



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN EL CONTENIDO
DE ALUMINIO EN BEBIDAS CARBONATADAS
MEXICANAS**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA
FRIDA HAIDÉ BELMONT FLORES



MÉXICO, D.F.

2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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: DRA. LILIANA VIRGINIA RAQUEL SALDÍVAR Y OSORIO
VOCAL: DRA. MARÍA DEL CÁRMEN DURÁN DOMÍNGUEZ
SECRETARIA: M. EN C. LUCÍA CORNEJO BARRERA
1ª SUPLENTE: QFB INOCENCIA MARÍA DE LOURDES FLORES TELLEZ
2ª SUPLENTE: QFB MARÍA DE LOURDES OSNAYA SUÁREZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.
CONJUNTO "E" LABORATORIO 301. PASEO DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA
S/N, CIUDAD UNIVERSITARIA, 04510 MÉXICO, DF., MÉXICO.



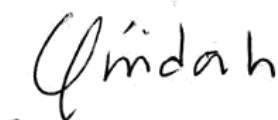
ASESORA DEL TEMA:

DRA. EN ING. MARÍA DEL
CÁRMEN DURÁN DOMÍNGUEZ



SUPERVISORA TÉCNICA:

DRA. EN ING. AMBIENTAL
AMALIA PANIZZA DE LEÓN



SUSTENTANTE:

FRIDA HAIDÉ BELMONT FLORES

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Ramón y María Eugenia, por haber dedicado su tiempo y esfuerzo para darme una buena educación académica aunque ello significó quitarse lujos y manjares. Gracias por cuidarme, quererme y consentirme. Gracias por inculcarme los valores con los que he llegado a ser la mujer que ahora soy.

A mi abuelito Manuel que me cuidó como su propia hija y al que desde hace años quise dedicarle este trabajo. Especialmente gracias por todo su tiempo, sus cuidados y su amor.

A Ingrid por invitarme al “ready” porque con todo y que hubo cosas medio bizarras saqué de ese curso experiencias de provecho y el resultado final está siendo positivo.

Agradezco a Romy por haber compartido conmigo parte de la carrera, mis locuras y la jardinera donde nos quedábamos como lagartijas y gracias por seguir siendo mi amiga y seguir compartiendo sinceramente.

A Román que a lo largo de estos más de 4 años ha estado conmigo apoyándome y amándome, porque con él a mi lado he aprendido a ser más ordenada, más paciente, un poco menos impulsiva y a confiar más en mí.

A Humberto porque compartimos juntos momentos muy agradables y sus palabras y sus acciones me alentaron a seguir creciendo y acabar la tesis.

A todos los maestros, los apasionados y los que no lo son, los formales y los que no lo son, porque gracias a ellos he aprendido mucho y ahora me encuentro culminando una etapa más en mi vida.

Especialmente a la Doctora Durán, a Amalia y a todo el equipo de trabajo del L-301 del edificio E porque siempre me brindaron todo el apoyo que necesité para la realización de este trabajo y la culminación del mismo, presionando y alentándome a hacerlo.

Cariñosamente a la Doctora Saldívar por brindarme la oportunidad de trabajar en su laboratorio y posteriormente con ella, teniendo siempre experiencias que compartirme, porque platicar con ella siempre es agradable y porque también me instó a acabar con este proyecto.

Gracias a todos aquellos que se han cruzado en mi camino y han dejado una huella, ya sea agradable, desagradable, pequeña o grande porque con cada experiencia he forjado mi ser, aprendido y crecido para ser lo que ahora soy, guiándome a lo que seré mañana.

RECONOCIMIENTOS

La autora y su asesora y supervisora técnica agradecen a la empresa minera cooperante por su apoyo para realizar algunas de las muestras ciegas de aluminio.

Asimismo, agradecen al M. en C. Ciro Márquez por su apoyo analítico para la medición de aluminio en el equipo del Departamento de Ingeniería Química Metalúrgica de la Facultad de Química de la UNAM

Finalmente, agradecen al Programa denominado PAPIME “Programa de Apoyo para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza” Clave PE101709 “Apoyo a la enseñanza experimental de las asignaturas terminales que se imparten en la Facultad de Química de la UNAM” de la DGAPA de la UNAM, por el apoyo para la adquisición de reactivos con los que se realizó la asignatura terminal denominada Laboratorio de Desarrollo Experimental de Alimentos, que sirvió de base para esta tesis profesional

TABLA DE CONTENIDO

	Página
GLOSARIO Y ABREVIATURAS	8
RESUMEN	11
CAPÍTULO 1. PROBLEMÁTICA	12
1.1. INTRODUCCIÓN	12
1.2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	13
1.2.1. Objetivos generales	13
1.2.2. Objetivos específicos	13
1.2.3. Hipótesis	14
1.2.4. Alcances	14
CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES	16
2.1. ¿QUÉ SON LOS REFRESCOS?	16
2.1.1. Formulación de refrescos	16
2.1.1.1 Agua	16
2.1.1.2. Preparación del jarabe de azúcar	17
2.1.1.2.1. Aromatizantes	18
2.1.1.2.2. Edulcorantes	18
2.1.1.2.3. Acidulantes	18
2.1.1.2.4. Colorantes	19
2.1.1.2.5. Conservadores	20
2.1.1.2.6. Antioxidantes	20
2.1.1.2.7. Emulsionantes, estabilizantes y agentes de turbidez	20
2.1.1.2.8. Agentes espumantes	20
2.1.2. Proceso de elaboración	21
2.1.2.1. Tratamiento de agua	21
2.1.2.2. Elaboración del jarabe simple	21
2.1.2.3. Elaboración del jarabe terminado	21
2.1.2.4. Elaboración de la bebida terminada	22
2.1.2.5. Proceso de envasado	22
2.2. ENVASES: HISTORIA Y CARACTERÍSTICAS	23

2.2.1. Envases de metal	23
2.2.1.1. Latas de aluminio	24
2.2.1.1.1. Recubrimiento de latas	25
2.2.1.1.2. Ventajas del aluminio	26
2.2.1.1.3. Desventajas del aluminio	26
2.2.2. Envases de plástico	26
2.2.2.1. Botellas de PET	27
2.2.2.1.1. Ventajas del PET	28
2.2.2.1.2. Desventajas del PET	28
2.2.3. Envases de vidrio	28
2.2.3.1. Botellas de vidrio	29
2.2.3.1.1. Ventajas del vidrio	29
2.2.3.1.2. Desventajas del vidrio	30
2.3. CONSUMO DE REFRESCOS	30
2.3.1. Datos generales	30
2.3.2. Datos puntuales	30
2.4. ¿QUÉ ES EL ALUMINIO?	31
2.4.1. El aluminio y su relación con los refrescos	31
2.4.2. El aluminio y los alimentos	32
2.4.3. El efecto del aluminio en el organismo	34
2.4.4. Absorción del aluminio en el organismo	38
2.5. NORMALIZACIÓN DE REFRESCOS	39
2.6. NORMALIZACIÓN DEL ALUMINIO COMO CONTAMINANTE EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS	40
2.7. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO	40
2.7.1. Análisis de Varianza (ANDEVA / ANOVA: Analysis of Variance)	40
2.7.2. Mínima diferencia significativa (MDS / LSD: least significative difference)	42
CAPÍTULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS	43
3.1. MUESTREO SELECTIVO DE REFRESCOS	44
3.1.1. Diseño de experimentos	45
3.1.2. Composición de los refrescos	46
3.2. LIMPIEZA DEL MATERIAL DE VIDRIO	46
3.3. DESGASIFICACIÓN DE REFRESCOS	47

3.4. DETERMINACIÓN DE pH	47
3.5. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ALUMINIO	48
3.5.1. Digestión de las muestras de refrescos	49
3.5.2. Curvas de calibración, límites de detección y límites de cuantificación	50
3.5.3. Porcentaje de recobro	50
CAPÍTULO 4. RESULTADOS y DISCUSIÓN	55
4.1. VALORES DE pH DE LOS REFRESCOS	55
4.2. CONTENIDO DE ALUMINIO EN LOS REFRESCOS	57
4.2.1. Curvas de calibración, límites de detección y límites de cuantificación	60
4.2.2. Porcentaje de recobro	62
4.2.3. Concentración de aluminio en los refrescos	64
4.2.4. Análisis estadístico de datos	65
4.2.4.1. Tipo de envase	66
4.2.4.2. Tiempo de anaquel	67
4.2.4.3. Marcas	67
4.2.4.4. Marca y tipo de envase	68
4.2.4.5. Tipo de envase y tiempo de anaquel	70
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	73
5.1. CONCLUSIONES	73
5.2. RECOMENDACIONES	74
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

GLOSARIO Y ABREVIATURAS

Azotemia	Condición médica caracterizada por niveles anormales de compuestos nitrogenados en la sangre, tales como urea y creatinina (Wikipedia,2010)
“Azúcares”	Nombre dado en la normativa mexicana a los edulcorantes que NO son azúcar (sacarosa) “Todos los monosacáridos y disacáridos presentes en un alimento o bebida no alcohólica “ (NOM-051-SCFI/SSA1-2009), provenientes generalmente de almidones de maíz hidrolizados e invertidos y concentrados a formar mieles conocidas como mieles fructosadas de maíz (DOF, 2009)
cAMP	Adenosín monofosfato cíclico (AMPc, cAMP, AMP cíclico o adenosín monofosfato-3',5' cíclico) es un nucleótido que funciona como segundo mensajero en varios procesos biológicos. Es un derivado del adenosín trifosfato (ATP), y se produce mediante la acción de la enzima adenilato ciclasa a partir del adenosín trifosfato (Wikipedia,2010)
F	Fisher (Miller y Miller, 2002)
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, por sus siglas en inglés (Wikipedia, 2011)
FDA	Administración de Alimentos y Fármacos, por sus siglas en inglés. Es la agencia del gobierno de los Estados Unidos responsable de la regulación de alimentos (tanto para seres humanos como para animales), suplementos alimenticios, medicamentos (humanos y veterinarios), cosméticos, aparatos médicos (humanos y animales), productos biológicos y productos hemáticos (Wikipedia, 2010)
GABA	Ácido gama amino-butírico, por sus siglas en inglés. Es un neurotransmisor (Wikipedia, 2010)
gl	Grados de libertad (Miller y Miller, 2002)
GRAS	Siglas en inglés aplicadas a los alimentos y bebidas que significan “generalmente reconocidos como seguros”, <i>Generally Recognized as Safe</i> (FDA, 2010)
JECFA	Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios, por sus siglas en inglés (FAO, 2011)
LDC	Límite de cuantificación. Corresponde a la cantidad o concentración del

	analito a partir de la cual es confiable realizar determinaciones cuantitativas, puede ser calculada como 10 veces la desviación de la lectura del blanco de reactivos: $(LDC) = Y_b + 10S_{y/x}$ (Ec 3.2) (Miller y Miller, 2002)
LDD	Límite de detección. Se define como la cantidad o concentración mínima de sustancia que puede ser detectada con fiabilidad por un método analítico determinado, puede ser calculada como 3 veces la desviación de la lectura del blanco de reactivos: $(LDD) = Y_b + 3S_{y/x}$ (Ec 3.1) (Miller y Miller, 2002)
LSD	(Least significant difference) Mínima diferencia significativa, por sus siglas en inglés. Es la diferencia entre dos medias, basadas en la prueba t de Student, empleando el valor de la varianza del error (Miller y Miller, 2002)
NMP	Siglas para número más probable de organismos presentes en una muestra líquida (Wikipedia, 2010)
OMS	Organización Mundial de la Salud (WHO en inglés)
P	Probabilidad normal (Miller y Miller, 2002)
Pallets	Un pallet, es una estructura de agrupación de carga, fabricada generalmente con madera. La funcionalidad del pallet, es el transportar productos en los almacenes (Merriam Webster, 2010)
Peso	El peso, en física, es la medida de la fuerza que ejerce la gravedad sobre la masa de un cuerpo. Normalmente, se considera respecto de la fuerza de gravedad terrestre. El peso depende de la intensidad del campo gravitatorio, de la posición relativa de los cuerpos y de la masa de los mismos. La masa es una propiedad característica de los cuerpos: la cantidad de materia, y no depende de la intensidad del campo gravitatorio, ni de su posición en el espacio. Cotidianamente, el término "peso" se utiliza a menudo erróneamente como sinónimo de masa. La unidad de masa del SI es el kilogramo, kg (Wikipedia, 2010)
PET	Tereftalato de polietileno por sus siglas en inglés (Wikipedia, 2010)
ppb	Unidad de concentración que significa partes por billón y equivale a $\mu\text{g/L}$ o $\mu\text{g/kg}$ (Wikipedia, 2010)
ppm	Unidad de concentración que significa partes por millón y equivale a mg/L o mg/kg (Wikipedia, 2010)
PTWI	Siglas en inglés para límite provisional de ingesta semanal tolerable (WHO, 2011)

Quillay	El quillay es un árbol nativo de Chile que se encuentra tanto en el valle central como en ambas cordilleras, entre Coquimbo y Malleco. Conocido también como arbusto del jabón, su nombre científico es <i>Quillaja saponaria</i> (Wikipedia, 2011)
Sy/x	Es la desviación estándar de los residuales de la recta de calibrado. Útil en la determinación del LDD y del LDC, calculada como: $S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(y - y_i)^2}{n - 1}}$ (Miller y Miller, 2002)
Tung	<i>Vernicia fordii</i> (Tung Tree; syn. <i>Aleurites fordii</i> Hemsl.) es una especie del género <i>Vernicia</i> de la familia de las magnolias, nativa del sur de China, Burma, y el norte de Vietnam (Wikipedia, 2009)
UFC	Unidad(es) formadora(s) de colonias (Wikipedia, 2010)
WHO	Organización Mundial de la Salud, por sus siglas en inglés

RESUMEN

Los refrescos, también conocidos como bebidas carbonatadas, son bebidas cuyos ingredientes principales son: agua, dióxido de carbono y jarabe (aromatizantes, “azúcares”, acidulantes, colorantes, conservadores, antioxidantes, emulsionantes, estabilizantes, espesantes y espumantes). Existen diversos envases para dichas bebidas, tales como el PET (tereftalato de polietileno) y las latas de aluminio. Actualmente México ocupa el primer lugar en consumo *per capita* de bebidas carbonatadas, de las cuales 4.9% se consumen en latas de aluminio. Existe cierta evidencia de la toxicidad del aluminio sobre el organismo. Algunos daños a la salud han sido atribuidos a la ingestión de aluminio, tales como osteomalacia, Alzheimer, anemia y otros. El aluminio de las latas contenedoras de refresco puede ser lixiviado por los ácidos presentes en las bebidas para formar parte de éstas y posteriormente ser ingerido. En esta investigación se evaluó el efecto de la marca (Coca Cola, Mirinda, Fanta y Pepsi), del tiempo de anaquel (0 y 5 meses), del tipo de envase (lata de aluminio y PET) y del lote (3 diferentes) sobre el contenido de aluminio en el refresco, mediante determinaciones físico-químicas y análisis estadísticos. Durante la medición espectrométrica de emisión atómica se consideró que el agua naturalmente trae cierta cantidad de aluminio disuelto y dicha cantidad fue considerada en el blanco de reactivos. Los límites de cuantificación calculados fueron 70 ppb y 67 ppb de aluminio para las curvas de trabajo empleadas al tiempo de compra (0 meses) y al tiempo final (5 meses), respectivamente. El contenido de aluminio en los refrescos analizados está influido por el factor tipo de envase y tiempo de anaquel. El contenido promedio de aluminio en los refrescos enlatados al tiempo de compra fue de 152 ppb, 136 ppb, 145 ppb y 311 ppb para Coca-Cola, Fanta, Pepsi y Mirinda, respectivamente. Al tiempo final el contenido promedio de aluminio para refrescos enlatados fue de 561 ppb, 283 ppb, 405 ppb y 467 ppb para Coca-Cola, Fanta, Pepsi y Mirinda, respectivamente.. Los cuatro valores del contenido promedio de aluminio después de 5 meses exceden los límites establecidos en la Norma Oficial Mexicana para agua potable “NOM-127-SSA1-1994”. Los refrescos envasados en PET presentaron al tiempo 0 los siguientes valores promedio para el contenido de aluminio: 71 ppb, 83 ppb, 127 ppb y 70 ppb para Coca-Cola, Fanta, Pepsi y Mirinda, respectivamente. Al tiempo 5 los refrescos envasados en PET mostraron un contenido promedio de aluminio de 53 ppb, 49 ppb, 42 ppb y 35 ppb para Coca-Cola, Fanta, Pepsi y Mirinda, respectivamente. Se comprobó que el envase y el tiempo de anaquel sí influyen en el contenido de aluminio de los refrescos.

CAPÍTULO 1. PROBLEMÁTICA

1.1. INTRODUCCIÓN

Para el año 2004, México era la segunda economía latinoamericana y también el segundo consumidor del mundo de bebidas gaseosas no alcohólicas (conocidas en México como refrescos). El primer lugar lo ocupaba Estados Unidos como mayor consumidor mundial de refrescos *per cápita*. Al cierre del año 2004, la industria de refrescos y aguas carbonatadas en México alcanzó un volumen de ventas de 15,601 millones de litros equivalentes a 2,748 millones de cajas y el consumo *per capita* se elevó a 148.1 litros anuales (Iglesias, 2005). De acuerdo con cifras más recientes emitidas por el Instituto Nacional de Salud Pública el consumo *per cápita* de refrescos en México ha aumentado hasta alcanzar los 152 litros anuales, alcanzando así el primer lugar mundial en consumo *per cápita de dichas bebidas carbonatadas* (Barquera *et al.*, 2008).

Un estudio publicado por la revista *The Science of the Total Environment* demostró que los refrescos de España tienen cantidades apreciables de aluminio (44.6 a 1053.3 ppb o microgramos por litro) y dichas cantidades varían dependiendo del tipo de contenedor; correspondiendo a las mayores cantidades los refrescos enlatados (López *et al.*, 2002).

La ingesta de aluminio está relacionada con desórdenes neurológicos, tales como la enfermedad de Alzheimer, ya que induce los efectos oxidativos y también afecta los huesos porque interfiere en el metabolismo del fósforo y del calcio, generando osteomalacia (Becaria *et al.*, 2006). Además de lo antes mencionado, también se ha relacionado con la anemia y la disminución de la resistencia osmótica de las células de la sangre (Osinska *et al.*, 2004).

Para la elaboración de los refrescos suelen emplearse aditivos ácidos, tales como el ácido cítrico, el ácido ascórbico y el ácido fosfórico, entre otros, que junto con el ácido carbónico producido al inyectar CO₂ en la solución propician la disminución del pH de la solución hasta valores entre 2 y 3 unidades de pH. Dichas condiciones favorecen la lixiviación del aluminio de una superficie metálica (Karbouj 2007, Varnam, 1994).

