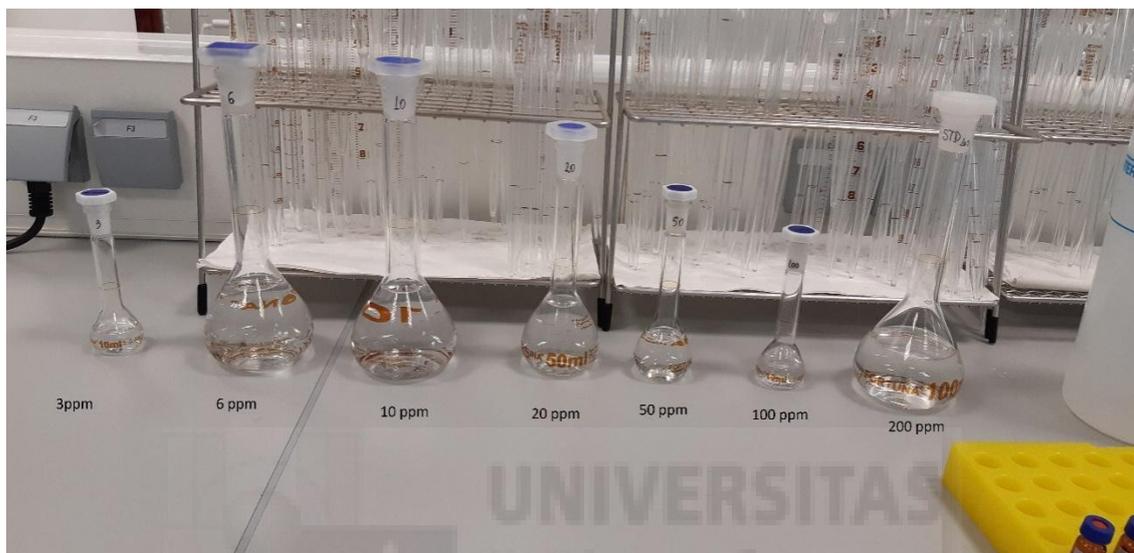


Figura 10. Disoluciones patrón: 3,6,10,20,50,100 y 200 ppm de izquierda a derecha respectivamente.

3.4. Inyección de muestras

Una vez se han realizado los anteriores pasos, se procede a realizar la cromatografía líquida de alta eficacia:

- FASE MÓVIL → Fase acuosa: Disolución H_3PO_4 0.04% + Fase orgánica: Acetonitrilo.
- FASE ESTACIONARIA → Columna de C18.

4. RESULTADOS

Una vez realizada la separación cromatográfica y los cálculos pertinentes, en la Tabla 4 se muestran los resultados obtenidos de las concentraciones de cafeína y epigallocatequin galato en las muestras estudiadas de oficina de farmacia, supermercado y herboristería. La concentración de cafeína obtenida en el preparado de farmacia ($17,30 \pm 0,22$ mg/g) difiere considerablemente de los preparados de supermercado y herboristería ($27,37 \pm 0,39$ mg/g y $37,55 \pm 0,07$ mg/g respectivamente).

Tabla 4. Concentraciones de cafeína y epigallocatequin galato en mg/g de los diferentes productos comercializados en herboristería, farmacia y supermercado

	CAF (mg/g)	EGCG (mg/g)
H	$37,55 \pm 0,07$	$0,13 \pm 0,06$
F	$17,30 \pm 0,22$	$0,64 \pm 0,04$
S	$27,37 \pm 0,39$	$1,40 \pm 0,01$

Asimismo, la concentración de EGCG obtenida en la muestra de supermercado ($1,40 \pm 0,01$ mg/g) es mayor que la de los valores obtenidos de la herboristería y la farmacia ($0,13 \pm 0,06$ mg/g y $0,64 \pm 0,04$ mg/g respectivamente).

En la Figura 11, se muestra el cromatograma de los patrones de CAF y EGCG. El tiempo de retención 11,119 minutos corresponde a la cafeína y el 17,648 minutos al epigallocatequin galato.

