

# Els polifenols, uns desconeguts



Curs: 2019-2020

Àmbit Científic

## AGRAÏMENTS

M'agradaria agrair a totes aquelles persones que s'han interessat per aquest treball de recerca, atès que les seves mostres d'interès, per petites que siguin, provoquen molta satisfacció i felicitat en la meva persona. És increïble que un tema que em fascina tant, desperti curiositat en altres, i que pugui compartir els meus coneixements adquirits amb tothom és inexplicable. Però sobretot vull agrair el treball de recerca a una sèrie de persones i institucions en concret, ja que possiblement sense ells i elles no hauria pogut realitzar-lo.

En primer lloc, vull donar-li les gràcies a la meva mare, ja que ha sabut donar-me ànims en tot moment, m'ha donat un suport constant i sempre ha cregut en mi i en les meves idees. A més junt amb el meu avi i el meu pare que m'han ajudat i s'han esforçat a portar-me cap als centres on em donaven suport per a realitzar el treball.

En segon lloc, vull agrair-li al meu tutor d'aquest treball de recerca que sempre hagi estat involucrat. Mostrar un interès constant i preocupar-se per al resultat final.

## ÍNDEX

<b>1.</b>	<b>INTRODUCCIÓ.....</b>	<b>1-3</b>
<b>1.1</b>	<b>Per què faig aquest treball.....</b>	<b>1-3</b>
<b>1.2</b>	<b>Hipòtesi .....</b>	<b>1-3</b>
<b>1.3</b>	<b>Objectius del treball .....</b>	<b>1-4</b>
<b>1.4</b>	<b>Metodologia .....</b>	<b>1-5</b>
<b>1.5</b>	<b>Estructura del treball .....</b>	<b>1-5</b>
<b>2.</b>	<b>COS DE L'INFORME.....</b>	<b>2-6</b>
<b>2.1</b>	<b>Els polifenols.....</b>	<b>2-6</b>
2.1.1	Què són .....	2-6
2.1.2	On els podem trobar .....	2-7
2.1.3	Estructura .....	2-8
<b>2.2</b>	<b>Classificació de polifenols .....</b>	<b>2-9</b>
2.2.1	Flavonoides .....	2-11
2.2.2	Lignans.....	2-12
2.2.3	Àcids fenòlics.....	2-12
2.2.4	Stilbens .....	2-13
<b>2.3</b>	<b>Variabilitat del contingut polifenòlic en els aliments .....</b>	<b>2-13</b>
<b>2.4</b>	<b>Contingut de polifenols en la ingesta alimentària i dietètica .....</b>	<b>2-16</b>
<b>2.5</b>	<b>Metabolisme general dels polifenols .....</b>	<b>2-21</b>
2.5.1	Biodisponibilitat .....	2-21
<b>2.6</b>	<b>Perquè els necessitem? .....</b>	<b>2-24</b>
2.6.1	Efecte antioxidant .....	2-25
2.6.2	Malalties cardiovasculars .....	2-26
2.6.3	Càncer.....	2-28
2.6.4	Diabetis tipus 2.....	2-29
2.6.5	Protecció neurològica.....	2-30
<b>2.7</b>	<b>Part pràctica .....</b>	<b>2-31</b>
2.7.1	Phenol-Explorer .....	2-31
a.	Recerca computacional .....	2-31
b.	Recerca del diferents tes i infusions.....	2-32
2.7.2	Folin-Ciocalteu.....	2-35
a.	Objectius.....	2-36
b.	Definicions.....	2-36
c.	Procediments relacionats.....	2-36
d.	Materials i aparells .....	2-37

## Els polifenols, uns desconeguts

---

e.	Solucions i reactius .....	40
f.	Conservació de les mostres i reactius .....	40
g.	Condicions de treball .....	40
h.	Procediment .....	41
h.1	Preparació de la solució de carbonat sòdic al 20%.....	41
h.2	Preparació de la recta calibrat.....	41
h.3	Determinació de les mostres .....	43
i.	Resum.....	45
j.	Expressió dels resultats .....	46
3.	CONCLUSIONS .....	47
4.	FONTS D'INFORMACIÓ .....	51
5.	ANNEXOS.....	55
5.1	Rectes patró de catequina .....	55
5.2	Càlcul de l'absorbància de les mostres.....	58

## 1. Introducció

### 1.1 Per què faig aquest treball

He decidit fer aquest treball perquè se'm va donar l'oportunitat d'utilitzar una sèrie de materials de laboratori els quals probablement mai més els tornaré a utilitzar. Aquest treball no era el que vaig plantejar inicialment, sinó que jo havia proposat un de diferent amb el títol següent: relació entre els edulcorants artificials i el càncer. M'hauria agradat utilitzar totes les experiències apreses en l'anàlisi dels polifenols al meu treball inicial, però davant l'impossibilitat d'aquesta opció, vaig decidir optar per la segona proposta que em van. A més, això m'ha servit com a una oportunitat per acabar de decidir-me per a una carrera universitària, és a dir, amb aquesta experiència podré veure si m'agrada o no estar treballant en un laboratori i d'aquesta manera decantar-me per a una carrera o una altra.

### 1.2 Hipòtesi

La hipòtesi que m'he plantejat en aquest treball de recerca és la següent: Quins tipus d'infusions ens proporcionen una millora fisiològica a llarg termini segons els seus continguts polifenòlics?

He decidit que el meu treball giri al voltant d'aquesta qüestió i en funció dels resultats de la recerca, introduir canvis beneficiosos a la nostra dieta. Tot això des d'un punt de vista crític i objectiu. La meva resposta inicial per aquesta qüestió és que, dins de les onze infusions que estic analitzant la que més polifenols té és o bé el te negre o bé el te verd. Aquestes infusions són les més consumides per a la societat i a més, s'estudien molt pel fet de ser infusions 100% naturals. Aquestes no són barreges de diverses plantes i herbes medicinals. Abans de dir quin serà el que més polifenols té, he de conèixer les principals diferències entre ambdós tes. En primer lloc, el te verd es deriva de la planta de te coneguda com a *Camellia sinensis*. Aquesta planta verda és nativa de l'Índia i la Xina, on s'ha utilitzat durant segles en la medicina tradicional. Tanmateix, el te negre s'obté de la mateixa planta que el verd. La principal diferència entre el te verd

i el negre sorgeix durant el procés de producció. Mentre que el te verd no s'oxida, el te negre experimenta el procés d'oxidació més complet de tots els tes.

Es recullen les fulles per a posteriorment deixar-les marcir per a reduir la seva humitat. Després, les fulles s'enrotllen per crear ruptures minúscules les quals permetin que els enzims interactuïn amb l'oxigen. Les fulles del te negre s'enrotllen a mà o amb una màquina, segons el productor i el tipus de te. Les fulles enrotllades s'estenen després en safates grans on l'oxigen torna les fulles negres i comença el pas final en el procés de producció. Les fulles de te negre es cremen en forns per aturar el procés d'oxidació i després s'envasen per al seu consum. Per aquests motius, crec que el te verd tindrà més polifenols i més beneficis fisiològics que el negre, ja que no pateix pràcticament cap procés de manipulació i per tant no té la possibilitat de disminuir el seu contingut polifenòlic. Mentre que en el procés de formació del te negre, aquest pateix una gran fermentació probablement responsable de la pèrdua de polifenols. Però abans d'obtenir la conclusió haurem de veure l'absorció dels polifenols, ja que si no s'absorbeixen no ens proporcionaran cap millora.

Parteixo d'aquesta hipòtesi gràcies a estudis que s'han fet, els quals suggereixen que el consum a llarg termini de dietes riques en polifenols ens protegeixen contra certes malalties. Per aquest motiu, en aquest treball introduiré una taula feta per l'Institut Nacional de Medicina i Salut dels Estats Units la qual relaciona una disminució en el progrés de certes malalties i el consum de polifenols específics (Cory et al. 2018).

### **1.3 Objectius del treball**

Durant aquests últims anys, la gran majoria d'investigadors i multinacionals alimentàries s'han interessat cada vegada més pels polifenols. El principal motiu d'aquest interès és el reconeixement de les propietats antioxidants dels polifenols, la seva gran abundància en la nostra dieta i el seu possible paper en la prevenció de diverses malalties associades a l'estrès oxidatiu, com ara el càncer, les malalties cardiovasculars i neurodegeneratives (Manach et al. 2004). Des del punt de vista nutri-tecnològic és necessari conèixer el contingut en polifenols que presenten els aliments per atribuir-los-hi aquestes activitats beneficioses per a la salut. Per tant, el meu objectiu en aquest treball de recerca és

l'estudi del contingut polifenòlic d'aliments líquids d'origen vegetal com el te o el vi. Vull fer això, ja que m'agradaria saber quins aliments tenen més polifenols i per tant es poden considerar beneficiosos per a la salut.

### **1.4 Metodologia**

Per realitzar la meva investigació i complir el meu objectiu, plantejaré dues activitats generals, una de naturalesa analítica i l'altre de naturalesa computacional. Totes dues molt necessàries per a la indústria d'aquest segle. Per a cada tipus d'aliment realitzaré un anàlisi del seu contingut polifenòlic utilitzant el mètode de Folin-Ciocalteu. Aquesta activitat es subdivideix en la realització de corbes de calibratge, l'estudi de les mostres d'aliments i el contingut polifenòlic el qual expressaré com a contingut en polifenols totals. També faré un anàlisi computacional, a partir de les etiquetes de cada un dels aliments seleccionats i analitzaré el seu contingut polifenòlic.

### **1.5 Estructura del treball**

Pel que fa a l'estructura del treball, aquest està dividit en 8 parts. En les sis primeres parts del treball es tracten punts com: què són, on els podem trobar, classificació dels polifenols, variabilitat del contingut polifenòlic, contingut de polifenols en la dieta, metabolisme general d'aquests i perquè els necessitem. Potser aquest últim punt és el més important per a la gent, ja que es poden fer una idea de la importància d'aquestes petites molècules desconegudes. Després trobem la part pràctica que és on s'explica tot el procediment experimental a seguir per a obtenir unes dades concloents d'allò que estem investigant. Més tard, trobem les conclusions, potser una de les parts més importants de tot el treball. En aquesta part raonarem els resultats i extraurem una resposta final per a la hipòtesi inicial. Per acabar, al final d'aquest treball de recerca, es troben els annexos, on hi ha les rectes patró realitzades i els càlculs de les absorbàncies de les infusions.

## 2. Cos de l'informe

### 2.1 Els polifenols

#### 2.1.1 Què són

Els polifenols són uns micronutrients els quals els podem trobar en la majoria de les fruites, verdures, cereals i begudes. És a dir, només en aliments d'origen vegetal. Les fruites com el raïm, la poma, la pera, les cireres i les baies contenen fins a 200–300 mg de polifenols per cada 100 grams de pes fresc. Els productes fabricats a partir d'aquests fruits, també contenen polifenols en quantitats significatives. Normalment, un got de vi o una tassa de te o cafè conté uns 100 mg de polifenols. Els cereals, els llegums i la xocolata també contribueixen a la ingesta polifenòlica (Pandey and Rizvi 2009). Això vol dir que no tots els aliments tenen la mateixa quantitat de polifenols, això depèn de diversos factors. A diferència de les vitamines i els minerals, els polifenols no són nutrients essencials, el que significa que el cos humà els necessita en petites dosis encara que són indispensables per a dur a terme diferents processos metabòlics fonamentals en els organismes vius; sense aquests podríem morir (Manach et al. 2004). També podríem dir que els polifenols són metabòlits secundaris, és a dir, són compostos orgànics sintetitzats per l'organisme els quals no tenen un rol directe en el creixement o en la reproducció. En les plantes els polifenols participen en la defensa contra la radiació ultraviolada i també en l'agressió de patògens com bacteris. De vegades els polifenols poden intervenir en l'amargor, astringència (restret és el mateix), color, sabor, olor i estabilitat oxidativa dels aliments. A finals del segle XX, diversos estudis epidemiològics van suggerir que una dieta rica en polifenols podria contribuir a llarg termini a tenir una certa resistència per part de l'individu consumidor en diverses malalties com el càncer, malalties cardiovasculars, diabetis i malalties neurodegeneratives. Per aquest motiu, són estudiats per part dels científics i valorants molt positivament (Pandey and Rizvi 2009). Podrem veure en un apartat del treball perquè els necessitem i una taula la qual relaciona el consum de certs polifenols i la resistència a desenvolupar diverses malalties.



### 2.1.2 On els podem trobar

<u>Grup alimentari</u>	<u>Fonts de polifenols</u>
Fruïtes	Taronges, pomes, raïm, préssecs, cireres, nabius , gerds, nabius, prunes, mores, maduixes, albercocs
Verdures	espinacs, cebes, patates, olives, carxofa, bròquil, espàrrecs, pastanagues
Begudes	cafè , te, vi negre
Greixos	xocolata negra, oli d'oliva verge
Espècies i condiments	cacau en pols, safrà, orenga sec, romaní sec, salsa de soja, menta seca, anís estrellat, sàlvia seca, menta seca, farigola seca, alfàbrega seca, canyella

Taula 1. On es troben els polifenols a diferents classes d'aliments. Font: Pròpia

En aquesta taula podem veure alguns dels aliments amb més polifenols segons els diferents grups alimentaris. En aquest treball em centraré només en begudes com els tes, infusions per respirar millor i poder dormir com la camamilla, etc. Per aquest motiu calcularé el contingut polifenòlic d'aquestes begudes i veure quin tipus de te (vermell, negre, verd) o infusió té més polifenols i per tant més beneficis a la llarga. Molts de nosaltres ens preguntarem quina és la principal diferència entre te i infusió. Les infusions es preparen amb aigua molt calenta però sense que aquesta arribi a bullir, a la qual se li afegeix plantes naturals que poden ser o no te. A més són lliures de cafeïna i estan realitzades a partir d'altres plantes medicinals. Plantes com la camamilla, la melissa o la cua de cavall són considerades infusions i no te. Mentre que, el te sempre es realitza amb plantes que procedeixen de la *Camellia sinensis* (tipus d'arbust, les seves fulles són assecades tot just ser recollides), i que contenen teïna, una substància estimulants, químicament idèntica a la cafeïna.

Aquests micronutrients que estic estudiant són molt coneguts perquè a la llarga es consideren beneficiosos per a la salut, és a dir, milloren algunes propietats funcionals del nostre organisme. Una de les propietats més associades és l'antioxidant.

### 2.1.3 Estructura

Els polifenols es caracteritzen per presentar a la seva estructura química un o més grups hidroxils (-OH) i aquests units a un o més anells benzènics. Els polifenols, normalment no es troben sols, sinó combinats amb diferents molècules com aminoàcids, lípids, glucosa o sucres. A continuació, podrem veure una taula que relaciona les diferents classes de polifenols amb els aliments on els podem trobar.