La realización de este estudio tuvo como objetivo determinar la cantidad de aluminio presente en algunos refrescos mexicanos (de lata y de tereftalato de polietileno, PET, por sus siglas en inglés) tomando como variable el tiempo de almacenamiento y partiendo de la hipótesis de que la cantidad de aluminio lixiviado de una lata aumenta con el tiempo de contacto entre la lata y el refresco, con la finalidad de dejar la puerta abierta a otros investigadores interesados en la salud pública y que deseen estudiar los efectos del aluminio sobre los humanos y el grado de absorción intestinal que éste pueda tener.

1.2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

1.2.1. Objetivos generales

- Generar información sobre el contenido de aluminio disuelto en algunos de los refrescos consumidos en México
- Comparar los valores obtenidos con la literatura internacional disponible.
- Evaluar si la marca, tipo de envase, tiempo de anaquel y el lote influyen sobre la concentración de aluminio disuelto presente en los refrescos.

1.2.2. Objetivos específicos

- Realizar una revisión de la literatura nacional e internacional sobre el contenido de aluminio presente en los refrescos.

- Cuantificar el valor de pH en los refrescos enlatados y embotellados (PET) de cuatro marcas diferentes mediante un análisis físico-químico.
- Desarrollar una metodología que permita la cuantificación de la concentración de aluminio en los refrescos.
- Evaluar el efecto de la marca, el tiempo de anaquel, el tipo de envase y el lote presentan sobre el contenido de aluminio, mediante determinaciones físico-químicas y análisis estadísticos.
- Iniciar la discusión sobre el contenido de metales en los refrescos que permita la generación de una normativa al respecto.

1.2.3. Hipótesis

El contenido de aluminio en los refrescos enlatados es mayor que la cantidad presente en los refrescos embotellados, aún para refrescos de la misma compañía y marca. Debido al valor ácido del pH de las bebidas carbonatadas, el material de los envases de aluminio que contienen dichas bebidas puede ser corroído por éstas, permitiendo que el aluminio quede disponible en la bebida y posteriormente sea ingerido.

Los envases de aluminio tienen un recubrimiento interno de una resina epóxica o de laca vinílica que evita el contacto del líquido con éstos. Considerando que este recubrimiento no es perfecto, la concentración de aluminio en los refrescos de lata se incrementará conforme pase el tiempo.

1.2.4. Alcances

Mediante este experimento se evaluará la concentración de aluminio presente en bebidas carbonatadas de 2 marcas de la empresa *Coca-Cola Company* y de otras dos

de la empresa del *Grupo Pepsico* y, en ambos casos, se analizarán bebidas en 2 tipos de envases distintos, lata y PET.

Los productos a analizar son: Para Coca-Cola Company, Coca-Cola y Fanta en las presentaciones de lata y PET, para ambos productos, y para Grupo Pepsico, Pepsi y Mirinda, en las presentaciones lata y PET, en ambos casos. De cada uno de los productos se analizarán tres lotes por triplicado, adquiridos al azar en una tienda de autoservicio tomando como único criterio que las fechas de caducidad de todos ellos fueran similares.

Es importante hacer notar que los resultados de este experimento son únicamente válidos para los productos analizados y no pueden extrapolarse a los demás refrescos que se produzcan ya que aunque se trató de hacer un análisis estadísticamente confiable, el número de muestra no es significativo para los niveles de producción que tienen las empresas antes mencionadas.

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES

2.1. ¿QUÉ SON LOS REFRESCOS?

Se entiende como “Refrescos de...” a aquellas bebidas que además de agua potable pueden contener como máximo un 2% de alcohol etílico, edulcorantes, saborizantes, dióxido de carbono, jugos, pulpas de frutas, verduras o legumbres y otros aditivos autorizados por la Secretaría de Salud. En el caso de bebidas nutricionales pueden contener además vitaminas, proteínas o sus hidrolizados de calidad proteínica equivalente al de la caseína. Contienen menos del 10% y como mínimo 6% de jugos o pulpas de frutas, verduras o legumbres (NMX-F-439-1983). En la norma de etiquetado (NOM-051-SCFI-1994), por ejemplo, se define a las bebidas no alcohólicas como “cualquier líquido natural o transformado, destinado al consumo humano, que proporciona al organismo elementos para su nutrición por vía oral y que contiene menos de 2.0 por ciento en volumen de alcohol etílico”

Los refrescos son bebidas carbonatadas que se consumen siempre sin diluir. Tal es el caso de las “colas” y las bebidas para hacer mezclas. Los ingredientes principales de las bebidas carbonatadas son: agua, dióxido de carbono y jarabe (aromatizantes, “azúcares”, acidulantes, colorantes, conservadores, antioxidantes, emulsionantes, estabilizantes, espesantes y espumantes) (Varnam, 1994).

2.1.1. Formulación de refrescos (Varnam, 1994)

2.1.1.1 Agua

El agua es el constituyente mayoritario de los refrescos, cerca del 90%, y es una de las materias primas más importantes en cuanto a su calidad.

El agua para consumo humano debe tener como límites máximos 2 NMP/100 mL de organismos coliformes totales, 0 UFC/100mL de organismos coliformes fecales, 20 unidades de color verdadero en la escala de platino-cobalto, 5 unidades de turbiedad nefelométrica (UTN), **0.20 ppm de aluminio**, 0.025 ppm de plomo, 10 ppm de nitratos, 0.05 ppm de nitritos, 0.5 ppm de nitrógeno amoniacal, entre otros (NOM-127-SSA1-1994).

La presencia de nitritos y nitratos en las bebidas puede ser un factor importante, no solamente por la cianosis que puede provocar en la población infantil, sino porque estos compuestos químicos favorecen la corrosión de la laca interna con la que se recubren los envases metálicos destinados a los alimentos y bebidas.

Una técnica empleada para su potabilización es la de intercambio iónico.

En otra, uno de los pasos del proceso de potabilización del agua es la eliminación de materia orgánica y muchas veces ésta se realiza por medio de sales de aluminio tales como son el polihidroxiclorosulfato de aluminio(III) y el sulfato de aluminio(III). La función de las sales de aluminio es flocular y coagular dichos sólidos orgánicos para ser extraídos fácilmente (Rodríguez, 2003).

2.1.1.2. Preparación del jarabe de azúcar

El proceso de elaboración del jarabe para un refresco debe realizarse asépticamente para evitar la contaminación por hongos y bacterias. Como ya se mencionó, el jarabe está elaborado a partir de aromatizantes, azúcares, acidulantes, colorantes, conservadores, antioxidantes, emulsionantes, estabilizantes, espesantes y espumantes.

2.1.1.2.1. Aromatizantes

De los ingredientes del jarabe, los aromatizantes son los que mayor influencia tienen sobre el sabor del producto terminado, aunque su concentración puede ser de tan sólo el 0.015%. La naturaleza del aromatizante varía en función del producto que se elabore; la fruta es el más usado, ya sea como zumo, triturado, esencia o jugo, con la excepción de las colas, que se aromatizan con extracto de raíz de cola junto con 10% de cafeína y una mezcla de esencias. Además de los aromatizantes de uso general, también hay otros compuestos que pueden ser usados en un grupo limitado de productos; tal es el caso de la quinina, originalmente empleada como un profiláctico contra la malaria, que frecuentemente se emplea en la llamada agua tónica de limón y en refrescos de naranja.

2.1.1.2.2. Edulcorantes

En la industria refresquera pueden emplearse gran variedad de edulcorantes. Varios países tienen una legislación al respecto; Reino Unido, por ejemplo, permite una cantidad mínima de 4.5%(p/v) de azúcar añadida a los refrescos que se consumen sin diluir. Algunos de los edulcorantes hipocalóricos que pueden ser empleados son: acesulfame de potasio, alitama, aspartamo, ciclamatos, neohesperidina dihidrocalcona, sacarina, esteviósido, sucralosa, taumatina, entre otros y calóricos como el azúcar o sacarosa y los jarabes provenientes de la hidrólisis de los almidones del maíz y su inversión con concentraciones variables de fructosa.

2.1.1.2.3. Acidulantes

Los acidulantes tienen una importancia considerable para determinar la calidad sensorial de los refrescos por lo que, para los fabricantes, es muy importante buscar la adecuada proporción ácido/azúcar. La diferencia entre una bebida carbonatada y una no carbonatada es la presencia de ácido carbónico producido a partir de la inyección de CO₂ en la solución, este ácido es el que da la sensación de “picor” o cosquilleo que se produce en la boca. El ácido cítrico es el acidulante más usado en la industria; sin embargo, hay muchos más que pueden emplearse. Algunos de éstos son:

- Ácido acético. Muy poco empleado.
- Ácido ascórbico. Tiene propiedades antioxidantes, inicia un pardeamiento tras un tratamiento térmico y desestabiliza a algunos colorantes.
- Ácido cítrico. Aporta un suave carácter frutal y es por ello que es muy usado.
- Ácido fumárico. Su uso es similar al del ácido cítrico por proporcionar una acidez similar con menor cantidad. Prohibido en el Reino Unido.
- Ácido láctico. Presenta un aroma suave.
- Ácido málico. Más fuerte que el ácido cítrico y con un sabor frutal más intenso, puede usarse en aguas duras.
- Ácido fosfórico. Muy apropiado para bebidas sin frutas y muy usado en los refrescos de cola, es muy corrosivo.
- Ácido tartárico. Aroma similar al del ácido cítrico pero sus sales de calcio y magnesio son poco solubles por lo que no se emplea en agua dura.

2.1.1.2.4. Colorantes

Los colorantes no tienen un efecto directo sobre las sensaciones bucales al ingerir refrescos pero sí tienen un papel fundamental en reforzar el sabor que percibe el consumidor ya que dependiendo del color que presente la solución es el sabor que el consumidor esperará disfrutar. Normalmente, los colorantes empleados tienen un alto poder cromático por lo que se requieren en concentraciones muy bajas (20-70 mg/L). Existen tanto colorantes artificiales como naturales. Ejemplo de los primeros son los colorantes azoicos con tonalidades muy chillantes y normalmente no GRAS (generalmente reconocidos como seguros, por sus siglas en inglés) y los colorantes poliméricos. Dentro de los colorantes naturales están los antocianos, caramelo, carotenoides y clorofila.

2.1.1.2.5. Conservadores

El contenido de microorganismos que se pueden desarrollar en los refrescos es limitado pero aún así es importante añadir un compuesto capaz de inhibir el desarrollo microbiano. Algunos de los conservadores más usados son SO₂, ácido benzoico y benzoatos, ésteres del ácido *p*-hidroxibenzoico (parabenes) y ácido sórbico y sorbatos.

2.1.1.2.6. Antioxidantes

Como ya se mencionó, el ácido ascórbico tiene propiedades antioxidantes pero únicamente protege a la fase acuosa, donde es soluble, los compuestos más vulnerables a la oxidación son las sustancias aromáticas de carácter lipídico y para proteger a éstas es necesario añadir antioxidantes adecuados, tal es el caso de los tocoferoles, el palmitato de ascorbilo y sus sales.

2.1.1.2.7. Emulsionantes, estabilizantes y agentes de turbidez

Las emulsiones pueden prepararse de modo que proporcionen turbidez (emulsiones neutras) y/o aroma (emulsiones aromáticas). Éstas son muy importantes porque permiten la homogeneización de la fase lipídica (en la que se encuentran las sustancias aromáticas y en algunos casos conservadores) con la fase acuosa (en la que se encuentran los ácidos y azúcares). Existen varios tipos de emulsionantes que pueden ser empleados en la fabricación de refrescos, tal es el caso de los alginatos, carragenos, diversas gomas y pectinas.

2.1.1.2.8. Agentes espumantes

Los agentes espumantes son productos que favorecen la presencia de una superficie espumosa que no altera sabor de la bebida pero sí modifica sus atributos sensoriales y de agrado visual para el consumidor ya que aumentan la viscosidad y aumentan el cuerpo de la bebida. Los agentes espumantes más eficaces son las saponinas, extraídas de la corteza del quillay o la yuca empleada en Estados Unidos.

2.1.2. Proceso de elaboración (Coca-Cola Embonor, 2007).

El proceso de elaboración de refrescos consta básicamente de 5 etapas que presentan variaciones dependiendo del tipo de envase que se emplee. Las etapas fundamentales son: 1.- Tratamiento de agua, 2.- Elaboración de jarabe simple, 3.- Elaboración de jarabe terminado, 4.- Elaboración de bebida terminada y 5.- Proceso de envasado.

2.1.2.1. Tratamiento de agua

Como ya se mencionó en párrafos anteriores, el agua es el constituyente mayoritario de los refrescos y la calidad de ésta influye directamente sobre éstos. Para su purificación es necesario filtrarla y desinfectarla para eliminar cualquier cuerpo extraño y microorganismo patógeno.

2.1.2.2. Elaboración del jarabe simple

El agua ya purificada es mezclada con edulcorantes y filtrada para eliminar impurezas.

2.1.2.3. Elaboración del jarabe terminado

Al jarabe simple se le añade el concentrado apropiado que contiene los aromatizantes, acidulantes, colorantes conservadores, antioxidantes, emulsionantes, estabilizantes y agentes espumantes.

2.1.2.4. Elaboración de la bebida terminada

Para formar la bebida como se consume es necesario mezclar el jarabe terminado con un poco más de agua, en proporciones adecuadas. Posteriormente, dicho líquido es impulsado por una bomba al carbonatador en dirección a la llenadora.

2.1.2.5. Proceso de envasado

Éste es uno de los procesos con mayor número de operaciones. Consta de 9 etapas. Cabe mencionar que las 4 primeras aplican para las botellas de vidrio. Cuando los envases son de PET o lata y producidos dentro de la misma planta puede ser que estos pasos estén ausentes.

- a) “Despaletizado”. Los envases vacíos pueden llegar en cajas, apiladas en los llamados “pallets”, a la planta envasadora donde se colocan sobre una banda transportadora.
- b) Desencajonado. Las botellas se retiran de las cajas que las contienen.
- c) Inspección pre-lavado: Se realiza de manera visual retirando manualmente las botellas muy sucias, dañadas y/o con objetos extraños.
- d) Lavado y esterilización. Se realiza con una máquina automática que inyecta una solución cáustica caliente en las botellas y posteriormente las enjuaga con agua de excelente calidad.
- e) Inspección post-lavado. Cada envase que vaya a ser empleado para contener refresco se revisa visualmente para asegurar que esté en condiciones adecuadas.
- f) Llenado y tapado. El envase se presuriza a la misma presión de la llenadora. Al momento en que se iguala la presión de la llenadora y el interior del envase el

líquido cae por gravedad al envase. Una vez que el envase está lleno se tapa, ya sea con una rosca de material plástico (PET) o tapa (lata, vidrio).

- g) Inspección post-llenado. Los envases llenos se inspeccionan visualmente o con equipos sofisticados para verificar que éstos cumplan con el nivel de líquido o masa deseados.
- h) Codificado. Todos los envases llenos se marcan, ya sea térmicamente o por medio de impresión, con la fecha de elaboración, línea de producción, hora e identificación de la planta.
- i) Embalaje. El producto se encajona o empaca, según lo especificado, para su distribución.

2.2. ENVASES: HISTORIA Y CARACTERÍSTICAS

2.2.1. Envases de metal (Vidales, 1999)

Para el siglo XVIII, Francia y algunos otros países de Europa ya trabajaban el estañado pero no fue sino hasta el año de 1858 cuando, en Pittsburg, EEUU, se produjo la primera lámina estañada con la cual muchos alimentos fueron envasados para los soldados de la guerra civil.

El proceso de enlatado fue modificándose hasta crear latas muy vistosas gracias a las técnicas litográficas y de imprenta. Uno de los cambios más importantes en torno a los envases metálicos fue la introducción de las latas de acero y aluminio en el siglo XX para la sustitución del estaño.

Entre 1950 y 1959 aparece, en Estados Unidos, EEUU, la lata de Coca-Cola, de tres piezas y de hojalata. Diez años después aparece, en EEUU la lata de Pepsi-Cola, de

tres piezas, de hojalata y con sistema abre-fácil. La lata de Coca-Cola igualmente cambió.

Entre 1980 y 1989 surge, en Francia, la lata hecha a base de acero destinada para el refresco marca Orangina, con envase de 2 piezas. De igual forma, en Australia, EEUU y Japón, se da a conocer la lata de aluminio para envasar cerveza. Fue en esos mismos años cuando, en México, se introduce la lata de aluminio para contener cerveza Tecate. En 1990, EEUU lanza a la venta el té helado marca Arizona en envase de aluminio de 2 piezas y Japón saca a la venta agua envasada en lata de aluminio. En el año de 1994, en EEUU, la compañía Coca-Cola cambia la lata de hojalata por la de aluminio de dos piezas que hoy se conoce.

2.2.1.1. Latas de aluminio

Las aplicaciones del aluminio en el mercado son múltiples: Botes de bebida, aerosoles, tapones corona para botellas, conservas, embutidos, etc. (Cervera, 2003).

El aluminio, que representa más del 8% de la masa de la corteza terrestre, proviene de un mineral llamado bauxita y el proceso de conversión de dicho mineral a los lingotes de aluminio metálico es demasiado costoso y contaminante y es por ello que en México el 95% de las latas son recicladas (Ávila, 2008).

Las latas que normalmente se emplean para los refrescos están hechas de 2 piezas (cuerpo y tapa superior). El proceso de fabricación es importante e interesante pero para efectos de esta tesis solamente se plantea uno de los procesos más importantes que asegurarán la inocuidad del envase: La aplicación de lacas o esmaltes al interior del envase (Rees y Bettison, 1994).

2.2.1.1.1. Recubrimiento de latas

Muchas veces las latas destinadas a contener alimentos tienen un recubrimiento protector interno conocido como laca o esmalte sanitario. Estos esmaltes son usados para asegurar la compatibilidad entre el producto y el recipiente ya que evitan que el metal se deteriore por efecto del alimento y, aún más importante, evitar la contaminación del producto alimenticio por iones metálicos procedentes del envase.

La información sobre las lacas que se presenta a continuación fue extraída de la investigación de Rees y Bettison (1994). Las lacas pueden ser de dos tipos: oleorresinas y sintéticas. Los productos oleorresinosos siguen siendo usados por el bajo costo que implica su utilización; están hechos con productos naturales (gomas, resinas, aceite de *tung* o aceite de linaza).

Las lacas sintéticas son las que poco a poco han ido sustituyendo a las naturales. Existe una gran diversidad de éstas. Tal es el caso de las lacas epóxicas y sus derivados y de las lacas vinílicas. Las lacas de tipo epóxido se obtienen al hacer reaccionar bisfenol A con epiclorohidrina. Se forma lo que es la base para hacerla reaccionar con otras resinas sintéticas, tales como las fenólicas, las de ésteres, las de poliamidas y las aminadas.