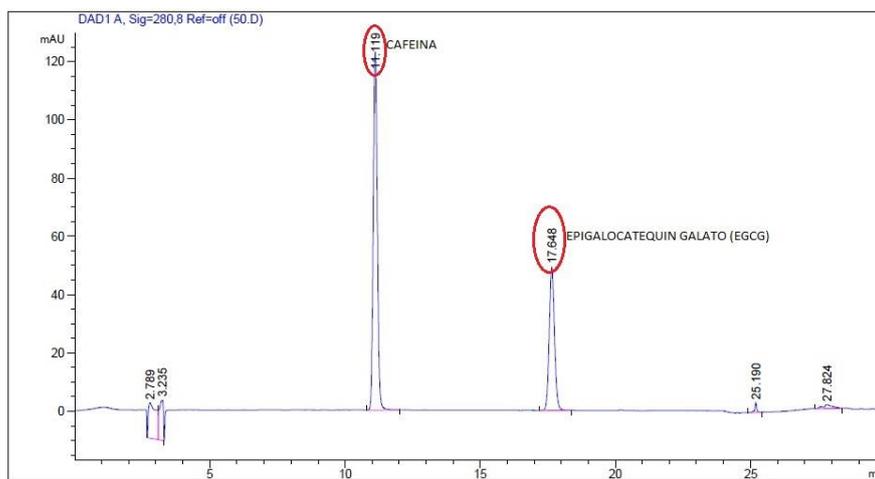
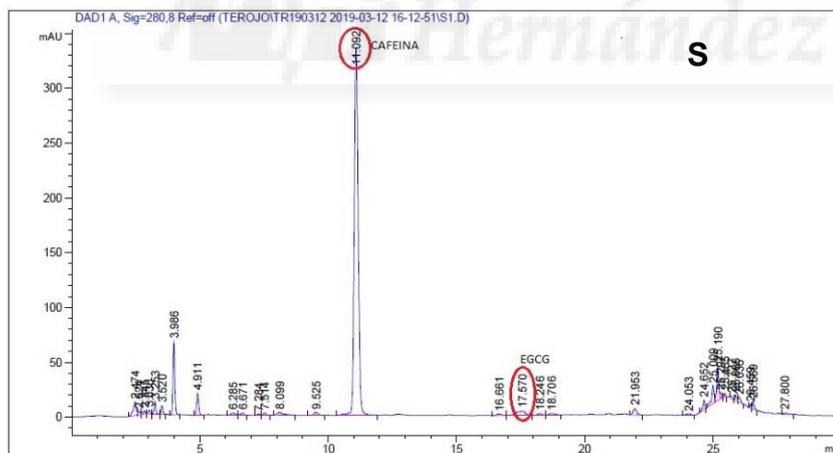
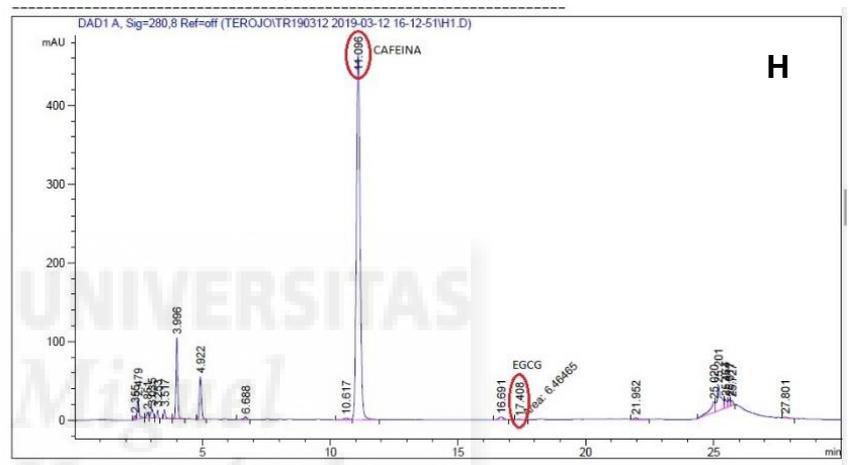
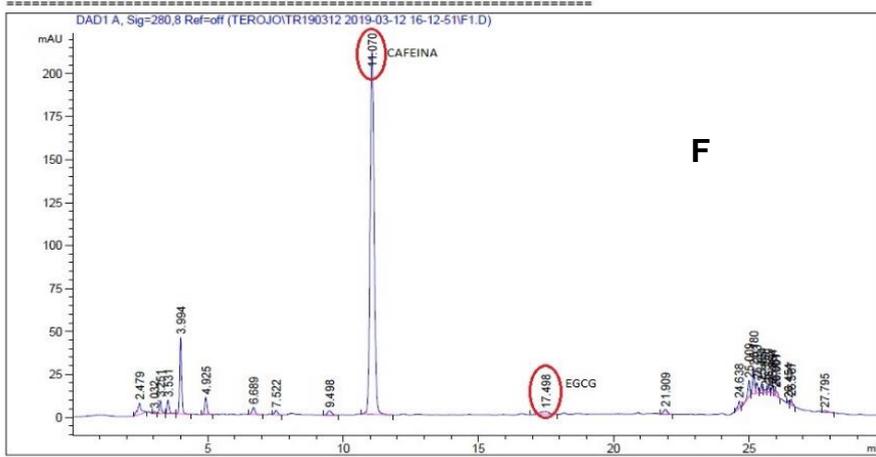


