VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Determinación de compuestos polifenólicos totales en té mediante un ensayo de Folin–Ciocalteu adaptado a microplaca utilizando una Aplicación Web Progresiva (PWA) para análisis colorimétrico digital y su validación frente a espectrofotometría UV–Vis

Determination of Total Phenolic Compounds in Tea Using a Folin–Ciocalteu Microplate Assay Through the Development of a Progressive Web Application (PWA) for Digital Colorimetric Analysis and Validation Against UV–Vis Spectrophotometry

Katyutzka Itzel Irazu Villarreal Plascencia, Nicole Barrera Tolentino, María Teresa Muñoz Barbosa, Katarzyna Wrobel*, Alma Rosa Corrales Escobosa.

División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, Guanajuato, México. kii.villarrealplascencia@ugto.mx; n.barreratolentino@ugto.mx; mt.munozbarbosa@ugto.mx; katarzyn@ugto.mx; alma_rce@ugto.mx

Resumen

Los compuestos polifenólicos presentes en el té constituyen un importante grupo de metabolitos secundarios debido a sus propiedades antioxidantes y a sus potenciales beneficios para la salud, lo que hace indispensable el desarrollo de metodologías analíticas confiables para su cuantificación. Aunque el método de Folin–Ciocalteu acoplado a espectrofotometría UV–Vis es ampliamente utilizado para la determinación del contenido de compuestos polifenólicos totales, su aplicación depende de instrumentación especializada. En este estudio se desarrolló una Aplicación Web Progresiva (Progressive Web Application, PWA) denominada Elementa para la determinación del contenido de compuestos polifenólicos totales mediante análisis colorimétrico digital de imágenes obtenidas a partir de un ensayo de Folin–Ciocalteu adaptado a una microplaca de 96 pozos y a tubo de ensayo, con procesamiento en los espacios de color RGB, HSV y CIELAB. La cuantificación se realizó utilizando ácido gálico como estándar y los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico (EAG). El desempeño analítico de la metodología fue evaluado mediante parámetros de validación, incluyendo linealidad (R^2 = 0.9925 en celda y R^2 = 0.9839 en microplaca), límite de detección (LOD = 6.46 mg EAG/L en celda), límite de cuantificación (LOQ = 19.58 mg EAG/L en celda), precisión (CV < 10%); además, se propuso un Índice de Desempeño Analítico (IDA) para seleccionar de forma objetiva el canal de color más adecuado. La comparación entre la PWA y la espectrofotometría UV–Vis mostró una alta concordancia entre ambos métodos, con un coeficiente de correlación de r = 0.9973 (R^2 = 0.9947) y sin diferencias estadísticamente significativas (p = 0.456). El contenido de compuestos polifenólicos totales determinado en las muestras de té varió entre 28.35 y 208.38 mg EAG/g de muestra seca, dependiendo del tipo de té analizado, fueron los tés verdes y las hojas enteras los que presentaron mayores concentraciones. Los resultados obtenidos demuestran que la PWA constituye una alternativa confiable, rápida, portátil y de bajo costo para la determinación del contenido de compuestos polifenólicos totales, con un desempeño analítico comparable al de la espectrofotometría UV–Vis convencional, lo que favorece su aplicación en laboratorios con infraestructura limitada y en análisis de campo.

Palabras clave: Folin–Ciocalteu; análisis colorimétrico digital; compuestos polifenólicos totales; lector de microplacas; análisis de imágenes; química analítica; aplicaciones web progresivas; validación analítica.

Introducción

Los compuestos polifenólicos son metabolitos secundarios que se producen principalmente en las plantas, se caracterizan por presentar uno o más grupos hidroxilo unidos a anillos aromáticos. En los vegetales cumplen funciones de defensa y participan en el color, sabor y aroma de muchos alimentos. Su interés nutricional y funcional proviene sobre todo de su capacidad antioxidante, ya que son capaces de donar electrones o hidrógenos, neutralizar radicales libres y disminuir la participación de metales en reacciones oxidativas, de manera que contribuyen a limitar el daño en lípidos, proteínas y ADN. Debido a ello, su consumo se ha relacionado con una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares, metabólicas,

inflamatorias, algunos tipos de cáncer y trastornos neurodegenerativos, aunque los efectos dependen de la dosis, el tipo de compuesto, la biodisponibilidad y el tipo de alimentación (Gimeno Creus, 2004).

Una de las principales fuentes de compuestos polifenólicos es la planta Camellia sinensis (familia Theaceae), cuyas hojas y brotes se emplean para la elaboración de los diferentes tipos de té. Su composición química incluye catequinas, flavonoles, ácidos fenólicos, cafeína, aminoácidos y otros compuestos bioactivos (Ramírez-Aristizábal *et al.,* 2016). Aunque el té verde, blanco, negro, rojo (Pu-erh) y Tieguanyin provienen de la misma especie vegetal, difieren en el grado de oxidación, selección procesamiento de las hojas y tallos, lo que modifica su perfil de compuestos polifenólicos y sus características sensoriales y antioxidantes (Cázares *et al.,* 2023). En general, el té verde y el té blanco conservan una mayor proporción de catequinas, mientras que en el té negro estas se transforman parcialmente en teaflavinas y tearrubiginas, responsables de su color característico y de una parte importante de su aroma y sabor. Por otra parte, el té rojo o Pu-erh pasa por una posfermentación microbiana controlada que modifica los polifenoles, aminoácidos, carbohidratos y compuestos aromáticos, y le da sus características sensoriales y químicas propias. Por último, el Tieguanyin o Ti Kuan Yin corresponde a un té oolong parcialmente oxidado, que presenta propiedades intermedias entre el té verde y el té negro. Además del tipo de té, el contenido de compuestos polifenólicos depende de factores como la variedad genética, las condiciones climáticas, el tipo de suelo, la altitud, la edad de las hojas, la época de cosecha y las prácticas agrícolas. A esto se suman las condiciones asociadas al proceso de preparación de las infusiones, como la temperatura del agua, el tiempo de infusión, el tamaño de partícula y la relación té/agua, las cuales pueden modificar la cantidad que se extrae de estos compuestos (Magammana *et al.,* 2019). De hecho, el método de extracción influye de forma notable en el resultado: la infusión en frío (cold brew) y la extracción con disolventes como el metanol pueden dar perfiles y rendimientos distintos a los de la infusión tradicional en caliente.

El método de Folin–Ciocalteu es una de las técnicas de referencia para cuantificar los polifenoles totales en alimentos (Pérez *et al.,* 2023) y está estandarizado específicamente para té en la norma ISO 14502-1 (2005). Este método se basa en una reacción de oxidación-reducción en la que los grupos hidroxilo de los compuestos polifenólicos reducen, en medio alcalino, el complejo fosfomolibdato-fosfotungstato del reactivo, generando un cromóforo azul cuya intensidad es proporcional al contenido fenólico de la muestra (Pérez *et al.,* 2023). La absorbancia se mide a 765 nm y los resultados se expresan como equivalentes de ácido gálico (EAG). El método se ha aplicado ampliamente en distintas partes del mundo para comparar el contenido de polifenoles entre tipos de té y relacionarlo con su perfil de catequinas y su capacidad antioxidante: en Asia (Zhao *et al.,* 2014; Nhu-Trang *et al.,* 2023), en Europa (Musci & Yao, 2017; Carloni *et al.,* 2026) y en Latinoamérica y México (Anesini *et al.,* 2008; Muñoz-Velázquez *et al.,* 2012). En general, los tés menos oxidados, como el verde, presentan un mayor contenido de polifenoles que los más oxidados, como el negro (Nhu-Trang *et al.,* 2023). Cabe señalar que, aunque el ensayo de Folin–Ciocalteu es un método simple, rápido y reproducible, presenta algunas limitaciones. El reactivo no reacciona exclusivamente con los compuestos polifenólicos, sino también con otras sustancias con capacidad reductora presentes en la muestra, como el ácido ascórbico, algunos azúcares reductores y otros antioxidantes. Así pues, el ensayo refleja la capacidad reductora global de la muestra, entendida como la suma de todos los compuestos capaces de ceder electrones, sin distinguir entre los distintos polifenoles ni separarlos de otras sustancias antioxidantes presentes en la matriz (Ramírez-Aristizábal *et al.,* 2016).

Para la determinación del contenido de polifenoles totales mediante el reactivo de Folin–Ciocalteu se emplea un espectrofotómetro en la región visible. En su formato tradicional de celdas, el equipo realiza el análisis de una muestra a la vez, mientras que el formato de microplaca de 96 pozos permite medir simultáneamente un mayor número de muestras, con menor gasto de reactivo y de muestra, sin perder exactitud (Muñoz-Velázquez *et al.,* 2012). Sin embargo, la lectura en formato de 96 pozos requiere un lector de placas, un equipo más costoso y menos disponible, sobre todo en entornos con recursos limitados o cuando se requiera realizar análisis fuera del laboratorio. Hoy en día, existe un interés creciente por desarrollar métodos más accesibles, portátiles y económicos que previa validación con una técnica de referencia proporcionen un resultado confiable.

