



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**CONTENIDO DE ALUMINIO EN INFUSIONES DE
HOJAS DE TÉ COMERCIAL CON Y SIN AZÚCAR Y
CON Y SIN LIMÓN A DOS TIEMPOS DE INFUSIÓN**

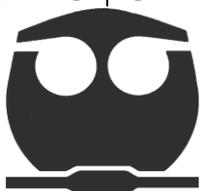
TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA:

DIEGO ARMANDO BÁRCENA PADILLA



México, D.F. 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: LILIANA VIRGINIA RAQUEL SALDIVAR Y OSORIO

VOCAL: Profesor: MARIA DEL CARMEN DURAN DOMINGUEZ

SECRETARIO: Profesor: MARIA DE LOURDES OSNAYA SUAREZ

1er. SUPLENTE: Profesor: PATRICIA SEVERIANO PEREZ

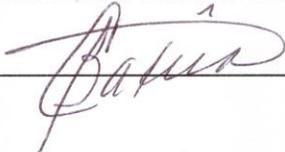
2° SUPLENTE: Profesor: JUAN CARLOS RAMIREZ OREJEL

Lugar donde se realizó la tesis:

LABORATORIO 301-302-303 DEL CONJUNTO "E" DE LA FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNIVERISDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. CIUDAD UNIVERSITARIA. DISTRITO FEDERAL, MÉXICO.

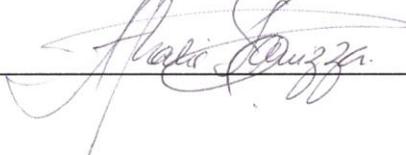
ASESOR DE TESIS:

PROFA. DRA. ING. MARÍA DEL CARMEN DURÁN DOMÍNGUEZ



SUPERVISOR TÉCNICO:

CAND. DRA. AMALIA PANIZZA DE LEÓN



SUSTENTANTE:

DIEGO ARMANDO BÁRCENA PADILLA



DEDICATORIA

Principalmente a mis padres Diego y Emma, por apoyarme en todo momento y por creer en mi, aún en los momentos más difíciles y complicados. Por corregirme y enseñarme a ser una mejor persona día a día.

Gracias papás por darme todo su amor, cariño, comprensión y sobre todo paciencia en toda mi etapa como estudiante, pero sobre todo en la realización de mi carrera profesional, ya que sin su apoyo brindado en todos los aspectos y sentidos, la meta habría sido más complicada de conseguir. Ustedes son parte de todos y cada uno de mis éxitos tanto profesionales como en mi vida personal. Los quiero mucho y los amo.

A ti Darinka por que a pesar de todo sabes que te quiero mucho y que por sobre todas la cosas, juntos vamos a salir adelante para crecer como hermanos y como familia. Esto es para ti.

A mis tíos "Tito" y Gloria, por estar conmigo desde siempre, ayudarme y darme su cariño en todo momento.

A ti "TITIN", por apoyarme en todo y por ser como un segundo padre para mí, desde aquí te dedico este triunfo por que sabes muy bien que a pesar de que ya no te encuentras presente nada ha cambiado, ya que sigues conmigo y eso es lo más importante.

A Sandro y "Chuchin", por ser como una guía para mí, y enseñarme a valorar las cosas más importantes de mi vida.

A todos mis primos, en especial a Francisco y Marcos por estar presentes y ser además de familiares unos excelentes amigos.

A todos y cada uno de mis familiares, por apoyarme en todos los sentidos cuando más lo necesitaba.

A ti Bren, por tu amor, comprensión y apoyo incondicional, aún en los momentos más complicados, eres parte de mis triunfos y éxitos, y juntos vamos a salir adelante... lo sabes perfectamente. Gracias por estar en el camino que yo recorría. Te amo.

Al Sr. Jorge Fernando Murueta y a la Sra. Martha E. Cruz por su comprensión y ayuda en los períodos más difíciles que tuve que afrontar y por permitirme estar al lado de su hija que sin lugar a dudas fue un apoyo muy importante para lograr esto.

A mis amigos, que son pocos pero que son leales.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por otorgarme toda la enseñanza, educación y conocimiento que tengo, y darme la oportunidad de realizar una carrera profesional para salir adelante en mi vida.

A los laboratorios 301-302-303 de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental del conjunto "E" de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México y todo el personal que labora en estos.

A la Dra. Ing. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa, por darme la oportunidad de trabajar y llevar a cabo mi proyecto de tesis, así como su asesoría y preparación durante la realización del mismo.

A la Dra. Amalia Panizza de León por asesorarme técnicamente en el proyecto de tesis presentado y por enseñarme a ser un mejor alumno y compañero durante mi estancia en el laboratorio.

A la Dra. Liliana Virginia Raquel Saldívar y Osorio y a la Profesora María de Lourdes Osnaya Suárez por aceptar ser parte del jurado de mi examen profesional y ayudarme a presentar de la mejor manera posible mi tesis.

A todos y a cada uno de mis compañeros de los laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental que siempre fueron un gran apoyo para que pudiera llevar a cabo mis objetivos y metas en la realización de mi tesis y conclusión de mis estudios.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS.....	II
ÍNDICE DE TABLAS.....	III
RESUMEN.....	IV
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.- Problemática.....	1
1.2.- Objetivos.....	2
1.2.1.- Objetivo general.....	2
1.2.2.- Objetivos específicos.....	2
1.3.- Hipótesis.....	3
CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES.....	4
2.1.- Propiedades e historia del té.....	4
2.2.- Componentes químicos del té.....	6
2.3.- Propiedades químicas y especiación del aluminio.....	8
2.4.- Fuentes de aluminio.....	11
2.5.- Ecotoxicología del aluminio.....	12
2.5.1.- Ingreso, absorción y distribución del aluminio en el cuerpo humano y animal.....	13
2.5.2.- Fisiopatologías inducidas por el aluminio.....	14
2.6.- Concentraciones de aluminio en las plantas e infusiones de té.....	16
CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
3.1.- Investigación de mercado.....	19
3.2.- Caracterización fisicoquímica de las hojas de té.....	19
3.2.1.- Porcentaje de humedad, sólidos torales y cenizas.....	19
3.2.2.- Digestión de las hojas de té verde y té negro.....	22
3.2.3.- Contenido de aluminio en las hojas de té verde y té negro.....	24
3.3.- Caracterización de las infusiones de té.....	25
3.3.1.- Diseño de experimentos.....	25
3.3.2.- Valores de pH en las infusiones.....	26
3.3.3.- Cuantificación de aluminio en las infusiones.....	27
3.4.- Porcentaje hipotético de aluminio que se transfiere a las infusiones.....	28
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
4.1.- Resultados de la Investigación de mercado.....	29
4.2.- Caracterización fisicoquímica de las hojas de té verde y té negro.....	29
4.2.1.- Porcentaje de humedad, sólidos totales y cenizas de las hojas de te.....	29
4.2.2.- Concentración de aluminio en las hojas de té.....	30
4.3.- Caracterización de las infusiones de té verde y té negro.....	34
4.3.1.- Valores de pH en las infusiones de té verde y té negro.....	34
4.3.2.- Caracterización de las infusiones de té verde.....	36
4.3.3.- Caracterización de las infusiones de té negro.....	38
4.3.4 – Comparación del contenido de aluminio entre las infusiones de té verde y té negro.....	39

4.3.5.- Análisis de la transferencia de aluminio de la hoja a la infusión.....	48
4.4.- Concentración de aluminio en el agua y azúcar utilizados.....	50
CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	52
ANEXO 1.- Marcas y tipos de té.....	55
ANEXO 2.- Especificaciones y curvas de calibración de los equipos empleados.....	59
ANEXO 3.- Conceptos de espectroscopia de absorción atómica.....	64
ANEXO 4.- Metodología analítica.....	66
REFERENCIAS.....	68

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 2.1. Fotografía hojas de té.....	4
Figura 2.2. Tipos de té.....	5
Figura 2.3. Evolución de la producción mundial de té. Extraído de Bernardi y Dante (2002).....	6
Figura 2.4. Estructura química de las catequinas.....	7
Figura 2.5. Estructura química del ácido cítrico.....	16
Figura 2.6. Estructura química de la sacarosa.....	17
Figura 3.1. Diagrama determinación porcentaje de humedad, sólidos totales y cenizas.....	20
Figura 3.2. Hojas de té verde marca A y té negro marca B.....	20
Figura 3.3. Fotografía Mufla Linderberg SB.....	21
Figura 3.4. Desecador y crisoles empleados.....	21
Figura 3.5. Fotografía digestor de microondas Berghof-MWS-1.....	22
Figura 3.6. Diagrama general de digestión para hojas de té en microondas.....	23
Figura 3.7. Diseño de experimentos para las infusiones de té verde y té negro.....	26
Figura 3.8. Fotografía Potenciómetro Orión 720 ^a	27
Figura 4.1. Contenido de aluminio en las hojas de té verde y té negro.....	31
Figura 4.2. Porcentaje de aluminio en materia seca de hojas de té verde y té negro.....	32
Figura 4.3. Contenido de aluminio por cada sobre de té verde y té negro.....	32
Figura 4.4. Análisis de varianza para el contenido de aluminio en las hojas de té (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$).....	33
Figura 4.5. Valores de pH en las infusiones de té a 5 minutos de infusión.....	35
Figura 4.6. Valores de pH en las infusiones de té a 15 minutos de infusión.....	35
Figura 4.7. Relación entre el tipo de té y el pH de las infusiones (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$).....	36
Figura 4.8. Relación entre la adición de limón y valor de pH (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$).....	37

Figura 4.9. Concentraciones de aluminio en las infusiones de té verde y té negro a 5 minutos de infusión.....	39
Figura 4.10. Concentraciones de aluminio en las infusiones de té verde y té negro a 15 minutos de infusión.....	40
Figura 4.11. Análisis de varianza para el contenido de aluminio en función del tiempo de infusión (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$).....	43
Figura 4.12. Análisis de varianza para el contenido de aluminio en función del contenido de azúcar (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$).....	44
Figura 4.13. Interacción entre la adición de limón y azúcar con el contenido de aluminio (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$).....	45
Figura 4.14. Análisis de varianza para el contenido de aluminio en función del tiempo de infusión para el té negro (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$).....	47
Figura 4.15. Interacción entre el contenido de azúcar y contenido de aluminio para el té negro (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$).....	47
Figura 4.16. Porcentaje de aluminio transferido a las infusiones a 5 minutos de infusion.....	50
Figura 4.17. Porcentaje de aluminio transferido a las infusiones a 15 minutos de infusion.....	51

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 2.1. Componentes químicos del té.....	7
Tabla 3.1. Programas de microondas para digestión de hojas de té.....	23
Tabla 4.1. Marcas de té con mayor demanda en el mercado.....	29
Tabla 4.2. Porcentajes de humedad, cenizas y sólidos totales en las hojas de té verde y té negro.....	30
Tabla 4.3. Concentraciones reales de aluminio en las hojas de té verde y té negro.....	30
Tabla 4.4. Análisis de variabilidad del contenido de aluminio en las hojas de té.....	33
Tabla 4.5. Valores de pH en las infusiones de té verde y negro.....	34
Tabla 4.6. Análisis de la variabilidad del los valores de pH en las infusiones de té.....	36
Tabla 4.7. Concentraciones de aluminio en las infusiones de té verde.....	37
Tabla 4.8. Concentraciones de aluminio en las infusiones de té negro.....	38
Tabla 4.9. Análisis de la variabilidad del aluminio en las infusiones de té.....	42
Tabla 4.10. Análisis de la variabilidad del contenido de aluminio en las infusiones de té verde.....	45
Tabla 4.11. Análisis de la variabilidad del contenido de aluminio en las infusiones de té negro.....	46
Tabla 4.12. Porcentaje de aluminio que se transfiere hipotéticamente de las hojas de té verde y té negro a su respectiva infusión.....	49
Tabla 4.13. Concentraciones de aluminio en el azúcar (sacarosa) y agua.....	51

RESUMEN

Actualmente, el consumo de té se ha visto incrementado debido, entre otras cosas, a una serie de efectos benéficos que posee para la salud humana, como propiedades anti-cancerígenas, anti-mutagénicas, pero sobre todo anti-oxidantes por el alto contenido de compuestos polifenólicos que contiene. Sin embargo, la planta de té (*Camellia sinensis* L.) es una especie reconocida como acumuladora de aluminio del suelo, el cual genera algunos desórdenes fisiológicos en los seres vivos, de mayor importancia en los humanos. Dentro de los efectos que tiene el aluminio en los humanos pueden mencionarse el impacto que ocasiona este metal en el sistema músculo-esquelético, sistema respiratorio, sistema nervioso, sistema cardiovascular y sistemas reproductivo y urinario, etc. Esta investigación tuvo como objetivos cuantificar el contenido de aluminio presente en las hojas como en las infusiones de té verde y té negro que se consumen en la Ciudad de México, mediante análisis fisicoquímico e instrumental de laboratorio, así como determinar si el tiempo de infusión, contenido de azúcar, contenido de limón y tipo de té afectan en la cantidad de aluminio que es ingerida por el consumidor de estas bebidas y establecer el porcentaje de aluminio que se transfiere posiblemente desde las hojas de té verde y té negro a sus respectivas infusiones, a partir del análisis de la información disponible. Se realizó un análisis fisicoquímico en el caso de las hojas de té y, para las infusiones, se utilizó un diseño de experimentos factorial con cuatro factores: tipo de té, tiempo de infusión, contenido de azúcar y contenido de limón y dos repeticiones. En ambos casos se cuantificó el contenido de aluminio por espectroscopía de absorción atómica. Los resultados obtenidos permiten concluir que se encontró una mayor cantidad de aluminio en las hojas de té verde que en el té negro sin que esto fuera estadísticamente significativo ($p < 0.05$) y que las variables determinantes en el contenido de aluminio en las infusiones fueron: contenido de azúcar, tiempo de infusión y la interacción entre la adición de azúcar (sacarosa) y limón (ácido cítrico). En un segundo análisis estadístico eliminando el factor del tipo de té ($p < 0.05$) se concluyó que estas variables influyeron considerablemente en el té negro, no así en el té verde. Por otra parte el tipo de té y el contenido de limón por sí solo no presentaron significancia ($\alpha = 0.05$) para la variable de respuesta (contenido de aluminio); sin embargo, para el caso del pH, sí presentaron significancia. El tiempo de infusión, la adición de azúcar y el pH del té negro principalmente, son los tres factores más importantes en la presencia y transferencia del aluminio que pasa de las hojas a la infusión.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

1.1. Problemática

El té es una de las principales bebidas que se consumen en los países orientales como China y Japón (entre otros), pero también es una de las bebidas más populares en el mundo (Ruan y Wong, 2001). Por tal motivo, investigadores de estos países han desarrollado muchos estudios sobre las características de esta bebida. La planta de té (*Camellia sinensis*) es una de las pocas especies reconocidas como acumuladoras de aluminio, ya que pueden llegar a acumular hasta más de 10,000 ppm de aluminio (Matsumoto *et al.* 1976). Matsumoto *et al.* (1976) reportaron concentraciones del orden de 30 mg.g⁻¹ de aluminio en las hojas viejas de té. Por otra parte, Ruan y Wong (2001) mencionan concentraciones de aluminio en algunas variedades de té, del orden de 468 a 930 µg.g⁻¹.

Durante muchos años el aluminio ha sido considerado inocuo para los seres humanos (Sorenson *et al.*, 1974), ya que en la mayoría de sus formas no presenta daño a los organismos vivos, sin embargo, bajo ciertas condiciones como pH ácido tiende a formar especies que son potencialmente tóxicas para los organismos vivos (McLachlan, 1995), es por eso, que el impacto de este metal sobre los sistemas biológicos ha sido de mucha controversia en décadas pasadas (Campbell y Bondy, 2000). En relación a la salud humana estudios recientes demuestran que el aluminio está relacionado con algunas enfermedades como el Alzheimer, Parkinson y encefalopatía de diálisis (Exley y Korchazhkina, 2001).

Actualmente el consumo de té, y en especial el de té verde, se ha visto incrementado, debido entre otras cosas, a una serie de efectos benéficos para la salud humana que se le asignan a esta bebida, tales como; propiedades anti-mutagénicas, anti-cancerígenas y anti-oxidantes (Yamamoto *et al.*, 1997). México no es ajeno a esta situación internacional, la prensa local indica que el consumo de té en México se incrementa a una tasa anual del 20% (Cruz-Bárceñas, 2007).

Los tés comerciales a pesar de ser producidos con brotes de hojas jóvenes, contienen altas concentraciones de aluminio y son, por lo tanto, una potencial fuente de aluminio en la dieta (Pennington, 1988; Owuor *et al.*, 1990; Wong *et al.*, 1998). Las concentraciones de aluminio en los productos de té y su liberación durante la preparación de las infusiones han sido investigadas con mayor intensidad por Flaten, 2002, Fung, *et al.*, 2003 y Wong *et al.*, 1998.

En esta investigación se determinó la cantidad de aluminio presente en los tés que se consumen en la Ciudad de México y las variables que la influyen.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivos generales

Cuantificar el contenido de aluminio presente en las hojas como en las infusiones de té verde y té negro que se consumen en la Ciudad de México, mediante análisis fisicoquímico e instrumental de laboratorio.

Determinar como influyen las variables: tiempo de infusión, contenido de azúcar, contenido de limón y tipo de té en la cantidad de aluminio, mediante un diseño de experimentos factorial.

Establecer el porcentaje de aluminio que es transferido posiblemente desde las hojas de té verde y té negro a sus respectivas infusiones, a partir del análisis de la información disponible.

1.2.2. Objetivos específicos

- Cuantificar el contenido de aluminio en las *hojas* e *infusiones* de té verde y té negro mediante un análisis fisico-químico.

- Verificar si el tiempo de infusión, contenido de azúcar, contenido de limón y tipo de té afectan en la concentración de este metal que es ingerido por el consumidor vía las infusiones.
- Calcular el porcentaje que se transfiere de este metal de las hojas de té a las respectivas infusiones.

1.3. Hipótesis

Las concentraciones de aluminio que se encuentran presentes en las hojas de té verde y té negro, se transfieren en un cierto porcentaje a las infusiones del mismo y esa proporción depende de otros factores tales como; tipo de té, tiempo de infusión, contenido de azúcar y contenido de limón.

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES

2. 1. Propiedades e historia del té

El té es un arbusto procedente de Oriente, denominado botánicamente *Camellia sinensis* y pertenece a la familia botánica Teáceas. Presenta follaje perenne, flores blancas y fruto capsular con tres semillas negruzcas. Puede alcanzar hasta 10 o 15 metros de altura en estado salvaje, pero la planta bajo cultivo se poda para limitar su altura, favoreciendo la generación de nuevos brotes y hojas, facilitando así la cosecha (Parra, 2006).

El té es una planta cultivada en áreas tanto tropicales como subtropicales y en suelos ácidos conteniendo concentraciones elevadas de aluminio (Ruan *et al.*, 2006). La especie se originó en los bosques montañosos de las fronteras entre China e India. Crece mejor en los suelos con pH ácido (4.5 – 5.5), que contienen concentraciones elevadas de aluminio y otros metales. Ver Figura 2.1.



Figura 2.1. Fotografía de las hojas de té

A partir de la misma materia prima, la planta y hojas de la especie *Camellia sinensis*, se obtienen diversos productos finales, según variedades botánicas, formas de cultivo, época, tipo de cosecha y el método de industrialización utilizado.