Figura 11. Cromatograma correspondiente a la recta patrón de cafeína y EGCG.

En la Figura 12 se observan los cromatogramas en los tres preparados comerciales (F, H y S). Como era de esperar, presentan un pico y tiempo de retención similar a los patrones. Para la CAF, el preparado de Farmacia lo presenta a los 11,070 minutos, el del Supermercado a los 11,096, y el de la Herboristería a los 11,092 para la cafeína. En el otro MSA, la EGCG, se presentan los picos a los 17,498 minutos en el caso de la Farmacia, a los 17,408 en el caso de la Herboristería y a los 17,570 en la muestra del Supermercado.



5. DISCUSIÓN

Actualmente, no existe ninguna regulación técnico-sanitaria del té rojo (Té Pu-Erh) por parte de las autoridades sanitarias. Por lo tanto, resulta complicado establecer unos valores estandarizados en cuanto a composición y/o seguridad de los diferentes componentes activos. Tao Y et al (2015) comparan los 10 metabolitos secundarios activos de distintas variedades té: verde, oolong, rojo etc. En dicho estudio, destaca la existencia de dos tipos de té rojo en función del proceso de maduración. Una variedad, es el té que ha sufrido un proceso de post-fermentación microbiana en unas condiciones de temperatura (50 °C) y humedad altas, el cual lo denomina “madurado” y otra variedad llamado “envejecido”, el cual, pasa por un largo periodo de maduración natural durante su almacenamiento ⁽⁶⁾ (Tabla 5).

Tabla 5. Concentraciones de algunos metabolitos activos mayoritarios de té Pu-Erh. ⁽⁶⁾

COMPONENTES	TÉ PU-ERH ENVEJECIDO (mg/g)	TÉ PU-ERH MADURADO (mg/g)
CAFEÍNA	33,94 ± 3,68	31,78 ± 4,94
EPIGALOCATEQUIN GALATO	28,19 ± 6,50	1,43 ± 1,74

En la Tabla 6 se muestran los valores de concentración de las diferentes infusiones (H, F y S) comparados con los valores de las concentraciones de Tao Y et al (2015). Los resultados se correlacionan con las infusiones comercializados en la herboristería y supermercado ya que son valores similares con la variedad de “madurado”, con lo que, podríamos deducir, que dichos productos se presentan al mercado como un té rojo “madurado”. Sin embargo, en la infusión del té rojo comercializado en la oficina de farmacia los valores obtenidos resultan aproximadamente un 52% menos de CAF y 42% de EGCG. Con los datos obtenidos,

resulta posible que este último no se corresponda con té Pu-Erh o cabría la posibilidad de que durante el proceso (maduración o envejecimiento) al que ha sido sometido no se haya realizado en condiciones óptimas.