El análisis colorimétrico digital ha surgido como una alternativa prometedora para la cuantificación de analitos mediante el procesamiento de imágenes digitales, aprovechando la relación entre la intensidad de color generada en una reacción química y la concentración del analito (Fan *et al.,* 2021). El empleo de cámaras de teléfonos inteligentes ha impulsado metodologías accesibles, portátiles y de bajo costo (Fan *et al.,* 2021). El

procesamiento consiste en seleccionar una región de interés (ROI) sobre el área de reacción y extraer los valores promedio de intensidad de color, que pueden analizarse en distintos espacios: RGB, el formato nativo de la mayoría de las cámaras; HSV, que separa tono, saturación y brillo, útil ante variaciones de iluminación; y CIELAB, que expresa el color mediante luminosidad (L*) y los ejes cromáticos a* y b*, mostrando mayor resistencia a cambios de iluminación y mejor correlación con métodos instrumentales de referencia (Horta-Velázquez *et al.,* 2025; Nelis *et al.,* 2019). A partir de estos espacios de color es posible calcular parámetros derivados, entre ellos la absorbancia digital, calculada a partir de la relación entre la intensidad de la muestra y la de una referencia o blanco, de forma análoga a la Ley de Beer-Lambert (Kong *et al.,* 2025). Este parámetro permite construir curvas de calibración y estimar concentraciones con un desempeño analítico comparable al de la espectrofotometría UV-Vis convencional (Kong *et al.,* 2025).

Las aplicaciones web progresivas (Progressive Web App, PWA) ofrecen una opción accesible para implementar este tipo de análisis, ya que integran el procesamiento de imagen y el tratamiento de datos en una interfaz ejecutable desde cualquier navegador, sin instalar un software especializado. Frameworks como Streamlit ya se han utilizado para desarrollar aplicaciones científicas interactivas en distintas áreas analíticas (Nápoles-Duarte *et al.,* 2022; Müller *et al.,* 2025). Si bien existen estudios que aplican Folin-Ciocalteu adaptado a imágenes digitales en té (Do *et al.,* 2023; Lucas *et al.,* 2022; Zugazua-Ganado *et al.,* 2024), son escasos los que integran simultáneamente un ensayo en microplaca de 96 pozos, una plataforma web para el procesamiento digital de imágenes y su validación frente a espectrofotometría UV-Vis.

Por ello, el objetivo del presente trabajo fue desarrollar una PWA para la determinación del contenido de polifenoles totales en té mediante Folin-Ciocalteu adaptado a microplaca de 96 pozos, celda y análisis colorimétrico digital en los espacios RGB, HSV y CIELAB, evaluando su desempeño frente a espectrofotometría UV-Vis como alternativa rápida, portátil y de bajo costo.

Desarrollo Experimental

Selección y codificación de las muestras

Se analizaron 16 muestras comerciales de té, 15 de ellas derivadas de Camellia sinensis: siete de té verde (TV01–TV07), dos de té blanco (TB01 y TB02), cuatro de té negro (TN01–TN04), una de té rojo tipo Pu-erh comercializado con limón (TRL01) y una de té Tieguanyin (TK01). Adicionalmente, se incluyó una infusión de azahar, elaborada a partir de flor de naranjo (Citrus spp.) que se codificó como AZ01, esta muestra fue incluida como control de una matriz vegetal distinta. Las muestras AZ01, TRL01 y TK01 fueron adquiridas a granel, por lo que podrían presentar una mayor heterogeneidad en su composición en comparación con los productos envasados.

Cada muestra se procesó mediante dos métodos de extracción: infusión en frío o cold brew y extracción etanolica basada en una adaptación de la norma ISO 14502-1:2005. Para cada método se realizaron tres réplicas independientes por muestra.

Preparación de los extractos mediante infusión acuosa

Con el fin de seleccionar el procedimiento de extracción acuosa más adecuado, se evaluaron dos tipos de infusión: en frío (cold brew) y en caliente, con y sin centrifugación, empleando una muestra compuesta de té verde como muestra representativa.

Para la infusión en frio (cold brew), se pesó aproximadamente 500 mg de cada muestra de té (la masa promedio utilizada en cada porción fue de 500.0 ± 5.5 mg), se colocó en un recipiente con 50 mL de agua y se mantuvo en refrigeración a 4°C durante aproximadamente 18 h. La infusión en caliente se preparó conforme a la norma ISO 3103, empleando agua recién hervida y un tiempo de infusión de 5 min. En ambos casos, cada extracto se analizó en dos condiciones: centrifugado a 10 000 × g durante 1 min, recuperando el sobrenadante, y directo, sin centrifugar. Los cuatro tratamientos se analizaron por triplicado.

Con base en los resultados se seleccionó el cold brew como método de extracción acuosa para el resto de las muestras. Antes del análisis, los extractos de las muestras TV01, TV02, TV03, TV06, TV07, TN01, TN02, TN03, TN04, AZ01, TRL01 y TK01 se diluyeron en una proporción 1:20, excepto los extractos de las muestras TV04, TV05, TB01 y TB02 se diluyeron en una proporción 1:30, para ajustar la respuesta al intervalo lineal de la curva. Las diluciones se prepararon inmediatamente antes de la determinación de los compuestos polifenólicos totales.

Extracción etanólica adaptada de la norma ISO 14502-1:2005

Se realizó mediante una versión miniaturizada y modificada del procedimiento descrito en la norma ISO 14502-1:2005. Para este método se prepararon 48 porciones de ensayo, correspondientes a las 16 muestras analizadas por triplicado. Las porciones tuvieron masas comprendidas entre 69.4 y 75.4 mg (promedio de 72.54 ± 1.52 mg). Cada porción se transfirió a un microtubo de polipropileno. se registró su masa exacta para utilizarla posteriormente en los cálculos. A continuación, se añadieron 2.0 mL de una solución de etanol-agua al 70 % (v/v). Los microtubos se cerraron y se agitaron en vórtex para favorecer el contacto entre la muestra y el disolvente. Posteriormente, se colocaron en un baño de agua a 70 ± 1 °C durante 10 min, con agitación adicional en vórtex a los 5 y 10 min. Al finalizar la extracción, los tubos se retiraron del baño y se dejaron enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente. Las muestras se centrifugaron a aproximadamente 3500 x g durante 10 min y el sobrenadante se recuperó. Antes de la determinación colorimétrica, cada sobrenadante se diluyó 1:100 con agua, inmediatamente antes del análisis.

Evaluación mediante el método de adición estándar

El método de adición estándar se aplicó a las muestras de té de azahar (AZ01), té rojo con limón (TRL01) y té Tieguanyin (TK01). Para cada muestra se utilizaron 2.5 µL del extracto, a partir de los cuales se prepararon soluciones fortificadas con ácido gálico en concentraciones de 5, 10, 20, 30 y 40 ppm. En cada nivel de adición, los volúmenes de muestra y de la solución estándar se ajustaron para obtener una alícuota total de 250 µL. Posteriormente, se añadieron 250 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu diluido 1:5 y 500 µL de NaOH 0.35 mol L^{-1}, manteniendo un volumen final de reacción de 1.0 mL. Todas las soluciones se sometieron a las mismas condiciones de reacción y lectura utilizadas para la determinación de los compuestos fenólicos totales. El método de adición estándar se aplicó a las muestras AZ01, TRL01 y TK01 para evaluar posibles efectos de matriz, dado que se trata de una infusión de otra especie (azahar), una muestra con limón añadido y un té adquirido a granel, respectivamente.

Determinación de compuestos polifenólicos totales

La concentración de compuestos polifenólicos totales se determinó mediante el método Folin-Ciocalteu, de acuerdo con la metodología propuesta por Magalhães et al. (2010), con algunas modificaciones. Se elaboró una curva de calibración externa utilizando ácido gálico (AG) como estándar, en concentraciones de 5, 20, 30, 40, 50 y 70 mg AG L^{-1}. La mezcla de reacción consistió en: 250 µL del estándar de AG o de la muestra diluida, 250 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu diluido 1:5 y 500 µL de NaOH 0.35 mol L^{-1} (volumen final de 1,0 mL). Después de añadir el NaOH, la mezcla se homogeneizó y se mantuvo en oscuridad durante 10 min para permitir el desarrollo de la reacción. La reacción se llevó a cabo en tubos, que se fotografiaron para el análisis colorimétrico digital. A partir de cada tubo se tomaron alícuotas para la lectura de la absorbancia a 760 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis Thermo Scientific Multiskan GO en dos formatos: 700 µL en celda de poliestireno de 1 cm de paso óptico y 200 µL en microplaca de 96 pozos. Esta última también se fotografió para el análisis digital.