Las lacas se clasifican de la siguiente manera:

- a) Epoxi-fenólicas. Son resinas, de color dorado, tienen como característica una gran flexibilidad y adherencia con resistencia química (Rees y Bettison, 1994).
- b) Epoxi-amino. Son resinas que se obtienen de mezclar la base epóxica con otra resina amino (formaldehído de urea o formaldehído de melamina) obteniéndose un producto incoloro y con alta resistencia térmica, muy usado para la protección interna de latas destinadas a bebidas.
- c) Epoxi-éster. Éstas son producidas por medio de esterificación con ácidos grasos y son empleadas principalmente como barniz externo.

d) Lacas vinílicas. Son soluciones de resina co-polímero: cloruro de vinilo y acetato de vinilo y, en algunos casos, se añade anhídrido maleico. Estas resinas vinílicas pueden mezclarse con resinas epoxi, fenólicas y alquilizadas.

En el proceso de fabricación de latas para cerveza y bebidas no alcohólicas es común que se emplee este tipo de esmalte como recubrimiento interno de éstas ya que posee gran adherencia, flexibilidad y nulo sabor.

2.2.1.1.2. Ventajas del aluminio

El aluminio presenta varias propiedades importantes por las cuales ahora es tan usado en el sector alimentario: gran ligereza y ductilidad, fácil manipulación, rapidez de enfriamiento, resistencia a la rotura, interacción prácticamente nula con los alimentos, reciclabilidad y otras (Ávila, 2008).

2.2.1.1.3. Desventajas del aluminio

El aluminio en sí se considera un material tóxico para el organismo (Becaria *et al.*, 2006, Osinska *et al.*, 2004), además de estar asociado con el mal de Alzheimer (Gupta *et al.*, 2005). Como ya se mencionó, un estudio realizado en España relaciona la cantidad de aluminio en los refrescos en función del envase siendo mayor ésta en aquellos de aluminio (López *et al.*, 2002).

2.2.2. Envases de plástico (Vidales, 1999).

La palabra plástico viene del griego *plastikos* que significa susceptible de ser moldeado. Principalmente existen 2 tipos de plásticos: los naturales (betún, gomalaca, ámbar y otros) y los sintéticos (derivados de petróleo y del gas natural producidos por la petroquímica). El primer polietileno fue obtenido en 1898 por Von Pechmann, a partir de

diazometano. No fue sino hasta mediados del siglo XX que los plásticos se introducen como material de empaque

Entre los años de 1980 y 1989 el PET empezó a emplearse para embotellar refrescos como la bebida gaseosa Mundet en México, o la Coca-Cola en un envase con la forma de la lata en Japón. Fue hasta 1993 cuando en México se introdujo el PET para envasar agua.

2.2.2.1. Botellas de PET (Tampo, 1999)

El plástico hecho a base de tereftalato de polietileno es conocido como PET o PETE y pertenece a la categoría 1 de la clasificación internacional de plásticos. Se emplea como material de envase de aguas y refrescos. Es un poliéster de masa molecular comprendida entre 24000 y 40000, según la marca. Se obtiene por la condensación del bis-beta-hidroxietilitereftalato, el que a su vez se obtiene por esterificación del etilenglicol y el ácido tereftálico.

Durante el proceso de moldeado, en el que el polímero es sometido a altas temperaturas, es común que se libere acetaldehído por las trazas de agua existentes entre las redes del polímero. Para evitar la presencia del monómero se recurre a un proceso primario en el cual se promueve la deshidratación térmica antes de la fusión del polímero.

Dicho proceso consta de 2 etapas independientes: Inyección a 270°C en un molde para obtener una preforma de dimensiones reducidas y estirado en caliente de la preforma, a temperatura inferior a 100°C, seguido de insuflación de aire comprimido hasta la obtención de la forma definitiva deseada.

2.2.2.1.1. Ventajas del PET

Este polímero tiene varias ventajas frente a otros. Las botellas fabricadas con PET tienen alta resistencia mecánica y gran impermeabilidad a los gases, además que el aspecto cristalino que presentan hace al producto más atractivo. Es un producto **inocuo**. Presenta mayor resistencia al calor que la mayoría de los plásticos, por lo que es ideal para procesos que requieran esterilización por vapor, microondas y otros tratamientos térmicos moderados (Coles y col., 2004).

2.2.2.1.2. Desventajas del PET

A pesar de las múltiples ventajas que representa el uso de este polímero, como material de envase, aún se tiene el gran inconveniente de la presencia de acetaldehído que, si bien no es dañino a la salud, modifica notablemente las propiedades organolépticas del producto contenido haciéndolo menos agradable al consumidor (Coles y col., 2004).

2.2.3. Envases de vidrio (Vidales, 1999).

Para el año de 1830 Inglaterra ya era el líder mundial en la producción de envases de vidrio. En México, la vidriería se introdujo de manera artesanal en el siglo XVI, en la ciudad de Puebla. La verdadera industrialización del vidrio en México ocurrió hasta principios del siglo XX.

En 1904, Michael Owens, en Toledo, Ohio, EEUU, inventó una máquina semiautomática que propició que poco tiempo después el proceso se automatizara completamente. El vidrio, en sus inicios y en relación con la industria alimentaria, sirvió para almacenar licores, vino, agua, encurtidos y cerveza. En el año de 1899, en Indiana, EEUU, se empezaron a producir envases de vidrio con la marca de Coca-Cola en relieve.

En el periodo de 1920 a 1929 salió a la venta la Coca-Cola envasada en vidrio verde y ámbar, con etiqueta de papel. En 1990, en México, se comercializó el refresco Jarritos con etiqueta impresa.

2.2.3.1. Botellas de vidrio

El vidrio es “un producto que se obtiene del enfriamiento de ciertos materiales fundidos que no llegan a cristalizarse, sino que permanecen en un estado amorfo” (Parker, 1992). En México la venta de refrescos en envases de vidrio está por debajo de la venta en envases de PET (ANPRAC, 2007).

El vidrio presenta una composición variable dependiendo del uso que se le quiera dar; el vidrio incoloro, para refrescos, por ejemplo, está compuesto por 72% de SiO_2 , 12% de CaO , 12% de Na_2O , trazas de Al_2O_3 , MgO y K_2O que no son añadidas a conciencia pero que provienen de la materia prima. El vidrio verde pálido surge del empleo de materiales con un grado de pureza menor que el que se emplea para producir vidrio incoloro, la coloración verde la imparten las sales de hierro (Fe_2O_3). El vidrio verde oscuro se logra con la adición de Cr_2O_3 y de Fe_2O_3 . El vidrio ámbar contiene un compuesto de hierro altamente reducido y se le añade carbono. El vidrio azul se consigue añadiendo cobalto a un vidrio con bajo contenido de hierro (Coles y col., 2004).

2.2.3.1.1. Ventajas del vidrio

El vidrio posee muchas ventajas y entre éstas está el hecho de que el consumidor aprecia como de mejor calidad el producto envasado en vidrio que el que está en PET u otro material, hablando de vinos y licores, impermeable al aire, estable al calor, posibilidad de procesar alimentos en microondas, impenetrable por objetos punzocortantes, protección contra rayos UV (vidrio verde y ámbar), inerte con los alimentos, de fácil lavado, reciclable, entre otros (Coles y col., 2004).

2.2.3.1.2. Desventajas del vidrio

Las desventajas más notorias del empleo de este material son que es pesado, en comparación con el PET y la lata de aluminio y, aunque tiene una gran capacidad para soportar “peso”, es frágil y se rompe (Coles y col., 2004).

2.3. CONSUMO DE REFRESCO

2.3.1. Datos generales

Como ya se mencionó, para el año 2004, México era la segunda economía latinoamericana y también el segundo consumidor de bebidas gaseosas no alcohólicas (conocidas como refrescos) del mundo (Iglesias, 2005). El primer lugar lo ocupaba Estados Unidos como mayor consumidor mundial de refrescos *per cápita* (Iglesias, 2005). Desde el año 2003, el consumo *per cápita* anual en México ha ido en aumento; para el 2003 fue de 147.3 litros, en 2004 148.1 L, en 2005 155.8 L, para el 2006 157.9 L y para el año 2007 160.1 L (ANPRAC, 2007).

De acuerdo con cifras más recientes publicadas por el Instituto Nacional de Salud Pública, el consumo *per cápita* de refrescos en México ha aumentado hasta llegar a los 152 litros anuales, alcanzando así el primer lugar mundial en consumo *per cápita* de dichas bebidas carbonatadas (Barquera *et al.*, 2008), no obstante, México sigue siendo un gran consumidor de agua para beber, ocupando el segundo lugar a nivel mundial en consumo *per cápita* siendo éste de 169 litros anuales (ANPDAPAC, 2007)

2.3.2. Datos puntuales

En cuanto a la demanda de refrescos en función de su envase se tiene que del 100% de los litros producidos, 4.9% son refrescos enlatados en aluminio, 11% vidrio retornable, 1.2% vidrio no retornable, 16.4% PET retornable, 64.6% PET no retornable (ANPRAC, 2007).

2.4. ¿QUÉ ES EL ALUMINIO?

El aluminio es un metal que se encuentra en el grupo IIIA de la tabla periódica. Su número atómico es 13 y su masa atómica es de 26.9815 g/mol. La configuración electrónica es de $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^1$ y el máximo grado de oxidación que presenta es de +3, que corresponde a su forma más estable. A altas temperaturas puede presentar grado de oxidación +2 y +1 pero, en situaciones excepcionales, porque estos estados son muy inestables.

El elemento aluminio es el tercero más abundante en la corteza terrestre y se encuentra como aluminosilicatos formando parte de las arcillas, micas y feldespatos representando el 8.8% de la litosfera (Russell y Larena, 1994, Tikhonov, 1973).

Los aluminosilicatos son un componente importante de suelos y se encuentran en altas concentraciones en polvo, producto de desechos mineros, de agricultura y de la combustión del carbón. En áreas urbanas, los niveles de aluminio aerotransportados se encuentran entre 0.004 mg/kg y 0.012 mg/kg (COT, 2005).

El aluminio tiene características anfóteras. Esto significa que se disuelve tanto en ácidos (formando sales de aluminio) como en bases fuertes (formando aluminatos con el anión $[Al(OH)_4]^-$) liberando hidrógeno.

2.4.1. El aluminio y su relación con los refrescos

López *et al.* (2002) reportaron que la cantidad de aluminio en bebidas varía dependiendo del contenedor. Los realizadores partieron del hecho de que está demostrado que cuando el aluminio está en contacto con soluciones acuosas ácidas es lixiviado quedando en solución. Otro de los motivos que los impulsaron a realizarlo fue el hecho de que parece existir una relación directa entre el aumento de problemas tales como la osteomalacia y desórdenes neurodegenerativos y la ingesta de aluminio.

Para llevar a cabo el experimento ellos recolectaron 176 muestras de agua potable (incluyendo agua del grifo, agua mineral y agua mineral carbonatada), jugos de fruta y refrescos de distintos sabores. Después de la recolección las muestras fueron tratadas con ácido nítrico y posteriormente analizadas por el método de absorción atómica con horno de grafito. Los resultados obtenidos mostraron que el aluminio estuvo presente en todas las muestras analizadas. El agua del grifo presentó concentraciones de Al desde 4 ppb hasta 134 ppb. El agua mineral presentó un rango de concentraciones desde 16 ppb hasta 153 ppb para los contenedores de vidrio, y un rango desde 74 ppb hasta 165 ppb para los contenedores de plástico. En cuanto a refrescos, se encontró que, para todos los sabores, la cantidad de aluminio presente fue mayor en los refrescos enlatados, comparados con los de vidrio y plástico, dando una media de 536, 286, 211 ppb respectivamente (López *et al.*, 2002). Con los datos anteriores ellos concluyeron que los refrescos tienen un nivel más alto de aluminio, en comparación con los jugos de frutas y el agua para beber y, además, que los refrescos enlatados tuvieron la mayor concentración.

2.4.2. El aluminio y los alimentos

De acuerdo con datos de la Organización Mundial de la Salud, *World Health Organization, WHO* (JECFA, 1986), el consumo medio diario de aluminio era de 30 mg/día, procedente de agua, alimentos y medicamentos. Para hacer la comparación con los datos del párrafo anterior deberían cuantificarse los refrescos ingeridos por día.

Tiempo después, en 2000, un estudio basado en el consumo de alimentos de la población del Reino Unido, reportada en 1997 por la Agencia de Normas Alimentarias (The Food Standards Agency), estableció que el consumo promedio diario de aluminio procedente de alimentos es de 3.4 mg (Ysart *et al.*, 2000).

Karbouj (2007) evaluó el efecto que los agentes quelantes presentan sobre la lixiviación del aluminio. Se emplearon tres agentes quelantes comúnmente encontrados en los alimentos y bebidas: Ácido láctico, ácido oxálico y ácido cítrico. Se probaron 4 formas químicas de cada uno de los quelantes: ácida, sal de sodio, de potasio y de litio. Los resultados obtenidos confirmaron que de las sales del ácido láctico, la de potasio fue la que más lixivió el aluminio; a una concentración mínima de 46.6 mM/L logrando lixiviar al menos 78 ppm de aluminio, mientras que de las sales del ácido oxálico, la que mejor lo hizo fue la de litio, seguida por la de sodio; a una concentración mínima de 2.68 mM/L logrando lixiviar 81 ppm de aluminio. De las sales del ácido cítrico, la que más lixivió el aluminio fue la de sodio.

Los ácidos presentes en los alimentos además de servir como quelantes de aluminio sirven para acidificar los alimentos. Los procesos de lixiviación pueden ser explicados por la siguiente reacción química que ocurre en la superficie de los utensilios de aluminio al contacto con el agua:



El aluminio en solución reacciona con los ácidos orgánicos ya mencionados y otros ligantes tales como fluoruros e hidroxilos. Estas reacciones ocurren simultáneamente y se promueven las unas a las otras (Veríssimo *et al.*, 2006).

El aluminio puede estar presente en varios productos alimenticios ya sea por el proceso de elaboración, por la purificación del agua potable o durante el tiempo de almacenamiento, como en el caso de los refrescos o por el empleo de aditivos alimentarios. Algunos de los aditivos permitidos por la FDA son el sulfato de aluminio y amoniaco, con un nivel de uso permitido de 10 000 mg/kg para productos de panificación, el silicato de aluminio y sodio y el silicato de aluminio y calcio con un nivel de 20 000 mg/kg para su uso en sal (JECFA, 2007).

2.4.3. El efecto del aluminio en el organismo

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (WHO, 1997), la ingesta oral de aditivos con aluminio es la principal forma de exposición a éste. Sales de aluminio son añadidas a una amplia gama de alimentos procesados y bebidas. También se emplea como clarificante del agua potable, bebidas libres de sales y como colorantes, entre otros usos.

Como ya se ha mencionado antes, el consumo de aluminio está asociado al Alzheimer. Sin embargo, no se conoce el mecanismo exacto a través del cual actúa (Becaria *et al.*, 2002; Gupta *et al.*, 2005).

Existen varias teorías que pretenden explicar cómo es que el Alzheimer se produce. Una de éstas sugiere que el aluminio facilita la peroxidación de la membrana lipídica al alterar la reología de ésta, facilitando la acción negativa de los radicales libres. Otra teoría supone que el aluminio al interactuar con diversos neurotransmisores modifica la actividad de éstos. El ácido gama-amino butírico (GABA) con éste potencia su acción, la acción del glutamato, en combinación con aluminio, puede inhibirse, parcial o totalmente y hasta puede producirse muerte neuronal. Otra hipótesis involucra a la proteína *tau* y a la β -amiloidina. En pacientes con Alzheimer se ha observado que la proteína *tau* se encuentra en exceso y además acoplada entre sí de forma helicoidal, lo que es el resultado de la muerte celular inducida, principalmente por aluminio. De igual forma, dichos pacientes presentan lo que se llama placas seniles cuyo principal componente es la β -amiloidina, considerada como neurotóxico. Se cree que la interacción de Al-ATP es la que favorece la formación de dichas placas al interferir con los receptores de ATP en el cerebro (Exley, 1999).

Walton (2007) mostró el efecto que tiene el aluminio sobre ratas, expuestas a dosis de 0.01 - 1.4 mg Al/kg masa corporal/día. Estas dosis son las mismas a las cuales los seres humanos están expuestos permanentemente ya que el aluminio ingerido puede provenir de frutas, vegetales, carne, aditivos y otros. Para llevar a cabo el estudio emplearon 6

ratas macho destetadas (cepa Wistar), las cuales fueron alimentadas por 4 meses con comida sin aluminio evidente con la finalidad de que alcanzaran su máximo desarrollo. A los 5 meses de vida se les modificó su alimentación, siendo entonces alimentadas con una dieta de mantenimiento que contenía 9 ppm de Al. Cuando las ratas tuvieron 16 meses de edad les fue suministrada una cantidad adicional de aluminio (20 ppm de Al). El consumo promedio de aluminio por las ratas, de los 5 a 16 meses de edad, fue de 0.36mg/kg/día. De los 16 meses en adelante ingirieron 1.52 mg/kg/día de aluminio, cantidad equivalente al consumo humano promedio de aluminio.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: En la mayoría de las ratas el aluminio no modificó su comportamiento ante la prueba de memoria; no obstante, fue realizada con mayor lentitud. Dos de las seis ratas empleadas se vieron notablemente afectadas, aparentemente por el aluminio, ya que con el tiempo les iba costando más trabajo realizar las pruebas; parecían algo extraviadas. Además, se observó la acumulación del aluminio en el cerebro con microscopía electrónica (Walton, 2007).

Este estudio, a pesar de no contar con un número representativo de ratas, permite entender que así como hay ratas más sensibles al aluminio que otras, también los humanos, aunque iguales, pueden presentar diferencias. Si toda la población ingiriera la misma concentración de aluminio, diariamente, sólo una pequeña parte se vería afectada, ya que parece ser que la absorción del aluminio está relacionada con factores genéticos. Se ha comprobado que las personas con síndrome de Down absorben 6 veces más aluminio que los individuos control (Moore *et al.*, 1997).

Golub y Keen (1999) experimentaron con ratas recién entradas en la pubertad, periodo de desarrollo celular muy importante y hasta que entran a la adolescencia. Dicho artículo reporta la relación que existe entre el consumo de aluminio, la baja masa del cerebro y la concentración de aluminio en éste, relacionándose todos esos factores de forma positiva. Determinaron que a mayor consumo de aluminio, se tenía menor masa de cerebro y mayor concentración del metal. Además de verse afectado el cerebro, ellos notaron que otros minerales se ven comprometidos. Tal es el caso del manganeso, el cual disminuye su concentración cerebral de forma directa a la concentración de

aluminio. De igual forma observaron una marcada interferencia por parte del ácido cítrico con la absorción del aluminio, siendo mayor cuando el ácido estuvo presente.

La ingesta de aluminio trae consigo la modificación en la absorción de varios minerales esenciales, tales como el calcio, magnesio, hierro, cobre, zinc y fósforo, ya sea incrementando o disminuyendo la absorción de éstos (WHO, 1997).