Tabla 6. Resultados de CAF Y EGCG obtenidos de los diferentes preparados comerciales estudiados comparados con el resultado de Tao Y et al (2015) ⁽⁶⁾.

	Te Pu-Erh madurado ⁽⁶⁾	Farmacia	Supermercado	Herboristería
CAF (mg/g)	31,78 ± 4,94	17,30 ± 0,22	27,37 ± 0,39	37,55 ± 0,07
EGCG (mg/g)	1,43 ± 1,74	0,64 ± 0,04	1,40 ± 0,01	0,13 ± 0,06

En cuanto a las infusiones comercializadas en el supermercado y herboristería, ambas, poseen concentraciones de cafeína próximas a las de referencia, pero, entre ellas existe una diferencia de concentración de 10 mg/g aproximadamente. La única diferencia entre ellos es que el té rojo de herboristería proviene de la agricultura ecológica y el de supermercado no. Desde un punto de vista químico deberían tener valores similares, pero, el cultivo ecológico utiliza menos fertilizantes que podrían dar lugar a esta diferencia de valores. En cuanto a las concentraciones de EGCG, el valor de la infusión comercializada en el supermercado es coincidente con el de Tao Y et al (2015).

El acondicionamiento primario en las infusiones de F y H son iguales, monodosis envueltas en material plástico mientras que, la infusión S carece de dicha protección, presentando mejores valores de concentración que el resto. Existe demasiada disparidad de valores de concentración entre las infusiones y el no tener valores de referencia resulta complicado afianzar alguna conclusión.

En la revisión que realiza Hai-peng LV et al (2013), expone que la concentración de CAF es mayor cuando el té rojo sufre un proceso de maduración y que la concentración de EGCG es despreciable ⁽¹³⁾ (Tabla 7). Dichos resultados no son

coincidentes con nuestro estudio pues, la CAF presenta un 5% y los preparados comerciales varían entre un 2 y 4 %. También, resulta poco convincente que desprecien la concentración de EGCG sólo porque disminuya drásticamente su concentración de un tipo de té al otro. El motivo que arguye es la no detección mediante cromatografía líquida de alta resolución debido a esta gran disminución en la concentración. Obviamente, resulta incoherente pues tanto Tao Y et al (2015), como los valores obtenidos en este estudio, son detectables y salvo el preparado comercializado en oficina de farmacia los valores de concentración son similares.

Tabla 7. Tabla obtenida del artículo de Hai-peng LV et al (2013) donde se muestran las concentraciones en porcentaje de los metabolitos del té rojo ⁽¹³⁾.

Chemical constituents	Sun-dried green tea	Pu-erh ripen tea	Reference
Insoluble polyphenols	3.52%	6.38%	Luo et al., 1998
Tea polyphenols	29.73%	9.40%	
Total catechins	18.31%	3.62%	
EGC	2.15%	/	
C	0.49%	0.33%	
EC	1.19%	0.36%	
EGCG	4.04%	/	
ECC	11.31%	/	
GC		0.47%	Liang et al., 2005
GA	0.10%	1.77%	She et al., 2005
TF	0.14%	0.03%	Luo et al., 1998
TR	4.35%	0.20%	
TB	2.90%	7.85%	
Amino acid	1.80%	0.66%	
Theanine	0.40%	0.08%	She et al., 2005
GABA	13.0 mg/100 g	3.0 mg/100 g	Zhao, Chen, et al, 2011
Soluble sugar	5.13%	3.86%	Luo et al., 1998
Polysaccharides	0.35%	2.40%	Hou et al., 2009
Water-extractable substances	45.0%	41.0%	Luo et al., 1998
Caffeine	4.19%	5.17%	Tian et al., 2011
Flavonoids	0.89%	0.96%	Zhang et al., 2008
Kaempferol	1.26 mg/g	0.48 mg/g	Li et al., 2012
Quercetin	4.37 mg/g	1.31 mg/g	
Myricetin	0.63 mg/g	0.33 mg/g	
Flavonol glycosides	15.71 mg/g	5.32 mg/g	
Lovastin	/	139.26 ng/g	Yang & Hwang, 2006
DPPH scavenging activity	87.90%	80.94%	Zhang et al., 2012
Scavenging activity of superoxide anion free	135.1%	45.9%	

