UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“Cuantificación de Bisfenol A en una bebida consumida por niños de 6-12 años en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca mediante HPLC-UV”

TESIS

para obtener el título de

Maestro en Ciencias Químicas

P R E S E N T A

Q. Raúl Olascoaga Díaz

Director de tesis:

Dr. Jorge Javier Ramírez García

Codirectores:

Dra. Ma. Magdalena García Fabila

Dr. Juan Carlos Sánchez Meza

Toluca de Lerdo, Estado de México, 2024

Contenido

Contenido 1
Índice de tablas 4
Índice de figuras 5
Abreviaturas 6
Resumen 1
1 Justificación 2
1.1 Objetivos 4
1.1.1 Objetivo general 4
1.1.2 Objetivos particulares 4
1.2 Hipótesis 4
2 Bisfenol A 5
2.1 Propiedades fisicoquímicas 8
2.2 Aplicaciones 9
2.2.1 Policarbonatos 10
2.2.2 Resinas epóxicas 11
2.2.3 Papel térmico 11
2.2.4 PVC (polyvinyl chloride) 12
2.3 Rutas de exposición 12
2.4 Disruptor endocrino 15
2.5 Toxicología 16
2.6 Metabolismo 18
2.6.1 Metabolismo de BPA en el hígado 20
2.6.2 Metabolismo de BPA en el intestino 21
2.7 Exposición infantil 22
2.8 Migración a alimentos y bebidas 23
2.9 Legislaciones para el control 26
2.10 Técnicas analíticas para la detección de bisfenol A 28
2.10.1 Extracción 30
3 Metodología 33
3.1 Selección de la longitud de onda de máxima absorción 33
3.2 Selección de fase móvil 33

3.3 Adquisición de la muestra 34
3.4 Evaluación de extracción 34
3.4.1 Extracción en fase sólida (SPE) 34
3.4.2 Extracción líquido-líquido con asistencia de baño ultrasónico 35
3.4.3 Extracción líquido-líquido con asistencia de agitación magnética ... 35
3.5 Cromatografía 35
3.5.1 Validación del método cromatográfico 36
4 Resultados y discusión 38
4.1 Selección de longitud de onda máxima de absorción 38
4.2 Selección de fase móvil 41
4.3 Adquisición de la muestra 44
4.4 Evaluación de extracción 45
4.4.1 Extracción en fase sólida (SPE) 45
4.4.2 Extracción líquido-líquido con asistencia de baño ultrasónico 47
4.4.3 Extracción líquido-líquido con asistencia de agitación magnética ... 48
4.4.4 Evaluación de los métodos de extracción con una muestra real 49
4.5 Validación de método cromatográfico 53
4.5.1 Precisión del sistema 54
4.5.2 Adecuabilidad del sistema 54
4.5.3 Linealidad 55
4.5.4 Límite de detección y límite de cuantificación 56
4.5.5 Exactitud y repetibilidad del método 57
4.5.6 Linealidad del método 58
4.5.7 Robustez 59
4.6 Análisis de las muestras 59
5 Conclusiones 69
6 Anexos 70
6.1 Serie eluotrópica 70
6.2 Formulas estadísticas 71
6.3 Tabla 12 Precisión del sistema cromatográfico 72
6.4 Tabla 13 Adecuabilidad del sistema 73
6.5 Tabla 14 Parámetros cromatográficos 73

6.6 Tabla 15 Réplicas de la linealidad del sistema 74
6.7 Tabla 16 LOD y LOC mediante blancos de reactivos 74
6.8 Tabla 17 Exactitud y repetibilidad del método 75
6.9 Tabla 18 Robustez del método 75
6.10 Caracterización de impureza de extracto 76
7 Referencias 78
8 Logros académicos 90

Índice de tablas

Tabla 1 Producción histórica de BPA _____ *6*

Tabla 2 Propiedades fisicoquímicas del bisfenol A _____ *8*

Tabla 3 Concentración de BPA en alimentos _____ *25*

Tabla 4 Sistemas cromatográficos empleados en la detección de BPA _____ *29*

Tabla 5 Fases móviles más frecuentes _____ *33*

Tabla 6 Coeficiente de absortividad molar a diferentes valores de pH _____ *40*

Tabla 7 Determinación de coeficiente de absortividad molar de la fase ACN:H_2O *42*

Tabla 8 Determinación de coeficiente de absortividad molar de la fase MeOH:H_2O _____ *43*

Tabla 9 Información de la muestra _____ *45*

Tabla 10 Concentraciones de BPA en bebidas _____ *62*

Tabla 11 Concentración media de BPA por lote de producto _____ *66*

6.3 Tabla 12 Precisión del sistema cromatográfico _____ *72*

6.4 Tabla 13 Adecuabilidad del sistema _____ *73*

6.5 Tabla 14 Parámetros cromatográficos _____ *73*

6.6 Tabla 15 Réplicas de la linealidad del sistema _____ *74*

6.7 Tabla 16 LOD y LOC mediante blancos de reactivos _____ *74*

6.8 Tabla 17 Exactitud y repetibilidad del método _____ *75*

6.9 Tabla 18 Robustez del método _____ *75*

Índice de figuras

Fig. 1 Estructura química de bisfenol A _____ *5*
Fig. 2 Síntesis de bisfenol A por método Dianin _____ *6*
Fig. 3 Producción global de BPA _____ *7*
Fig. 4 Síntesis de policarbonato _____ *10*
Fig. 5 Síntesis de resinas epóxicas. _____ *11*
Fig. 6 Biotransformación de BPA _____ *20*
Fig. 7 Países con alguna legislación para el uso de BPA (elaboración propia) __ *28*
Fig. 8 Identificación de máximos de absorción UV de BPA _____ *38*
Fig. 9 Diagrama teórico de distribución de especie de BPA _____ *41*
Fig. 10 Espectros UV de la fase ACN:H_2O _____ *42*
Fig. 11 Espectros UV de la fase MeOH: H_2O _____ *44*
Fig. 12 Monitoreo UV de la extracción SPE _____ *46*
Fig. 13 Espectros UV extracción Líquido-Líquido asistido por microondas _____ *47*
Fig. 14 Monitoreo por UV-Vis de extracción asistida con agitación magnética __ *48*
Fig. 15 Comparación de métodos de extracción con una muestra real. Método1 y 2 son de tipo líquido-líquido y Método 3 SPE. _____ *50*
Fig. 16 Comparación de métodos de extracción con cambio de pH _____ *51*
Fig. 17 Cromatograma del extracto por SPE _____ *52*
Fig. 18 Cromatograma del extracto líquido-líquido _____ *53*
Fig. 19 Recta de calibración del sistema _____ *56*
Fig. 20 Linealidad del método _____ *58*
Fig. 21 Cromatograma de extractos iniciales _____ *60*
Fig. 22 Cromatograma de la muestra, recolección de datos después de 3 minutos _____ *61*
Fig. 23 Concentración de BPA por muestra _____ *67*
Fig. 24 Cantidad total de BPA consumida por envase _____ *68*
Fig. 25 Termograma de impureza _____ *76*

Abreviaturas

BPA: Bisfenol A

BPA-d_{16}: Bisfenol A deuterado

SD: Sin dato

ND: No detectable

LOD: Límite de detección

LOC: Límite de cuantificación

ZMVT: Zona Metropolitana del Valle de Toluca

CLAR-UV: Cromatografía de líquidos de alta resolución con detector de ultravioleta

BCF: Factor de bioconcentración

Kow: Coeficiente de partición octanol:agua

mmHg: milímetros de mercurio

Koc: Coeficiente de partición octanol:carbono

LD_{50}: Dosis letal 50

PVC: Cloruro de polivinilo

NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey

PET: Polyethylene terephthalate

PC´s: Policarbonatos

ECHA: Agencia Europea de Sustancias y Mezclas Químicas

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ROS: Reactive Oxigen Species

ATP: Adenosín trifosfato

UGT2B15: UDP-glucuronosiltransferasa 2B15

LM: Límite de migración

BPS: Bisfenol S

FDA: Food and Drug Administration

EFSA: Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria

IDT: Ingesta diaria tolerable

ANSES: Agency for Sanitary Food Safety

GMC: Grupo Mercado Común

HPLC: High Performance Liquid chromatography

HPLC-MS: High Performance Liquid chromatography Mass spectrometry

LC-MS/MS: Liquid chromatography mass spectrometry

LC-MS: Liquid chromatography mass spectrometry

GC-MS: Gas chromatography mass spectrometry

UV: Ultravioleta

FLD: Fluorescencia

ECD: Captura de electrones

MS-MS: Espectrometría de masas

GC-MS/MS: Cromatografía de gases acoplada a masas

PAD: Photodiode array detector

MS: Mass spectrometer

FLD: Fluorimetric detector

ACN+AF: Acetonitrilo y ácido fórmico 0.1%

v:v: volumen : volumen

SPE: Solid Phase Extraction

k´: Factor de capacidad

R: Resolución

T: Factor de coleo

ACN:H_2O: Acetonitrilo:Agua

SDR: Desviación estándar relativa

CV: Coeficiente de variación

DLLME: Microextracción dispersiva líquido-líquido

ACN: Acetonitrilo

MeOH: Metanol

MeOH:H_2O: Metanol:Agua

AcOEt: Acetato de etilo

N/A: No aplica

Resumen

Se realizó un estudio exploratorio con el objetivo de detectar y cuantificar los niveles de bisfenol A (BPA) en una bebida carbonatada sabor cola, de consumo frecuente por niños de 6-12 años en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT). Se evaluaron 3 métodos de extracción, siendo el procedimiento asistido por baño de ultrasonido el más eficiente. Al mismo tiempo, la validación del método demostró una alta precisión y fiabilidad, cumpliendo con los estándares establecidos por el Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México.

Se determinó que la concentración promedio de BPA en la bebida analizada fue de 353.5 ± 9.1 ng/mL (promedio ± error estándar), un valor que excede el límite de ingesta diaria tolerable (IDT) establecido por la EFSA. Estos resultados generan preocupación sobre el consumo habitual de esta bebida.

El análisis de resultados por lotes de este producto reveló variabilidad en las concentraciones del analito debido a posibles diferencias en los materiales de empaque, materias primas o condiciones de almacenamiento.

Las muestras analizadas mostraron concentraciones elevadas de BPA. Los resultados fueron comparados con los resultados de estudios de bebidas similares en otros países, Este hallazgo resalta la importancia del monitoreo y regulación de los niveles de BPA en alimentos y bebidas, debido a los posibles riesgos para la salud, especialmente en niños, quienes se encuentran en etapas críticas del desarrollo de su cuerpo.

El estudio destaca la necesidad de una mayor atención y ejercer un control sobre los niveles de BPA en productos alimenticios, así como la importancia de la investigación continua para comprender mejor el impacto de estas sustancias en la salud pública.

1 Justificación

El BPA es un agente plastificante ampliamente utilizado en el sector industrial para la fabricación de recipientes de alimentos, lo que lo esté interactúa directamente con los alimentos y bebidas, promoviendo una ingesta constante de este compuesto químico por el ser humano. Dadas sus características químicas, se considera un perturbador endocrino que puede alterar la fertilidad, la reproducción y el sistema endocrino en general.

La exposición al BPA se ha convertido en un problema de salud mundial. Pero la exposición no ocurre de manera aislada, ya que existen más agentes químicos y físicos (Sonavane & Gassman, 2019). Debido a que la excreción de BPA es rápida, los análisis realizados en orina solo proporcionan información sobre la exposición real y no sobre la exposición crónica o a largo plazo (Hadjmohammadi & Saeidi, 2010).

En varios países, incluidos Canadá, Francia, España, Estados Unidos, China, entre otros, se han realizado monitoreos de la exposición al BPA, detectando su presencia en la mayoría de la población a través de estudios en fluidos y tejidos corporales. En países en vías de desarrollo como México, el nivel de exposición sigue siendo desconocido (Mandel et al., 2019).

El BPA tiene diferentes áreas de aplicación, por lo tanto, existen diversas rutas de exposición, siendo la ingesta de alimentos la de mayor preocupación. La migración a los alimentos y bebidas se ve influenciado por diferentes factores tales como la temperatura, los tiempos de almacenamiento, el pH, entre otros (D'Antuono et al., 2001; Munguia Lopez et al., 2002).

La mayoría de los estudios relacionados con la exposición al bisfenol A se centran en fuentes dietéticas, especialmente alimentos enlatados, mientras que otras fuentes de exposición como el aire, el polvo y las bebidas reciben menos atención (Vandenberg et al., 2007). El consumo de bebidas carbonatadas se ha convertido en un problema de salud pública. Los datos de contaminación de estas bebidas con

BPA son escasos, pero se ha registrado concentraciones en un intervalo de 0.019 a 7 µg/L (Fasano et al., 2015).

La entidad reguladora del uso de compuestos químicos en México es la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (Cofepris), que hasta el momento ha ignorado las advertencias sobre el uso del BPA. Actualmente no existe ninguna disposición legal que regule específicamente este compuesto en alimentos y bebidas, a pesar de que otros países han implementado regulaciones al respecto.

Existen pocos estudios sobre la exposición de la población mexicana al BPA y algunos de ellos se limitan solo a mujeres embarazadas y algunos productos comerciales específicos chiles jalapeños y atún. Es necesario realizar estudios que consideren a otras poblaciones vulnerables, como los niños (Mandel et al., 2019). Estos constituyen el grupo más vulnerable a la exposición al BPA, ya que su proceso de desarrollo y crecimiento los hacen más susceptibles a los efectos de este compuesto y otros disruptores endocrinos (Juan García A. & Gallego C., 2015).

En lo que concierne a metodologías de detección y cuantificación de BPA, la cromatografía de gases puede proporcionar métodos para la detección y cuantificación, pero depende de la composición de la fase móvil y los efectos de la matriz, lo que puede disminuir su reproducibilidad. Con respecto al empleo de cromatografía de líquidos con un detector de fluorescencia, la interferencia de otros compuestos presentes en la muestra puede resultar en un falso positivo, disminuyendo la eficiencia del método (Dang et al., 2015). Por otro lado, el empleo de HPLC-UV puede ser un método rápido y fácil para la identificación y cuantificación de BPA.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

Determinar la concentración de Bisfenol A en una bebida consumida por niños de 6 a 12 años la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT) mediante cromatografía de líquidos de alta resolución y detector UV (CLAR-UV).

1.1.2 Objetivos particulares

1. Optimizar las condiciones espectroscópicas, tales como la longitud de onda máxima de absorción y la fase móvil más eficiente para obtener una adecuada respuesta cromatográfica.
2. Evaluar diferentes técnicas de extracción de BPA para obtener un porcentaje de recobro cercano al 100%.
3. Estandarizar y validar el método cromatográfico para cuantificar BPA en la bebida de interés.

1.2 Hipótesis

La bebida consumida por niños en el Valle de Toluca contendrá niveles detectables de bisfenol A esperando que dicha concentración en la bebida varíe según el lote. La variabilidad en la concentración resultante podría representar un riesgo potencial para la salud de los niños consumidores de la bebida.

2 Bisfenol A

El 2,2-bis(4-hidroxifenil)propano, compuesto orgánico sintético, pertenece a la familia de los bisfenoles y es el más representativo de esta (Priovolos & Samanidou, 2023; Songue Same et al., 2023). Su estructura, consta de dos anillos fenólicos unidos por un carbono con dos grupos metilos (Fig. 1), fue sintetizado por el químico ruso Aleksandr Dianin en 1891. Dicha síntesis implica la condensación de fenol y acetona en una relación 2:1 bajo condiciones ácidas, generalmente empleando ácido sulfúrico o ácido clorhídrico (Fig. 2) o en presencia de resinas ácidas de intercambio iónico. Idealmente, el subproducto de esta reacción es agua (Constantin V. Uglea & Ioan I. Negulescu, 1991; Leena et al., 2016; Ginter-Kramarczyk et al., 2022).

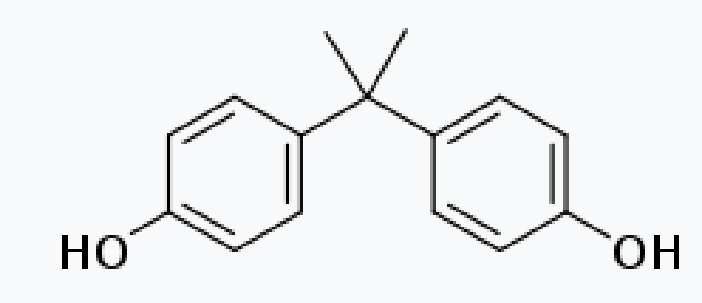


FIG. 1 ESTRUCTURA QUÍMICA DE BISFENOL A

Conocido comúnmente como BPA por su nombre en inglés (Bisphenol A), se emplea principalmente como monómero en la síntesis y producción de policarbonatos (65%), resinas epóxicas (28%) y retardantes de llamas (7%). El BPA mejora diversas propiedades fisicoquímicas, como la dureza, resistencia a los impactos y temperatura (superior a 145°C), además de conferir flexibilidad, impermeabilidad y baja conductividad eléctrica (Abraham & Chakraborty, 2019; Songue Same et al., 2023).

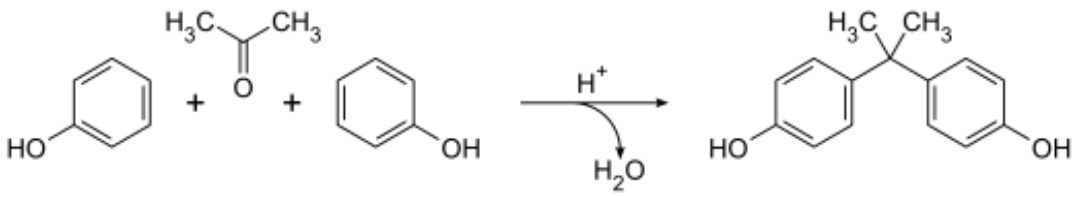


FIG. 2 SÍNTESIS DE BISFENOL A POR MÉTODO DIANIN

Los plásticos de policarbonato y las resinas epóxicas que contienen BPA son ampliamente utilizados en productos cotidianos como utensilios de cocina, dispositivos electrónicos, equipo deportivo, tarjetas de circuitos, materiales de construcción, CD´s, y dispositivos médicos (Liao & Kannan, 2014; Leena et al., 2016). Las resinas epóxicas también se emplean en películas protectoras para latas de alimentos y bebidas, así como en la fabricación de adhesivos, pinturas y componentes electrónicos y eléctricos (Tzatzarakis et al., 2017; Abraham & Chakraborty, 2019).

Por lo tanto, el BPA es un componente esencial en diversos sectores industriales, incluyendo el sector salud, automovilístico, alimentario y tecnológico, siendo uno de los compuestos más empleados a nivel mundial en 2015 (Stuart D. James et al., 2021). Su popularidad se disparó en la década de 1950, con una producción global que aumentó rápidamente en los años posteriores, alcanzando 3.8 millones de toneladas en 2006 y llegando a 10.6 millones de toneladas en 2022 (Geens et al., 2010; Cunha et al., 2011; Tzatzarakis et al., 2017; Vilarinho et al., 2019; Wang et al., 2022). En la Tabla 1 y Fig. 3 podemos apreciar el incremento de producción de BPA en los últimos 20 años.

TABLA 1 PRODUCCIÓN HISTÓRICA DE BPA

Producción global (MT, millones de toneladas)	Año	Referencia
2.7	2003	(Michałowicz, 2014)
3.8	2006	(Cunha et al., 2011)

4.4	2011	(Tzatzarakis et al., 2017)
4.7	2012	(Vilarinho et al., 2019)
7.7	2015	(Lehmler et al., 2018)
8.0	2016	(Abraham & Chakraborty, 2019)
10.6	2022	(Wang et al., 2022)

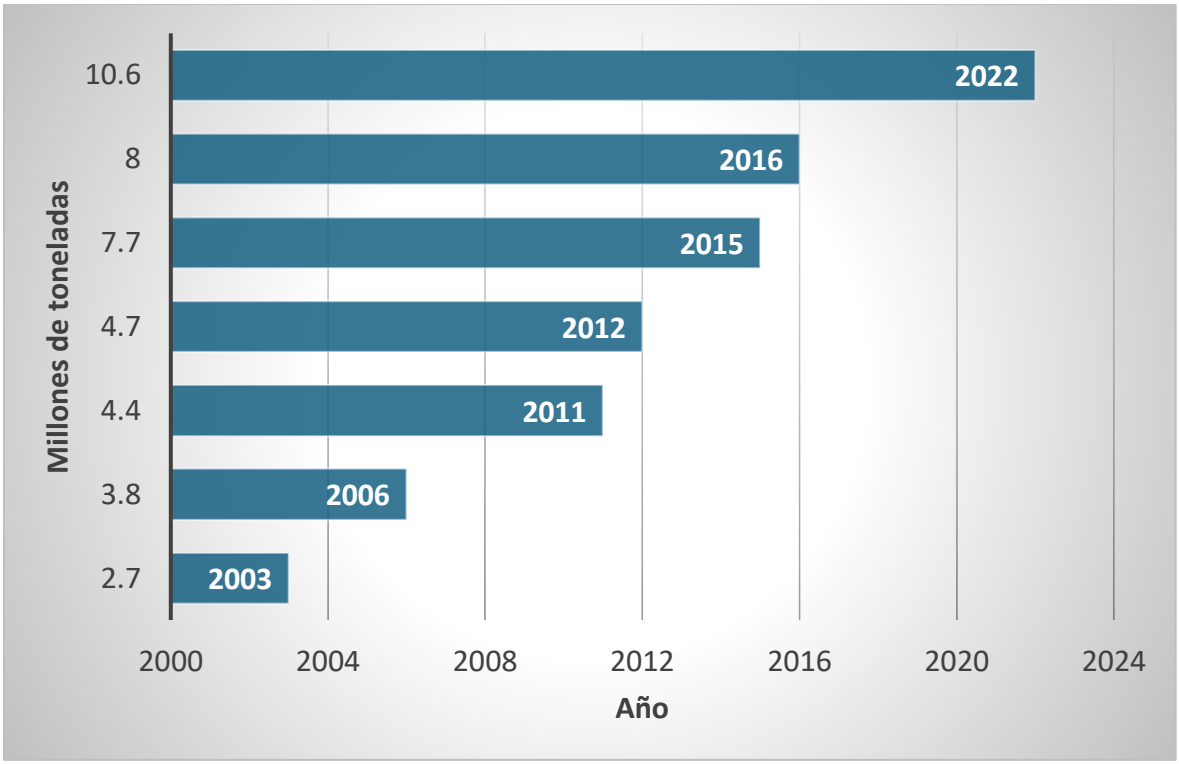


FIG. 3 PRODUCCIÓN GLOBAL DE BPA

Asia encabeza la producción global de BPA, representando el 53% del total, seguido de Norteamérica con el 18% y Europa con el 25% (Vilarinho et al., 2019). Este aumento en la producción se debe principalmente a la creciente demanda de policarbonatos y resinas epóxicas en países como China, India, Rusia y México, siendo China el mayor consumidor con una estimación de 2.25 millones de toneladas en 2010 (Abraham & Chakraborty, 2019).

En 2021, los principales países productores fueron Corea del Sur, Taiwán y Singapur, mientras que los mayores consumidores fueron China, Corea del Sur y Tailandia. En México, las entidades federativas con mayores compras internacionales durante 2022 fueron el Estado de México y la Ciudad de México, principalmente importando de Estados Unidos, Brasil, Taiwán, Bélgica y Suiza (Data México, 2022).

2.1 Propiedades fisicoquímicas

En términos generales, el bisfenol A se presenta como un sólido cristalino de color blanco en forma de hojuelas. Posee una baja solubilidad en agua, si bien esta aumenta en soluciones de pH alcalino debido a su constante de disociación (pKa= 10.29). Exhibe un bajo coeficiente de partición octanol-agua (Kow= 3.64) y un factor de bioconcentración (BCF= 196), lo que sugiere un escaso potencial de bioacumulación. Cuando se expone al aire, tiene una vida media de 0.2 días y sufre fotooxidación y degradación. En sedimentos presenta una vida media más prolongada de 340 días, mientras que en agua esta se reduce a tan solo 38 días (Abraham & Chakraborty, 2019). Para obtener una visión más detallada de las propiedades fisicoquímicas se puede consultar la Tabla 2.