Se han realizado estudios *in vivo* e *in vitro* para determinar la forma en que interactúa el aluminio con los minerales. La relación existente entre el calcio y el aluminio es una de las más estudiadas. Estudios *in vitro*, empleando duodeno de pollo, lograron mostrar la interacción negativa que presenta el aluminio con el calcio. Se probaron varias soluciones de aluminio (de 10 a 150 ppb) y entre mayor era la concentración de éste, se observó una menor absorción intestinal de calcio. Estudios *in vivo*, empleando ratas macho adultas, demostraron que, al suministrar aluminio por vía oral durante 7 días en una razón de 50 mg Al/kg de masa corporal, la absorción intestinal de calcio disminuye (Orihuela *et al.*, 2005).

Niños tratados contra la “azotemia” con más de 100 mg de aluminio/kg de masa corporal/día por varios meses desde el primer día de vida han presentado osteomalacia, un problema óseo que se caracteriza por el ablandamiento y dolor de los huesos, además de una mayor incidencia de fracturas, al igual que adultos que ingirieron varios gramos de aluminio de antiácidos (Woodson, 1998).

Los cambios en la absorción del calcio no solamente pueden desencadenar algún tipo de problema óseo; al parecer también pueden influir a nivel cerebral. Un estudio realizado con monos mostró que el aluminio es un metal que interviene directamente con la absorción de calcio. Para dicho estudio se emplearon 3 monos machos y se les suministró lactato de aluminio por 52 semanas a una concentración de 13 mg Al/kg de masa corporal. Pudo apreciarse que la actividad de la ATPasa de calcio disminuyó notablemente, en relación con los organismos control. Aunado a ello, los niveles de peroxidación lipídica se incrementaron; también hubo un descenso considerable de la cantidad de lípidos, glucolípidos y fosfolípidos en el cerebro de los monos (Sarin *et al.*,

1997).

Varios estudios no tan recientes relacionan al aluminio como un factor negativo importante en el desarrollo fetal. Algunos autores han trabajado con ratas embarazadas para evaluar la toxicidad del aluminio sobre el producto. Se han reportado varios efectos y entre ellos está la baja masa corporal al nacer y el incremento en masa de algunos órganos como corazón, pulmones, bazo, hígado, riñones, cerebro (Domingo *et al.*, 1987). No obstante, no todos los autores están de acuerdo con dichos efectos y niegan relación alguna con el aluminio y la reproducción (Agarwal *et al.*, 1996, Donald *et al.*, 1989).

En un experimento donde se emplearon ratas macho de la cepa Wistar de 2 meses de edad, se les suministró gluconato de aluminio por alrededor de 2 meses por la vía intraperitoneal. Pasado dicho tiempo se les evaluó la habilidad de aprendizaje y la rapidez con la que respondían a una prueba. Las ratas, a pesar de haber acumulado parte del aluminio en la corteza temporal del cerebro, no mostraron decremento en su habilidad de aprendizaje pero sí en la rapidez con la que efectuaron las pruebas (Struys *et al.*, 1997).

En ratones, se estudió la relación que tiene el aluminio con la producción de óxido nítrico en suero y testículos. Los resultados mostraron que el aluminio se puede acumular en suero y en testículos. De igual forma se apreció que, a mayor cantidad de aluminio administrada, vía intraperitoneal, mayor fue la producción de óxido nítrico pero menor la de cAMP. Al disminuir la concentración de cAMP se observa la disminución en el transporte de colesterol, lo cual conlleva a una menor producción de testosterona (Guo *et al.*, 2005).

2.4.4. Absorción del aluminio en el organismo

Existen varios factores que afectan la absorción intestinal de los minerales, entre los cuales se encuentra el grado de solubilidad de éstos, el transporte a través de la capa mucosa y otros. La matriz de cada uno de los alimentos ingeridos es un factor externo que puede alterar la interacción de la mucosa con el metal de forma que se asimile en mayor o menor grado (Powell *et al.*, 1994).

Cuando los metales, normalmente ingeridos con la dieta, llegan al intestino delgado comienza un proceso de hidrólisis formándose polímeros de hidroxiiiones. En el intestino delgado no existen especies quelantes como tales pero existen otras moléculas que actúan de forma similar interactuando en la absorción de los metales. Tales compuestos son la albúmina, citrato, lactato, fosfato, piruvato y la misma mucosa del intestino. Dentro de los factores exógenos se tiene al ácido cítrico, el cual interviene directamente sobre la absorción del aluminio, aumentándola y, por el otro lado, disminuyendo la del calcio. Se ha encontrado que los polifenoles son potentes quelantes de metales trivalentes (Al^{3+} , Fe^{3+}) y disminuyen la absorción de éstos (Powell *et al.*, 1994).

Zhou *et al.* (2008) recientemente publicaron en la revista “*Journal of Inorganic Biochemistry*” el efecto que tienen algunos compuestos orgánicos como el citrato, malonato y los fluoruros sobre la absorción del aluminio. En dicha investigación se plantearon dos hipótesis: (a) el citrato, el malonato y el fluoruro no modifican la biodisponibilidad del aluminio, a una concentración de aluminio común en el agua potable de humanos ($65 \mu\text{M}$) y (b) el complejo formado entre el citrato y malonato con el aluminio no se disocia en el tracto gastrointestinal y se absorbe de manera intacta. Como organismo modelo para el estudio se utilizaron ratas a las cuales se les suministraron de forma oral las siguientes mezclas: (1) aluminio en disolución sin quelante, (2) aluminio en disolución con citrato, (3) aluminio en disolución con malonato y (4) aluminio en disolución con fluoruro.

Los resultados obtenidos sugieren que el aluminio se disoció de su quelante al pH del estómago (pH~2); sin embargo, cuando llega al intestino delgado (pH~7) forma nuevamente el complejo pero no de forma cuantitativa. Por otra parte, los investigadores demostraron que tanto el citrato como el malonato y los fluoruros no interfieren de forma significativa sobre la biodisponibilidad del aluminio en solución cuando la relación de Al:quelante es 1:1; sin embargo, cuando la relación Al:citrato fue 1:40.000 la absorción aumentó en un 5% (Zhou *et al.*, 2008).

Yokel *et al.* (2001) determinaron la absorción de aluminio en ratas macho adultas, administrándoseles una solución acuosa de éste. Ellos realizaron varios experimentos para evaluar la absorción de dicho metal en función de la calidad de agua (“dura” o “suave”) y el momento de ingesta (en ayuno o con alimentos). El aluminio disuelto en agua “suave” y administrado sin alimentos presentó una biodisponibilidad de alrededor del 0.23%. En agua “suave” y con alimentos fue de 0.21%, en agua “dura” y sin alimentos fue de 0.24% y en agua “dura” y con alimentos fue de 0.41%, dando como promedio una absorción gastrointestinal alrededor de 0.3%.

El aluminio no siempre presenta la misma biodisponibilidad; los fosfatos de aluminio, ya sea como ácido o sal de sodio son aditivos permitidos por la FDA para su uso como agente leudante y emulsificante, respectivamente y se ha observado que la biodisponibilidad del aluminio para estos productos, en ratas, es de ~0.02% para el fosfato de aluminio ácido administrado dentro de un producto de panadería y de ~0.05% para el fosfato de aluminio básico probado en un queso (Yokel *et al.*, 2005).

2.5. NORMALIZACIÓN DE REFRESCOS

Lamentablemente no existe una Norma Oficial Mexicana que regule a los refrescos pero sí existe una Norma Mexicana para bebidas no alcohólicas y refrescos en la cual se establece su clasificación y definición pero no cuenta con un apartado de límites permisibles en cuanto a metales pesados. La Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-

1994 regula el contenido de metales pesados, entre otras cosas, permisibles en el agua potable para consumo humano. En ésta se establece que el límite máximo permisible de aluminio en el agua es 0.2 ppm (200 ppb).

2.6. NORMALIZACIÓN DEL ALUMINIO COMO CONTAMINANTE EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS

A pesar del gran número de artículos que relacionan al aluminio como un metal tóxico para los seres vivos y que es uno de los factores importantes para el desarrollo del Alzheimer y otros desórdenes (Becaria *et al.*, 2002; Gupta *et al.*, 2005, Vatanparast *et al.*, 2005; entre otros), en México no está regulada la cantidad máxima permisible de dicho metal en alimentos y mucho menos un límite tolerable de ingesta. Afortunadamente, la Junta del Comité Experto de la FAO/OMS en Aditivos Alimentarios (JECFA), después de una ardua revisión bibliográfica, en la sexagésima séptima reunión, estableció un límite provisional de ingesta semanal tolerable (PTWI) para el aluminio y sus sales de 1 mg Al/kg de masa corporal (JECFA, 2007).

2.7. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

2.7.1. Análisis de Varianza (ANDEVA / ANOVA: analysis of variance)

El análisis de varianza o ANDEVA es una técnica estadística usada para contrastar la hipótesis en la que se busca probar la igualdad de tres o más medias poblacionales ($H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k$), por medio del análisis de las varianzas muestrales. El ANDEVA se utiliza en aquellas situaciones en las que hay tres grupos o más, que tienen valores medios distintos en relación a un parámetro o característica bajo estudio, al aplicar sobre cada grupo un procedimiento o tratamiento diferente (Rivas, 2010)

Esta técnica de análisis puede desarrollarse para explicar, en diversos niveles, el comportamiento de los datos propios de un experimento. Estos niveles son:

- a) Una vía, donde se explica la diferencia entre dos variables del estudio; por similitud entre muestras. Esta prueba es casi una extensión de la prueba *t*. En la prueba *t* la hipótesis nula que se quiere probar es que dos poblaciones tienen las mismas medias. En la ANDEVA de una vía la hipótesis nula es que todas las poblaciones tienen las mismas medias (Townend, 2002).
- b) Dos vías, donde se explica la diferencia entre dos variables del estudio; por ejemplo, similitud entre muestras y similitud entre los fallos de los jueces. Es matemáticamente similar a aquella de una vía.
- c) Tres vías, donde se explica la diferencia entre tres variables del estudio, por ejemplo similitud entre muestras, similitud entre jueces y similitud entre repeticiones de los jueces.

Estos niveles pueden extenderse aún más e incluso hacer el análisis más completo introduciendo otros parámetros (Pedrero y Pangborn, 1996).

Existe cierta terminología empleada en el ANDEVA importante de conocer, a continuación se presenta la definición y la aplicación para el experimento realizado en este trabajo de tesis (Townend, 2002):

Variable: Se refiere a lo que estamos midiendo, en este caso la concentración de aluminio en las bebidas.

Factor: La cosa cuyos efectos se están investigando: Marca, presentación, lote y tiempo de almacenamiento

Niveles de un factor: los tratamientos experimentales empleados. Para Marca: Coca-Cola, Pepsi, Mirinda y Fanta, para Presentación: lata y PET, para Lotes: 1, 2 y 3, para Teimpo de almacenamiento: 0 meses y 5 meses.

Para poder realizar un ANDEVA con los datos generados en un experimento es necesario satisfacer lo siguiente:

1. Cada grupo de datos se ajusta a la curva de distribución normal
2. Existe homogeneidad de varianzas
3. Las muestras fueron tomadas al azar,

Se considera que la hipótesis nula H_0 se rechaza cuando el valor de Probabilidad normal, P , es inferior al nivel de confianza establecido, es decir que al 95% de confianza ($\alpha = 0.05$) un valor de $P \leq 0.05$ conduce al rechazo de H_0 . Una vez sabiendo que H_0 se rechaza y las medias poblacionales son diferentes entre sí se realizan otras pruebas estadísticas para saber dónde está esa diferencia. Una de esas pruebas es la llamada Mínima Diferencia Significativa

2.7.2. Mínima diferencia significativa (MDS / LSD: least significant difference)(Pedrero y Pangborn, 1996)

Es la diferencia entre dos medias, basadas en la prueba t de Student, empleando el valor de la varianza del error. El valor de la LSD se encuentra referido a la distribución de t por la siguiente relación:

$$DMS = t \sqrt{\frac{2 CMe}{n}}$$

Diferencia Mínima Significativa

CMe = Cuadrado medio del error, valor que se obtiene de la tabla de ANDEVA

n = es el número de observaciones implícito en cada media de los tratamientos

t = Valor de tablas de t de Student al nivel de significancia requerido, con los grados de libertad del error

Si el valor de la diferencia entre dos medias es mayor que el valor calculado de DMS, entonces se considera que existe diferencia significativa entre ese par de muestras al nivel de significancia utilizado.

CAPÍTULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Para poder cumplir con el objetivo principal se tomaron muestras de refrescos enlatados y otras presentaciones, ambas de la misma marca para poder compararlas. La metodología se dividió en varias etapas (ver Figura 3.1).

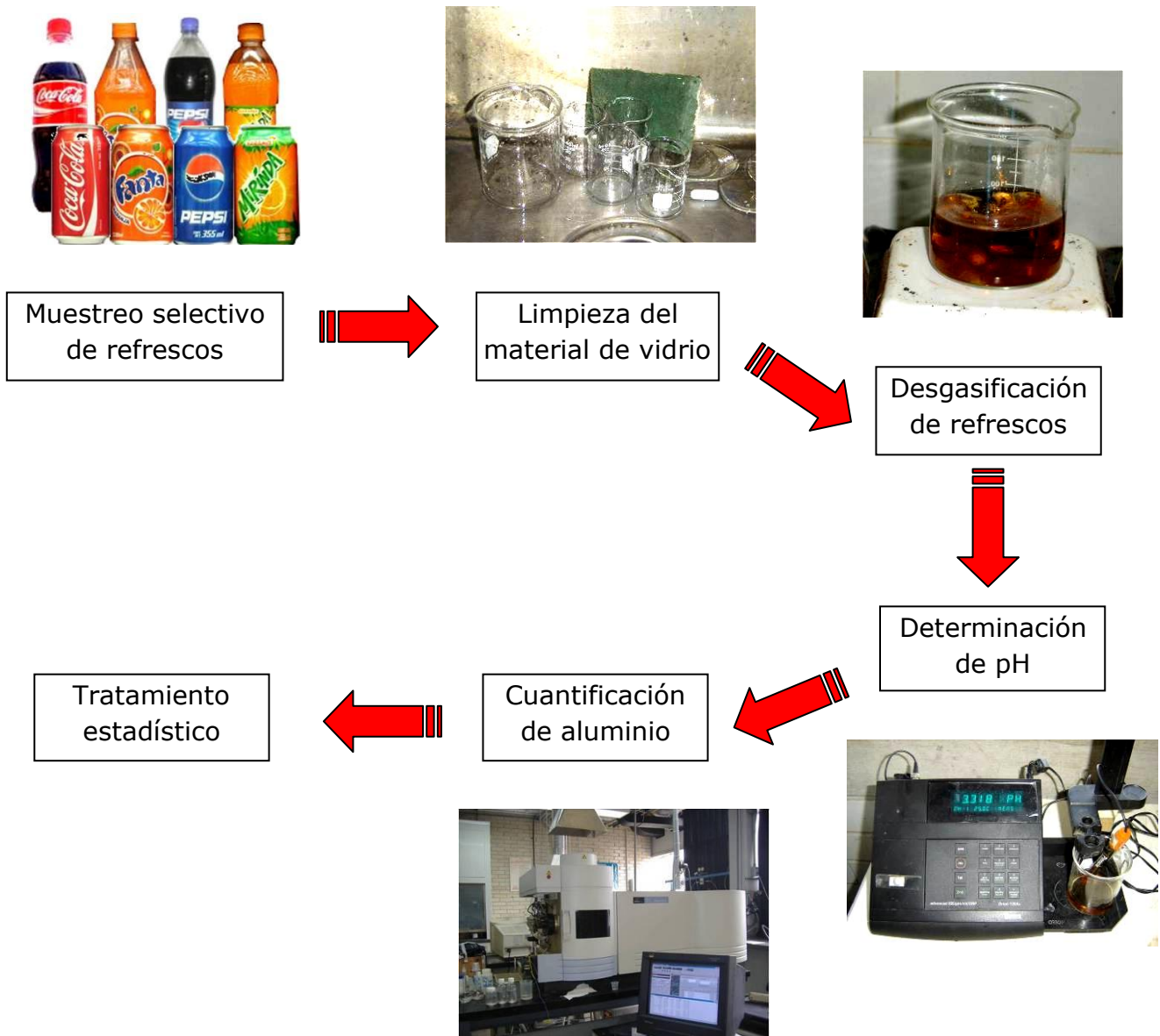


Figura 3.1. Diagrama de la metodología utilizada

3.1. MUESTREO SELECTIVO DE REFRESCOS

Para esta investigación se realizó un muestreo selectivo de 4 marcas de refrescos, dos pertenecientes a *Coca-Cola Company* (Coca-Cola y Fanta) y dos a *Pepsico* (Pepsi y Mirinda). En la Tabla 3.1 se resume la distribución del muestreo. Para cada marca se ubicaron 3 lotes de la presentación en lata y otros tantos en la presentación de botella de plástico, PET. De cada lote se seleccionaron 6 refrescos, 3 para ser analizados al tiempo de compra, denominado tiempo inicial o cero ($t=0$) y 3 para analizar después de ser almacenados durante 5 meses, denominado tiempo igual 5 ($t=5$), fecha en que todavía no se vencía la caducidad de los que estaban almacenados en lata de aluminio. Los refrescos se almacenaron a temperatura ambiente (promedio de 23°C).

Tabla 3.1. Resumen del muestreo realizado

COMPAÑÍA	MARCA	PRESENTACIÓN	# DE LOTE	EJEMPLARES DE CADA LOTE		TOTAL	
				t=0	t= 5		
COCA-COLA	COCA-COLA	LATA	1	3	3	18	
			2				
			3				
		PET	1	3	3		18
			2				
			3				
	FANTA	LATA	1	3	3	18	
			2				
			3				
		PET	1	3	3		18
			2				
			3				
PEPSICO	PEPSI	LATA	1	3	3	18	
			2				
			3				
		PET	1	3	3		18
			2				
			3				
	MIRINDA	LATA	1	3	3	18	
			2				
			3				
		PET	1	3	3		18
			2				
			3				

3.1.1. Diseño de experimentos

Se utilizó un diseño experimental factorial con 4 factores. En la Figura 3.2 se representa esquemáticamente el diseño de experimentos.















Compañía	<p>COCA-COLA COMPANY</p> 				<p>GRUPO PEPSICO</p> 																
Factor1 Marca	<p>COCA-COLA</p> 		<p>FANTA</p> 		<p>PEPSI</p> 		<p>MIRINDA</p> 														
Factor 2 Envase	<p>PET</p> 	<p>LATA</p> 	<p>PET</p> 	<p>LATA</p> 	<p>PET</p> 	<p>LATA</p> 	<p>PET</p> 	<p>LATA</p> 													
Factor 3 Lote	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Factor 4	0 meses de almacenamiento en el laboratorio																				
	5 meses de almacenamiento en el laboratorio																				

Figura 3.2. Explicación esquemática del diseño experimental

El factor 1 fue: marca de refresco, con 4 niveles: Coca-Cola, Pepsi, Mirinda y Fanta. El factor 2 fue: tipo de presentación; con dos niveles: lata y PET. El factor 3 fue: lote con tres niveles, lote 1, 2, y 3 y el factor 4 fue: tiempo de almacenamiento, 0 y 5 meses. El tratamiento estadístico de las muestras se realizó con el programa Statgraphics 5.1 Plus (2005).