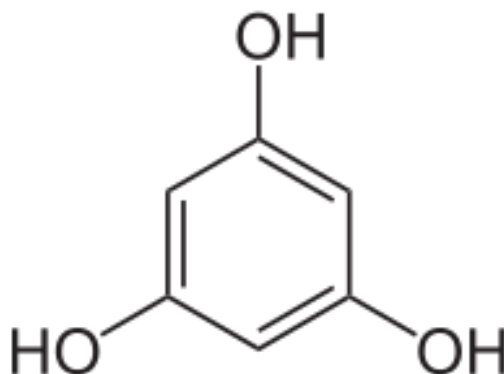
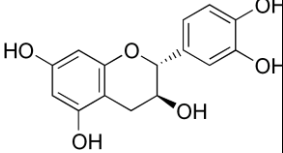
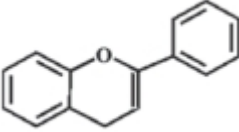
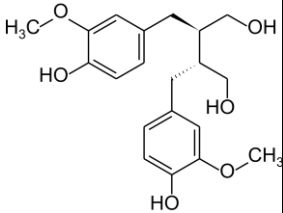
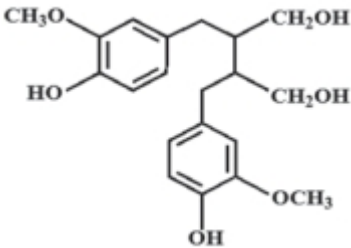
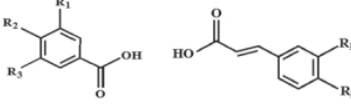
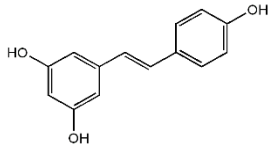
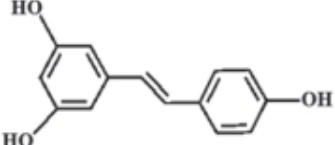


Fig. 1 . Estructura bàsica dels polifenols. Font: <https://www.wikiwand.com/es/Polifenol>

## 2.2 Classificació de polifenols

Avui dia gràcies al gran interès pels polifenols s'han identificat més de 8.000 compostos polifenòlics en diverses espècies de plantes. Tots els compostos fenòlics vegetals provenen d'un compost químic comú, fenilalanina o de l'àcid shikímic. Principalment es produeixen en formes conjugades, amb un o més residus de sucre lligats a grups hidroxil, encara que també existeixen enllaços directes del sucre (polisacàrid o monosacàrid) a un carboni aromàtic. També és freqüent l'associació amb altres compostos, com àcids carboxílics, amines, lípids i altres fenols. Els polifenols es poden classificar en diferents grups en funció del nombre d'anells de fenol que contenen i sobre els lligams dels quals estan compostos. Les classes principals inclouen els àcids fenòlics, els flavonoides, els stilbenes i els lignans. Tot i que els podríem classificar en aquests quatre grups, dins d'aquest n'hi ha de subclassificacions. En la taula següent podreu veure el nom del polifenol més conegut o important dins del seu grup, l'estructura d'aquest, l'estructura general del grup al qual pertanyen i a més indicaré dins de les infusions que jo he analitzat la que té més polifenols d'aquell tipus. (Pandey and Rizvi 2009)

Tipus	Exemples de polifenols	Estructura química	Principal font de les infusions analitzades
Flavonoides	Catequina 		Te negre Catequina (2.45 mg/100 ml)
Lignans	Secoisolariciresinol 		Te verd i Te negre Secoisolariciresinol (0.03mg/100mL)
Àcids fenòlics	àcid hidroxibenzoic i àcid cinàmic		Te negre àcid hidroxibenzoic (16.2 mg/100mL) àcid cinàmic (2.61 mg/100mL)
Stilbens	Resveratrol 		Suc de raïm Resveratrol (5.08e-03 mg/100 ml)

Taula 2. Tipus de polifenols i les seves estructures. Font:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2835915/>

## 2.2.1 Flavonoides

És el grup més estudiat de tots els polifenols, ja que pràcticament els podem trobar a tots els aliments d'origen vegetal. Aquest grup té una estructura bàsica o inicial comuna formada per dos anells aromàtics units per tres àtoms de carboni que formen un heterocicle oxigenat. S'han trobat més de 4.000 varietats de flavonoides i la gran majoria d'aquest són els culpables dels atractius colors que posseeixen les flors, fruites i fulles (Groot and Rauen 2009). En funció de la variació en el tipus d'heterocicles implicats, els flavonoides es poden dividir en sis subgrups: flavonols, flavones, flavanols, antocianines i isoflavones. Les diferències individuals dins de cada grup sorgeixen de la variació en nombre i disposició dels grups hidroxil i la seva extensió d'alquilació (transferència d'un àtom de carboni carregat positivament, un radical lliure o un anió en el qual un carboni tingui un parell d'electrons no compartits i suporti una càrrega negativa normalment amb tres substituents per a un total de 8 electrons de valència) i / o glicosilació (procés químic en el qual s'afegeix un carbohidrat a una altra molècula). La quercetina, la mietretin, les catequines, etc., són alguns dels flavonoides més habituals (Pandey and Rizvi 2009).

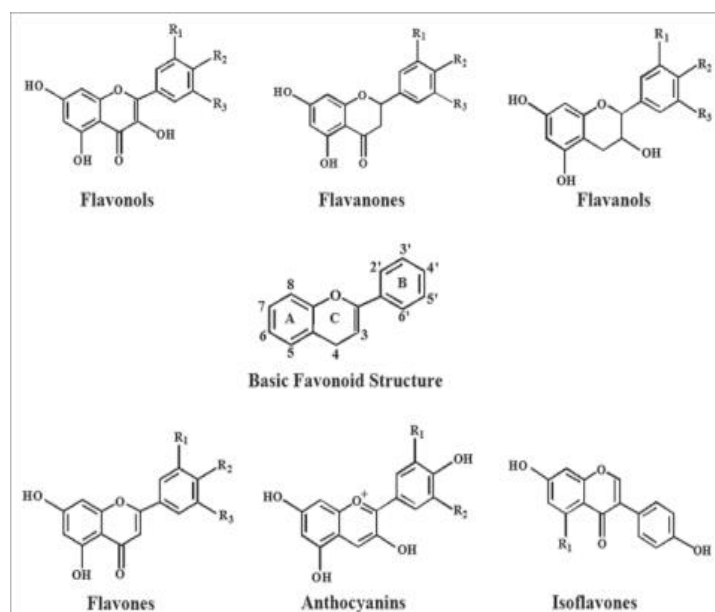


Fig. 2 . Diferents classes de flavonoides. Font: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2835915/>

### 2.2.2 Lignans

Els lignans són compostos difenòlics que contenen una estructura 2,3-dibenzilbutà que es forma per la dimerització (procés pel qual dues molècules d'un mateix compost químic es combinen i en donen una de doble) de dos residus d'àcid cinàmic. Es considera que diversos lignans, com el secoisolariciresinol, són fitoestrògens (compostos químics lipídics que es troben en els vegetals). La font alimentària més rica és la llinosa, que conté secoisolariciresinol (fins a 3,7 g per cada kg de pes) (Adlercreutz and Mazur 1997) (Pandey and Rizvi 2009).

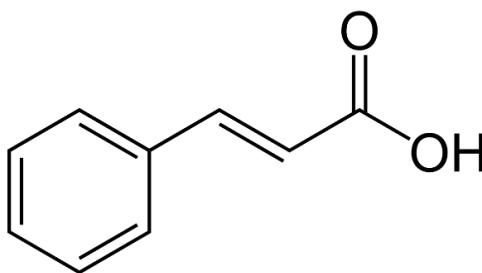


Fig. 3. Estructura del àcid cinàmic. Font: [https://it.wikipedia.org/wiki/Acido\\_cinnamico](https://it.wikipedia.org/wiki/Acido_cinnamico)

### 2.2.3 Àcids fenòlics

Els àcids fenòlics sí que els podem trobar en grans quantitats en els aliments que ingerim i es divideixen en dues classes: derivats de l'àcid benzoic i derivats de l'àcid cinàmic. El contingut en àcids d'hidroxibenzoic de les plantes comestibles és normalment bastant baix exceptuant certs fruits vermells. Els àcids hidroxicinàmics són més comuns que els àcids hidroxibenzoics (Pandey and Rizvi 2009).

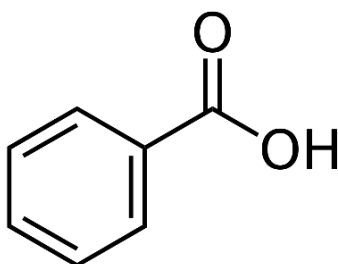


Fig. 4. Estructura del àcid benzoic. Font: [https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido\\_benzoico](https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_benzoico)

#### **2.2.4 Stilbens**

Els stilbens contenen dos grups fenil connectats per un pont de metilè de dos carbonis. Respecte a la proporció ingerida de stilbens en la dieta humana, aquesta és bastant baixa. La majoria dels stilbens de les plantes actuen com a fitoalexines antifúngiques, és a dir són substàncies que maten o inhibeixen el creixement de microorganismes com són els bacteris, fongs, o protozous. Un dels stilbens més estudiats és el resveratrol el qual el podem trobar en grans quantitats al raïm encara que el vi negre també conté una quantitat significativa de resveratrol. En els raïms de la vinya el trans-resveratrol és una fitoalexina produïda contra el creixement de fongs com és el de la podridura grisa (Pandey and Rizvi 2009).

### **2.3 Variabilitat del contingut polifenòlic en els aliments**

Les fruites i begudes com el te i el vi negre constitueixen les principals fonts de polifenols conegudes avui dia. En aquest treball ens hem centrat en la catequina, un tipus de polifenol el qual es troba en grans quantitats, en la majoria dels aliments i és fàcil d'absorbir gràcies a la seva senzillesa estructural. Hi ha centenars de tipus de polifenols, en cada aliment hi trobem proporcions diferents d'aquests, encara que aquestes variabilitats del contingut polifenòlic és obvia entre els diferents aliments, també pot existir una diferència entre aliments del mateix tipus a causa de diversos factors. S'han fet diversos estudis amb pomes, per aquest motiu són un dels aliments avui dia amb dades més que precises sobre el seu contingut polifenòlic. S'han estudiat les diferències en la composició de polifenols entre diferents varietats de pomes. Els perfils de polifenols de totes les varietats de pomes són pràcticament idèntics, però les concentracions poden oscil·lar entre 0,1 i 5 g de polifenols totals per cada quilogram de poma i poden arribar a ser de fins a 10 g per quilogram en determinades varietats de pomes de sidra. Per a molts productes vegetals, la composició dels polifenols és molt menys coneguda, el coneixement sovint es limita a una o unes poques varietats i, de vegades, les dades no es refereixen a les parts comestibles. Alguns aliments, especialment alguns tipus de fruites exòtiques i cereals, encara no s'han analitzat. Els factors que hem anomenat abans els quals poden influir en el contingut de polifenols

dels aliments són: la maduresa en el moment de la collita, els factors ambientals, el processament i l'emmagatzematge.

Els factors ambientals tenen un efecte important en el contingut de polifenols. Aquests factors poden ser pedoclimàtics (tipus de sòl, exposició solar, precipitacions) o agronòmiques (cultiu en hivernacles o camps, cultiu biològic, cultiu hidropònic, rendiment de fruita per arbre, etc.). L'exposició a la llum té un efecte considerable sobre la majoria dels flavonoides. El grau de maduració afecta considerablement les concentracions i proporcions dels diferents polifenols. En general, les concentracions d'àcid fenòlic disminueixen durant la maduració, mentre que les concentracions d'antocians augmenten. Molts polifenols, especialment els àcids fenòlics, estan directament implicats en la resposta de les plantes a diferents tipus d'estrès: contribueixen a la curació per lignificació de les zones danyades, tenen propietats antimicrobianes i les seves concentracions poden augmentar després de la infecció. Tot i que molt pocs estudis van abordar directament aquesta qüestió, el contingut de polifenols de les hortalisses produïdes per una agricultura ecològica o sostenible és sens dubte superior al de les hortalisses cultivades sense estrès, com les que es conreen en condicions convencionals o hidropòniques. La diferència entre ambdues condicions és que l'agricultura convencional utilitza com a sòl, un sòl agrícola (sòl comú, no modificat, terra amb sals minerals...) en canvi l'agricultura hidropònica utilitza com a sòl unes solucions minerals, podrien resumir com a la convencional és aquella més natural sense introduir elements i la hidropònica com a la que utilitza productes externs. Això es va mostrar recentment a les maduixes, les mores i el blat de moro. Amb l'estat actual dels coneixements, és molt difícil determinar per a cada família de productes vegetals les variables clau que són responsables de la variabilitat del contingut de cada polifenol i el pes relatiu d'aquestes variables. Es requeriria una gran quantitat d'anàlisi per obtenir aquesta informació. L'emmagatzematge també pot afectar el contingut de polifenols els quals s'oxiden fàcilment. Les reaccions d'oxidació provoquen la formació de substàncies més o menys polimeritzades, que donen lloc a canvis en la qualitat dels aliments, especialment en color i característiques organolèptiques (gust, textura, olor...). Aquests canvis poden ser beneficiosos (com és el cas del te negre) o nocius (embrutiment de la fruita) a l'acceptabilitat del consumidor. L'emmagatzematge de la farina de blat provoca



una marcada pèrdua d'àcids fenòlics. Després de 6 mesos d'emmagatzematge, les farines contenien els mateixos àcids fenòlics en termes qualitius, però les seves concentracions eren un 70% més baixes. En canvi, l'emmagatzematge en fred no va afectar el contingut de polifenols de pomes, peres o ceba. A 25 ° C, l'emmagatzematge de suc de poma durant 9 mesos provoca una pèrdua del 60% de la quercetina i una pèrdua total de procianidines.

Els mètodes de preparació culinària també tenen un marcat efecte sobre el contingut de polifenols dels aliments. Per exemple, la retirada de la pell de les fruites i hortalisses pot eliminar una porció significativa de polifenols, ja que aquestes substàncies es presenten sovint en concentracions més elevades a les parts exteriors que a les parts interiors. El procés d'elaboració d'un aliment a la cuina pot tenir un efecte important. Les cebes i els tomàquets perden entre el 75% i el 80% del seu contingut inicial de quercetina després de bullir durant 15 minuts, el 65% després de cuinar en un forn de microones i el 30% després de fregir. És preferible la cocció al vapor de verdures, que evita la lixiviació (procés en el qual un dissolvent líquid es posa en contacte amb un sòlid polvoritzat perquè es produeixi la solució d'un dels components del sòlid, per a posteriorment separar els components). A causa de la gran quantitat de polifenols existents i el nombre considerable de factors que poden modificar la seva concentració en els aliments, encara no s'han elaborat taules de referència sobre la composició alimentària. És més, és pràcticament impossible fer taules les quals ens indiquin un percentatge o valor exacte de contingut polifenòlic. Jo faré part del meu treball pràctic basant-me en una base de dades anomenada penhol-explorer la qual està qualificada d'una precisió bastant exacte, encara que com he comentat abans sempre variarà el contingut polifenòlic per l'existència de les condicions esmentades prèviament. El que sí que es podria fer són taules les quals ens informin d'un valor màxim i mínim de polifenols de per exemple una poma pink lady.