TABLA 2 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL BISFENOL A

Nombre	2,2-bis(4-hidroxifenil)propano
Sinónimos	4,4´-dihidroxi-2.2-difenilpropano
Nombre común	Bisfenol A (BPA)
No. CAS	80-05-7
No. Referencia material de empaque por EEC	13480
Peso molecular	228.29 g/mol
Formula molecular	$C_{15}H_{16}O_2$
Solubilidad en agua (25°C)	300 mg/L
Solubilidad	Soluble en soluciones alcalinas y ácidas

pka	9.6- 10.2
Punto de fusión	153-159 °C
Punto de ebullición	220 °C
Apariencia	Sólido cristalino color blanco.
Kow	3.32
Presión de vapor (mmHg)	4.0×10^{-8}
Constante de Henry (atm m^3/mol)	1.0×10^{-10}
Factor de bioacumulación	196
Koc (octanol-carbono)	2.5-4.5
LD_{50}	3250 mg/kg (vía oral) 841 mg/kg (vía intraperitoneal) 35.26 mg/kg (vía intravenosa)

(Geens et al., 2010; Michałowicz, 2014; Abraham & Chakraborty, 2019; Ma et al., 2019; PubChem, 2019

2.2 Aplicaciones

Las aplicaciones del bisfenol A se dividen en dos categorías principales: como agente de polimerización y como aditivo (Geens et al., 2011). El descubrimiento de la capacidad de polimerizarse, realizado por Daniel Fox en los Estados Unidos y Hermann Schnell en Europa durante 1953 fue un hito clave que permitió su uso en la producción de policarbonato. Este proceso ocurre al exponer el BPA con un ambiente de fosgeno (Fig. 4). La producción industrial de BPA comenzó en Estados Unidos en 1957 y se expandió a Europa un año después, con el objetivo principal de fabricar este tipo de plástico (Vilarinho et al., 2019).

Adicional a su uso en la producción de policarbonato, el BPA se emplea como estabilizante y antioxidante en la fabricación de cloruro de vinilo, así como en la producción de papel térmico, poliacrilatos, poliésteres y como componente de resinas dentales (Michałowicz, 2014; Ma et al., 2019).

Los grupos hidroxilo (-OH) presentes en el BPA le otorgan reactividad, lo que posibilita su transformación en otras especies químicas mediante reacciones de

sustitución, como la nitración, sulfonación o alquilación. Asimismo, puede convertirse en sales, ésteres y éteres (Vilarinho et al., 2019; Ginter Kramarczyk et al., 2022).

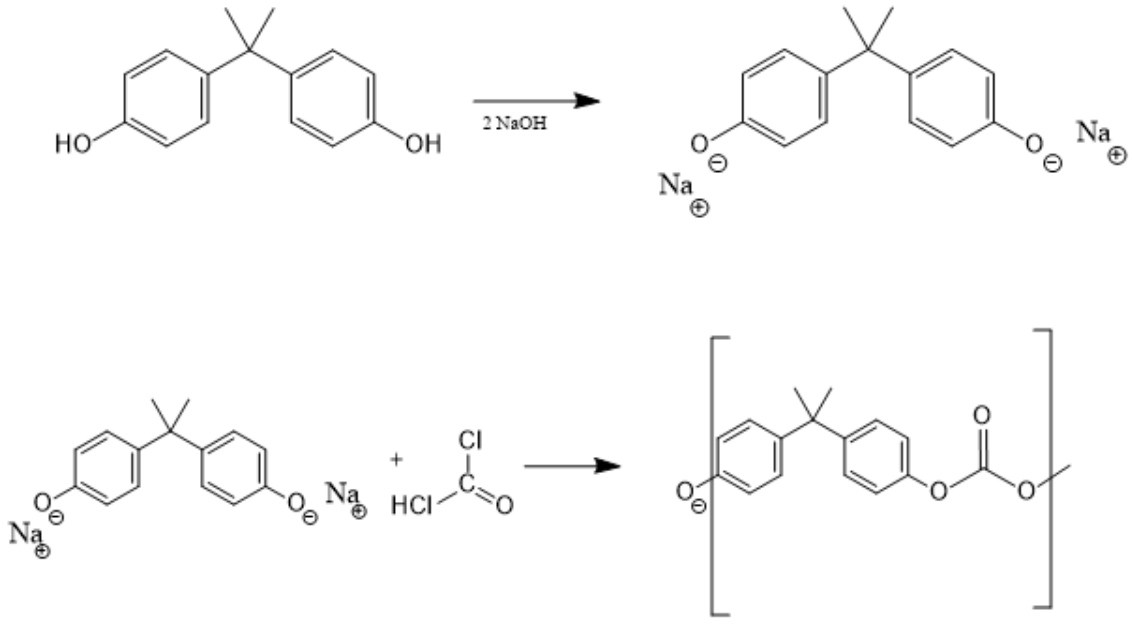


FIG. 4 SÍNTESIS DE POLICARBONATO

2.2.1 Policarbonatos

Los poli(carbonatos de bisfenol A), comúnmente conocidos como policarbonatos (PC's), son polímeros termoplásticos que pueden ser sintetizados a través de dos rutas para formar un enlace carbonato en el polímero (Park et al., 2018). Estas vías incluyen la condensación de bisfenol A y fosgeno, así como la transesterificación de bisfenol A y difenil carbonato (Vilarinho et al., 2019).

En comparación con otros polímeros, los policarbonatos presentan propiedades significativas, como resistencia, estabilidad, flexibilidad, buena transparencia y destacan por su aislamiento eléctrico y resistencia al clima y la radiación (Deirram & Rahmat, 2012; Geens et al., 2011). Su producción ha experimentado un crecimiento gradual hasta alcanzar los 5 millones de toneladas por año. Bajo los

códigos internacionales de identificación de resinas, los policarbonatos reciben el código 7, que engloba "otros plásticos" como nylon, ácido poliláctico, acrílicos, entre otros (Kim, 2020).

2.2.2 Resinas epóxicas

Estos polímeros se producen mediante la reacción de bisfenol A y epiclorhidrina (Fig. 5), este tipo de polímeros exhibe excelentes propiedades mecánicas y es un producto termoestable, resistente a la corrosión (Geens et al., 2011).

Las resinas son introducidas dentro de las latas de aluminio y su función principal es proteger los alimentos y bebidas del contacto directo con el metal durante los procesos de esterilización y almacenamiento (Michałowicz, 2014).

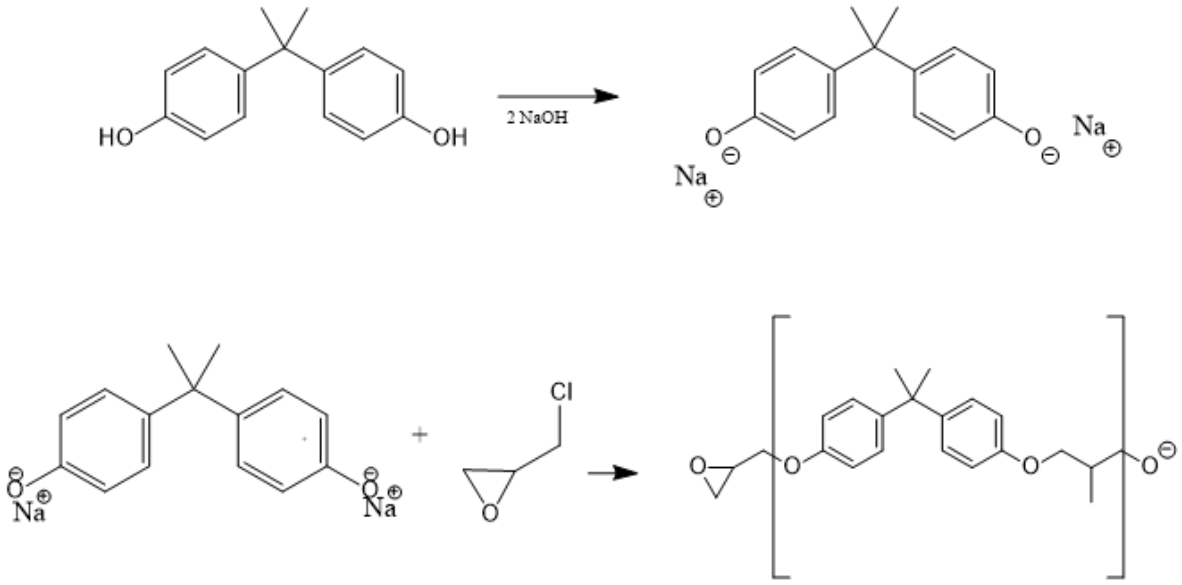


FIG. 5 SÍNTESIS DE RESINAS EPÓXICAS

2.2.3 Papel térmico

El bisfenol A tiene una importante aplicación en la fabricación de papel térmico, donde se utiliza como agente revelador (Vilarinho et al., 2019). Este tipo de papel

se produce en grandes cantidades debido a su uso extendido en recibos de compras, libros, etiquetas, faxes, entre otros, y después de su reciclaje se emplea en la elaboración de periódicos, papel higiénico y cajas de cartón (Michałowicz, 2014).

El proceso de fabricación del papel térmico implica impregnar uno de sus lados con una película de BPA, la cual reacciona con el pigmento bajo condiciones de calentamiento o incremento de presión, produciendo un complejo colorido (Geens et al., 2011, 2012).

2.2.4 PVC (polyvinyl chloride)

El bisfenol A es utilizado por sus propiedades antioxidantes y como inhibidor del proceso de polimerización del cloruro de vinilo (Ma et al., 2019). El cloruro de polivinilo (PVC) se emplea ampliamente en la fabricación de productos médicos, como los que se encuentran en las unidades de cuidados intensivos neonatales, tales como bolsas de fluidos intravenosos, sondas nasogástricas y catéteres umbilicales (Geens et al., 2011, 2012).

2.3 Rutas de exposición

El BPA se encuentra ampliamente distribuido en los ecosistemas debido a la actividad humana, siendo detectado en diversos lugares como la atmósfera, efluentes acuáticos, polvo, alimentos y bebidas. Las concentraciones de BPA en las regiones polares oscilan entre 1 y 17 pg/m^3, posiblemente provenientes de fuentes en Europa y Norteamérica (Michałowicz, 2014). Los materiales plásticos utilizados para almacenar alimentos y bebidas contribuyen significativamente a la exposición humana al BPA (Vilarinho et al., 2019). Las principales vías de exposición en humanos son la ingestión, inhalación y absorción dérmica (Abraham & Chakraborty, 2019; Ma et al., 2019). La ingesta dietética representa la mayor fuente de exposición, siendo cientos de veces mayor que otras fuentes no dietéticas (Wu et al., 2019). Estudios realizados entre 2005 y 2010 por la NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) estimaron que la ingesta diaria de BPA en adultos

oscila entre 0.03 y 0.07 µg/kg de peso corporal al día, mientras que en niños y adolescentes de 3 a 17 años se sitúa entre 0.048 y 0.050 µg/kg de peso corporal (pc) al día (Ma et al., 2019). Se ha demostrado que los humanos están expuestos directa e indirectamente con una ingesta estimada de 30.76 ng/kg de peso corporal al día (Lin et al., 2022).

La presencia de esta sustancia en los alimentos está relacionada con la exposición de animales y plantas, la acumulación en el medio ambiente y el contacto de los alimentos con polímeros que contienen esta sustancia. Se ha estimado una dosis de consumo de 1.6 µg/kg pc/día debido a la presencia de BPA en los insumos comestibles (Michałowicz, 2014).

La principal ruta de exposición es a través de la dieta, ya que el BPA se transfiere de los materiales de envasado a los alimentos y bebidas debido a factores como la luz UV, la abrasión, el calentamiento, la agitación y la acidez (Hoekstra & Simoneau, 2013; Songue Same et al., 2023). Los materiales comúnmente utilizados para envasar bebidas incluyen vidrio, cartón multicapa (Tetrapak), latas metálicas y PET (Polyethylene terephthalate) , este último siendo más ligero e irrompible. La migración de BPA a las bebidas puede ocurrir a través de la difusión del residuo de BPA presente en el material de policarbonato y por hidrólisis del polímero debido a la catálisis básica (Hoekstra & Simoneau, 2013). Los alimentos envasados en plástico han destacado en la dieta de la población, exponiendo al 99 % de la población a BPA a través de alimentos y bebidas contaminados con pequeñas concentraciones de la sustancia (Elobeid et al., 2012).

La migración de contaminantes desde el plástico hacia los alimentos puede impactar las características organolépticas y tener efectos perjudiciales para la salud si no está controlada y las concentraciones superan los límites establecidos por la legislación (Vilarinho et al., 2019). El bisfenol A ha sido detectado en las heces de animales de establo, como vacas, cerdos, ovejas y aves de corral, como patos y pollos, debido a que consumen alimentos contaminados, lo que representa una fuente potencial de exposición humana (Wang et al., 2022).

Las botellas de PET son ampliamente utilizadas para almacenar bebidas en volúmenes pequeños, que oscilan entre 350 y 5000 mL, mientras que las botellas de policarbonato (PC) se emplean para volúmenes de 5 a 19 litros (Ginter-Kramarczyk et al., 2022; Kumar et al., 2023). Aunque el BPA no se utiliza en la fabricación de PET, se ha encontrado la presencia de este compuesto en el agua contenida en botellas de PET (Chailurkit et al., 2017; Dreolin et al., 2019). Los procesos de reciclaje pueden aumentar los niveles de contaminación de BPA, una resina virgen de PET contiene entre 25 y 120 ng de BPA por gramo, el PET que incorpora entre un 25 y 50 % de material reciclado presenta 176-399 ng/g y en el caso del PET 100% reciclado, los niveles de BPA se elevan entre 394-10,120 ng/g (Dreolin et al., 2019; Wang et al., 2022).

Con el aumento de la economía circular, la producción de botellas ha incorporado cada vez más materiales reciclados, lo que ha dado lugar a la obtención de botellas fabricadas con un 100 % de material reciclado (Schmid & Welle, 2020). El BPA puede migrar a las bebidas y alimentos a través de la difusión del bisfenol residual en el policarbonato después del proceso de fabricación, así como mediante la ruptura del enlace carbonato del polímero (Geens et al., 2012; Vilarinho et al., 2019).

El contacto continuo con los recibos de compras también representa una ruta de exposición dérmica al BPA, ya que estos recibos contienen BPA libre que puede transferirse a la piel durante el manejo. Aunque parte del BPA puede eliminarse durante el proceso de reciclaje, una fracción puede permanecer y contaminar nuevos productos (Vilarinho et al., 2019). Estudios han demostrado que la cantidad de BPA transferida a la piel después de sostener un recibo de compras durante 5 segundos varía entre 0.2 y 6.0 µg, con un promedio de 1.1 µg por dedo, y aumenta hasta diez veces si los dedos están húmedos o grasos (Geens et al., 2012). En el peor de los casos, se ha estimado una exposición dérmica de 0.9543 µg/kg pc/día (Ma et al., 2019).

2.4 Disruptor endocrino

El sistema endocrino, responsable de regular una amplia gama de procesos metabólicos, de desarrollo y reproductivos, incluyendo la formación gonadal, la diferenciación sexual, el crecimiento y la digestión, es crucial para el equilibrio fisiológico (Flint et al., 2012). Dentro de los compuestos que pueden interferir con este sistema se encuentran los xenoestrógenos o perturbadores endocrinos, sustancias naturales o sintéticas que pueden alterar las funciones endocrinas mediante la imitación o bloqueo de receptores hormonales (Michałowicz, 2014).

La industria del plástico utiliza una variedad de sustancias que, debido a su estructura química, pueden actuar de manera similar a los estrógenos naturales, lo que los convierte en candidatos potenciales como disruptores endocrinos (Priovolos & Samanidou, 2023). La actividad estrogénica del bisfenol A se descubrió de manera incidental por investigadores de la Universidad de Stanford mientras investigaban una proteína de una levadura que se unía a estrógenos, identificaron que la actividad estrogénica no provenía de la levadura utilizada en el cultivo, sino del recipiente de policarbonato en el que se preparaba el medio de cultivo. Posteriormente, la sustancia responsable fue identificada como bisfenol A (Tatiana Goloubkova & Poli Mara Spritzer, 2000; Rezaee et al., 2009).

El BPA es considerado un perturbador endocrino o xenoestrógeno, clasificado en la categoría 1 de la lista de sustancias disruptivas endocrinas debido a su toxicidad severa en concentraciones por debajo de 1 $\mu g/m^3$ (P. Sangai & A. Pandya, 2021). Aunque se considera un estrógeno débil debido a su baja afinidad por los receptores de estrógeno, que es hasta 10,000 a 100,000 veces menos potente que el 17-β estradiol (Michałowicz, 2014; Vilarinho et al., 2019).

A pesar de su baja potencia estrogénica, estudios sobre el mecanismo de acción del BPA han revelado diversas rutas mediante las cuales puede estimular respuestas celulares incluso a bajas concentraciones (Vandenberg et al., 2007). La actividad biológica del BPA se atribuye principalmente a la presencia de grupos hidroxilo en el anillo de benceno, como lo demostraron los primeros estudios

realizados en 1938 por Dodds & Lawaon y posteriormente confirmados en 1944 por Reid & Wilson (Priovolos & Samanidou, 2023; Vilarinho et al., 2019).

Investigaciones en humanos han demostrado que el efecto estrogénico del BPA se debe a su unión con el receptor de estrógeno, y se ha observado que los metabolitos conjugados de BPA no presentan esta actividad (Cunha et al., 2011). Se han identificado mecanismos de respuesta tanto genómicos como no genómicos, con perturbaciones celulares observadas incluso a dosis inferiores a 1 pM (0.23 ng/L) (Vilarinho et al., 2019).

2.5 Toxicología

El bisfenol A ha sido objeto de preocupación por parte de la Agencia Europea de Sustancias y Mezclas Químicas (ECHA, por su siglas en inglés) debido a su potencial toxicidad para la salud humana, lo que condujo a su inclusión en la lista de sustancias químicas de alta preocupación en 2017 (Lehmler et al., 2018). Se ha demostrado que los efectos tóxicos pueden ocurrir en concentraciones por debajo de los límites de exposición diaria recomendados, incluso en concentraciones entre 1.1 y 12.8 mg/L han mostrado ser tóxicas para diferentes especies (Flint et al., 2012). Los efectos tóxicos de esta sustancia varían según el modelo animal utilizado en los estudios (Kumar et al., 2023). La toxicidad del BPA es multisistémica y multiorgánica en modelos animales, y se necesitan más investigaciones para comprender completamente los efectos de la exposición en humanos (Ma et al., 2019).

Estudios *in vitro* en roedores han demostrado que el BPA exhibe actividad estrogénica en un intervalo de concentraciones de 10-25 nM (2-5 ng/cm^3) (Hadjmohammadi & Saeidi, 2010). Esta sustancia puede alterar el funcionamiento de varias hormonas, incluidas las hormonas sexuales, insulina, leptina y la tiroxina, provocando hepatotoxicidad, inmunotoxicidad, así como efectos carcinogénicos y mutagénicos (Michałowicz, 2014).

En roedores, se ha observado que el BPA afecta negativamente la densidad y mineralización ósea, y puede inducir apoptosis de los osteoblastos y osteoclastos (Abraham & Chakraborty, 2019). También se ha observado que afecta la estructura y función cerebral, así como la producción hormonal y la fertilidad en ratones y ratas (Michałowicz, 2014; Sonavane & Gassman, 2019). Estudios realizados en ratas Sprague-Dawley han mostrado que puede alterar el desarrollo de las glándulas mamarias e incrementar la incidencia de tumores (Michałowicz, 2014; Sonavane & Gassman, 2019).

Ha mostrado tener efectos biológicos en diversos organismos, como peces cebra, ratones, ratas, células renales de mono, células hepáticas, células neuronales, células epiteliales humanas, entre otros. En estos estudios, se ha observado alteración en células foliculares tiroideas y en factores de transcripción específicos, incremento en el volumen de adipocitos, desarrollo de intolerancia a la glucosa, disminución en la secreción de insulina y un aumento en la incidencia de tumores. (Michałowicz, 2014).

Se ha demostrado que el BPA se une a receptores androgénicos y estrogénicos, así como a otros receptores importantes en el cuerpo humano, lo que contribuye a sus diversos efectos tóxicos (Sonavane & Gassman, 2019). Puede dañar el ADN y contribuir a la carcinogénesis y teratogénesis al inducir aductos de ácido desoxirribonucleico, aberraciones cromosómicas y aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, Reactive Oxigen Species), lo que puede afectar la función mitocondrial y las vías de señalización celular e inducir la muerte celular (Michałowicz, 2014; Sonavane & Gassman, 2019).

La exposición al BPA se ha asociado con la obesidad tanto en niños como en adultos debido a su capacidad para promover la proliferación y diferenciación de preadipocitos, lo que favorece la acumulación de lípidos (Wang et al., 2022). Se ha observado que los daños son significativos en niños y adolescentes, causando anormalidades en la reproducción, problemas cardiovasculares y se ha asociado incluso con el cáncer de mama y próstata, así como con diabetes tipo 2,

disfunciones tiroideas, obesidad e hipertensión (Vilarinho et al., 2019; P. Sangai & A. Pandya, 2021;Wang et al., 2022 Songue Same et al., 2023).

El BPA también interfiere con el eje hipotálamo-hipófisis-testículo, afectando la espermatogénesis, así como la motilidad y el conteo espermático, lo que puede llevar a la anovulación e infertilidad (Abraham & Chakraborty, 2019; Ma et al., 2019). Además, puede afectar el sistema cardiovascular, provocando arritmias y cambios en los miocitos cardíacos, con posibles alteraciones estructurales y funcionales a largo plazo (Wang et al., 2022).

Debido a su carácter lipofílico, el BPA puede acumularse en tejidos adiposos, donde puede afectar la actividad de receptores y enzimas cruciales para el control del peso corporal (Ma et al., 2019; Sonavane & Gassman, 2019). Se ha demostrado que reduce la tasa de oxígeno y la producción de ATP, así como la disfunción mitocondrial en células hepáticas (Michałowicz, 2014).

En el sistema nervioso, el BPA puede inducir apoptosis en células neuronales y reducir la fosforilación de proteínas asociadas a la supervivencia celular, como BAX y P53 (Michałowicz, 2014). La exposición prenatal podría aumentar el riesgo de ansiedad y depresión durante la infancia (Wang et al., 2022). Atkinson & Roy, 1995, identificaron un metabolito reactivo del BPA, el BPA-3,4-quinona, que puede formar enlaces covalentes con el ADN en presencia de peroxidasa, lo que podría causar daño genético (Michałowicz, 2014).

La exposición al BPA puede tener una amplia gama de efectos tóxicos en la salud humana, incluidos problemas cardiovasculares, obesidad, trastornos metabólicos, alteraciones en la función endocrina, daño al ADN y carcinogénesis, entre otros.

2.6 Metabolismo

La eliminación del bisfenol A del cuerpo humano es un proceso que evaluar para determinar los riesgos asociados con su exposición. Debido a consideraciones éticas y limitaciones para identificar individuos no expuestos a este compuesto, solo

un número limitado de estudios ha abordado este problema (Vandenberg et al., 2007).

Cuando el BPA ingresa al cuerpo por vía oral, debe atravesar el tracto gastrointestinal y llegar al hígado, donde sufre diversas transformaciones metabólicas. Las enzimas especializadas en la metabolización de xenobióticos son clasificadas en las categorías de Fase I conformada principalmente por la familia de citocromo P450, Fase II, por enzimas que conjugan productos de generados durante la Fase I y producir nuevos intermediarios; y enzimas transportadoras, proteínas que se encargan de la excreción de estos productos (Iwano et al., 2018).

Durante la Fase I, el BPA no se metaboliza por completo, pero es conjugado rápidamente con ácido glucurónico durante la Fase II, en menor medida puede reaccionar con sulfato para formar BPA-sulfato (Geens et al., 2012). La glucuronidación es la principal vía de eliminación del BPA, transformándolo en moléculas hidrofílicas aumentando su solubilidad y pueden excretarse fácilmente a través de la bilis y orina (Iwano et al., 2018).