En cada microplaca se colocaron las soluciones de la curva de calibración, las muestras y sus respectivas réplicas, según la disposición presentada en la Figura 1. Manteniendo una distribución uniforme para facilitar la adquisición y comparación de las respuestas colorimétricas. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico (mg EAG L^{-1}).

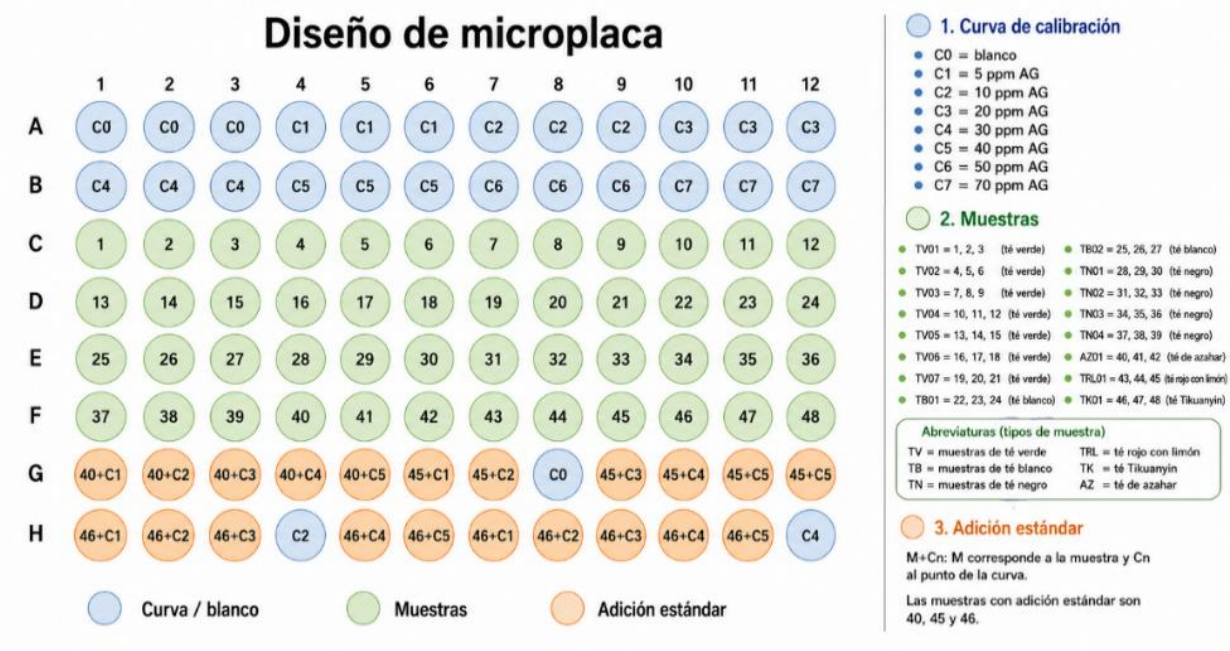

Figura 1. Mapa de distribución de muestras y controles en microplaca de 96 pocillos.

Desarrollo de la Aplicación Web Progresiva (PWA)

Para el análisis colorimétrico digital de compuestos polifenólicos se desarrolló Elementa, una Aplicación Web Progresiva (PWA) programada en Python mediante Streamlit. Esta plataforma ejecutable en navegador web, sin necesidad de software adicional, favorece compatibilidad multiplataforma y portabilidad para laboratorio y campo (Nápoles-Duarte *et al.,* 2022; Müller *et al.,* 2025). Elementa integra adquisición y procesamiento de imágenes, selección de regiones de interés, extracción colorimétrica, análisis en múltiples espacios de color, cálculo de absorbancia digital, construcción de curvas de calibración y estimación de compuestos polifenólicos totales en una única interfaz, automatizando el flujo analítico y reduciendo intervención del usuario (Figura 2). Disponible en: elementa-app.streamlit.app

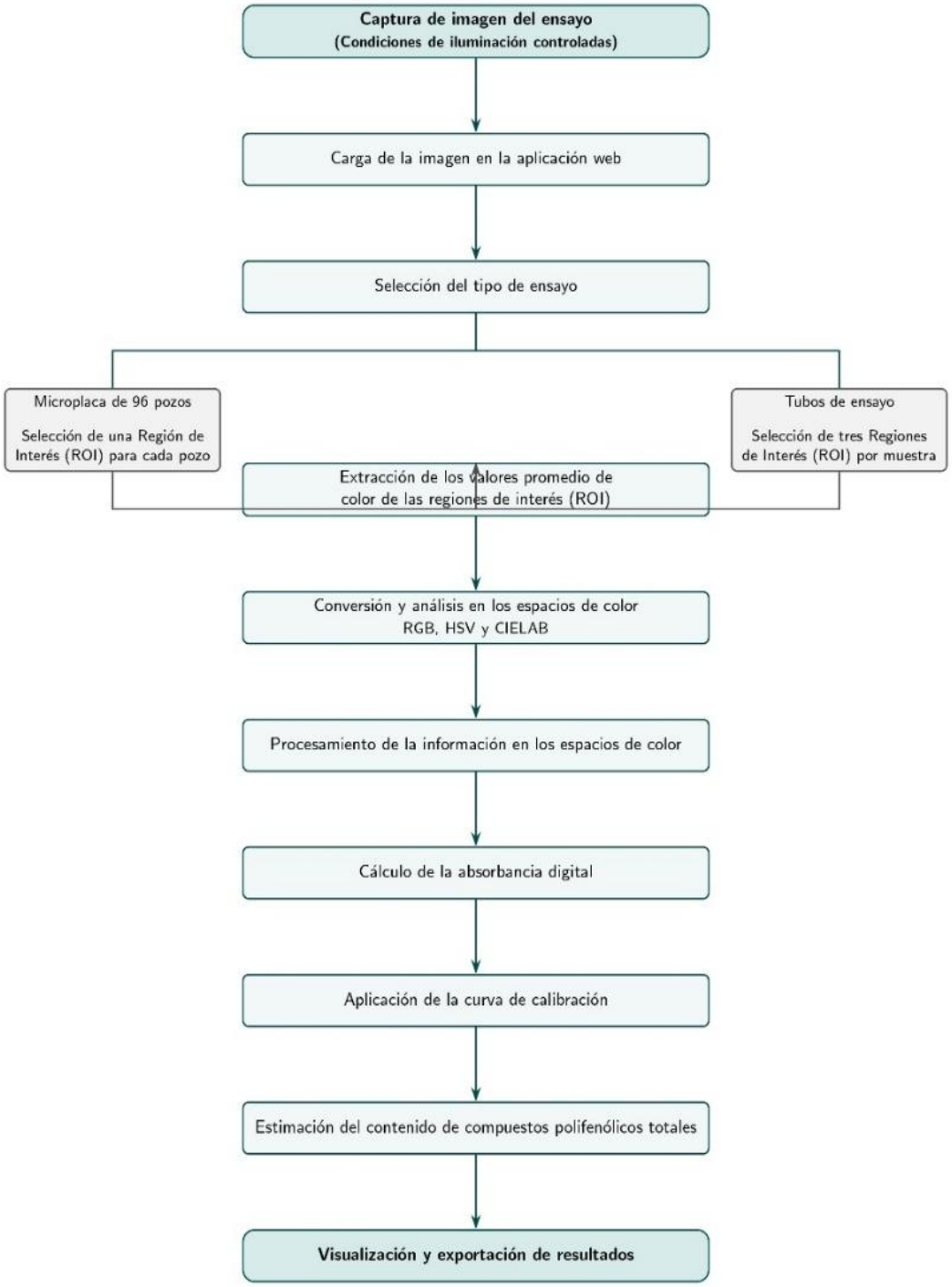

Figura 2. Flujo general del procedimiento implementado en la Aplicación Web Progresiva (PWA) para la determinación de ccompuestos polifenólicos totales mediante análisis colorimétrico digital. El diagrama resume las principales etapas del método, desde la adquisición de la imagen del ensayo y la selección de las regiones de interés (ROI) para microplacas o tubos de ensayo, hasta la extracción de la información colorimétrica, su análisis en los espacios de color RGB, HSV y CIELAB, el cálculo de la absorbancia digital, la aplicación de la curva de calibración para estimar el contenido de compuestos polifenólicos totales y la visualización y exportación de los resultados.

Adquisición de imágenes.

Las imágenes del ensayo de Folin–Ciocalteu fueron adquiridas bajo condiciones controladas de iluminación empleando una caja de captura de diseño propio con fuente de luz blanca interna. El control de iluminación es determinante en colorimetría digital, pues la señal registrada por el sensor es sensible a cambios en intensidad y temperatura de color (Fan *et al.,* 2021; Sirisathitkul *et al.,* 2025).