3.1.2. Composición de los refrescos

Los refrescos empleados para la realización de este estudio tuvieron distintos ingredientes dependiendo de la compañía que los elabora y del tipo de refresco de que se trate (de cola o de sabor naranja). A continuación se muestran los ingredientes reportados en la etiqueta de cada uno de las marcas analizadas y se hace hincapié en que para una misma marca los ingredientes son los mismos tratándose de aquellos refrescos envasados en PET o en lata de aluminio.

COCA-COLA: Agua carbonatada, azúcares y concentrado Coca-Cola

PEPSI: Agua carbonatada, azúcares, concentrado Pepsi-Cola y acidulante

FANTA: Agua carbonatada, azúcares, concentrado Fanta naranja, benzoato de sodio, amarillo ocaso y rojo allura

MIRINDA: Agua carbonatada, azúcares, ácido cítrico como acidulante, concentrado naranja, benzoato de sodio y sorbato de potasio como conservadores, ácido ascórbico y colorantes artificiales

3.2. LIMPIEZA DEL MATERIAL DE VIDRIO

Todo el material de vidrio empleado se lavó con detergente libre de fosfatos (marca HYCLEAN-PLUS, pH=7, Lote 160706, caducidad: 5/2010), enjuagado con abundante agua y sumergido en una solución de ácido nítrico al 10% en volumen partiendo del

ácido nítrico grado analítico (JT. Baker) con un 65.3% de pureza al ensayo y con calidad aceptable de trazas de impurezas metálicas. El material permaneció en contacto con el ácido al menos 24 horas para asegurar la lixiviación completa de las trazas del metal. Posteriormente, se enjuagó de 3 a 6 veces con agua desionizada.

3.3. DESGASIFICACIÓN DE REFRESCOS

Los refrescos se desgasificaron mediante agitación. Para cada refresco se utilizó la siguiente metodología: se vertieron en un vaso de precipitados de vidrio con capacidad para 250 mL aproximadamente 100 mL de bebida, se introdujo un agitador magnético y se colocó en una parrilla de agitación marca Barnstead/Tremolina, modelo 526C (la cual contiene 6 parrillas con control de temperatura y agitación independiente. Ver Figura 3.3, en la cual se agitó por un lapso de 10 minutos con lo que se aseguró la completa desgasificación.



Figura 3.3. Parrilla eléctrica empleada para desgasificar y digerir la muestra

3.4. DETERMINACIÓN DE PH

Se tomaron los valores de pH de los refrescos utilizando un potenciómetro marca Orión, modelo 720a (Figura 3.4), de acuerdo con el instructivo del fabricante.



Figura 3.4. Potenciómetro

3.5. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ALUMINIO

Las muestras previamente digeridas y en volúmenes específicos se analizaron en un espectrofotómetro de emisión atómica, en la modalidad de plasma, marca: Perkin Elmer, modelo: Optima 4300 DV (Figura 3.5), de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Antes del análisis se realizó una curva patrón de aluminio.

Se emplearon dos curvas patrón de aluminio durante el experimento; una al momento de analizar las muestras al tiempo $t=0$, para la construcción de ésta se prepararon 4 soluciones de aluminio: 64 ppb, 256 ppb, 512 ppb y 704 ppb, más el blanco compuesto por agua desionizada.



Figura 3.5. Espectrofotómetro de emisión atómica

La segunda curva de calibración se empleó para la cuantificación de aluminio en las muestras analizadas al tiempo $t=5$. Para la construcción de ésta se prepararon 5 disoluciones de aluminio: de 20 ppb, 100 ppb, 200 ppb, 400 ppb y 800 ppb, más el blanco compuesto por agua desionizada. Para la fabricación de los estándares arriba mencionados se empleó como base el Estándar marca **Perkin Elmer Pure con las siguientes características:**

- * 1,000 $\mu\text{g/mL}$ de K
- * 500 $\mu\text{g/mL}$ de Si
- * **100 $\mu\text{g/mL}$ de Al, B, Ba y Na**
- * 50 $\mu\text{g/mL}$ de Ag
- # de lote 36-40A5
- fecha de expiración: Mayo 30 de 2009.

3.5.1. Digestión de las muestras de refrescos

La digestión de los refrescos se realizó en una parrilla eléctrica marca Barnstead/Tremolina, modelo 526C que contiene 6 parrillas con controles de temperatura y agitación independientes. El termostato de cada parrilla se ajustó de modo que la temperatura promedio para digerir fuera de 80°C . Para digerir las muestras se colocaron 25 mL de refresco en un vaso de precipitado de 50 ó 100 mL, indistintamente, y se les añadieron 10 mL de HNO_3 al 69 – 70%. Una vez preparados los vasos de precipitados se cubrieron con un vidrio de reloj para evitar la pérdida excesiva de vapor y con éste el aluminio. Las muestras se trataron por triplicado. La digestión fue considerada completa cuando el líquido quedó claro y se alcanzó un volumen de 20 mL aproximadamente. Una vez que la digestión se completó, se aforaron todas las muestras a 25 mL con agua desionizada. Las muestras se almacenaron en contenedores plásticos marca Nalgene con capacidad de 60 mL a temperatura ambiente, a la espera de ser analizadas.

3.5.2. Curvas de calibración, límites de detección y límites de cuantificación

Para conocer si las curvas de trabajo fueron adecuadas o no para los propósitos de esta investigación, se determinó el límite de detección (LDD) y el límite de cuantificación (LDC) para cada una de ellas.

Para la determinación de dichos límites se tomaron en cuenta cada uno de los valores que conformaron las curvas de calibración y se calcularon tal como se describe en Miller y Miller, 2002:

$$\text{El límite de detección (LDD)} = Y_b + 3S_{y/x} \quad (\text{Ec. 3-1})$$

$$\text{El límite de cuantificación (LDC)} = Y_b + 10S_{y/x} \quad (\text{Ec. 3-2})$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(y - y_i)^2}{n - 1}} \quad (\text{Ec. 3-3})$$

Y_b = Ordenada al origen resultante de predecir el comportamiento de los datos mediante una ecuación del tipo $Y=mx + b$ donde Y =valores en el eje de las ordenadas, en este caso emisión, m =pendiente de la línea recta, x =valores en la abscisa, en este caso concentración en ppb, b =ordenada al origen

n = número de pares de datos (una respuesta de emisión para cada concentración) que conforman la curva de calibración

$S_{y/x}$ = Es la desviación estándar de los residuales de la recta de calibrado

3.5.3. Porcentaje de recobro

En las técnicas de espectroscopía atómica, la concentración de la muestra detectada por el equipo puede ser diferente de la real por diversos motivos, dos de los más comunes

son el proceso de digestión y las interferencias de matriz. En el primer caso, la digestión puede hacerse en un sistema cerrado (digestión por microondas) o en un sistema abierto (digestión en parrilla). En este último es donde hay más pérdida de analito (cabe recordar que fue el sistema elegido para digerir las muestras en este estudio). Cuando algún componente propio de la matriz de estudio entorpece de cierta forma la cuantificación de los átomos de interés se dice que éste causa interferencias de matriz.

Para conocer la magnitud de pérdidas de analito por el proceso de digestión y para conocer la magnitud de las interferencias de matriz en las muestras en estudio se prepararon disoluciones con y sin refresco. A continuación se explica de forma detallada la preparación de las muestras:

- **BLANCOS DE REACTIVOS CON REFRESCO Y ADICIONES:** Empleando HNO_3 (10 mL en todos los casos), **Refresco (25 mL en todos los casos)**, solución estándar de aluminio (variable) se prepararon las siguientes 9 muestras:
 - 3 muestras con solución de aluminio para obtener al momento de aforar una concentración de 20 ppb de aluminio,
 - 3 muestras con solución de aluminio para obtener al momento de aforar una concentración de 200 ppb de aluminio,
 - 3 muestras con solución de aluminio para obtener al momento de aforar una concentración de 600 ppb de aluminio,

- **BLANCOS DE REACTIVOS CON ADICIONES:** Empleando HNO_3 (10 mL en todos los casos) y solución estándar de aluminio (variable) se prepararon las siguientes 9 muestras:
 - 3 muestras con solución de aluminio para obtener al momento de aforar una concentración de 20 ppb de aluminio,
 - 3 muestras con solución de aluminio para obtener al momento de aforar una concentración de 200 ppb de aluminio,
 - 3 muestras con solución de aluminio para obtener al momento de aforar una concentración de 600 ppb de aluminio,

- **BLANCOS DE REACTIVOS:** Empleando HNO₃ (10 mL en todos los casos), se prepararon 3 blancos de reactivos

Las 21 muestras resultantes se digirieron al mismo tiempo, en la misma parrilla y durante el mismo tiempo. Al final de la digestión se aforó cada una de las muestras en matraces aforados a 25 mL

Las muestras se analizaron por medio del equipo de emisión atómica. Para el análisis de los datos se propusieron dos métodos y se eligió el que mejor describió el comportamiento de las pérdidas:

Método 1: Se obtiene el % de recobro para cada una de las concentraciones trabajadas después de haber restado a todas las muestras el valor promedio de los blancos de reactivos, con ayuda de las siguientes fórmulas:

$$\begin{aligned}
 & \textit{Fórmula 1: \% de recobro por interferencias de matriz} \\
 & = \frac{\textit{ppb en blancos de reactivos con refresco y adiciones}}{\textit{ppb muestras de reactivos}} * 100
 \end{aligned}$$

(Ec. 3-4)

La fórmula 1 considera únicamente la magnitud de las interferencias de matriz en la determinación del aluminio

$$\begin{aligned}
 & \textit{Fórmula 2: \% de recobro por tratamiento térmico} \\
 & = \frac{\textit{ppb en blancos de reactivos y adiciones}}{\textit{ppb calculadas}} * 100
 \end{aligned}$$

(Ec. 3-5)

La fórmula 2 considera únicamente la magnitud de las pérdidas de aluminio por el tratamiento térmico, es decir, durante el proceso de digestión. Las ppb calculadas son 20 ppb, 200 ppb y 600 ppb según sea el caso.

$$\text{Fórmula 3: \% de recobro total} = \frac{\text{ppb en blancos de reactivos con refresco}}{\text{ppb calculadas}} * 100$$

(Ec. 3-6)

Con la fórmula 3 se calcula el porcentaje de recobro total, sin que proporcione información acerca de la parte del proceso en el cual se produjeron las pérdidas de aluminio.

Si el porcentaje de recobro obtenido con la fórmula 3 (Ec. 3-6) resulta similar para los 3 casos (20 ppb, 200 ppb y 600 ppb) se transforman todos los datos generados al analizar las muestras de refresco con ayuda de la fórmula 4 (Ec. 3-7). Por otro lado, si el porcentaje de recobro calculado con la fórmula 3 es distinto para los 3 casos (20 ppb, 200 ppb y 600 ppb) se aplicará la fórmula 4 por intervalos de concentración en los cuales el % de recobro total sea similar.

$$\text{Fórmula 4: ppb corregidos} = \frac{\text{ppb en muestras de refresco}}{\% \text{ de recobro total}} * 100$$

(Ec. 3-7)

Método 2: Después de haber restado el valor promedio de los blancos de reactivos a cada una de las muestras se trazan 2 gráficos:

Gráfico 1: y=ppb leídas en blancos de reactivos con adiciones vs. x=ppb leídos en blancos de reactivos con adiciones y refresco, en el cual se pueden apreciar las interferencias de matriz.

Gráfico 2: y= ppb calculadas (20, 200 y 600 ppb) vs. x= ppb leídas en blancos de reactivos con adiciones, en el cual se aprecia el efecto de la digestión únicamente.

Todos los valores de ppb de aluminio calculados en las muestras, exceptuando los blancos de reactivos que no contienen refresco, se corrigen al introducirlos en la fórmula de la ecuación de la línea recta que describa el comportamiento de los datos del Gráfico 1 que se presenta en el siguiente capítulo (Figura 4.5, p. 52). Posteriormente, estos valores obtenidos y los valores de los blancos de reactivo son modificados al introducirlos en la ecuación que describa el comportamiento de los datos del Gráfico 2, también mostrado en el Capítulo 4 (Figura 4.6, p. 52).

CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se describe en la metodología, se trabajó tanto con refrescos de lata como con embotellados en PET. A continuación se muestran los resultados del análisis fisicoquímico realizado a las bebidas, al tiempo de compra (t=0) y después de almacenamiento (t=5 meses).

4.1. VALORES DE PH DE LOS REFRESCOS

La Tabla 4.1 muestra los promedios y las desviaciones estándar de los valores de pH para las marcas Coca-Cola, Fanta, Pepsi, y Mirinda, según el tipo de presentación (lata y PET) y el tiempo de almacenamiento (0 y 5 meses).

Tabla 4.1. Valores de pH según la marca, tipo de presentación y tiempo de almacenamiento.

Compañía	Marca	Presentación	Valor de pH	
			0 meses	5 meses
COCA-COLA COMPANY	Coca-Cola	Lata	2.48±0.02	2.54±0.03
		PET	2.48±0.05	2.61±0.01
	Fanta	Lata	2.85±0.04	2.91±0.05
		PET	2.80±0.02	3.08±0.01
GRUPO PEPSICO	Pepsi	Lata	2.47±0.02	2.43±0.06
		PET	2.48±0.01	2.60±0.03
	Mirinda	Lata	2.84±0.00	2.92±0.01
		PET	2.81±0.01	2.99±0.01

El pH promedio de las tres muestras de cada uno de los lotes de refrescos enlatados fue 2.48, 2.85, 2.47 y 2.84 al tiempo = 0 meses y de 2.54, 2.91, 2.43 y 2.92 al tiempo = 5 meses para Coca-Cola, Fanta, Pepsi y Mirinda, respectivamente, tal como puede verse en la Figura 4.1.

El pH promedio para refrescos envasados en PET fue de 2.48, 2.80, 2.48 y 2.81 al tiempo = 0 meses y de 2.61, 3.08, 2.60 y 2.99 al tiempo = 5 meses para Coca-Cola, Fanta, Pepsi y Mirinda, tal como puede verse en la Figura 4.2.

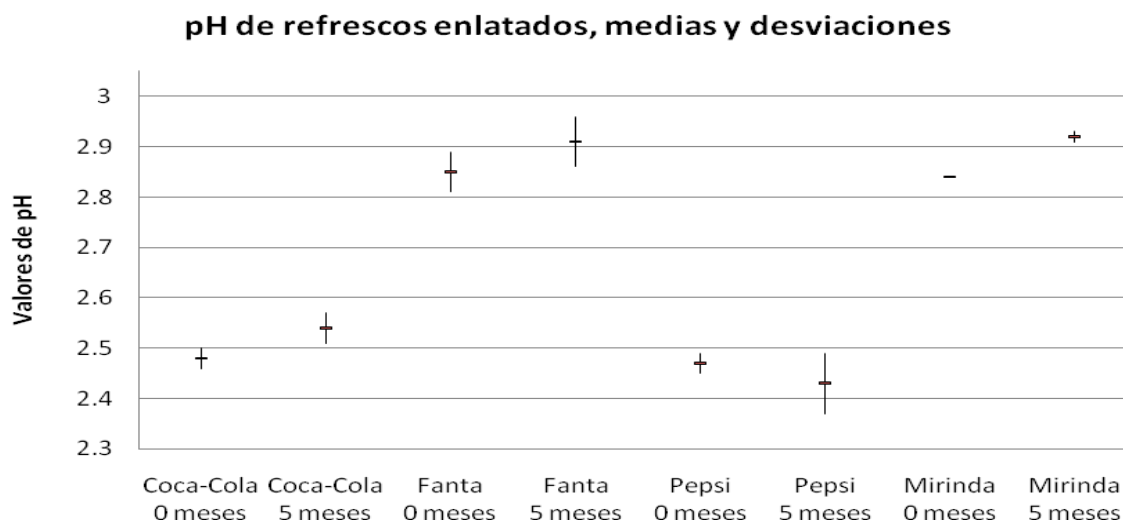


Figura 4.1 Valores de pH según la marca y el tiempo de almacenamiento en la presentación lata.

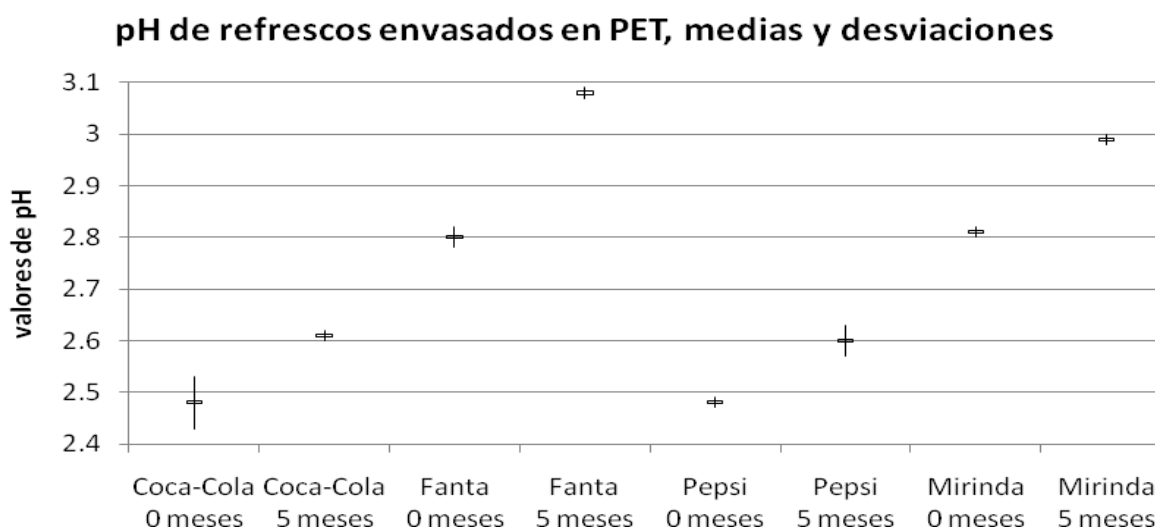


Figura 4.2. Valores de pH según la marca y el tiempo de almacenamiento para la presentación PET

En general, se puede apreciar una diferencia de alrededor de 0.4 unidades de pH entre los refrescos de cola (Coca-Cola y Pepsi) y los de sabor naranja (Fanta y Mirinda), teniendo los primeros un pH más bajo. En el Capítulo 2 de este trabajo se habló de la composición de los refrescos y se resaltó el hecho de que el acidulante mayormente

empleado es el ácido cítrico, un buen quelante del aluminio y favorece la lixiviación de éste (Karbouj, 2007), pero también llega a emplearse ácido fosfórico en los refrescos de cola, con lo cual se logra disminuir aún más el pH de éstos. Las bebidas carbonatadas son producidas por inyección de CO₂, lo que provoca que la solución se acidifique por la formación de ácido carbónico. Todos estos factores propician que el pH de los refrescos analizados sea bajo (Varnam, 1994).