Simultáneamente a la glucuronidación, se ha observado que el bisfenol A puede experimentar sulfatación, aunque en menor grado, especialmente en los hepatocitos del hígado. Esta vía metabólica secundaria contribuye a la eliminación del BPA del cuerpo, aunque su importancia relativa puede variar dependiendo de varios factores, como la exposición oral (Wang et al., 2022). Estudios realizados en ratas han mostrado que los metabolitos de BPA son excretados principalmente en heces y un bajo porcentaje de excreción en orina, cerca del 1% se excreta como forma libre (Michałowicz, 2014).

Durante un estudio realizado en humanos se administraron 5 miligramos de BPA deuterado (BPA-d_{16}) y se observó una eliminación completa en 24 horas. Se detectó únicamente en su forma glucuronidada y no se encontró en su forma libre. Este estudio sugiere que el BPA es rápidamente absorbido por el tracto gastrointestinal, conjugado con ácido glucurónico en el hígado, y excretado principalmente a través de la orina, lo que difiere del proceso observado en ratas (Vandenberg et al., 2007).

Además, el BPA puede ser biotransformado por animales, plantas e incluso microorganismos. Algunos metabolitos formados, como el 3-hidroxibisfenol A y 4-metil-2,4-bis(4-hidroxifenil)pent-1-eno presentan una actividad estrogénica superior a la del compuesto original, la Fig. 6 muestra algunos de los metabolitos identificados (Michałowicz, 2014).

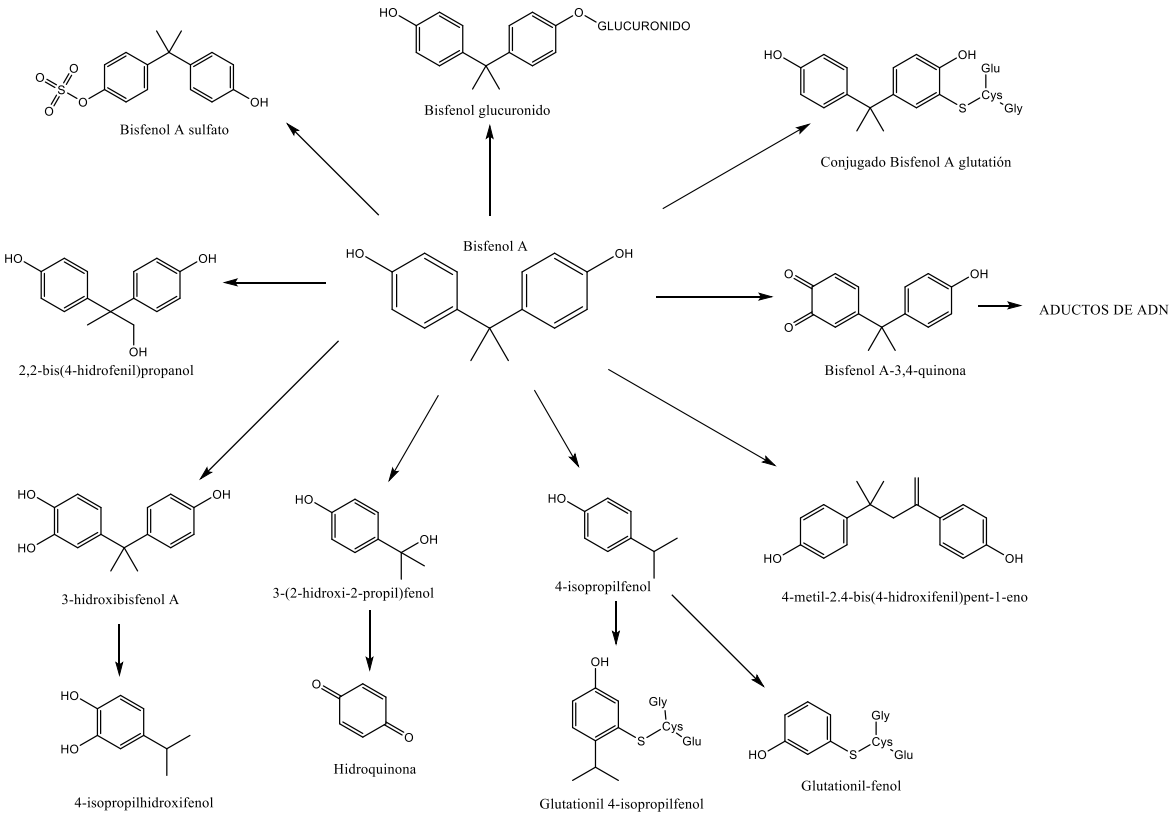


FIG. 6 BIOTRANSFORMACIÓN DE BPA

2.6.1 Metabolismo de BPA en el hígado

Los xenobióticos que ingresan al cuerpo por vía oral son absorbidos en el tracto gastrointestinal, consecuentemente pasan al hígado, donde son metabolizados previo a ser distribuidos por todo el organismo (Ma et al., 2019). El hígado cumple un papel crucial en el metabolismo del bisfenol A. La glucuronidación, es la principal vía mediante la cual el hígado excreta compuestos exógenos y endógenos. El BPA-glucurónido es el principal metabolito en animales y humanos, en la mayoría de los

ensayos *in vitro* no presenta actividad estrogénica (Kang et al., 2006; Vandenberg et al., 2007).

Estudios relacionados en el metabolismo de esta sustancia, se ha empleado el modelo de ratas Sprague-Dawley, observándose que el BPA se adsorbido en el intestino y es glucuronidado en el hígado, posteriormente el BPA-glucurónido es excretado a través de la bilis y la sangre venosa. Se ha registrado una disminución significativa en la excreción biliar del glucurónido en ratas preñadas, lo que resulta en un aumento en la excreción por vía venosa (Iwano et al., 2018).

Investigaciones sobre la farmacocinética en ratas han revelado que glucurónido es el principal metabolito presente en plasma sanguíneo, esto sugiere que la glucuronidación es la principal vía de biotransformación del BPA en el hígado (Iwano et al., 2018). La UDP-glucuronosiltransferasa 2B15 (UGT2B15) es la enzima hepática responsable de esta transformación (Vandenberg et al., 2007).

Inicialmente, el BPA se conjuga como monoglucurónido y la formación de un metabolito diconjugado (glucurónido/sulfato) solo ocurre en condiciones de exposición a dosis elevadas. La sulfatación es catalizada por la fenol sulfotransferasa, una isoforma de la familia SULT1, que presenta una mayor actividad en ratas macho en comparación con las hembras (Iwano et al., 2018).

Aunque el hígado podría producir metabolitos con una mayor actividad estrogénica, se reconoce que esta vía metabólica no es significativa bajo condiciones normales y solo se activa cuando la glucuronidación es ineficiente (Vandenberg et al., 2007).

2.6.2 Metabolismo de BPA en el intestino

Cuando se expusieron ratas Sprague-Dawley al bisfenol A, se observó que muchos de los compuestos absorbidos por el intestino fueron metabolizados en forma de glucurónidos. Este metabolito de glucurónido fue excretado tanto en el lado mucoso del intestino como en el lado seroso del colon. Se encontró que el BPA experimentó una alta glucuronidación al atravesar el lumen intestinal de las ratas. Por otra parte, se observó que la excreción a través de la mucosa intestinal era mayor que a través de la vía serosa. Esto sugiere que el yeyuno proximal juega un papel importante en

la defensa contra los efectos adversos del BPA después de la ingestión oral (Iwano et al., 2018).

2.7 Exposición infantil

Los estudios de biomonitoreo sobre la exposición al bisfenol A en diferentes partes del mundo han mostrado contundentemente que los niveles de BPA urinario son más altos en niños que en adultos (Lehmler et al., 2018). La exposición al BPA durante el embarazo o en periodos cortos después del nacimiento se ha asociado con la exacerbación de enfermedades en el futuro. Se ha observado que la exposición durante el desarrollo fetal o temprano en la infancia puede ser más perjudicial que la exposición en la edad adulta, ya que puede alterar permanentemente los procesos de desarrollo y llevar a consecuencias a lo largo de toda la vida, incluso para la descendencia (Roy et al., 2012).

Estudios realizados por el Centro de Control de Enfermedades de Estados Unidos a una población de 2500 personas revelaron que el 92.6% de los participantes tenían BPA en su organismo. Las concentraciones más altas fueron halladas en niños en comparación con adultos, con niveles de 4.5 $\mu g/dm^3$ y 2.55 $\mu g/dm^3$, respectivamente (Michałowicz, 2014).

La exposición temprana al BPA puede alterar el desarrollo y la maduración de las células inmunitarias, afectando los mecanismos de defensa e inmunorreguladores provocando afecciones más adelante en la vida. También puede causar cambios más sutiles, como la alteración de la capacidad funcional de los leucocitos, cambios en el tráfico de leucocitos y en las vías de comunicación necesarias para una respuesta inmune controlada (Gebru & Pang, 2023; Kodila et al., 2023; Xu et al., 2016).

La exposición prenatal al BPA ha sido asociada con ansiedad, depresión, comportamientos agresivos e hiperactividad en los niños. Se han detectado concentraciones de BPA en la orina de niños entre 3 y 11 años en el intervalo de 0.1-0.2 µg/L (Abraham & Chakraborty, 2019) . Esta exposición prenatal también ha

sido vinculada con un aumento significativo en la incidencia de obesidad infantil en la Unión Europea, con una probabilidad entre el 20 al 69% de causar 42,400 casos de obesidad infantil (Mandel et al., 2019). Asimismo, se ha encontrado una relación entre el aumento de los niveles de BPA urinario y el aumento de peso corporal en niñas entre 9 y 12 años, lo que sugiere que el BPA podría ser un contaminante obesogénico (Michałowicz, 2014).

La exposición al BPA durante etapas tempranas del desarrollo también puede aumentar la incidencia de infertilidad y provocar anormalidades en el tracto genital (Vandenberg et al., 2007). En poblaciones como la canadiense y la europea, se ha detectado la presencia de este compuesto en la orina de niños, con concentraciones más altas en el rango de edad de 6 a 11 años (Abraham & Chakraborty, 2019). En niños estadounidenses de la misma edad, la concentración media de BPA en la orina fue de 1.34 µg/L (Lehmler et al., 2018).

2.8 Migración a alimentos y bebidas

Cuando los materiales de empaque entran en contacto con alimentos y bebidas, los componentes pueden transferirse mediante un proceso de difusión comúnmente conocido como "migración" (Schmid & Welle, 2020). El BPA se emplea como monómero en la producción de polímeros plásticos y es fácilmente detectable. La presencia de impurezas en el polímero, la exposición a altas temperaturas, el contacto con soluciones alcalinas y la luz UV pueden acelerar la degradación del polímero a BPA (Priovolos & Samanidou, 2023). Aunque el enlace carbonato es estable, puede fragmentarse por interacción con soluciones ácidas, alcalinas o agua caliente, lo que resulta en una mayor liberación de BPA (Kang et al., 2006; Vilarinho et al., 2019). Se ha sugerido que las bebidas y alimentos enlatados que se someten a procesos de calentamiento y presentan daños pueden contener concentraciones significativas de BPA (Vilarinho et al., 2019). En la Tabla 3 se presentan algunas concentraciones de BPA determinadas en diferentes productos y países.

El BPA ha sido detectado con frecuencia en bebidas de diferentes países, incluyendo España, Estados Unidos, Canadá y Portugal (Wu et al., 2019). Las

investigaciones han revelado la presencia de BPA en agua embotellada almacenada a temperatura ambiente y expuesta a la luz solar, las concentraciones aumentan significativamente con la exposición a la luz solar (40°C) alcanzando los 11.81 ng/mL (Leena et al., 2016). En Camerún, se han detectado concentraciones de 2200 ng BPA por litro de agua en bolsa (Songue Same et al., 2023), mientras que en Grecia se encontró BPA en varias bebidas en concentraciones que van desde 1.08 hasta 2.30 ng/mL (Tzatzarakis et al., 2017). En Bélgica, se han realizado análisis en alimentos y bebidas, encontrando una concentración máxima de 1260 ± 90 ng/L en bebidas (Regueiro & Wenzl, 2015). En Portugal, se encontró BPA en diversas bebidas gasificadas, con una concentración promedio de 710 ng/L y los niveles más altos en bebidas con sabor cola (4020 ng/L) (Cunha et al., 2011).

La presencia de BPA también se ha comprobado en botellas de PET, polipropileno y polietileno, con concentraciones detectadas por debajo de 30 ng/L en agua embotellada, lo que sugiere la posibilidad de contaminación previa al embotellamiento o durante el proceso de reciclaje del PET (Chailurkit et al., 2017).

La temperatura juega un papel importante en la migración de esta sustancia como lo muestra un estudio con agua embotellada almacenada a diferentes temperaturas (4°C, 25°C y 55°C) y encontró correlación entre la temperatura y la concentración de BPA migrado 5.96, 5.62 y 8.80 ng/mL respectivamente (P. Sangai & A. Pandya, 2021). Otros factores que influyen en la migración de BPA son el tiempo de contacto entre el producto y el empaque y el pH (Priovolos & Samanidou, 2023).

Se ha observado que los alimentos envasados en vidrio y Tetrapak también pueden contener BPA, con concentraciones en un intervalo de 0.1-1.28 ng/g (Geens et al., 2012). En un análisis de bebidas, se encontró que el 51% de las muestras contenían un promedio de 1030 ng BPA/L (Fasano et al., 2015).

TABLA 3 CONCENTRACIÓN DE BPA EN ALIMENTOS

Alimento	Material de empaque	País	Concentración	Referencia
Leche evaporada	Lata	Canadá	15.3 ng/g	(Cao et al., 2011)
Pescado	Lata	Canadá	106 ng/g	(Cao et al., 2011)
Pescado Y derivados	SD	Noruega	1.2 ng/g	(Ma et al., 2019)
Carne y derivados	SD	Noruega	0.24 ng/g	(Ma et al., 2019)
Pollo	SD	Taiwán	262.15 ng/g	(Ma et al., 2019)
Cerdo	SD	Taiwán	133.79 ng/g	(Ma et al., 2019)
Res	SD	Taiwán	419.26 ng/g	(Ma et al., 2019)
Jalapeño	Lata	México	2 ng/g	(Munguia-Lopez et al., 2002)
Atún	Lata	México	82 ng/g	(Kang et al., 2006)
Jugos, refrescos. Carne, champiñones, salsa de tomate, pescado.	Plástico Tetrapak Vidrio Lata	Grecia	LOD-10.2 ng/mL	(Tzatzarakis et al., 2017)

Champiñones, salsa de tomate, ajo, atún, crema.	Lata	Turquía	218.60-1858.71 ng/kg	(Sungur et al., 2014)

SD: Sin dato

LOD: Limite de detección

2.9 Legislaciones para el control

Debido a la alta demanda y los diferentes efectos tóxicos asociados al BPA, las instituciones de salud han establecido límites de migración para los materiales plásticos permitidos a tener contacto con alimentos y bebidas. En la Unión Europea, desde 2004 se estableció un límite de migración (LM) de 0.6 mg de BPA/kg de material de empaque debido a la frecuente migración de BPA en bebidas y alimentos (Geens et al., 2012; Liao & Kannan, 2014). Canadá fue el primer país en eliminar el BPA de los biberones para bebés en 2008, reemplazándolo con Bisfenol S (BPS), y la Comisión Europea restringió la producción de biberones con BPA en 2011 (Michałowicz, 2014; Ma et al., 2019).

La FDA (Food and Drug Administration) ha llevado a realizado estudios sobre la seguridad del BPA en contenedores y empaques de alimentos. Aunque en la década de 1960 aprobó su como aditivo en materiales con contacto de alimentos, en 2008 emitió un informe que indicaba que las concentraciones encontradas en alimentos y bebidas eran seguras y podía continuar su uso y ese mismo año estableció niveles seguros de ingesta de 5 mg/kg pc/día para toxicidad sistémica y 50 mg/kg pc/día para alteraciones en la reproducción y descendencia. Tras una petición en 2012, se prohibió su uso en la producción de polímeros destinados a fórmula infantil y biberones, y en 2014 se concluyó que no había evidencia suficiente para modificar los márgenes de concentración seguros (FDA, 2023).

La EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) ha realizado una serie de estudios sobre los riesgos del BPA para los consumidores destacando los años

2006, 2015 y 2023. En 2006 estableció el primer límite de ingesta diaria tolerable (IDT) de 50 µg/kg pc/día, que en 2015 se redujo provisionalmente a 4 µg/kg pc/día. Durante abril de 2023, tras una reevaluación de la seguridad de este compuesto, se redujo significativamente el IDT a solo 0.2 ng/kg pc/día, una disminución de 20,000 veces respecto lo establecido durante 2015 (EFSA, 2023).

La ANSES (Agency for Sanitary Food Safety) publicó una opinión científica sobre los riesgos del bisfenol A, enfatizando los riesgos potenciales y la necesidad de reducir la exposición (Juan García A. & Gallego C., 2015; Vilarinho et al., 2019). Bajo la ley No. 2012-1442, se suspendió la fabricación, comercialización, importación y exportación de envases que contengan BPA y en 2015 se prohibió por completo su uso en la producción de materiales de empaque y productos destinados a tener contacto con alimentos, armonizando con la regulación europea EU No. 10/2011 (JORF, 2015).

En Latinoamérica el bloque comercial Mercosur conformado por Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay se rige por la Resolución 3/92 del GMC (Grupo Mercado Común), en el cual se exige que los productos plásticos en contacto con alimentos cumplan los requisitos de migración global y específica, similares a los de la Unión Europea y la FDA. Así mismo, varios países de la región han prohibido el uso de BPA en productos destinados a bebés y niños, como lo son Argentina, Brasil, Costa Rica y Ecuador (Food Contact Material Regulations – Mercosur Region, 2021).

Se muestra un mapa en la Fig. 7 en color azul los países que cuentan con alguna normatividad respecto al uso y monitoreo de BPA en productos alimenticios y en sus habitantes. México solo cuenta con algunas propuestas para la regulación de BPA, la última propuesta registrada fue en el año 2020 para la eliminación de BPA en el papel térmico (Senado de la República Mexicana, 2020).

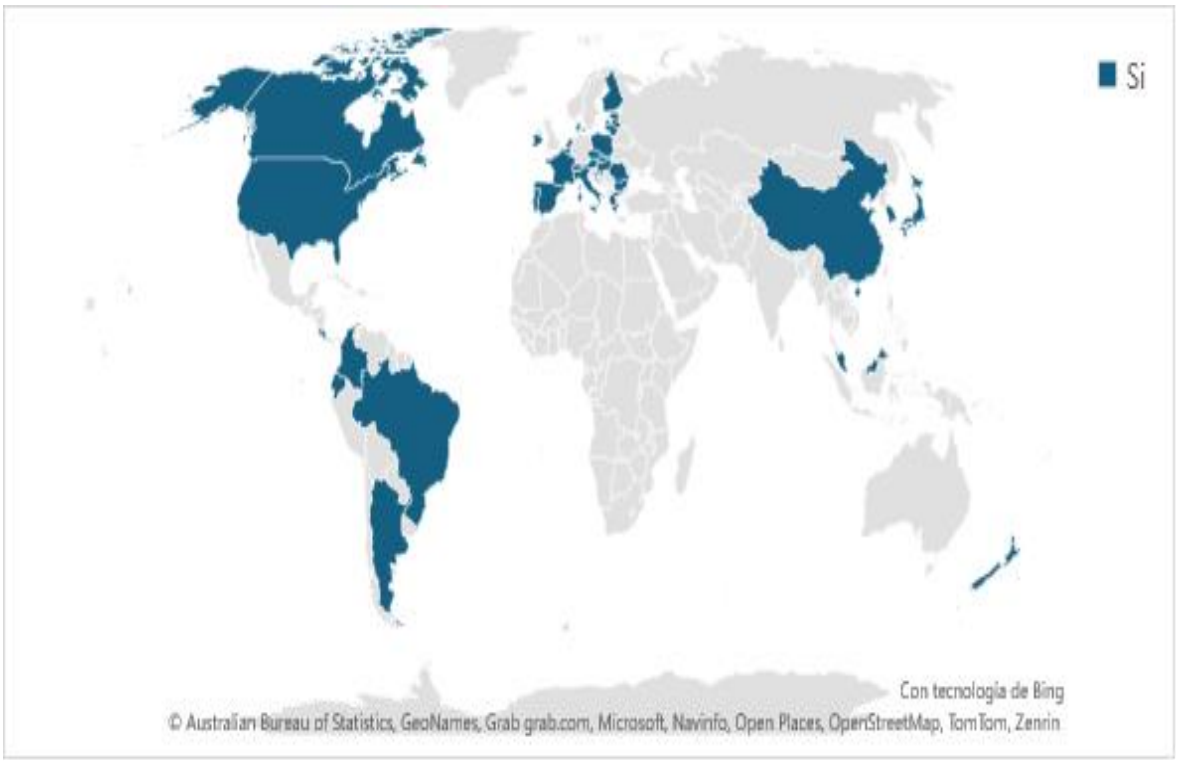


FIG. 7 PAÍSES CON ALGUNA LEGISLACIÓN PARA EL USO DE BPA

2.10 Técnicas analíticas para la detección de bisfenol A

Para la detección de BPA en diferentes matrices, incluyendo desde muestras ambientales, alimentos, bebidas y muestras de interés biomédico, se han empleado diversas técnicas analíticas. Entre estas, la cromatografía de líquidos o HPLC por su grafía en inglés es la más utilizada debido a la sensibilidad, rapidez, facilidad de uso y bajo costo, igualmente permite el desarrollo de métodos en línea con los principios de la química verde (Cunha et al., 2011; Priovolos & Samanidou, 2023).

Las diferentes técnicas analíticas se pueden clasificar según su sensibilidad para detectar concentraciones en nanogramos o picogramos. En este sentido, las técnicas más sensibles son las cromatografías acopladas a detectores de masas (Abraham & Chakraborty, 2019).

Se han desarrollado numerosos métodos utilizando principalmente cromatografía de líquidos con diferentes detectores, como UV (ultravioleta), FLD (fluorescencia), ECD (captura de electrones) y MS-MS (masas/masas), así como cromatografía de gases acoplada a masas (GC-MS) (Lin et al., 2022). En la Tabla 4 se aprecia un compendio de los diferentes métodos empleados.

Aunque la cromatografía de gases también proporciona métodos para la detección y cuantificación de BPA, su uso puede ser limitado debido a la composición de la fase móvil y los efectos de la matriz, lo que puede afectar la reproducibilidad de los resultados. Por otra parte, la cromatografía de gases requiere un paso adicional de derivatización para la determinación de BPA, lo que complica el procedimiento en comparación con la cromatografía de líquidos (Dang et al., 2015; Lin et al., 2022).

TABLA 4 SISTEMAS CROMATOGRÁFICOS EMPLEADOS EN LA DETECCIÓN DE BPA

Columna	Fase móvil	Detector	Referencia
ODS- 3 (5 µm, 4.6 x 250 mm)	ACN:H_2O (40:60)	PAD	(Sungur et al., 2014)
C18 (5 µm, 4.6 x 150 mm)	H_2O:ACN:MeOH (60:35:5)	FLD	(Fasano et al., 2015)
BEH C18 (1.7 µm, 2.1x100 mm)	MeOH:H_20 (90:10)	MS	(Dreolin et al., 2019)
C18 (2.6 µm, 4.6 x 100 mm)	MeOH:H_20 (50:50)	UV	(Rodriguez et al., 2019)
C18 (5 µm, 4,6 x 150 mm)	ACN: H_20 (65:35)	PDA	(P. Sangai & A. Pandya, 2021)
BEH C18 (1.7 µm, 2.1x50 mm)	ACN: H_20 (60:40)	UV	(Altannak & Alsaleh, 2015)
C18 (5 µm, 4,6 x 250 mm)	ACN: H_20 (65:35)	UV	(Reyes-Gallardo et al., 2016)

C18 (5 µm, 4,6 x 250 mm)	MeOH:H_20 (50:50)	UV	(Parto et al., 2022a)
C18 (3 µm, 4,6 x 150 mm)	ACN: H_20 (46:54)	UV	(Rezaee et al., 2009)
C8 (4,6 x 75 mm)	ACN+AF: H_20 (46:54)	UV	(Dang et al., 2015b)
C18 (10 µm, 4,6 x 250 mm)	MeOH:H_20 (70:30)	UV	(Hadjmohammadi & Saeidi, 2010)

PAD: photodiode array detector

MS: mass spectrometer

FLD: Fluorimetric detector

ACN+AF: Acetonitrilo y ácido fórmico 0.1%(v/v)

2.10.1 Extracción

En el análisis químico, la preparación de la muestra es un paso crucial para garantizar la adecuada detección de los analitos de interés, especialmente en matrices complejas. Dado a que los instrumentos analíticos existentes no pueden manejar directamente estas matrices, por lo que es necesario aislar y concentrar los analitos previos a su análisis. Por ello, se han desarrollado diversas técnicas sensibles, efectivas y rápidas en el campo de la preparación de muestras (Farahin Mohd Ali et al., 2023).

