

Determinación de la capacidad antimicrobiana del té verde (*Camellia sinensis*) contra los agentes potencialmente patógenos *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger*

Andréina Mora, Jonathan Parra, José M. Chaverri, María Laura Arias.

Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales (CIET) y Facultad de Microbiología,
Universidad de Costa Rica. Instituto de Investigaciones Farmacéuticas (INIFAR),
Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica

RESUMEN. En la literatura científica mundial, existen muchos estudios que demuestran la capacidad antimicrobiana de diferentes hierbas, incluyendo el té verde. No obstante, muchos resultados son divergentes o no comparables. También, existen en el mercado muchas formulaciones de té verde, de las cuales hay poca información respecto a su actividad. En el presente trabajo se determinó el potencial efecto antimicrobiano contra cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 50 muestras diferentes de té verde seco y en infusión al 10%, distribuidas de manera comercial en Costa Rica. Se contrastó su actividad con la del té verde (*Camellia sinensis*) de origen chino. Se evaluaron diferentes solventes para preparar extractos ricos en polifenoles a partir del té verde. Los fenoles totales se determinaron mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu usando el ácido gálico como material de referencia. La evaluación de la capacidad antimicrobiana del extracto y las infusiones de té verde se llevó a cabo mediante el método de microplatos descrito por Breukink (2006). El etanol fue el solvente que mostró mayor eficiencia. No hubo efecto antimicrobiano de las diferentes muestras contra los microorganismos evaluados, excepto con *Listeria monocytogenes*, donde se evidenció un efecto inhibitorio en las concentraciones de 10,5 y 1,05 mg/mL de los extractos en el 70% de marcas analizadas y en el control. Ninguna de las infusiones evaluadas, incluyendo la del té control mostró efecto inhibitorio contra esta bacteria.

Palabras clave: Té verde, acción antimicrobiana, polifenoles

SUMMARY. Determination of the antimicrobial capacity of green tea (*Camellia sinensis*) against the potentially pathogenic microorganisms *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Candida albicans* and *Aspergillus niger*. Many studies can be found in scientific literature demonstrating the antimicrobial capacity of different herbs, including green tea. Nevertheless, many results are divergent or cannot be compared. Several green tea formulations may be found in market, but there is scarce or non-information about its activity. In this work, the potential antimicrobial effect of 50 samples of dry green tea and in 10% infusion against *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* and *Aspergillus niger* distributed in the metropolitan area of Costa Rica, was determined. This activity was compared with the effect produced by Chinese origin green tea (*Camellia sinensis*). Different solvents were evaluated for preparing polyphenol enriched extracts from green tea samples. Total phenols were determined using the Folin-Ciocalteu spectrophotometric methodology, using gallic acid as reference. Antimicrobial activity of green tea extracts and infusions was evaluated using the microplate methodology described by Breukink (2006). Ethanol was the most efficient solvent used for the polyphenol extractions. There was no antimicrobial effect of the different green tea extracts and infusions against the microorganisms evaluated, except for *Listeria monocytogenes*, where the extracts of 70% of samples analyzed and the control showed an inhibitory effect in the 10,5 mg/mL and 1,05 mg/L concentrations. None of the infusions tested, including the control, showed any effect against this bacteria.

Key words: Green tea, antimicrobial activity, polyphenols

INTRODUCCIÓN.

Las sustancias naturales han sido utilizadas, desde tiempos ancestrales, para el control de agentes de importancia clínica en Salud Pública, así como para pre-

venir el deterioro de productos alimenticios o controlar la presencia de microorganismos patógenos en estos. Inicialmente, los productos naturales, incluyendo especias, plantas, hierbas y productos afines eran usados

ampliamente con este fin. No obstante, estos fueron sustituidos paulatinamente por los antibióticos (1,2). A finales del siglo XX se empezó a asociar el uso de estos últimos con efectos adversos, incluyendo la aparición y dispersión de cepas resistentes, razón por la cual los productos naturales recobraron fuerza como uso alternativo o complementario en el control de diversas enfermedades, con el propósito de mejorar y disminuir el riesgo para la salud (3,4).