Para el t=5 meses de análisis (segunda parte del experimento) se ve una ligera variación en el pH de las soluciones, alrededor de un 5% de incremento, lo cual puede deberse a la posible adsorción de iones H⁺ por la resina que, teóricamente, recubre la parte interna de las latas y por el PET, entre otros posibles equilibrios. Esto puede ser un área de oportunidad para una nueva investigación

4.2. CONTENIDO DE ALUMINIO EN LOS REFRESCOS

Como ya se mencionó en la sección de antecedentes, el aluminio se lixivia con mayor facilidad en las soluciones ácidas que en las neutras y el tiempo es un factor importante en la lixiviación ya que a mayor tiempo de exposición hay mayor cantidad de aluminio que puede pasar a la solución.

Para realizar este trabajo se establecieron varios factores: marca, tiempo de almacenamiento y tipo de envase. Para controlar el tiempo de almacenamiento se procuró trabajar con muestras con fecha de elaboración semejante para que los datos generados fueran comparables ya que, como se ha mencionado anteriormente, el aluminio de las latas puede ser lixiviado por los ácidos hacia la solución (refresco) y es posible que, entre mayor sea el tiempo de contacto que haya entre ambos, mayor será la concentración de aluminio en las bebidas.

En cada uno de los refrescos adquiridos venía impresa o marcada la fecha de consumo preferente sin indicarse claramente la fecha de elaboración de los mismos ya que la

información sobre la vida de anaquel es confidencial. El tiempo de almacenamiento reportado en este trabajo fue calculado de dos formas distintas dependiendo del tipo de envase y la compañía productora; *Coca-Cola Company* imprime, debajo de la etiqueta, sobre el envase, en sus refrescos envasados en **PET** información adicional que pareciera ser la fecha y hora de fabricación, la diferencia entre la fecha de consumo preferente y la fecha impresa bajo la etiqueta siempre es de **1.5 meses**. Promotores asignados para repartir producto de *Coca-Cola Company* aseguraron que la vida de anaquel estimada para los refrescos en presentación **lata** de la compañía es de **1 año** a partir de la fecha de elaboración. Promotores asignados para repartir producto de *Pepsico* aseguraron que la vida de anaquel de los productos envasados en **PET** es de **1.5 meses**, mientras que para aquellos envasados en **lata** es de **6 meses**.

La fecha de fabricación y, con ello, el tiempo de almacenamiento al momento de análisis, se calculó restando a la fecha de caducidad o consumo preferente los meses (1.5, 12 ó 6 según sea el caso) de vida de anaquel. Se reportan esos datos en las Tablas 4.2. y 4.3

Tabla 4.2. Fecha de caducidad y tiempo de almacenamiento calculado para los refrescos enlatados

Compañía	Marca	Identificación del lote	Fecha de caducidad	Tiempo de almacenamiento calculado al momento de análisis (t=0)	Tiempo de almacenamiento calculado al momento de análisis (t=5)
COCA-COLA	COCA-COLA	2H1/19:15 683	19-Mar-09	1 m 0 s	5 m 1 s
		30a/21:57 683	08-Ene-09	3 m 1 s	7 m 3 s
		2GH/05:56 683	14-Mar-09	1 m 0 s	5 m 1 s
	FANTA	2GB/23:14 683	12-Mar-09	2 m 0 s	5 m 2 s
		2hm/04:45 683	02-Abr-09	1 m 0 s	4 m 3 s
		2H6/09:00 683	25-Mar-09	1 m 2 s	5 m 0 s
PEPSICO	PEPSI	0111IZC250381	24-Jun-08	1 m 0 s	5 m 1 s
		2229IZC150381	14-Jun-08	3 m 0 s	7 m 0 s
		2230IZC150381	14-Jun-08	2 m 3 s	5 m 3 s
	MIRINDA	1001ACX040306	04-Sep-08	2 m 1 s	5 m 3 s
		1427ACX280286	28-Ago-08	2 m 2 s	6 m 0 s
		1002ACX040386	04-Sep-08	2 m 1 s	5 m 3 s

m: meses, s: semanas

El tiempo de almacenamiento es el tiempo que la bebida permaneció guardada, a partir de su fecha de fabricación, antes de ser analizada.

La diferencia máxima entre fecha de elaboración para productos enlatados fue de 3 meses. No se hace hincapié en la fecha de elaboración y caducidad de los productos envasados en PET porque éste no contiene cantidades apreciables de aluminio que pudieran llegar a formar parte de la solución carbonatada en presencia de ácido, como puede ocurrir en los refrescos enlatados. No obstante, en la Tabla 4.3 se reportan los datos de los refrescos envasados en botellas de PET.

Tabla 4.3. Fecha de caducidad y tiempo de almacenamiento calculado para los refrescos en PET

Compañía	Marca	Identificación del lote	Fecha de caducidad	Tiempo de almacenamiento calculado al momento de análisis (t=0)	Tiempo de almacenamiento calculado al momento de análisis (t=5)
COCA-COLA	COCA-COLA	01:01 2712RI	14-May-08	0 m 3 s	5 m 1 s
		02:50 5a717	18-May-08	0 m 3 s	5 m 3 s
		16:03 2712RI	19-May-08	0 m 3 s	5 m 3 s
	FANTA	18:49 3ARI717	10-May-08	3 m 0 s	6 m 1 s
		06:19 3ARI717	11-May-08	3 m 0 s	6 m 1 s
		22:16 3 ARI717	10-May-08	3 m 0 s	6 m 1 s
PEPSICO	PEPSI	0111IZC250381	24-Jun-08	0 m 3 s	5 m 3 s
		2229IZC150381	14-Jun-08	1 m 0 s	5 m 0 s
		2230IZC150381	14-Jun-08	1 m 0 d	5 m 0 s
	MIRINDA	1617IZC190381	18-Jun-08	1 m 0 s	4 m 3 s
		0251IZC030481	03-Jul-08	2 s 0 s	5 m 1 s
		1330IZC140381	13-Jun-08	2 s 0 s	6 m 0 s

m: meses, s: semanas

4.2.1. Curvas de calibración, límites de detección y límites de cuantificación

Para obtener los resultados de esta investigación fue necesario trazar dos curvas de calibración, una al tiempo t=0 y otra al tiempo t=5. A continuación se muestran los datos de las curvas de calibración junto con los límites de detección y los límites de cuantificación.

$$\text{El límite de detección (LDD)} = Y_b + 3S_{y/x} \quad (\text{Ec. 3-1})$$

$$\text{El límite de cuantificación (LDC)} = Y_b + 10S_{y/x} \quad (\text{Ec. 3-2})$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(y - y_i)^2}{n - 1}} \quad (\text{Ec. 3-3})$$

Las Figuras 4.3 y 4.4 representan las curvas de calibración empleadas en la determinación de aluminio en los refrescos en estudio.

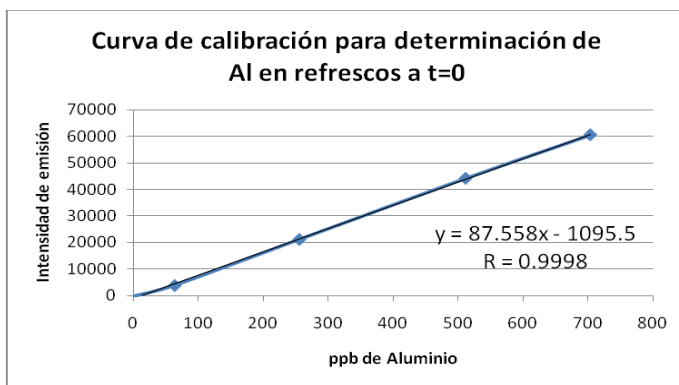


Figura 4.3. Curva de calibración empleada para en la cuantificación del contenido de Al en las muestras al tiempo t=0

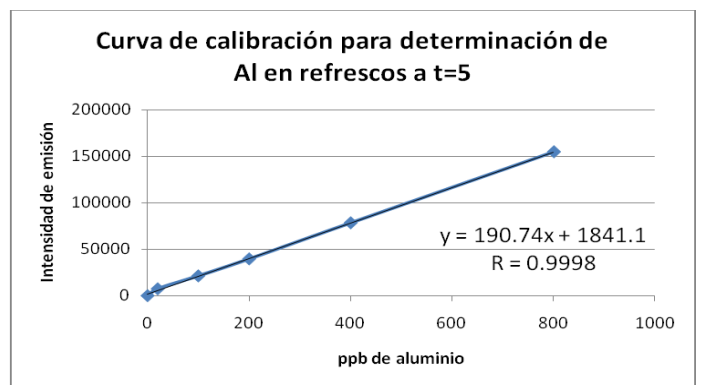


Figura 4.4. Curva de calibración empleada para en la cuantificación del contenido de Al en las muestras al tiempo t=5

Los porcentajes presentados a continuación fueron calculados tomando como base los resultados obtenidos antes de someterlos a los cálculos correspondientes para contrarrestar el efecto de las interferencias de matriz y las pérdidas de analito por el tratamiento térmico (ver sección 4.2.2).

Para las distintas curvas de trabajo se calculó lo siguiente:

$t=0$

LDD = 21ppb de aluminio

LDC = 70 ppb de aluminio

Para el tiempo 0 de análisis el 99% de los datos (de refrescos envasados en PET y lata) se encontraron por encima del LDD. De los refrescos envasados en PET únicamente 9% de los datos se encontraron por encima del LDC, mientras que en el caso de los refrescos envasados en lata, el 65% de los datos se ubicaron por encima de este último límite.

$t=5$

LDD = 20 ppb de aluminio

LDC = 67 ppb de aluminio

Para el tiempo de 5 meses, el 100 % de los datos generados a partir de los refrescos enlatados se encontraron por encima del LDD, mientras que sólo el 7% de los datos de los refrescos envasados en PET lo hicieron. El 97% de los datos generados relativos a los refrescos envasados en lata se localizaron por encima del límite de cuantificación (LDC), mientras que para aquellos correspondientes a los refrescos envasados en PET únicamente el 1% se encontró por encima de dicho límite.

La concentración de aluminio en refrescos enlatados se incrementa con el tiempo de almacenamiento, mientras que no ocurre así en aquellos envasados en PET. En estos últimos es probable que el aluminio fue adsorbido por el envase de PET durante el tiempo de almacenamiento porque para todas las marcas analizadas las ppb promedio fueron menores al tiempo $t=5$ que al tiempo $t=0$ (ver Tabla 4.5). Estos resultados plantean una nueva línea de investigación interesante.

El límite de cuantificación de aluminio calculado con ambas curvas de trabajo (70 ppb al $t=0$ y 67 ppb al $t=5$) se encuentra por debajo de las 200 ppb de aluminio permitidas en agua potable por lo establecido en la NOM-127-SSA1-1994, sin embargo el LDC no fue lo suficientemente pequeño porque muchos de los datos obtenidos no lo sobrepasan.

4.2.2. Porcentaje de recobro

El porcentaje de recobro permitió minimizar los errores en la determinación del aluminio en las muestras al considerar el efecto de enmascaramiento que la matriz de estudio tuvo sobre el contenido de aluminio y el efecto del tratamiento térmico en el momento de la digestión.

La Tabla 4.4 muestra de forma resumida los resultados obtenidos. En la primera columna se muestra la concentración de aluminio calculada matemáticamente que se esperaba detectar en el equipo de emisión. En la segunda columna se muestra la cantidad de aluminio cuantificada en los blancos de reactivos con adiciones. En la tercera columna se muestra la cantidad de aluminio cuantificada en los blancos de reactivos con adiciones y refresco.

Tal como se describe en el Capítulo 3, sección 3.5.3, los datos fueron analizados con dos modelos matemáticos: con el primero de ellos se calculó el % de recobro del Al de las 20, 200 y 600 ppb esperadas. Los resultados obtenidos indican que los porcentajes fueron muy diferentes entre las distintas concentraciones. Con ayuda del segundo modelo matemático se construyeron las gráficas de las Figuras 4.5 y 4.6, que permitieron apreciar las pérdidas de dicho metal por el enmascaramiento de matriz y por el tratamiento térmico de la digestión, respectivamente, las cuales tuvieron un comportamiento lineal con un $R > 0.9$.

Tabla 4.4. Concentración de aluminio en ppb leídas en blancos de reactivo con adiciones y refresco y en blancos de reactivo con adiciones sin refresco

ppb de Al calculadas matemáticamente	Concentración de Al en ppb leída en blancos de reactivos con adiciones	Concentración de Al en ppb leída en blancos de reactivos con adiciones y refresco
20	8.5	2.5
200	130.2	56.9
600	413.7	301.8

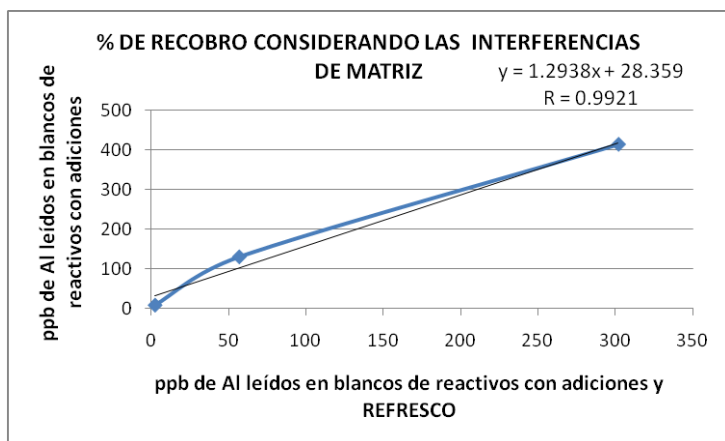


Figura 4.5. Gráfico obtenido a partir de los datos obtenidos, y [=] ppb de Al leídos en blancos de reactivos con adiciones, x [=] ppb de Al leídos en blancos de reactivos con adiciones y refresco

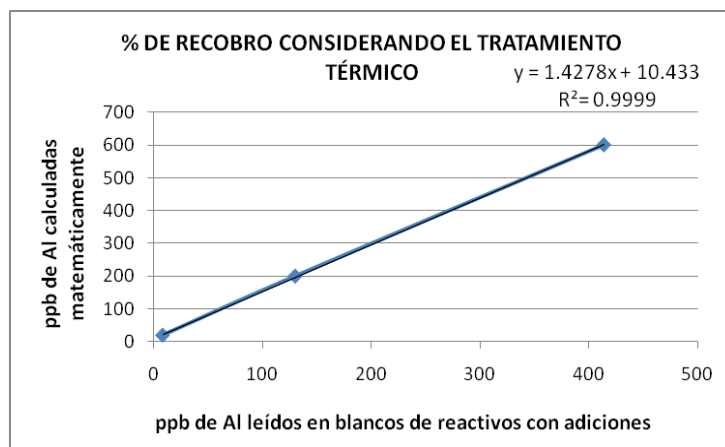


Figura 4.6. Gráfico obtenido a partir de los datos obtenidos, y [=] ppb de Al calculadas matemáticamente, x [=] ppb de Al leído en blancos de reactivos con adiciones

Con ayuda de la ecuación de la línea recta que describe la tendencia de los datos para cada uno de los gráficos todos los valores de ppb de aluminio leídos en las muestras de refresco, exceptuando los blancos de reactivos que no contienen refresco, se corrigieron de la siguiente forma:

1° -Para calcular las ppb de Al en las muestras, eliminando matemáticamente las interferencias de matriz, los valores originales de ppb de aluminio leídas en el equipo de emisión atómica fueron introducidos en la siguiente fórmula en substitución de la variable x $y = 1.2938x + 28.359$. (Figura 4.5) obteniendo así nuevos datos en los que ya han sido consideradas las interferencias de matriz.

2° -Para calcular las ppb de Al totales en las muestras, eliminando matemáticamente las pérdidas de aluminio por el tratamiento térmico, se modificaron los datos

obtenidos después de seguir las indicaciones del párrafo anterior y los datos de los blancos de reactivos con ayuda de la siguiente fórmula, en substitución de la variable x , $y=1.427x + 10.433$ (Figura 4.6).

4.2.3. Concentración de aluminio en los refrescos

En la Tabla 4.5 se presentan los valores promedios del contenido de aluminio en las bebidas analizadas.

Tabla 4.5. Resumen del contenido de aluminio por marca y presentación

Compañía	Marca	Presentación	Concentración de aluminio (ppb)	
			0 meses	5 meses
COCA-COLA COMPANY	Coca-Cola	Lata	152±30	561±532
		PET	71±11	53±18
	Fanta	Lata	136±15	283±130
		PET	83±9	49±12
GRUPO PEPSICO	Pepsi	Lata	145±81	405±453
		PET	127±61	42±6
	Mirinda	Lata	311±155	467±208
		PET	70±9	35±17

Los valores en celdas sombreadas se encuentran por encima del límite permitido para agua potable que es de 200 ppb de aluminio

El contenido de aluminio en los refrescos osciló en un intervalo que fue desde 35 ppb hasta 561 ppb. Los refrescos enlatados presentaron mayor concentración de aluminio en relación con los envasados en PET. En los refrescos envasados en plástico (PET) se tuvo un contenido mínimo de aluminio de 35 ppb hasta un máximo de 127 ppb. Para los refrescos enlatados el intervalo de concentración abarca desde 136 ppb hasta 561 ppb.

Para el tiempo = 0, la marca Mirinda en presentación de lata presentó los valores más altos de aluminio, con una media de 311±155 ppb de aluminio, excediendo el límite máximo permitido por la NOM-127-SSA1-1994 que es de 200 ppb, al tiempo = 5 meses, la marca Coca-Cola presentó el valor medio de aluminio más alto siendo éste de 561±532 ppb de Al, excediendo, al igual que Fanta, Mirinda y Pepsi en su presentación de

lata, las 200 ppb permitidas por la NOM-127-SSA1-1994. Ningún refresco envasado en PET excedió el límite máximo permisible de aluminio.

4.2.4. Análisis estadístico de datos

Para conocer si existió o no diferencia significativa entre los resultados obtenidos se realizó un análisis de la variabilidad del contenido de aluminio en los refrescos (ANOVA, por sus siglas en inglés). El análisis se efectuó conforme al diseño planteado: cuatro factores: Marca con cuatro niveles (Coca-Cola, Pepsi, Mirinda, Fanta), presentación con 2 niveles (lata y plástico PET), lote con 3 niveles (1, 2 y 3) y tiempo de almacenamiento con 2 niveles (0 meses y 5 meses).