Algunas de las técnicas de extracción y aislamiento de analitos más utilizadas incluyen: SPE (Solid Phase Extraction) con diferentes materiales sorbentes, SPE magnética, SPE dispersiva, extracción asistida por microondas, microextracción liquido-liquido (Priovolos & Samanidou, 2023), microextracción dispersiva líquido-líquido (DLLME por su grafía en inglés) (Cunha et al., 2011; Lv et al., 2014) y uno de los métodos clásicos es la extracción líquido-líquido (Farahin Mohd Ali et al., 2023).

Estas técnicas ofrecen diferentes ventajas y se seleccionan según las características de la muestra y los analitos de interés, así como los requisitos específicos del análisis.

2.10.1.1 Extracción en fase solida (SPE)

Exacto, la extracción en fase sólida es un método que implica la separación y concentración de analitos de una muestra compleja mediante la adsorción en un material sorbente adecuado. Posteriormente, las impurezas se eliminan mediante un lavado con un sistema de lavado adecuado y los analitos retenidos se recuperan selectivamente. Este método permite obtener eluidos lo suficientemente limpios, lo que evita la necesidad de tratamientos de purificación adicionales. La SPE puede tener limitaciones, como los elevados costos, procesos complicados y el tiempo de extracción prolongado (Mo et al., 2017).

2.10.1.2 Microextracción dispersiva líquido-líquido (DLLME)

La microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME) ha demostrado ser un método efectivo para la extracción de BPA en muestras de agua, así como en otros compuestos como pesticidas, hidrocarburos aromáticos, aminas aromáticas, entre otros. Este procedimiento es simple, rápido y amigable con el medio ambiente, la DLLME requiere volúmenes más pequeños de solventes y tiempos de extracción más cortos (Rezaee et al., 2009). En este método, se forma una solución turbia mediante la adición de una mezcla de solventes extractivos y dispersivos a la muestra acuosa. Las pequeñas gotas dispersas contienen los analitos de interés y luego se sedimentan mediante centrifugación. Este sedimento puede ser analizado directamente por cromatografía de gases o cromatografía de líquidos (Cunha et al., 2011; Coutinho et al., 2022).

2.10.1.3 Extracción líquido-líquido.

La extracción líquido-líquido, también conocida como extracción por solventes, es una técnica ampliamente utilizada y una de las más antiguas para la purificación de

muestras. Este método implica la distribución del analito de una matriz entre dos solventes inmiscibles. El solvente de extracción puede ser completamente inmiscible o parcialmente miscible en la matriz, lo que facilita su separación. Durante el proceso de extracción líquido-líquido, se pueden agregar sales como el cloruro de sodio o ajustar el pH según sea necesario para mejorar la eficiencia de la extracción y la selectividad del analito. La extracción líquido-líquido consta de dos etapas fundamentales: la etapa de contacto o mezclado, donde el analito se distribuye entre los dos solventes, y la etapa de separación, donde se separan los dos solventes y se recupera el analito deseado (Kyle, 2017; Berk, 2018).

3 Metodología

3.1 Selección de la longitud de onda de máxima absorción

Se preparó una solución patrón de 25 mg/L de BPA (Sigma Aldrich y pureza >99%) en metanol (Sigma Aldrich grado HPLC, >99.9%) como disolvente. Posteriormente se realizó un análisis por espectrofotometría UV-Vis con un barrido de 200 - 400 nm, se emplearon celdas de cuarzo con 1 cm de paso óptico y un espectrómetro UV-Vis, Perkin Elmer, Lambda 25. Se evaluaron soluciones a pH 3.0, 5.0 y 7.0 ajustando con ácido fórmico RA (Fermont al 88%) e identificó la longitud de onda máxima y comparó con los datos reportados en la bibliografía.

3.2 Selección de fase móvil

De acuerdo con la Tabla 5 se aprecian diferentes fases móviles empleadas con mayor frecuencia para la determinación de BPA en distintas matrices. Se prepararon disoluciones estándar de BPA en las proporciones que indica la tabla en proporción volumen:volumen (v:v), posterior a ello se llevó a cabo el análisis por triplicado mediante UV-Vis en la región de 200-400 nm y a su vez se empleó un blanco en la misma proporción de la mezcla de disolventes. Se utilizó la ecuación de Lambert & Beer para determinar el coeficiente de absortividad molar (ε).

TABLA 5 FASES MÓVILES MÁS FRECUENTES

Fase	Proporción (v:v)	Matriz	Referencia
MeOH: H_2O	75:25	Vasos y tazas de plástico	(Chen et al., 2016)
H_2O: ACN	55:44	Agua de río y grifo	(Rezaee et al., 2009)
MeOH: H_2O	50:50	Agua embotellada	(Parto et al., 2022)
H_2O: ACN	50:50	Bebidas embotelladas	(Petanovska et al., 2019)

H_2O: ACN	30:70	Alimentos enlatados	(Ceballos-Luna et al., 2022)

ACN: Acetonitrilo

MeOH: Metanol

3.3 Adquisición de la muestra

La selección de la muestra se llevó a cabo mediante una encuesta realizada previo al estudio. Se acudió a tiendas de conveniencia y supermercados de la zona de estudio para adquirir un total de 30 muestras en la presentación de 355 mL y recolectó información como; lote, fecha de caducidad, fecha de empaque, material de empaque, integridad del recipiente y almaceno a temperatura entre 3 - 4 °C hasta su análisis (Ginter-Kramarczyk et al., 2022).

3.4 Evaluación de extracción

3.4.1 Extracción en fase sólida (SPE)

Se empleó el método descrito por (Fasano et al., 2015), con algunas modificaciones específicas. El cartucho de extracción se colocó en el manifol y la línea de vacío con una presión recomendada de 20 MPa, luego los cartuchos C18 (6 cc, 1 g) fueron acondicionados al agregar un volumen inicial de 12 mL de agua desionizada y consecutivamente 12 mL de MeOH grado HPLC. No se dejó secar la sílice para después poder realizar la adición de 10 mL de muestra desgasificada con un flujo de goteo de 20 gotas por minuto. Al finalizar se arrastró el material no absorbido con 10 mL de agua desionizada y dejó secar por 5 minutos en la línea de vacío para finalmente eluir con 3 mL de metanol (Sigma Aldrich, grado HPLC>99.9%) y recolectar en un vial de 10 mL. Se evaporó la solución a sequedad y disolvió el sólido resultante con 1.5 mL de MeOH e inyectó el extracto en el cromatógrafo. La prueba se realizó por triplicado.

3.4.2 Extracción líquido-líquido con asistencia de baño ultrasónico

Tomando como referencia el método establecido por Mo et al., 2017 y, efectuando las modificaciones necesarias. Fue necesario desgasificar 20 mL de muestra y se colocaron en un tubo de vidrio de 100 mL, se añadió 4.3 g de carbonato de sodio anhidro (Merck, 99%), mediante agitación se disolvió la sal a esta nueva solución se agregó un volumen de 3 mL de acetato de etilo (Burdick & Jackson, grado HPLC>99.9%). Se sonicó durante 30 minutos y dejó reposar durante 10 minutos, posteriormente se recolectó la fase orgánica (fase superior) en un vial de vidrio de 10 mL. Se repitió el procedimiento desde la adición del acetato de etilo una vez más. El extracto se evaporó a temperatura ambiente hasta sequedad y reconstituyó en 1.5 mL de metanol HPLC, finalmente se inyectó al cromatógrafo.

3.4.3 Extracción líquido-líquido con asistencia de agitación magnética

Se siguió el procedimiento descrito por Liao & Kannan, 2013, con algunos ajustes necesarios para las condiciones experimentales. Se desgasificó 20 mL de muestra y se pesaron 5.0 g en un tubo de vidrio de 20 mL, a este se adicionó 6 mL de acetato de etilo Burdick & Jackson, grado HPLC>99.9%). La muestra se agitó durante 60 minutos y se dejó reposar durante 10 minutos, la fase orgánica fue conservada en un vial de vidrio y repitió el procedimiento desde la adición del acetato de etilo. Se evaporó el extracto a temperatura ambiente hasta sequedad y reconstituyó en 1.5 mL de metanol HPLC y se inyectó al cromatógrafo.

3.5 Cromatografía

El sistema cromatográfico empleado es un ACQUITY UPLC, clase H de la marca Waters, detector TUV monitoreo dual, Sample Manager FTN, sistema de bombas Quaternary Solvent Manager y horno de columna. El proceso de separación se llevó a cabo en una columna C18 Symmetry Columns, Waters (150 mm x 4.6 mm, 5µm), una fase móvil MeOH:H_2O en proporción 70:30 (v:v) y acidificada al 0.2% con ácido fórmico, el flujo de operación fue 0.6 mL/min, longitud de onda de monitoreo a 277 nm y un volumen de inyección de 10 µL.

Se empleo agua desionizada milli Q con resistividad de 18.2 mΩ, conductividad de 0.055 $\mu S.cm^{-1}$. Todos disolventes fueron filtrados con membranas de nylon de 47

mm de diámetro y un tamaño de poro de 0.45 µm (Pall corporation), se desgascificó con la asistencia del baño ultrasonido (Cole Parmer 8890).

3.5.1 Validación del método cromatográfico

De acuerdo con el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A. C. el método se evaluó como una prueba de valoración de impurezas por lo que se evaluaron los parámetros: precisión/adecuabilidad del sistema, linealidad del sistema, exactitud y repetibilidad, linealidad del método, precisión del método, límite de detección, límite de cuantificación.

3.5.1.1 Precisión del sistema

Se preparó un sextuplicado de una solución de BPA con concentración de 0.506 mg/L a partir de una solución stock mediante diluciones. Estas fueron inyectadas al cromatógrafo y midió su respuesta analítica (Tiempo de retención y Área). Se determinó la desviación estándar y coeficiente de variabilidad.

3.5.1.2 Adecuabilidad del sistema

Se inyectó por quintuplicado una solución del extracto enriquecido con estándar de BPA y determinó el valores del factor de capacidad (k´), la resolución (R) y factor de coleo (T) para cada inyección.

3.5.1.3 Linealidad del sistema

Se preparó por triplicado 7 niveles de concentración a partir de una solución stock y mediante diluciones en un intervalo de 0.5 a 70 mg/L.

Se inyectó en el sistema cromatográfico y midió el valor de área de cada nivel de concentración. para cada inyección. Mediante la aplicación del software Minitab se obtuvo el gráfico concentración vs área, la ecuación de la recta y el coeficiente de determinación (r^2).

3.5.1.4 Límite de detección y cuantificación

Se prepararon 5 blancos de reactivos siguiendo todo el procedimiento de extracción mediante el empleo de agua desionizada, se determinó la respuesta analítica (área

del pico). Y empleo la ecuación de la recta del sistema para aplicar las ecuaciones pertinentes.

3.5.1.5 Exactitud y repetibilidad de método

Al no conocer los componentes de la muestra y bajo recomendación de la Guía de Validación de métodos analíticos, se preparó un sextuplicado de muestras adicionadas con estándar de BPA (5.7 mg/L).

Como sustancia de referencia se usó la muestra real sin enriquecer de estándar de BPA, finalmente se determinó la cantidad recuperada del analito, el coeficiente de variación.

3.5.1.6 Linealidad del método

Se prepararon 3 muestras adicionadas con BPA en un intervalo de 0.5 a 2.0 mg/L y realizó todo el proceso de extracción. Los extractos aislados fueron acondicionados en 1.5 mL de MeOH para su inyección en el cromatógrafo.

4 Resultados y discusión

4.1 Selección de longitud de onda máxima de absorción

Se preparó una solución estándar de BPA con concentración de 25 mg/L, se empleó metanol de grado HPLC como disolvente. Se realizaron barridos en el intervalo de 200 - 400 nm con un intervalo de 1nm en un espectrómetro UV-Vis Lambda 25. Se colocó aproximadamente 2.5 mL de la solución en una celda de cuarzo y utilizó el disolvente como blanco analítico.

En la siguiente Fig. 8 se muestra el espectro UV de la solución estándar y detectó la presencia de tres máximos de absorción; 205, 227 y 277 nm en los tres análisis realizados.

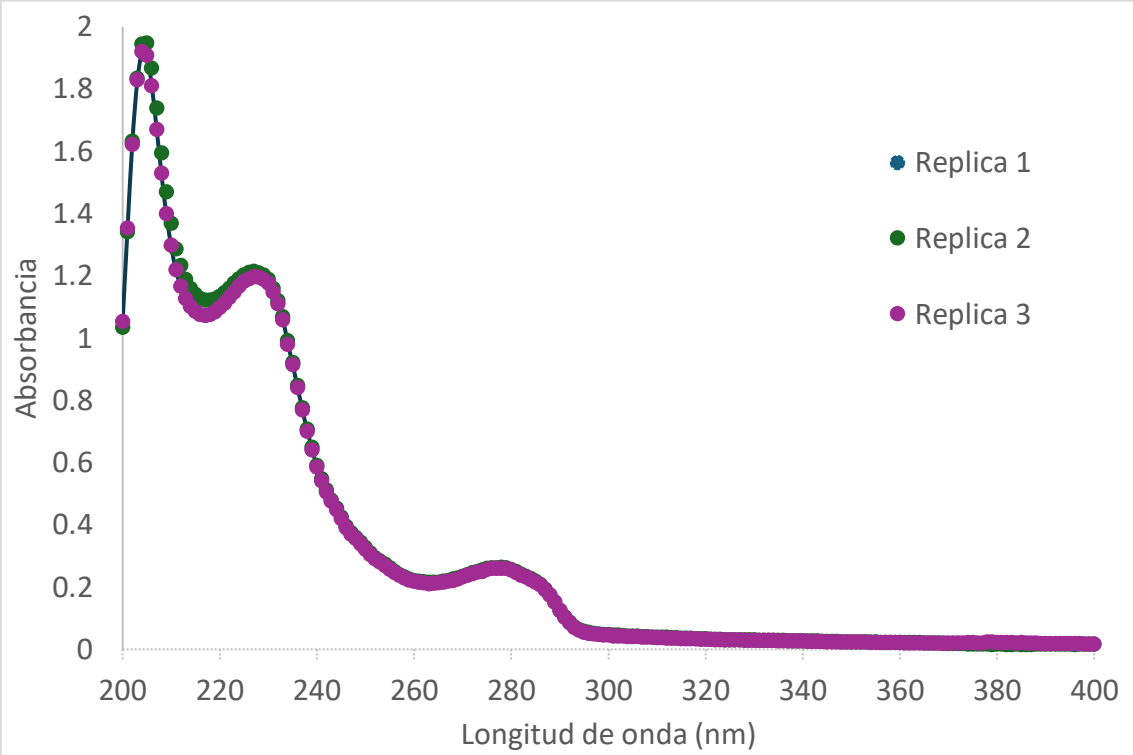


FIG. 8 IDENTIFICACIÓN DE MÁXIMOS DE ABSORCIÓN UV DE BPA

La estructura química del BPA se conforma por dos sistemas aromáticos disustituidos unidos por un carbono que funge como puente de forma simétrica, similar a un anillo de benceno disustituido. Al tratarse de un sistema aromático se deben apreciar tres bandas en el ultravioleta correspondientes al sistema insaturado

y al fenol dichas bandas se encuentran en 184, 210 y 270 nm, que son generadas por la transición electrónica de tipo π → π* (Thermo Spectronic). Bajo efecto batocrómico estas bandas características sufren un desplazamiento hacia el ultravioleta cercano (200-400 nm) por lo que se detectó su presencia a 205, 227 y 277 nm que puede desplazar la longitud de onda entre 10 y 20 nm, este desplazamiento está asociado al efecto del solvente o por los sustituyentes (Bai et al., 2011) en la posición -*para* del anillo de benceno respecto al hidroxilo del fenol. De acuerdo con las bases de datos, se reportan dos valores máximos de absorción en 227 nm y 275 nm (PubChem, 2019). Uno de los valores determinados experimentalmente coincide numéricamente, mientras la segunda longitud de onda difiere 2 nm.

También se prepararon tres soluciones estándar modificando el valor de pH con ácido fórmico, verificado con un potenciómetro. Después de obtener los espectros UV, se determinó el coeficiente de absortividad molar (ε), despejando ε de la ecuación de Lambert & Beer (Ecuación 1). En la Tabla 6 se muestra el comportamiento de BPA en función del pH de la disolución, mostrando cómo este ajuste favorece o disminuye la capacidad de absorción de luz de la especie en solución.

$$A = cb\varepsilon$$

ECUACIÓN 1 LEY LAMBERT & BEER

El BPA es una molécula que puede ionizarse y el pH es un factor que afecta la absorción de energía, se observó que a pH de 3.0 y a 227 nm los valores de absorbancia fueron más altos con respecto a los obtenidos a pH de 5.0 y 7.0, esto indica una mayor capacidad de absorber luz. Esto se refleja de manera numérica en el coeficiente de absortividad molar. El incremento del valor de absorbancia se debe a un efecto hipercrómico, ya que a pH 3.0 el BPA no se encuentra ionizado (ver Fig. 9), lo que limita la formación de enlaces de hidrógeno, dejando a las moléculas de BPA de forma aislada y con mayor exposición a la radiación, esto promueve el aumento de la señal en el espectro.

No se observó una diferencia significativa en los valores de absorbancia a una longitud de onda de 277 nm. Esta banda se conoce como banda secundaria o bencenoide corresponde a la transición de baja energía de π → π* y presenta baja intensidad (Roberts John D. & Caserio Marjorie C., 2014).

Con lo anterior, la longitud de onda adecuada, dada la intensidad de absorbancia y su coeficiente de absortividad molar es 227 nm, mientras que la longitud de onda de comprobación de la especie es 277 nm.

TABLA 6 COEFICIENTE DE ABSORTIVIDAD MOLAR A DIFERENTES VALORES DE PH

pH	Longitud de onda (nm)	Absorbancia	Coeficiente de absortividad molar (UA/mol L^{-1}* cm)
3	227	2.815	25705.45
	228	2.846	25988.53
	277	0.269	2456.40
	278	0.267	2438.14
5	226	1.247	11387.11
	227	1.243	11350.58
	277	0.284	2593.37
	278	0.285	2602.51
7	226	1.308	11944.13
	227	1.301	11880.21
	277	0.299	2730.35
	278	0.298	2721.22

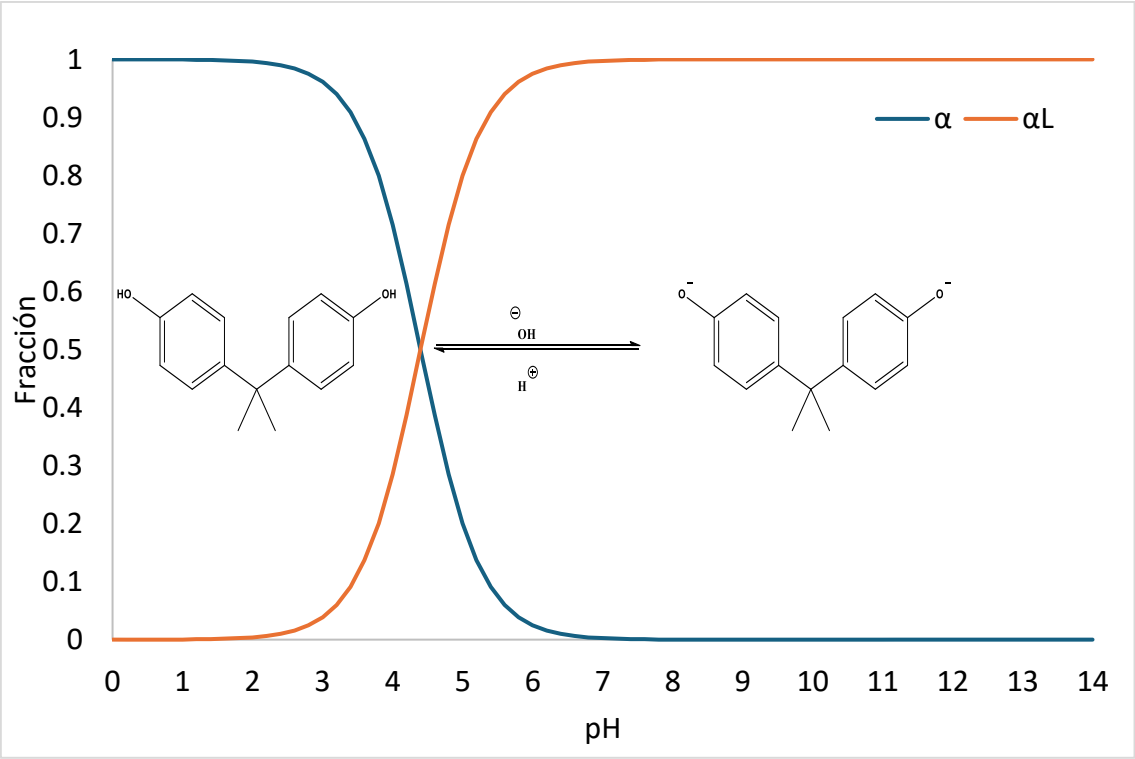


FIG. 9 DIAGRAMA TEÓRICO DE DISTRIBUCIÓN DE ESPECIE DE BPA

4.2 Selección de fase móvil

Se llevó a cabo la preparación de soluciones de BPA en las diferentes proporciones de disolventes, empleando agua desionizada y disolventes orgánicos grado HPLC. Posteriormente las muestras se analizaron por UV-Vis en la región de 200 a 400 nm, por triplicado.

En la Fig. 10, se muestran los espectros UV de las mezclas conformadas por ACN:H_2O, donde los máximos de absorción previamente señalados fueron fáciles de identificar. Se observó que las absorbancias de la mezcla en proporción 70:30 (v:v) fueron más altas con respecto al resto de las mezclas de la misma naturaleza. Asimismo, se notó que las absorbancias de menor intensidad se obtuvieron con la proporción 50:50 (v:v). Al ordenar las fases de forma decreciente con respecto a la absorbancia, se obtuvo el siguiente orden 70:30 > 30:70 > 50:50.