El té verde ha sido conocido, tradicionalmente, por sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes (1). Los principios bioactivos de éste incluyen bases tipo xantina y polifenoles (flavonoides, catecoles, taninos catéquicos y ácidos fenólicos) (5) considerándose las catequinas como los agentes de mayor importancia y actividad (6).

En la literatura científica mundial, existen muchos estudios que demuestran la actividad antimicrobiana de diferentes hierbas, incluyendo el té verde, contra agentes microbianos de interés en la salud pública (7). Ejemplos de ellos son los estudios de Bancirova (8) quien comparó la actividad ocasionada por infusiones de té no fermentados (té verde) y fermentados (té negro) sobre *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, concluyendo que no existen diferencias significativas entre ambos. De manera contrastante, Almajano et al. (9) al analizar las infusiones de varios tipos de té contra *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Lactobacillus acidophilus*, *Candida albicans*, establecieron que la mayor actividad antimicrobiana era provocada por los té no fermentados relacionándolo con una concentración superior de polifenoles en las muestras no fermentadas.

Por otro lado, Tzung et al. (3) demostraron la actividad bactericida del té verde contra *Streptococcus sanguinis*, *S. mutans* y *S. sobrinus*). De la misma manera, Yoda et al. (10) reportan una mayor susceptibilidad por parte de bacterias Gram positivas en comparación con Gram negativos al extracto del té verde.

En cuanto a la acción del té verde como conservador de alimentos, Kumudavally et al. (11) evaluaron al extracto de té verde contra *S. aureus*, *E. coli* y *Pseudomonas sp* en carne fresca, demostrando un efecto bacteriostático sobre estas cepas, concluyendo que el uso de té verde podría extender la vida útil de este producto hasta por 4 días sin afectar sus características físicas, químicas y parámetros organolépticos. De la

misma manera, Chiu et al. (12) reportan que los extractos de té verde tienen un efecto inhibitorio sobre bacterias Gram positivas asociadas a alimentos, incluyendo *L. monocytogenes*, *B. cereus* y *S. aureus*.

Los diversos estudios realizados ponen de manifiesto el hecho de que el té verde contiene sustancias que le confieren características antimicrobianas de potencial uso a nivel terapéutico y de preservación de alimentos, no obstante, muchos resultados son divergentes y no comparables. Por otro lado, son muchas las formulaciones de té verde existentes en el mercado, de las cuales hay poca información con respecto a su actividad. Dado lo anterior, se pretendió con este trabajo determinar el potencial efecto antimicrobiano de los extractos de diversas marcas de té verde seco y en infusión al 10%, distribuidas de manera comercial en el área metropolitana de Costa Rica contra cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger* y contrastarlo con el efecto dado el té verde (*Camellia sinensis*) de origen chino, considerado estándar de comparación.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Adquisición de las muestras de té verde

Se adquirieron en diferentes supermercados, mini-súper y tiendas de venta natural (Macrobióticas) ubicados en el Área Metropolitana de San José, Costa Rica. Al azar se seleccionaron 5 lotes de 10 marcas diferentes de té verde comercial, los cuales fueron transportadas a temperatura ambiente al Laboratorio de Microbiología de Alimentos, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica para su posterior análisis.

Las hojas de *Camellia sinensis* (Estándar de Comparación) cultivadas fueron adquiridas en la finca "Arcas de las Hierbas" ubicada en Santa Bárbara de Heredia, Costa Rica (USJ-101844).

Extracción de las muestras de té verde

Se prepararon extractos ricos en polifenoles del té verde con extracción en caliente y reflujo utilizando diferentes disolventes para identificar aquel que extrajera mayor cantidad de polifenoles. Se utilizaron metanol, acetona y etanol, todos al 50% v/v en agua, de acuerdo la metodología descrita por Perva Uzunalic (6). Brevemente, se pesaron 10 g de las muestras de té verde, y se realizó la extracción con 100 ml de cada uno de los solventes. Se calentó a temperatura de ebullición durante 2 horas. Luego de este tiempo, se fil-

traron las muestras y se eliminó el disolvente por rota evaporación. El material seco fue almacenado en viales estériles.