El sistema denominado LuxAnalyzer consistió en una estructura cúbica de 200 × 200 × 200 mm fabricada por impresión 3D en PLA blanco, equipada con cono fotográfico de 100 mm, lámpara LED blanca fría (6500 K) monitoreada por sensor BH1750 y microcontrolador ESP32, siguiendo conceptos reportados para colorimetría digital con smartphone (Li *et al.,* 2024). La iluminancia promedio en la zona de medición fue de aproximadamente 24 000 lx. Las imágenes se capturaron con iPhone 13 fijado a 300 mm de distancia, con muestras colocadas en gradilla 3D diseñada para mantener geometría de captura constante y reproducible.

Una vez capturada, la imagen fue cargada en Elementa para procesar microplacas de 96 pozos o tubos de ensayo mediante flujo común de procesamiento: carga de imagen, selección de regiones de interés y análisis colorimétrico uniforme en ambos formatos (Figura 3).

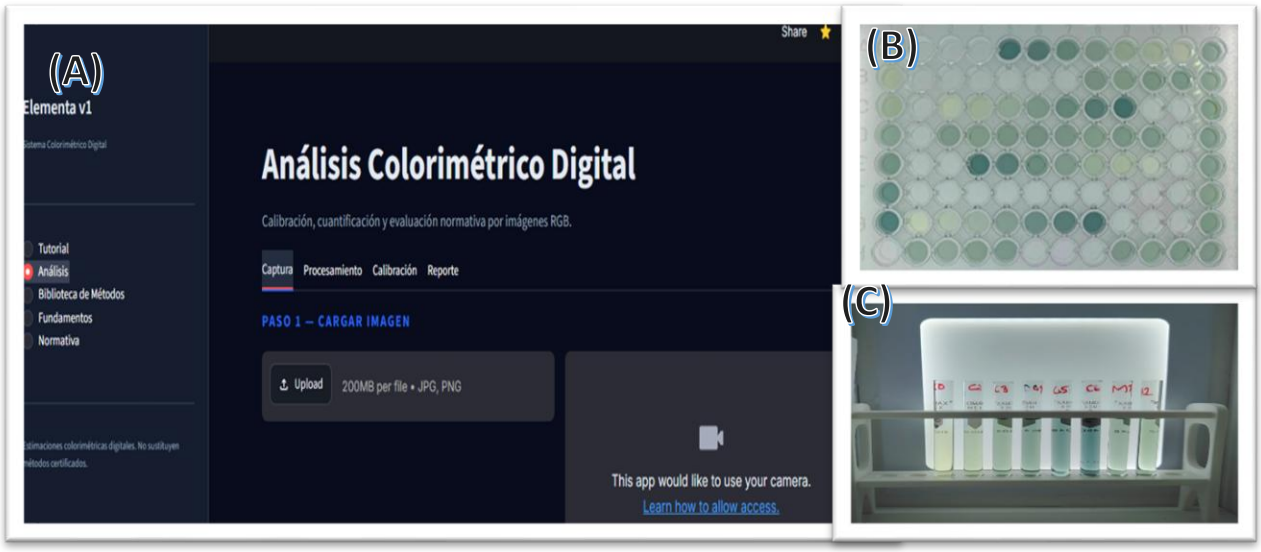

Figura 3. Sistema de adquisición de imágenes empleado en este trabajo. (A) Interfaz de carga de imágenes de Elementa. B) Caja de captura con iluminación controlada en microplaca; (C) Caja de captura con iluminación controlada en tubos de ensayo.

Selección de la Región de Interés (ROI) y extracción de la información colorimétrica

La Región de Interés (ROI) corresponde al área específica que contiene la información relevante, excluyendo bordes, reflejos y sombras. La selección adecuada es crítica en procesamiento digital de imágenes, pues reduce ruido en valores de color y mejora exactitud del análisis colorimétrico (Fan *et al.,* 2021; Horta-Velázquez *et al.,* 2025).

En microplacas de 96 pozos se definió una ROI por pozo (área circular). En tubos de ensayo se definieron tres ROI por muestra para obtener representación más robusta de intensidad de color y atenuar heterogeneidades locales (Figura 4) como gradientes de color o reflejos puntuales.

La aplicación calculó valores promedio de intensidad de color para cada ROI como promedio aritmético de píxeles contenidos en la región. El uso de valores promedio es preferible en colorimetría digital, pues reduce variaciones locales, ruido del sensor y heterogeneidades de superficie, proporcionando estimación más representativa y reproducible de la señal colorimétrica global (Fan *et al.,* 2021; Do *et al.,* 2023).

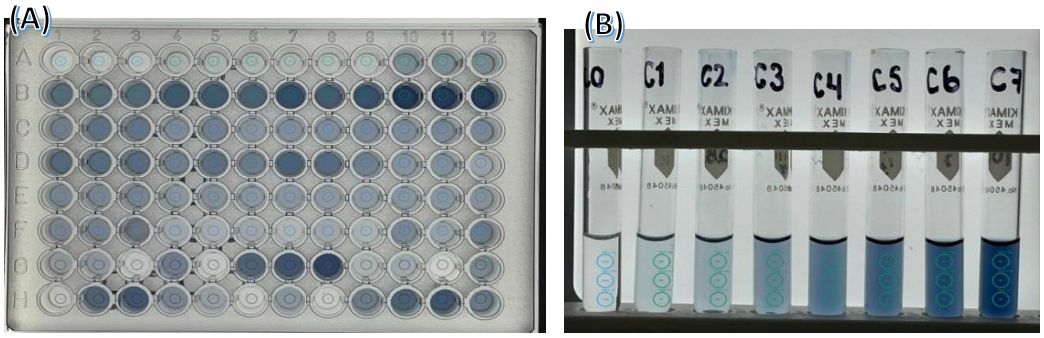

Figura 4. Selección de la Región de Interés (ROI) en los dos formatos de muestra evaluados. (A) microplaca de 96 pozos, con una ROI por pozo; (B) tubo de ensayo, con tres ROI por tubo.

Estos valores promedio constituyeron la base de datos sobre la cual se realizó el análisis posterior en los distintos espacios de color, descrito a continuación.

Espacios de color

Se evaluaron simultáneamente tres espacios de color para identificar el que ofreciera mejor correlación con espectrofotometría UV-Vis en el sistema analítico específico de este trabajo.

RGB (Red, Green, Blue): Combinación aditiva de tres canales que constituye el formato nativo de sensores digitales (Fan *et al.,* 2021). Ventaja: disponibilidad inmediata sin conversión adicional, facilitando implementación en metodologías de bajo costo. Limitaciones: dependencia del dispositivo y alta sensibilidad a variaciones de iluminación (Sirisathitkul *et al.,* 2025).

HSV (Hue, Saturation, Value): Separa tono, saturación y brillo, aislando información cromática de intensidad lumínica, potencialmente ventajoso en iluminación no perfectamente controlada (Nelis *et al.,* 2019). Limitación: valores en smartphones pueden mostrar desviaciones sistemáticas respecto a referencias (Sirisathitkul *et al.,* 2025).

CIELAB: Expresa color mediante luminosidad (L*) y ejes cromáticos a* (verde-rojo) y b* (azul-amarillo), diseñado para representación perceptualmente uniforme cercana a percepción humana (Horta-Velázquez *et al.,* 2025). Ventajas: menor dependencia del dispositivo de captura y mayor estabilidad frente a variaciones de iluminación, particularmente en canales a* y b* (Horta-Velázquez *et al.,* 2025; Sirisathitkul *et al.,* 2025). Limitación: requiere conversión matemática previa desde RGB.

Esta estrategia de comparación es recomendada en colorimetría digital, dado que el desempeño relativo de cada espacio varía según el analito, rango de concentraciones y condiciones experimentales particulares (Fan *et al.,* 2021; Sirisathitkul *et al.,* 2025).

Absorbancia digital

Los valores promedio de intensidad de color obtenidos a partir de las regiones de interés (ROI) constituyeron la base para el cálculo de la absorbancia digital, parámetro empleado para relacionar la respuesta

colorimétrica del ensayo con la concentración de compuestos polifenólicos presentes en las muestras. La absorbancia digital se calculó mediante la siguiente expresión

:

$$A_{\text{digital}} = -\log_{10}\left(\frac{I_{\text{muestra}}}{I_{\text{blanco}}}\right) \qquad \text{(Ecuación 1)}$$

donde I_{muestra}corresponde a la intensidad promedio de color registrada en la región de interés de la muestra, mientras que I_{blanco}representa la intensidad promedio obtenida para el blanco de reactivos.