TABLA 7 DETERMINACIÓN DE COEFICIENTE DE ABSORTIVIDAD MOLAR DE LA FASE ACN:H_2O

Fase móvil ACN:H_2O	Longitud de onda (nm)	Absorbancia	[BPA] (mol/L)	Coeficiente de absortividad molar (UA/mol L^{-1}* cm)
50:50	227	1.165	1.051 x 10^{-4}	11081.58
	277	0.293	1.051 x 10^{-4}	2787.04
70:30	227	1.568	1.051 x 10^{-4}	14914.95
	277	0.393	1.051 x 10^{-4}	3738.25
30:70	227	1.376	1.051 x 10^{-4}	13088.63
	277	0.339	1.051 x 10^{-4}	3224.60

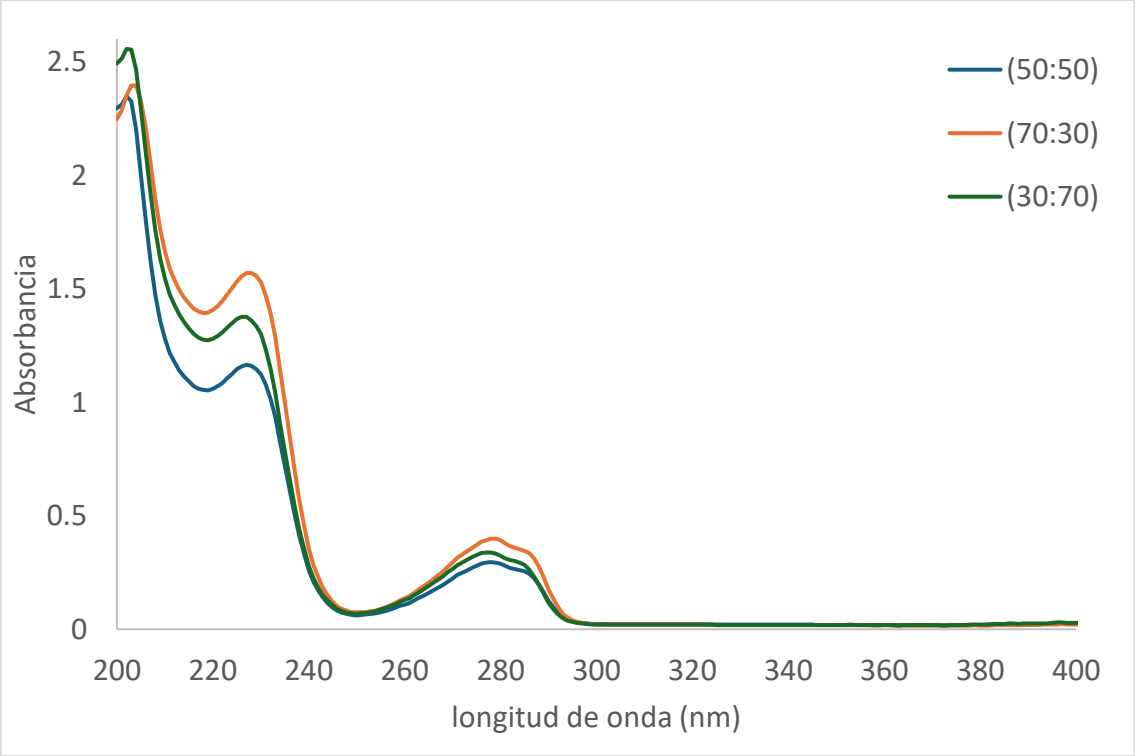


FIG. 10 ESPECTROS UV DE LA FASE ACN:H_2O

Para el caso de las mezclas MeOH:H_2O (Fig. 11), las señales con mayor intensidad se presentaron con las proporciones 50:50 y 70:30 con un comportamiento muy similar e inclusive se sobreponen en el gráfico. La mezcla 30:70 generó una señal con menor absorbancia. Al ordenar las fases con respecto a la absorbancia, se obtuvo el siguiente orden: 70:30 ≈ $50:50$ > 30:70.

Se determinaron los coeficientes de absortividad molar para cada mezcla y longitud de onda de interés (Tabla 7 y Tabla 8). Se observó que el BPA presento una mayor capacidad de absorción de luz cuando existe una mayor proporción de disolvente orgánico. Por lo tanto, la proporción 70:30 (v:v) se consideró adecuada para emplearse como fase móvil.

TABLA 8 DETERMINACIÓN DE COEFICIENTE DE ABSORTIVIDAD MOLAR DE LA FASE MEOH:H_2O

Fase móvil MeOH:H_2O	Longitud de onda (nm)	Absorbancia	[BPA] (mol/L)	Coeficiente de absortividad molar (UA/mol L^{-1}* cm)
50:50	227	1.277	$7.009x10^{-5}$	18220.40
	277	0.313	$7.009x10^{-5}$	4465.92
70:30	227	1.322	$7.009x10^{-5}$	18862.46
	277	0.326	$7.009x10^{-5}$	4651.41
30:70	227	0.819	$7.009x10^{-5}$	11685.59
	277	0.211	$7.009x10^{-5}$	3010.57

Las soluciones con valores más elevados de coeficiente de absortividad molar para ambos casos fueron con la proporción 70:30 (v:v). Al comparar ambas mezclas, el

empleo de MeOH es superior a ACN por casi 4000 unidades de absorbancia (UA) a 227 nm, mientras a 277 nm su valor se incrementa 913 UA.

La naturaleza del disolvente fue un factor importante, ya que afectó las propiedades solvatocrómicas de la disolución por las interacciones que pudo formar con el soluto, como los enlaces de hidrogeno o mejor conocidos como puentes de hidrógeno (Abeble Dagnaw, 2021). Tanto el acetonitrilo como el metanol son solventes polares, con una alta capacidad de solvatación, pero difieren en la capacidad de formar enlaces de hidrogeno. De acuerdo con la serie eluotrópica (ver anexo 6.1), el metanol posee una mayor capacidad de formación de enlaces de hidrogeno y puede eluir fácilmente analitos absorbidos en una fase estacionaria, por lo que la fase móvil utilizando metanol resulta ser la elección más favorable.

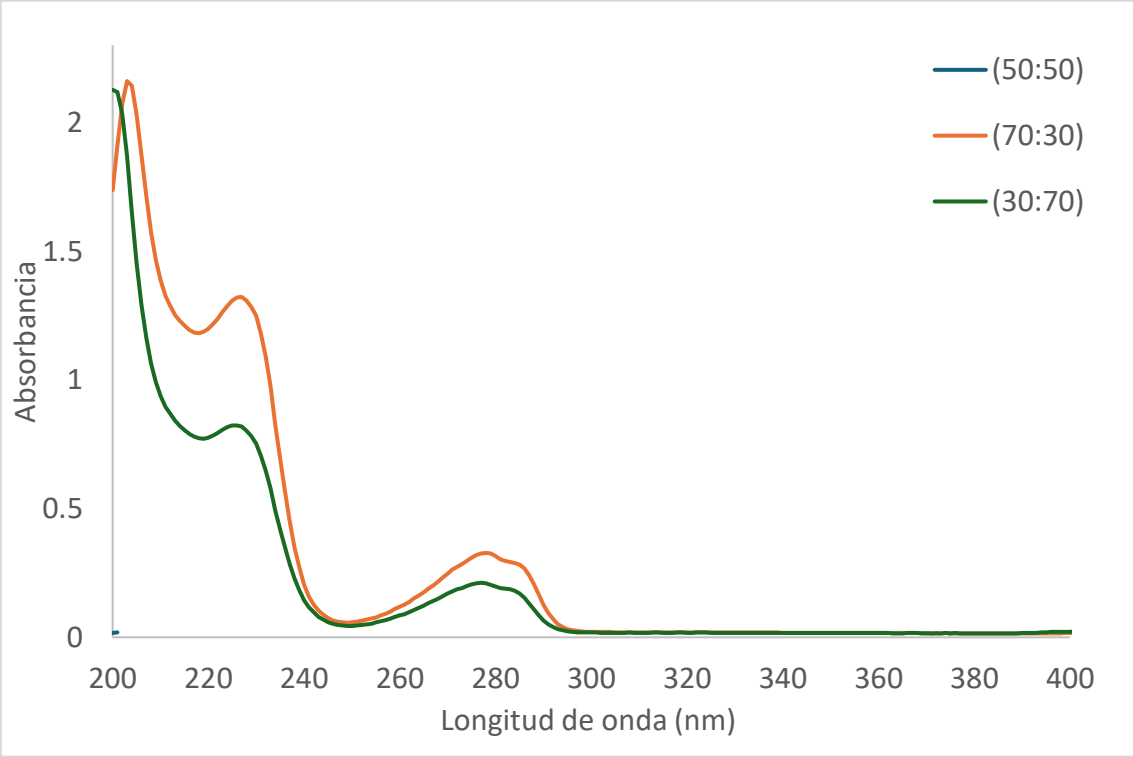


FIG. 11 ESPECTROS UV DE LA FASE MEOH: H_2O

4.3 Adquisición de la muestra

Las muestras fueron adquiridas en diferentes puntos de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT), esto incluyó supermercados y tiendas de conveniencia. Los detalles de identificación de las muestras fueron resumidos en la Tabla 9 que

se presenta a continuación. Todas las muestras se conservaron en refrigeración a temperaturas de 3°C a 4 °C hasta el momento de su análisis.

La metodología empleada por la empresa para la generación de los lotes de su productos no permitió la obtención de información sobre la fecha de envasado o si las botellas están fabricadas con un material virgen o reciclado.

TABLA 9 INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Presentación	Material de empaque	Hora de elaboración/empaque	Fecha caducidad	Lote
355 mL	PET	02:27	18 NOV 23 5	717 RQ
		09:43	26 NOV 23 5	
		13:48	02 DIC 23 5	
		14:50	02 DIC 23 5	
		09:44	17 DIC 23 5	717 RCQ
		11:15	17 DIC 23 5	
		04:47	10 ENE 24 5	
		04:47	19 ENE 24 5	

4.4 Evaluación de extracción

Para evaluar y seleccionar el mejor método de extracción, se utilizaron soluciones de BPA con concentraciones conocidas en tres métodos diferentes, seguido de un monitoreo por espectroscopia UV-Vis. Después de comparar los resultados preliminares, no se encontró una diferencia significativa entre los tres métodos. Cada método se evaluó posteriormente con la muestra real y se monitoreo por espectroscopia UV-Vis y HPLC-UV.

4.4.1 Extracción en fase sólida (SPE)

Después de acondicionar los cartuchos para la extracción, la solución problema se pasó a través del material absorbente a una velocidad baja para garantizar un mayor

tiempo de contacto. El analito fue eluido utilizando tres sistemas diferentes; MeOH, ACN y una mezcla MeOH:ACN en proporción 1:1 (v:v). El tiempo total empleado para la extracción fue de 120 minutos.

Los espectros obtenidos durante el monitoreo se muestran en la Fig. 12.

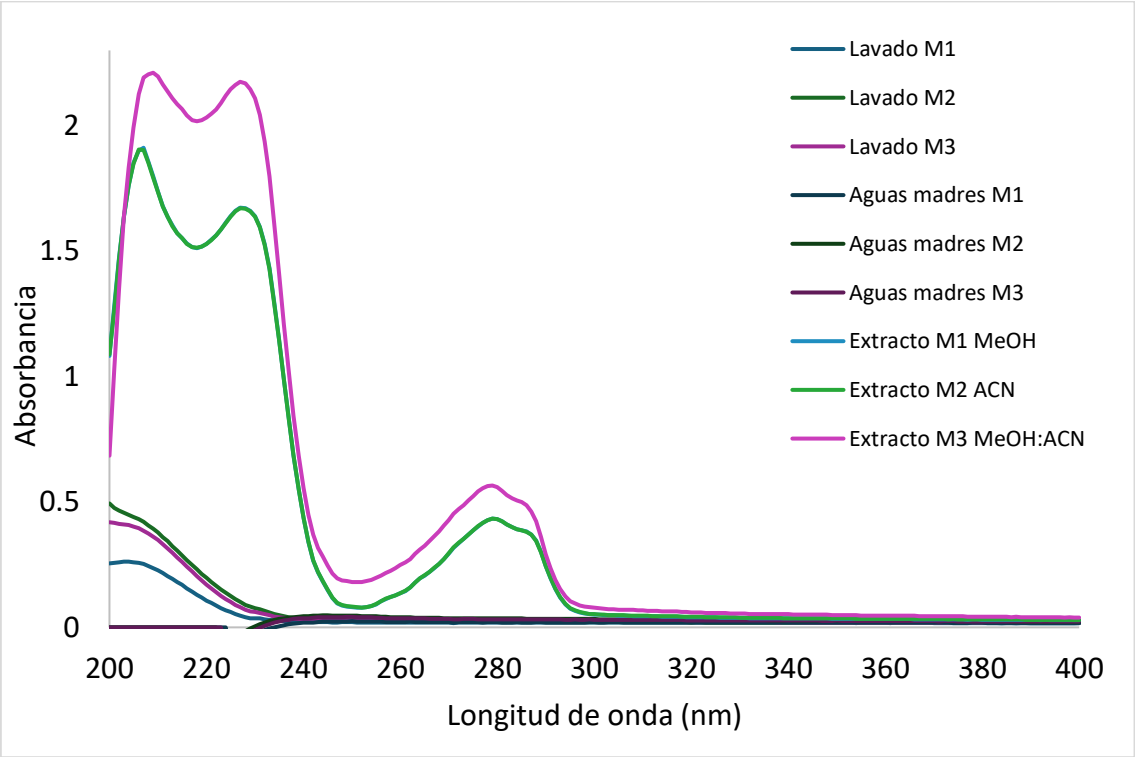


FIG. 12 MONITOREO UV DE LA EXTRACCIÓN SPE

Los espectros de las aguas que contenían el BPA en disolución no presentan bandas en las regiones de 227 y 277 nm, esto indica que el BPA había sido retenido en la sílice C18 de los cartuchos de extracción. Después de ser eluido y conservado el disolvente, se realizó el proceso de lavado con agua desionizada, las soluciones de lavado no presentaron señales a las longitudes de onda de absorción de BPA, por lo que analito se eluyó de forma eficiente con los disolventes empleados.

Los espectros de elución de los solventes de forma individual se sobreponen. Sin embargo, la mezcla en proporción 1:1, mostró un aumento en la intensidad de las bandas por un efecto hipercrómico.

Las tres fases de elución mostraron ser eficientes, tienen una alta capacidad de solvatación para disolver el analito y removerlo de la sílice. Pero al considerar cuestiones de costos y toxicidad, el uso de metanol resultó favorable para el proyecto.

4.4.2 Extracción líquido-líquido con asistencia de baño ultrasónico

Posterior a los 30 minutos de agitación asistida por el baño de ultrasonido, los tubos de vidrio se dejaron reposar en un baño de agua helada para facilitar la separación de las fases y recuperar el sobrenadante (fase orgánica), el cual se almacenó en un frasco de vidrio de 20 mL. Después de realizar la extracción por duplicado y recuperar la mayor cantidad del solvente de extracción, se evaporó a sequedad a temperatura ambiente, el sólido resultante se disolvió en 3 mL de metanol para su análisis espectrofotométrico y los espectros obtenidos se muestran en la Fig. 13.

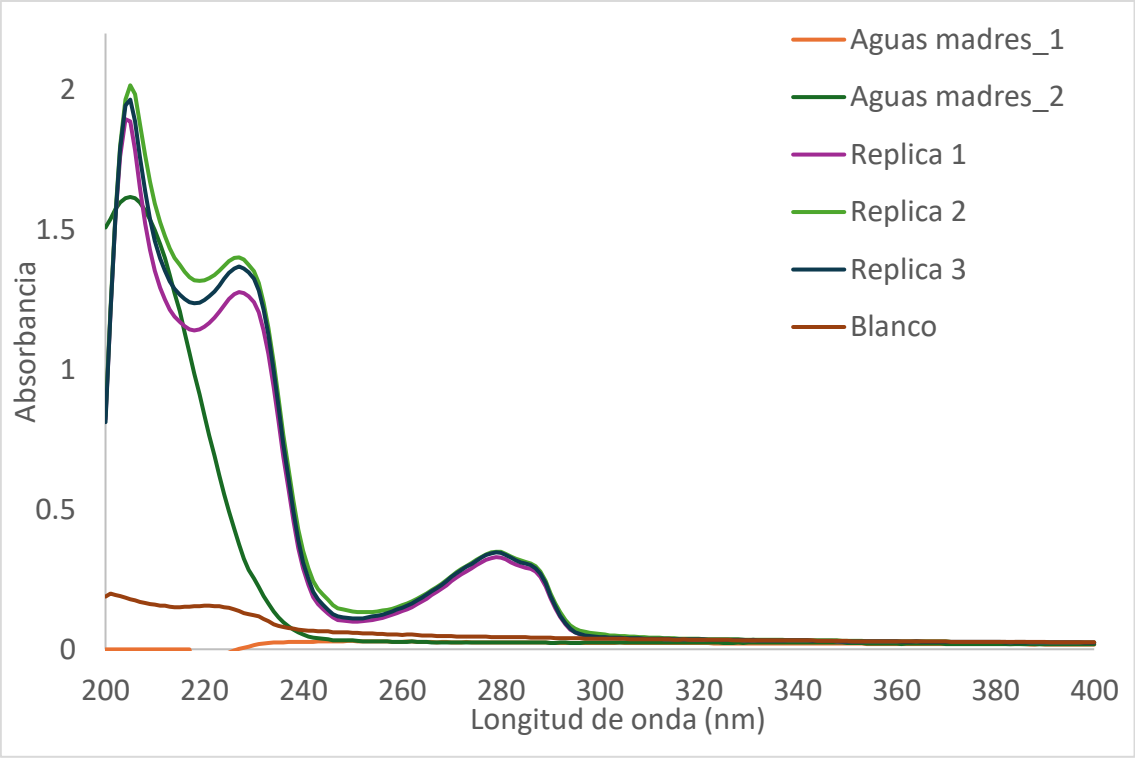


FIG. 13 ESPECTROS UV EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO ASISTIDO POR MICROONDAS

En tanto el proceso de agitación con el baño de ultrasonido se llevó a cabo, se observó la generación de pequeñas micelas del disolvente que interactuaron con la fase acuosa (muestra), resultando una solución turbia. Al dejar reposar la solución,

en la interfase adquirió un color blanquecino. La recuperación del solvente se realizó con una pipeta Pasteur. Al analizar el comportamiento de las aguas madres, se observó una banda de alta intensidad a 215 nm debido a la presencia del solvente de extracción, la cual desapareció al evaporarse el disolvente. Respecto a los extractos, no se observó diferencia significativa, los espectros se sobreponen en la región 250 a 300 nm, con una pequeña diferencia de absorbancia a 227 nm.

4.4.3 Extracción líquido-líquido con asistencia de agitación magnética

Tras la adición del AcOEt (Acetato de etilo) se sometió la muestra a agitación magnética durante 60 minutos. Al finalizar la agitación, se dejó reposar el tubo de vidrio en un baño de agua fría para facilitar la separación de las fases. Luego de recuperar los extractos de las tres muestras se evaporó el AcOEt a temperatura ambiente, el sólido resultante se disolvió en 3 mL de MeOH para su análisis por UV-Vis (ver Fig.14).

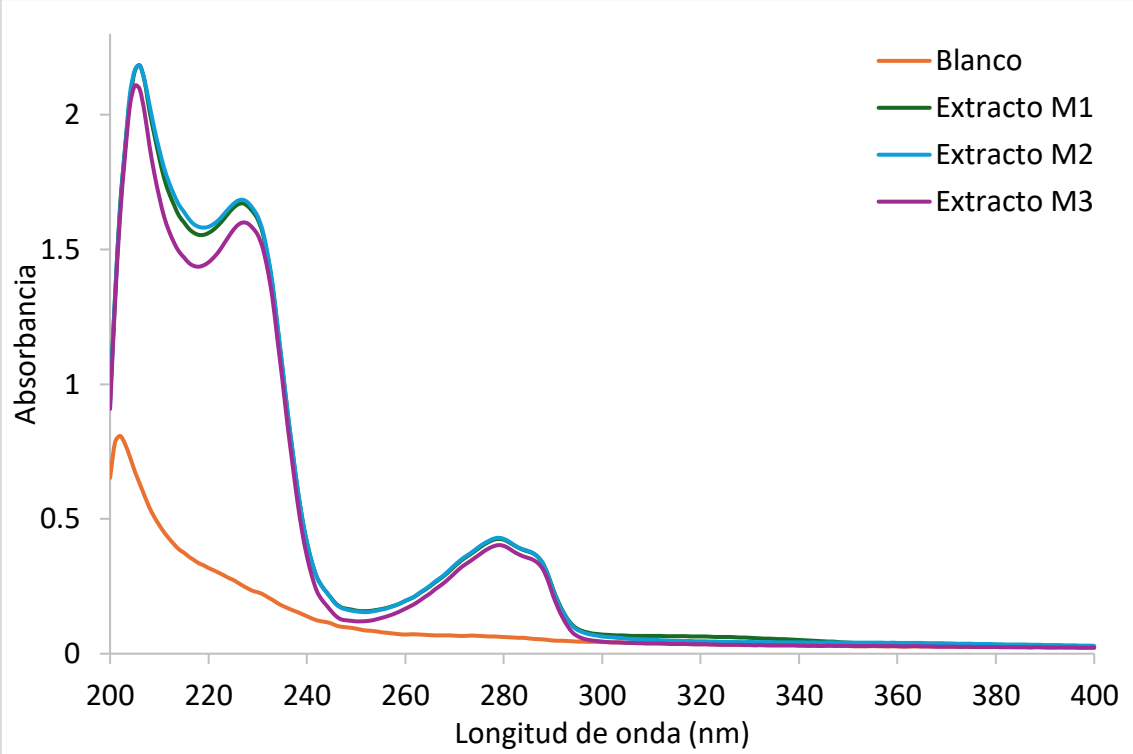


FIG. 14 MONITOREO POR UV-VIS DE EXTRACCIÓN ASISTIDA CON AGITACIÓN MAGNÉTICA

Con un tiempo total de extracción de 120 minutos, se recolecto un total aproximado de 11.5 mL de la fase orgánica. Se observó que la metodología es reproducible, los espectros se sobreponen a lo largo de la región seleccionada del espectro de luz.

4.4.4 Evaluación de los métodos de extracción con una muestra real

Los resultados de los métodos de extracción son similares y no permitió determinar el método adecuado. Por lo tanto, los tres métodos fueron evaluados con la muestra real para identificar las posibles interferencias y selectividad del método de extracción.

El pH inicial de la muestra se encontraba entre 2.0 y 3.12, al ser desgasificada por una hora este valor de pH cambió a 4.42. Durante los procesos de extracción líquido-líquido, el acetato de etilo no arrastró colorante de la matriz, por lo que los extractos fueron incoloros. Cuando se ejecutó la extracción en fase sólida se presentaron dificultades como la limpieza del cartucho después de pasar la muestra, implico el consumo de mayor cantidad de disolventes, los extractos finales presentaban coloración ámbar-café, debido al arrastre de coloración de la muestra original. Los sólidos finales se disolvieron en aproximadamente 3 mL metanol para obtener los espectros de la Fig. 15. No se logró apreciar diferencias significativas entre los métodos, los espectros mostraron señales de saturación.

Fue necesario realizar la modificación de pH con carbonato de sodio anhidro ($NaCO_3$). Al disolverse por completo la sal de sodio, el pH de la nueva solución se volvió alcalino con un valor entre 11.0 y 12.0, posteriormente se puso en contacto con el AcOEt para comenzar el proceso de extracción líquido-líquido y de forma paralela la extracción en fase sólida.

Se reconstituyo en metanol el sólido final de cada extracción para su análisis por UV-Vis, se obtuvieron los espectros de la Fig. 16, en los cuales se observó una diferencia entre los tres métodos de extracción evaluados.

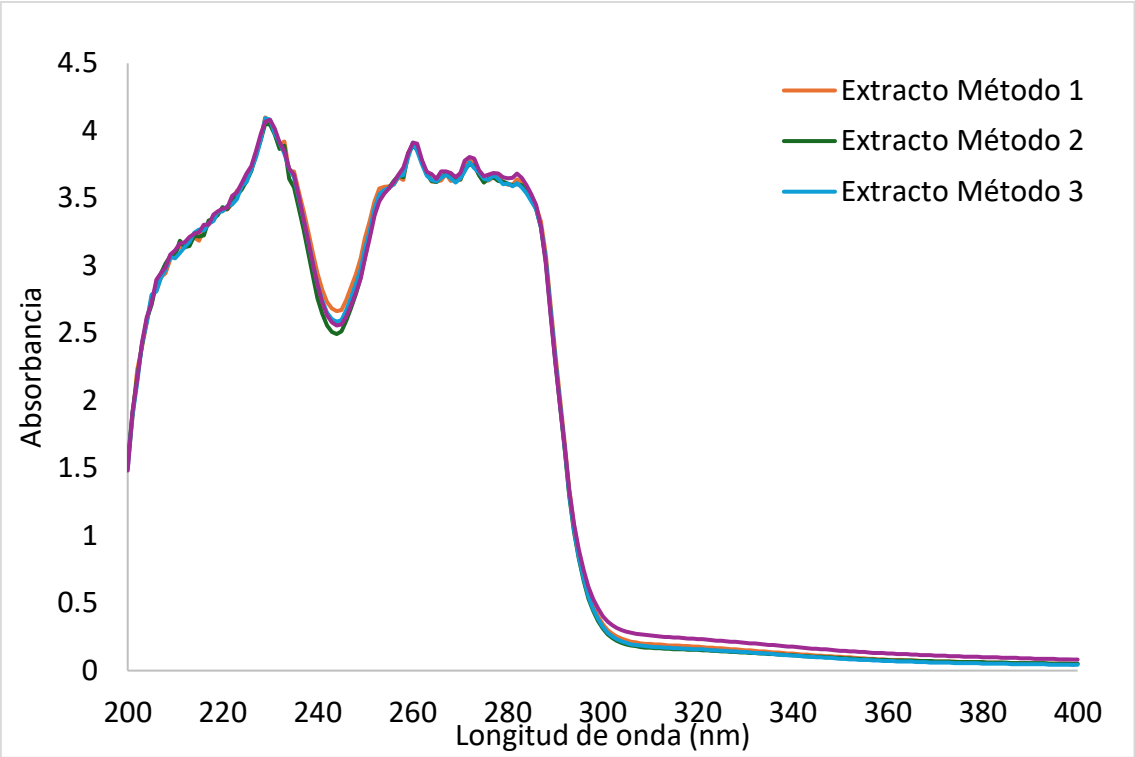


FIG. 15 COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE EXTRACCIÓN CON UNA MUESTRA REAL. MÉTODO1 Y 2 SON DE TIPO LÍQUIDO-LÍQUIDO Y MÉTODO 3 SPE

Todos los espectros presentan una intensa banda a 275 nm que impiden detectar una de las señales características del BPA debido a la cantidad de interferencias químicas presentes en el extracto. Esto mismo sucedió con la banda a 227 nm, el extracto proveniente de SPE presentó una banda de alta intensidad, pero los extractos líquido-líquido se diferencian dos crestas de banda en la región 215 a 230 nm. Esta separación les hace métodos más selectivos. Se descartó el método de extracción con agitación magnética debido a la duración del proceso, cantidad de solvente empleada, por lo demás no presentó diferencia al emplear el baño ultrasonido. Fue necesario realizar un monitoreo cromatográfico por HPLC-UV para elegir el método de extracción adecuado.