Cuantificación de los polifenoles totales presentes en las muestras de té verde

Los fenoles totales se determinaron mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. Se utilizó el ácido gálico como material de referencia. Brevemente, se realizó una curva de referencia con ácido gálico, utilizando concentraciones de 1 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$ y 150 $\mu\text{g/mL}$. La prueba se realizó utilizando un microlector de placas de Biotek Synergy HT, y una placa de 96 pocillos. A cada pocillo se le agregó 100 μL de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20%, 50 μL de la dilución del extracto y 50 μL de reactivo Folin-Ciocalteu 0,5 N. Se realizó la lectura a una longitud de onda de 750 nm, después de un tiempo de incubación de 30 minutos a temperatura ambiente.

El análisis estadístico del contenido de fenoles totales se realizó con el programa IBM® SPSS® Statistics v.19 (IBM Company© 2010), aplicando una Análisis de Varianza (ANDEVA) con valor $\alpha = 0.05$.

Preparación de la infusión de las muestras de té verde

Se siguió el método descrito por el fabricante. Brevemente, se procedió a medir un volumen total de 250 mL de agua destilada en un Erlenmeyer estéril, el cual fue llevado al punto de ebullición, luego de lo cual se procedió a agregar una bolsita de la muestra de té verde dejándola en reposo por un tiempo de 3 minutos. Transcurrido este tiempo se sacó la bolsita de té. A partir de esta infusión inicial se procedió a preparar diluciones seriadas decimales hasta 10^{-4} .

Determinación de la capacidad antimicrobiana de las muestras de té verde

La evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto y las infusiones de té verde se llevó a cabo mediante el método en microplatos descrito por Breukink (2010) (13).

Se utilizó una concentración 10 mg/ml del extracto, concentración escogida con base en el trabajo de Tzung Hsun et al. (3). A partir de esta concentración se realizaron diluciones seriadas decimales hasta una dilución de 10^{-4} utilizando caldo Muller Hilton.

La evaluación de la capacidad antimicrobiana de las infusiones de las muestras de té verde, se realizó siguiendo la misma metodología. A partir de la infusión inicial preparada tal y como se describió anterior-

mente, también se prepararon diluciones decimales seriadas hasta 10^{-4} utilizando caldo Müller Hilton.

El extracto y la infusión del té verde fueron evaluados contra los siguientes microorganismos: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella enteritis* (ATCC 13076), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19116), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Apergillus niger* (Micoteca: UCR) y *Candida albicans* (ATCC 10231). Cada uno procedentes de cultivos de 24 horas y llevados a una turbidez ajustada al standard de McFarland 0,5.

El inóculo de *C. albicans* se preparó a partir de un cultivo en agar glucosado de Sabouraud de 24 horas de incubación. Se realizó una suspensión inicial de las levaduras en 5 ml de solución salina estéril y se procedió a ajustar su densidad celular también con solución salina estéril contra un estándar de McFarland de 0,5.

El inóculo estandarizado de *A. niger* se preparó a partir de tubos inclinados de agar Sabouraud glucosado, inoculados con el hongo e incubados por 7 días a 30°C . Para la obtención de las conidias, se procedió a agregar 1 ml de solución salina estéril (0,85%) al tubo, y las conidias fueron desprendidas pasando un aplicador estéril sobre la superficie del cultivo. La suspensión de las esporas fue transferida con una pipeta Pasteur estéril a un tubo cónico estéril y el volumen se ajustó a 5 ml con solución salina estéril. Las esporas en suspensión fueron contadas utilizando una Cámara de Neubauer y se ajustó su concentración al Standard de McFarland 0,5 utilizando solución salina estéril.

Para la determinación de la actividad antimicrobiana, se procedió a agregar en cada pocillo de la placa 100 μL del cultivo bacteriano a evaluar así como 100 μL de la dilución seriada de la muestra de té verde a evaluar. Las placas correspondientes a las bacterias y levaduras fueron incubadas a 35°C por 18-24 h, y las de *A. niger* por 5 días a temperatura ambiente. Así mismo, se evaluaron controles positivos de los microorganismos y controles negativos de los medios y de la muestra.