Las hojas cosechadas de té atraviesan diversas etapas durante el proceso de industrialización como son: el marchitado, enulado, fermentado y secado, para la obtención de té Negro. El té Verde se origina evitando el proceso de fermentación llevándose a cabo un proceso de escaldado. También, se producen otros tipos de té, como el Blanco que se produce a partir de las yemas nuevas, y el Rojo donde se lleva a cabo una fermentación incompleta (Parra, 2006).

Existen cuatro tipos principales de té con múltiples variedades que dan lugar a más de 3000 tipos de té en todo el mundo (Figura 2.2).

- Té Negro: Presenta una fermentación completa y es el producto que presenta mayores propiedades aromáticas.
- Té Rojo: Presenta una fermentación incompleta (50 – 60% de fermentación). Se realiza un tratamiento térmico para inactivar enzimas específicas y así poder detener la fermentación. Tradicional en China, Japón y Taiwán.
- Té Verde: No presenta fermentación. Se realiza un escaldado para evitar la acción enzimática de la fermentación.
- Té Blanco: No presenta fermentación. Se produce a partir de la recolección de las yemas nuevas antes de que abran.



Figura 2.2. Tipos de té (negro, rojo, verde y blanco)

La producción mundial total de té se ha ubicado entre 2,6 y 3,3 millones de toneladas anuales, durante el período comprendido entre los años 1995 y 2005, con un incremento del 22,1%. El cultivo del té se extiende por diversas áreas del mundo, se pueden encontrar plantaciones en los cinco continentes. La variabilidad agroecológica de cada zona productora, permite obtener distintas materias primas, que originan productos con características particulares (Bernardi y Dante, 2002). Ver Figura 2.3.

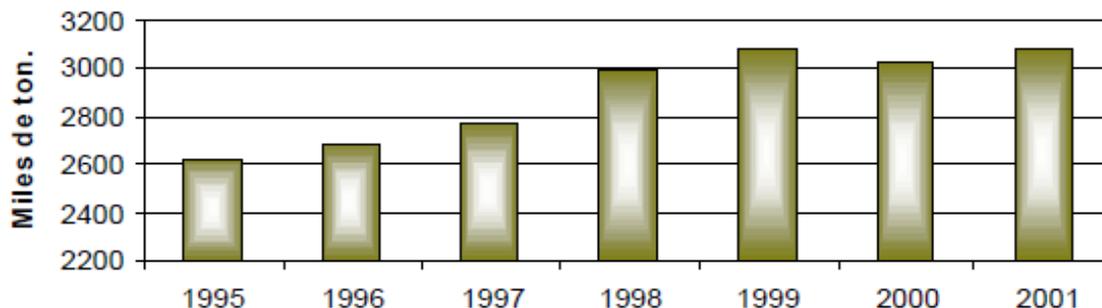


Figura 2.3. Evolución de la producción mundial de té (Extraído de Bernardi y Dante, 2002)

2.2. Componentes químicos del té

Tanto la planta como las hojas de té presentan un complejo químico de enzimas, carbohidratos, proteínas y lípidos. Las hojas se distinguen por su marcado contenido en xantinas (cafeína, teobromina y teofilina) y polifenoles (flavonoides, teaflavina, tearubigina) que integran entre un 15 y un 30% de la materia seca de las hojas de té, pudiendo variar su contenido según el material genético, ambiente, prácticas agronómicas e incidencia de plagas, además de prácticas de industrialización. La composición química general de las hojas varía con condiciones agroclimáticas, fecha de cosecha, prácticas culturales y características genéticas de la planta. Ver Tabla 2.1.

Los mayores compuestos anti-oxidantes de las hojas son las catequinas, sustancias pertenecientes al grupo de los flavonoides, donde las catequinas predominantes son la Galato de epigalocatequina (EGCG), Epigalocatequina (EC) y Epigalato de catequina (EGC), que se encuentran localizadas en las vacuolas citoplasmáticas, jugando una función

primordial durante el proceso la fermentación. Algunas propiedades de las catequinas son: reducción de los triglicéridos y colesterol en la sangre, prevención de la arteriosclerosis, refuerza los vasos capilares, regula la presión sanguínea y previene las caries, limitando el desarrollo de las bacterias (Parra, 2006). Ver Figura 2.4.

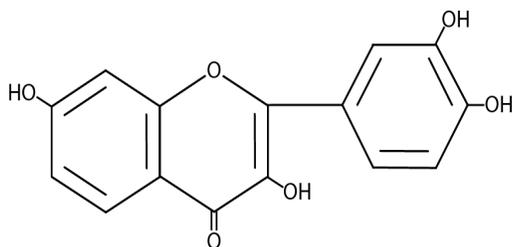


Figura 2.4. Estructura química de las catequinas

Tabla 2.1. Componentes químicos del té (Extraído de Parra, (2006)

Componente	Valor	Componente	Valor
Teaflavinas (%)	0.8	Sodio (mg/100 g)	3
Tearubiginas (%)	8	Hierro (mg/100 g)	17.4
Cafeína (%)	3.5	Vitamina A (U /100 g)	900
Polifenoles totales (%)	20	Vitamina B1 (mg/100 g)	0.1
Sustancias altamente polimerizadas (%)	11.2	Vitamina B2 (mg/100 g)	0.8
Aminoácidos (%)	1	Niacina (mg/100 g)	10
Proteínas (%)	20.6	Ácido gálico (%)	0.2
Lípidos (%)	2,50	Epigalato de catequina (%)	0.6
Carbohidratos (%)	32.1	(+) Catequina (%)	0.2
Humedad (%)	6	Epigalocatequina (%)	1.5
Calcio (mg/100 g)	470	Galato de epigalocatequina (%)	2.9
Fósforo (mg/100 g)	320	Galato de epicatequina (%)	0.3

2.3. Propiedades químicas y especiación del aluminio

El aluminio es uno de los metales más abundante en la corteza terrestre. Es liberado al suelo por procesos naturales, procesos de erosión del suelo y erupciones volcánicas (Llopis y Diez, 2002). El aluminio se solubiliza en suelos ácidos y se puede absorber por la raíz de la planta y afectar el crecimiento de estas (Matsumoto *et al.*, 1976). La planta de té es capaz de acumular altos niveles de Al en las hojas maduras y viejas (Ding y Huang, 1991). Las plantas de té no solamente toleran altas concentraciones de aluminio, si no que también su crecimiento se ve disminuido con la presencia de este metal (Konishi *et al.*, 1985). La acidificación del suelo es una importante causa de degradación de la tierra en el mundo, este proceso puede ser acelerado por las practicas de agricultura como sistemas de cultivo y fertilización (Ruan *et al.*, 2004).

El aluminio existe en varias formas en el suelo: como especie soluble, como forma absorbida en superficies coloidales y orgánicas, como hidróxido de aluminio amorfo y cristalino, aluminio polimerizado en superficies de arcilla, y como un componente estructural de minerales, siendo la forma soluble la de mayor disponibilidad para las plantas (Shuman, 1990). El aluminio tiene una solubilidad mínima en un rango de pH de 5.5 – 6.0. La química del aluminio es compleja, y muchos factores, tales como, el pH, la calidad y contenido de materia orgánica del suelo afectan en diferente modo la especiación del aluminio (ISO, 1997).

La distribución relativa de Al entre sus diversos complejos orgánicos e inorgánicos determina su movilidad en el ambiente, biodisponibilidad y toxicidad (Adams y Hathcock, 1984; Hue *et al.*, 1986). La toxicidad del Aluminio en plantas decrece cualitativamente en el orden de: polímero de $\text{AlO}_4\text{Al}_{12}(\text{OH})_{24}(\text{H}_2\text{O})_{12}$ o también llamado Al^{13+} , Al^{3+} , $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, $\text{Al}(\text{OH})_4^{2-}$, y $\text{Al}(\text{SO})_4^+$ (la toxicidad del $\text{Al}(\text{SO})_4^+$ no es totalmente aceptada) (Boudot *et al.*, 1993). El polímero $\text{AlO}_4\text{Al}_{12}(\text{OH})_{24}(\text{H}_2\text{O})_{12}$ es comúnmente referido como Al^{13+} , su toxicidad es considerada mayor que la del Al^{3+} (Parker y Bertsch, 1992).

El contenido total de aluminio en hojas de té es diferente según el tipo de té (Verde o Negro). Muchos factores influyen en las altas concentraciones de aluminio en las plantas de té y sus productos, tales como la maquinaria utilizada en la manufactura de estos, las condiciones naturales del suelo, fertilizantes utilizados durante el ciclo del cultivo, y las variedades de plantas de té, por ejemplo diferentes tipos de té negro contienen diferentes concentraciones de aluminio (Owuor *et al.*, 1990). Tachibana *et al.* (1995) demostró que el pH del suelo en un campo de té verde se redujo significativamente hasta 2,9 por la aplicación de fertilizantes nitrogenados a concentraciones elevadas.

Uno de los mecanismos de acidificación del suelo por fertilización nitrogenada se relaciona con la liberación de iones H^+ a través de la nitrificación de NH_4^+ y la posterior lixiviación de NO_3^- (Bouman *et al.*, 1995). El cambio de pH del suelo en la rizosfera se ve afectado por el equilibrio de cationes y aniones. Las condiciones en la rizosfera son de importancia para la absorción de nutrientes y la adaptación de las plantas a condiciones químicas adversas (Marschner, 1995). Hayatsu y Kosuge (1989) demostraron que en suelos ácidos de té, la nitrificación disminuyó el pH del suelo. La fertilización es una practica común para los agricultores de té alrededor del mundo, lo que acidifica el suelo e incrementa los niveles de aluminio extraíble (Ruan *et al.*, 2004; Tachibana *et al.*, 1995). Consecuentemente, ha sido propuesto que la fertilización nitrogenada puede afectar la ingesta de aluminio por las plantas de té y sus infusiones.

El aumento de la disponibilidad del Al en la rizosfera del suelo podría ser de importancia para las plantas de té que son capaces de aprovechar grandes cantidades de Al (Ruan *et al.*, 2004). Es muy evidente que la edad de las hojas podría ser el factor de mayor importancia al evaluar la contribución de los niveles de F y Al en las hojas de té, ya que se produce principalmente a partir de hojas viejas (Ruan y Wong, 2001).

El té contiene un gran número de componentes que son capaces de acomplejar al aluminio. Se ha supuesto que los polifenoles, que representan el 40% de la materia seca presente en el té, son los más importantes compuestos quelantes del Al en el té, debido a los numerosos grupos hidroxilos fenólicos que proporcionan un gran número de posibles sitios de quelación (Flaten, 2002). Los hidróxidos, fluoruros, sulfatos, fosfatos, sílices y contenido de materia orgánica son los ligandos más importantes en cuanto al ecosistema acuático y terrestre relacionados con el aluminio. Además el aluminio puede formar complejos con algunos componentes orgánicos: como los ácidos húmico, fúlvico, componentes orgánicos de baja densidad y ligandos inorgánicos como los fluoruros, cloruros, sulfatos y fosfatos (CCME, 1988).

La concentración de un determinado elemento en la planta puede representar un proceso de absorción, translocación y reutilización. Se cree que la fracción soluble de Al en el suelo se recoge pasivamente por las raíces y es transportado fácilmente en las plantas, ya que todas las partes de la planta, así como sus concentraciones están linealmente relacionadas. En la planta de té se determinó aluminio en la epidermis de la pared celular de la hoja formando complejos con las catequinas, polifenoles de las hojas de té pertenecientes al grupo de los flavonoides (Ruan y Wong, 2001).

Posiblemente, la acidificación de la rizosfera es causada por la actividad de las raíces de la planta de té, un fenómeno que también se lleva a cabo por otras raíces y el aluminio se libera al medio, aumentando su disponibilidad. Las plantas de té son capaces de aprovechar grandes cantidades de Al (Braun *et al.*, 2001, Dieffenbach y Matzner, 2000; Göttlein *et al.*, 1999).

Algunos experimentos han demostrado que efectivamente existe una mayor concentración de Al extraíble en la rizosfera, debido al cambio de pH inducido por las raíces de la planta (Gahoonia, 1993). La adición de residuos o materia orgánica también puede mejorar las condiciones en las que se realizan los cultivos, la acidez del suelo y la toxicidad del aluminio. (Kretschmar *et al.*, 1991). Estudios recientes demuestran que la acumulación de

aluminio en plantas de té se encuentra significativamente relacionada con la edad de la planta y la variedad de la especie (Ruan *et al.*, 2004).

Se ha demostrado que la adición de materia orgánica, nitrógeno, o cenizas aumenta la alcalinidad del suelo disminuyendo considerablemente la acumulación del aluminio en el suelo. Por otro lado, experimentos anteriores mostraron una disminución de Al extraíble que estuvo acompañado por un aumento considerable del pH del suelo (Ruan *et al.*, 2004).

2.4. Fuentes de aluminio

El flujo de polvo por minerales y materiales rocosos es una gran fuente de partículas de aluminio (Lee y von Lehmden, 1973; Sorrenson *et al.*, 1974), además de actividades humanas como la minería y la agricultura que también agregan continuamente partículas de polvo al ambiente (Eisenrich, 1980; Filipek *et al.*, 1987). Constantini y Giordano (1991) mencionan que las concentraciones de aluminio en agua natural normalmente son pequeñas, pero se han encontrado concentraciones altas en zonas urbanas. Por otra parte, los aditivos alimentarios también contribuyen sustancialmente en las cantidades de aluminio en la dieta, ya que este metal está presente en muchos alimentos procesados y además es adicionado al agua potable por propósitos de purificación (Levesque *et al.*, 2000).

Entre los alimentos más comunes con aditivos que contienen aluminio se encuentran el queso, polvos para hornear, pasteles, pastas congeladas, tortillas de harina, etc. Otra fuente significativa de aluminio son los productos a base de leche de soya, ya que contribuyen con 2.1 mg. día⁻¹ en la típica ingesta de un infante (Devoto y Yokel, 1994; Yokel y McNamara, 2001). Koch *et al.*, (1988) establecieron concentraciones promedio de aluminio en refrescos de cola de 0.1 mg. g⁻¹; mientras que en hojas secas de té, encontraron concentraciones de 555 – 1009 µg.g⁻¹, y en infusiones de 4.5 - 6.0 µg. mL⁻¹. También encontraron concentraciones de aluminio en infusiones de café de 0.04 – 0.30 µg. mL⁻¹. Por otro lado, se ha estimado que cerca del 20% de la ingesta diaria de aluminio proviene de los utensilios

de comida hechos de aluminio, como sartenes, cafeteras y bandejas (Greger *et al.*, 1985; Regura *et al.*, 1986; Lin *et al.*, 1997). Lione (1983) reportó que en promedio el humano consume diariamente de 3 – 100 mg de aluminio a través de comidas y bebidas. Mientras que un pequeño porcentaje de aluminio es ingerido por infantes a través de la leche materna (Flarend, 2001).

Se sabe que el consumo crónico de anti-ácidos que contienen aluminio en su formulación puede contribuir a que se adquieran algunas enfermedades como el síndrome de la demencia de diálisis, en personas con insuficiencia renal (Griswold *et al.*, 1983). Lione (1983) menciona que hay personas que llegan a consumir hasta 5 g de aluminio diariamente en anti-ácidos y aspirinas.

La exposición al aluminio es indudablemente inevitable debido al incremento en el manejo de este metal durante la vida diaria y en las industrias; por lo que la exposición potencial al aluminio es mayor en ciertas áreas o grupos laborales, por ejemplo trabajos en industrias de metales y utilización del aluminio, empleos en imprentas, concesionarias y centros de servicio automotrices, y personal involucrado en la fabricación de productos metálicos (U.S. P. H. S., 1992).

2.5. Ecotoxicología del aluminio

Es conocido y ampliamente documentado el efecto que el aluminio tiene sobre la salud humana. Generalmente es cierto que el consumo excesivo de aluminio es dañino para la salud, ya que puede causar ciertas alteraciones en el riñón (Jackson 1983). El aluminio provoca impactos fisiológicos a causa de cambios estructurales y bioquímicos a nivel humano, los cuales generan afecciones al sistema nervioso, endocrino, urinario, músculo-esquelético, cardíaco, hepático, respiratorio y reproductivo (Nayak, 2002). Dentro de estas afecciones las más relevantes son: desórdenes neurológicos, óseos y hematológicos (Becaria *et al.*, 2002; Nesse *et al.*, 2003; Osinska *et al.*, 2004; Fenwick *et al.*, 2005; Gupta *et al.*, 2005, Farinha *et al.*, 2005).

La enfermedad del Alzheimer ha sido relacionada con altos niveles de aluminio en el cerebro, derivado de agua potable tratada durante un largo período de tiempo (McLachlan, 1995; Walton *et al.*, 1995).

2.5.1. Ingreso, absorción y distribución del aluminio en el cuerpo humano y animal

Deng *et al.*, (1998) señalan que la absorción de aluminio en el cuerpo es muy baja, sin embargo, existen factores que pueden intensificar esta absorción tanto en animales como en humanos. La absorción intestinal puede ser poco menor al 0.1% (Flaten, 2001), pero la presencia de muchos compuestos orgánicos en la dieta pueden llegar a ser quelantes potenciales del aluminio y de esta forma intensificar esta absorción (Deng *et al.*, 2000; Venturini-Soriano y Berthon, 2001). Ittel (1993) menciona que una de las rutas importantes de absorción de aluminio es a través del intestino. Moore *et al.* (2000) demostraron una disminución en la función del tracto gastrointestinal por la acumulación de aluminio. Aunque el mecanismo exacto de absorción del aluminio a través del intestino no es muy claro, se han presentado diversas propuestas (Exley *et al.*, 1996), por ejemplo, Cochran *et al.* (1993) propuso la presencia de dos proteínas específicas para el aluminio que enlazan al aluminio con la mucosa intestinal, y de este modo se regula la absorción del metal, y Feinroth *et al.*, (1982) propuso que el aluminio es transportado activamente fuera del intestino.

La cantidad total de aluminio presente en el cuerpo de un humano saludable es aproximadamente de 30 – 50 mg (ATSDR, 1999; U.S.P.H.S, 1992; Alfrey, 1984; Ganrot, 1986). Se ha mencionado que el cerebro es uno de los sitios de acumulación de aluminio más importantes en el cuerpo (McDermott *et al.*, 1978; Arief *et al.*, 1979). Se ha reportado la retención de aluminio en cerebro (preferentemente en el hipocampo), huesos, riñones, músculos y corazón (Yokel and McNamara, 1985; Anthony *et al.*, 1986; Santos *et al.*, 1987; Chan *et al.*, 1988). Yokel and McNamara (2001) mencionan que el cerebro tiene menores concentraciones de aluminio que muchos otros tejidos, por lo que Du Val *et al.*,

(1986) sugirieron que el orden de incremento en los niveles de aluminio de los diferentes órganos en los animales expuestos a este metal era en huesos, corteza renal, médula renal, hígado, testículos, músculo esquelético, corazón y cerebro.

2.5.2. Fisiopatologías inducidas por el aluminio

Los efectos tóxicos del aluminio en el cerebro, hígado, músculo esquelético, corazón y médula espinal han sido establecidos anteriormente (Galle, 1987), sin embargo, el mecanismo de acción de este metal es poco claro (Han *et al.*, 2000) Por otro lado, en los tejidos extra renales se pueden llegar a formar grandes depósitos de aluminio y perjudicar el buen funcionamiento de la célula, o incluso la supervivencia de la misma a causa de la lenta acumulación de este metal (Levesque *et al.*, 2000).