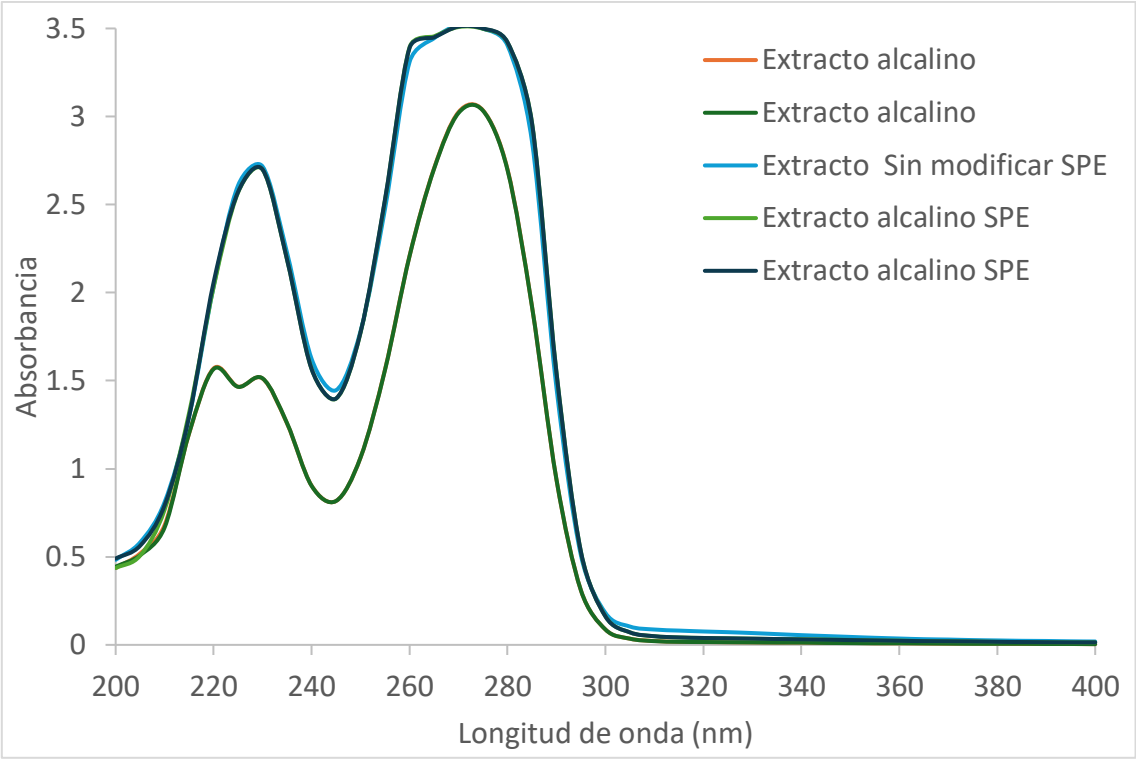


FIG. 16 COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE EXTRACCIÓN CON CAMBIO DE PH

Previo al proceso de validación se determinó el tiempo de retención de un estándar de BPA, el tiempo necesario para observar la señal del analito fue 4.7 minutos. Se buscó esta señal en los cromatogramas de los extractos y verificar la eficacia del método de extracción. Se muestra en la Fig. 17 el cromatograma del extracto obtenido por SPE, se observó la presencia de 3 diferentes picos que amenguan la señal de interés.

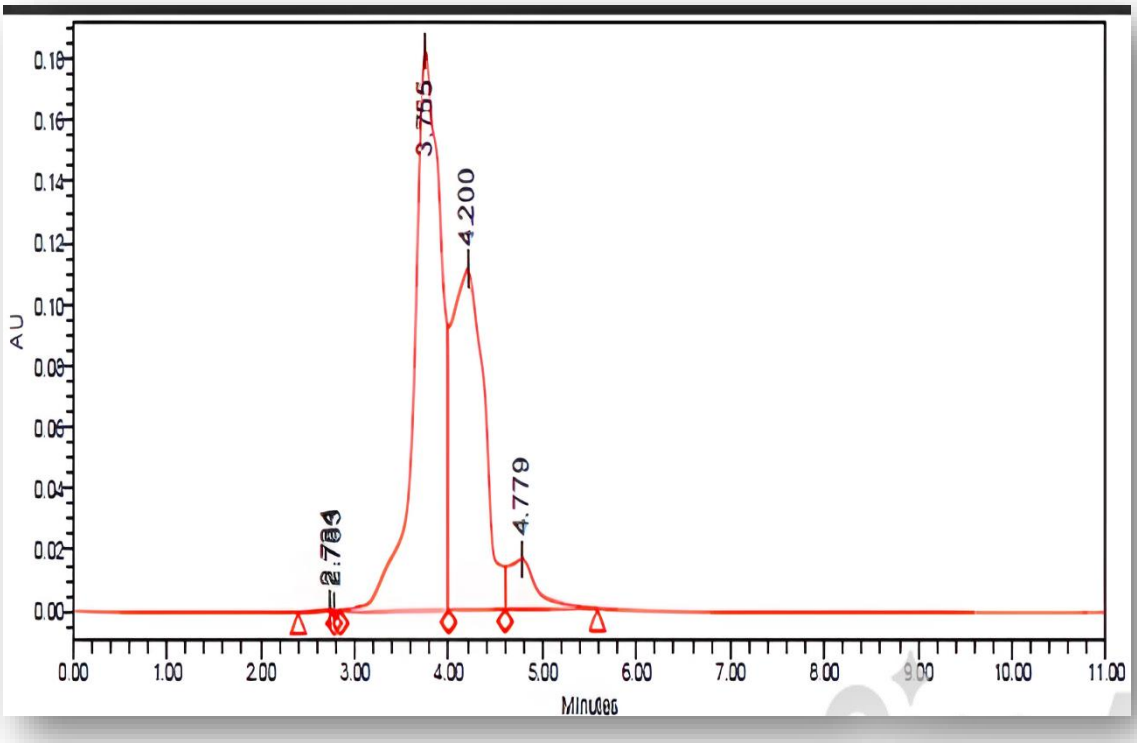


FIG. 17 CROMATOGRAMA DEL EXTRACTO POR SPE

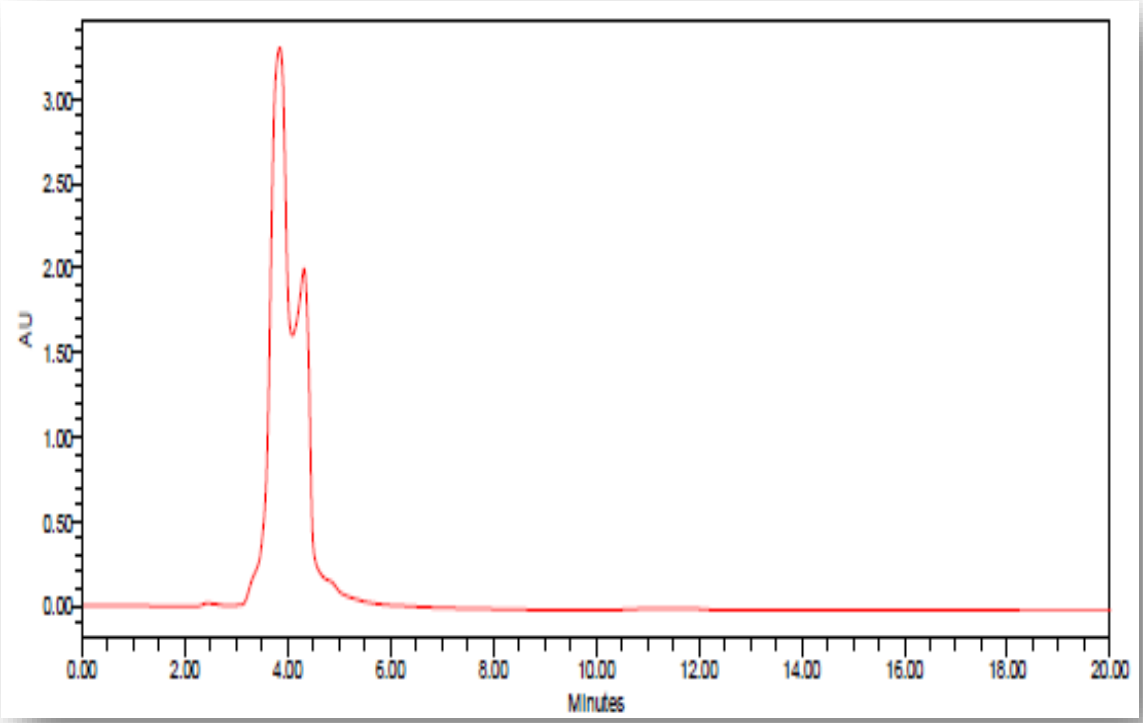


FIG. 18 CROMATOGRAMA DEL EXTRACTO LÍQUIDO-LÍQUIDO

Mientras que del extracto líquido-líquido, el cromatograma (Fig. 18) solo se apreciaron dos señales, una correspondiente al BPA y una impureza en alta concentración.

Por lo tanto, el método de extracción líquido-líquido asistido con baño de ultrasonido es adecuado por su bajo costo, tiempo de extracción y menor número de interferencias detectables por cromatografía.

4.5 Validación de método cromatográfico

La validación de métodos analíticos es parte esencial para demostrar que el método analítico es capaz de proporcionar datos confiables. El método analítico debe producir resultados exactos y precisos dentro de su alcance previsto.

La validación se logró mediante el análisis de diversos parámetros analíticos como adecuabilidad del sistema, linealidad, precisión, límite de detección (LOD, por su grafía en inglés) y LOQ (Limit of quantification), los criterios de aceptación y cálculos

se realizaron de acuerdo con la guía de validación de QFB´s de México (ver anexo 6.2), así como el empleo del software Excel y Minitab.

4.5.1 Precisión del sistema

Se evaluó la precisión del sistema cromatográfico mediante la variabilidad en las respuestas analíticas; tiempo de retención y el área de los picos cromatográficos, obtenidos de múltiples inyecciones individuales de BPA en solución (0.506 mg/L). Los resultados obtenidos se encuentran en el anexo 6.3, Tabla 12.

El criterio de aceptación establecido por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México corresponde a un coeficiente de variación menor a 1.5% (CV<1.5%).

El coeficiente de variación para el tiempo de retención fue 0.18 % lo que sugiere una alta precisión. Mientras que la variación para el área fue de 1.45 %, un valor aceptable pero ligeramente por debajo del criterio de aceptación. Un coeficiente de variación más bajo indica una mayor precisión.

Tanto el tiempo de retención como el área cumplen con los estándares de precisión necesarios para el sistema cromatográfico.

4.5.2 Adecuabilidad del sistema

Las pruebas de idoneidad del sistema se basan en la verificación del sistema (instrumento, electrónica) operan con base a criterios establecidos y permitan asegurar la confiabilidad de los resultados del método analítico y desempeño optimo.

Después de preparar las cinco muestras de estándar de BPA (50.6 mg/L) se colocó 1.5 mL de esta solución en viales de vidrio e inyecto 10 µL en el sistema cromatográfico.

Se calculó el promedio, desviación estándar y el porcentaje de coeficiente de variación para cada respuesta analítica (ver anexo 6.4). Para este caso se indicó como criterio de aceptación un CV< 2 %.

Como parte de la adecuabilidad fue necesario evaluar algunos parámetros cromatográficos tales como factor de capacidad (k´), resolución (R) y factor de coleo (T) y para cada inyección se recomiendan valores de k´>2, R>2 y T<2.
Los coeficientes de variación para el área y tiempo de retención son de 0.032% y 1.64% respectivamente. El CV de ambas respuestas están por debajo del criterio de aceptación, por el sistema cumple con los estándares de precisión establecidos. El sistema cromatográfico es capaz de producir resultados consistentes y precisos para el análisis de BPA.

Con un tiempo muerto (T_M) de 1.53 minutos como primer señal en el cromatograma se calculó el factor de capacidad, todos los valores están ligeramente por el valor recomendado, los analitos tienen una retención adecuada en la columna cromatográfica. Los resultados de resolución calculados son mayores a 2, indicativo de una buena separación entre los picos cromatográficos. Finalmente, los valores del factor de coleo son menor a 2, esto es indicativo de la simetría del pico, no presenta distorsión significativa (Ver anexo 6.5). El sistema es adecuado y confiable para el análisis BPA bajo las condiciones establecidas, todos los parámetros cromatográficos cumplen con los criterios recomendados.

4.5.3 Linealidad

Se evaluó la linealidad del sistema en función de la concentración y áreas de los picos cromatográficos. Las concentraciones comprendían un intervalo de 70.93 a 0.506 mg/L. Los datos de las áreas representadas en el gráfico para cada nivel de concentración provienen del promedio de tres replicas experimentales (ver anexo 6.6), se obtuvo la ecuación de la recta y coeficiente de determinación (r^2) mediante el software Minitab. La ecuación de la recta queda expresada como:

$$Área = -12130 + 13564 Concentración$$

ECUACIÓN 2 LINEALIDAD DEL SISTEMA

El valor del coeficiente de determinación es 0.991, valor superior al criterio de aceptación (0.98). La respuesta del detector a la concentración del BPA es satisfactoria.

La temperatura ambiental modificó los tiempos de retención, pero el área no se vio afectada. La sensibilidad y respuesta del detector permanecieron estables pese al cambio en las condiciones medioambientales.

El aumento de la temperatura tiene varios efectos en los tiempo de retención, a temperaturas más altas la difusión de las moléculas del analito en la fase móvil y la fase estacionaria aumentan, esto puede resultar en un aumento del tiempo de retención. Si las moléculas del analito tienen una mayor afinidad por la fase estacionaria a temperaturas más altas, puede resultar en tiempos de retención más largos (Snyder & Kirkland, 1979).

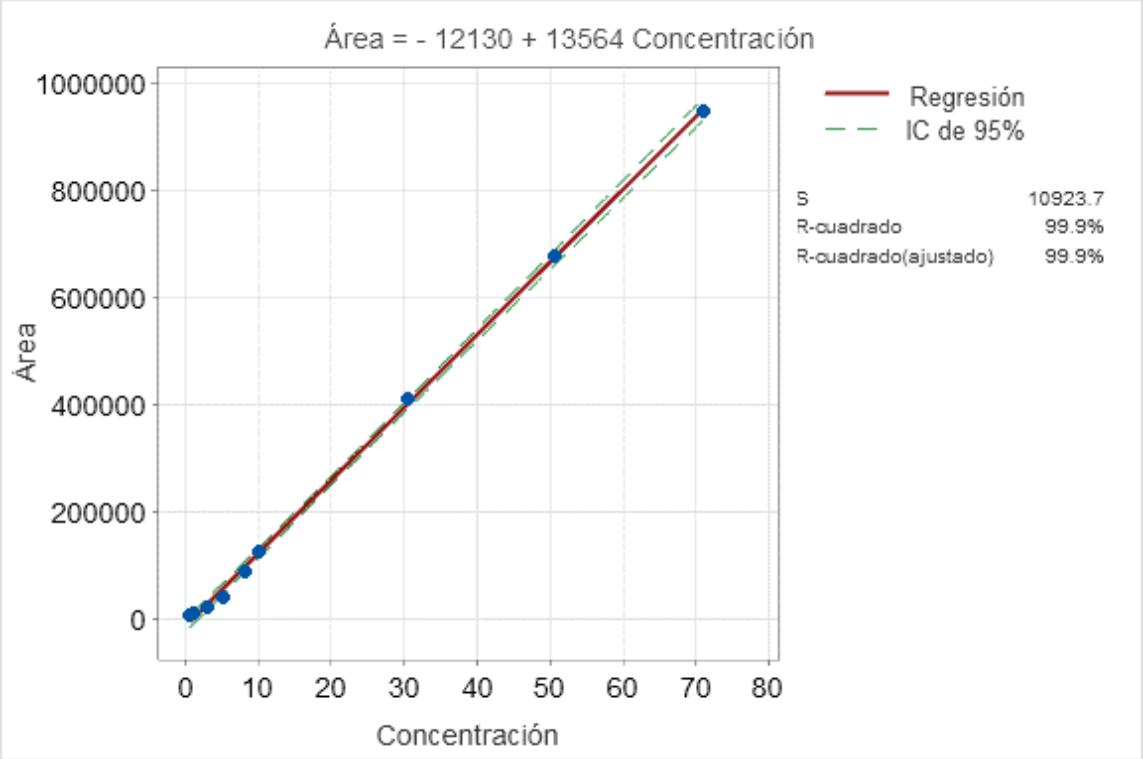


FIG. 19 RECTA DE CALIBRACIÓN DEL SISTEMA

4.5.4 Límite de detección y límite de cuantificación

El límite de detección del método es la concentración o cantidad de analito más baja detectable y proporciona una señal diferente a un blanco de reactivos o ruido de

fondo y no es necesariamente cuantificado como un valor exacto (Indrayanto, 2018). Este valor se determinó con base a la desviación estándar los blancos analíticos y pendiente de la ecuación de la recta de linealidad del sistema siguiendo la ecuación 3.

ECUACIÓN 3 LÍMITE DE DETECCIÓN

$$LOD = 3.3\ x\ S_b/m$$

Mientras el límite de cuantificación se trata de la menor concentración del analito en la muestra que puede ser determinada de forma cuantitativa con la precisión y exactitud aceptable (Indrayanto, 2018), este parámetro es particularmente empleado en la determinación de impurezas. Se aplicó la relación señalada en la ecuación 4.

ECUACIÓN 4 LIMITE DE CUANTIFICACIÓN

$$LOQ = 10\ x\ S_b/m$$

En ambas formulas S_b equivale a la desviación estándar de los blancos y *m* corresponde a la pendiente de la recta de linealidad del sistema.

Después del análisis de seis blancos de reactivos, con un valor de área medio calculado de 211.50 µV.Sec y una desviación estándar de 131.18 (ver anexo 6.7). La pendiente de la linealidad del sistema obtenida fue 13564 mg/L; al aplicar las ecuaciones de manera respectiva se determinó que el límite de detección para el método es de 0.0319 mg/L y el límite de cuantificación 0.0967 mg/L.

4.5.5 Exactitud y repetibilidad del método

Se analizó un sextuplicado de 6 muestras enriquecidas con un estándar de BPA (5.7 mg/L). La exactitud del método se evaluó mediante el porcentaje de recobro, un porcentaje cercano al 100% indica una alta exactitud, con una alta capacidad de recuperar la cantidad de analito esperada, el porcentaje de recobro medio fue 96.19 ± 1.63% (Ver anexo 6.8). El método presenta alto grado de exactitud, la mayor parte del analito es recuperado de las muestras enriquecidas.

La consistencia de los resultados obtenidos por las réplicas permitió evaluar la repetibilidad del método. Esta se determinó mediante la desviación estándar (SDR) y el coeficiente de variación (CV). El criterio de aceptación para esta prueba es un CV<2%, los valores obtenidos fueron 0.35%, 1.1% y 1.65% para el tiempo de retención, área y %recobro. Todos los valores son menores al 2% el método cumple con el criterio, dado a su baja variabilidad entre las réplicas.

4.5.6 Linealidad del método

Se emplearon soluciones de muestras enriquecidas de BPA con niveles de concentración desde 0.5 a 1.86 mg/L. El coeficiente de determinación fue de 0.9701, si bien se presenta un alta correlación de las soluciones enriquecidas es un valor ligeramente por debajo del criterio de aceptación (r^2>0.98). El bajo coeficiente de correlación puede ser atribuido al número de interferencias presentes en la muestra, por lo que se reconoce la necesidad de abordar estas interferencias para optimizar este parámetro.

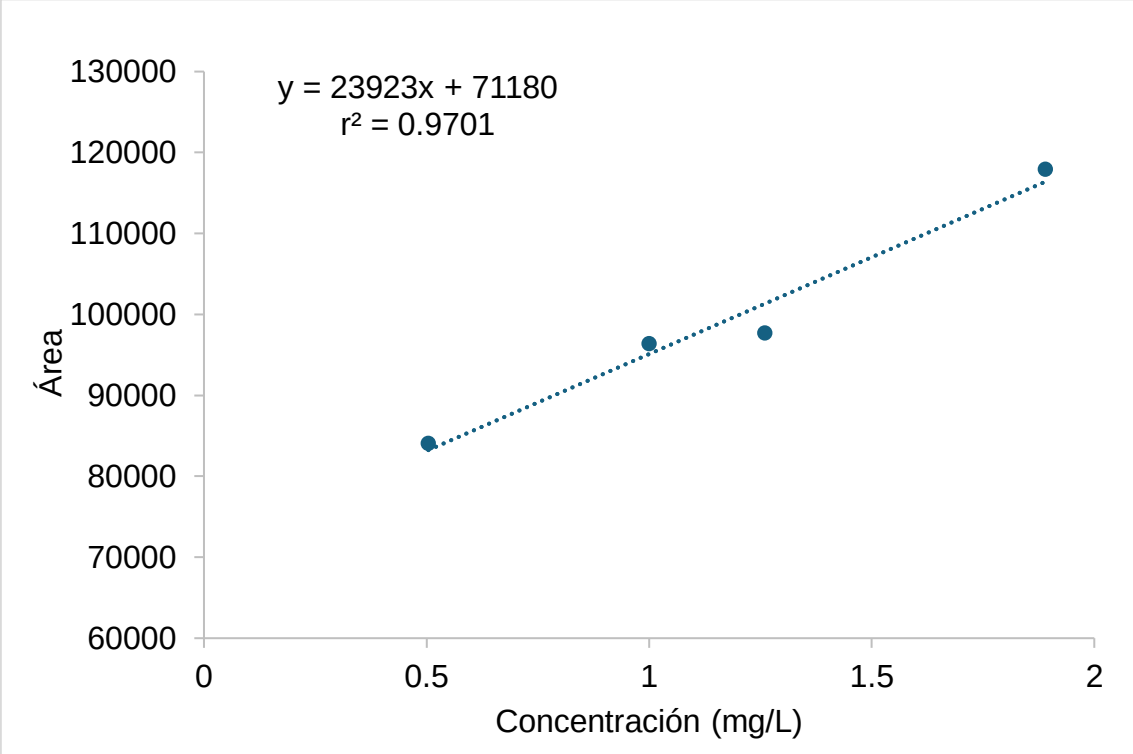


FIG. 20 LINEALIDAD DEL MÉTODO

4.5.7 Robustez

La robustez de un método analítico es definida como la capacidad de proporcionar resultados confiables al sufrir pequeños cambios en el método como el pH, temperatura, velocidad de flujo. Los cambios no deben afectar de manera significativa los resultados (Indrayanto, 2018). Durante las pruebas se observó modificaciones en los tiempos de retención por lo que se evaluó esta respuesta a 24 °C y 28°C (Ver anexo 6.9).