La lectura de la prueba se realizó de manera cualitativa, calificando en cruces el crecimiento y comportamiento de los microorganismos según se detalla en el Tabla 1.

RESULTADOS

Extracción de las muestras de té verde y su contenido de fenoles totales.

TABLA 1. Criterios para evaluar el efecto antimicrobiano del té verde contra los agentes potencialmente patógenos.

Resultado de crecimiento	Criterio de evaluación
Negativo (-)	En la muestra no hay crecimiento del agente potencialmente patógeno. Hay efecto antimicrobiano
Positivo más /menos (±)	En la muestra hay un menor crecimiento con respecto al control positivo. Presencia de efecto inhibitorio.
Positivo (+)	En la muestra hay igual o mayor crecimiento con respecto al control positivo. No hay efecto antimicrobiano.

TABLA 2. Determinación de los fenoles totales en diferentes extractos de té verde (*Camellia sinensis*).

Solvente (50%v/v) en agua	Equivalentes de ácido gálico en el extracto (µg EAG/m)	Contenido de fenoles totales (g EAG/100g)
Metanol	45,72 ± 0,02	18,1 ± 0,4
Acetona	59,59 ± 0,01	23,4 ± 0,2
Etanol	91,14 ± 0,25	33,4 ± 8,3

El etanol fue el solvente que mostró mayor eficiencia en la extracción de polifenoles a partir de las muestras de té verde, tal y como se muestra en el Tabla 2. Utilizando la extracción con etanol al 50% v/v se cuantificó el contenido de fenoles totales en cada muestra, los resultados se muestran en la Figura 1.

El análisis por ANDEVA demostró diferencias significativas en el contenido de compuestos fenólicos totales entre los diferentes lotes de té verde comercializados en Costa Rica ($p = 0.002$).

El valor de compuestos fenólicos totales en la muestra de té verde cultivado fue de 26.0 ± 0.2 mgEAG/100g; lo que muestra que el contenido de fenoles totales en las diferentes marcas es similar o superior al encontrado en las hojas de *Camellia sinensis* cultivada.

Determinación de la capacidad antimicrobiana de las diferentes muestras de té verde.

Los resultados obtenidos demuestran un efecto inhibitorio sobre *Listeria monocytogenes*, en la concentración de 10,5 mg/ml en los extractos de las diferentes marcas así como en el té control. Este efecto también fue observado al evaluar la dilución 10-1 de los extractos en el 70% de marcas analizadas y en el control. No obstante, el efecto de las diferentes muestras de té verde fue nulo contra *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger*, tanto en la modalidad de extracto como de infusión (datos incluyen al té verde puro y al estándar de comparación).

DISCUSIÓN

En los últimos tiempos, se ha limitado el uso de preservantes sintéticos en alimentos, razón por la cual se ha generado una creciente atención hacia el uso de antimicrobianos naturales. Entre los antimicrobianos naturales presentes en plantas más estudiados se encuentran los compuestos polifenólicos (14).

Cabe destacar que la mayoría de los estudios relacionados con la extracción de polifenoles en alimentos se basan en el uso de mezclas de solventes acuoso-orgánico y pH ácidos, por sus características fisicoquímicas que permiten un mejor rendimiento y estabilidad de los componentes extraídos (15). La elección del solvente con mejor capacidad de extracción de compuestos fenólicos del té verde resulta primordial, ya que diversas condiciones pueden influir en la eficacia y rendimiento del material extraído, incluyendo la naturaleza química del solvente, temperatura, pH, relación del disolvente, método utilizado, entre otros.

Los resultados del contenido de compuestos fenólicos totales, concuerdan con los obtenidos por Chan et al., (16), donde se demostraron diferencias significativas entre diferentes marcas de té verde obtenidas en supermercados. Dado que el contenido de compuestos fenólicos varía de acuerdo a la marca de té verde, es importante cuantificar el efecto antimicrobiano de diferentes marcas comerciales distribuidas en el mercado costarricense, con el fin de determinar posibles diferencias en su actividad biológica.