Según Yumoto *et al.*, (2000) el aluminio es un metal sumamente neurotóxico, y en concentraciones elevadas puede llegar a inhibir el desarrollo del cerebro y afectar algunas funciones vitales de este órgano en humanos y animales. También establecen que a una edad joven, el cerebro puede ser más susceptible a ser un órgano blanco de aluminio.

Se han establecido severas manifestaciones neurológicas atribuidas a la intoxicación por aluminio en humanos, como la pérdida de memoria, convulsiones, movimientos torpes y lentos, coordinación deficiente, perturbación y convulsiones con estatus epiléptico (Zatta *et al.*, 1991; Crapper *et al.*, 1980). Algunas enfermedades neuropatológicas que han sido asociadas con niveles elevados de aluminio en el cerebro son la demencia senil como el Alzheimer, Síndrome de Down con manifestaciones de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (medula espinal y cerebro), demencia Parkinsoniana y encefalopatía de diálisis (Zatta *et al.*, 1991; Crapper *et al.*, 1980).

Varner *et al.* (1998) señaló que la ingesta de aluminio en agua potable puede ocasionar algunas alteraciones morfológicas en el cerebro, por ejemplo, reducción de la densidad neuronal, cambios degenerativos como picnosis y condensación de la cromatina.

Gopalan (1996) propuso que el aluminio inicialmente se deposita en los huesos, pero que posiblemente durante la osteoporosis en la edad adulta, la desmineralización de los huesos puede ocasionar que se transfiera el aluminio a otros órganos, como el cerebro principalmente. El dolor de huesos, fracturas y miopatías proximales son características comunes de toxicidad inducida por el aluminio en el sistema musculo esquelético (Alfrey, 1991). Birchall (1991) ha sugerido que la hipertrofia cardiaca puede ser causada posiblemente por los altos niveles de aluminio en el corazón. Galle (1987) señala que las células del miocardio pueden acumular aluminio en los lisosomas.

En otros órganos, como por ejemplo el hígado, la elevada acumulación de aluminio, raramente afecta al organismo, básicamente porque la excreción biliar lo elimina y en ciertos casos cuando se deposita intracelularmente, los hepatocitos pueden ser destruidos (Galle, 1987). Somova *et al.*, (1997) encontraron en estudios hiperdilatación en los túbulos proximales del riñón, después de la exposición crónica a niveles elevados de aluminio en agua potable.

La anemia hipocrómica o decremento de los glóbulos rojos de la sangre son un indicador de la toxicidad del aluminio en el sistema circulatorio (O' Hare y Murnaghan, 1982). Por otra parte Nasiadek y Chmielnicka (2000) señalan una disminución en la concentración de hierro en los eritrocitos, sangre y bazo sanguíneos a causa del aluminio. Zaman *et al.*, (1990) señalan una disminución de enzimas en la médula espinal a causa de la presencia del aluminio.

Gómez *et al.* (1997) determinaron que los testículos acumulan elevadas cantidades de aluminio, basados en estudios con ratas adultas. Betaineh *et al.* (1998) coinciden con estos investigadores y reportan una disminución considerable en el peso de testículos y vesículas seminales en ratas, luego de la ingestión de cloruro de aluminio.

2. 6. Concentraciones de aluminio en las plantas e infusiones de té

Estudios recientes demuestran que la acumulación de aluminio en plantas de té esta significativamente relacionada con la edad de la planta, la acidez del suelo y la variedad de la especie. La concentración de Al en los productos de té y su liberación a la infusión ha sido un tema de numerosos estudios debido a problemas de salud sobre el consumo de Al (Flaten, 2002; Fung *et al.*, 2003; Wong *et al.*, 1998). Se ha sugerido que los niveles más altos de Al en los brotes de plantas de té jóvenes se relacionan con un pH más bajo en el suelo, y por tanto, mayor disponibilidad de Al en los suelos (Dong *et al.*, 1999; Wong *et al.*, 1998).

Recientemente, Street *et al.* (2007) realizaron estudios en las hojas y en las infusiones de té y hallaron 2660 mg.kg^{-1} y 9.38 mg.L^{-1} de aluminio. Por otra parte, se han realizado estudios sobre el contenido de aluminio en hojas y en infusiones, ya que la planta de té (*Camellia sinensis*) es una de las pocas especies reconocidas como acumuladoras de aluminio. El pH de los productos comerciales del té es más bajo que el de las infusiones, esto debido a la presencia de algunos conservadores como el ácido cítrico (Figura 2.5) y es conocido que este ácido ayuda o promueve la absorción del aluminio (Yang *et al.*, 2000).

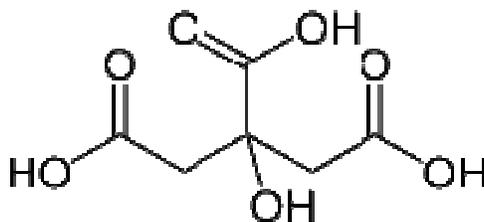


Figura 2.5. Estructura química del ácido cítrico (ácido 2-hidroxi- 1,2,3-propanotricarboxílico)

El total del aluminio en las plantas de té depende de muchos factores como la edad de las hojas, condiciones del suelo, lluvia, altitud, genética de la planta, etc. Se han reportado concentraciones de aluminio en infusiones de té con valores de $1-6 \text{ mg.L}^{-1}$, y se ha visto que los métodos de preparación como el tiempo de la infusión, cantidad de agua, y

temperatura también tienen una gran influencia en el contenido de aluminio (Marcus *et al.*, 1996).

Se ha visto que las infusiones de té están vinculadas con gran cantidad de largas moléculas orgánicas, como pueden ser los compuestos polifenólicos. Estos compuestos polifenoles tienen una gran afinidad por los metales como el aluminio y por algunas macromoléculas biológicas como son los alcaloides o carbohidratos, como la sacarosa y proteínas. (Alberti *et al.*, 2003). Ver Figura 2.6.

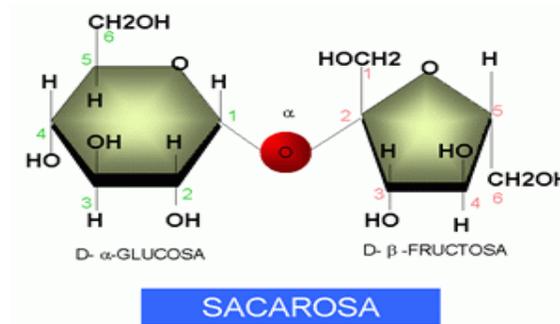


Figura 2.6. Estructura química de la sacarosa

Se ha supuesto que los polifenoles, que representan el 40% de la materia seca presente en el té, son los compuestos acomplejantes más importantes del Al en el té, debido a los numerosos grupos hidroxilos fenólicos que proporcionan un gran número de posibles sitios de complejación. Una gran fracción de los polifenoles del té negro no ha sido identificada químicamente (Flaten, 2002).

El consumo de té puede ser una vía de exposición al aluminio, ya que las hojas de té tienen altos contenidos del metal. La infusión presenta entre 10 y 100 veces más contenido de aluminio que las hojas de la planta, sin embargo, la presencia de algunos compuestos presentes en el té como los taninos hacen que disminuya considerablemente la cantidad de aluminio capaz de ser absorbida por el intestino del ser humano. La Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) estima que el aluminio contenido en el agua de consumo puede contribuir a aumentar la ingesta en $4 \text{ mg Al. día}^{-1}$ (Llopis y Diez, 2002).

Actualmente, la NOM-127-SSA1-1994 indica que el nivel máximo permisible de Al en el agua potable es de 0,2 mg. L⁻¹ (ppm). El aluminio es en general muy poco absorbido en el tracto gastrointestinal, aproximadamente en el orden del 0,1% de la ingesta en la dieta se absorbe, en función de las especies químicas de aluminio (Priest *et al.*, 1996).

CAPÍTULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Investigación de mercado

Se realizó una investigación de los tipos de té que se encuentran en 2 establecimientos comerciales de autoservicio de la Ciudad de México, con el objetivo de conocer las marcas y los gustos de té que se pueden obtener para su consumo. Para efectuar esta investigación se realizó el siguiente procedimiento:

- a) Se diseñó un formulario que se completó en cada uno de los establecimientos comerciales. (Ver Anexo 1)
- b) Se procesó la información obtenida. (Ver Anexo 4)
- c) Se seleccionaron los tipos de té

Es importante resaltar que esta metodología se desarrolló solamente con el objetivo de realizar una investigación preliminar (no generalizable), pues no se pudo acceder a estadísticas oficiales sobre el tema. En caso de querer conocer el consumo poblacional de esta bebida se deberá recurrir a los métodos de encuestas ya probados y muestras representativas, lo cual no está contemplado en la fase del estudio que se está planteando en esta investigación.

Se determinó trabajar para el té verde con la marca A y para el té negro con la marca B, ya que la información recabada de los inventarios de las tiendas para saber cuáles eran las marcas de mayor demanda para los dos tipos de té y estas dos marcas fueron las más vendidas.

3.2. Caracterización fisicoquímica de las hojas de té verde y negro

3.2.1 Porcentajes de humedad, sólidos totales y cenizas

Las determinaciones de humedad, sólidos totales y cenizas de las hojas de té verde y té negro (Figura 3.1) se realizaron según las indicaciones de los Métodos Normalizados

(AOAC, 1980). Se lavaron los crisoles (se utilizaron 8) con jabón libre de fosfatos y se enjuagaron con agua desionizada, esto con el objetivo de evitar interferencias en los resultados. Posteriormente se introdujeron los crisoles en un horno marca Felisa a 103–105°C, durante aproximadamente 24 horas hasta alcanzar peso constante y se pesaron. Se homogenizaron perfectamente las hojas de cada sobre de té (se utilizaron 4 sobres de té verde y 4 de té negro) y se colocaron en sus respectivos crisoles. Se obtuvo el peso de las muestras húmedas. Los crisoles con dichas muestras húmedas se secaron en un horno marca Felisa a 103–105°C donde se dejaron 24 horas. Finalmente se dejaron enfriar en un desecador individual con desecante activo 20 minutos y posteriormente se pesaron los crisoles con las muestras secas. En la Figura 3.1 se presenta un diagrama con los pasos a seguir para realizar la determinación del porcentaje de humedad, sólidos totales y cenizas utilizando las metodologías y ecuaciones definidas en los párrafos posteriores. En el Anexo 4 se detalla la metodología empleada.

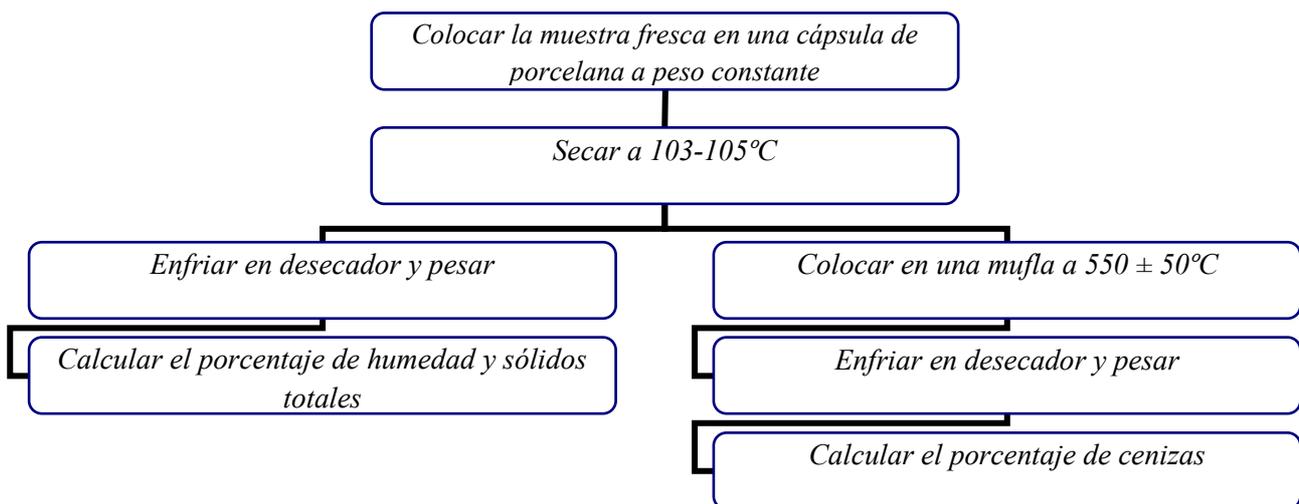


Figura 3.1. Diagrama para la determinación del porcentaje de humedad, peso seco y cenizas



Figura 3.2. Hojas de té verde marca A y té negro marca B

La Ecuación 1 se utiliza para calcular el porcentaje de humedad (% H) y la Ecuación 2 permite calcular el porcentaje de sólidos totales (% ST).

Ecuación 1:

$$\%H = \left(\frac{\text{peso cápsula y muestra húmeda} - \text{peso cápsula y muestra seca}}{\text{peso cápsula y muestra húmeda} - \text{peso cápsula}} \right) * 100$$

Ecuación 2:

$$\%ST = \frac{\text{peso (muestra seca)}}{\text{peso (muestra húmeda)}} * 100$$

Para determinar el porcentaje de cenizas, los crisoles con las muestras secas se pesaron y se colocaron en una mufla marca Linderberg SB (Ver figura 3.2) a $550 \pm 50^\circ\text{C}$ durante 2 horas y media, luego de ese tiempo se dejaron enfriar 20 minutos en el desecador y se pesaron nuevamente para obtener el peso exacto de las cenizas. En total se procesaron 8 muestras, 4 por cada tipo de té (Ver Anexo 4). La Ecuación 3 se utilizó para calcular el porcentaje de cenizas (% C).

Ecuación 3:

$$\%C = 100 - \left[\left(\frac{\text{peso crisol muestra entra mufla} - \text{peso crisol sale mufla}}{\text{peso crisol muestra entra mufla} - \text{peso crisol vacío}} \right) * 100 \right]$$



Figura 3.3. Mufla Linderberg SB



Figura 3.4. Desecador y crisoles

3.2.2. Digestión de las hojas de té verde y té negro

Se realizó previamente una digestión de las 8 muestras para determinar el contenido de aluminio utilizando un digestor de microondas marca Berghof-MWS-1 (Figura 3.3), simulando las condiciones ácidas que prevalecen en el estómago.

Previamente a realizar la digestión se lavaron todas las partes del microondas (recipientes, tapas, mangueras, carrusel, recipiente grande para el CaCO_3 , etc.) utilizando jabón libre de fosfatos y para eliminarlo se utilizó agua desionizada. Posteriormente se dejaron los recipientes del digestor rellenos con HNO_3 al 15%, tapados durante 24 horas en la campana para evitar interferencias en los resultados. Al transcurrir ese tiempo se enjuagaron los recipientes con agua desionizada y se secaron perfectamente junto con las tapas. Se preparó una solución saturada de CaCO_3 para neutralizar los gases que se producen durante el proceso de digestión ácida evitando así una explosión. También se prepararon 60 mL de agua regia (HNO_3 1: 3 HCl) en la campana para llevar a cabo la digestión.



Figura 3.5. Digestor de microondas marca Berghof-MWS-1

Para llevar a cabo la digestión de las muestras (hojas de té), se tomó una cantidad conocida de cenizas (0.1 g) y se introdujeron en los respectivos recipientes, adicionándose 10 mL de agua regia a cada uno, asegurándose de tapar y fijar bien todas las partes del horno o digestor. Posteriormente, se colocaron dentro del digestor de microondas marca Berghof-MWS-1 y se operaron dos programas secuenciales con las características mencionadas en la Tabla 3.1.

En el caso de los blancos no se les agregó la muestra. Al término del proceso de digestión se dejó enfriar 30 minutos el digestor y se retiraron los recipientes con mucho cuidado, se filtró el contenido con papel filtro del N°4 en frascos viales ámbar y se enjuagó tres veces con agua desionizada, aforándose a 20 ml. Finalmente se guardaron los 10 frascos con las muestras (dos de ellas fueron blancos) en el refrigerador para su posterior análisis por espectrofotometría de absorción atómica (EAA).

Tabla 3.1. Programas de microondas para digestión de hojas de té.

Características	Programa 1	Programa 2	Programa 3
Potencia (%)	70%	80%	10%
p-band *	20	20	20
d°C/dt	10	10	10
Temperatura (°C)	120	280	110
Tiempo (minutos)	10	40	10

*p-band: especificación del equipo

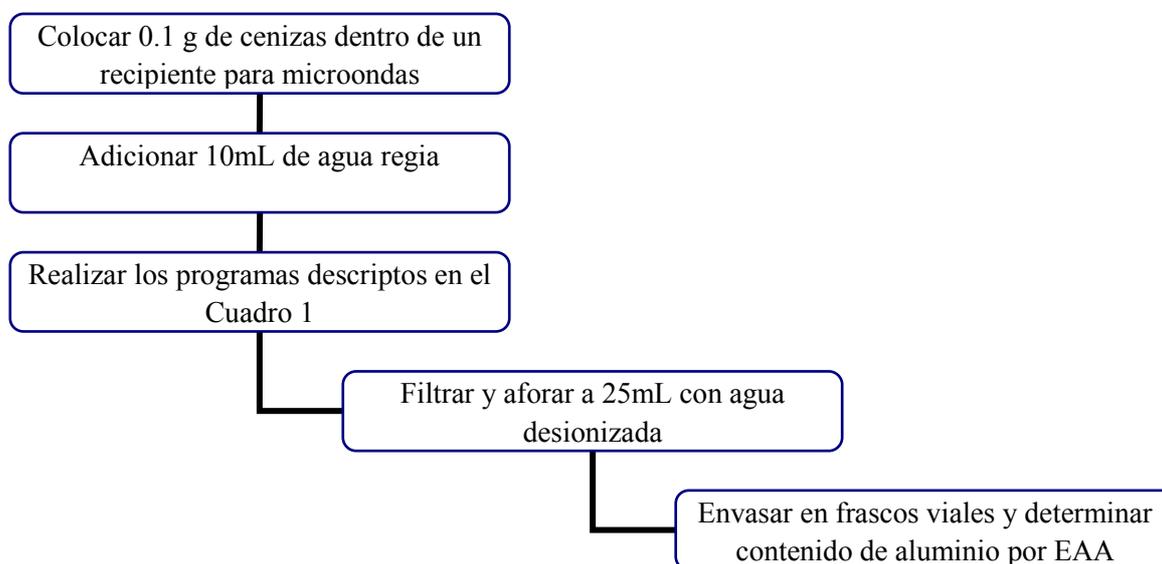


Figura 3.6. Diagrama de la digestión de hojas de té verde y té negro con microondas

3.2.3 Contenido de aluminio en las hojas de té verde y té negro

Para conocer el contenido total de aluminio en las hojas de té verde y té negro, se utilizó la técnica analítica de espectroscopía de absorción atómica (EAA). Este estudio fue realizado con el apoyo del Laboratorio de Absorción Atómica de la USAI (Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación) en el Edificio “B” de la Facultad de Química, que se encuentra a cargo como responsable la Q. Araceli Tovar Tovar.

Los resultados obtenidos para las 8 muestras procesadas que fueron entregadas, así como las curvas de calibración se presentan en el Anexo 1.