Esta expresión constituye una aproximación al principio descrito por la Ley de Beer–Lambert, según la cual la absorbancia es proporcional a la concentración del analito dentro de un intervalo lineal de respuesta. Mientras que en la espectrofotometría UV–Vis convencional la absorbancia se determina a partir de la atenuación de un haz de luz monocromática a una longitud de onda específica, en el análisis colorimétrico digital la señal analítica se obtiene a partir de la intensidad de color registrada por el sensor de una cámara digital, proporcionando una medida indirecta de la respuesta colorimétrica de la reacción química (Kong *et al.,* 2026).

Con el propósito de evaluar el desempeño analítico de diferentes representaciones cromáticas, la PWA calculó la absorbancia digital para todos los canales individuales de los espacios de color RGB (R, G y B), HSV (H, S y V) y CIELAB (L*, a* y b*). Adicionalmente, en el espacio RGB se implementó la evaluación de combinaciones híbridas de canales, incluyendo R+G, R+B, G+B y R+G+B, obtenidas mediante la combinación de las intensidades promedio de los canales correspondientes antes del cálculo de la absorbancia digital. Estas combinaciones fueron incorporadas con el objetivo de explorar si la integración de información proveniente de múltiples canales mejoraba la sensibilidad, la linealidad y el desempeño analítico del método en comparación con el empleo de canales individuales.

Para cada canal o combinación evaluada, la aplicación construyó automáticamente la curva de calibración correspondiente a partir de las soluciones estándar de ácido gálico y calculó los principales parámetros analíticos, permitiendo comparar objetivamente el desempeño de cada alternativa para la cuantificación de compuestos polifenólicos totales.

Evaluación del desempeño analítico de los canales de color

Con el propósito de comparar el comportamiento analítico de los diferentes canales de color evaluados, en la Aplicación Web Progresiva Elementa se implementó un procedimiento automatizado para la construcción y evaluación de modelos de calibración. A partir de los valores de absorbancia digital obtenidos para cada canal, la aplicación generó automáticamente las curvas de calibración correspondientes utilizando las soluciones estándar de ácido gálico, calculando el coeficiente de determinación (R^2), la pendiente (m), el error estándar de la regresión (Sy/x), el límite de detección (LOD), el límite de cuantificación (LOQ) y el coeficiente de variación (CV) para cada canal individual de los espacios RGB, HSV y CIELAB, así como para las

combinaciones híbridas del espacio RGB (R+G, R+B, G+B y R+G+B), proporcionando una evaluación integral del desempeño analítico de cada modelo (ejemplo Figura 5).

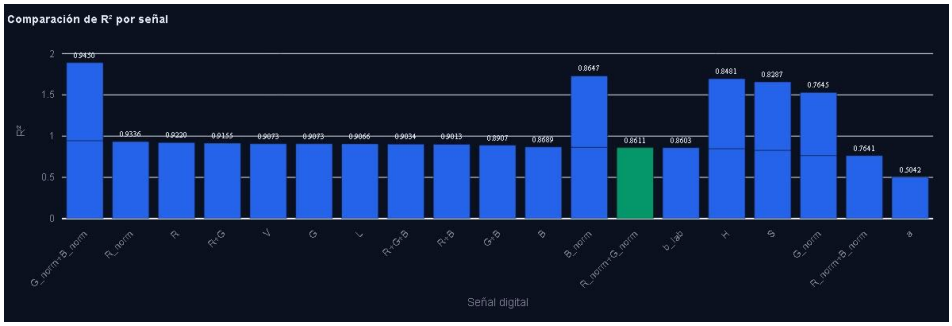

Figura 5. Ejemplo de Interfaz de la Aplicación Web Progresiva Elementa correspondiente al módulo de evaluación del desempeño analítico en torno a R^2 por señal. La aplicación construye automáticamente las curvas de calibración para los canales individuales y las combinaciones híbridas evaluadas, calcula los parámetros analíticos (R^2, pendiente, $S_{y/x}$, LOD, LOQ y CV) y determina el Índice de Desempeño Analítico (IDA), proporcionando herramientas gráficas y tabulares para facilitar la selección objetiva del canal con mejor desempeño.

Dado que estos parámetros presentan naturalezas, unidades y escalas distintas, se propuso un Índice de Desempeño Analítico (IDA) como herramienta complementaria para integrar el desempeño global de cada canal en un solo valor comparable. Para ello, cada parámetro fue normalizado previamente mediante un escalamiento min-max relativo al conjunto de canales evaluados en cada análisis, transformando todos los valores a una escala adimensional entre 0 y 1, donde 1 representa el mejor desempeño relativo. El IDA se calculó como la suma ponderada de los parámetros normalizados, de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\boldsymbol{IDA} = \boldsymbol{w}_1 \cdot \boldsymbol{R^2}_{\text{norm}} + \boldsymbol{w}_2 \cdot \boldsymbol{Sy/x}_{,\text{norm}} + \boldsymbol{w}_3 \cdot |\boldsymbol{m}|_{\text{norm}} + \boldsymbol{w}_4 \cdot \boldsymbol{LOD}_{\text{norm}} + \boldsymbol{w}_5 \cdot \boldsymbol{LOQ}_{\text{norm}} + \boldsymbol{w}_6 \cdot \boldsymbol{CV}_{\text{norm}}$$

(Ecuación 2)

donde los términos normalizados corresponden al coeficiente de determinación, el error estándar de la regresión, la pendiente absoluta, el límite de detección, el límite de cuantificación y el coeficiente de variación, respectivamente; y w_1 a w_6 son los factores de ponderación asignados a cada parámetro, cuya suma es igual a 1. Los pesos fueron establecidos de manera heurística, priorizando la calidad del ajuste del modelo de calibración (R^2 y Sy/x), seguida de la sensibilidad analítica (pendiente) y de los parámetros asociados con la capacidad de detección y la precisión del método (LOD, LOQ y CV).

Con base en las curvas de calibración, los parámetros analíticos y el IDA obtenidos para todos los canales evaluados, el usuario selecciona el modelo de calibración que considera más apropiado, cuya ecuación se utiliza posteriormente para calcular de manera automática la concentración de compuestos polifenólicos totales en las muestras problema.

Tratamiento estadístico

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado, expresando los resultados como el promedio ($\bar{x}$) ± desviación estándar (DE), calculados mediante las expresiones:

$$\bar{x} = \Sigma x_i / n$$

$$DE = \sqrt{[\Sigma(x_i - \bar{x})^2 / (n - 1)]}$$

La precisión del método se expresó como coeficiente de variación (CV):

$$CV\ (\%) = (DE / \bar{x}) \times 100$$

Para cada curva de calibración se determinó el coeficiente de determinación (R^2) mediante regresión lineal por mínimos cuadrados, relacionando la absorbancia digital con la concentración de las soluciones estándar de ácido gálico (y = mx + b), y se calculó el error estándar de la regresión (Sy/x):

$$Sy/x = \sqrt{[\Sigma(y_i - \hat{y}_i)^2 / (n - 2)]}$$

El límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) se calcularon siguiendo las recomendaciones de la IUPAC para métodos basados en calibración lineal (Currie, 1995):

$$LOD = 3.3 \times (Sy/x / m)$$

$$LOQ = 10 \times (Sy/x / m)$$

Todos estos parámetros ($\bar{x}$, DE, CV, R^2, Sy/x, LOD y LOQ) fueron calculados de manera automatizada por la PWA Elementa para cada canal de color evaluado.

Resultados y discusión

Selección del método de referencia

Con el propósito de establecer un método de referencia para la validación de la aplicación web progresiva Elementa, inicialmente se comparó el desempeño analítico del método de Folin-Ciocalteu empleando lecturas espectrofotométricas en celda y microplaca. Posteriormente, se evaluaron las condiciones de preparación de las muestras, las estrategias de cuantificación y, finalmente, el desempeño de la aplicación para la determinación de compuestos polifenólicos totales.

La Figura 6 muestra las curvas de calibración obtenidas para la determinación de compuestos fenólicos totales mediante el método de Folin-Ciocalteu utilizando celda y microplaca. En ambos casos se observó una relación lineal entre la concentración de ácido gálico y la absorbancia, con coeficientes de determinación (R^2) de 0.9977 para celda y 0.9955 para microplaca, lo que demuestra un comportamiento lineal adecuado dentro del intervalo de trabajo evaluado. Sin embargo, en la celda el punto de 70 mg/L se saturó y quedó fuera de la región lineal, por lo que el rango de trabajo se estableció entre 5 y 50 mg/L, mientras que la microplaca conservó la linealidad en todo el intervalo evaluado, de 5 a 70 mg/L. Este comportamiento es consistente con la ley de Beer-Lambert: el mayor paso óptico de la cubeta (1 cm) incrementa la absorbancia y provoca la saturación a concentraciones más bajas, en tanto que el menor camino óptico del pozo amplía el rango dinámico. La celda presentó una mayor pendiente (0.0223) que la obtenida en microplaca (0.0097), indicando una mayor sensibilidad. Por lo tanto, ambos formatos resultan complementarios, la celda ofrece más

sensibilidad en un rango estrecho y la microplaca en un rango más amplio. Aunque ambos formatos pueden emplearse en como referencia para la validación de la aplicación web progresiva Elementa, en este artículo se utilizó el formato de celda.