La Tabla 4.6 corresponde al análisis de varianza para el contenido de aluminio en los refrescos analizados que muestra, con base en el valor de P, la influencia que cada uno de los factores definidos en el diseño de experimentos (marca, tipo de envase, lote y tiempo de almacenamiento) tiene sobre el contenido de aluminio en los refrescos.

Tabla 4.6. Análisis de varianza para el contenido de aluminio

Factores principales	Suma de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Valor de F	Valor de P
Marca	147958.0	3	49319.3	1.35	0.2625
Tipo de envase	2.09912 x10 ⁶	1	2.09912 x 10 ⁶	57.33	0.0000
Lote	28247.1	2	14123.5	0.39	0.6808
Tiempo de almacenamiento	357803.0	1	357803.0	9.77	0.00022
Residuos	4.35742 x 10 ⁶	119	36617.0		
Total(corregido)	8.46045 x10 ⁶	143			

gl; grados de libertad, F; Fisher, P; probabilidad

En esta tabla se aprecia que tanto el tipo de envase como el tiempo de almacenamiento son factores que explican directamente la variabilidad en la concentración del metal en estudio con un valor de $\alpha=0.05$, por lo que un valor de $P \leq 0.05$ indica diferencia significativa.

4.2.4.1. Tipo de envase

El factor tipo de envase es determinante en el contenido de aluminio en los refrescos. En la Figura 4.7 se muestra en el eje de las ordenadas valores de concentración de aluminio en los refrescos (en partes por billón), relacionados con el tipo de envase, ya sea PET o lata de aluminio.

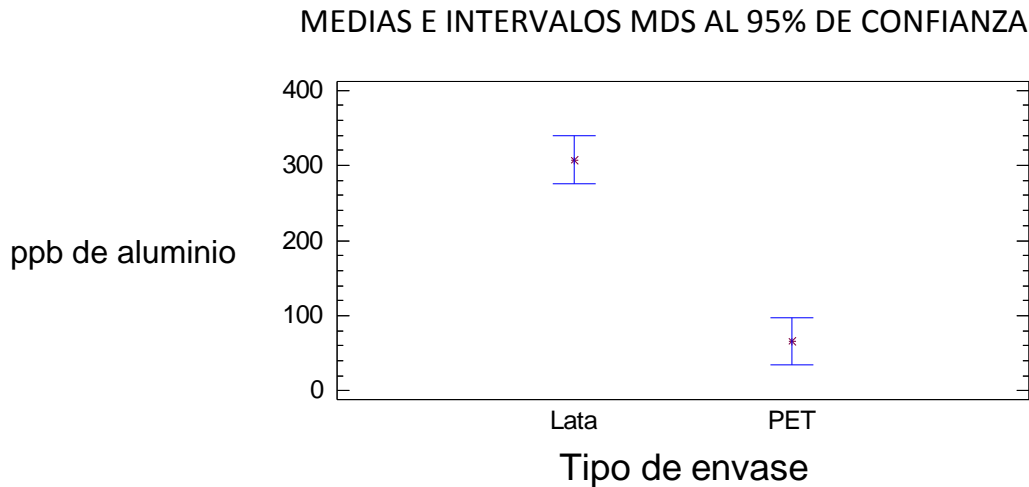


Figura 4.7 Contenido de aluminio en los refrescos en función del tipo de envase (intervalos de mínima diferencia significativa para $\alpha=0.05$)

Los refrescos envasados en lata de aluminio presentaron una media de 307 ppb de aluminio, mientras que los envasados en PET presentaron una media de 67 ppb, la diferencia entre ambas muestras es significativamente diferente ya que los intervalos de Mínima Diferencia Significativa no se traslapan. La diferencia en el contenido de aluminio entre los refrescos, dependiendo del tipo de envase, pudo deberse a un control deficiente en el proceso de laqueado (aplicación de una resina inerte en todo el interior de las latas de aluminio para evitar el contacto directo entre el aluminio del envase y el líquido), lo cual permitió la interacción indeseable entre la lata y el refresco, dándose lugar a la lixiviación del aluminio.

4.2.4.2. Tiempo de almacenamiento

La Figura 4.8 muestra la diferencia de concentraciones que presentaron los refrescos en función del tiempo de almacenamiento o tiempo que permanecieron almacenados antes de ser analizados. Al tiempo 0 (de compra e inicio de los análisis) se aprecia un contenido promedio de 137 ppb de aluminio, mientras que para los refrescos analizados al tiempo 5 el promedio es de 243 ppb de aluminio.

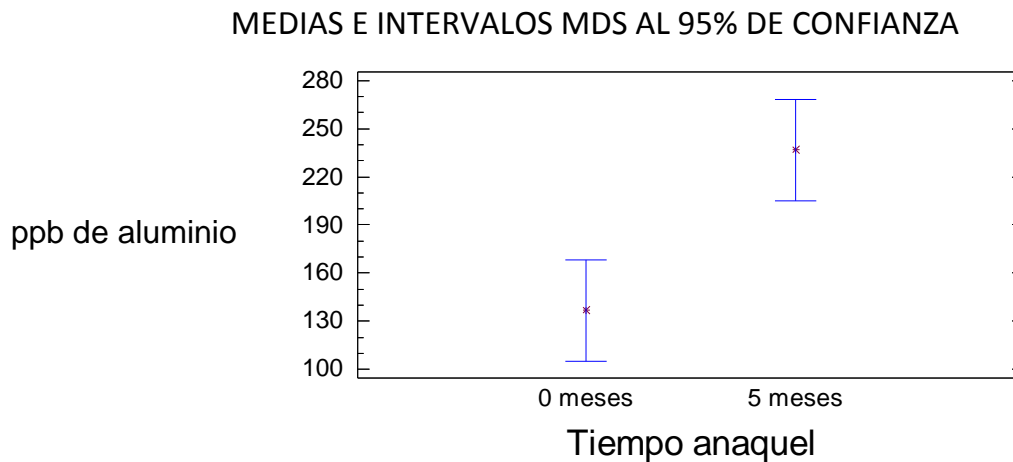


Figura 4.8 Contenido de aluminio en los refrescos en función del tiempo de almacenamiento (intervalos de mínima diferencia significativa para $\alpha=0.05$)

La variación del contenido de aluminio en los refrescos, a lo largo de los 5 meses de estudio, demuestra que la interacción aluminio-bebida existe y que gracias a ésta el metal queda disuelto en el líquido.

De lo anterior se deduce que el tiempo de almacenamiento es un factor que influye significativamente en el contenido de aluminio en los refrescos.

4.2.4.3. Marcas

La Figura 4.9 representa gráficamente la forma en que el factor marca influye sobre la variable de respuesta, se puede observar el contenido de aluminio en los refrescos, en

función de la marca, sin contemplar el tipo de envase ni el tiempo de almacenamiento. Los refrescos analizados de la marca Coca-Cola presentaron un promedio de 209 ppb, los de marca Fanta una media de 140 ppb, los de marca Mirinda media de 226 ppb y los de marca Pepsi una media de 180 ppb de Al. Se aprecia en el mismo gráfico que no existe diferencia significativa, al 95% de confianza, entre las distintas marcas ya que todos los intervalos se traslapan.

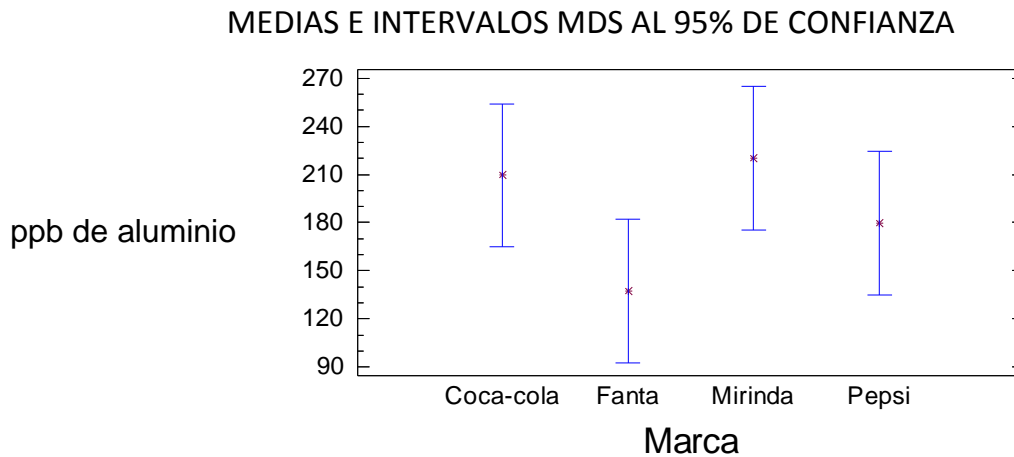


Figura 4.9. Contenido de aluminio en el refresco en función de la marca (intervalos de mínima diferencia significativa para $\alpha=0.05$)

4.2.4.4. Marca y tipo de envase

En la Figura 4.10 se aprecia la interacción entre marcas (Coca-Cola, Fanta, Mirinda y Pepsi) en función de tipo de envase (PET y lata de aluminio). En la parte superior de la figura, con línea continua, se muestra el valor promedio del contenido de aluminio y la desviación de los datos en las muestras de refrescos enlatados, por marca, y con línea punteada se muestra el valor promedio del contenido de aluminio y la desviación de los datos en las muestras de refrescos envasados en PET, por marca.

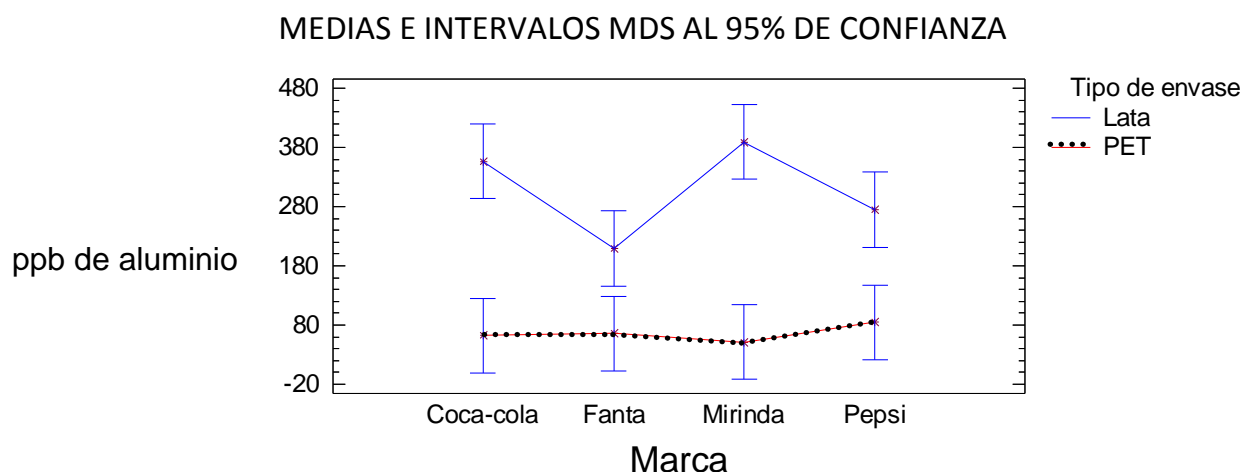


Figura 4.10. Interacciones entre marca y tipo de envase (intervalos de mínima diferencia significativa para $\alpha=0.05$)

En la mitad superior de la figura se observa que el contenido promedio de aluminio en los refrescos difiere con la marca, siendo más notorio ello en aquellos pertenecientes a Fanta, los cuales presentan el valor promedio más bajo (136 ppb). La desviación de los datos hace notar que no existe diferencia significativa en el contenido de aluminio de las bebidas de la marcas Pepsi respecto a Mirinda, Fanta y Coca-Cola ya que todos los intervalos de desviación se traslapan en algún punto. El contenido de aluminio en los refrescos de la marca Fanta difiere significativamente de aquellos de las marcas Coca-Cola y Mirinda ya que los intervalos de desviación no se traslapan entre sí. El contenido de aluminio en los refrescos de la marca Coca-Cola no difiere significativamente del que presentan los refrescos Mirinda y Pepsi pero sí lo hace de Fanta. El contenido de aluminio presente en los refrescos de la marca Mirinda no varía significativamente de aquellos de las marcas Coca-Cola y Pepsi pero sí de Fanta.

En la mitad inferior de la figura (refrescos envasados en PET) se aprecia que el valor promedio de aluminio es muy similar para las 4 marcas analizadas: Coca-Cola 42 ppb, para Fanta 45 ppb, para Mirinda 35 ppb y para Pepsi 57 ppb, igualmente ocurre con la desviación de los datos; todas las marcas comparten valores de contenido de aluminio, es decir, los intervalos de desviación para todas las marcas se traslapan por lo cual se

concluye que el contenido de aluminio presente en los refrescos envasados en PET no depende de la marca. El contenido de aluminio varía de forma sustancial dependiendo del tipo de envase más no de la marca.

4.2.4.5. Tipo de envase y tiempo de almacenamiento

En la Figura 4.11 se muestra la relación entre el tipo de envase y el tiempo de almacenamiento y la forma en que influyen sobre el contenido de aluminio en los refrescos. Dentro del gráfico, del lado izquierdo se aprecia que al tiempo 0 (línea continua), para los refrescos enlatados, el contenido de aluminio promedio para todos los refrescos es de 131 ppb, lo cual es significativamente menor del determinado al tiempo 5 (línea punteada) que fue en promedio de 303 ppb, excediendo la cantidad máxima permitida de aluminio en agua potable de acuerdo a la NOM-127-SSA1-1994. No ocurre así en los refrescos envasados en PET, en los cuales no hay diferencia significativa en la concentración de aluminio entre los tiempos 0 y 5 meses.

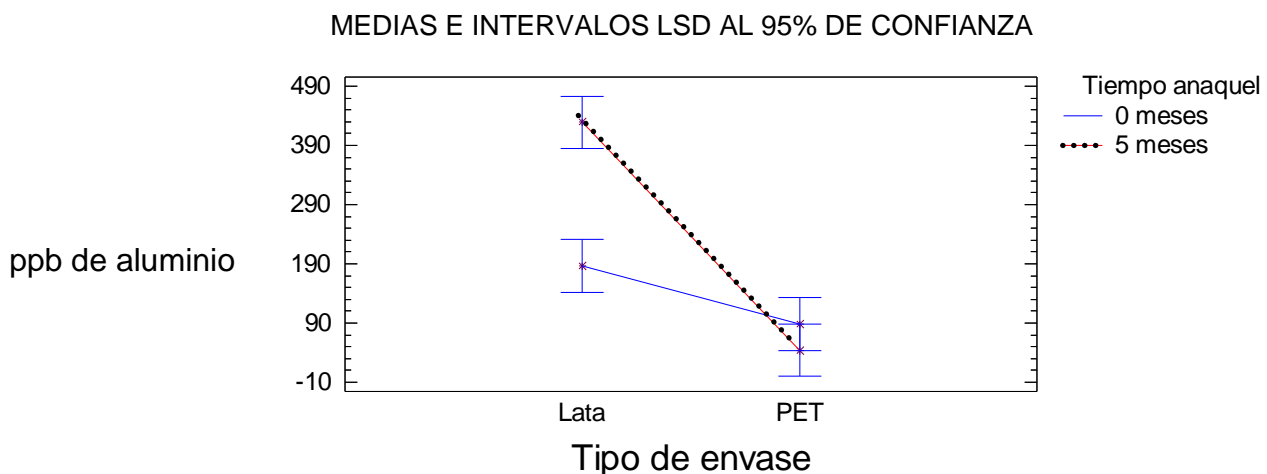


Figura 4.11. Contenido de aluminio en los refrescos en función del tiempo de almacenamiento y el tipo de envase. (Intervalos de menor diferencia significativa para $\alpha=0.05$)

Como se describió en el párrafo anterior, los refrescos enlatados alcanzaron una cantidad máxima promedio de 303 ppb de aluminio que excede el límite máximo permitido en agua potable establecido en la NOM-127-SSA1-1994 para agua potable. En el caso de los refrescos envasados en PET la cantidad ni excede ni se acerca al límite máximo permitido y, por el contrario, se aprecia que la cantidad cuantificada al tiempo 5 es menor que la detectada al tiempo 0 de análisis y, aunque esa diferencia no es estadísticamente significativa, porque los intervalos de desviación se traslapan, puede deberse a que el plástico del envase adsorba el aluminio.

A nivel internacional se han realizado estudios sobre el contenido de aluminio en refrescos. A continuación se comparan los datos obtenidos con estos en la Tabla 4.7.

Tabla 4.7. Comparación de los datos obtenidos en esta investigación y los encontrados en la literatura

Producto	Embase	Tiempo de almacenamiento	Contenido promedio de aluminio, $\mu\text{g/L}$	Referencias
Refrescos de cola	Lata	n/e	658	Duggan ¹ , 1992
	Botella ²	n/e	240	
Refrescos sin cola	Lata	n/e	901	
	Botella ²	n/e	151	
Refresco de cola	Lata	0 meses	581	López y cols ⁵ , 2002
	Plástico ⁴	0 meses	164	
Refresco de naranja ³	Lata	0 meses	687	
	Plástico ⁴	0 meses	251	
Refrescos ⁶	n/e	n/e	100 - 74000	Abercrombie y Fowler ¹ , 1997
Refresco de cola	Lata	0 meses	148	Esta investigación ⁷ , 2011
	Lata	5 meses	483	
	PET	0 meses	99	
	PET	5 meses	48	
Refresco de naranja ³	Lata	0 meses	224	
	Lata	5 meses	375	
	PET	0 meses	76	
	PET	5 meses	42	

Nota: La palabra Lata hace referencia a Lata de aluminio

1. Se desconoce el tiempo de almacenamiento de los refrescos al tiempo de análisis, así como la metodología empleada en la determinación del Al
2. No especifica si botella de vidrio o PET
3. Con sabor a naranja
4. No especifica el material de la botella de plástico
5. El tratamiento de cada muestra hasta su análisis fue el siguiente: 5 mL de muestra con 1 mL de HNO_3 y microgramos de V_2O_5 fueron digeridos en microondas para posteriormente ser analizados con un equipo de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito.
6. no especifica el tipo de refresco.
7. El tratamiento de cada muestra hasta su análisis fue el siguiente: 25 mL de muestra con 10 mL de HNO_3 fueron digeridos en parrilla para posteriormente ser analizados con un equipo de espectrometría de emisión atómica con plasma.

n/e: no especificado

En comparación con los trabajos mencionados en la Tabla 4.7, este estudio es el que arroja resultados con los valores de aluminio, en ppb, más bajos, debido probablemente a que los procesos involucrados en la fabricación de los refrescos y de sus envases se han transformado y optimizado con el tiempo, al igual que la calidad de las resinas que recubren el interior de las latas, disminuyéndose así la migración del Al del envase al producto. Otro factor que determina en gran parte la concentración de aluminio en los refrescos es la cantidad de aluminio procedente del agua potable empleada para la elaboración de éstos, variando de ciudad a ciudad y más aún de país a país.