Las concentraciones reales de aluminio en las hojas de té verde se calcularon tomando en cuenta el aforo de las muestras, la masa de la materia seca de las hojas y la masa de un sobre de té. Se realizó el análisis estadístico con el programa *Statgraphics Plus 5*. Las ecuaciones 4, 5 y 6 para obtener las concentraciones reales de aluminio en las hojas de té verde y té negro se presentan a continuación:

Ecuación 4:

$$mg \text{ Al reales} = (ppm \text{ Al} * \text{aforo (L)})$$

Ecuación 5:

$$mg \text{ Al} \cdot kg \text{ m.s.}^{-1} = \left(\frac{mg \text{ Al reales} * \frac{10^6 \text{ mg}}{kg}}{mg \text{ m.s.}} \right)$$

$$\begin{aligned} 100 \text{ g m.s.} &\rightarrow \text{mg Al} \\ \text{g sobre de té} &\rightarrow X \end{aligned}$$

$$X = \left(\frac{\text{mg Al}}{\text{sobre de té}} \right)$$

Ecuación 6:

$$\% \text{ Al en m.s.} = \left(\frac{\text{mg Al} \cdot \text{kg m.s.}}{10\,000} \right)$$

3.3. Caracterización de las infusiones de té

3.3.1. Diseño de experimentos

El diseño de experimentos es factorial con cuatro factores y dos niveles por factor, el cual se realizó por duplicado. En la Figura III.5 se puede observar un esquema del diseño de experimentos planteado.

Factor 1: Tipo de té (Té verde y té negro).

Factor 2: Contenido de jugo de limón, con sus dos niveles: con y sin (2mL).

Factor 3: Contenido de azúcar, con sus dos niveles: con y sin (2 cucharadas = 5 g).

Factor 4: Tiempo de infusión con sus niveles: 5 y 15 minutos.

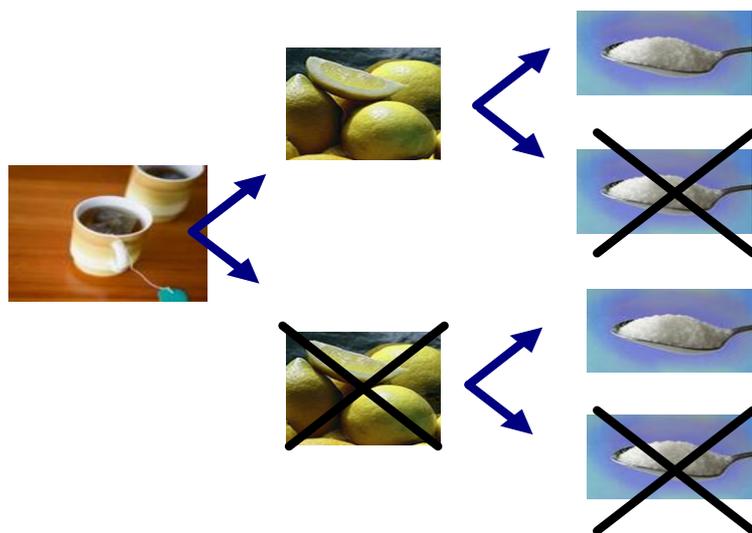


Figura 3.7. Diseño de experimentos para las infusiones de té

En total se prepararon 32 infusiones. Como se observa en la figura 3.7, se calentó agua de garrafón hasta ebullición y se vertió en un vaso de unicel, se introdujo el sobre de té y de acuerdo al tratamiento se procesaron los 4 vasos por tipo de té. Se manejaron dos tiempos de infusión por tipo de té, 5 y 15 minutos (En el Anexo 4 se detalla la metodología empleada).

3.3.2. Valores de pH de las infusiones

Se determinó el pH de las 32 infusiones de té verde y té negro (Ver Anexo 4) para verificar de qué forma afectaba este parámetro en el contenido de aluminio de las infusiones de ambos tipos de té. Se determinó el valor de pH de todas las infusiones trabajadas utilizando un potenciómetro marca Orión 720a (Figura 3.6). El pH es un factor importante en la posible solubilización del metal.

Para realizar el estudio de pH y la cuantificación del aluminio en las infusiones de té, primero se prepararon dichas infusiones utilizando un sobre de té por cada vaso desechable de unicel que se utilizó (se utilizaron 4 vasos por tipo de té y por tiempo de infusión) y 250 mL de agua caliente (100°C), se tomaron las muestras conforme al

diseño de experimentos. Las muestras se aforaron a 100 mL y se guardaron en frascos ámbar (lavados con jabón libre de fosfatos y HNO₃ al 15% durante 24 horas), en refrigeración, para la determinación del pH y el análisis de EAA para determinar la cantidad de aluminio presente en las infusiones. Las especificaciones del equipo así como las curvas de calibración se pueden observar en el Anexo 3.



Figura 3.8. Potenciómetro Orión 720a

3.3.3. Cuantificación de aluminio en las infusiones

Una vez realizadas las determinaciones del pH en las infusiones, las muestras se guardaron en refrigeración y, posteriormente, se realizó la determinación del aluminio mediante la técnica analítica de espectroscopía de absorción atómica. Estas determinaciones se realizaron en el Laboratorio de Absorción Atómica y Cromatografía de Gases, del Departamento de Ingeniería Química Metalúrgica de la Facultad de Química de la UNAM, ubicado en el Edificio “D”.

Una vez obtenidos los resultados con las concentraciones de aluminio (ppm o mg/L) tanto en las infusiones como en las hojas de los dos tipos de té, se realizó el análisis estadístico utilizando el paquete informático *Statgraphics Plus 5*, para determinar si existió diferencia significativa en las infusiones y sus factores.

3.4. Porcentaje hipotético de aluminio que se transfiere a las infusiones de té

La ecuación 7 se utilizó para determinar el porcentaje hipotético de aluminio que se transfiere de las hojas de té a las respectivas infusiones.

Ecuación 7:

$$\left(\frac{\bar{x} \text{ mg Al}}{\text{sobre de té}} \right) \rightarrow 100\%$$

$$\text{ppm Al (conc. potencial de Al)} = \left(\frac{\left(\frac{\bar{x} \text{ mg Al}}{\text{sobre de té}} \right)}{\text{vol. infusión (L)}} \right)$$

$$\text{ppm Al (conc. potencial de Al)} \rightarrow 100\%$$

$$\text{ppm Al (infusión)} \rightarrow X$$

X = % Al que se transfiere hipotéticamente de las hojas de té a la infusión

CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados de la investigación de mercado

En la Tabla 4.1 se presentan las marcas con mayor demanda en el mercado, en la Ciudad de México, según la investigación realizada. De ellas se seleccionaron dos a las cuales se les denominó A y B, para té verde y negro, respectivamente.

Tabla 4.1. Marcas de té con mayor demanda en el mercado en el caso del té verde y té negro

Té Verde	Té Negro
Lagg's	La Carabela
La Pastora	Therbal
Mc Cormick	La Pastora

4.2. Caracterización fisicoquímica de las hojas de té negro y verde

4.2.1. Porcentaje de humedad, sólidos totales y cenizas de las hojas de té

El porcentaje de humedad, de sólidos totales y de cenizas se presenta en la Tabla 4.2. Se observa que las hojas de té verde seleccionado, al cual se denominará A, presentaron un mayor porcentaje de humedad en relación con las hojas de té negro, al cual se denominará B. Esto se debe a que en el caso del té verde se lleva a cabo un proceso de escaldado para evitar así el proceso de fermentación y la acción enzimática, y por tal motivo las hojas de té verde pueden llegar a absorber una mayor cantidad de agua, situación que en las hojas de té negro no sucede porque no se lleva a cabo este proceso.

Otro factor importante puede ser el hecho de que las hojas de té negro son sometidas a un proceso de fermentación y a un mayor tiempo de secado con el objetivo de obtener un producto con mayores propiedades aromáticas, proceso que no se aplica en el té verde y que, de alguna manera, puede contribuir a que las hojas de té negro pierdan un poco de humedad.

Las hojas de té negro presentaron un mayor porcentaje de sólidos totales y cenizas, en comparación con las hojas de té verde, sin manifestarse una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre los dos tipos de té. Sin embargo, la diferencia se puede explicar por que posiblemente durante el proceso de fermentación al que es sometido el té negro, se pueden llegar a producir algunos ácidos orgánicos y compuestos volátiles que, en cierta forma, aumentan el contenido de sólidos totales y cenizas en las hojas de té negro y también como consecuencia de la producción de estos ácidos, aumenta la acidez y disminuye el pH de las hojas.

Tabla 4.2. Porcentajes de humedad, cenizas y sólidos totales en las hojas de té verde y negro

	Humedad (%)		Sólidos totales (%)		Cenizas (%)	
	<i>Té verde</i>	<i>Té negro</i>	<i>Té verde</i>	<i>Té negro</i>	<i>Té verde</i>	<i>Té negro</i>
Media	7.29	6.77	92.71	93.23	6.21	6.35
D.E	0.82	0.07	0.81	0.07	0.11	0.11
C.V	11.24	1.03	0.87	0.07	1.77	1.73

D.E.: desviación estándar, C.V.: coeficiente de variación

4.2.2 Concentración de aluminio de las hojas de té

En la Tabla 4.3 se presentan las concentraciones de aluminio en ppm (mg de aluminio kg^{-1} de materia seca) en las hojas de té, obtenidas conforme a lo mencionado en el capítulo de metodología.

Tabla 4.3. Concentraciones reales de aluminio en las hojas de té verde y té negro

	Aluminio (ppm)		Porcentaje de aluminio (% m.s.)		Aluminio por cada sobre de té (mg)	
	<i>Té verde</i>	<i>Té negro</i>	<i>Té verde</i>	<i>Té negro</i>	<i>Té verde</i>	<i>Té negro</i>
Media	1322.56	1114.20	0.13	0.11	1.28	1.08
D.E	256.91	58.61	0.03	0.01	0.26	0.05
C.V	19.42	5.26	23.07	9.09	20.31	4.62

D.E.: desviación estándar, C.V: coeficiente de variación, m.s.: materia seca

En la Tabla 4.3 se puede observar que las hojas de té verde contienen una mayor cantidad de aluminio que las hojas de té negro, en una concentración promedio de 1322.56 ± 256.91 ppm, mientras que en el caso de las hojas de té negro el contenido cuantificado fue de 1114.20 ± 58.61 ppm, esto corresponde a un $0.13 \pm 0.03\%$ y $0.11 \pm 0.01\%$ de aluminio en base seca para el té verde y el té negro, respectivamente.

En relación con la cantidad de aluminio por sobre de té se pudo constatar que: los sobres de té verde contenían una cantidad de aluminio del orden de 1.28 ± 0.26 mg Al por sobre de té, mientras las hojas de té negro contenían 1.08 ± 0.05 mg Al por sobre de té.

Posiblemente estas cantidades de aluminio que se encuentran presentes en las hojas de ambos tipos de té, no provienen solamente del interior de las hojas, ya que existen otros factores que pueden ser una fuente importante de aluminio, como el que se encuentra presente en el medio ambiente, ya que es el metal más ampliamente distribuido en el medio ambiente y que puede llegar a contaminar las hojas de té durante la elaboración de los sobres de té, o también por la presencia de este metal en la maquinaria utilizada durante el proceso. En las Figuras 4.1 y 4.2 se puede observar gráficamente la concentración de aluminio en función del tipo de té en ppm y %, respectivamente.

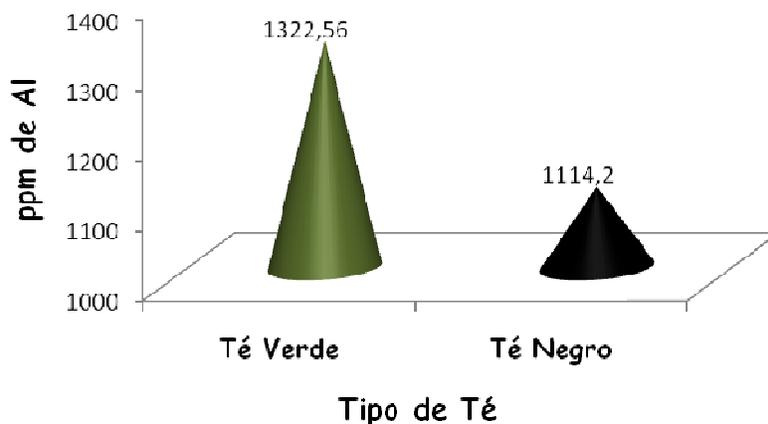


Figura 4.1. Contenido de aluminio en las hojas de té verde y té negro

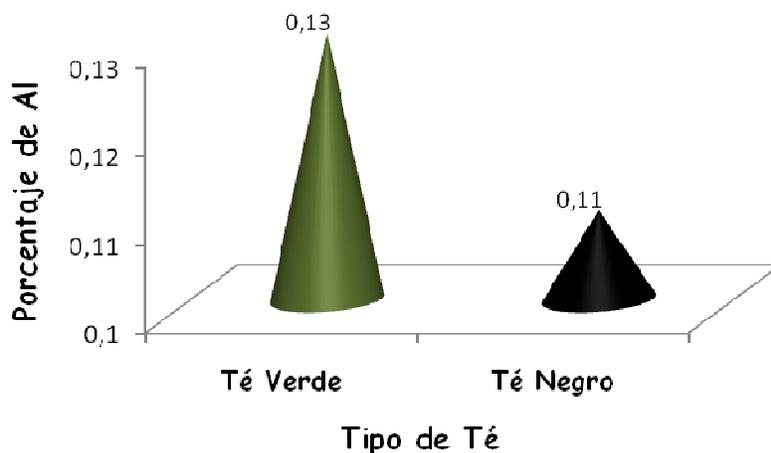


Figura 4.2. Porcentaje de aluminio presente en la materia seca de las hojas de té verde y té negro

En la Figura 4.3 se presenta la concentración de aluminio por sobre para cada tipo de té.

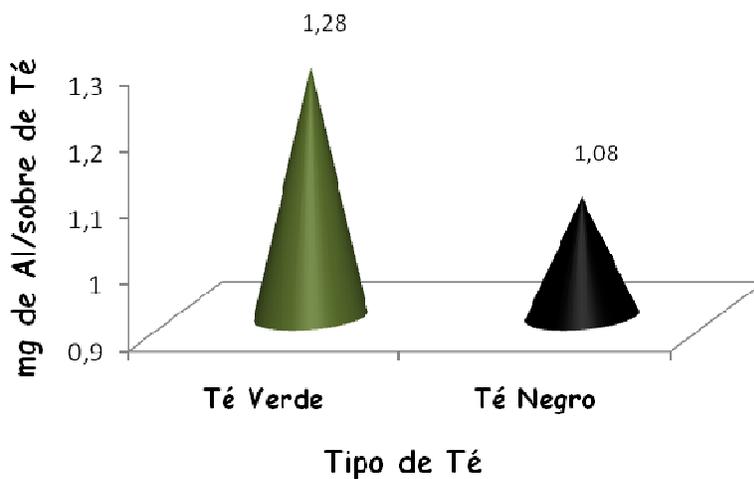


Figura 4.3. Contenido de aluminio presente por cada sobre de té verde y té negro

De acuerdo con el análisis de la variabilidad de la respuesta, no hay diferencia significativas entre los dos tipos de té utilizados para esta investigación ($p < 0.05$), es decir, que estadísticamente no existe diferencia en el contenido de aluminio entre las hojas de té verde y té negro. Esta mínima diferencia se puede explicar por los factores anteriormente mencionados (presencia de aluminio en el ambiente, contaminación de las hojas durante su

producción, etc.), pero que no llegan a marcar una diferencia importante entre ambos tipos de té. Ver Tabla 4.4 y Figura 4.4.

Tabla 4.4. Análisis de variabilidad del contenido de aluminio en las hojas de té

Fuente	Suma de cuadrados	g. l	Cuadrado medio	Coefficiente-F	P-Valor
Entre grupos	86825.7	1	86825.7	1.88	0.2199
Intra grupos	277762.0	6	46293.7		
Total (corr.)	364588.0	7			

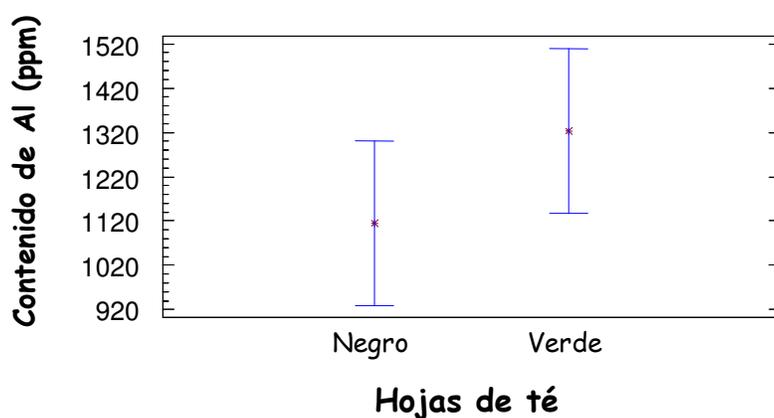


Figura 4.4. Análisis de varianza para el contenido de aluminio en las hojas de té verde y té negro (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$)

Es importante mencionar que, en relación con los coeficientes de variación, el té verde presenta resultados mayores a pesar de las repeticiones realizadas. Esto se puede deber a algún tipo de error experimental o a una variabilidad propia del tipo de muestra.

4.3. Caracterización de las infusiones de té verde y té negro

4.3.1. Valores de pH en las infusiones de té verde y té negro

Es conocido y ampliamente documentado el efecto que el valor de pH presenta sobre el aluminio. En la Tabla 4.5 se presentan los valores de pH para las infusiones de té negro y verde.

Tabla 4.5. Valores de pH en las infusiones de té verde y negro

Tratamiento	Té verde	Té negro
5 LA (5 min, limón, azúcar)	3.64±0.14	3.51±0.05
5 L (5 min, limón)	3.53±0.06	3.43±0.00
5 A (5 min, azúcar)	6.42±0.02	6.19±0.04
5 (5 min)	6.40±0.04	6.04±0.32
15 LA (15 min, limón, azúcar)	3.48±0.04	3.40±0.16
15 L (15 min, limón)	3.54±0.37	3.50±0.01
15 A (15 min, azúcar)	6.30±0.10	6.11±0.01
15 (15 min)	6.32±0.12	6.13±0.05

L: limón, A: azúcar, min: minutos

Se puede observar que los tratamientos que contienen limón (ácido cítrico) presentan valores de pH más bajos. Por otro lado el té negro presenta valores más ácidos que el té verde en todos los casos.

Se observa que el pH de las infusiones con azúcar es prácticamente igual al de la infusión sin limón y sin azúcar. Por otro lado, cuando se adicionan azúcar y limón, el azúcar interactúa con los iones hidrógeno de la infusión del té provocando que el valor de pH se eleve ligeramente y reduzca la acidez de las infusiones. Ver Figura 4.5 y 4.6.