De acuerdo con las ecuaciones proporcionadas por la guía de validación de métodos analíticos, se realizó una diferencia del valor absoluto de las medias aritméticas de cada prueba, el criterio de aceptación es un $|d|$< 2%, se obtuvo un valor de 0.27% por lo que el método tiene la robustez adecuada y confirma la fiabilidad del método.

4.6 Análisis de las muestras

Se realizó un análisis de 39 muestras de bebida carbonatada con sabor cola, las concentraciones de los extractos entre los diferentes lotes fue muy variable. Este resultado destaca la importancia de un monitoreo de los niveles de BPA en bebidas y alimentos. Especialmente por la frecuencia de consumo y la popularidad del producto entre los infantes.

La variabilidad observada puede atribuirse a diferentes factores como el material de empaque, las materias primas o condiciones de almacenamiento.

Durante la obtención de los primeros cromatogramas de observó la presencia de una impureza con un alto valor de absorbancia y este impedía observa la señal del BPA (ver Fig. 21), fue necesario recopilar información del detector a partir de los 3.0 minutos y de esta forma eliminar esta impureza de forma visual y detectar al BPA de forma precisa. Con las nuevas condiciones de recolección de datos, se presentó nuevamente un pico de una impureza a los 5.8 minutos, lo que impide nuevamente visualizar la presencia de la señal de BPA (ver Fig. 22).

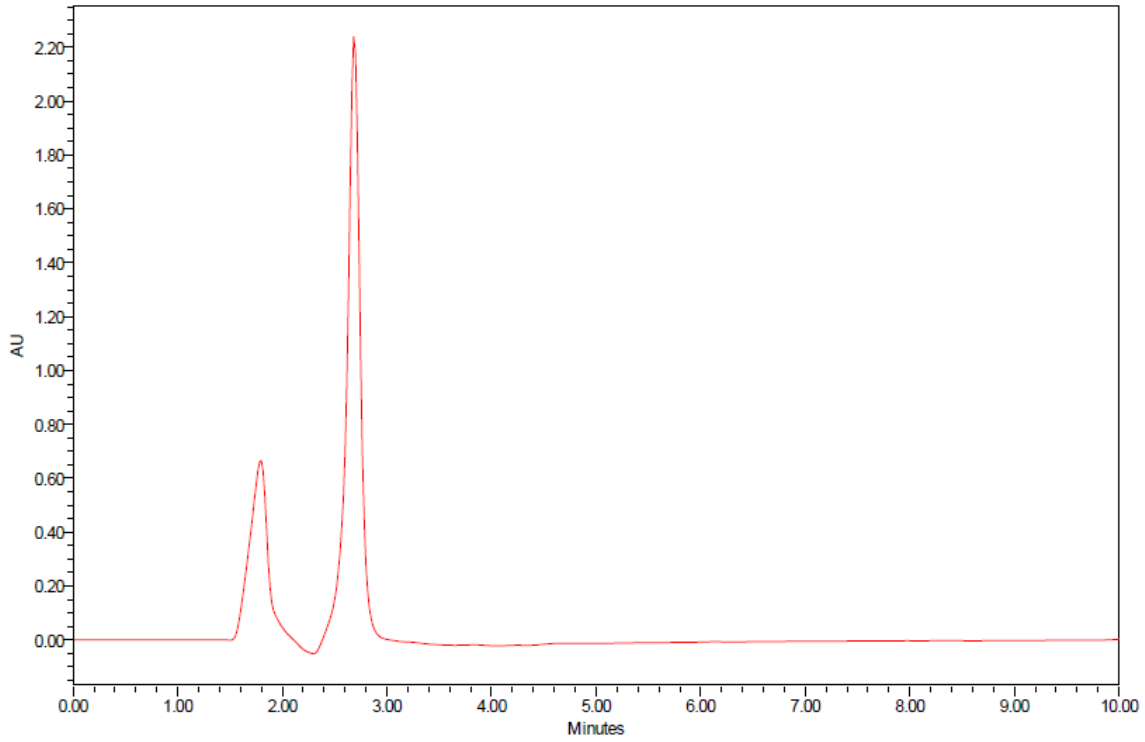


FIG. 21 CROMATOGRAMA DE EXTRACTOS INICIALES

Para inyectar el BPA extraído de las bebidas se disolvió en 1.5 mL de MeOH, no obstante, se presentó un sólido blanquecino-amarillento insoluble en MeOH, pero altamente soluble en agua, a este sólido se le realizaron algunas pruebas de identificación (ver anexo 6.10). La insolubilidad de la impureza en MeOH, indica una naturaleza polar.

Los resultados de la determinación de BPA indican la presencia de este compuesto en la bebida seleccionada con una concentración promedio y el error estándar de BPA detectado con un valor de 353.5 ± 9.1 ng/mL en la Fig. 23 se muestran las concentraciones por cada muestra analizada.

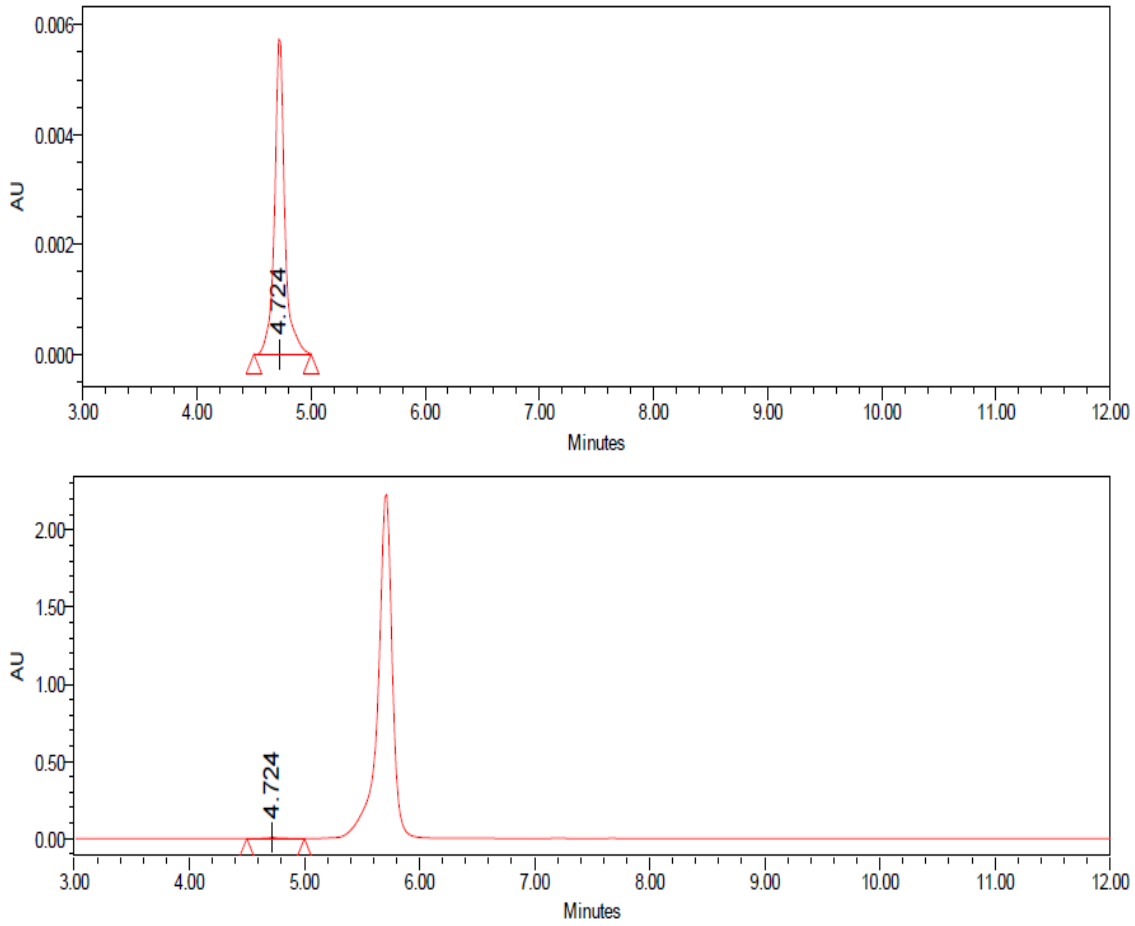


FIG. 22 CROMATOGRAMA DE LA MUESTRA, RECOLECCIÓN DE DATOS DESPUÉS DE 3 MINUTOS

En comparación con bebidas de otros países (ver Tabla 10) la muestra seleccionada contiene una concentración significativamente más alta de BPA. Algunas de las concentraciones son similares como el agua embotellada de Canadá con una concentración máxima detectada de 200 ng/mL, el agua embotellada de Irán reporta una concentración de 980 ng/mL, un valor 2.7 veces el valor detectado en la bebida analizada en este trabajo.

El estudio realizado por Farooq y colaboradores en el 2021 detectaron concentraciones en un intervalo de 300-700 ng/mL, valores similares a los que se detectaron en las muestras, con una concentración mínima de 281.1 ng/mL y una máxima de 467.7 ng/mL.

TABLA 10 CONCENTRACIONES DE BPA EN BEBIDAS

Bebida	Material de empaque	País	Concentración	Referencia
Agua	Botella plástica	India	0.06-0.09 ng/mL	(Kumar et al., 2023)
Agua	Bolsa plástica	Camerún	0.4-2.2 ng/mL	(Songue Same et al., 2023)
Agua	Botella plástica (PET)	Irán	ND - 980 ng/mL	(Parto et al., 2022a)
Agua	Botella plástica (PET)	Polonia	0.006-0.015 ng/mL	(Ginter-Kramarczyk et al., 2022)
Agua	Botella plástica	India	0.278-80.45 ng/mL	(P. Sangai & A. Pandya, 2021)
Refrescos	Botella plástica	Pakistán	Invierno: 300-700 ng/g Verano: 700-1020 ng/g	(Farooq et al., 2021)
Leche	Botella plástica	Pakistán	Invierno: 170-320 ng/g Verano: 770-1590 ng/g	(Farooq et al., 2021)
Leche	Empaque plástico	China	120 ng/mL	(Yang et al., 2018)
Refrescos Jugos	Botella plástica	China	0.18 ng/mL	(Wu et al., 2019)
Refrescos	Botella plástica	Grecia	0.40-10.2 ng/mL	(Tzatzarakis et al., 2017b)
Refrescos	Lata	Tailandia	83-340 ng/L	(Chailurkit et al., 2017)

Jugo	Botella plástica	China	6.16 ng/mL	(Mo et al., 2017)
Agua	Botella plástica (PET)	Kuwait	59 ng/mL	(Altannak & Alsaleh, 2015)
Refrescos	Botella plástica Lata	Italia	0.54-3.90 ng/mL	(Fasano et al., 2015)
Jugo y te	Tetrapak Lata	Italia	<LOD-3.63 ng/mL	(Fasano et al., 2015)
Leche	PET Tetrapak	Italia	1.04-18.09 ng/mL	(Fasano et al., 2015)
Refrescos Jugos	Botella plástica	Bélgica	1.26 ng/mL	(Regueiro & Wenzl, 2015)
Refrescos	SD	China	5.3-78.9 ng/L	(Lv et al., 2014)
Leche en polvo	SD	China	0.8-128 ng/g	(Lv et al., 2014)
Jugo	Tetrapak	Turquía	40.27-82.55 ng/g	(Sungur et al., 2014)
Bebidas	Lata	China	0.01-46.4 ng/mL	(Liao & Kannan, 2014b)
Bebidas	SD	USA	1.84 ng/g	(Liao & Kannan, 2013)
Leche	SD	Irlanda	1.32-176.0 ng/g	(O'Mahony et al., 2013)
Refrescos	Lata	Portugal	0.03-4.02 ng/mL	(Cunha et al., 2011)

La cantidad promedio de BPA por envase de 355mL (ver Fig. 24) de la bebida analizada fue de 0.1255mg con un margen de error estándar de ± 0. 003 mg (125506 ±3238 ng).

Las concentraciones de BPA por lote son variables, los identificados con siglas “717 RQ” las concentraciones oscilan entre 372.5 y 456.9 ng/mL, mientras que en los codificados “717 RCQ” las concentraciones varían desde 296.0 hasta 387.2 ng/mL (ver Tabla 11). Factores como diferencias en las condiciones de almacenamiento, materias primas o los procesos de producción pueden ser los causantes de esta variabilidad.

Los resultados proporcionan información sobre la exposición de los consumidores al BPA a través del consumo frecuente de la bebida. Esto representa una preocupación significativa para la salud pública, resalta la importancia del monitoreo y regulación de uso de BPA en productos alimenticios.

La variabilidad de la concentración de BPA encontradas en las muestras de bebida gasificada sabor cola es motivo de preocupación, dados los efectos tóxicos potenciales a los que se encuentra asociado este compuesto. Es necesario considerar que las entidades reguladoras han establecido límites de ingesta diaria tolerable (IDT) para el BPA, cuya finalidad es proteger la salud pública. Los límites establecidos por FDA y EFSA son diferentes lo que genera discrepancias respecto a la evaluación de la seguridad de los productos alimenticios.

La FDA considera que concentraciones de ingesta diaria menores a 5 mg/kg pc/día no producen daño sistémico, por lo tanto, los niveles de BPA detectados en la bebida son seguros. No obstante, es necesario contemplar el aporte o ingesta de BPA proveniente de otras fuentes dietéticas. Así mismo es crucial considerar que esta legislación no ha sido revisada o modificada desde el 2014. Esto genera interrogantes sobre su relevancia en el contexto actual, con las investigaciones sobre los efectos tóxicos en la salud. La entidad europea, EFSA estableció durante su última actualización del año 2023, un IDT de 0.2 ng/kg pc/día, se trata un valor $25.0x10^6$ veces menor que el IDT por parte de la FDA.

Mediante la frecuencia de consumo de la bebida podemos obtener información del nivel de exposición que presentan los consumidores. De acuerdo con los datos proporcionados por la ENSANUT del 2022, el 93.6% de los niños de 6-12 años consumen bebidas endulzadas (refrescos, agua saborizada artificialmente, jugos con néctar de frutas o pulpa industrializados, etc.) (Gaona-Pineda et al., 2023). La frecuencia de consumo de esta bebida fue de 355 mL hasta 1 litro por día. El peso corporal mínimo promedio de niños de 6 años fue 24.8 kg y para niños de 12 años fue 35.8 kg. Podemos estimar la exposición diaria consumida (EDI) a BPA aplicando la ecuación sugerida por Liao & Kannan, 2014, donde C_{BPA} es la concentración de BPA en ng/mL, F es el volumen de consumo en mL por día, y BW corresponde al peso corporal en kilogramo.

ECUACIÓN 5 ESTIMACIÓN DE EXPOSICIÓN DIARIA CONSUMIDA

$$EDI = \frac{C_{BPA} \cdot F}{BW}$$

Con los valores mínimos y máximos de peso corporal se estima una exposición diaria a BPA de 5060 ng/kg peso corporal/día para niños de 6 años y de 3505 ng/kg peso corporal/día para los infantes de 12 años, considerando la frecuencia mínima de consumo (355 mL).

Dicha bebida puede representar un riesgo para la salud de los consumidores. El consumo de esta bebida por sí misma excede el valor de ingesta diaria tolerable incluso para un adulto con un peso promedio de 70 kg. El consumo regular de esta bebida puede representar un riesgo para la salud de acuerdo las directrices de la EFSA.

TABLA 11 CONCENTRACIÓN MEDIA DE BPA POR LOTE DE PRODUCTO

Lote	Hora de elaboración/empaque	Fecha caducidad	Concentración promedio (ng/mL)
717 RQ	02:27	18 NOV 23 5	456.9
	09:43	26 NOV 23 5	376.7
	13:48	02 DIC 23 5	372.5
	14:50	02 DIC 23 5	401.1
717 RCQ	09:44	17 DIC 23 5	387.2
	11:15	17 DIC 23 5	296.0
	04:47	10 ENE 24 5	336.0
	04:47	19 ENE 24 5	331.0

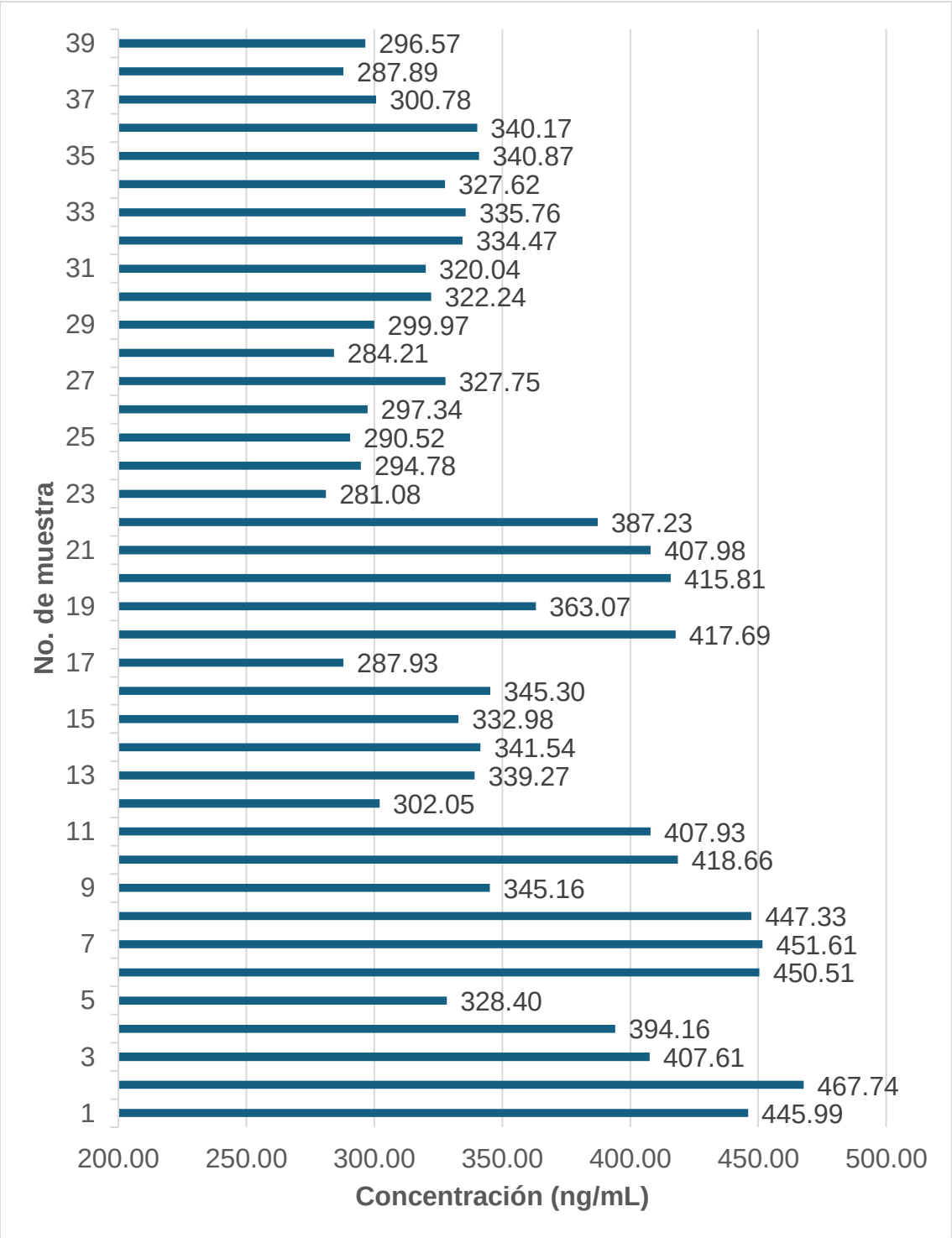


FIG. 23 CONCENTRACIÓN DE BPA POR MUESTRA

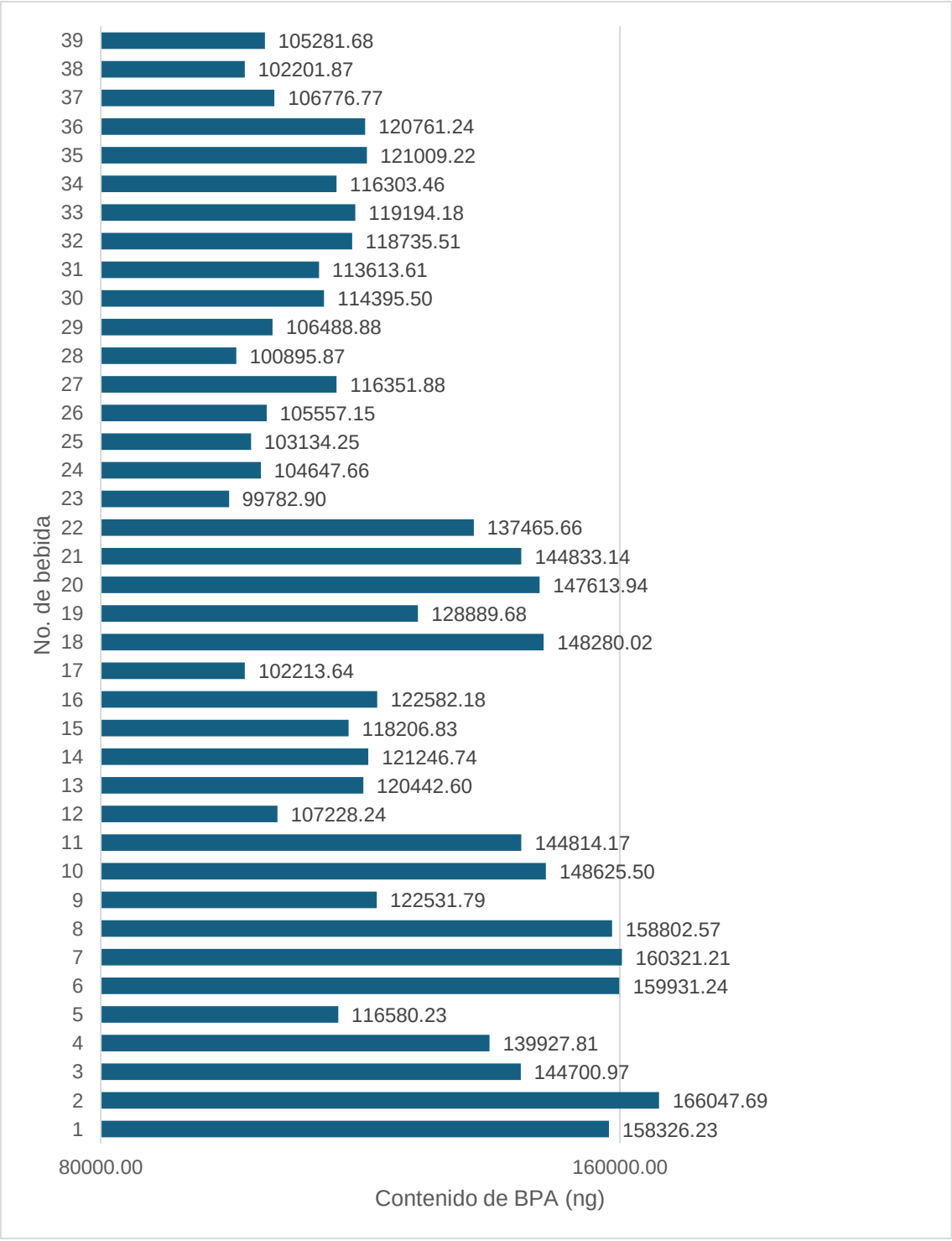


FIG. 24 CANTIDAD TOTAL DE BPA CONSUMIDA POR ENVASE

5 Conclusiones

Se determinó que las longitudes de absorción del BPA fueron 227 y 277 nm, junto con un sistema de disolventes MeOH:H_2O en composición 70:30 y un pH de 3.0, presentan el mayor coeficiente de absortividad molar para la detección de BPA. Estas condiciones fueron fundamentales para obtener una respuesta cromatográfica adecuada.

La información proporcionada por la empresa embotelladora son mínimos y sería adecuado tener noción del tiempo de contacto de la bebida con el material de empaque.