## 2.4 Contingut de polifenols en la ingesta alimentària i dietètica

La diversitat estructural dels polifenols dietètics no es limita a les diferències en l'estructura de l'esquelet de carboni i en l'estat d'oxidació de l'heterocicle de flavonoides. Es complica encara més mitjançant els diferents patrons d'hidroxilació (procés químic que introdueix grups hidroxils (-OH) dins un compost orgànic) dels anells fenòlics, per glicosilació (procés químic en el qual s'afegeix un carbohidrat a una altra molècula) de la majoria de flavonoides, per acilació (procés d'afegir un grup funcional acil a un compost) amb àcids fenòlics i per l'existència d'estereoisòmers (isòmers que tenen la mateixa seqüència d'àtoms units entre ells), entre d'altres.

La diversitat estructural dels polifenols dificulta l'estimació del seu contingut en els aliments. El seu contingut mitjà en algunes porcions d'aliments apareix a la taula 3. Els valors només són indicatius perquè poden variar àmpliament.

## Els polifenols, uns desconeguts

Alimentació (quantitat)	Àcids fenòlics	Flavonoides	Flavonols	Flavanols	Monòmers de catequina	Proantocianidines	Flavanones
Patata, 200 g	28					28	57
Tomàquet, 100 g	8	0,5				8	37
Enciam, 100 g	8	1				9	23
Ceba, 20 g		7				7	18
Poma, 200 g	11	21	200			239	440
Cirera, 50g	37	3	35		200	276	276
Branca de blat, 10 g	50					50	50
Xocolata fosca, 20 g		16	86			102	168
Suc de taronja, 100 ml				22		22	75
Vi negre, 125 ml	12	34	45		4	97	225
Cafè, 200mL	150					150	179
Te negre, 200 ml		8	130			138	200

Taula 3. Contingut de polifenols d'una porció típica d'aliment i begudes de consum habitual (mg). Font: (Scalbert and Williamson 2018)

Els espais en blanc són deguts a la manca de dades.

Els polifenols no es distribueixen uniformement en els teixits vegetals i el contingut polifenòlic pot variar durant tot el procés, des que l'aliment creix fins a arribar als nostres estómacs.

Per diverses raons, inclosa la diversitat estructural, la manca de mètodes analítics estandarditzats i la variació del contingut en un aliment en particular, és extremadament difícil estimar la ingesta mitjana diària de polifenols. La majoria dels autors es refereixen a les dades publicades fa 25 anys (Kuhnau 2015). Es va informar d'una ingesta diària d'1 g de fenols totals, però no es van detallar els mètodes emprats per obtenir aquest resultat. A la taula 3, es presenta el contingut de diverses classes de polifenols en alguns aliments i begudes que es consumeixen habitualment en les dietes occidentals.

Es van utilitzar dos enfocaments diferents per estimar els polifenols:

1. Compostos específics com l'àcid clorogènic en la patata o el cafè, la quercetina en les cebes o les catequines al te es van estimar individualment mitjançant tècniques cromatogràfiques
2. Els fenols totals es van estimar mitjançant la reducció del reactiu Folin-Ciocalteu (Scalbert 1992)

Els valors obtinguts amb el primer mètode solen ser inferiors als estimats per l'assaig de Folin (taula 3). Una de les raons és que alguns polifenols d'una determinada font d'aliment, pot ser ignorada en el procés de la determinació per cromatografia. Aquests poden ser compostos desconeguts, compostos presents com a traces que no es van considerar en la caracterització de fonts d'aliments o compostos que no es resolten per cromatografia, com ara polímers de proantocianidina i polifenols oxidats (Santos-Buelga and Scalbert 2000) com en la poma, vi, te o cervesa.

Una segona raó és que altres agents reductors poden estar presents en els aliments. L'àcid ascòrbic també redueix el reactiu folin (1 mg equival a 0,70 mg catequina sovint utilitzat com a estàndard en aquest assaig). Per exemple, el contingut d'àcid ascòrbic de patata, tomàquet, ceba, poma i suc de taronja (17, 24, 8, 12 i 54 mg / 100 g de pes fresc, respectivament) (Singleton and Jr. 1965) suposarien 40 i 46% del total de fenols estimats en patata i tomàquet, però només per a un 6 i 4% en poma i ceba rica en polifenols. S'ha afirmat sobre la base de l'assaig de Folin, que les verdures (llegums seques incloses) proporcionen 218 mg de fenols totals per dia en una dieta mitjana dels Estats Unit (Vinson et al. 2001). A causa de la contribució de l'àcid ascòrbic als valors de Folin, el valor real hauria de ser inferior. No s'ha publicat cap enquesta similar sobre

el contingut total de fenol en fruites. Les fruites solen ser més riques en polifenols que les verdures, amb un contingut total de fenol fins a 1-2 g / 100 g de pes fresc per a algunes fruites, com la pruna i el caqui (Marshall et al. 1995). Sovint contenen elevades quantitats de proantocianidines (poma, pruna, raïm i caqui) i antocianines (cirera i altres fruites vermelles) que no es troben freqüentment a les verdures (a excepció de l'albergínia i els llegums) (Cassidy, Bingham, and Setchell 1994, Santos-Buelga and Scalbert 2000). El consum de productes de cereals contribueix a la ingesta d'àcid fenòlic només quan s'utilitzen grans integrals per a la seva fabricació. La xocolata també és molt rica en polifenols, contribueix significativament a la ingesta total de polifenols i més particularment a la ingesta de catequina (Arts, Hollman, and Kromhout 1999) i la proantocianidina. Una font important de polifenols són les begudes (vi negre, cafè, te i suc de fruita). Per a aquells que consumeixin regularment vi, cafè o te, aquestes begudes seran probablement la principal font de polifenols. El suc de taronja no és tan ric en polifenols. Les begudes de cervesa i xocolata també proporcionen proantocianidines. La ingesta total de polifenols es pot calcular a partir del contingut de polifenols de les taules de consum d'aliments i aliments. (Kuhnau 2015) va determinar una ingesta de flavonoides als Estats Units d'1 g per dia, però no es van donar detalls sobre els mètodes utilitzats per determinar aquesta xifra. Una persona que consumiria en 1 dia les diferents porcions d'aliments i begudes que es mostra a la taula 1 ingeriria efectivament > 1 g de flavonoides i àcids fenòlics, independentment del mètode d'estimació de polifenol utilitzat (cromatografia o assaig colorimètric folí). Algunes tendències generals pel que fa a les principals fonts de polifenols i principals polifenols consumits es poden deduir de les dades presentades a la taula 3: la contribució a la ingesta de polifenols és compartida més o menys per igual entre els aliments i les begudes. Els àcids fenòlics representen aproximadament un terç del total de fenols, i els flavonoides representen dos terços. Aquesta proporció dependrà en gran manera del consum de cafè (Clifford 2000). Els principals consumidors de cafè "pur" probablement consumeixen més àcids fenòlics que de flavonoides. La proporció dels diferents flavonoides varia segons els aliments que es consumeixen. Per a persones que consumeixin fruites o begudes com ara vi negre, te, xocolata o cervesa, els flavonoides més abundants seran els flavanols (catequines més proantocianidines), les antocianines i els seus productes d'oxidació

(Cassidy, Bingham, and Setchell 1994, Santos-Buelga and Scalbert 2000). Es preveu que, junts, representaran més de dos terços de la ingesta dietètica total de polifenols.

L'avaluació de la dieta en polifenols encara no té precisió. La majoria de les dades sobre contingut en polifenols dels aliments provenen de fonts disperses. S'ha de fer una enquesta més completa i exhaustiva de l'ocurrència d'aliments dels diversos tipus de polifenols mitjançant mètodes ben estandarditzats. Fins ara, això s'ha fet per als flavonols, flavones (Hertog et al. 1992) i les isoflavones (Reinli and Block 1996). La ingesta de flavonols (quercetina en gran part) i flavones per part de la població holandesa s'ha establert en 21 i 2 mg per dia, respectivament. Per a les isoflavones, es va determinar una ingesta dietètica mitjana de 30–40 mg per dia per als japonesos (Kimira et al. 2011, Wakai et al. 1999). El consum als països occidentals és significativament menor a causa del consum limitat de productes de soja (Kirk, Patterson, and Lampe 1999).

Sembla, doncs, que la ingesta de flavonols, flavones i isoflavones és relativament baixa en comparació amb la dels àcids fenòlics i altres flavonoides, com les proantocianidines, els antocianins i els polifenols oxidats. El consum de compostos com la quercetina i la genisteïna no supera el 2-4% de la ingesta total de polifenols en dietes occidentals. Han estat els compostos fenòlics més estudiats en la nutrició humana per les seves activitats biològiques particulars. No obstant això, també s'ha de prestar atenció als altres compostos fenòlics que també contribueixen a la prevenció de l'estrès oxidatiu i que poden tenir algunes activitats biològiques, encara ignorades, encara més específiques.

## 2.5 Metabolisme general dels polifenols

### 2.5.1 Biodisponibilitat

Per a entendre aquest punt és imprescindible comprendre el significat de la paraula biodisponibilitat. Aquesta paraula s'utilitza per a referir-se a la proporció de nutrients que es digereix, s'absorbeix i es metabolitza per vies normals. La biodisponibilitat de cada polifenol és diferent, però no hi ha cap relació entre la quantitat de polifenols dels aliments i la seva biodisponibilitat al cos humà (Pandey and Rizvi 2009). És a dir si el meu organisme és capaç d'absorbir i aprofitar una certa substància per a tenir un benefici sense ser rebutjada directament per via urinària o qualsevol altre, aquest serà biodisponible per a mi. Hem de tenir en compte que no tots els aliments són biodisponibles per a tota la societat, de vegades n'hi ha gent que no té la capacitat de sintetitzar-lo per a ser absorbit i donar-li un ús.

Generalment, les aglicones (és el compost sense sucres que resta després de reemplaçar un àtom d'hidrogen el grup glucòsil) es poden absorbir des de l'intestí prim; així i tot, la majoria de polifenols són presents als aliments en forma d'èsters, glicòsids o polímers que no es poden absorbir de forma nativa. (D'Archivio et al. 2007) Abans de l'absorció, aquests compostos han de ser hidrolitzats per enzims intestinals o per la microflora colònica. Durant l'absorció, els polifenols pateixen modificacions; de fet es conjuguen a les cèl·lules intestinals i posteriorment al fetge per metilació, sulfació i / o glucuronidació (Day and Williamson 2001). Com a resultat d'aquests canvis, les formes que arriben a la sang i als teixits són diferents de les presents als aliments i és molt difícil identificar tots els metabòlits i avaluar la seva activitat biològica (Setchell et al. 2003). És important destacar l'estructura química dels polifenols i no la seva concentració la qual determina la velocitat i l'extensió d'absorció i la naturalesa dels metabòlits que circulen pel plasma. Els polifenols més comuns a la nostra dieta no són necessàriament els que mostren una major concentració de metabòlits actius en els teixits objectiu; en conseqüència, les propietats biològiques dels polifenols són molt contràries d'un polifenol a un altre. L'evidència, encara que indirecta, de la seva absorció per la barrera intestinal és definida per l'augment de la capacitat antioxidant del plasma després del consum d'aliments rics en polifenols (Duthie et al. 1998, Young et al. 1999). Cada polifenol té un lloc específic d'absorció en l'organisme humà. Alguns dels polifenols

s'absorbeixen al tracte gastrointestinal mentre que n'hi ha d'altres que ho fan a l'intestí o una altra part del tracte digestiu. En els aliments, tots els flavonoides, excepte els flavanols, existeixen en formes glicosilades. El destí dels glucòsids a l'estómac encara no és clar. La majoria dels glicòsids probablement resisteixen a la hidròlisi àcida a l'estómac i arriben així intactes a l'intestí (Gee et al. 1998) on només es poden absorbir aglicons i pocs glucòsids. Estudis experimentals realitzats amb rates (Crespy et al. 2002) van demostrar que l'absorció a nivell gàstric és possible per a alguns flavonoides, com la quercetina, però no per als seus glicòsids. A més, recentment s'ha demostrat que, en rates i ratolins, s'absorbeixen antocianines a l'estómac (D'Archivio et al. 2007).

Es va observar que els àcids hidroxicinàmics, quan s'ingereixen en forma lliure, són absorbits ràpidament per l'intestí prim i es conjuguen com els flavonoides (Clifford 2000). No obstant això, aquests compostos són difícils a l'hora d'absorbir-se, ja que la mucosa intestinal, el fetge i plasma no posseeixen esterases capaços d'hidrolitzar l'àcid clorogènic per alliberar l'àcid cafeic, i la hidròlisi només pot ser realitzada per la microflora present al còlon (Olthof, Hollman, and Katan 2018). Tot i que la majoria dels polifenols s'absorbeixen al tracte gastrointestinal i a l'intestí, n'hi ha de polifenols que no s'absorbeixen en aquestes àrees. Aquests polifenols arriben al còlon, on la microflora hidrolitza els glicòsids en aglycones i metabolitza àmpliament aquestes aglicones en diversos àcids aromàtics (Kuhnau 2015). Els aglicons es divideixen per l'obertura de l'heterocicle en diferents punts depenent de la seva estructura química, i per tant es produeixen diferents àcids que es metabolitzen encara més a derivats de l'àcid benzoic. Després de l'absorció, els polifenols passen a diversos processos de conjugació. Aquests processos inclouen principalment metilació, sulfació i glucuronidació, que representen un procés de desintoxicació metabòlica, comú a molts xenobiòtics, que facilita la seva eliminació biliar i urinària augmentant la seva hidrofilitat. La metilació dels polifenols també és molt específica, generalment es produeix en la posició C3 del polifenol, però podria produir-se en la posició C4': de fet, s'ha detectat una quantitat notable de 4'-metilpigalocatequina al plasma humà després de la ingesta del te. La glucuronidació es produeix a l'intestí i al fetge, i la taxa de conjugació més alta s'observa en la posició C3 (Spencer et al. 1999). Els mecanismes de conjugació són altament eficients i els aglicons lliures són generalment absents o



presentes en concentracions baixes en plasma després del consum de dosis nutritives; una excepció són les catequines de te verd, els aglycones dels quals poden constituir una proporció significativa de la quantitat total en plasma (Hollman, Tijburg, and Yang 1997). És important identificar els metabòlits que circulen, incloent-hi la naturalesa i les posicions dels grups conjugadors sobre l'estructura del polifenol, ja que les posicions poden afectar les propietats biològiques dels conjugats. Els metabòlits del polifenol circulen per la sang lligats a proteïnes; en particular l'albumina representa la proteïna principal responsable de la unió. L'albumina té un paper important en la biodisponibilitat dels polifenols. L'afinitat dels polifenols per l'albumina varia segons la seva estructura química (Dangles et al. 2001). L'enllaç a l'albumina pot tenir conseqüències sobre la velocitat d'alliberament de metabòlits i per al seu lliurament a cèl·lules i teixits. Finalment, encara no està clar si els polifenols han d'estar en forma lliure per exercir la seva activitat biològica, o si els polifenols units per l'albumina poden exercir alguna activitat biològica (Dufour, Loonis, and Dangles 2007). L'acumulació de polifenols als teixits és la fase més important del metabolisme dels polifenols, ja que aquesta és la concentració biològicament activa per exercir els efectes dels polifenols. Els estudis han demostrat que els polifenols són capaços de penetrar als teixits, particularment aquells en què es metabolitzen com l'intestí i el fetge. L'excreció de polifenols amb els seus derivats es produeix a través de l'orina i la bilis. S'ha observat que els metabòlits extensivament conjugats són més propensos a ser eliminats a la bilis, mentre que els conjugats petits, com els monosulfats, s'excreten preferentment a l'orina. La quantitat de metabòlits excretats a l'orina està aproximadament correlacionada amb les concentracions plasmàtiques màximes. El percentatge d'excreció urinària és força elevat per a les flavanones dels cítrics i disminueix en les isoflavones als flavonols (D'Archivio et al. 2007).