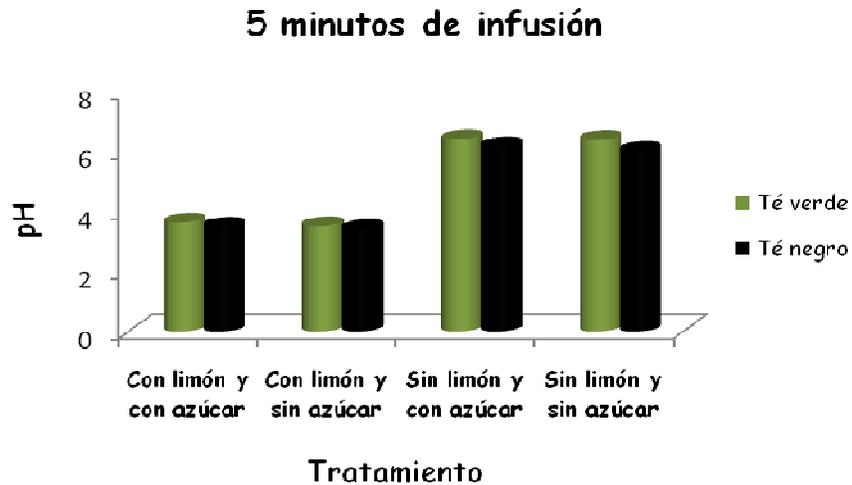


Figura 4.5. Valores de pH en las infusiones de té verde y té negro con sus respectivos tratamientos a 5 minutos de infusión

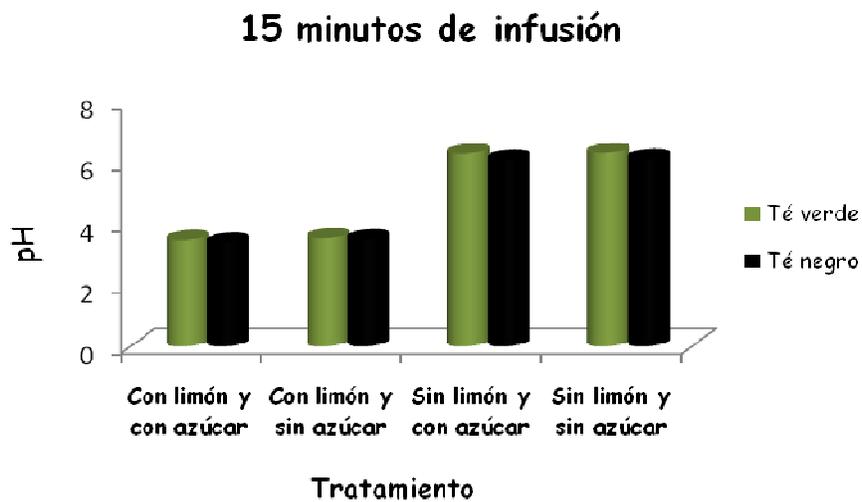


Figura 4.6. Valores de pH en las infusiones de té verde y té negro con sus respectivos tratamientos a 15 minutos de infusión

Se puede observar en la Tabla 4.6 que existió significancia ($\alpha = 0.05$) para los factores tipo de té y contenido de limón. En la Figura 4.7 se presenta el valor de pH dependiendo del tipo de té. Esto podría deberse al proceso de obtención del té, ya que en el caso del té negro se lleva a cabo una fermentación adicional al proceso normal, produciéndose ciertas cantidades de ácidos principalmente orgánicos, los que provocan el aumento significativo en la acidez del producto.

Por otra parte se esperaba y así ocurrió que la adición de limón disminuyera el valor de pH de forma significativa. Ver Figura 4.8.

Tabla 4.6. Análisis de la variabilidad del los valores de pH en las infusiones de té

Factores	Suma de cuadrados	g. l.	Cuadrado medio	Coficiente-F	Valor de P
A)Tipo de té	0.226128	1	0.226128	14.31	0.0011
B)Limón	59.7598	1	59.7598	3781.23	0.0000
C)Azúcar	0.003828	1	0.003828	0.24	0.6277
D)Tiempo de infusión	0.017578	1	0.017578	1.11	0.3036

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual

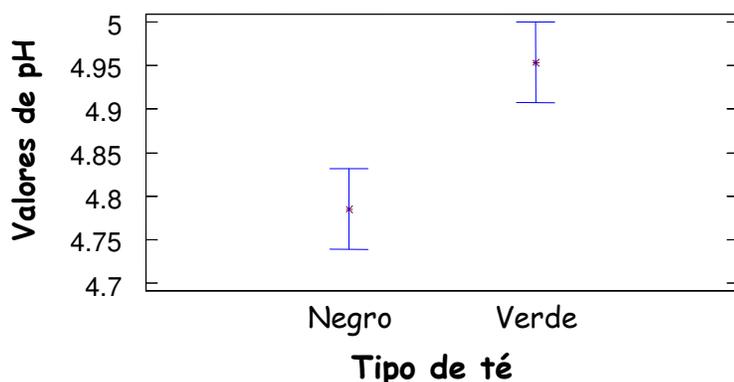


Figura 4.7. Relación entre el tipo de té y el pH de las infusiones (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$)

4.3.2. Caracterización de las infusiones de té verde

La cantidad de aluminio en las infusiones de té verde se puede observar en la Tabla 4.7. Cuando la infusión se dejó 5 min se registró la mayor cantidad de aluminio en el tratamiento al que no se le agregó ni limón ni azúcar, siendo ésta de 0.61 ± 0.00 ppm de aluminio. Y cuando solamente se le agregó azúcar se obtuvo la cantidad más baja de 0.53 ± 0.00 ppm de aluminio.

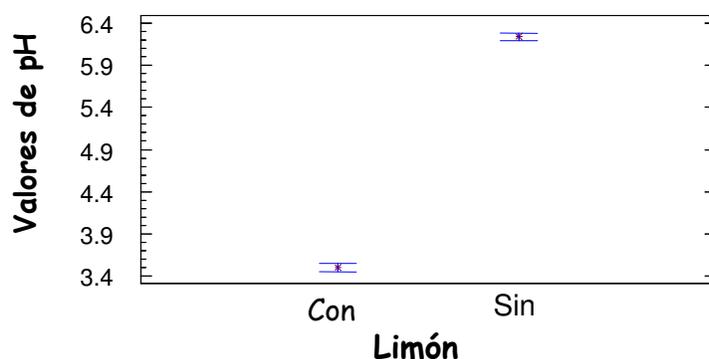


Figura 4.8. Relación entre la adición de limón y los valores de pH (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$)

Cuando la infusión se preparó a los 15 minutos, el té verde tuvo una mayor concentración de aluminio en el tratamiento con adición de limón y azúcar, siendo ésta de 0.69 ± 0.00 ppm y la menor cantidad cuantificada de este metal en estas infusiones fue de 0.46 ± 0.00 ppm, en el tratamiento con la adición de limón.

Tabla 4.7. Concentraciones de aluminio en las infusiones de té verde

Tratamientos		Aluminio (ppm)
		Media
5	LA (5 min, limón, azúcar)	0.57 ± 0.05
5	L (5 min, limón)	0.57 ± 0.16
5	A (5 min, azúcar)	0.53 ± 0.00
5	(5 min)	0.61 ± 0.00
15	LA (15 min, limón, azúcar)	0.69 ± 0.00
15	L (15 min, limón)	0.46 ± 0.00
15	A (15 min, azúcar)	0.61 ± 0.00
15	(15 min)	0.65 ± 0.05

L: limón, A: azúcar, min: minutos

En promedio, las concentraciones de aluminio en las infusiones de té verde son de 0.59 ppm. Si se considera que la NOM-127-SSA-1994, establece un límite máximo de 0.2 ppm en el agua potable se puede notar que la ingesta de té aporta casi 3 veces más aluminio por unidad que el agua potable.

4.3.3. Caracterización de las infusiones de té negro

En la Tabla 4.8 se pueden observar las concentraciones de aluminio en las infusiones de té negro. La concentración más elevada de aluminio a 5 minutos de infusión para el té negro fue de 0.65 ± 0.05 ppm, en el tratamiento con la adición de limón y azúcar; en caso contrario, en el tratamiento con la adición de limón solamente a 5 minutos de infusión se cuantificó la menor cantidad de aluminio 0.34 ± 0.05 .

A 15 minutos de infusión, el tratamiento que registro la cantidad más elevada de aluminio en fue el té negro con la adición de azúcar solamente: 0.70 ± 0.05 ppm, en tanto que, para el mismo tipo de té y tiempo de infusión, el tratamiento con la adición de limón solamente, registró la concentración más baja de aluminio que fue de 0.57 ± 0.05 ppm. La concentración promedio de aluminio en las infusiones de té negro fue de 0.56 ppm, nuevamente casi 3 veces superiores al límite permisible en el agua potable.

Tabla 4.8. Concentraciones de aluminio en las infusiones de té negro

Tratamientos		Aluminio (ppm)
		Media
5	LA (5 min, limón, azúcar)	0.65 ± 0.05
5	L (5 min, limón)	0.34 ± 0.05
5	A (5 min, azúcar)	0.53 ± 0.00
5	(5 min)	0.46 ± 0.00
15	LA (15 min, limón, azúcar)	0.61 ± 0.00
15	L (15 min, limón)	0.57 ± 0.05
15	A (15 min, azúcar)	0.70 ± 0.00
15	(15 min)	0.65 ± 0.05

L: limón, A: azúcar, min: minutos

4.3.4. Comparación del contenido de aluminio entre las infusiones de té verde y negro

En la Figura 4.9 se puede observar cómo a 5 minutos de infusión el té negro presentó el valor más elevado de aluminio entre los dos tipos de té con adición de limón y de azúcar. Para el caso del té verde, la cantidad mayor se registró con el tratamiento al que no se le adicionaron ni limón ni azúcar. Es decir, que cuando la infusión se prepara en 5 min y se utiliza té verde no importa la adición de limón, ni la adición de azúcar.



Figura 4.9. Concentraciones de aluminio de los dos tipos de té con sus respectivos tratamientos a 5 minutos de infusión

En función de los datos presentados se puede inferir que, para el té verde, la cantidad del aluminio que se liberó o transfirió a la infusión fue más constante e independiente del tratamiento utilizado. Sin embargo, la cantidad de aluminio que se liberó o transfirió a la infusión cuando se usaba té negro fue superior en los tratamientos con azúcar y limón. Por esto, se podría inferir que el azúcar tiene una función importante en la liberación de aluminio a la infusión.

En el caso del té negro, podemos decir que a este tiempo de infusión, la presencia de moléculas de ácido cítrico y sacarosa, influyen considerablemente en el contenido de aluminio que se transfiere o libera a la infusión, por lo que puede inferirse que tomando en cuenta estos factores y la temperatura a la que se prepara la infusión, posiblemente el

aluminio que se encuentra en las hojas de té negro se libera o transfiere con mayor facilidad a la infusión con la presencia de la sacarosa en un ambiente ácido debido a la naturaleza del té negro y por la adición de limón, que acidifica aún más la infusión.

De este modo, posiblemente el aluminio se solubiliza por efecto del pH ácido del medio y la temperatura, por lo que la posible unión entre los compuestos polifenólicos de las hojas de té y el aluminio comienza a debilitarse debido a estos factores y como estos compuestos polifenólicos tienen una gran afinidad por algunas macromoléculas biológicas como los hidratos de carbono, la presencia de moléculas de sacarosa (molécula muy reactiva por ser un carbohidrato no reductor) en la infusión, da inicio a una serie de reacciones entre estos compuestos, formándose moléculas más grandes como complejos de aluminio y en otra forma desligando al metal de la materia orgánica, liberándose de esta forma el aluminio a la infusión como complejo o solamente como catión libre o en solución. En estudios futuros deberá corroborarse esto.

Cuando la infusión se preparó a los 15 min se puede observar que la tendencia que se presentó en la infusión de 5 min no se mantiene. Ahora, el té verde presenta una mayor concentración de aluminio que el té negro cuando se combina con limón y con azúcar. Ver Figura 4.10.



Figura 4.10. Concentraciones de aluminio de los dos tipos de té con sus respectivos tratamientos a 15 minutos de infusión

Estos valores estarían indicando que la sacarosa podría llegar a tener una función relevante en la liberación del aluminio a la infusión y, por lo tanto, en la gran afinidad que posiblemente tiene con algunos componentes orgánicos de las hojas, como los polifenoles. Además, se debe dar la importancia debida al tiempo de infusión, la temperatura y, nuevamente, a la naturaleza ácida del té negro, ya que en este caso sólo se le adicionó azúcar a la infusión y, de esta forma, el ácido cítrico del limón no intervino en estas reacciones. También esto deberá corroborarse en estudios futuros.

Por lo anterior, podría establecerse que al estar más tiempo en contacto el sobre de té con el agua caliente de la infusión, la entropía de las moléculas aumentaría considerablemente. Tomando en cuenta el pH ácido de las hojas, el aluminio que forma parte de la materia orgánica de estas (unido posiblemente a los compuestos polifenólicos del té negro), comenzaría a lixiviarse y solubilizarse. Esto, aunado a la presencia de moléculas de sacarosa, estas comenzarían a reaccionar con los polifenoles formándose moléculas más grandes desprendiéndose o liberándose en forma de complejos de aluminio o, de igual forma, desligando al metal de la materia orgánica en forma de catión, hidróxido, aluminio metálico, etc. Posiblemente exista una cierta cantidad de aluminio que forma parte de las hojas de té y que se encuentra libre, el cual se solubiliza y libera de una forma más fácil a la infusión con la presencia de los factores mencionados anteriormente. Lo aquí mencionado deberá comprobarse en estudios posteriores.

En la misma gráfica se observa que la cantidad más elevada de aluminio en el caso del té verde a 15 minutos de infusión se cuantificó con el tratamiento al que se le adicionaron limón y azúcar. Por tanto, la comparación con el tratamiento a 5 minutos de infusión, donde la cantidad más alta de aluminio se obtuvo en la infusión a la que no se le adicionaron ni limón ni azúcar, puede decirse que, para este tiempo de infusión, la temperatura y la presencia de la sacarosa y el ácido cítrico sí son factores que influyeron en la lixiviación del aluminio y su liberación a la infusión.

Para conocer cómo variaba la concentración de aluminio en las infusiones de té en función de los factores definidos en el diseño de experimentos se realizó un análisis de varianza. Ver Tabla 4.9.

Tabla 4.9. Análisis de la variabilidad del aluminio en las infusiones de té

Factores	Suma de cuadrados	g. l.	Cuadrado medio	Coefficiente-F	Valor de P
A) Tipo de té	0.0047531	1	0.0047531	0.89	0.3570
B) Limón	0.0087781	1	0.0087781	1.64	0.2145
C) Azúcar	0.0399031	1	0.0399031	7.45	0.0126
D) Tiempo de infusión	0.0552781	1	0.0552781	10.32	0.0042
Interacciones					
A-B	0.0003781	1	0.0003781	0.07	0.7931
A-C	0.0157531	1	0.0157531	2.94	0.1011
A-D	0.0215281	1	0.0215281	4.02	0.0581
B-C	0.0427781	1	0.0427781	7.98	0.0101
B-D	0.0094531	1	0.0094531	1.76	0.1983
C-D	0.0000781	1	0.0000781	0.01	0.9050
Residuos	0.112516	21	0.0053578		
Total (Corr.)	0.311197	31			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual

En cuanto al análisis de varianza del contenido de aluminio en las infusiones de té se pudo observar que hay diferencias significativas ($\alpha=0.05$) para los factores: adición de azúcar y tiempo de infusión, y que existe interacción entre los factores contenido de azúcar y contenido de limón. Esto significa que sólo estos parámetros influyen en el contenido de aluminio en la infusión. No importa si se trata de té negro o verde, éste no es el factor determinante. Sin embargo, el tiempo de la infusión (5 o 15 min) y la adición de azúcar sí lo son. Sin importar el tipo de té, el tiempo de infusión es un factor muy importante en el contenido de aluminio que se pueda cuantificar en una infusión. Esto podría ser debido a que al estar en contacto los compuestos orgánicos de las hojas de té como los polifenoles y el aluminio con el calor y, de acuerdo con el tratamiento con la sacarosa y/o el ácido cítrico durante un mayor lapso de tiempo, las reacciones entre estos se incrementan y podrían inducir en mayor medida a la lixiviación del metal y su liberación a la infusión. En el caso

del azúcar, este factor es muy importante, ya que puede suponerse que por su naturaleza química y su reactividad la presencia de este carbohidrato en las infusiones induce de alguna forma a que el aluminio se pueda desligar o desprender, ya sea de las hojas o de la materia orgánica (polifenoles) de las mismas en forma de complejo. Esto podría dar lugar a la formación de moléculas más grandes con los polifenoles y la sacarosa o como catión libre liberándose así a la infusión y en mayor cantidad y rapidez con la presencia del ácido cítrico en el medio. En esta investigación no se comprobó esta suposición, por lo que deberán hacerse estudios químicos para corroborarla.

En la Figura 4.11 se presenta el contenido de aluminio en función del tiempo de infusión. Hay diferencia significativa en el factor tiempo de infusión, por lo que puede establecerse que, a medida que se incrementa el tiempo de infusión en cualquiera de los dos tipos de té, el contenido de aluminio en las infusiones aumenta.

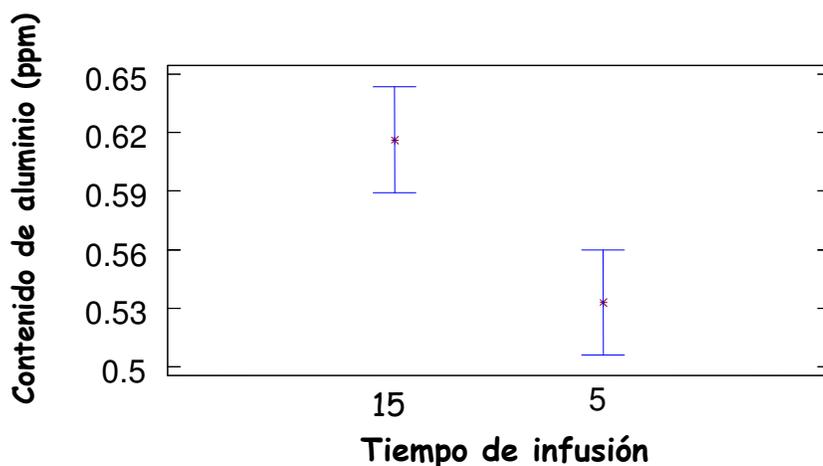


Figura 4.11. Análisis de varianza para el contenido de aluminio en función del tiempo de infusión (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$)

En la Figura 4.12 se puede observar que existe diferencia estadística entre el factor adición de azúcar, ya que a mayor contenido de azúcar se cuantificó una cantidad de aluminio más elevada.

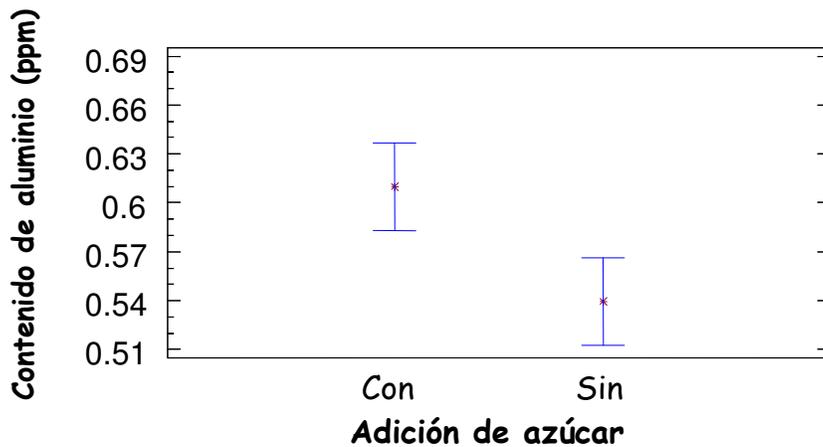


Figura 4.12. Análisis de varianza para el contenido de aluminio en función del contenido de azúcar (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$)

En las interacciones entre los factores ocurre que el mayor contenido de aluminio en la infusión se obtiene con la adición de limón y azúcar. Ver Figura 4.13. Sin embargo, el limón por sí solo no es el factor determinante en la concentración del metal en las infusiones. Esto se puede explicar, como se ha mencionado anteriormente, por la presencia de la sacarosa y otros compuestos orgánicos presentes en las hojas de té, que pueden reaccionar entre sí por la gran afinidad que tienen estos con algunas macromoléculas biológicas como los hidratos de carbono o carbohidratos como se conocen en México (sacarosa) y algunos metales como el aluminio. Posiblemente el aluminio se encuentre ligado a los polifenoles del té (parte de la materia orgánica) y al estar en contacto con la infusión por un largo periodo en un medio ácido, se incrementan las reacciones con la sacarosa que se encuentra en la misma infusión.