Tanto en el estudio de Duggan, como en el de López y cols. y en el de esta investigación se aprecia que la concentración de Al en los refrescos depende del envase contenedor, siendo siempre inferior en aquellos envasados en plástico, botella y PET

No existe Norma Oficial Mexicana que regule a los refrescos y por ello no se cuenta con un valor máximo permisible para el contenido de metales pesados, entre ellos al aluminio.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos de esta investigación: Generar información sobre el contenido de aluminio disuelto en los refrescos consumidos en México, así como compararlos con la literatura internacional disponible y evaluar si la marca, tipo de envase, tiempo de anaquel y el lote, influyen sobre la concentración de aluminio disuelto presente en los refrescos, a continuación se presentan las conclusiones.

- Se realizó una amplia revisión bibliográfica, en libros y artículos publicados en editoriales de confianza. En los últimos diez años, solamente se encontró un artículo, de autores españoles (López *et al.*, 2002), que trata el tema del contenido de aluminio en refrescos, en función de su envase. En ese artículo hay referencias previas (Abercrombie y Fowler, 1997, Duggan, 1992), que fueron también comparadas con los resultados de esta investigación. En los 4 estudios comparados, incluyendo éste, el contenido de aluminio en los refrescos envasados en plástico, botella y PET fue inferior al determinado en aquellos enlatados.
- Para la cuantificación del aluminio en refrescos las muestras fueron digeridas en parrilla eléctrica y posteriormente analizadas con un equipo de emisión atómica con plasma.
- El método de digestión en parrilla eléctrica permitió la digestión completa de las muestras de refresco; no obstante, el método no fue el adecuado porque provocó que gran cantidad de aluminio se perdiera en el proceso.
- Aún después de la digestión de las muestras, la matriz de los refrescos interfirió en la cuantificación del Al detectándose una cantidad inferior a la real.

- Se determinó el intervalo de pH que presentaron las bebidas carbonatadas analizadas. Todos los refrescos presentaron valores de pH inferiores a 3.1. Los refrescos de cola presentaron menor pH frente a los saborizados a naranja. Después del tiempo de almacenamiento, el pH de los refrescos subió ligeramente ($0.06 < \Delta \text{pH} < 0.3$ unidades de pH), con excepción de Pepsi en su presentación lata.
- La concentración de aluminio en los refrescos envasados en PET fue siempre inferior a aquella presente en los refrescos envasados en lata de aluminio.
- La concentración de aluminio en los refrescos envasados en lata de aluminio se incrementó de forma significativa, al 95% de confianza, después de haberlos almacenado por alrededor de 5 meses a temperatura ambiente, no ocurriendo así con aquellos envasados en PET donde la concentración permaneció invariable.
- Después de aproximadamente 5 meses de almacenamiento todos los refrescos enlatados sobrepasaron el valor máximo de aluminio permitido en agua potable, de 200 ppb, de acuerdo con la NOM-127-SSA1-1994.

5.2. RECOMENDACIONES

Para el 2008, de acuerdo con la cifra emitida por el Instituto Nacional de Salud Pública, el consumo de refrescos *per capita* en México fue de 152 litros anuales, muy cercana a los 169 litros estimados para el consumo de agua. Es por ello que se urge a las autoridades para que tomen conciencia de la importancia de tener una legislación, como Norma Oficial Mexicana, que regule a las bebidas carbonatadas para establecer definiciones, parámetros de calidad organoléptica y aún más importante aquellos que influyan directamente en la salud del consumidor, tales como la cantidad máxima de metales pesados permitidos.

De igual forma se hace un llamado a las industrias refresqueras para proponer e implementar un proceso más eficiente en el cual se asegure la inocuidad de los refrescos, como un sistema de control de calidad para el recubrimiento polimérico que llevan las latas o que utilicen el envase tradicional de vidrio que es inocuo.

Tomando como base los resultados de este estudio sería conveniente hacer un análisis complementario sobre las formas químicas en que se encuentra el aluminio en los refrescos, así como la disponibilidad para el organismo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERCROMBIE, D.E., FOWLER, R.C., 1997. Possible aluminium content of canned drinks. *Toxicol. Ind. Health*;13:649 - 654.

ANPDAPAC, 2007. Convención Nacional, Discurso Secretaría de Salud Federal. [citado septiembre 25 2009]. ASOCIACIÓN NACIONAL DE PRODUCTORES Y DISTRIBUIDORES DE AGUA PURIFICADA A.C. Notiagua, Año VIII Número 109 Julio/Agosto 2007 p. 8. Disponible en http://www.anpdapac.com.mx/pdf%20y%20docs/revista/2007/julio_agosto.pdf

ANPRAC. 2007. La industria de refrescos y aguas carbonatadas en 2007 [citado marzo 25 2009]. ASOCIACIÓN NACIONAL DE PRODUCTORES DE REFRESCOS Y AGUAS CARBONATADAS, A.C. Disponible en: http://www.anprac.org.mx/anuario_2007.pdf

ÁVILA, C. 2008. Los envases de aluminio en los alimentos [en línea], México, Alfa Editores Técnicos, Julio/Agosto [Consulta marzo 19 2009]. *Alimenpack*, 4(4):30-31, Disponible en: <http://www.alfa-editores.com/revistasvirtuales/Main.php?MagID=5&MagNo=14>, ISSN 1870-5782.

AGARWAL, S.K., AYYASH, L., GOURLEY, C.S., LEVY, J., FABER, K., HUGHES, C.L. JR 1996. Evaluation of the developmental, neuroendocrine and reproductive toxicology of aluminium 1. *Food. Chem. Toxicol.* 34:49-53.

BECARIA, A., LAHIRI, D. K., BONDY, S. C., CHEN, D., HAMADEH, A., LI, H., TAYLOR, R., CAMPBELL, A. 2006. Aluminum and copper in drinking water enhance inflammatory or oxidative events specifically in the brain. *Journal of Neuroimmunology.* 176:16-23

CERVERA, A.L. 2003. Envase y embalaje. Capítulo. 3, Materiales de Envase y Embalaje. 2ª edición. Escuela Superior de Gestión Comercial y Marketing. P. 155, Madrid, España.

COCA-COLA EMBONOR. 2007. *Fases de la producción*, Disponible en:[http://www.embonor.cl/wps/portal!/ut/p/c0/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os_gQUz9vMzcPlwODQDMDA6MAZ3dXZ18_w-AQU_2CbEdFALLSpy0!/. \[Consulta: 19 marzo 2009\]](http://www.embonor.cl/wps/portal!/ut/p/c0/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os_gQUz9vMzcPlwODQDMDA6MAZ3dXZ18_w-AQU_2CbEdFALLSpy0!/)

COLES, R., MCDOWEL, P., KIRWALT, M.J. 2004. Manual del envasado de alimentos y bebidas. AMV Ediciones. Pp. 139-191. Madrid, España.

COT. 2005. Subgroup Report on the Lowermoor Water Pollution Incident. COMMITTEE ON TOXICITY OF CHEMICALS IN FOOD, CONSUMER PRODUCTS AND THE ENVIRONMENT Disponible en <http://cot.food.gov.uk/pdfs/lowermoorreport05.pdf> , [Consulta 22 marzo 2009]

DOF. 2009. Norma Oficial Mexicana. NOM-051-SCFI/SSA1-2009, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados- Información comercial y sanitaria. Secretaría de Economía. Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos. Diario Oficial de la Federación. México D.F. México.

DOMINGO, J.L., PATERNAIN, J.L., LLOBET, J.M.,CORBELLA, J. 1987 Effects of oral aluminum administration on perinatal and postnatal development in rats. Res. Commun. Chem Pathol. Pharmacol. 57:129-132

DONALD, J.M., GOLUB, M.S., GERSHWIN, M.E., KEEN, C.L. 1989 Neurobehavioral effects in offspring of mice given excess aluminum in diet during gestation and lactation. Neurotoxicol. Teratol. 11:345-351.

DUGGAN, J.M., DICKESON, J.E., TYNAN, P.F., HOUGHTON, A., FLYNN, J.E. 1992. Aluminium beverage cans as dietary source of aluminium. *Med. J. Aust.* 156:604-605.

EXLEY, C. 1999. A molecular mechanism of aluminium-induced Alzheimer's disease?. *Journal of Inorganic Biochemistry.* 76:133-140.

FAO. 2011. Consultado el 5 de enero de 2011. Disponible en: http://www.fao.org/ag/agn/agns//jecfa_index_es.asp

FDA. 2010. Generally Recognized as Safe (GRAS). Consultado el 5 de enero de 2010. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/GenerallyRecognizedasSafeGRAS/default.htm>

GOLUB, M.S., KEEN, C.L. 1999. Effects of dietary aluminum on pubertal mice. *Neurotoxicology and teratology.* 21(5):595-602.

GUO, C-H., LU, Y-F., HSU, G-S. W. 2005 The influence of aluminium exposure on male reproduction and offspring in mice. *Environ. Toxicol. Pathol.*, 20:135-141.

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

IGLESIAS, G. 2005. Unión Internacional de Trabajadores de la Alimentación, UITA. Secretaría Regional Latinoamericana. 2/Dic/2005. Montevideo Uruguay.

JECFA. 1986. Evaluación de ciertos aditivos y contaminantes de los alimentos [en línea]. JUNTA DEL COMITÉ EXPERTO DE LA FAO/OMS EN ADITIVOS ALIMENTARIOS. Vigésimo noveno informe, Génova Serie de informes técnicos No.733 [citado: Marzo 23 de 2009], http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_733_spa.pdf

JECFA. 2007. Evaluación de la inocuidad de determinados aditivos alimentarios y contaminantes. JUNTA DEL COMITÉ EXPERTO DE LA FAO/OMS EN ADITIVOS ALIMENTARIOS [en línea]. Sexagésima Séptima junta, Génova, Programa internacional en seguridad química, [citado: Marzo 23 de 2009], <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v58je01.pdf>, ISSN 0300-0923

KARBOUJ, R. 2007. Aluminium leaching using chelating agents as compositions of food. *Food and Chemical Toxicology*. 45:1688–1693.

LÓPEZ, F. F., CABRERA, C., LORENZO, M.L., LÓPEZ, M.C. 2002. Aluminium content of drinking waters, fruit juices, and soft drinks: Contribution to dietary intake. *The Science of the Total Environment*. 292:205–213.

MERRIAM WEBSTER. 2010. Pallet. Consultado el 5 de enero de 2010. Disponible en: <http://www.merriam-webster.com/dictionary/pallet>

MILLER, J.N., MILLER, J.C. 2002. Estadística y quimiometría para química analítica. Ed. Prentice Hall. Madrid, España

MOORE, P.B., EDWARDSON, J.A., FERRIER, I.N., TAYLOR, G.A., LETT, D., TYRER, S.P., DAY, P., KING, S.M., LILLEY, J.S. 1997. Gastrointestinal absorption of aluminum is increased in Down's syndrome. *Biol. Psych*. 41:488-492.

NMX-F-439-1983. “NORMA MEXICANA”. Alimentos. Bebidas no alcohólicas. Bebidas y refrescos clasificación y definiciones. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. México D.F. México.

NOM-051-SCFI-1994. “NORMA OFICIAL MEXICANA” Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. México D.F. México.

NOM-127-SSA1-1994. “NORMA OFICIAL MEXICANA”. 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. Poder Ejecutivo Federal. México D.F. México.

ORIHUELA, D. MEICHTRY, V., PIZARRO. 2005. Aluminium-induced impairment of transcellular calcium absorption in the small intestine: Calcium uptake and glutathione influence. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 99:1879-1886

OSINSKA, E., KANONUIK, D., KUSIAK, A. 2004. Aluminium hemotoxicity mechanisms. *Ann. Univ. Maria Curie Sklodowska [Med]*. 59(1):411-416.

PARKER, S.P. 1992. Vidrio. *Enciclopedia McGraw-Hill de ciencia y tecnología*. 2ª edición. Vol. 6. P. 2184. México D.F. México.

PEDRERO Y PANGBORN. 1996. Evaluación Sensorial de los Alimentos. Ed. Alhambra Mexicana. D.F., México. Pp.139 – 143.

POWELL, J. J., WHITEHEAD, M. W., LEE, S., THOMPSON, R. P. H. 1994. Mechanisms of gastrointestinal absorption: Dietary minerals and the influence of beverage ingestion. *Food Chemistry*. 51:381-388.

REES, .A.G y BETTISON, J. 1994. Procesado térmico y envasado de los alimentos. Ed. Acribia, Zaragoza, España.

RIVAS, HERNÁN. 2010. Técnica ANOVA y Cuadro Resumen (PRUFAl). Consultado el 30 de Octubre de 2010. Disponible en: http://www.egrupos.net/grupo/prufai/ficheros/3/verFichero/21/T%C3%A9cnica%20ANOVA%20y%20Cuadro%20Resumen%20_PRUFAl_.pdf

RODRÍGUEZ, F. 2003. Procesos de potabilización del agua e influencia del tratamiento de ozonización. Ediciones Díaz de Santos. P. 55. Madrid, España.

RUSSELL, J., LARENA, A. 1994. Química general. Ed. McGraw-Hill, p. 646. México, D.F. México.

SARIN, S., JULKA, D., GILL, K.D. 1997. Regional alterations in calcium homeostasis in the primate brain following chronic aluminium exposure. Mol. Cell. Biochem. 168:95-100.

STATGRAPHICS. Versión 5.1 plus. EEUU.

STRUYS, C., KERKHOFS, A., GAUTHIER, A., SOFFIE, M., VAN DEN BOSCH D.A. 1997. Effects of aluminum exposure on behavioral parameters in the rat. Pharmacol. Biochem. Behav. 56:643-648.

TAMPO, D. 1999. Aguas envasadas. Ed. Limusa. Pp. 87-89. México D.F. México.

TIKHONOV, V.N. 1973. Analytical Chemistry of the Elements: Aluminum. Ed. Halsted Press Book. Pp. 1-8. Israel.

TOWNEND, JOHN. 2002. Practical Statistics for Environmental and Biological Scientists. Ed, John Willey & Sons, LTD. Gran Bretaña. Pp. 107 – 109.

VARNAM, A. 1994. Bebidas: Tecnología, química y microbiología. Ed. Acribia.. Zaragoza, España. Pp 79-99

VATANPARAST, H., LO, E., HENRY, C. J., WHITING, S. J. 2006. A negative trend in calcium intake was accompanied by a substitution of milk by noncarbonated soft drinks in Canadian female students. Nutrition Research. 26:325–329.

VERÍSSIMO, M., OLIVEIRA, I.S., JOÃO, A.B.P., GOMES, M., TERESA, S.R. 2006. Leaching of aluminium from cooking pans and food containers. Sensors and Actuators B. 118:192–197.

VIDALES, G. M. 1999. El envase en el tiempo: Historia del envase. Editorial Trillas. México D.F. México.

WALTON, J.R. 2007. A longitudinal study of rats chronically exposed to aluminum at human dietary levels. Neuroscience Letters. 412:29-33.

WHO. 1997. Aluminium (Environmental Health Criteria 194). **WORLD HEALTH ORGANIZATION.** Geneva: International Programme on Chemical Safety (IPCS).[citado 26 marzo 2009] <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc194.htm#SectionNumber:7.8>

WHO. 1997. Aluminium (Environmental Health Criteria 194). WORLD HEALTH

WHO. 2011. PTWI, Límite Provisional de Ingesta Semanal Tolerable, consultado el 5 de enero de 2010, disponible en: <http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/glossary/en/>

WIKIPEDIA. 2009. Tung. Consultado en 19 de diciembre de 2009. Disponible en : <http://es.wikipedia.org/wiki/Tung>

WIKIPEDIA. 2010. Ácido γ -aminobutírico (GABA) consultado el 5 de diciembre de 2010. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Gaba>

WIKIPEDIA. 2010. Adenosín Monofosfato Cíclico. Consultado el 5 de enero de 2011 Disponible en la página web: http://es.wikipedia.org/wiki/Adenos%C3%ADn_monofosfato_c%C3%ADclico

WIKIPEDIA. 2010. Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA). Consultado el 5 de enero de 2011. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/FDA>

WIKIPEDIA. 2010. Azotemia, consultado el 28 de septiembre de 2011 disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Azotemia>

WIKIPEDIA. 2010. Número más Probable (NMP) consultado el 5 de enero de 2011. Disponible en http://es.wikipedia.org/wiki/N%C3%BAmero_m%C3%A1s_probable

WIKIPEDIA. 2010. Partes por billón (ppb). Consultado el 5 de enero de 2011. Disponible en <http://es.wikipedia.org/wiki/Ppb>

WIKIPEDIA. 2010. Partes por millón (ppm). Consultado el 5 de enero de 2011. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Partes_por_mill%C3%B3n

WIKIPEDIA. 2010. Peso. Consultado el 5 de enero de 2011, disponible en <http://es.wikipedia.org/wiki/Peso>

WIKIPEDIA. 2010. Tereftalato de Polietileno (PET). Consultado el 5 de enero de 2010. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Politereftalato_de_etileno

WIKIPEDIA. 2010. Unidad Formadora de Colonias (UFC) consultado el 5 de enero de 2011. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Unidad_formadora_de_colonias

WIKIPEDIA. 2011. Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Consultado el 5 de enero de 2011. Disponible en <http://es.wikipedia.org/wiki/FDA>

WIKIPEDIA. 2010. Quillay. Consultado el 5 de enero de 2011. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Quillaja_saponaria

WOODSON, G. C., 1998. An interesting case of osteomalacia due to antacid use associated with stainable bone aluminum in a patient with normal renal function. *Bone*. 22(6):695-698.

YOKEL, R., RHINEHEIMER, S., BRAUER, R., SHARMA, P., ELMORE, D., McNAMARA, P. 2001. Aluminum bioavailability from drinking water is very low and is not appreciably influenced by stomach contents or water hardness. *Toxicology*. 16:93-101.

YOKEL, R., URBAS, A., LODDER, R., SELEGUE, J., FLORENCE, R. 2005. ^{26}Al -containing acidic and basic sodium aluminum phosphate preparation and use in studies of oral aluminum bioavailability from foods utilizing ^{26}Al as an aluminum tracer. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*. 229:471-478.

YSART, G., MILLER, P., CROASDALE, M., CREWS, H., ROBB, P., BAXTER, M., DE L'ARGY, CH., HARRISON, N. 2000. 1997 UK Total Diet Study dietary exposures to aluminium, arsenic, cadmium, chromium, copper, lead, mercury, nickel, selenium, tin and zinc. *Food Additives and Contaminants*. 17(9):775-786.

ZHOU, Y., HARRIS, W. R., YOKEL, R. A. 2008. The influence of citrate, maltolate and fluoride on the gastrointestinal absorption of aluminum at a drinking water-relevant concentration: A ^{26}Al and ^{14}C study. *J. Inorg. Biochem.*, doi:10.1016/j.jinorgbio.2007.11.019.