Varios estudios, incluyendo los de Perva Uzunalic (6) y Nihal Turkmen (17), han probado varios solventes y concentraciones de éstos para determinar el más eficiente en la extracción de compuestos fenólicos. A diferencia del presente estudio, ambos seleccionan a la acetona, poniendo de manifiesto la influencia e importancia de las condiciones de extracción utilizadas en el resultado final.

En cuanto a la acción antimicrobiana obtenida en

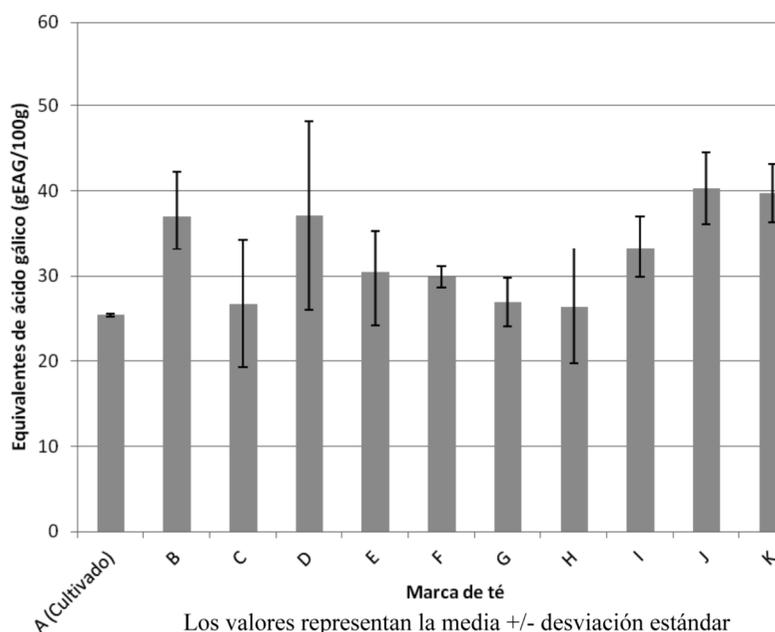


FIGURA 1. Contenido de fenoles totales expresados como equivalentes de ácido gálico (EAG) para las diferentes marcas de té verde comercializadas en Costa Rica.

el presente estudio contra los diversos microorganismos analizados, los resultados demuestran que no hubo efecto contra *Escherichia coli*, *Salmonella enteritis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger*, no obstante, se evidenció susceptibilidad aumentada de *Listeria monocytogenes* ante los polifenoles extraídos de las tisanas del té verde y del té verde puro (estándar de comparación). Se mostró un efecto inhibitorio en la concentración de 10.5 mg/ml y en la dilución 10^{-1} en 7 de las 10 marcas analizadas; este efecto no fue observado en las diluciones mayores ni en las infusiones de las diferentes muestras, por lo que se podría decir que el efecto de los polifenoles es dependiente de la concentración, tal y como es mencionado por Von Staszewski et al. (18). Este dato es de gran importancia dada la ubicuidad de este patógeno, así como su capacidad de sobrevivencia en condiciones adversas. Resultados similares a los descritos fueron obtenidos por Kim et al, (14) donde todas las bacterias Gram negativas evaluadas mostraron una resistencia a los extractos de té, en comparación con las Gram positivas, incluyendo *S. aureus* y *L. monocytogenes* que sí mostraron inhibición parcial.

Cabe destacar que todas las marcas de té verde evaluadas mostraron la misma efectividad que el estándar de comparación escogido, lo cual permite inducir que

el componente antimicrobiano presente en el estándar de oro se conserva en las diferentes tisanas de té analizadas en el estudio.

Existen varias hipótesis sobre el mecanismo de acción de los polifenoles contra diferentes microorganismos, y de cómo interfieren en el crecimiento ejerciendo ya sea un efecto bacteriostático o bactericida. Un estudio presentado en el año 2007 por Shimamura (19) muestra que la galato de epigallocatequina (EGCG) se une al peptidoglicano de las bacterias y forma precipitados, produciendo una interrupción en el proceso de biosíntesis de la pared bacteriana. Por otro lado, Arakawa (20) sugiere que la formación de peróxido de hidrogeno por la acción de la EGCG con especies reactivas de oxígeno en presencia de la superóxido dismutasa (SOD) causa daño a la membrana celular.