Se realizó un segundo análisis estadístico excluyendo al factor tipo de té, ya que demostró no presentar significancia para explicar la variabilidad del contenido de aluminio en las infusiones. Ver Tabla 4.10.

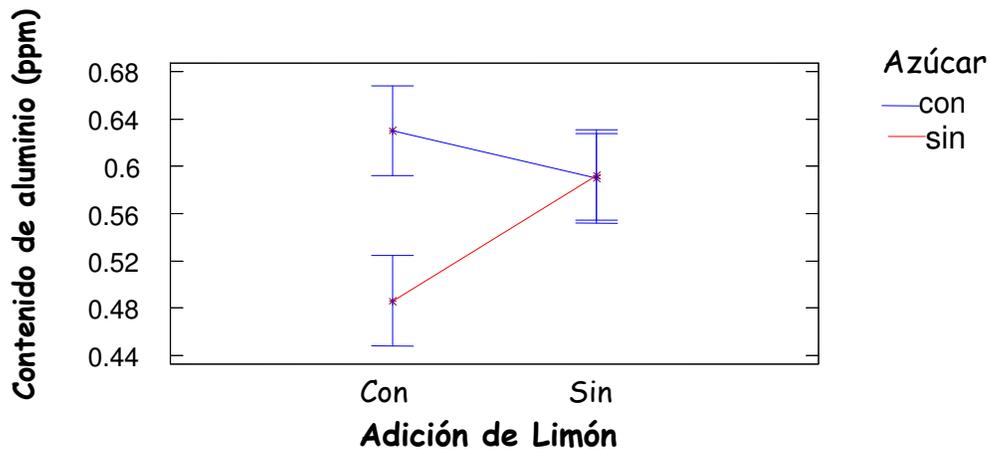


Figura 4.13. Interacción entre la adición de limón y azúcar con el contenido de aluminio (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$)

Tabla 4.10. Análisis de la variabilidad del contenido de aluminio en las infusiones de té verde

Factores	Suma de cuadrados	g. l.	Cuadrado medio	Coefficiente-F	Valor de P
A)Tiempo de infusión	0.0039062	1	0.0039062	0.83	0.3860
B)Limón	0.0027562	1	0.0027562	0.59	0.4637
C)Azúcar	0.0027562	1	0.0027562	0.59	0.4637
Interacciones					
A-B	0.0033062	1	0.0033062	0.70	0.4236
A-C	0.0189062	1	0.0189062	4.02	0.0760
B-C	0.0029756	1	0.0029756	6.32	0.0331
Residuos	0.0042356	9	0.0047062		
Total (Corr.)	0.103744	15			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual

No existe diferencia estadísticamente significativa ($\alpha = 0.05$) en el caso del té verde en ninguno de sus factores (tiempo de infusión, contenido de limón, azúcar y tipo de té) ni en las interacciones de estos, en relación con el contenido de aluminio de las infusiones de té verde. Puede decirse que, estadísticamente, ninguno de estos factores influye directamente en el contenido de aluminio en las infusiones de té verde. Sin embargo, podría existir una diferencia significativa en la interacción entre el tiempo de infusión y la adición de azúcar, ya que el valor de p es levemente superior a 0.05.

Analizando el efecto que tienen los factores en el contenido de aluminio cuando la infusión se realizó con té negro, se puede constatar que el tiempo de infusión y el contenido de azúcar y la interacción entre ellos, es determinante y significativa ($\alpha = 0.05$) estadísticamente para explicar el contenido de aluminio. Ver Tabla IV.11.

Tabla 4.11. Análisis de la variabilidad del contenido de aluminio en las infusiones de té negro

Factores	Suma de cuadrados	g. l.	Cuadrado medio	Coficiente-F	Valor de P
A)Tiempo de infusión	0.0729	1	0.0729	24.12	0.0008
B)Limón	0.0064	1	0.0064	2.12	0.1796
C)Azúcar	0.0529	1	0.0529	17.50	0.0024
Interacciones					
A-B	0.0064	1	0.0064	2.12	0.1796
A-C	0.0225	1	0.0225	7.44	0.0233
B-C	0.0144	1	0.0144	4.76	0.0569
Residuos	0.0272	9	0.0030222		
Total (Corr.)	0.2027	15			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual

Aparentemente estos dos factores (tiempo de infusión y contenido de azúcar) influyeron en la liberación del aluminio en la infusión. Se podría inferir que el té negro por sus propiedades como la acidez, es más susceptible a que el aluminio sea lixiviado y liberado a

la infusión al ser sometido a un tiempo de infusión más prolongado y, de alguna forma inducido por la adición de la sacarosa, en comparación con el té verde.

En la Figura IV.14 se presenta la media del contenido de aluminio cuando la infusión se prepara en 15 min o en 5 min. En la Figura IV.15 se presenta la interacción entre el tiempo de infusión y el contenido de azúcar.

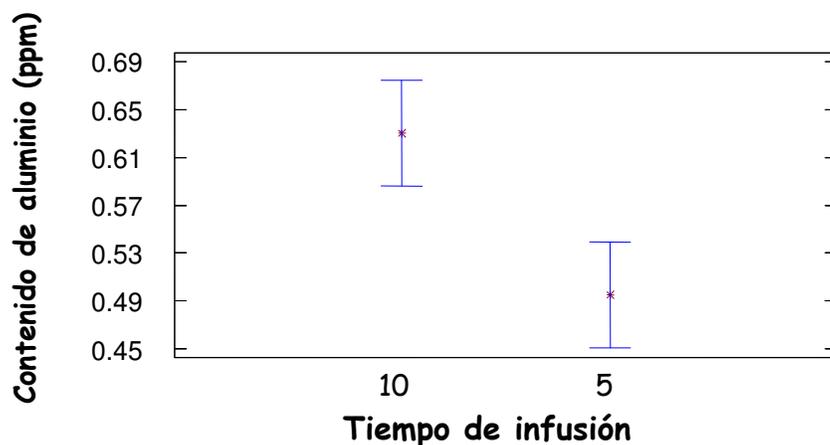


Figura 4.14. Análisis de varianza para el contenido de aluminio en función del tiempo de infusión para el té negro (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$)

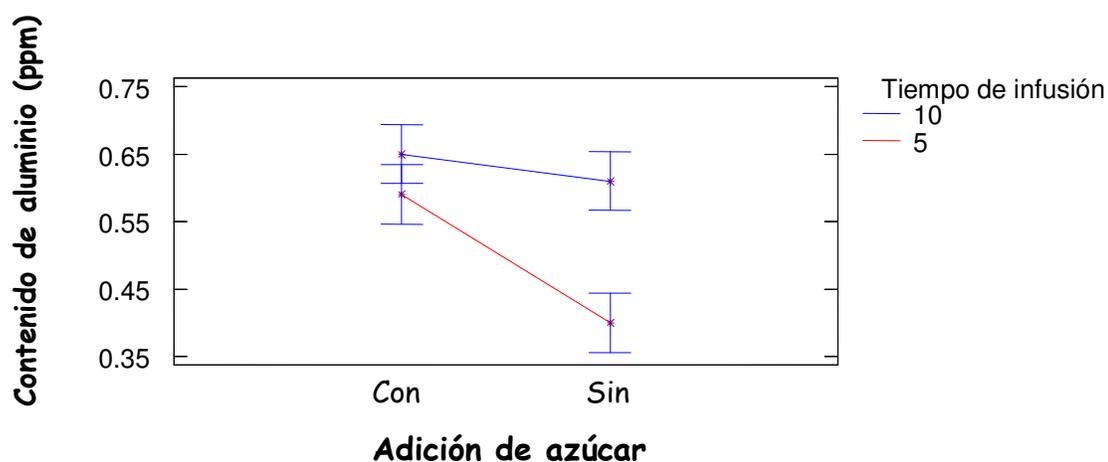


Figura 4.15. Interacción entre el contenido de azúcar y contenido de aluminio para el té negro (mínima diferencia significativa $\alpha = 0.05$)

Al té negro le afecta la prolongación del tiempo de infusión ya que, a mayor tiempo de infusión y con la adición de azúcar, se cuantificó una mayor cantidad de aluminio en las infusiones de este tipo de té.

4.3.5. Análisis de la transferencia de aluminio de la hoja a la infusión

En la Tabla 4.12 se puede observar que cuando la infusión de té verde se prepara a 5 min se transfiere un 11.9% por ciento de aluminio de las hojas de té verde a la infusión, sin adición de limón ni de azúcar. Esto no quiere decir que esta cantidad de aluminio proviene de las hojas de té propiamente, ya que pueden existir otras fuentes de las cuales se obtenga este metal. Esto ocurre principalmente por el elevado contenido de aluminio que no está químicamente ligado a la materia orgánica de las hojas del té verde y que se puede liberar de una forma más fácil y rápida a la infusión. No se comprobó, pero podría venir como “polvo” sobre las hojas secas.

Por otra parte, a mayor tiempo de infusión (15 minutos) el porcentaje de aluminio que se transfiere a la infusión a partir de las hojas en el té verde es mayor al que se liberó a 5 minutos de infusión, ya que éste fue de 12.7% aproximadamente sin la adición de limón y de azúcar. Esto se debe posiblemente a que a mayor tiempo de infusión la entropía de las moléculas presente en el medio aumenta, y el aluminio que se encuentra ligado a los polifenoles de las hojas de té que, probablemente, sea una menor cantidad en el caso de este tipo de té.

De igual manera (10.3 a 11.9%), la presencia de las moléculas de sacarosa que se encuentran en gran proporción en el medio comienzan a reaccionar con los polifenoles de las hojas formando complejos de aluminio mas estables que se desligan de la materia orgánica de las hojas y se liberan a la infusión, o también que induzcan el desprendimiento del metal de la materia orgánica y se libere o transfiera como catión libre a la infusión.

En el caso del té negro a 5 minutos de infusión se liberó 10.6 % del aluminio presente en un sobre de té y a 15 minutos de infusión se liberó el 15% del aluminio presente en el sobre de

té, en la infusión donde no se agregó azúcar ni limón, como ya se explicó anteriormente. Cuando se adicionan ambos, no se tienen diferencias por el tiempo de infusión (15 versus 14.1%), pero cuando se adiciona uno de ellos sí hay diferencia por el tiempo de infusión (7.9 versus 13.2% para limón y 12.3 versus 16 para azúcar).

Tabla 4.12. Porcentaje de aluminio que se transfiere hipotéticamente de las hojas de té verde y té negro a su respectiva infusión

Tratamiento	Té Verde		Té Negro	
	5 minutos de infusión	15 minutos de infusión	5 minutos de infusión	15 minutos de infusión
L A	11.1	13.5	15	14.1
L	11.1	9.0	7.9	13.2
A	10.3	11.9	12.3	16
SL SA	11.9	12.7	10.6	15
Promedio	11.1	11.8	11.45	14.58
D.E.	0.5657	1.6991	2.5812	1.0401
C.V.	5.09	14.43	22.54	7.13

L: Limón, A: Azúcar, SL: Sin limón, SA: Sin azúcar

En la Figura 4.16 se puede ver cómo a 5 minutos de infusión se transfirió una mayor cantidad de aluminio de una bolsa con hojas de té negro a su respectiva infusión, en un porcentaje de 15% aproximadamente. El valor más bajo que liberó a su infusión fue de 7.9% aproximadamente, en el té negro, cuando se utilizó sólo limón en la infusión. El valor más elevado de transferencia, en porcentaje, en el caso del té verde al mismo tiempo de infusión fue de 11.9%, cuando no se adicionaron ni limón ni azúcar a la infusión y el porcentaje menor de liberación fue de 10.3% cuando se le agregó sólo azúcar a la infusión.

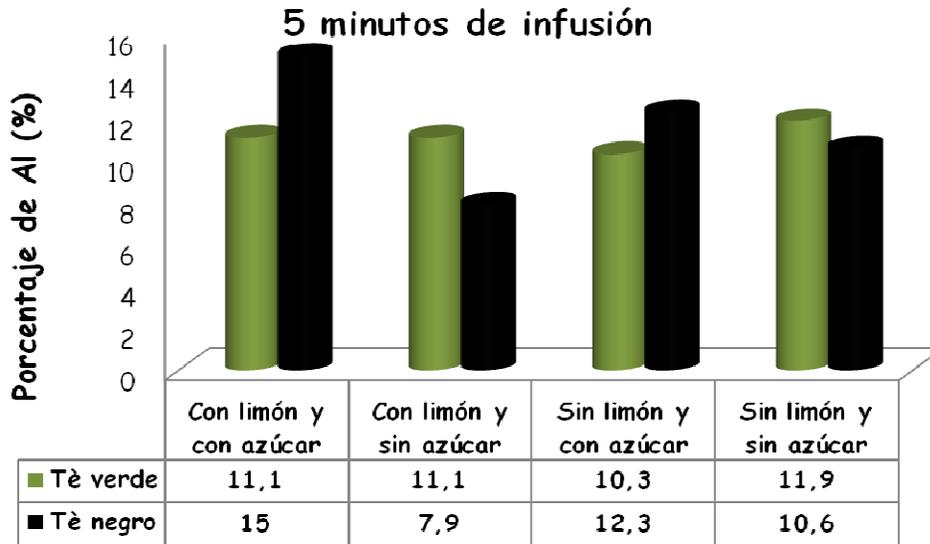


Figura 4.16. Porcentaje de aluminio transferido a las infusiones a 5 minutos de infusión

En la Figura 4.17 se puede ver que a 15 minutos de infusión con el tratamiento adicionando solamente azúcar, se registró el mayor porcentaje de transferencia de aluminio de las hojas a la infusión en el té negro, el cual fue de 16%. El menor porcentaje de transferencia de aluminio para este mismo tipo de té fue de 13.2% cuando se le adicionó a la infusión solamente limón. Para el té verde, el mayor porcentaje de liberación de aluminio a la infusión fue de 13.5% cuando se adicionaron en conjunto limón y azúcar y el menor porcentaje fue de 9% cuando se agregó solamente limón a la infusión.

4.4. Concentración de aluminio en el agua y en el azúcar utilizado

Para corroborar si las materias primas contenían aluminio se realizaron análisis del agua y el azúcar empleados. Al ácido cítrico no se le realizó el análisis porque era un reactivo analítico QP. La Tabla 4.13 presenta los resultados obtenidos para el azúcar que indican que el aluminio obtenido en las infusiones provenía solamente de los sobres de té empleados. En ella se observan las concentraciones de aluminio, tanto del azúcar como la del agua utilizada en la preparación de las infusiones de té verde y té negro. Estas últimas se les restaron a las concentraciones de aluminio de las infusiones obtenidas por el equipo

de absorción atómica, con el fin de obtener los resultados más confiables y comprobar que no interfirieron en dichos resultados ni el azúcar ni el agua que se utilizaron.

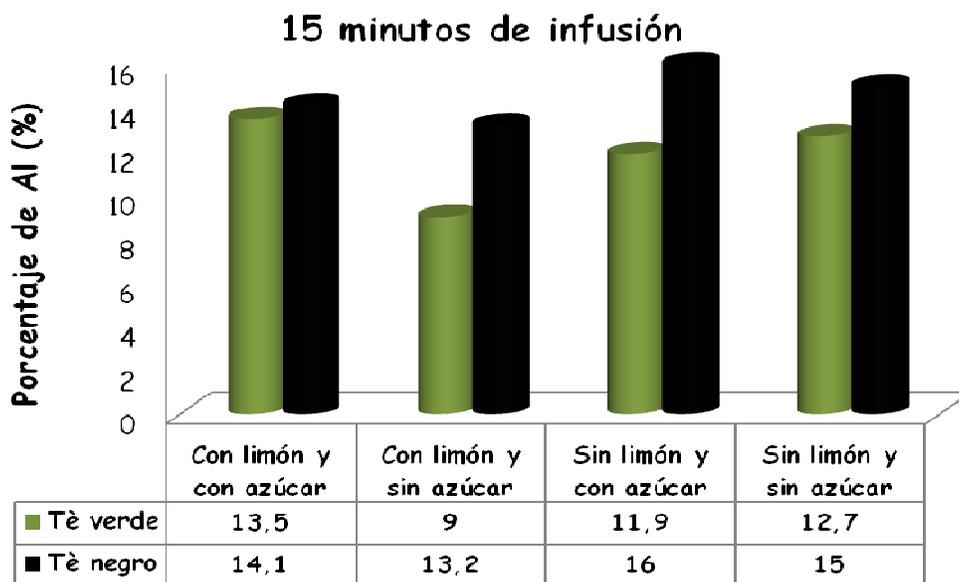


Figura 4.17. Porcentaje de aluminio transferido a las infusiones a 15 minutos de infusion

Tabla 4.13. Concentraciones de aluminio en el azúcar (sacarosa) y agua

Muestra	ppm de Al
Azúcar	<L.D
Azúcar	<L.D
Azúcar	<L.D
Agua (garrafón)	1.55

L.D.: límite de detección

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

De acuerdo con la hipótesis y los objetivos planteados en esta investigación, señalados en el Capítulo, se obtuvieron las siguientes conclusiones:

Se pudo cuantificar el contenido de aluminio presente en las hojas e infusiones de té verde y té negro obteniendo, en promedio, una mayor concentración de este metal en las hojas e infusiones de té verde con respecto a las de té negro, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

Las concentraciones de aluminio encontradas en las infusiones de té verde y té negro provienen del contenido de los sobres de té, ya sea de las hojas mismas (aluminio ligado o no ligado químicamente) o del aluminio proveniente del medio ambiente u otras fuentes o actividades humanas, ya que se descontó el aluminio del agua utilizada para la preparación de las infusiones. El azúcar no registró concentraciones de aluminio en los análisis previos realizados.

Estadísticamente ($p < 0.05$), los factores que influyeron en la concentración de este metal en las infusiones de los dos tipos de té fueron el tiempo de infusión y el contenido de azúcar (sacarosa) y, de igual forma, la interacción entre el contenido de limón y de azúcar.

En un segundo análisis estadístico ($p < 0.05$), se pudo concluir que el té verde no presentó diferencia significativa en ninguno de sus factores ni en las interacciones posibles.

El tiempo de infusión, contenido de azúcar y las interacciones contenido de limón y azúcar, son los factores que influyeron considerablemente en la concentración de este metal en las infusiones de té negro.

Para el caso del pH, la adición de limón y el tipo de té fueron los factores que influyeron para esta variable de respuesta.

La interacción entre el ácido cítrico, la sacarosa y los compuestos polifenólicos como las catequinas podrían tener significancia considerable en el contenido de aluminio de una infusión, además de factores importantes como la temperatura y el tiempo de preparación de éstas. Esto deberá corroborarse en estudios posteriores.

El tiempo de infusión, la adición de azúcar y el pH del té negro principalmente, son los tres factores más importantes en la presencia y transferencia del aluminio que pasa de las hojas a la infusión.