Por otra parte, la cafeína, posee efectos estimulantes, pero, si se excede la dosis recomendada, puede llevar a producir efectos negativos en el organismo, sobre todo, está contraindicada en el embarazo y en algunas patologías cardíacas como la hipertensión o las arritmias. Las embarazadas tardan hasta 18h en eliminar el efecto de la cafeína, a diferencia de las 4-6h que tarda un individuo normal, con lo que, este efecto estimula la liberación de ácido en el estómago provocando molestias estomacales. Además, la cafeína cruza fácilmente la barrera placentaria, influenciando en el desarrollo y el crecimiento de las células del feto ⁽¹⁴⁾.

La EFSA (European Food Safety Authority) ⁽¹⁵⁾ en 2015 publicó un estudio científico sobre la seguridad de la cafeína en el que recomienda una dosis máxima diaria de cafeína en embarazadas de 200 mg (Tabla 8), valor inferior al consumo de infusión de té rojo de cualquiera de los preparados comercializados estudiados. Sin embargo, el consumo de una(s) taza(s) de café (90 mg de CAF) o una(s) bebida(s) energética(s) (80 mg de CAF) o un(os) refresco(os) de 335 ml con cafeína (40 mg de CAF) o una(s) porción(es) de chocolate 50 g (30 mg de CAF), etc. Junto a una o varias infusiones de té rojo, podría dar lugar a problemas de salud no solamente para el colectivo específico de embarazadas, sino también para personas con alguna patología cardíaca. Por lo tanto, sería recomendable proponer una legislación que afecte al té rojo (Pu-Erh) donde, se caracterice al menos la cantidad de cafeína que incorporan los preparados comercializados.

Tabla 8. Tabla extraída del artículo de la EFSA sobre el contenido de cafeína del té. Estos son datos para cualquier fuente de cafeína, incluso bebidas energéticas, y en combinación con alcohol (consumo de hasta 0,65 g/kg de peso) ⁽¹⁵⁾.

Subgrupo	Dosis única	Dosis máxima diaria
Adultos	200 mg	400 mg
Embarazadas	-	200mg
Lactantes	200 mg	200 mg
Niños y adolescentes	3 mg/kg de peso	3 mg/kg de peso

Limitaciones del estudio

En este trabajo solo se han valorado 3 preparados comerciales de 3 marcas de té rojo de los diferentes establecimientos con diferentes lotes. Un mayor tamaño muestral podría ayudar a obtener resultados significativos. Los estudios consultados presentan valores contradictorios posiblemente debido a los diferentes métodos de extracción y condiciones cromatográficas. Nuestros valores se realizaron siguiendo parte de la metodología de Tao Y et al (2015) ⁽⁶⁾, cambiando el ácido fórmico por ácido fosfórico, el cual es menos tóxico en las condiciones cromatográficas, y aplicando la Farmacopea Europea 9.4. Por otro lado, Hai-peng LV et al (2013) ⁽¹³⁾ no especifica ni la metodología de extracción ni las condiciones cromatográficas.

6. CONCLUSIONES

Ante los resultados obtenidos en este trabajo se concluye que:

Las infusiones analizadas que se comercializan en el supermercado (S), herboristería (H) y oficina de farmacia (F) contienen dos de los metabolitos secundarios activos del té rojo (Pu-Erh), cafeína (CAF) y epigallocatequin galato (EGCG).