En cuanto a los hongos, algunos estudios mencionan que la ECGC podría interferir en el metabolismo de los folatos y de esta manera inhibir la producción del ergosterol, el cual es importante porque es uno de los componentes esenciales de su pared celular (21).

Diversos autores describen que la susceptibilidad de las bacterias patógenas al té verde es divergente, dependiendo de la especie y cepa bacteriana evaluada (14). Se ha demostrado que la susceptibilidad hacia la ECGC varía dependiendo de la composición de la pared celular de cada especie. Al respecto el estudio de Yoda et al. (10), mostró que la ECGC presenta una mayor facilidad para unirse directamente al peptidoglicano, siendo las bacterias Gram positivas las más susceptibles debido a la ausencia de una membrana externa. Lo anterior permite explicar el efecto inhibitorio observado contra *L. monocytogenes* en el presente trabajo.

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que no hubo acción inhibitoria contra *S. aureus*, a pesar de ser una bacteria Gram positiva. Al respecto, algunos autores han reportado variación en la actividad inhibitoria de los compuestos fenólicos dependiendo del medio de crecimiento donde se determine la actividad antimicrobiana del té verde. Se describe

que medios sumamente ricos en nutrientes pueden enmascarar el efecto inhibitorio de los polifenoles presentes en té verde, especialmente aquellos dirigidos contra bacterias Gram negativas y algunas bacterias Gram positivas (22).

La efectividad antioxidante y antimicrobiana de las infusiones de té puede verse afectadas por diferentes variables, incluyendo la temperatura y el tiempo de preparación, lo cual puede influir en la eficiencia de extracción de los componentes bioactivos. Hilal y Engelhardt (23) demuestran que al realizar este procedimiento en bolsitas de té comerciales en un tiempo de 3 o 5 minutos a 100 °C la cantidad de compuestos fenólicos extraídos es menor, a diferencia si este es realizado a 80°C por 15 minutos en donde la cantidad de compuestos es mayor. Por otro lado, de Almajano et al, reportan que al realizar las infusiones a 100 °C por 5 min, se obtiene un efecto antimicrobiano sobre determinados microorganismos incluyendo a *L. monocytogenes* y *S. aureus*. Los resultados de este estudio evidencian que al realizar las infusiones del té verde de forma tal como lo sugiere el fabricante, no se logró observar la efectividad de éste, ya que no evidenció efecto alguno por parte de las infusiones sobre los diferentes microorganismos analizados.

Todas las evaluaciones realizadas en el presente trabajo fueron a una concentración de 10,5 mg/ ml. Probablemente, el uso de una concentración mayor hubiera producido inhibición en otros microorganismos. La razón de utilizar esta concentración es que se ha demostrado que concentraciones mayores pueden resultar inaceptables debido a la fuerte astringencia y amargor que producen (14).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio evidencian un grado de inhibición por parte del té verde hacia *Listeria monocytogenes*, un patógeno de gran importancia en Microbiología de Alimentos. No obstante, no se puede dejar de lado el hecho de que las condiciones de crecimiento, recolecta, almacenamiento y método de manufactura del té verde pueden afectar la cantidad, la estabilidad y efectividad de los compuestos fenólicos presentes. Dado lo anterior, aquellos alimentos en que se pretenda utilizar el té verde como preservante deben de procesarse tratando de conservar las propiedades de éste, de manera que no se pierda su poder antioxidante, acción antimicro-

biana, sabor, olor y color entre otros.