Se puede resaltar que, según la NOM-127-SSA1-1994, el límite permisible de aluminio en agua potable es de 0.2 ppm y el agua potable empleada contenía 1.55 ppm de aluminio, que excede dicha norma. En las infusiones, se restaron siempre de los valores obtenidos el correspondiente al agua empleada por lo que, tomando en cuenta todo los resultados que se obtuvieron para las infusiones que se trabajaron, tanto de té verde como de té negro, sus concentraciones sobrepasan en más del 100% las establecidas por dicha norma.

Esto se deberá tomar en cuenta en una investigación futura para tratar de solucionar este problema que, en cierto modo, pudiera afectar la salud de los consumidores del agua de garrafón y de estas bebidas en la Ciudad de México.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar una investigación mas profunda sobre este tema, efectuando la especiación del aluminio mediante Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), para así saber con mayor exactitud en que forma o especie se encuentra el metal en las infusiones, y determinar el grado de peligro que pudiera propiciar la presencia de estas especies químicas en la salud humana.

Realizar el mismo estudio pero con infusiones de té preparadas comercialmente, ya que en algunos casos los recipientes utilizados para estas bebidas son hechos de aluminio, por lo que la posibilidad de que se encuentren cantidades de elevadas de aluminio en estos productos es muy amplia.

De igual forma, una vez que se sabe en que forma o especies se encuentra el aluminio en las infusiones, se recomienda hacer un ensayo biológico con ratas para determinar los posibles daños en diferentes sistemas y/o órganos diana de este metal en el cuerpo humano, y de esta forma tomar las medidas necesarias para evitar en lo posible estos daños.

ANEXO 1

Tabla 1. Marcas y tipos de té en una tienda de autoservicio

Marca	Tipo de té
McCormick	Canela a la manzana
	Manzanilla
	Limón
Lagg's	Hierbabuena
	Manzanilla c/anís
	Jamaica
	12 flores (floral)
	Flor de azahar
	Canela
	Manzana c/canela
	Té verde
Twinning's of London	Negro
	Negro sabor bergamota
	Cardamomo, ginebra y clavo
	Fresa y mango
	Verde
	<i>Camomilla</i> (Manzanilla) y menta
	Jazmín
	Naranja y canela
Plamesi	Frutas y hierbas
	Mezcla de frutas
	12 flores (floral)
	Manzanilla
La Pastora	NEGRO

	Jamaica
	Limón
	Canela
	Manzanilla
	<i>Baby</i> té
	Hierba
Therbal	Boldo
	Limón
	Jamaica y lima
	Frutas
	Verde
	Negro
Bigelow	Toronja
	Menta
	Verde
	Manzanilla y jamaica
	Manzanilla y mango
	Verde C/ Mango
Manzanilla y menta	

Tabla 2. Tipos de té en otra tienda de autoservicio

Marca	Tipo de té
McCormick	Manzanilla
	Hierbabuena
	Manzana
	Limón
	7 azahares
	Tila
	VERDE
	VERDE SABOR MANGO
	VERDE SABOR MARACUYA
La Carabela	Rojo
	Naranja
	Manzanilla
	Manzana c/anís
	NEGRO
	VERDE
	Limón
	Canela
	Tila
Lagg's	Limón
	Flor de azahar
	Canela
	Manzanilla
	Hierbabuena
	Manzanilla c/anís
	VERDE

La Pastora	Canela
	Manzanilla
	Tila
	Hierbabuena
	7 azahares
	VERDE

ANEXO 2

Especificaciones del equipo, curva de calibración y concentraciones de aluminio en las hojas de té

Método analítico utilizado: Espectroscopía de absorción atómica, EAA

Equipo empleado: Varian Spectr AA 220. Con sistema autodilutor SIPS (Sample Introduction Pulp System).

Análisis realizado siguiendo el procedimiento técnico: PT-USAI-FQ-AA-001.

Tabla 3. Parámetros instrumentales

Metal	Aluminio
Longitud de onda	309.3 nm
Slit (ancho de ventana) (nm)	0.5 m
Método	Curva de calibración
Método atomización	Flama acetileno/óxido nitroso
Estándar	High-Purity Standards Lote # 0819130 Aluminio 1000 µg/mL

Tabla 4. Valores de absorbancia para la curva patrón

Aluminio	
Conc ppm	Absorbancia
10	0.0281
20	0.0596
30	0.0883
40	0.1247
50	0.1617

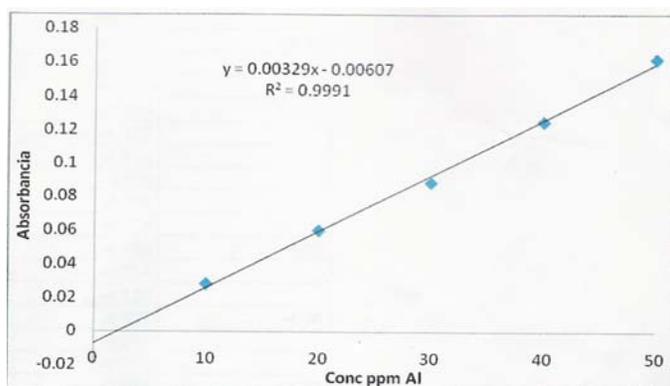


Gráfico 1. Curva patrón de aluminio

Tabla 5. Resultados finales de las concentraciones de aluminio en las hojas de té

Labels	Abs	mg/L	Promedios
sc	0.1267	40.356	
1	0.0964	80.668	
1	0.097	79.574	
1	0.0928	76.183	78.81
2	0.0834	59.078	
2	0.0813	57.785	
2	0.0797	56.962	57.94
3	0.077	53.26	
3	0.0813	55.655	
3	0.082	54.834	54.58
4	0.1429	45.262	
4	0.1464	46.325	
4	0.1495	47.278	46.29
5	-0.0122	-1.851	
5	-0.0109	-1.477	
5	-0.0135	-2.254	-1.86
6	0.0805	54.56	
6	0.0794	52.472	
6	0.0844	55.002	54.01
7	0.1513	47.803	
7	0.1578	49.797	
7	0.0713	49.53	49.04
8	0.149	47.123	
8	0.1568	49.477	
8	0.0715	48.303	48.30
9	0.1575	49.689	
9	0.0775	50.789	
9	0.0782	50.495	50.32
10	-0.0197	-4.127	
10	-0.0179	-3.606	
10	-0.0206	-4.428	-4.05
11	-0.0209	-4.508	
11	-0.0201	-4.254	
11	-0.0219	-4.798	-4.52
12	-0.0217	-4.754	
12	-0.0196	-4.123	
12	-0.0199	-4.207	-4.36
13	-0.019	-3.927	
13	-0.0215	-4.679	
13	-0.0192	-3.976	-4.19
sc	0.1283	40.842	

Especificaciones del equipo, curva de calibración y concentraciones de aluminio en las infusiones de té

Una vez realizado las determinaciones del pH en las infusiones, las muestras se guardaron en refrigeración y, posteriormente, se realizó la determinación del aluminio mediante la técnica analítica de Espectroscopía de Absorción Atómica. Estas determinaciones se realizaron en el Laboratorio de Absorción Atómica y Cromatografía de Gases, del Departamento de Ingeniería Química Metalúrgica de la Facultad de Química de la UNAM, ubicado en el Edificio “D”.

Especificaciones del equipo y curva de calibración

Método analítico utilizado: Espectroscopía de absorción atómica, EAA

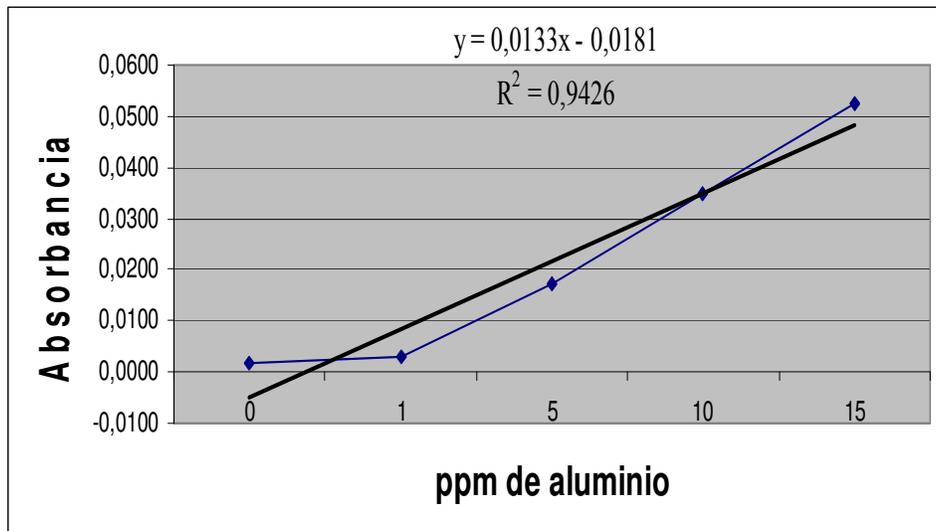
Equipo empleado: Perkin Elmer modelo 3100

Tabla 6. Especificaciones y concentraciones de aluminio para curva patrón

ppm Aluminio	Id	Absorbancia (media)	Desviación estándar	%C. V.	Sensibilidad	Límite de detección
0	stand	0.0017	0.001	34.64	0.00	0.00
1	stand	0.0030	0.000	0.00	1.47	0.00
5	stand	0.0173	0.001	3.33	1.27	0.50
10	stand	0.0347	0.003	7.26	1.27	2.18
15	stand	0.0523	0.004	7.23	1.26	3.26

Tabla 7. Concentraciones de aluminio en infusiones y valores de pH

BLOQUE	Tipo de té	Limón	Azúcar	Tiempo de infusión	ppm Al	pH
1	Negro	Con	Con	5	0.61	3.54
1	Negro	Con	con	5	0.69	3.47
1	Negro	Con	con	15	0.61	3.50
1	Negro	Con	con	15	0.61	3.30
1	Negro	Con	sin	5	0.30	3.43
1	Negro	Con	sin	5	0.38	3.43
1	Negro	Con	sin	15	0.61	3.5
1	Negro	Con	sin	15	0.53	3.49
1	Negro	Sin	con	5	0.53	6.16
1	Negro	Sin	con	5	0.53	6.21
1	Negro	Sin	con	15	0.69	6.11
1	Negro	Sin	con	15	0.69	6.1
1	Negro	Sin	sin	5	0.46	5.81
1	Negro	Sin	sin	5	0.46	6.26
1	Negro	Sin	sin	15	0.61	6.16
1	Negro	Sin	sin	15	0.69	6.09
1	Verde	Con	con	5	0.61	3.54
1	Verde	Con	con	5	0.53	3.74
1	Verde	Con	con	15	0.69	3.51
1	Verde	Con	con	15	0.69	3.45
1	Verde	Con	sin	5	0.46	3.57
1	Verde	Con	sin	5	0.69	3.48
1	Verde	Con	sin	15	0.46	3.81
1	Verde	Con	sin	15	0.46	3.28
1	Verde	Sin	con	5	0.53	6.41
1	Verde	Sin	con	5	0.53	6.44
1	Verde	Sin	con	15	0.61	6.37
1	Verde	Sin	con	15	0.61	6.23
1	Verde	Sin	sin	5	0.61	6.42
1	Verde	Sin	sin	5	0.61	6.37
1	Verde	Sin	sin	15	0.61	6.4
1	Verde	Sin	sin	15	0.69	6.23



Gráfica 2. Curva patrón de aluminio para obtener las concentraciones de aluminio en las infusiones de té verde y té negro

ANEXO 3

Conceptos de espectroscopía de absorción atómica (Skoog et al., 1997)

La espectroscopía atómica se utiliza para la determinación cualitativa y cuantitativa de unos 70 elementos aproximadamente, y la sensibilidad típica de estos métodos atómicos va de partes por millón a partes por billón. El estudio espectroscópico de átomos o iones elementales como el Fe^+ , Mg^+ o Al^+ con radiación UV y Visible sólo puede realizarse en fase gaseosa, que es precisamente donde los átomos y iones se encuentran bien separados entre sí. Por tal motivo, el primer paso en todos los métodos espectroscópicos atómicos es la atomización. La atomización es el proceso por el cual una muestra se volatiliza y descompone de forma que produce un gas atómico.

La espectroscopía atómica se basa en fenómenos de absorción, fluorescencia y emisión y, además, estos métodos también se basan en los cuatro métodos más comunes de atomización: Flama (del latín *flamma*), electrotérmicos, plasma acoplado por inducción y plasma de corriente continua.

La espectroscopía atómica da información sobre la identidad y concentración de átomos en una muestra y la espectroscopía molecular da información sobre las moléculas de la muestra. La espectroscopía atómica se limita a frecuencias de la región UV, Visible y rayos X, por que sólo esas radiaciones son suficientemente energéticas para causar las transiciones electrónicas mientras que la molecular se basa en la radiación UV, infrarrojo, microondas y radiofrecuencia. Dentro de la instrumentación de la espectroscopía atómica, se utilizan monocromadores para escoger la longitud de onda y detectores fotónicos para determinar la intensidad de la radiación. El recipiente que contiene la muestra atómica gaseosa puede ser una flama, un plasma, un arco o una chispa y ejerce la función de atomizar a la vez.

Espectroscopía atómica basada en la atomización por flama o llama (del latín *flamma*)

Existen tres tipos de métodos atómicos basados en la atomización por flama:

- 1) Espectroscopía de absorción atómica (EAA)
- 2) Espectroscopía de emisión atómica (EEA)
- 3) Espectroscopía de fluorescencia atómica (EFA)

El intervalo de temperatura típica de atomización que se maneja en estos métodos es de 1700 – 3150°C.

En la atomización por llama o flama, la solución acuosa de la muestra se dispersa o nebuliza como una nube de partículas finas y luego se mezcla con el combustible gaseoso y oxidante para arrastrarla al mechero. El disolvente se evapora en la parte inferior o base de la llama y las partículas sólidas finamente divididas que resultan son arrastradas a la región central de la llama, ahí se forman átomos e iones gaseosos ya que es la parte más caliente de la llama. Finalmente, los átomos y los iones son arrastrados al borde más exterior de la flama donde pueden oxidarse los productos de la atomización antes de su dispersión en la atmósfera. En la espectroscopía de llama se utilizan dos tipos de mecheros: de flujo turbulento y flujo laminar.

ANEXO 4

Metodología analítica

A-4.1. Investigación de mercado

Una vez elaborado el formulario con las marcas y tipos de té que se encontraron en las dos tiendas de autoservicio seleccionadas (Bárcena, 2009), se llevó a cabo una encuesta a cada una de las personas encargadas de las tiendas de autoservicio de más volumen de ventas en la zona metropolitana de la Ciudad de México para saber con mayor precisión cuáles eran las marcas con mayor demanda para cada uno de los dos tipos de té. Una vez obtenidos estos datos, se tomaron en cuenta las tres marcas con mayor demanda por cada tipo de té, de las cuales se seleccionó la que representó el mayor volumen de venta de las tres en el primer semestre del año 2009.

Para el caso del té verde se seleccionó la marca A y para el té negro la marca B.

A-4.2. Caracterización fisicoquímica de las hojas de té

- a) Para la caracterización fisicoquímica de las hojas de té, se realizaron 4 repeticiones por cada tipo de té, por lo que se procesaron en total 8 muestras para el experimento realizado, con el fin de obtener el porcentaje de humedad, sólidos totales, cenizas y el contenido de aluminio en las hojas de té verde y té negro, respectivamente.
- b) En el caso de la digestión ácida de las hojas de té, se procesaron las 8 muestras de ambos tipos de té y 2 ensayos utilizados como blancos.
- c) Los resultados obtenidos de las 8 muestras por el equipo de absorción atómica se procesaron tomando en cuenta el aforo de las muestras, masa de la materia seca

de las hojas y el peso de cada sobre de té utilizado, para conocer el contenido real de aluminio en las hojas de té, expresado en ppm, % Al presente en la materia seca de las hojas y mg de aluminio por cada sobre de té verde y té negro respectivamente.

- d) Se realizó el análisis estadístico correspondiente con el programa *Statgraphics Plus 5*, utilizando la variable de respuesta: Contenido de aluminio en ppm.

A-4.3. Caracterización de las infusiones de té

- a) Se procesaron 8 infusiones de té verde y 8 de té negro, 4 de ellas a 5 minutos y 4 a 15 minutos de infusión respectivamente, pero como el experimento se realizó por duplicado, el total de las infusiones fue de 32.
- b) Se determinó el pH de las 32 infusiones procesadas.
- c) Se realizó el análisis estadístico correspondiente con el programa *Statgraphics Plus 5*, utilizando dos variables de respuesta: Contenido de aluminio y valores de pH.

REFERENCIAS

- ADAMS, F., HATHCOCK, P. J. (1984).** Aluminium toxicity and calcium deficiency in acid subsoil horizons of Coastal Plains soil series. *Soil Science Society of America Journal*, 48(2), 1305–1309.
- ALBERTI, G., BIESUZ, R., PROFUMO, A., PESAVENTO, M. J. (2003).** Aluminium toxicity and calcium deficiency in acid subsoil horizons of Coastal Plains soil series. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 97(1), 79–88.
- ALFREY, A. C. (1984).** Aluminium intoxication. *N Engl. J. Med.* 310, 1113-1115.
- ALFREY, A. C. (1991).** Aluminium intoxication, recognition and treatment. En “Aluminium in Chemistry, Biology and Medicine”, pp. 73-84. Cortina International, Verona, Italia.
- AOAC. 1980.** Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. William Horwitz. Ed. 13^a Ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, EEUU.
- ANTHONY, J., FADL, S., MASON, C., DAVIDSON, A., BERRY, J. (1986).** Absorption, deposition and distribution of dietary aluminium in immature rats: Effects of dietary vitamin D3 and food-borne chelating agent. *J. Environ. Sci. Health B21*, 191-205.
- ARIEFF, A. I., COOPER, J. D., ARMSTRONG, D., LAROWITZ, V. C. (1979).** Dementia, renal failure and brain aluminium. *Ann. Intern. Med.* 90, 741-747.
- ATSDR (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY). (1999).** “Toxicological Profile for Aluminium (Update). “U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Washington, DC. EEUU.
- BÁRCENA, D.A. (2009).** Informe final de la asignatura terminal Laboratorio de Desarrollo Experimental de Alimentos, Carrera de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. México D.F.

BECARIA A., CAMPBELL A., BONDY S.C. (2002). Aluminum as a toxicant. Toxicol. Ind. Health. 18(7); 309-320.

BERNARDI L. A., DANTE-PRAT K. S. (2002). Cadena alimentaria del té. Cadena “*Camellia sinensis*” SAGPyA: inta. Secretaria de agricultura, ganadería, pesca y alimentación. (Activo al 30 de junio de 2009) http://www.inta.gov.ar/cerroazul/investiga/yerba_mate/diagn_yte.PDF

BETAINEH, H., AL-HARMOOD, M. H., ELBETIEHA, A. M. (1998). Assessment of aggression, sexual behavior and fertility in adult male rat following long-term ingestion of four industrial metal salts. Hum. Exp. Toxicol. 17, 570-576.

BIRCHALL, J. D. (1991). The toxicity of aluminium and the effect of silicon on its bioavailability. En “Aluminium in Chemistry, Biology and Medicine” pp.53-69. Cortina International. Verona, Italia.

BOUDOT, J.P., BECQUER, T., MERLOT, D., ROUILLER, J. (1993). Aluminium toxicity in declining forests: A general overview with a seasonal assessment in a silver fir forest in the Vosges mountains (France). Annales des Sciences Forestieres, 51(1), 27-51.