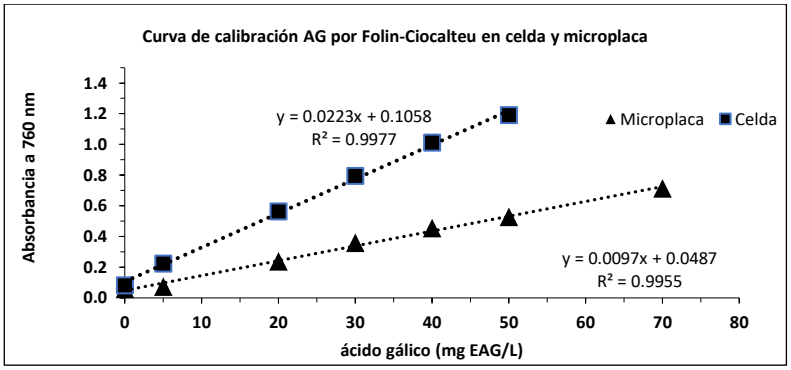

Figura 6. Comparación de las curvas de calibración obtenidas mediante el método de Folin-Ciocalteu en celda y microplaca para la determinación de compuestos polifenólicos totales.

Optimización de la preparación de muestras de té

Con el fin de establecer un procedimiento de extracción sencillo y reproducible, se evaluaron cuatro tratamientos de extracción acuosa, combinando la temperatura de infusión (cold brew en frío e infusión caliente) con la aplicación o no de centrifugación (Tabla 1). El análisis de varianza de un factor (ANOVA) no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro tratamientos acuosos ($F = 1.094$; $p = 0.406$), por lo que se seleccionó el cold brew como método de extracción acuosa por su simplicidad.

Tabla 1. *Contenido de compuestos polifenólicos totales en una muestra compuesta de té verde extraída mediante infusión caliente, con y sin centrifugación. Los resultados se expresan como media ± desviación estándar (n = 3).*

Tratamiento	mg EAG/g ± σ
Cold Brew – Centrifugado	34.38 ± 4.35
Cold Brew - Directo	41.37 ± 8.03
Infusión caliente- Centrifugado	36.32 ± 1.53
Infusión caliente - Directo	37.90 ± 3.06

Adicionalmente se realizó la metodología ISO 14502-1 (etanol al 70 %) para obtener mayor recuperación de compuestos polifenólicos de la hoja y se compararon ambos enfoques (Tabla 2). La extracción hidroalcohólica presentó concentraciones mayores que el cold brew, debido a la mayor eficiencia en la extracción de compuestos polifenolicos del etanol frente al agua. Esta diferencia fue especialmente marcada en los tés verdes menos fragmentados y en la hoja entera (TV06: 168.67 vs 43.34 mg EAG/g; TV07: 208.38 frente a 42.50 mg EAG/g), lo que sugiere que el tamaño de partícula y la integridad de la hoja limitan de forma

importante la extracción acuosa.

Tabla 2. *Contenido de compuestos polifenólicos totales determinados mediante el método de Folin–Ciocalteu en celda en extractos de té obtenidos mediante la metodología ISO 14502-1 y el método de preparación cold brew. Los resultados se expresan como media ± desviación estándar (mg EAG/g, n = 3).*

Tipo de té	Código	ISO 14502-1 (mg EAG/g)	Cold brew (mg EAG/g)
Té verde	TV01	79.19 ± 6.02	42.92 ± 6.67
Té verde	TV02	66.48 ± 1.11	33.56 ± 6.24
Té verde descafeinado	TV03	67.14 ± 6.23	36.76 ± 3.07
Té verde	TV04	74.97 ± 9.08	59.74 ± 2.50
Té verde	TV05	106.83 ± 4.04	85.46 ± 4.18
Té verde	TV06	168.67 ± 14.99	43.34 ± 2.50
Té verde hoja entera	TV07	208.38 ± 2.27	42.50 ± 3.19
Té blanco	TB01	96.57 ± 7.57	53.53 ± 1.37
Té blanco	TB02	76.11 ± 4.98	49.83 ± 1.21
Té negro	TN01	66.16 ± 2.38	30.28 ± 3.50
Té negro	TN02	81.13 ± 1.55	28.35 ± 0.65
Té negro	TN03	68.55 ± 6.84	32.09 ± 0.10
Té negro	TN04	69.08 ± 2.07	31.80 ± 3.95

Con el fin de evaluar la correlación entre las determinaciones espectrofotométricas realizadas en celda y en microplaca, se compararon los resultados obtenidos mediante ambas metodologías para los extractos preparados por el método ISO 14502-1 y por cold brew, los cuales se presentan en la figura 7. Los resultados obtenidos mediante los métodos espectrofotométricos en celda y microplaca mostraron una relación lineal, con coeficientes de determinación (R^2) de 0.9964 para la metodología ISO 14502-1 y 0.9813 para el método de preparación cold brew, lo que confirma que ambos formatos de lectura son equivalentes.

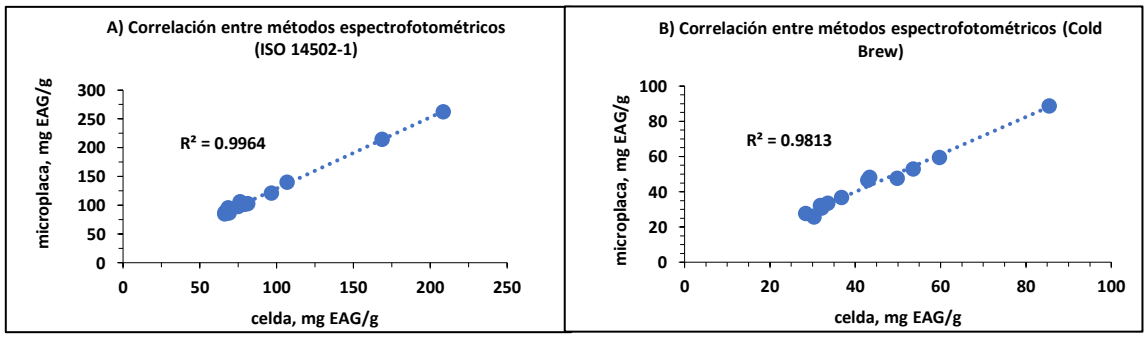

Figura 7. Correlación entre los métodos espectrofotométricos en celda y microplaca para la determinación de compuestos polifenólicos totales. (A) Metodología ISO 14502-1. (B) Método de preparación cold brew.

Evaluación de las estrategias de cuantificación

Con el fin de evaluar la influencia del efecto de matriz sobre la determinación de compuestos polifenólicos totales mediante el método espectrofotométrico en microplaca, se compararon las estrategias de cuantificación mediante calibración externa y adición estándar en tres muestras seleccionadas por sus características particulares: la infusión de azahar (AZ01), como control de una matriz vegetal ajena a Camellia sinensis; el té rojo tipo Pu-erh comercializado con limón (TRL01), cuyo componente adicional puede reaccionar con el reactivo de Folin-Ciocalteu e interferir en la cuantificación; y el té Tieguanyin (TK01), un oolong adquirido a granel y, por tanto, de composición potencialmente más heterogénea. Los resultados obtenidos en microplaca y celda se presentan en la Tabla 3.

En ambos formatos de medición, las muestras AZ01 y TRL01 presentaron valores similares entre las dos formatos de cuantificación, mientras que la muestra TK01 presentó una concentración considerablemente mayor por calibración externa que por adición estándar: 44.80 contra 14.63 mg EAG/g en microplaca y 43.98 frente a 13.49 mg EAG/g en celda. Cabe señar que esta muestra del extracto de Tieguanyin (TK01), presentaba una coloración azul, lo que puedo ocasionar la sobreestimación en los valores de calibración externa, ya que aporta una señal de fondo que se suma a la respuesta colorimétrica del ensayo y no corresponde a compuestos polifenólicos. Al construirse una curva de calibración sobre la propia matriz de la muestra, la adición estándar corrige este aumento mediante la ordenada al origen y proporciona una cuantificación más exacta, por lo que es considera la estrategia más adecuada para muestras con color basal apreciable.