REFERENCIAS

1. Pornpimon, M. & Sakamon, D. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian goose berry and galangal extracts. *Food Sci Technol*. 2008. 4: 1153–1159.
2. Rodríguez, S. & Nereyda, N. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai*. 2011.7, 153-170.
3. Tzung Hsun, T., Tsung Hsien, T., You Chia, C., Chi Wei, L. & Po Jung Tin. *In vitro* antimicrobial activities against cariogenic streptococci and their antioxidant capacities: A comparative study of green tea versus different herbs. *Food Chem*. 2008. 110: 859–864, 859-864.
4. Palakawong, C., Sophanodora, P., Pisuchpen, S., & Phongpaichit, S. Antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) parts and some essential oils. *Int Food Res J*. 2010. 17: 583-589.
5. Paladino, S. C. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera* L.). (Tesis de maestría inédita). Universidades Nacionales de Cuyo, Argentina. 2008.
6. Perva Uzunalic, A., Mojca, K., Kneza, Z., Weinreich, B., Otto, F. & Gruner, S. Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chem*. 2006. 96: 597–605.
7. Bansal, S., Choudhary, S., Sharma, M., Sharad Kumar, S., Lohan, S., Bhardwaj, V., Syan, N. & Jyoti, S. Tea: A native source of antimicrobial agents. *Food Res Int*. 2013. 1-17.
8. Bancirova, M. Comparison of the antioxidant capacity and the antimicrobial activity of black and green tea. *Food Res Int*. 2010. 43: 1379–1382.
9. Almajano, MP., Carbó, R., Jiménez, JA. & Gordon, MH. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chem*. 2008. 108: 55–63.
10. Yoda, Y., Qing Hu, Z., Hua Zhao, W. & Shimamura, T. Different susceptibilities of Staphylococcus and Gram-negative rods to epigallo catechingallate. *J Infect Chemother*. 2004. 10: 55-58.
11. Kumudavally, K.V., Phanindrakumar, H.S., Tabassum, A., Radhakrishna, K. & Bawa, A.S. Green tea – A potential preservative for extending the shelf life of fresh mutton at ambient temperature (25 ± 2°C). *Food Chem*. 2008. 107: 426–433
12. Chiu, P. & Shiu Lai, L. Antimicrobial activities of tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum coatings containing green tea extracts in fruit-based salads, ro-

- maine hearts and pork slices. *International J Food Microbiol.* 2010. 139: 23–30
13. Breukink, E. Protocol for Minimum Inhibitory Concentrations. Institute of Biomembranes, Universiteit Utrecht. 2010.
 14. Kim, S; Ruengwilysup, C & Fung, Y. Antibacterial Effect of Water-Soluble Tea Extracts on Foodborne Pathogens in Laboratory Medium and in a Food Model. *J Food Prot.* 2004.11: 2608-2612.
 15. Arranz Martínez, S. Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española: metodología para su determinación e identificación. (Tesis de doctorado inédita). Universidad Complutense de Madrid, España. 2010.
 16. Chan, E., Soh, EY., Tie, PP. & Law, YP. Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*. *Pharmacognosy Res.* 2011. 3(4): 266-272.
 17. Turkmen, N., Sari, F. & Velioglu, Y. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chem.* 2005. 93 (4): 713-718
 18. Von Staszewski, M., Pilosof, A. & Jagus, R. (2011). Antioxidant and antimicrobial performance of different Argentinean green tea varieties as affected by whey proteins. *Food Chem* 125,186-192.
 19. Shimamura, T., Zhao, W.-H. & Qing, Z. Mechanism of action and potential for use of tea catechin as an anti-infective agent. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry* 2007. 6: 57-62.
 20. Arakawa, H., Maeda, M. & Sachie, O. Role of hydrogen peroxide in bactericidal action of catechin. *Biol Pharmaceut Bull.* 2004. 27: 277-281.
 21. Navarro Martínez, M., García, F. & Rodríguez López, J. Tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits ergosterol synthesis by disturbing folic acid metabolism in *Candida albicans*. *J Antimic Chemother.* 2006. 57: 1083–1092.
 22. Toda, M., Okubo, S., Reiko, H. & Shimamura, T. The bactericidal activity of tea and coffee. *Lett Appl Microbiol.* 1989.8: 123-125
 23. Hilal, Y. & Engelhardt, U. Characterisation of white tea Comparison to green and black tea. *J Consumer Protect Food Safety.* 2007. 2: 414 – 421.

Recibido: 03-09-2013

Aceptado: 22-10-2013