BOUMAN, O. T., CURTIN, D., CAMPBELL, C. A., BIEDERBECK, V. O., UKRAINETZ, H. (1995). Soil acidification from long-term use of anhydrous ammonia and urea. Soil Science Society of America Journal, 59, 1488–1494.

BRAUN, M., DIEFFENBACH A., MATZNE, E. (2001). Soil solution chemistry in the rhizosphere of beech (*Fagus silvatica* L.) roots as influenced by ammonium supply. J. Plant Nutri. Soil Sci. 164, 271–277.

CAMPBELL, A., BONDY, S. C. (2000). Aluminium induced oxidative events and its relation to inflammation: A role for the metal in Alzheimer’s disease. Cell Moll. Biol. 46, 721-730.

CCME (1988). Canadian drinking quality guidelines. Canadian Council of 14. Minister of the Environment, Ottawa, Ontario, Canada.

- CHAN, J. C. M., JACOB, M., BROWN, S., SAVORY, J., WILLS, M. R. (1988).** Aluminium metabolism in rats. Effects of vitamin D dihydrocortisol, 1,25-dihydroxyvitamin D and phosphate binders. *Nephron*, 48, 61-64.
- COCHRAN, M., GODDARD, G., RAMM, G. , LUDWIGSON, N., MARSHALL, J., HALLIDAY, J. (1993).** Absorbed aluminium is found with two cytosolic protein fractions, other than ferritin , in the rat duodenum. *Gut*, 34, 643-646.
- CONSTANTINI, S., GIORDANO, R. (1991).** En “Aluminium in Chemistry, Biology and Medicine” (M. Nicolini, P. F. Zatta, and B. Corain, Eds.), pp. 21-29. Cortina International, Verona, Italia.
- CRAPPER M, D. R., DeBONI, W. (1980).** Aluminium in human brain disease – An overview. *Neurotoxicology*, 1, 3-16.
- CRUZ-BÁRCENAS, A. (2007).** “Boom en el consumo de té en México; crece 20% anual”. 16 de noviembre de 2007. La Jornada digital. Activo el 4/01/2009. <http://www.jornada.unam.mx/2007/11/16/index.php?section=gastronomia&article=a10n1gas>
- DE VOTO, E., YOKEL. R. A. (1994).** The Biological speciation and toxicokinetics of aluminium. *Environ. Health Perspect.* 102, 940-951.
- DIEFFENBACH, A., MATZNER E. (2000).** In situ soil solution chemistry in the rhizosphere of mature Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) trees. *Plant Soil*, 222, 149–161.
- DING, R. X., HUANG X. A. (1991).** Biogeochemical cycle of aluminium and fluorine in a tea garden soil system and its relationship to soil acidification. *Acta Pedologica Sinica*, 28, 229–236.
- DENG, Z., COUDRAY, C., GOUZOUX, L., MAZUR, A., RAYSSIGUIER, Y., PEPIN, D. (1998).** Effect of oral aluminium and aluminium citrate on blood level and short-term tissue distribution of aluminium in the rat. *Biol. Trace. Elem. Res.* 63, 139-147.

DENG, Z., COUDRAY, C., GOUZOUX, L., MAZUR, A., RAYSSIGUIER, Y., PEPIN, D. (2000). Effects of acute and chronic coingestion of AlCl₃ with citrate or polyphenolic acids on tissue retention and distribution of aluminium in rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 76, 245-256.

DONG, D., XIE, Z., DU, Y., LIU, C., WANG, S. (1999). Influence of soil pH on aluminium availability in the soil and aluminium in tea leaves. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 30, 873–883.

DU VAL, G., GRUBB, B. R., BENTLEY, P. J. (1986). Tissue distribution of subcutaneously administered aluminium chloride in weanling rabbits. *J. Toxicol. Environ. Health*, 19, 97-104.

EISENRICH, S. J. (1980). Atmospheric input of trace metals to Lake Michigan (USA). *Water Air Soil Pollut.* 13, 287-302.

EXLEY, C., BURGESS, E., DAY, J. P., E. H., MELETHIL, S., YOKEL, R. A. (1996). Aluminium toxicokinetics. *J. Toxicol. Environ. Health*, 48, 569-584.

EXLEY, C., KORCHAZHKINA, J. (2001). Promotion of formation of amyloid fibrils by aluminium adenosine triphosphate (AlATP). *Journal of Inorganic Biochemistry*, 84(3–4), 215–224.

FARINA M., ROTTA L.N., SOARES F.A., JARDIM F., JACQUES R., SOUZA D.O., ROCHA J.B. (2005). Hematological changes in rats chronically exposed to oral aluminium. *Toxicology*, 209(1):29-37.

FEINROTH, M., FEINROTH, M. V., BERLYNE, G. M. (1982). Aluminium absorption in the rat everted gut sac. *Miner. Electrolyte Metab.* 8, 29-35.

FENWICK, S., ROBERTS, E.A., MAHESH, B.S., ROBERTS, N.B. (2005). In end-stage renal failure, does infection lead to elevated plasma aluminium and neurotoxicity? Implications for monitoring. *Annals Clin. Biochem.* 42(2):149-152.

FILIPEK, L. H., NORDSTORM, D. K., FICKLIN, W. H. (1987). Interaction of acid mine drainage with waters and sediments of West Squaw Creek in the West Shasta mining district, California. *Environ. Sci. Technol.* 21, 388-396.

- FLATEN, T. P. (2001).** Aluminium as a risk factor in Alzheimer's disease, with emphasis on drinking water. *Brain Res. Bull.* 55, 187-196.
- FLATEN, T. P. (2002).** Aluminium in tea – concentrations, speciation and bioavailability. *Coordination Chemistry Reviews*, 228, 385–395.
- FLAREND, R. (2001).** Absorption of aluminium from antiperspirants and vaccine adjuvants. In “Aluminium and Alzheimer's disease: The Science That Describes the Link” (C. Exley, Ed.), pp. 75-95. Elsevier, Amsterdam.
- FUNG, K. F., ZHANG, Z. Q., WONG, J. W. C., WONG, M. H. (2003).** Aluminium and fluoride concentrations of three tea varieties growing at Lantau Island, Hong Kong. *Environmental Geochemistry and Health*, 25, 219–232.
- GAHOONIA T. S. (1993).** Influence of root-induced pH on the solubility of soil aluminium in the rhizosphere. *Plant Soil*, 149, 289–291.
- GALLE, P. (1987).** The toxicity of aluminium. *World Sci.* 13 (January), 26-35.
- GANROT, P. O. (1986).** Metabolism and possible health effects of aluminium. *Environ. Health Perspect.* 65, 363-441.
- GOMEZ, M., SANCHEZ, D. J., LLOBET, J. M., CORBELLA, J., DOMINGO, J. L. (1997).** The effect of age on aluminium retention in rats. *Toxicology*, 16, 1-8.
- GOPALAN, C. (1996).** In “Nutrition Research in South-East Asia (The Emerging Agenda of the Future),” pp. 105-112. World Health Organization, Geneva. AITBS Publishers and Distributors, Delhi, India.
- GÖTTLEIN, A., HEIM, H., MATZNER, E., GREGORY, P. J., HINSINGER P. (1999).** Mobilization of aluminium in the rhizosphere soil solution of growing tree roots in an acidic soil. *Plant Soil*, 211, 41–49.
- GREGER, J. L., GOETZ, W., SULLIVAN, D. (1985).** Aluminium levels in foods cooked and stored in aluminium pans, trays and foil. *J. Food Prot.* 48, 772-777.

GRISWALD, W. R., REZNIK, V., MENDOZA, S. A., TRAUNER, D., ALFREY, A. C. (1983). Accumulation of aluminium in a nondialyzed uremic child receiving aluminium hydroxide. *Pediatrics*, 71, 56-58.

GUPTA, V.B., ANITHA, S., HEGDE, M.L., ZECCA, L., GARRUTO, R.M., RAVID, R., SHANKAR, S.K., STEIN, R., SHANMUGAVELU, P., JAGANNATHA-RAO, K.S. (2005). Aluminum in Alzheimer's disease: Are we still at a crossroad? *Cell. Mol. Life Sci.* 62(2):143-58.

HAYATSU, M., KOSUGE, N. (1989). Effect of nitrification on pH on tea fields soils. *Bulletin of the National Research Institute of Vegetable, Ornamental Plants and Tea*, No. 3, 1-8.

HAN, J., HAN, J., DUNN, M. A. (2000). Effect of dietary aluminium on tissue nonheme iron and ferritin levels in the chick. *Toxicology*, 142, 97-109.

HUE, N., CRADOCK, G, ADAMS, F. (1986). Effect of organic acids on aluminium toxicity in subsoils. *Soil Science Society of America Journal*, 50(1), 28–34.

ISO (1997). Water Quality – Determination of aluminium – AAS methods. International Organisation for Standardisation, Ginebra, Suiza.

ITTEL, T. H. (1993). Determinants of gastrointestinal absorption and distribution of aluminium in health and uraemia. *Nephrol. Dial. Transplant.* 8(Suppl. 1) 17-24.

JACKSON, M.L. (1983). Aluminium of acidsoils in foodchain and senility, *Scienceof the total Environment*, 25, 269-276.

KOCH, K. R., POUUNET, M. A. B, VILLIERS, S. DE., MONTEGUDO, F. (1988). Increased urinary excretion of aluminium after drinking tea. *Nature*, 333, 122.

KONISHI, S., MIYAMOTO, S., TAKI, T. (1985). Stimulatory effects of aluminium on tea plants grown under low and high phosphorus supply. *Soil Science and Plant Nutrition*, 31, 361–368.

KRETZSCHMAR, R. M., HAFNER, H., BATIONO, A. MARSCHNER, H. (1991). Long- and short-term effects of crop residues on aluminium toxicity phosphorus availability and growth of pearl millet in an acid sandy soil. *Plant Soil*, 136, 215–223.

- LEE, R. E., JR., VON LEHMEN, D. J. (1973).** Trace metal pollution in the environment. *J. Air Pollut. Control Assoc.* 23, 853-857.
- LEVESQUE, L., MIZZEN, C. A., MCLACHLAN, D. R., FRASER, P. E. (2000).** Ligand specific effects on aluminium incorporation and toxicity in neurons and astrocytes. *Brain Res.* 877, 191-202.
- LIN, J. L., YANG, Y. L., YANG, S. S., LEU, M. L. (1997).** Aluminium utensils contribute to aluminum accumulation in patients with renal disease. *Am. J. Kidney Dis.* 30, 653-658.
- LIONE, A. (1983).** The prophylactic reduction of aluminium intake. *Food Chem. Toxicol.* 21, 103-109.
- LIOPIS, L. S., DIEZ, F. B. (2002).** Revisión de los estudios sobre exposición al aluminio y enfermedad de Alzheimer. *Revista Española de Salud Pública.* 76 (6), 645-658.
- McDERMOTT, J. R., SMITH, A. I., WARD, M. K., PARKINSON, I. S., KERR, D. N. (1978).** Brain aluminium concentration in dialysis encephalopathy. *Lancet*, 1, 901-904.
- McLACHLAN, D.R.C. (1995).** Aluminium and the risk for Alzheimer's disease. *Environment*, 6, 233-275.
- MARCUS, A., FISHER, A., REE, G., HILL, J. (1996).** Preliminary study using trace element concentrations and a chemometric approach to determine the geological origin of tea. *Journal of Agricultural Atomic Spectroscopy*, 113(3), 521-525.
- MARSCHNER, H. (1995).** *Mineral Nutrition of Higher Plants*, Academic Press, Londres, Reino Unido.
- MATSUMOTO H., HIRASAWA E., MORIMURA S., TAKAHASHI E. (1976).** Localization of aluminium in tea leaves. *Plant and Cell Physiology*, 17(3):627-631.
- MOORE, P. B., DAY, J. P., TAYLOR, G. A., FERRIER, I. N., FIFIELD, L. K., EDWARDS, J. A. (2000).** Absorption of aluminium-26 in Alzheimer's disease, measured using accelerator mass spectrometry. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 11, 66-69.

- NASIADEK, M., CHMIELNICKA, J. (2000).** Interaction of aluminium with exogenous and endogenous iron in the organism of rats. *Exotoxicol. Environ. Saf.* 45, 284-290.
- NAYAK, P. (2002).** Aluminum: Impacts and Disease. *Environmental Research Section A.* 89; 101-115.
- NESSE, A., GARBOSSA, G., PÉREZ, G., VITORRI, D., PREGI, N. (2003).** Aluminio: ¿Culpable o Inocente? *Química Viva*, 2(1); 10-15.
- NORMA OFICIAL MEXICANA. NOM-127-SSA1-1994.** Salud Ambiental, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. *Diario Oficial de la Federación.* México D.F.
- O'HARE, J. A., MURNAGHAN, D. (1982).** Reversal and aluminium-induced hemodialysis anaemia by a low-aluminium dialyzate in patients undergoing hemodialysis. *Am. J. Med.* 77, 229-232.
- OSINSKA, E., KANONIUK, D., KUSIAK, A. (2004).** Aluminum hemotoxicity mechanisms. *Ann. Univ. Maria Curie Sklodowska (Med).* 59(1):411-416.
- OWUOR, P.O., GONE, F.O., ONCHIRI, D.B., JUMBA, I.O. (1990).** Levels of aluminium in green tea leaf of clonal tea, black tea liquors, and effects of rates of nitrogen fertilizers on the aluminium black tea contents. *Food Chemistry*, 35, 59-69.
- PARKER, D. R., BERTSCH, P M. (1992).** Identification and quantification of the Al_{13+} tridecameric polycation using ferron. *Environmental Science & Technology*, 26(5), 908-914.
- PARRA, P. (2006).** Té (*Camellia sinensis*.L). Análisis de la cadena alimentaria. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Buenos Aires. Argentina. (Activo: mayo 2009). http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/infusion/Te-mayo-2006/Infusiones_Te.htm
- PENNINGTON, J.A T. (1988).** Aluminium content of foods and diets. *Foods Additives and Contaminants*, 5, 161-232.

- PRIEST, N. D., TALBOT, J.G., AUSTIN, J.P., KING, S. J., FITFIELD, R. G., CRESWELL, R. G (1996).** The bioavailability of AL-26-labelled aluminium citrate and aluminium hydroxide in volunteers. *Biometals*, 9(3), 221-228.
- REGURA, M. R., SERRANO, M., FERNANDEZ, L., GONZALEZ, A., GONZALEZ, I., GONZALEZ, R., NOVAL, A., CANNATA, J. B. (1986).** Searching for other sources of aluminium contamination. In "Aspects of Renal Care", pp. 21-27. Transdemic Europe Ltd., Londres, Reino Unido.
- RUAN, J.Y. WONG, M-H. (2001).** Accumulation of fluoride and aluminium related to different varieties of tea plant. *Environmental Geochemistry and Health*, 23; 53–63.
- RUAN, J.Y., MA, L.F., SHI Y.Z., ZHANG F.S. (2004).** Effects of litter incorporation and nitrogen fertilization on the contents of extractable aluminium in the rhizosphere soil of tea plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Plant and Soil*, 263; 283–296.
- RUAN, J.Y., MA, L.F. SHI, Y. (2006).** Aluminium in tea plantations: mobility in soils and plants, and the influence of nitrogen fertilization. *Environmental Geochemistry and Health*, 28; 519–528.
- SANTOS, F., CHAN, J. C. M., YANG, M. S., SAVORY, J., WILLS, M. R. (1987).** Aluminium deposition in the central nervous system: Preferential accumulation in the hippocampus in weanling rats. *Med. Biol.* 65, 53-55.
- SHUMAN, L. M. (1990).** Comparison of exchangeable Al, extractable Al, and Al in soil fractions. *Canadian Journal of Soil Science*, 70, 263-275.
- SKOOG, D. A., HOLLER, F. J., WEST, D. M. (1997).** "Fundamentos de Química Analítica", Cuarta edición, Ed. Reverté, Barcelona, España. pp. 614-616.
- SOMOVA, L. I., MISSANKOV, A., KHAN, M. S. (1997).** Chronic aluminium intoxication in rats: Dose-dependent morphological changes. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 19, 599-604.
- SORRENSON, J. R. J., CAMPBELL, I. R., TEPPER, L. B., LINGG, R. D. (1974).** Aluminium in the environment and human health. *Environ. Health Perspect.* 8, 3-95.

- STREET, R., DRÁBEK, O., SZAÁKOVA, J., MLÁDKOVA, L. (2007).** Total content and speciation of aluminium in tea leaves and tea infusions. *Food Chemistry*, 104; 1662–1669.
- TACHIBANA, N, YOSHIKAWA, S., IKEDA, K., (1995).** Influences of heavy application of nitrogen on soil acidification and root growth in tea fields. *Japanese J. Corp Sci.* 64, 516-522.
- U. S. PUBLIC HEALTH SERVICE. (1992).** Toxicological profile for aluminium and compounds. Contac No. 205-88-0608. Prepared by Clement International Corp. Washington, DC. EEUU.
- VARNER, J. A., JENSEN, K. F., HOVARTH, W., ISSACSON, R. L. (1998).** Chronic administration of aluminium of aluminium-fluoride or sodium-fluoride to rats to rats in drinking water: Alterations in neuronal and cerebrovascular integrity. *Brain Res.* 784, 284-298.
- VENTURINI-SORIANO, M., BERTHON, G. (2001).** Aluminium speciation studies in biological fluids. Part 7. A quantitative investigation of aluminium (III)-malate complex equilibria and their potential implications for aluminium metabolism and toxicity. *J. Inorg. Biochem.* 85, 143-154.
- YAMAMOTO, T., JUNEJA, L.R., CHU, D.C., KIM, M. (eds). (1997).** *Chemistry and Applications of Green Tea*, CRC Press, Boca Raton, Florida, EEUU.
- YANG, Z. M., SIVAGUTU, M., HORST, W. J., MATSUMOTO, H. (2000).** Aluminium tolerance is achieved by exudation of citric acid from roots of soybean (*Glycerine max L. Merr*). *Physiologia Plantarum* , 110(1), 72-77.
- YOKEL, R. A., McNAMARA. P. J. (1985).** Aluminium bioavailability and disposition in adult and immature rabbits. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 77, 344-352.
- YOKEL, R. A., McNAMARA. P. J. (2001).** Aluminium toxicokinetics: An updated minireview. *Pharmacol. Toxicol.* 88, 159-167.

YUMOTO, S., NAGAI, H., MATSUZAKI, H., MATSUMURA, H., TADA, W., NAGATSMA, E., KOBAYASHI. (2000). Aluminium incorporation into the brain of rat fetuses and sucklings. *Brain Res. Bull.* 55, 229-234.

WALTON, J., TUNIZ, C., FINK, D., JACOBSEN, G. WILCOX, D. (1995). Uptake of trace amounts of aluminum into the brain from drinking water. *Neuro. Toxicology* 16, 187-190.

WONG, M. H., ZHANG, Z. Q., WONG, J. W. C., LAN, C. Y. (1998). Trace metal contents (Al, Cu and Zn) of tea: Tea and soil from two tea plantations, and tea products from different provinces of China. *Environmental Geochemistry and Health*, 20, 87–94.

ZAMAN, K., MISZATA, H., DABROWSKI, Z. (1990). The effect of aluminium upon the activity of selected bone marrow enzymes in rats. *Folia. Haematol.* 117, 447-451.

ZATTA, P. F., NICOLINI, M., CORAIN, B. (1991). Aluminium (III) toxicity and blood-brain barrier permeability. En “Aluminium in Chemistry, Biology and Medicine”, pp. 97-112. Cortina International, Verona, Italia.