Tabla 3. *Comparación entre la cuantificación mediante adición estándar y calibración externa para la determinación de compuestos polifenólicos totales en microplaca y celda con el método cold brew.*

Muestra	Concentración **(mg EAG/g)**			
	Microplaca		Celda	
	Calibración externa	**Adición de estándar**	**Calibración externa**	**Adición de estándar**
Azahar con Naranja (AZ01)	10.21	6.17	11.08	6.44
Té rojo con limón (TRL01)	7.07	6.98	13.79	6.17
Tikuanyin Tea (TK01)	44.80	14.63	43.98	13.49

Validación del desempeño analítico de Elementa (linealidad, LOD/LOQ y correlación)

La señal empleada en Elementa se seleccionó mediante el Índice de Desempeño Analítico (IDA) descrito en Materiales y métodos, que integra la linealidad con la sensibilidad y los límites de detección y cuantificación. Como este criterio no depende únicamente del coeficiente de determinación ya que un R^2 elevado no garantiza el mejor desempeño analítico global. En la Tabla 4, se presentan las ecuaciones de las curvas de calibración, valor R2, LOD y LOQ para la combinación R_norm+G_norm, quien fue el presento mejor valor

de IDA (datos no mostrados). Para validar estos resultados, se realizó la comparación parámetros obtenidos por espectrofotometría UV-Vis en cubeta y microplaca (tomados como métodos de referencia), tanto para los extractos cold brew como para los de etanol al 70 (Tabla 4).

Tabla 4. *Comparación de los parámetros analíticos obtenidos para Elementa y el método espectrofotométrico UV-Vis para la determinación de compuestos polifenólicos totales.*

Plataforma	Método	Ecuación de calibración	R^2	LOD (mg EAG/L)	LOQ (mg EAG/L)
Celda	Elementa (Cold Brew y EtOH 70 %)	$y = 0.0052x + 0.0013$	0.9925	6.46	19.58
	UV-Vis (Cold Brew)	$y = 0.0204x + 0.0767$	0.9971	0.13	0.39
	UV-Vis (EtOH 70 %)	$y = 0.0252x + 0.1090$	0.9916	0.09	0.28
Microplaca	Elementa (Cold Brew)	$y = 0.0098x - 0.0025$	0.9839	9.46	28.66
	Elementa (EtOH 70 %)	$y = 0.0100x - 0.0036$	0.9849	9.14	27.71
	UV-Vis (Cold Brew)	$y = 0.0097x + 0.0487$	0.9955	4.32	13.09
	UV-Vis (EtOH 70 %)	$y = 0.0098x + 0.0426$	0.9949	2.05	6.21

En todos los casos se observaron coeficientes de determinación superiores a 0.98, lo que indica una adecuada linealidad en las curvas de calibración y una respuesta proporcional entre la concentración de ácido gálico y la señal analítica. El método espectrofotométrico presentó los límites de detección y cuantificación más bajos, con valores de LOD de 0.09–0.13 mg EAG/L en cubeta y de 2.05–4.32 mg EAG/L en microplaca, lo que refleja su capacidad para detectar y cuantificar concentraciones muy bajas del analito, propia de una medición instrumental directa de la absorbancia. Elementa, en cambio, mostró LOD de 6.46 mg EAG/L en cubeta y de 9.14–9.46 mg EAG/L en microplaca y con LOQ de 19.58 y 27.71–28.66 mg EAG/L, respectivamente. Estos mayores LOD y LOQ posiblemente a que la intensidad de color registrada por la cámara depende de factores como la iluminación, la resolución del sensor y el procesamiento de la imagen. A pesar de una menor sensibilidad, los límites se encuentran muy por debajo de las concentraciones determinadas en las muestras de té, por lo que resultaron suficientes para su cuantificación fiable mediante análisis colorimétrico digital.

Para evaluar la concordancia entre ambos métodos se realizó un análisis de correlación (Figura 8). Los resultados de Elementa mostraron una relación lineal con los del método instrumental: el análisis de

correlación de Pearson sobre las 13 muestras analizadas arrojó un coeficiente r = 0.9973 y un coeficiente de determinación R^2 = 0.9947, lo que indica una elevada concordancia entre ambos métodos.

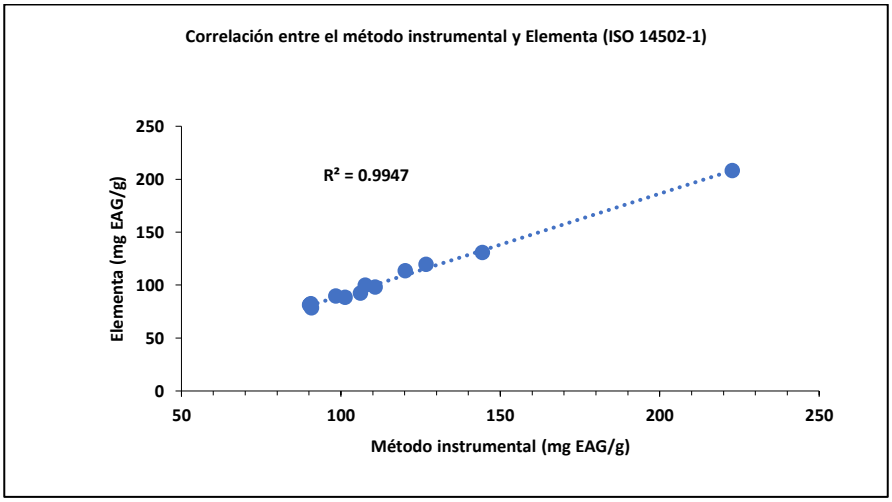

Figura 8. Correlación entre los resultados obtenidos mediante el método espectrofotométrico instrumental y PWA para la determinación de compuestos polifenólicos totales en extractos de té preparados mediante la metodología ISO 14502-1.

Cuantificación de compuestos polifenólicos totales en las muestras de té

Una vez confirmada la concordancia entre ambos métodos, se comparó la concentración de compuestos polifenólicos totales determinada mediante el método espectrofotométrico a 760 nm y con Elementa en extractos de té preparados mediante la metodología ISO 14502-1 (Figura 9). Las concentraciones estimadas por Elementa fueron comparables a las del método instrumental en todo el intervalo evaluado. El análisis de varianza de un factor (ANOVA) no reveló diferencias estadísticamente significativas entre ambos métodos (F = 0.575; p = 0.456), lo que respalda que Elementa entrega resultados equivalentes a los de la espectrofotometría UV-Vis para la cuantificación de compuestos polifenólicos totales en las muestras analizadas.

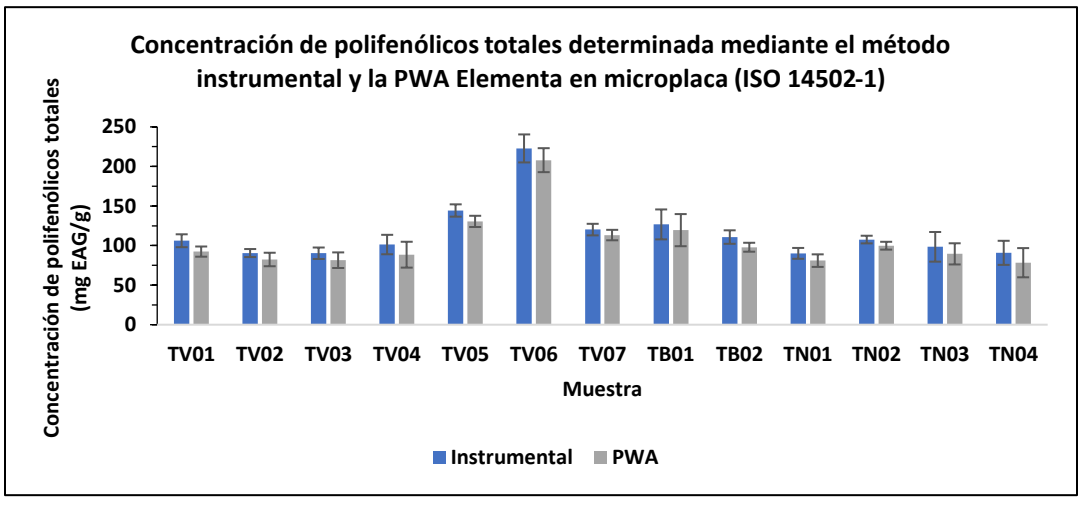

Figura 9. Comparación de la concentración de compuestos polifenólicos totales determinada mediante el método espectrofotométrico instrumental y la PWA en extractos de té preparados mediante la metodología ISO 14502-1.

Se evaluó el comportamiento del método en las tres matrices de mayor complejidad (AZ01, TRL01 y TK01) mediante ambos procedimientos de extracción (Tabla 5). En los extractos por cold brew, Elementa presentó los valores muy similares a los obtenidos en celda, con 6.30 y 6.44 mg EAG/g en AZ01 y 14.79 y 13.49 mg EAG/g en TK01. En los extractos etanólicos al 70 %, de mayor concentración, la correspondencia se mantuvo en el té rojo con limón, con 489.33 y 477.73 mg EAG/g, mientras que en la infusión de azahar Elementa subestimó el contenido respecto a la cubeta, con 138.01 y 168.36 mg EAG/g, diferencia atribuible al efecto de matriz de una infusión diferente a Camellia sinensis. En el té Tieguanyin, el contenido no resultó detectable por ninguno de los dos métodos en el extracto etanólico, lo que descarta un sesgo propio de la PWA.