## 2.6 Perquè els necessitem?

### Resum dels efectes potencials de la salut dels polifenols.

Tipus de malaltia	Evidència d'efectes
Malalties neurodegeneratives	<ul style="list-style-type: none"><li>• La curcumina, el resveratrol i les catequines (com l'epigallocatequina gal·lada (EGCG)) poden protegir contra les malalties com l'Alzheimer i la demència, a través de: propietats antioxidants, immunomoduladores, de protecció de neurones i inhibició dels efectes neuro tòxics de la proteïna beta-amiloide, l'acumulació de la qual està relacionat amb la malaltia d'Alzheimer.</li><li>• Es pensa que els efectes de curcumina, miricetina, ginsenosids i ginkgetina són un mecanisme subjacent a través del qual els polifenols eviten la neurotoxicitat, cosa que provoca un efecte neuroprotector contra malalties neurodegeneratives com la malaltia de Parkinson i l'Alzheimer.</li></ul>
Càncer	<ul style="list-style-type: none"><li>• Els flavanoides com les antocianines, les catequines, els flavonols, les flavones, les flavanones i les isoflavones, poden neutralitzar els radicals lliures i disminuir el risc de càncer.</li><li>• Els tipus específics de càncers amb evidència d'efectes beneficiosos dels polifenols inclouen càncer de còlon, prostata, epiteli, endometri i càncer de mama.</li></ul>

Salut cardiovascular	<ul style="list-style-type: none"><li>• Els aliments rics en flavonoides s'han associat amb una millora de la salut ventricular, disminució de l'activitat de les plaquetes, modulació enzimàtica, efectes antiinflamatoris i disminució de la pressió arterial per augmentar la salut vascular general.</li><li>• Els flavonoides i el resveratrol poden bloquejar l'oxidació del colesterol per reduir les LDL i reduir el risc de malalties cardiovasculars.</li></ul>
Diabetis tipus 2	<ul style="list-style-type: none"><li>• Diversos compostos polifenòlics, que són les antocianines més fonamentades, estan associats tant a la prevenció com a la gestió de la diabetis tipus 2 mitjançant la protecció de cèl·lules beta de toxicitat per glucosa, efectes antiinflamatoris i antioxidants, disminució de la digestió de midons i regulació i transport alterat de glucosa. , donant lloc a un millor control glucèmic</li></ul>

Taula 4. Efectes potencials de la salut dels polifenols .Font: (Cory et al. 2018)

### 2.6.1 Efecte antioxidant

L'envelliment és un procés inevitable el qual haurem de patir tots i totes, l'envelliment és causat per diversos canvis perjudicials a les cèl·lules i en els teixits, tot això comporta un risc de patir diverses malalties o fins i tot la mort. Una de les raons que expliquen aquest procés entre altres és la dels radicals lliures (Pandey and Rizvi 2009). Els radicals lliures són àtoms altament inestables a causa de la pèrdua d'un electró, per intentar recuperar aquest electró que els hi falta modifiquen les molècules de les quals "agafen un electró" això provoca reaccions químiques en cadena en què cada molècula reacciona amb la següent per intentar estabilitzar-se. Aquests radicals lliures es generen

successivament dins del nostre organisme arran de les reaccions d'oxidació-reducció amb l'oxigen en el metabolisme cel·lular, ja sigui per obtenir energia, però també com a resposta a factors externs estressants com la contaminació ambiental, els raigs ultraviolats o com a resposta a reaccions inflamatòries (per exemple després d'un cop o una intervenció quirúrgica). Un dels sistemes que té el nostre cos d'eliminar aquests radicals lliures presents al nostre cos són els antioxidants. Els antioxidants, en aquest cas, s'encarreguen d'estabilitzar els radicals lliures i inhibir la seva oxidació per protegir els òrgans, sistemes i cèl·lules que es puguin veure afectades. Es poden presentar com components dels nostres aliments, fruita i verdura o com suplement dietètic, tanmateix, tots fan la mateixa funció. Si hi tinguéssim un excés de radicals lliures, i aquests no poguessin ser eliminats, el nostre organisme patiria lesions pel que fa a membranes cel·lulars i durant aquest període d'excés de radicals lliures seríem més propensos a desenvolupar diversos tipus de malalties. Tenim dos tipus d'antioxidants, els antioxidants endògens que són els fabricats per les nostres pròpies cèl·lules i els exògens que són aquells que entren en l'organisme a través de la dieta o de suplementos. Exemples d'exògens són: la vitamina E, Vitamina C o àcid ascòrbic i flavonoides entre altres. Aliments amb gran contingut d'antioxidants, són per exemple: les mongetes, la pastanaga, la poma, la xocolata amarga, les carxofes i els nabius. Els polifenols són, en realitat, els principals antioxidants de la dieta, i la seva ingesta és 10 vegades superior a la de la vitamina C, i 100 vegades superior a la de la vitamina E.

### **2.6.2 Malalties cardiovasculars**

Diversos estudis han demostrat que el consum de polifenols limita la incidència de malalties coronàries o també anomenada com a malaltia de les artèries coronàries la qual té com a resultat final l'acumulació de lesions a les parets de les artèries que abasteixen el múscle del cor (Renaud and de Lorgeril 1992)(Nardini, Natella, and Scaccini 2007). L'aterosclerosi és una malaltia inflamatòria crònica que es desenvolupa a les regions propenses a lesions d'artèries de mida mitjana. Les lesions ateroscleròtiques poden estar presents sense donar-nos compte durant anys, fins i tot dècades abans d'estar actives i produir condicions patològiques com un infart agut de cor o la mort sobtada cardíaca

(Vita 2005). Els polifenols són inhibidors potents de l'oxidació de LDL (lipoproteïnes de baixa densitat en anglès, de vegades se l'anomena colesterol "dolent" perquè un nivell alt de LDL comporta a una acumulació de colesterol en les artèria) i es considera que aquest tipus d'oxidació és un mecanisme clau en el desenvolupament de l'aterosclerosi (Aviram et al. 2000). Altres mecanismes pels quals els polifenols poden ser protectors contra malalties cardiovasculars són els efectes antioxidants, anti-plaquetaris, antiinflamatoris, així com l'augment de la HDL (lipoproteïnes d'alta densitat en anglès, de vegades se l'anomena colesterol "bo" perquè transporta el colesterol d'altres parts del cos al fetge on el fetge després elimina el colesterol del seu cos) i la millora de la funció dels teixits que recobreixen la zona interna dels vasos sanguinis. Es va demostrar que 44 tipus de catequines del te inhibeixen la invasió i la proliferació de les cèl·lules musculars llises a la paret arterial, un mecanisme que pot evitar la formació de la lesió ateromatosa. S'ha observat que el consum de te negre d'uns 450 ml augmenta la dilatació de l'artèria 2 hores després de la ingesta i el consum de 240 ml de vi negre durant 30 dies va contrarestar la disfunció endotelial induïda per una dieta rica en greixos (Duffy et al. 2001). Es va trobar que la ingesta regular de te negre a llarg termini va reduir la pressió arterial en un estudi transversal de 218 dones majors de 70 anys. Es va controlar l'excreció d'àcid 4-O-metilgàlic (4OMGA, un biomarcador de polifenols del te al cos). Es va associar un consum més elevat de te i, per tant, una excreció més elevada de 4OMGA amb una menor pressió arterial. Els polifenols del te poden ser els components responsables de la disminució de la pressió arterial. L'efecte pot ser degut a l'activitat antioxidant i a la millora de la funció endotelial o a l'activitat com estrògens (García-Lafuente et al. 2009). L'associació entre la ingesta de polifenols o el consum d'aliments rics en polifenol i l'incident de malalties cardiovasculars també es va examinar en diversos estudis epidemiològics i es va comprovar que el consum de dieta rica en polifenols s'ha associat a un menor risc d'infart de miocardi tant en el control de casos com en estudis de cohort (Peters, Poole, and Arab 2001).

### 2.6.3 Càncer

L'efecte dels polifenols sobre el càncer humà, sovint és protector i comporta una reducció en quant a nombre de tumors i al creixement d'aquests. Aquests efectes s'han observat a diverses zones de l'organisme humà com per exemple: boca, estómac, duodè, còlon, fetge, pulmó, glàndula mamària o pell. S'han fet proves amb molts polifenols, com la quercetina, les catequines, les isoflavones, els lignans, les flavanones, l'àcid elàgic, els polifenols de vi negre, el resveratrol i la curcumina; tots ells van mostrar efectes protectors encara que les seves maneres d'actuar contra el càncer variaven a mesura que variava el polifenol, és a dir, cada classe de polifenols té un mecanisme d'acció diferent. Arrel d'aquests experiments s'han identificat diversos mecanismes d'acció a favor de la quimioprevenició dels polifenols, entre els quals destaquen l'activitat estrogènica (producció de les hormones sexuals), antiproliferativa (relantització o inhibició del desenvolupament de cèl·lules tumorals), apoptosi (mort cel·lular programada) i canvis en la senyalització cel·lular.

S'ha demostrat que les catequines del te en forma de càpsules quan es lliuren al cos d'homes amb possibilitat de patir un càncer de pròstata, aquestes càpsules van demostrar una activitat preventiva contra el càncer inhibint l'aparició d'aquest tipus de càncer (Khan and Mukhtar 2008). Les teflavines i els tearubigins, un dels polifenols abundants en el te negre, han demostrat tenir una forta propietat contra el càncer. Els polifenols del te negre inhibeixen la proliferació i augmenten l'apoptosi en cèl·lules les quals es podin desenvolupar en un futur en càncer de pròstata (Sharma and Rao 2009). També s'ha informat que la quercetina posseeix propietats anticancerígens contra la proliferació d'un possible càncer pulmonar induït pel benzopirè (és troba al quitrà d'hulla en els tubs d'escapament de vehicles i també s'obté com a causa de la crema de fusta) en ratolins, un efecte que va resultar afectat per la seva activitat de captació de radicals lliures (Kamaraj et al. 2007). El resveratrol evita totes les etapes del desenvolupament del càncer i s'ha trobat que és eficaç en la majoria dels tipus de càncer, incloent-hi el càncer de pulmó, de pell, de mama, de pròstata i de la pell (Athar et al. 2007). Aquests i altres estudis in vitro i in vivo proporcionen una justificació en l'ús de polifenols dietètics en la quimioprevenició del càncer humà, en un enfocament

combinatori amb medicaments quimioteràpics per al tractament eficient de cèl·lules tumorals les quals no responen als avenços mèdics d'avui dia.

#### **2.6.4 Diabetis tipus 2**

El problema principal de la diabetis és que té un nivell molt alt de glucosa en sang. N'hi ha dos tipus de diabetes la 1 i la 2, en aquest cas només ens centrarem en la 2. Amb la diabetis tipus 2, la més comuna, el cos produeix una quantitat insuficient d'insulina. La insulina és una hormona que ajuda a la glucosa a entrar a les cèl·lules per donar-li l'energia necessària per fer les seves funcions. Sense insulina hi ha massa glucosa a la sang. Amb el temps, un nivell alt de glucosa en sang pot causar problemes seriosos en el cor, els ulls, els ronyons, els nervis, i les dents. Les persones obeses, amb història familiar diabètica (genètica) o aquelles que no fan exercici tenen més risc de patir diabetis tipus 2. Nombrosos estudis indiquen els efectes antidiabètics dels polifenols. Les catequines del te han estat investigades pel seu potencial antidiabètic (Rizvi et al. 2005). Els polifenols poden afectar a la concentració de glucosa en sang, sèrum o plasma sanguini a través de diferents mecanismes, incloent-hi la inhibició de l'absorció de glucosa a l'intestí o de la seva captació per teixits propers. S'ha estudiat la inhibició de les glicosidases intestinals (enzims, trenca un enllaç glicosídic per generar dos monosacàrids) i el transportador de glucosa per part dels polifenols (Matsui et al. 2001). Els polifenols individuals, com la (+) catequina (-) epicatequina (-) epigallocatecina, el galat epicatequina, les isoflavones de soja, àcid tànic, glicirricina, àcid clorogènic i saponines també disminueixen el transport intestinal intervingut per S-Glut-1 (proteïnes de membrana que participen en el transport de la glucosa a través de la membrana de diferents teixits) de glucosa. Les saponines també retarden la transferència de glucosa de l'estómac a l'intestí prim.(Dembinska-Kiec et al. 2008). Els polifenols de ceba, especialment la quercetina, tenen una forta activitat antidiabètica. Un estudi recent mostra que la quercetina té capacitat per protegir les alteracions en pacients diabètics durant l'estrès oxidatiu. L'àcid ferulic (FA) és un altre polifenol molt abundant en verdures i segó de blat de moro. Diverses línies d'evidència han demostrat que la FA funciona com un potent agent antidiabètic actuant a molts nivells, redueix el nivell la glucosa a la sang (Barone, Calabrese, and Mancuso 2009) (Athar et al. 2007)

### 2.6.5 Protecció neurològica

Un dels processos més importants en les malalties neurodegeneratives és l'estrès oxidatiu i els danys a les macromolècules cerebrals. L'Alzheimer és una malaltia molt coneguda i es considera un dels desordres neuronals més freqüents i afecta a més de 18 milions de persones d'arreu del món. A causa de la capacitat antioxidant que posseeixen els polifenols, el consum d'aquests pot proporcionar protecció en malalties neurològiques (Letenneur et al. 2007). Es va observar en uns estudis, que les persones que bevien una mitja de tres a quatre copes de vi diàries tenien un 80% de disminució de la incidència de demència i de l'Alzheimer en comparació a aquelles persones que beuen menys copes de vi o no veuen. Sempre tenint en compte que això no vol dir que beure molt de vi sigui bo, ja que és alcohol i s'ha d'anar amb compte amb el consum d'aquest (Scarmeas et al. 2007). També es va comprovar que el consum de suc de fruites i verdures que contenen altes concentracions de polifenols, almenys tres vegades per setmana, pot tenir un paper important a l'hora de prevenir i retardar l'aparició de l'Alzheimer (Dai et al. 2006). Un dels motius per els quals els polifenols de les fruites i les verdures es consideren agents potencials en neuroprotecció, és per les seves capacitats d'intervenir, influir i modular processos cel·lulars tan importants com la senyalització, la proliferació, l'apoptosi, l'equilibri redox i la diferenciació (Singh et al. 2008).