El té rojo comercializado en la oficina de farmacia presenta los valores de concentración de cafeína (CAF) más bajos respecto al resto de productos comercializados en supermercado y herboristería. Mientras que el té rojo comercializado en la herboristería posee el valor de la concentración en epigallocatequin galato (EGCG) más bajo respecto al resto de productos.

Se requiere una actualización y ampliación de la regulación legislativa por parte de las autoridades sanitarias, bien de la AECOSAN (Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición) o bien de la AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios) de los preparados comerciales de *Camellia sinensis* y sus variedades.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Casa Asia. Barcelona: Consorcio Casa Asia [citado 29 de enero de 2019]. Historia del té [una pantalla]. <https://www.casaasia.es/salud/te/esp/index.html> 29/01/2019
2. Victor R. Preedy. Tea in Health and Disease Prevention. 1ª edición. London, UK: Academic Press;2012. ISBN: 978-0-12-384937-3. DOI: 10.1016/B978-0-12-384937-3.00001-X.
3. Luciano Pittaro. Análisis del mercado del té [Trabajo final de máster]. Argentina: Universidad Torcuacuato Di Tella; 2016.
4. Bruneton J. Farmacognosia, fitoterapia, plantas medicinales. 2ª ed. Zaragoza: Acribia; 2001.
5. Vailima [sede Web]. Valima; 16 de junio de 2011 [14 de febrero de 2019]. Historia del Pu erh (té rojo) [una pantalla]. <http://blog.vailima.es/2011/06/historia-del-pu-erh-te-rojo.html> 14/02/2019
6. Tao Y, Lin Z, Wan-Ling P, Xi-Cheng H, Hong-Li C, Jie L, et al. Comparison of ten major constituents in seven types of processed tea using HPLC-DAD-MS followed by principal component and hierarchical cluster analysis. *Lebenson Wiss Technol.* 2015;62:194-201.
7. Quesille-Villalobos A.M, Saavedra Torrico J, GálvezRanilla L. Phenolic compounds, antioxidant capacity, and in vitro α -amylase inhibitory potential of tea infusions (*Camellia sinensis*) commercialized in Chile. *CYTA J Food.* 2013;11:60-7.
8. Meichun C, Yujing Z, Haifeng Z, Jieping W, Xiaogang L, Zheng C, et al. Phenolic compounds and the biological effects of Pu-erh teas with long-term storage. *Int J Food Prop.* 2017;20:1715-28.
9. Ping X, Jing W, Yi Z, Hao C, Yuefei W. Physicochemical characterization of puerh tea polysaccharides and their antioxidant and α -glycosidase inhibition. *J Funct Foods.* 2014;6:545-54.
10. Hai-Ming Z, Cheng-Fang W, Sheng-Min S, Gang-Li W, Peng Liu, Zi-Mu L, et al. Antioxidant Phenolic Compounds from Pu-erh Tea. *Molecules.* 2012;17:14037-45.

11. Edwards S, da Costa Rocha I, Williamson E, Heinrich M. *Phytopharmacy: an Evidence-Based Guide to Herbal Medicine Products*. UK: Wiley Blackwell;2015.
12. Real Decreto 1354/1983, de 27 de abril, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico - Sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de té y derivados.
13. Hai-peng LV, Ying-jun Z, Zhi L, Yue-rong L. Processing and chemical constituents of Pu-erh tea: A review. *Food Res Int*. 2013;53: 608-18.
14. Guiainfantil.com [Sede Web]. Madrid: Guía infantil.com; 13 ene 2016 [acceso 21 mayo 2019]. Los efectos de la cafeína en el embarazo [una pantalla]. <https://www.guiainfantil.com/los-efectos-de-la-cafeina-durante-el-embarazo.htm>
15. European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the safety of caffeine. *EFSA Journal*. 2015;13(5):4102.