Tabla 5. *Comparación de la cuantificación de compuestos polifenólicos totales mediante UV-Vis en celda y Elementa en muestras de té obtenidas por dos métodos de extracción por el método de adición de estandar.*

Muestra	**Código**	**Cold Brew (mg EAG/g)**		**Extracción con EtOH al 70 % (mg EAG/g)**	
		Celda	Elementa	Celda	Elementa
Azahar con naranja	AZ01	6.44	6.30	168.36	138.01
Té rojo con limón	TRL01	7.17	4.30	477.73	489.33
Tikuanyin Tea	TK01	13.49	14.79	ND	ND

Nota. *ND* = No detectable.

Conclusiones

En este trabajo se desarrolló y validó Elementa, una Aplicación Web Progresiva para la determinación de compuestos polifenólicos totales en té mediante análisis colorimétrico digital del ensayo de Folin-Ciocalteu adaptado a microplaca de 96 pozos y a tubo de ensayo, con procesamiento en los espacios de color RGB, HSV y CIELAB

El método de referencia se estableció en cubeta y microplaca, resultando complementarios: la cubeta ofreció mayor sensibilidad (rango lineal 5–50 mg/L) y la microplaca un intervalo más amplio (5–70 mg/L). La extracción ISO 14502-1 recuperó más polifenoles que el cold brew, sobre todo en hoja entera, mientras que el cold brew se conservó como alternativa acuosa rápida.

Elementa mostró linealidad adecuada en todos los formatos (R^2 = 0.9839–0.9925). Aunque su sensibilidad fue menor que la del método instrumental (LOD de 6.46 mg EAG/L en cubeta y 9.46 mg EAG/L en microplaca), fue suficiente para cuantificar las muestras, cuyo contenido osciló entre 28.35 y 208.38 mg EAG/g, con los valores más altos en tés verdes y hojas enteras. La concordancia con la espectrofotometría UV-Vis fue elevada: r = 0.9973 (R^2 = 0.9947) y sin diferencias significativas (F = 0.575; p = 0.456). El Índice de Desempeño Analítico (IDA) permitió seleccionar de forma objetiva el canal de color más adecuado.

En conjunto, Elementa constituye una alternativa fiable, rápida, portátil y de bajo costo, con un desempeño comparable al de la espectrofotometría UV-Vis, útil en laboratorios con infraestructura limitada y en análisis de campo.

Agradecimientos

Las autoras agradecen a la Universidad de Guanajuato por la beca otorgada a través del XXXI Verano de la Ciencia UG 2026, a la Dra. Alma Rosa Corrales Escobosa, la Dra. Katarzyna Wróbel y la M.C.Q. María Teresa Muñoz Barbosa por su asesoría y apoyo, así como a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI, México) por el apoyo brindado mediante el proyecto CBF-2025-G-383.

Bibliografía/Referencias

Ascacio-Valdés, J. A., et al. (2010). Purification of polyphenols from plant extracts using Amberlite XAD-16 resin. (Citado por Cázares *et al.,* 2023).

Cázares, R., Morales, E., Martínez-Ávila, G. C. G., Meza-Carranco, Z., & Rojas, R. (2023). Comparación de la actividad antioxidante de 4 tés comerciales (Camellia sinensis). *Universitas Agri,* 2(2), 5–14. https://doi.org/10.59741/agri.v2i2.12

Currie, L. A. (1995). Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). *Pure and Applied Chemistry*, *67*(10), 1699–1723. https://doi.org/10.1351/pac199567101699

Do, M.-H., Le-Thi, A.-D., Nguyen, T.-N., Le, N.-D., & Nguyen, C.-H. (2023). Smartphone-based digital images as a low-cost and simple colorimetric approach for the assessment of total phenolic contents in several specific Vietnamese dried tea products and their liquors. *Food Chemistry*, 401, Artículo 134147. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134147

Fan, Y., Li, J., Guo, Y., Xie, L., & Zhang, G. (2021). Digital image colorimetry on smartphone for chemical analysis: A review. *Measurement,* 171, Artículo 108829. https://doi.org/10.1016/j.measurement.2020.108829

Gawron-Gzella, A., Dudek-Makuch, M., & Matlawska, I. (2018). Antioxidant activity of teas obtained from leaves of Camellia sinensis. *Herba Polonica,* 64(2), 33–44.

Gimeno Creus, E. (2004). Compuestos fenólicos: Un análisis de sus beneficios para la salud. *Offarm,* 23(6), 80–84.

Hilal, Y., & Engelhardt, U. (2007). Characterisation of white tea – Comparison to green and black tea. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit,* 2(4), 414–421. https://doi.org/10.1007/s00003-007-0250-3

Horta-Velázquez, A., Ramos-Ortiz, G., & Morales-Narváez, E. (2025). The optimal color space enables advantageous smartphone-based colorimetric sensing. *Biosensors and Bioelectronics*, 273, Artículo 117089. https://doi.org/10.1016/j.bios.2024.117089

Kong, A. W.-Y., Chan, H. T. H., & Ho, K.-S. (2026). Analytical chemistry in daily life – ChemEye: A smartphone based mobile app for colorimetric analysis. *Journal of Chemical Education,* 103(1), 603–611. https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.5c00830

Li, L., Dong, X., Chen, J., Xiao, J., Zeng, L., Huang, Z., & Zou, Z. (2024). Smartphone readable three dimensional printed analytical kit for on-site detection of Cr (VI). *Microchemical Journal*, *197*, 109841.

Lucas, B. N., Dalla Nora, C. P., Boeira, C. P., Verruck, S., da Rosa, C. S., et al. (2022). Determination of total phenolic compounds in plant extracts via Folin-Ciocalteu's method adapted to the usage of digital images. *Food Science and Technology,* 42, Artículo e35122. https://doi.org/10.1590/fst.35122

Magammana, C. M., Rock, C. R., Wang, L., & Gray, V. (2019). A comparison of the polyphenolic and free radical scavenging activity of cold brew versus hot brew black tea (*Camellia sinensis*, Theaceae). *Journal of Food Research, 8*(3), 35–41. https://doi.org/10.5539/jfr.v8n3p35

Müller, T. D., Siraj, A., Walter, A., Kim, J., Wein, S., von Kleist, J., Feroz, A., Pilz, M., Jeong, K., Sing, J. C., Charkow, J., Röst, H. L., & Sachsenberg, T. (2025). OpenMS WebApps: Building user-friendly solutions for MS analysis. *Journal of Proteome Research*, 24(2), 940–948. https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.4c00872

Musci, M., & Yao, S. (2017). Optimization and validation of the Folin–Ciocalteu method for determination of total polyphenol content of Pu-erh tea. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68(8), 913–918. https://doi.org/10.1080/09637486.2017.1311844

Nápoles-Duarte, J. M., Biswas, A., Parker, M. I., Palomares-Baez, J. P., Chávez-Rojo, M. A., & Rodríguez-Valdez, L. M. (2022). Stmol: A component for building interactive molecular visualizations within streamlit web-applications. *Frontiers in Molecular Biosciences,* 9, Artículo 990846. https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.990846

Nelis, J. L. D., Bura, L., Zhao, Y., Burkin, K. M., Rafferty, K., Elliott, C. T., & Campbell, K. (2019). The efficiency of color space channels to quantify color and color intensity change in liquids, pH strips, and lateral flow assays with smartphones. *Sensors,* 19(23), Artículo 5104. https://doi.org/10.3390/s19235104

Ramírez-Aristizábal, L. S., Ortiz, A., & Ospina-Ocampo, L. F. (2016). Determinación de compuestos fenólicos (catequinas, cafeína y ácidos fenólicos) en té verde (Camellia sinensis) usando cromatografía líquida de alta resolución. *Vitae*, 23(Supl. 1), S245–S250.

Waterhouse, A. L. (2002). Determination of total phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 6, I1.1.1–I1.1.8. https://doi.org/10.1002/0471142913.fai0101s06

Yazici, K., & Goksu, B. (2017). Effects of kaolin application on antioxidant and phenolic compounds in tea leaves (Camellia sinensis L. O. Kuntze). *Biochemical Genetics,* 55(5–6), 367–377. https://doi.org/10.1007/s10528-017-9805-x

Zugazua-Ganado, M., Bordagaray, A., Ezenarro, J., Garcia-Arrona, R., Ostra, M., & Vidal, M. (2024). Adaptation of the Folin-Ciocalteu and Fast Blue BB spectrophotometric methods to digital image analysis for the determination of total phenolic content: Reduction of reaction time, interferences and sample analysis. *LWT*, 193, Artículo 115756. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115756