Estudis recents d'Aquilano K, Baldelli S, Rotilio G, Ciriolo MR (Aquilano et al. 2008) van informar que l'administració de polifenols proporciona efectes protectors contra el Parkinson, una malaltia produïda per un procés neurodegeneratiu multisistèmic que afecta el sistema nerviós central, el que provoca l'aparició de símptomes motors i no motors. El Parkinson és una malaltia crònica i afecta de diferent manera a cada persona que la pateix, l'evolució pot ser molt lenta en alguns pacients i en altres pot evolucionar més ràpidament. No és una malaltia fatal, el que significa que l'afectat no mor a causa del Parkinson. Recerques nutricionals relacionen el consum de te verd amb el risc reduït de desenvolupar Parkinson.



## 2.7 Part pràctica

En quant a la part pràctica i experimental del meu treball de recerca, aquest està dividit en dues parts molt diferents però totes dues d'una gran importància, la primera part està basada en la recerca informàtica a través d'una pàgina web anomenada phenol-explorer. Aquesta és la primera base de dades completa sobre el contingut de polifenols dels aliments i conté més de 35.000 valors de contingut per a 500 diferents polifenols en més de 400 aliments. Aquestes dades es deriven de la recopilació sistemàtica de més de 60.000 valors de contingut originals que es troben en més de 1.300 publicacions científiques. Prèviament a ser publicades han estat avaluades críticament abans d'incloure-les a aquesta base de dades. Per saber quins aliments cercar en aquesta pàgina de web, prèviament haurem de mirar la composició dels tes i infusions que analitzaré, els quals els podré trobar en l'etiqueta. L'altre part pràctica d'aquest treball és de naturalesa analítica, treballarem en un laboratori per veure quin és el contingut total polifenòlic dels aliments analitzats. Per aquesta recerca les parts i els aparells més importants són els següents: El espectrofotòmetre de masses i el previ "entrenament" per aprendre a utilitzar les micropipetes amb una gran precisió.

### 2.7.1 Phenol-Explorer

#### a. Recerca computacional

Com ja he dit abans aquesta part es tracta de mirar la composició dels diferents tes i infusions a l'etiqueta o capsa d'aquests i posteriorment buscar per aquesta base de dades el contingut polifenòlic. La majoria de tes estan compostos per tan sols un aliment o herba, en canvi les infusions com el dormir o el digest entre altres estan compostos per diversos aliments dels quals de vegades no surten els percentatges. Per tant en aquesta part el que més es valora és l'habilitat per trobar informació veraç a internet. Tot i que si es busca insistentment s'acaba trobant la informació que busquem, en el cas dels polifenols, al tractar-se d'una tema no molt antic i el qual s'està estudiant encara avui dia, hi ha aliments els quals encara no s'han analitzats els seus continguts

polifenòlics. Per aquest motiu podrem trobar en les taules que he fet una “n.q” la qual vol dir aliment no analitzat. Per altra banda, abans de veure les taules s’ha de dir que potser que tingui més polifenols, és a dir, potser només surten dos tipus de polifenols però en realitat està composta per 50 i si no surten és perquè no s’ha analitzat o perquè són quantitats tan petites que ni tan sols es quantifiquen.

### b. Recerca del diferents tes i infusions

A continuació podrem veure unes taules on les quals s’indica en contingut polifenòlic del te negre, te descafeïnat, te vermell, te verd, sen i camamilla. Només estan aquests tes i infusions degut a que la seva composició no és molt complicada és a dir no tenen més d’un component.

	Te negre	Te verd	Te vermell	Te descafeïnat	Sen (sen + fràngula)	Camamilla
<b>Flavanols</b>	n.q	n.q	n.q	52.68	n.q	n.q
<b>Flavones</b>	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q
<b>Flavanols monomers</b>	49.46	65.7	n.q	n.q	n.q	2.07
<b>Flavanols (procianidines)</b>	23.83	5.58	n.q	n.q	n.q	n.q
<b>Flavonols</b>	n.q	3.05	n.q	4.51	n.q	n.q
<b>Àcids fenòlics</b>	18.81	12.53	n.q	n.q	n.q	n.q
<b>Lignans</b>	0.03985	0.03488	n.q	n.q	n.q	n.q
<b>Suma de Polifenols</b>	101.45	86.89	n.q	57.19	n.q	2.07
<b>Polifenols totals</b>	104.48	61.86	Aprox. 50	n.q	n.q	22.8

Taula 5. polifenols segons phenol explorer (mg/100 mL). Font: Pròpia 2018

n.q: no quantificat

Després d’aquesta primera taula tenim diferents taules en les quals en l’eix vertical podrem veure els components i els percentatges (només si surt a l’etiqueta). En l’eix horitzontal podrem veure els diferents tipus de polifenol dels quals estan compostos.

## Els polifenols, uns desconeguts

Respir	Flavanols monomers	Polifenols Totals
Farigola (25%)	n.q	51.10
Eucaliptus (25%)	n.q	n.q
Menta (25%)	10.23	n.q
Romani (25%)	n.q	35.80

Taula 6. polifenols segons phenol explorer (mg/100 mL). Font: Pròpia 2018

n.q: no quantificat

Digest (porcentatges no indicats)	Flavanols monomers	Àcids fenòlics	Altres polifenols	Suma de polifenols	Polifenols Totals
Camamilla	2.07	n.q	n.q	n.q	n.q
Boldo	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q
Menta	10.23	n.q	n.q	n.q	n.q
Fonoll	3.26	0.78	2.50	6.54	n.q

Taula 7. polifenols segons phenol explorer (mg/100 mL). Font: Pròpia 2018

n.q: no quantificat

Figura	Flavones	Flavanols monomers	Flavanols (procianidines)	Flavonols	Àcids fenòlics	Lignans	Suma de polifenols	Polifenols Totals
Te verd	n.q	65.7	5.58	3.05	12.53	0,03 488	86,89	61.86
Sen	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q
Carchofa	57.8	n.q	n.q	n.q	202.23	n.q	260.03	1142.4
Cua de cavall	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q

Taula 8. polifenols segons phenol explorer (mg/100 mL). Font: Pròpia 2018

n.q: no quantificat

## Els polifenols, uns desconeguts

<b>Dormir</b>	<b>Flavanols (procionidines)</b>	<b>Àcids fenòlics</b>	<b>Altres polifenols</b>	<b>Suma de polifenols</b>	<b>Polifenols Totals</b>
<b>Melisa</b>	1.21	66.2	n.q	n.q	n.q
<b>Pasiflora</b>	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q
<b>Til·la</b>	n.q	n.q	n.q	23.3	n.q
<b>Valeriana</b>	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q

Taula 9. polifenols segons phenol explorer (mg/100 mL). Font: Pròpia 2018

n.q: no quantificat

<b>Fruites</b>	<b>Flavanols (procionidines)</b>	<b>Flavanols monomers</b>	<b>Flanonols</b>	<b>Àcids fenòlics</b>	<b>Lignans</b>	<b>Suma de polifenols</b>	<b>Polifenols Totals</b>
<b>Hibisc (45%)</b>	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q
<b>Fulla de taronja (24%)</b>	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q
<b>Poma (20%)</b>	14.56	9.59	6.86	19	n.q	50.01	200.96
<b>Aroma natural de cirera (5%)</b>	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q
<b>Arrel de xicoria (5%)</b>	n.q	n.q	n.q	192.59	4.91	197.5	n.q
<b>Escorça de taronja (1%)</b>	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q	n.q

Taula 10. polifenols segons phenol explorer (mg/100 mL). Font: Pròpia 2018

n.q: no quantificat

## 2.7.2 Folin-Ciocalteu

El Folin-Ciocalteu és un mètode que s'utilitza per a mesurar el contingut de compostos fenòlics totals en diferents aliments d'origen vegetal. Aquest mètode es basa en que els compostos fenòlics que hi hagin a la mostra, aquests reaccionaran amb el reactiu Folin-Ciocalteu a un pH bàsic, i això provocarà una coloració més blavosa susceptible per a ser determinada amb l'espectrofotòmetre a 765nm. Aquest reactiu està compost per una barreja de wolframat sòdic i molibdat sòdic en àcid fosfòric, els quals posteriorment reaccionaran amb els compostos fenòlics presents a la mostra. L'àcid fosfomolibdotúngstico (format per les dues sals en el medi àcid), de color groc, en ser reduït pels grups fenòlics dóna lloc a un complex de color blau intens, la intensitat és la que mesurem per avaluar el contingut en polifenols (Figura 1).

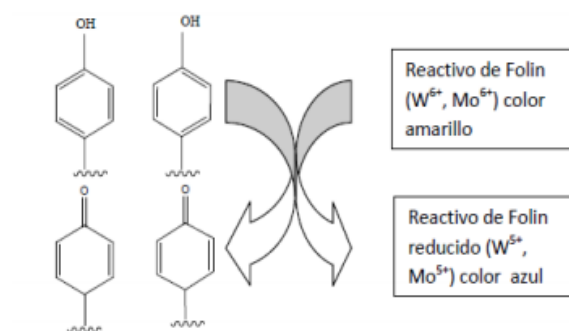


Fig. 5 . Mecanisme d'acció del reactiu de Folin-Ciocalteu. Font: <https://un-menu-inteligente.webnode.es/metodos-de-extraccion-y-analisis/>

El mecanisme emprat en aquesta reacció és redox, , pel això també ho podem considerar com a un mètode de mesura de l'activitat antioxidant total. La oxidació dels polifenoles presents en la mostra, provoca l'aparició de la coloració blavosa mencionada abans, la qual presenta una absorció màxima de 765nm i que es quantifica per espectrofotometria en base a una recta patró en aquest cas de catequina, encara que també podria ser d'àcid gàl·lic . Es tracta d'un mètode precís i sensible, per tant hem de disposar d'una màxima concentració i exactitud en les mesures i en les condicions que ens envoltin mentre duri l'experiment.

### **a. Objectius**

Desenvolupar el mètode de Folin - Ciocalteu en diverses cubetes per analitzar el contingut de polifenols totals en tes i infusions.

### **b. Definicions**

És un mètode colorimètric el qual es basa en la reducció per un mitja alcalí, d'una mescla d'àcid fosfomolibdic i fosfowolfràmic (reactiu de Folin - Ciocalteu) per part dels polifenols. En aquesta reacció redox es formen uns òxids de wolframi i molibdè que donen lloc a una coloració blava proporcional a la concentració de polifenols, la qual es determinarà posteriorment amb l'ajut de l'espectrofotòmetre de masses que ho determinarà exactament llegint a 725nm (García, Fernández, and Fuentes 2015) .

### **c. Procediments relacionats**

L'instrument utilitzat en l'espectrometria ultraviolada-visible es diu espectrofotòmetre UV-Vis. Mesura la intensitat de llum que passa a través d'una mostra ( $I$ ), i la compara amb la intensitat de llum abans de passar a través de la mostra ( $I_0$ ). La relació  $I / I_0$  es diu transmissió, i s'expressa habitualment com un percentatge (% T). La absorbància ( $A$ ) es basa en la transmissió

L'electroscòpia UV/V es fa servir habitualment a la química analítica per la determinació quantitativa de diverses substàncies. Es fan normalment anàlisi en solucions però també es poden fer en sòlids i gasos. És a dir passa la llum a través de la mostra i segons el color (quant més blavós és el color més absorbent és) ens donarà uns valors.

La Llei Beer-Lambert estableix que l'absorbància d'una solució és directament proporcional a la concentració d'espècies químiques que absorbeix en la solució i a la longitud d'ona. Per això en una longitud d'ona fixada, l'espectroscòpia, UV/Vis es pot usar per determinar la concentració de l'absorbit en una solució.



Fig. 6. Espectrofotòmetre. Font: <https://www.tecnylab.es/es/espectro-fotometros/4868-espectrofotometro-uvvis-426050.html>

#### d. Materials i aparells

- Aparell de mesura de les absorbàncies :  
Espectrofotòmetre UV/VIS/NIR  
Thermo Multiskan Spectrum
- Cubetes de 10mm de diàmetre de vidre model 100-OS
- Vasos de precipitats
- Proveta de 100 ml
- Agitadors magnètics
- Fiola de vidre de 5, 10 i 20 mL
- Flascó de reactiu
- Pipeta Pasteur
- Cullera
- Pipeta de 200 i de 1000  $\mu$ l
- Matràs aforat de 250 mL
- Gerra per fer bullir l'aigua
- Imants
- Gradetes



Fig. 7. Micropipetes. Font: Pròpia 2019



Fig. 8. Agitador. Font: Pròpia 2019

- Infusions i tes
  - Te negre
  - Te verd
  - Te vermell
  - Te descafeïnat
  - Infusions de fruites i plantes aromatitzades
  - Infusió per dormir
  - Infusió per respirar
  - Infusió per a cuidar el teu pes
  - Infusió per a la digestió
  - Infusió per al trànsit intestinal
  - Camamilla



Fig.9. Te Verd.  
Font: Pròpia 2019



Fig.10. Figura.  
Font: Pròpia 2019



Fig.11. Te Descafeïnat.  
Font: Pròpia 2019



Fig.12. Te Negre.  
Font: Pròpia 2019



Fig.13. Dormir.  
Font: Pròpia 2019



Fig.14. Digest.  
Font: Pròpia 2019



Fig.15. Camamilla.  
Font: Pròpia 2019



Fig.16. Te Vermell.  
Font: Pròpia 2019



Fig.17. Respir.  
Font: Pròpia 2019



Fig.18. Sen. Font:  
Pròpia 2019



Fig.19. Fruites.  
Font: Pròpia 2019



### e. Solucions i reactius

- Reactiu de Folin-Ciocalteu (Sigma®, Ref. 47641)
- Carbonat sòdic (Panreac®, Ref. 141648.1211)
- Patró de catequina (Sigma®, Ref. C1251-10G)
- Agua destil·lada



Fig.20. Patró catequina. Font: Pròpia 2019



Fig.21. Folin-Ciocalteu. Font: Pròpia 2019



Fig.22. Carbonat Sòdic. Font: Pròpia 2019

### f. Conservació de les mostres i reactius

- Guardar la solució de carbonat sòdic al 20% en una ampolla de color topazi a temperatura ambient. Aquesta solució només es pot utilitzar durant un màxim de 30 dies ja que és bastant estable.
- El reactiu de Folin-Ciocalteu l'hem de guardar a la nevera

### g. Condicions de treball

Treballar amb llum tènue o vermella en una habitació on l'entrada de llum natural i artificial estigui limitada ja que els components a analitzar són molt sensibles davant aquesta. Quan es prepari la solució de carbonat sòdic, és obligatori treballar amb guants i sota la campana d'extracció, ja que donarà lloc a una reacció exotèrmica.

## **h. Procediment**

### **h.1 Preparació de la solució de carbonat sòdic al 20%**

Per preparar 250 mL d'aquesta solució s'ha d'utilitzar guants

- Pesar 50 g de carbonat sòdic en un vas de precipitats
- Dissoldre amb aproximadament 100mL d'aigua bidestil·lada. Posar-ho a l'agitador magnètic fins que es dissolgui completament el carbonat sòdic
- Traspasar la solució a un matràs aforat de 250 mL i enrasar-ho amb aigua bidestil·lada

### **h.2 Preparació de la recta calibrat**

La recta de calibrat es construeix a partir d'una solució de catequina de 100 ppm. Per preparar aquesta solució patró prèviament s'ha de preparar una solució de 5000 ppm i a partir d'aquesta es prepara el patró de 100 ppm.

#### Per preparar la solució patró de 5000ppm

- Pesar 50 g de catequina
- Introduir-lo en un matràs aforat de 10 ml i dissoldre-ho amb 2ml de metanol
- Enrasar-ho fins a 10 ml amb aigua bidestil·lada

#### Per preparar la solució patró de 100ppm (mg/L)

- Posar amb una micropipeta 1ml de la solució patró de 5000 ppm en un matràs de 50 ml
- Enrasar-ho amb aigua bidestil·lada

A partir d'aquesta solució s'elabora la recta de calibrat la qual estarà formada per 4 o 5 punts més el blanc

- Recta de catequina: Blanc, 0'5ppm (optatiu), 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 8ppm

Tots els punts es repetiran per duplicat

Per preparar la recta de calibrat s'han de seguir els passos següents:

1. Introduir en les cubetes l'aigua bidestil·lada com indica la taula 1
2. Afegir la quantitat necessària de patró de 100 ppm (catequina) per obtenir els diferents ppm de la recta del reactiu Folin-ciocalteu i el carbonat sòdic al 20% com indica la taula 1
- 3.

Patró	Catequina					
Concentració (ppm)	Blanc	0,5	1	2	4	8
Volum per afegir d'aigua bidestil·lada ( $\mu$ l)	2400	2380	2360	2320	2240	2080
Volum per afegir de patró de 100ppm (catequina) ( $\mu$ l)	0	20	40	80	160	320
Volum per afegir de reactiu Folin-Ciocalteu ( $\mu$ l)	160					
Volum per afegir de carbonat sòdic al 20% ( $\mu$ l)	480					

Taula 1.

4. Deixar 1 hora les cubetes a la foscor perquè es produeixi la reacció redox
5. Afegir 960  $\mu$ l d'aigua bidestil·lada
6. Homogeneïtzar la solució amb l'ajut de la micropipeta
7. Llegir les absorbàncies amb l'espectrofotòmetre a 765 nm
8. Calcular la recta de calibrat

Realització de la recta patró de catequina: Realitzem les mostres com indica la taula ( ) i una vegada fetes les mostres les passem per el espectrofotòmetre cloromètric i aquest ens donarà un valor. Apuntem els valors al Excel i realitzem una gràfica, aquests valors

són com uns bancs però duplicats és a dir són valors els qual ja sabem prèviament i els qual ens donaran veracitat al procediment. Haurem de fer 14 rectes mes o menys per a obtenir la més precisa possible. Una vegada realitzada la recta obtindrem la formula de la recta per tal de obtenir els valors dels continguts polifenòlics del aliments analitzats.

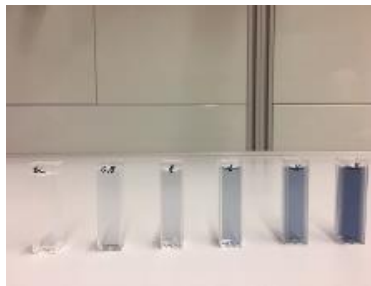


Fig. 23. Mostres de la recta. Font: Pròpia 2019

### h.3 Determinació de les mostres

Paral·lelament a la preparació de la recta de calibrat s'haurà de preparar les mostres en cubetes per triplicat. El protocol a seguir serà diferent segons les diferents mostres.

- Mostres de te

Fer una dilució de 1:20 de la mostra de la següent manera:

- Posar 1ml de te en un matràs aforat de 20 ml
- Enrasar fins a 20 ml amb aigua bidestil·lada

A continuació haurem de seguir les instruccions de la taula 2, seguint l'ordre establert.

- Mostres d'infusions

Fer una dilució de 1:5 de la mostra de la següent manera:

- Posar 1ml de te en un matràs aforat de 5 ml
- Enrasar fins a 5 ml amb aigua bidestil·lada

A continuació haurem de seguir les instruccions de la taula 2, seguint l'ordre establert.

Fer una dilució de 1:10 de la mostra de la següent manera:

- Posar 1ml de te en un matràs aforat de 10ml
- Enrasar fins a 5 ml amb aigua bidestil·lada

A continuació haurem de seguir les instruccions de la taula 2, seguint l'ordre establert.

Mostra a analitzar	Volum d'aigua bidestil·lada	Volum de la mostra	Volum de carbonat sòdic al 20%	Volum de reactiu Folin-Ciocalteu	Repòs a la foscor
Te o infusió	2080 µl	320 µl	480 µl	160 µl	1h

Taula 2. Anàlisi de Folin Ciocalteu per a les mostres

Una vegada ha passat l'hora de repòs a la foscor:

- S'ha d'afegir 960 µl d'aigua bidestil·lada
- Homogeneïtzar la solució amb l'ajut de la micropipeta
- Llegir les absorbàncies al espectrofotòmetre a 765 nm
- Calcular la concentració de les mostres extrapolant el resultat en la recta patró



Fig.24. Elaboració de les mostres de te i infusions. Font: Pròpia 2019

### i. Resum

Primer de tot hauré de realitzar una pràctica amb micropipetes, cadascuna amb una mesura diferent. Això té una gran importància de cara a l'experiment ja que si cometo errors de mesura els resultats obtinguts no seran del tot vàlids. Una vegada feta aquesta part, prepararé la solució de catequina tal i com indica la taula (), ja que primer de tot hauré de preparar diverses rectes patró per aconseguir aquesta exactitud que estem buscant. Llavors ja estaré preparada per realitzar les infusions i les solucions necessàries per obtenir unes bones conclusions. Primer de tot prepararé les infusions, en un agitador posaré 100mL d'aigua bullint dins d'un vas de precipitats, un imant i també la bosseta de te. Aquest procés durarà 5 minuts i a una velocitat baixa-mitjana. Però sempre les mateixes condicions per a preparar les infusions. Una vegada preparades les infusions les passarem per un paper de filtre per a aconseguir homogeneïtat. Després, amb la micropipeta agafarem les mesures dictades per la taula 1 per posar-les en les cubetes, de cada mostra farem 3 repeticions, a la mateixa vegada farem dues rectes tal i com diu la taula 2. Previ a això haurem de treballar amb llums infraroges ja que els polifenols són fotosensibles. Esperarem una hora i els analitzarem en el espectrofotòmetre de masses. Després de tres setmanes fent aquest treball gràcies a l'excel i a la fórmula general obtinguda per la recta  $y = 0,1109x + 0,0291$  obtindrem els resultats.

j. Expressió dels resultats

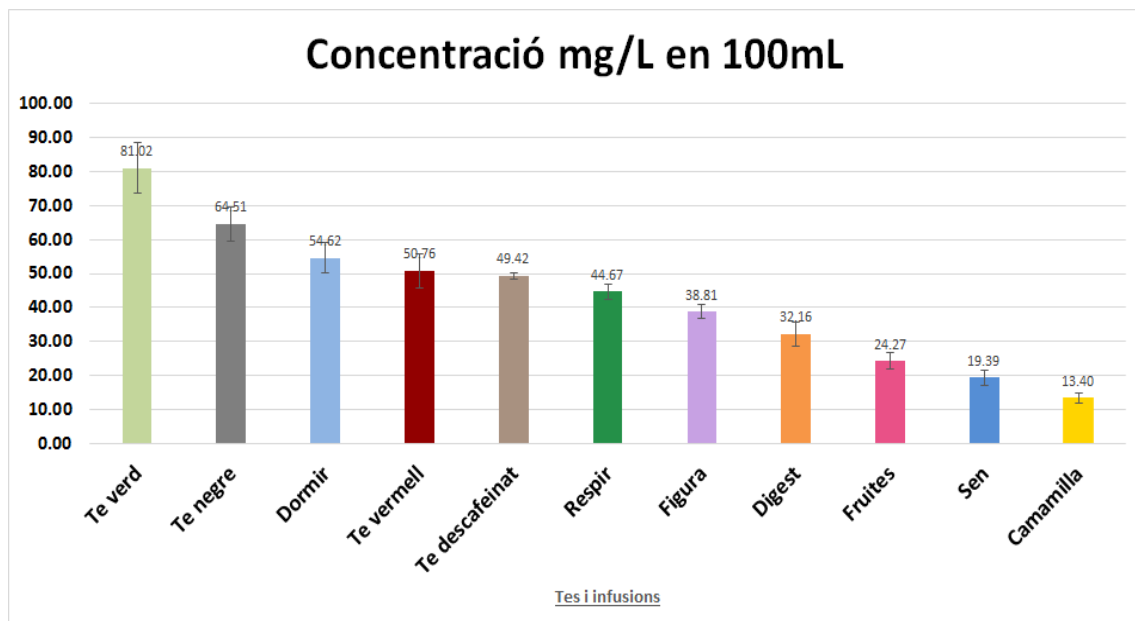


Fig.25. Gràfic de concentració en mg/L de les mostres. Font: Pròpia

Una vegada hem obtingut aquests resultats, podem dir que dins de tots els tes i infusions analitzats, el que més polifenols té és el te verd, seguit del te negre, dormir, te vermell, te descafeïnat, respir, figura, digest, fruites, sen i per últim camamilla. Podem observar com els tes tenen grans quantitats de polifenols, en canvi la majoria de les infusions excepte el dormir es troben a la part dreta de la taula degut al seu baix contingut polifenòlic. En el gràfic també podem observar el possible error comés i la seva tendència o oscil·lació. Després d'obtenir aquests resultats, podríem dir que el te que ens proporcioni una millora més significativa en comparació amb la resta de mostra, diríem que és el te verd. Però abans d'aquest, haurem de comparar els nostres resultat de la part experimental amb la part computacional i veure si el te verd a més de tenir un gran quantitat de polifenols si també els seus polifenols són biodisponibles. Això marcarà la diferència.

### 3. Conclusions

Aquesta, és probablement la part més important de tots els treballs de recerca, el punt on es verifica si s'ha realitzat correctament el procediment i on es dona una resposta coherent a la hipòtesis inicial. Recuperant aquesta pregunta; Quins tipus d'infusions ens proporcionen una millora fisiològica a llarg termini segons els seus continguts polifenòlics?

Després de realitzar correctament els procediments indicats explicats en la part pràctica, hem obtingut el següent gràfic, ja mostrat anteriorment:

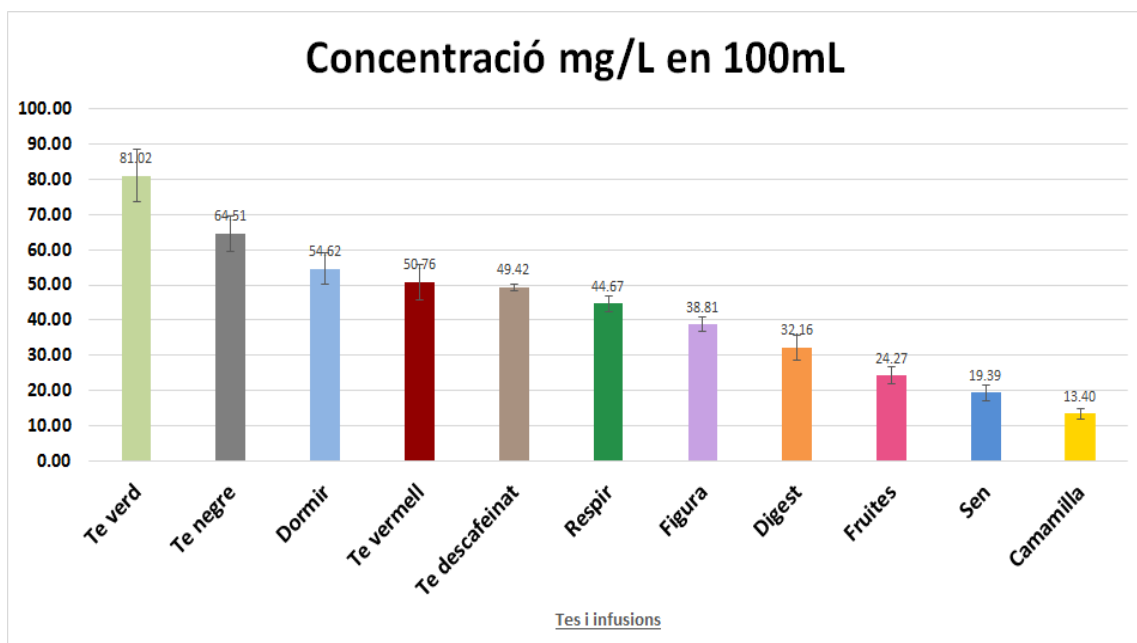


Fig.25. Gràfic de concentració en mg/L de les mostres. Font: Pròpia

Per obtenir aquest gràfic, prèviament vam obtenir la recta de patró de catequina següent:



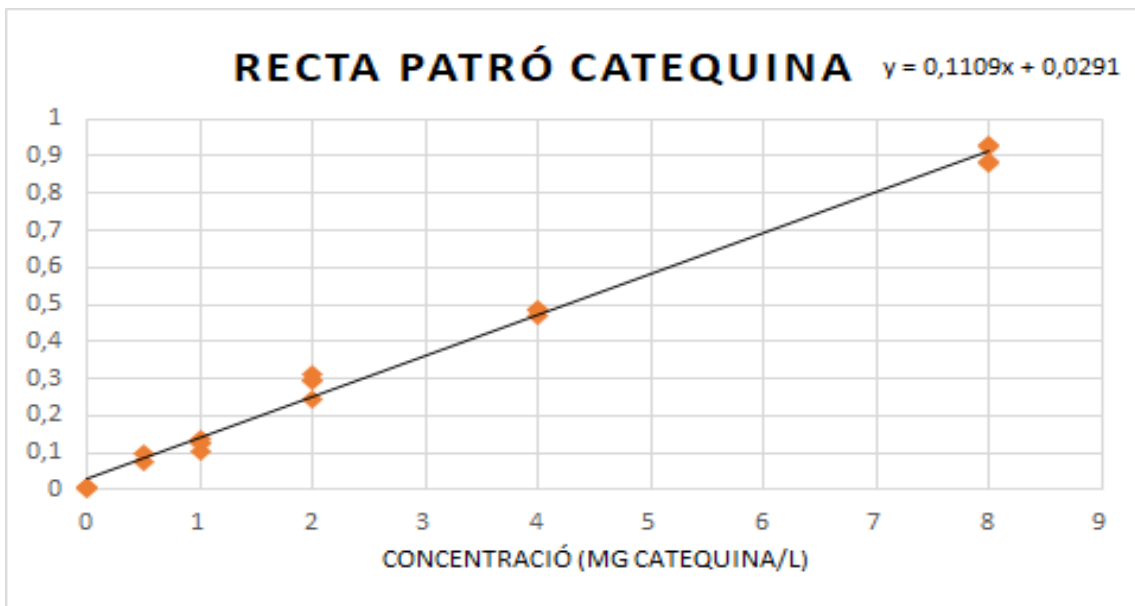


Fig. 26. Recta patró de catequina. Font: Pròpia 2019

Després d'obtenir aquests resultats, haurem de trobar-li una resposta al perquè d'aquests i quin serà el te o infusió que ens proporcionarà una millora a la majoria de la població segons el seu contingut polifenòlic i pel tipus de polifenols que hi hagi. Per a donar-li una resposta coherent al perquè dels resultats, compararem les dades obtingudes gràcies al phenol-explorer amb les dades de la part experimental per a poder relacionar-lo finalment amb la salut. Per això, haurem de veure si els polifenols per exemple que té el te verd són tots biodisponibles, si això és així, voldrà dir que és una beguda la qual ens aportarà molts beneficis a llarg termini, ja que els polifenols seran absorbits.

Per veure això ens basarem principalment en veure que hi ha abans de ser ingerit l'aliment i els resultats obtinguts en la cromatografia una vegada feta la hidròlisi. Segons el phenol-explorer els que més polifenols tenen són el te negre en primer lloc i en segon lloc el te verd, en canvi, en la prova analítica o experimental, els resultats obtinguts són diferents, en primer lloc trobem el te verd i en segon el negre. Per tant està clar que els dos que més tenen són tots dos tipus de tes, però no queda clar quin té més. Una possible resposta a això seria la variabilitat del contingut polifenòlic, pot ser que com els tes que hem analitzat han estat exposats a condicions diferents que aquells

que han estat analitzats pel phenol-explorer, doncs hi hagi un petit error. De fet, quan vam obtenir aquest gràfic, els professors d'Universitat es van estranyar una mica al veure els meus resultats, ja que ja havien realitzat aquest experiment prèviament i els resultats no eren els mateixos. Van contrastar els meus resultats amb els que ja tenien i van veure que el te verd era el primer, després el dormir i en tercer lloc el te negre. L'explicació a aquesta variabilitat en els resultats és que aquell experiment es va fer un any enrere i les mostres que jo vaig utilitzar eren les mateixes però havien passat més d'11 mesos exposades a l'aire i a condicions de temperatura i humitat normals, les caixes de les mostres estaven obertes i les bossetes dels tes i de les infusions probablement s'havien assecat. Gràcies a això podem veure com influeix la variabilitat del contingut polifenòlic a causa de factors naturals i de manipulació dels productes. També hem de considerar un error mínim al llarg de l'experiment. Per tant aquest error es té en compte a la gràfica i també a l'hora de fer els resultats. Però així i tot, considerant els resultats que hem obtingut al llarg de la part pràctica i veient la repetició constant aplicada durant el seguiment d'aquest procediment, podríem dir que el te que té més polifenols és el verd. Però abans d'això haurem de veure quins polifenols tenen els dos tes amb percentatges més alts per veure si són polifenols amb un percentatge alt d'absorció per a la majoria de la població, és a dir si són biodisponibles o pel contrari no ho són i per tant no contribueixen a la millora que estem buscant. Per tant, només ens cal saber quin dels dos tes és més biodisponible que l'altre per a acabar de contestar la hipòtesi, és el punt més important. Només podem saber la biodisponibilitat del te negre i verd, ja que phenol explorer no conté les dades de la resta de productes analitzats. Aquesta és la taula que obtenim en percentatge de biodisponibilitat o absorció.

<b>Infusions</b>	<b>Polifenols totals</b>	<b>Absorció</b>	<b>Polifenols no absorbits</b>	<b>Percentatge absorció</b>
Te verd	61,86	53,1	8,76	85,84
Te negre	104,48	93,01	11,47	89,02

Taula.10 . Biodisponibilitat del te negre i el te verd .Font: Pròpia 2019

I aquest el gràfic interpretant les dades anteriors:

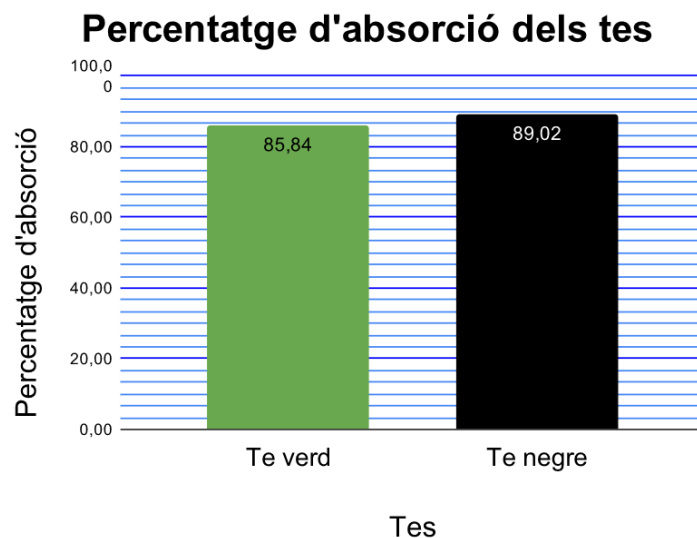


Fig.27.Representació gràfica de la biodisponibilitat. Font: Pròpia 2019

Ara ja si que hem obtingut totes les dades necessàries per a contestar la nostre hipòtesi de manera contundent, veient i interpretant les dades resultats de les recerques podríem dir que segons el phenol-explorer i el procediment de folin ciocalteu els tes i infusions amb més polifenols són el te negre i el te verd. Però comparant-ho amb la taula de biodisponibilitat o també anomenada absorció **podem confirmar ara sí amb tota seguretat que el te analitzat amb més biodisponibilitat durant tot el nostre treball és el te negre ja que un 89,02% de tots els seus polifenols són absorbits en els humans. En concret, el te negre ens aportarà aquesta millora que estem buscant a nivell fisiològic.**

## 4. Fonts d'informació

- Adlercreutz, Herman, and Witold Mazur. 1997. "Phyto-Oestrogens and Western Diseases." *Annals of Medicine*.
- Aquilano, Katia, Sara Baldelli, Giuseppe Rotilio, and Maria Rosa Ciriolo. 2008. "Role of Nitric Oxide Synthases in Parkinson's Disease: A Review on the Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of Polyphenols." *Neurochemical Research*.
- Arts, I. C.W., P. C.H. Hollman, and D. Kromhout. 1999. "Chocolate as a Source of Tea Flavonoids." *Lancet*.
- Athar, Mohammad et al. 2007. "Resveratrol: A Review of Preclinical Studies for Human Cancer Prevention." *Toxicology and Applied Pharmacology*.
- Aviram, Michael et al. 2000. "Pomegranate Juice Consumption Reduces Oxidative Stress, Atherogenic Modifications to LDL, and Platelet Aggregation: Studies in Humans and in Atherosclerotic Apolipoprotein E-Deficient Mice." *American Journal of Clinical Nutrition*.
- Barone, Eugenio, Vittorio Calabrese, and Cesare Mancuso. 2009. "Ferulic Acid and Its Therapeutic Potential as a Hormetin for Age-Related Diseases." *Biogerontology*.
- Cassidy, Aedin, Sheila Bingham, and Kenneth D.R. Setchell. 1994. "Biological Effects of a Diet of Soy Protein Rich in Isoflavones on the Menstrual Cycle of Premenopausal Women." *American Journal of Clinical Nutrition*.
- Clifford, Michael N. 2000. "Chlorogenic Acids and Other Cinnamates - Nature, Occurrence, Dietary Burden, Absorption and Metabolism." *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- "COLORIMETRY OF TOTAL PHENOLICS WITH PHOSPHOMOLYBDIC-PHOSPHOTUNGSTIC ACID REAGENTS." 1965. *American Journal of Enology and Viticulture*.
- Cory, Hannah et al. 2018. "The Role of Polyphenols in Human Health and Food Systems: A Mini-Review." *Frontiers in Nutrition*.
- Crespy, Vanessa et al. 2002. "Quercetin, but Not Its Glycosides, Is Absorbed from the Rat Stomach." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- D'Archivio, Massimo et al. 2007. "Polyphenols, Dietary Sources and Bioavailability." *Annali dell'Istituto superiore di sanita*.
- Dai, Qi et al. 2006. "Fruit and Vegetable Juices and Alzheimer's Disease: The Kame Project." *American Journal of Medicine*.
- Dangles, O. et al. 2001. "Binding of Flavonoids to Plasma Proteins." *Methods in Enzymology*.

- Day, A. J., and G. Williamson. 2001. "Biomarkers for Exposure to Dietary Flavonoids: A Review of the Current Evidence for Identification of Quercetin Glycosides in Plasma." *British Journal of Nutrition*.
- Dembinska-Kiec, Aldona, Otto Mykkänen, Beata Kiec-Wilk, and Hannu Mykkänen. 2008. "Antioxidant Phytochemicals against Type 2 Diabetes." *British Journal of Nutrition*.
- Duffy, Stephen J. et al. 2001. "Short- and Long-Term Black Tea Consumption Reverses Endothelial Dysfunction in Patients with Coronary Artery Disease." *Circulation*.
- Dufour, Claire, Michèle Loonis, and Olivier Dangles. 2007. "Inhibition of the Peroxidation of Linoleic Acid by the Flavonoid Quercetin within Their Complex with Human Serum Albumin." *Free Radical Biology and Medicine*.
- Duthie, G. G. et al. 1998. "The Effect of Whisky and Wine Consumption on Total Phenol Content and Antioxidant Capacity of Plasma from Healthy Volunteers." *European Journal of Clinical Nutrition*.
- García, Eva, Isabel Fernández, and Ana Fuentes. 2015. "Determinación de Polifenoles Totales Por El Método de Folin- Ciocalteu." *Universidad politécnica de Valencia*.
- García-Lafuente, Ana et al. 2009. "Flavonoids as Anti-Inflammatory Agents: Implications in Cancer and Cardiovascular Disease." *Inflammation Research*.
- Gee, Jennifer M., M. Susan Dupont, Michael J.C. Rhodes, and Ian T. Johnson. 1998. "Quercetin Glucosides Interact with the Intestinal Glucose Transport Pathway." *Free Radical Biology and Medicine*.
- Groot, H, and U Rauen. 2009. "Tissue Injury by Reactive Oxygen Species and the Protective Effects of Flavonoids." *Fundamental & Clinical Pharmacology*.
- Hertog, Michael G.L., Peter C.H. Hollman, Michael G.L. Hertog, and Martijn B. Katan. 1992. "Content of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids of 28 Vegetables and 9 Fruits Commonly Consumed in the Netherlands." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Hollman, Peter C.H., Lilian B.M. Tijburg, and Chung S. Yang. 1997. "Bioavailability of Flavonoids from Tea." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- Kamaraj, Sattu et al. 2007. "The Effects of Quercetin on Antioxidant Status and Tumor Markers in the Lung and Serum of Mice Treated with Benzo(a)Pyrene." *Biological and Pharmaceutical Bulletin*.
- Khan, Naghma, and Hasan Mukhtar. 2008. "Multitargeted Therapy of Cancer by Green Tea Polyphenols." *Cancer Letters*.

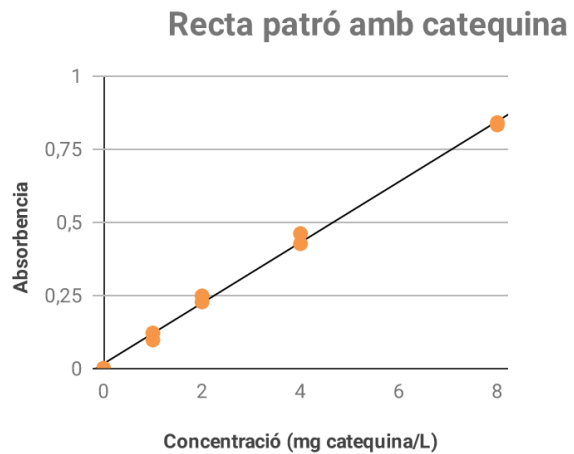
- Kimira, Mitsuru, Yusuke Arai, Kayako Shimoi, and Shaw Watanabe. 2011. "Japanese Intake of Flavonoids and Isoflavonoids from Foods." *Journal of Epidemiology*.
- Kirk, Phyllis, Ruth E. Patterson, and Johanna Lampe. 1999. "Development of a Soy Food Frequency Questionnaire to Estimate Isoflavone Consumption in US Adults." *Journal of the American Dietetic Association*.
- Kroon, Paul A. et al. 1997. "Release of Covalently Bound Ferulic Acid from Fiber in the Human Colon." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Kuhnau, Joachim. 2015. "The Flavonoids. A Class of Semi-Essential Food Components: Their Role in Human Nutrition."
- Letenneur, L. et al. 2007. "Flavonoid Intake and Cognitive Decline over a 10-Year Period." *American Journal of Epidemiology*.
- Manach, Claudine et al. 2004. "Polyphenols: Food Sources and Bioavailability." *American Journal of Clinical Nutrition*.
- Marshall, Milton V., James J. Grady, V. M. SadagopaRamanujam, and Karl E. Anderson. 1995. "Altered Time Course of Urinary Daidzein and Genistein Excretion During Chronic Soya Diet in Healthy Male Subjects." *Nutrition and Cancer*.
- Matsui, Toshiro et al. 2001. "α-Glucosidase Inhibitory Action of Natural Acylated Anthocyanins. 1. Survey of Natural Pigments with Potent Inhibitory Activity." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Nardini, Mirella, Fausta Natella, and Cristina Scaccini. 2007. "Role of Dietary Polyphenols in Platelet Aggregation. A Review of the Supplementation Studies." *Platelets*.
- Olthof, Margreet R., Peter C. H. Hollman, and Martijn B. Katan. 2018. "Chlorogenic Acid and Caffeic Acid Are Absorbed in Humans." *The Journal of Nutrition*.
- Pandey, Kanti Bhooshan, and Syed Ibrahim Rizvi. 2009. "Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease." *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
- Peters, Ulrike, Charles Poole, and Lenore Arab. 2001. "Does Tea Affect Cardiovascular Disease? A Meta-Analysis." *American Journal of Epidemiology*.
- Reinli, Kathrin, and Gladys Block. 1996. "Phytoestrogen Content of Foods - A Compendium of Literature Values." *Nutrition and Cancer*.
- Renaud, S., and M. de Lorgeril. 1992. "Wine, Alcohol, Platelets, and the French Paradox for Coronary Heart Disease." *The Lancet*.

- Rizvi, Syed Ibrahim, Mohd Abu Zaid, Rafat Anis, and Neetu Mishra. 2005. "Protective Role of Tea Catechins against Oxidation-Induced Damage of Type 2 Diabetic Erythrocytes." *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*.
- Santos-Buelga, Celestino, and Augustin Scalbert. 2000. "Proanthocyanidins and Tannin-like Compounds - Nature, Occurrence, Dietary Intake and Effects on Nutrition and Health." *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Scalbert, Augustin. 1992. "Quantitative Methods for the Estimation of Tannins in Plant Tissues." In *Plant Polyphenols*.
- Scalbert, Augustin, and Gary Williamson. 2018. "Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols." *The Journal of Nutrition*.
- Scarmeas, Nikolaos, Jose A. Luchsinger, Richard Mayeux, and Yaakov Stern. 2007. "Mediterranean Diet and Alzheimer Disease Mortality." *Neurology*.
- Setchell, Kenneth D.R. et al. 2003. "Comparing the Pharmacokinetics of Daidzein and Genistein with the Use Of <sup>13</sup>C-Labeled Tracers in Premenopausal Women." *American Journal of Clinical Nutrition*.
- Sharma, Vasundhara, and L. Jagan Mohan Rao. 2009. "A Thought on the Biological Activities of Black Tea." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- Singh, Manjeet et al. 2008. "Challenges for Research on Polyphenols from Foods in Alzheimer's Disease: Bioavailability, Metabolism, and Cellular and Molecular Mechanisms." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Singleton, V L, and Rossi J A Jr. 1965. "Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents." *American Journal of Enology and Viticulture*.
- Spencer, Jeremy P.E. et al. 1999. "The Small Intestine Can Both Absorb and Glucuronidate Luminal Flavonoids." *FEBS Letters*.
- Vinson, J. A., X. Su, L. Zubik, and P. Bose. 2001. "Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Fruits." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Vita, Joseph A. 2005. "Polyphenols and Cardiovascular Disease: Effects on Endothelial and Platelet Function." *The American journal of clinical nutrition*.
- Wakai, Kenji et al. 1999. "Dietary Intake and Sources of Isoflavones among Japanese." *Nutrition and Cancer*.
- Young, Jette F. et al. 1999. "Effect of Fruit Juice Intake on Urinary Quercetin Excretion and Biomarkers of Antioxidative Status." *American Journal of Clinical Nutrition*.

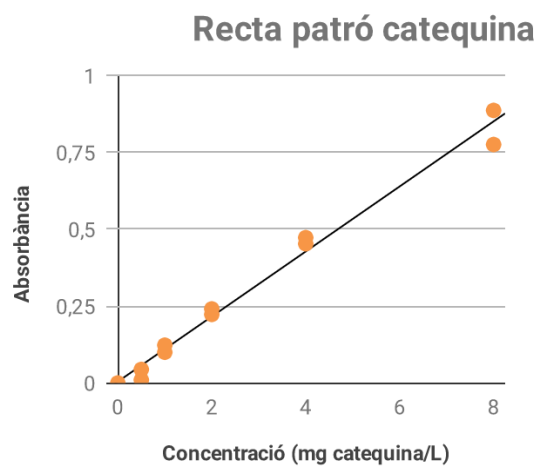
## 5. Annexos

### 5.1 Rectes patró de catequina

Concentració (mg/L)	Absorbància
0	0
1	0,12
1	0,096
2	0,247
2	0,226
4	0,425
4	0,46
8	0,839
8	0,831
dia 28 de maig 2019	



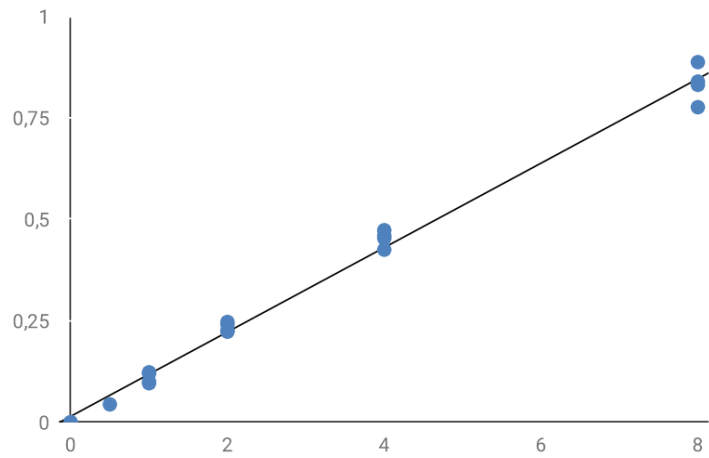
Concentració (mg/L)	Absorbància
0	0
0,5	0,044
0,5	0,01
1	0,1
1	0,123
2	0,241
2	0,223
4	0,453
4	0,473
8	0,776
8	0,887
dia 17 de juny de 2019	





## Els polifenols , uns desconeguts

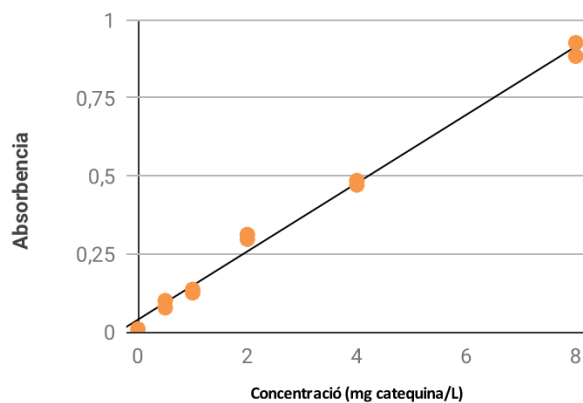
0	0
1	0,12
1	0,096
2	0,247
2	0,226
4	0,425
4	0,46
8	0,839
8	0,831
0	0
0,5	0,044
1	0,1
1	0,123
2	0,241
2	0,223
4	0,453
4	0,473
8	0,776
8	0,887



Concentració (mg/L)	Absorbància
0	0,009
0,5	0,1
0,5	0,077
1	0,136
1	0,125
2	0,297
2	0,312
4	0,471
4	0,485
8	0,927
8	0,884

dia 18 de juny

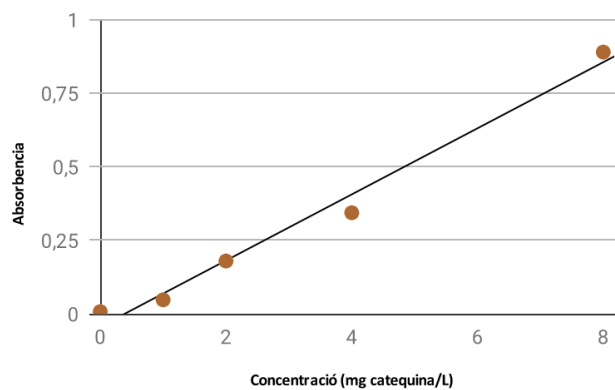
**Recta patró catequina**



Concentració (mg/L)	Absorbància
0	0,008
1	0,048
2	0,18
4	0,344
8	0,89

dia 19 de juny

**Recta patró catequina**

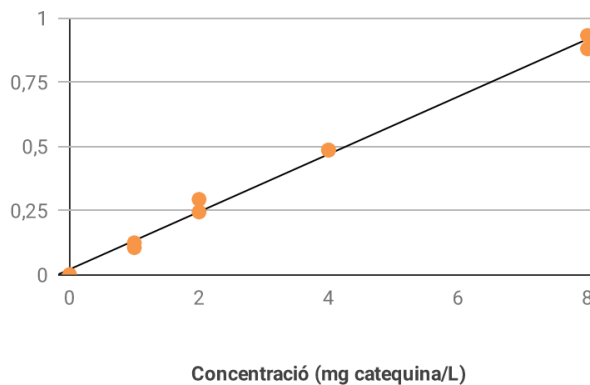


## Els polifenols , uns desconeguts

S'ha tornat a preparar el patró de catequina

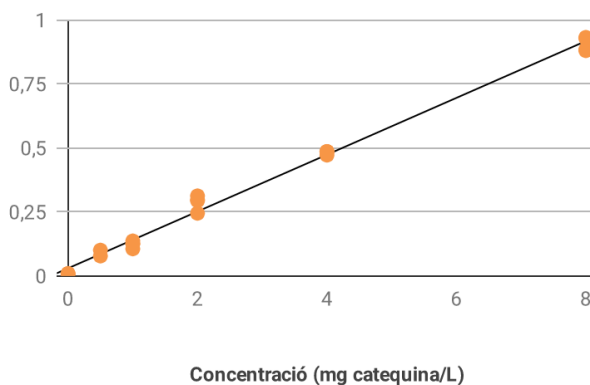
Concentració (mg/L)	Absorbància
0	0
1	0,124
1	0,105
2	0,293
2	0,244
4	0,485
4	0,485
8	0,931
8	0,879
DIA 20 DE JUNY	

Recta patró catequina



GLABAL DE 18 I 20 DE JUNY		
Concentració (mg/L)	Absorbància	
0	0,009	
0	0,008	
0	0	
0,5	0,1	
0,5	0,077	
1	0,136	
1	0,125	
1		0,048
1	0,124	
1	0,105	
2	0,297	
2	0,312	
2		0,18
2	0,293	
2	0,244	
4	0,471	
4	0,485	
4		0,344
4	0,485	
4	0,485	
8	0,927	
8	0,884	
8		0,89
8	0,931	
8	0,879	
1	0,159	
1	0,172	
2	0,301	
2	0,297	
4	0,456	
4	0,506	

Recta patró catequina



## 5.2 Càlcul de l'absorbància de les mostres

Dia	Dilució	nom	DO-Abs	C	C mg/L en 100ml
18-de juny	5,00	DO 1	1,256	11,1	55,3
18-de juny	5,00	DO 2	1,291	11,4	56,9
18-de juny	5,00	DO 3	1,193	10,5	52,5
18-de juny	5,00	DO 4	1,174	10,3	51,6
19-de juny	5,00	do5	1,064	9,3	46,7
20-de juny	10,00	DO 6	0,654	5,6	56,3
20-de juny	10,00	DO 7	0,707	6,1	61,1
20-de juny	10,00	DO 8	0,656	5,7	56,5
				mitjana	54,62
				desviació estàndar	4,34
				CV(%)	7,94

Dia	Dilució	nom	CA-Abs	C	C mg/L en 100ml
18-de juny	5,00	CA 1	0,368	3,1	15,3
18-de juny	5,00	CA 2	0,362	3,0	15,0
18-de juny	5,00	CA 3	0,356	2,9	14,7
18-de juny	5,00	CA 4	0,306	2,5	12,5
19-de juny	5,00	CA 5	0,295	2,4	12,0
21-de juny	5,00	CA 6	0,229	1,8	9,0
21-de juny	5,00	CA 7	0,244	1,9	9,7
21-de juny	5,00	CA 8	0,225	1,8	8,8
				mitjana	12,13
				desviació estàndar	2,72
				CV(%)	22,41

Dia	Dilució	nom	RE - Abs	C	C mg/L en 100ml
18-de juny	5,00	RE 1	1,018	8,9	44,6
18-de juny	5,00	RE 2	1,053	9,2	46,2
18-de juny	5,00	RE 3	1,043	9,1	45,7
18-de juny	5,00	RE 4	1,038	9,1	45,5
19-de juny	5,00	re5	0,897	7,8	39,1
20-de juny	10,00	RE 6	0,536	4,6	45,7
20-de juny	10,00	RE 7	0,531	4,5	45,3
20-de juny	10,00	RE 8	0,532	4,5	45,3
				mitjana	44,67
				desviació estàndar	2,29
				CV(%)	5,12

Dia	Dilució	nom	SE-Abs	C	C mg/L en 100ml
18-de juny	5,00	SE 1	0,499	4,2	21,2
18-de juny	5,00	SE 2	0,469	4,0	19,8
18-de juny	5,00	SE 3	0,481	4,1	20,4
18-de juny	5,00	SE 4	0,452	3,8	19,1
19-de juny	5,00	SE5	0,348	2,9	14,4
21-de juny	5,00	SE6	0,488	4,1	20,7
21-de juny	5,00	SE7	0,465	3,9	19,7
21-de juny	5,00	SE8	0,472	4,0	20,0
				desviació estàndar	2,13
				CV(%)	10,97

Dia	Dilució	nom	DI-Abs	C	C mg/L en 100ml
18-de juny	5,00	DI 1	0,693	6,0	29,9
18-de juny	5,00	DI 2	0,74	6,4	32,1
18-de juny	5,00	DI 3	0,705	6,1	30,5
18-de juny	5,00	DI 4	0,697	6,0	30,1
19-de juny	5,00	DI5	0,619	5,3	26,6
20-de juny	5,00	DI6	0,834	7,3	36,3
20-de juny	5,00	DI7	0,807	7,0	35,1
20-de juny	5,00	DI8	0,844	7,3	36,7
				desviació estàndar	3,58
				CV(%)	11,12

Dia	Dilució	nom	TD-Abs	C	C mg/L en 100ml
19-de juny	20,00	TD 1	0,169	1,3	25,2
19-de juny	20,00	TD 2	0,147	1,1	21,3
19-de juny	20,00	TD 3	0,171	1,3	25,6
20-de juny	10,00	TD 4	0,578	4,9	49,5
20-de juny	10,00	TD 5	0,582	5,0	49,9
20-de juny	10,00	TD 6	0,568	4,9	48,6
				mitjana	36,67
				desviació estàndar	13,94
				CV(%)	38,01

## Els polifenols , uns desconeguts

Dia	Dilució	nom	TR-Abs	C	C mg/L en 100ml
19-de juny	20,00	TR 1	0,184	1,4	27,9
19-de juny	20,00	TR 2	0,164	1,2	24,3
19-de juny	20,00	TR 3	0,177	1,3	26,7
20-de juny	10,00	TR 4	0,623	5,4	53,6
20-de juny	10,00	TR 5	0,622	5,3	53,5
20-de juny	10,00	TR 6	0,645	5,6	55,5
				desviació estàndar	15,33
				CV(%)	38,08

Dia	Dilució	nom	TV-Abs	C	C mg/L en 100ml
19-de juny	20,00	TV 1	0,219	1,7	34,2
19-de juny	20,00	TV 2	0,232	1,8	36,6
19-de juny	20,00	TV 3	0,209	1,6	32,4
21-de juny	20,00	TV 4	0,519	4,4	88,3
21-de juny	20,00	TV 5	0,477	4,0	80,8
21-de juny	20,00	TV 6	0,534	4,6	91,1
				mitjana	60,58
				desviació estàndar	28,87
				CV(%)	47,66

Dia	Dilució	nom	TN-Abs	C	C mg/L en 100ml
19-de juny	20,00	TN 1	0,353	2,9	58,4
19-de juny	20,00	TN 2	0,378	3,1	62,9
19-de juny	20,00	TN 3	0,362	3,0	60,0
21-de juny	20,00	TN 3	0,423	3,6	71,0
21-de juny	20,00	TN 4	0,402	3,4	67,2
21-de juny	20,00	TN 5	0,403	3,4	67,4
				mitjana	64,51
				desviacio estandard	4,87
				CV(%)	7,54

Dia	Dilució	nom	FI-Abs		C	C mg/L en 100ml
19-de juny	20,00	FI 1	0,109		0,7	14,4
19-de juny	20,00	FI 2	0,093		0,6	11,5
19-de juny	20,00	FI 3	0,114		0,8	15,3
21-de juny	5,00	FI4	0,879		7,7	38,3
21-de juny	5,00	FI5	0,903		7,9	39,4
21-de juny	5,00	FI6	0,84		7,3	36,6
					mitjana	25,92
					desviacio estandard	13,42
					CV(%)	51,79

Dia	Dilució	nom	Frutas-abs		C	C mg/L en 100ml
20-de juny	5	FRUTAS 1	0,616		5,3	26,46
20-de juny	5	FRUTAS 2	0,636		5,5	27,36
20-de juny	5	FRUTAS 3	0,597		5,1	25,60
19-de juny	20	FRUTAS 1	0,028		0,0	-0,20
19-de juny	20	FRUTAS 2	0,042		0,1	2,33
19-de juny	20	FRUTAS 3	0,012		-0,2	-3,08
					mitjana	10,40
					desviacio estandard	14,82
					CV(%)	142,44