Tras evaluar tres métodos de extracción, la extracción líquido-líquido asistido con un baño de ultrasonido mostró mayor eficiencia para la recuperación de BPA solubilizado en la muestra. Durante el proceso de extracción, fue necesario modificar el pH con carbonato de sodio, esto mejoro el proceso de extracción.

El criterios de validación establecidos cumplen con los criterios de aceptación, por lo que este método se puede aplicar con seguridad a la muestras seleccionadas. La cuantificación de bisfenol A en la bebida se aplicó de manera exitosa, determinándose una concentración promedio de 353.5 ± 9.1 ng/mL. Al estimar la ingesta diaria en función de los pesos corporales promedio y el volumen de consumo se constató que excede el valor IDT establecido por la EFSA. En consecuencia, la bebida no es adecuada para su consumo y podría tener efectos adversos en la salud del consumidor.

Esta investigación da lugar a continuar investigando los productos consumidos en la dieta diaria para determinar el índice de exposición.

6 Anexos

6.1 Serie eluotrópica

Disolvente	Índice de refracción[a]	Viscosidad, cP[b]	Punto de ebullición °C	Índice de de polaridad, P'	Fuerza eluyente[c]
Fluoroalcanos[d]	1,27-1,29	0,4-2,6	50-174	<-2	-0.25
Ciclohexano	1.423	0.90	81	0.04	-0.2
n-Hexano	1.372	0.30	69	0.1	0.01
1-Clorobutano	1.400	0.42	78	1.0	0.26
Tetracloruro de carbono	1.457	0.90	77	1.6	0.18
iso-Propileter	1.365	0.38	68	2.4	0.28
Tolueno	1.494	0.55	110	2.4	0.29
Dietileter	1.350	0.24	35	2.8	0.38
Tetrahidrofurano	1.405	0.46	66	4.0	0.57
Cloroformo	1.443	0.53	61	4.1	0.40
Etanol	1.359	1.08	78	4.3	0.88
Acetato de etilo	1.370	0.43	77	4.4	0.58
Dioxano	1.420	1.2	101	4.8	0.56
Metanol	1.326	0.54	65	5.1	0.95
Acetonitrilo	1.341	0.34	82	5.8	0.65
Nitrometano	1.380	0.61	101	6.0	0.64
Etilenglicol	1.431	16.5	182	6.9	1.11
Agua	1.333	0.89	100	10.2	Grande

6.2 Formulas estadísticas

Media aritmética

$$\boldsymbol{y} = \frac{\sum \boldsymbol{y}}{\boldsymbol{n}}$$

Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

Coeficiente de variación

$$CV = \frac{S}{y} * 100$$

Límite de detección empleando blancos de reactivos

$$LOD = 3.3\ x\ S_b/m$$

Límite de cuantificación empleando blancos de reactivos

$$LOQ = 10\ x\ S_b/m$$

Robustez

$$|d| = |y_1 - y_0|$$

$$y_0 = media\ aritmetica\ condición\ normal$$

$$y_1 = media\ aritmetica\ condición\ modificada$$

6.3 Tabla 12 Precisión del sistema cromatográfico

Replica	Tiempo retención (Tr) (min)	Área (µV. Sec)
1	4.739	6595
2	4.736	6751
3	4.731	6769
4	4.722	6611
5	4.724	6565
6	4.744	6546
Promedio	4.700	6639.5
Desviación estándar	0.009	96.22
Varianza	$7.43x10^{-5}$	9257.5
% CV	0.18	1.45

6.4 Tabla 13 Adecuabilidad del sistema

Replica	Tr (min)	Área (µV. Sec)
1	4.696	684198
2	4.82	678922
3	4.681	681008
4	4.689	680566
5	4.839	678672
Promedio	4.745	680673.2
Desviación estándar	0.078	2214.6
%CV	1.64	0.32

6.5 Tabla 14 Parámetros cromatográficos

No. De inyección	Factor de capacidad (k´)	Resolución (R)	Factor de coleo (T)
1	2.07	6.38	0.89
2	2.15	6.25	1.15
3	2.06	6.39	1.22
4	2.06	6.38	1.03
5	2.16	6.24	0.98

6.6 Tabla 15 Réplicas de la linealidad del sistema

Concentración (mg/L)	Replica 1		Replica 2		Replica 3		Promedio	
	Tr	Área	Tr	Área	Tr	Área	Tr	Área
70.93	5.155	941166	4.858	949913	4.844	945249	4.952	945442.67
50.6	5.183	673879	4.839	678672	4.82	678922	4.947	677157.667
30.4	5.149	405212	4.821	410030	4.807	418403	4.926	411215
10.13	5.151	124842	4.805	124038	4.786	124160	4.914	124346.67
8.1	5.156	96445	4.781	96467	4.783	77619	4.907	90177
5.06	5.157	39118	4.768	39440	4.770	39387	4.898	39315
3.04	5.143	21488	4.752	21999	4.755	21964	4.883	21817
1.01	5.146	12506	4.755	12541	4.741	12597	4.881	12548
0.506	4.974	7521	4.959	7120	4.943	7273	4.959	7304.67

6.7 Tabla 16 LOD y LOC mediante blancos de reactivos

Replica	Área (µV. Sec)
1	402
2	137
3	334
4	205
5	62
6	129
Promedio	211.50
Desviación estándar	131.18
LOD	0.0319 mg/L
LOC	0.0967 mg/L

6.8 Tabla 17 Exactitud y repetibilidad del método

Replica	Tr (min)	Área (µV. Sec)	%Recobro
1	4.840	110188	97.94
2	4.834	109667	97.27
3	4.807	108405	95.63
4	4.814	109740	97.36
5	4.853	107796	94.85
6	4.837	107221	94.10
Promedio	4.831	108836.167	96.191
Desviación estándar	0.017	1200.939	1.553
%CV	0.356	1.103	1.615
Intervalo de Confianza	N/A	N/A	96.19 ± 1.63

N/A: No aplica.

6.9 Tabla 18 Robustez del método

Temperatura		
Replica	24 °C	28 °C
1	4.624	4.952
2	4.661	4.947
3	4.622	4.926
4	4.623	4.914
5	4.626	4.907
6	4.678	4.898
7	4.648	4.883
8	4.666	4.881
Promedio	4.639	4.959

6.10 Caracterización de impureza de extracto

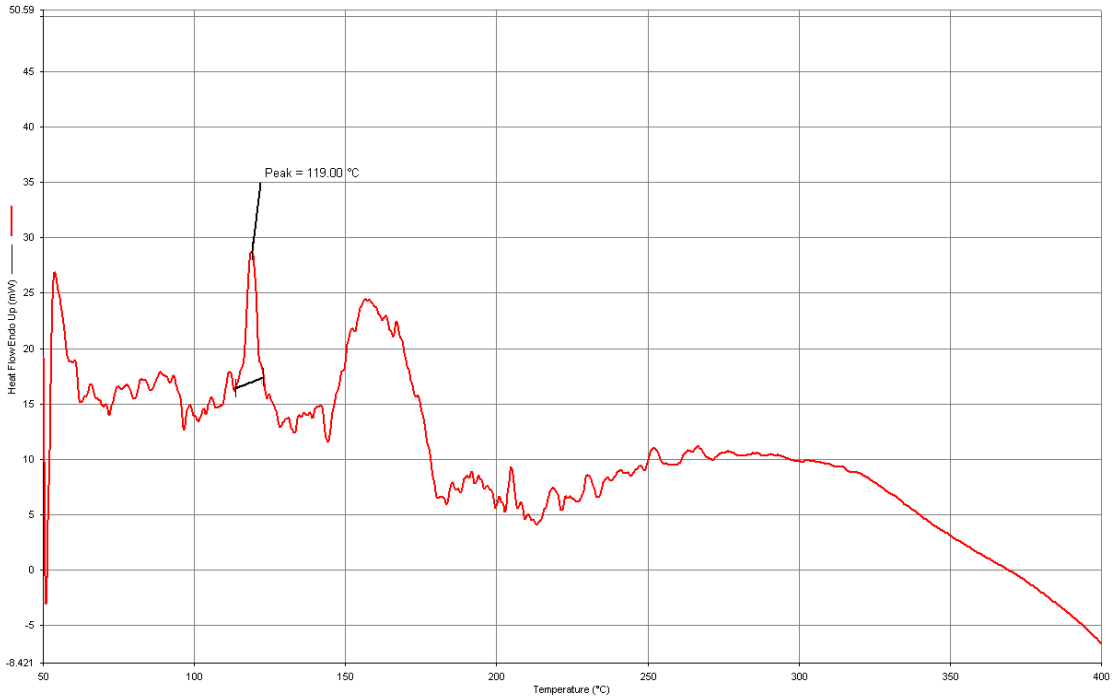


FIG. 25 TERMOGRAMA DE IMPUREZA

Mediante el análisis por calorimetría diferencial de barrido, se observó una señal positiva a 119 °C, indicativa de la liberación de energía que puede ser atribuida a la descomposición del compuesto. La ausencia de otras señales hasta los 400 °C apoya la idea de la descomposición.

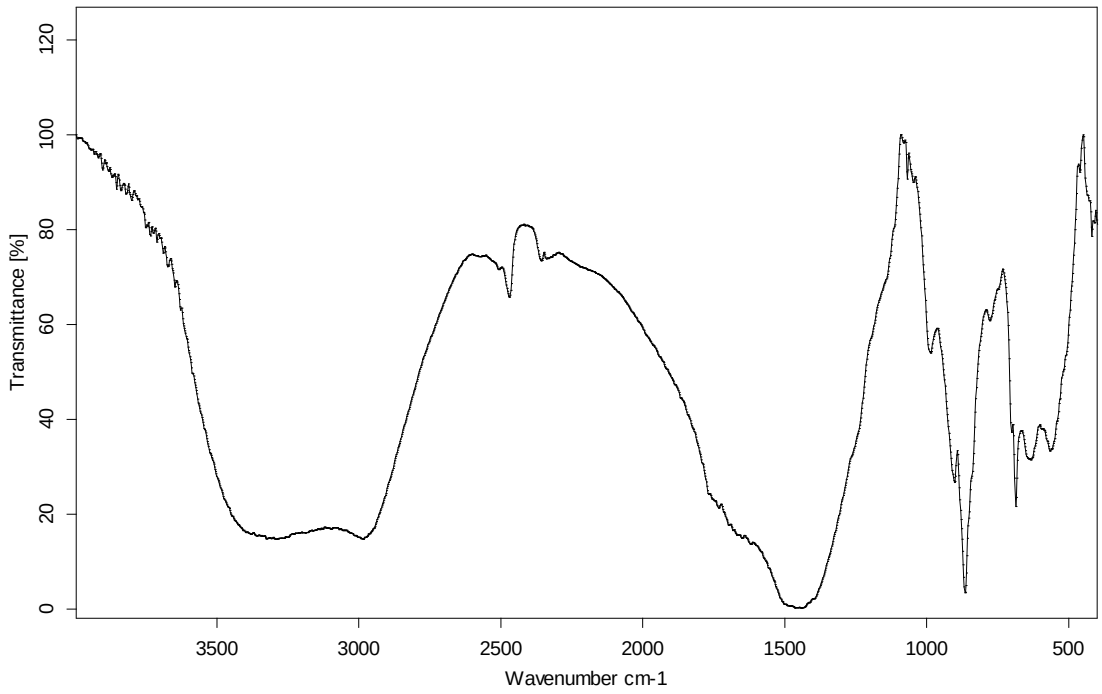


FIG. 26 ESPECTRO DE INFRARROJO DE LA IMPUREZA

En el espectro se aprecia una señal con fuerte intensidad y anchura en la región de 3500-3200 cm^{-1} característica del estiramiento O-H, entre 2900 y 3000 cm^{-1} observamos la vibración del enlace C-H. en la región próxima a 1474 cm^{-1} se identifica la deformación del enlace C-H propia de los carbohidratos. Cerca de 1000 cm^{-1} se identifica la vibración que corresponde al enlace C-O de un alcohol.

7 Referencias

Abeble Dagnaw, L. (2021). Solvent Effects on the Electronic Absorption Spectra of Benzene and Paranitroaniline in UV-Vis Spectroscopy. *American Journal of Quantum Chemistry and Molecular Spectroscopy*, *5*(2), 16–20. https://doi.org/10.11648/j.ajqcms.20210502.11

Abraham, A., & Chakraborty, P. (2019a). A review on sources and health impacts of bisphenol A. In *Reviews on Environmental Health*. De Gruyter. https://doi.org/10.1515/reveh-2019-0034

Abraham, A., & Chakraborty, P. (2019b). A review on sources and health impacts of bisphenol A. In *Reviews on Environmental Health*. De Gruyter. https://doi.org/10.1515/reveh-2019-0034

Altannak, N. F., & Alsaleh, A. (2015). A VALIDATED UPLC-UV METHOD FOR BISPHENOLA (BP-A) LEVELS DETECTION IN IMPORTEDPLASTIC TOYS AND DRINKING BOTTLED WATER IN KUWAIT. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *7*(8), 351–354.

Bai, J., Beyer, S., & Trau, D. (2011). Conjugated Polymers for Biosensor Devices. *Comprehensive Biomaterials*, *3*, 529–556. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-055294-1.00121-5

Berk, Z. (2018). Extraction. In *Food Process Engineering and Technology* (pp. 289–310). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812018-7.00011-7

Cao, X. L., Perez-Locas, C., Dufresne, G., Clement, G., Popovic, S., Beraldin, F., Dabeka, R. W., & Feeley, M. (2011). Concentrations of bisphenol a in the composite food samples from the 2008 Canadian total diet study in Quebec City and dietary intake estimates. *Food Additives and Contaminants - Part A*, *28*(6), 791–798. https://doi.org/10.1080/19440049.2010.513015

Ceballos-Luna, V., Chávez-Flores, D., Martínez-Serrano, I., Rocha-Gutierrez, B. A., Nevárez-Rodríguez, M. C., & Beltrán, B. G. (2022). Bisphenol and Phthalate

Migration Test from Mexican Meat Packaging Using HPLC-DAD Technique. *Journal of Chemistry*, *2022*. https://doi.org/10.1155/2022/2688236

Chailurkit, L. or, Srijaruskul, K., & Ongphiphadhanakul, B. (2017a). Bisphenol A in Canned Carbonated Drinks and Plastic-Bottled Water from Supermarkets. *Exposure and Health*, *9*(4), 243–248. https://doi.org/10.1007/s12403-016-0235-5

Chailurkit, L. or, Srijaruskul, K., & Ongphiphadhanakul, B. (2017b). Bisphenol A in Canned Carbonated Drinks and Plastic-Bottled Water from Supermarkets. *Exposure and Health*, *9*(4), 243–248. https://doi.org/10.1007/s12403-016-0235-5

Chen, S., Chen, J., & Zhu, X. (2016). Solid phase extraction of bisphenol A using magnetic core-shell (Fe3O4@SiO2) nanoparticles coated with an ionic liquid, and its quantitation by HPLC. *Microchimica Acta*, *183*(4), 1315–1321. https://doi.org/10.1007/s00604-016-1757-z

Constantin V. Uglea, & Ioan I. Negulescu. (1991). *Synthesis and Characterization of Oligomers*.

Coutinho, R., Gomes Vianna, M. T., & Marques, M. (2022). Optimisation of the conditions of dispersive liquid–liquid microextraction for environmentally friendly determination of bisphenols and benzophenone in complex water matrices by LC-MS/MS. *Microchemical Journal*, *180*, 107636. https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2022.107636

Cunha, S. C., Almeida, C., Mendes, E., & Fernandes, J. O. (2011). Simultaneous determination of bisphenol A and bisphenol B in beverages and powdered infant formula by dispersive liquid-liquid micro-extraction and heart-cutting multidimensional gas chromatography-mass spectrometry. *Food Additives and Contaminants - Part A*, *28*(4), 513–526. https://doi.org/10.1080/19440049.2010.542551

Dang, A., Sieng, M., Pesek, J. J., & Matyska, M. T. (2015a). Determination of bisphenol A in receipts and carbon paper by HPLC-UV. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, *38*(4), 438–442. https://doi.org/10.1080/10826076.2014.913520

Dang, A., Sieng, M., Pesek, J. J., & Matyska, M. T. (2015b). Determination of bisphenol A in receipts and carbon paper by HPLC-UV. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, *38*(4), 438–442. https://doi.org/10.1080/10826076.2014.913520

D'Antuono, A., Dall'Orto, V. C., Balbo, A. Lo, Sobral, S., & Rezzano, I. (2001). Determination of bisphenol A in food-simulating liquids using LCED with a chemically modified electrode. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(3), 1098–1101. https://doi.org/10.1021/jf000660n

Data México. (2022). *4,4'-Isopropilidendifenol "Bisfenol A, Difenilolpropano" y sus Sales: Intercambio comercial, compras y ventas internacionales, mercado y especialización | Data México*. https://www.economia.gob.mx/datamexico/es/profile/product/44-isopropylidenediphenol-bisphenol-a-diphenylolpropane-and-its-salts

Deirram, N., & Rahmat, A. R. (2012). Hydrolysis Degradation of Polycarbonate Using Different Co–solvent Under Microwave Irradiation. *APCBEE Procedia*, *3*, 172–176. https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2012.06.065

Dreolin, N., Aznar, M., Moret, S., & Nerin, C. (2019). Development and validation of a LC–MS/MS method for the analysis of bisphenol a in polyethylene terephthalate. *Food Chemistry*, *274*, 246–253. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.109

EFSA. (2023). *Bisphenol A*. https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bisphenol

Elobeid, M. A., Almarhoon, Z. M., Virk, P., Hassan, Z. K., Omer, S. A., ElAmin, M., Daghestani, M. H., & AlOlayan, E. M. (2012). Bisphenol a detection in various brands of drinking bottled water in Riyadh, Saudi Arabia using gas chromatography/mass spectrometer. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, *11*(3), 455–459. https://doi.org/10.4314/tjpr.v11i3.15

Farahin Mohd Ali, N., Sajid, M., Ibrahim Thani Abd Halim, W., Husaini Mohamed, A., Nadhirah Mohamad Zain, N., Kamaruzaman, S., Suhaila Mohamad Hanapi, N., Nazihah Wan Ibrahim, W., & Yahaya, N. (2023). Recent advances in solid phase extraction methods for the determination of bisphenol A and its analogues in

environmental matrices: An updated review. *Microchemical Journal*, *184*, 108158. https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2022.108158

Farooq, M. U., Muhammad, &, Jalees, I., Qurat-Ul-Ain, &, Hussain, G., Anis, M., & Islam, U. (2021). Health risk assessment of endocrine disruptor bisphenol A leaching from plastic bottles of milk and soft drinks. *Environmental Science and Pollution Research*, *28*, 57090–57098. https://doi.org/10.1007/s11356-021-14653-4/Published

Fasano, E., Esposito, F., Scognamiglio, G., Di Francesco, F., Montuori, P., Amodio Cocchieri, R., & Cirillo, T. (2015). Bisphenol A contamination in soft drinks as a risk for children's health in Italy. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, *32*(7), 1207–1214. https://doi.org/10.1080/19440049.2015.1031713

FDA. (2023). Bisphenol A (BPA): Use in Food Contact Application. *FDA*. https://www.fda.gov/food/food-packaging-other-substances-come-contact-food-information-consumers/bisphenol-bpa-use-food-contact-application

Flint, S., Markle, T., Thompson, S., & Wallace, E. (2012). Bisphenol A exposure, effects, and policy: A wildlife perspective. In *Journal of Environmental Management* (Vol. 104, pp. 19–34). Academic Press. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.03.021

Food Contact Material Regulations – Mercosur Region (2021). https://www.sgs.com/en/services/food-contact-material-regulations-mercosur-region

Gaona-Pineda, E. B., Rodríguez-Ramírez, S., Medina-Zacarías, M. C., Valenzuela-Bravo, D. G., Martínez-Tapia, B., & Arango-Angarita, A. (2023). Consumidores de grupos de alimentos en población mexicana. Ensanut Continua 2020-2022. *Salud Publica de Mexico*, *65*. https://doi.org/10.21149/14785

Gebru, Y. A., & Pang, M. G. (2023). Modulatory effects of bisphenol A on the hepatic immune response. *Environmental Pollution*, *336*, 122430. https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2023.122430

Geens, T., Aerts, D., Berthot, C., Bourguignon, J. P., Goeyens, L., Lecomte, P., Maghuin-Rogister, G., Pironnet, A. M., Pussemier, L., Scippo, M. L., Van Loco, J., & Covaci, A. (2012). A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. In *Food and Chemical Toxicology* (Vol. 50, Issue 10, pp. 3725–3740). https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.07.059

Geens, T., Apelbaum, T. Z., Goeyens, L., Neels, H., & Covaci, A. (2010). Intake of bisphenol A from canned beverages and foods on the Belgian market. *Food Additives and Contaminants - Part A*, *27*(11), 1627–1637. https://doi.org/10.1080/19440049.2010.508183

Geens, T., Goeyens, L., & Covaci, A. (2011). Are potential sources for human exposure to bisphenol-A overlooked? In *International Journal of Hygiene and Environmental Health* (Vol. 214, Issue 5, pp. 339–347). https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2011.04.005

Ginter-Kramarczyk, D., Zembrzuska, J., Kruszelnicka, I., Zając-Woźnialis, A., & Ciślak, M. (2022). Influence of Temperature on the Quantity of Bisphenol A in Bottled Drinking Water. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*(9), 5710. https://doi.org/10.3390/ijerph19095710

Hadjmohammadi, M. R., & Saeidi, I. (2010). Determination of bisphenol A in Iranian packaged milk by solid-phase extraction and HPLC. *Monatshefte Fur Chemie*, *141*(5), 501–506. https://doi.org/10.1007/s00706-010-0297-1

Hoekstra, E. J., & Simoneau, C. (2013). Release of Bisphenol A from Polycarbonate-A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *53*(4), 386–402. https://doi.org/10.1080/10408398.2010.536919

Indrayanto, G. (2018). Validation of Chromatographic Methods of Analysis: Application for Drugs That Derived From Herbs. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*, *43*, 359–392. https://doi.org/10.1016/BS.PODRM.2018.01.003

Iwano, H., Inoue, H., Nishikawa, M., Fujiki, J., & Yokota, H. (2018). Biotransformation of Bisphenol A and Its Adverse Effects on the Next Generation. *Endocrine Disruptors*. https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.78275

JORF, (Journal, officiel de la République française). (2015, March). *JORF n° 0217 du 19 septembre 2015 - Légifrance*. https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/jo/2015/9/19/0217

Juan García A., & Gallego C. (2015). Toxicidad del Bisfenol A: Revisión. *Revista de Toxicología*, *32*(2), 144–160.

Kang, J. H., Kondo, F., & Katayama, Y. (2006). Human exposure to bisphenol A. In *Toxicology* (Vol. 226, Issues 2–3, pp. 79–89). https://doi.org/10.1016/j.tox.2006.06.009

Kim, J. G. (2020). Chemical recycling of poly(bisphenol A carbonate). *Polymer Chemistry*, *11*(30), 4830–4849. https://doi.org/10.1039/c9py01927h

Kodila, A., Franko, N., Marija, ·, & Dolenc, S. (2023). A review on immunomodulatory effects of BPA analogues. *Archives of Toxicology* , *97*, 1831–1846. https://doi.org/10.1007/s00204-023-03519-y

Kumar, A., Singh, D., Bhandari, R., Malik, A. K., Kaur, S., & Singh, B. (2023). Bisphenol A in canned soft drinks, plastic-bottled water, and household water tank from Punjab, India. *Journal of Hazardous Materials Advances*, *9*, 100205. https://doi.org/10.1016/J.HAZADV.2022.100205

Kyle, P. B. (2017). Toxicology: GCMS. In *Mass Spectrometry for the Clinical Laboratory* (pp. 131–163). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800871-3.00007-9

Leena, O., Hassn, A., & Abdalla, E. (2016). Determination of bisphenol A in exposed bottled water samples to direct sun light using multi walled carbon nanotubes as solid phase extraction sorbent. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, *8*(7), 51–57. https://doi.org/10.5897/jece2015.0363

Lehmler, H. J., Liu, B., Gadogbe, M., & Bao, W. (2018). Exposure to Bisphenol A, Bisphenol F, and Bisphenol S in U.S. Adults and Children: The National Health and Nutrition Examination Survey 2013-2014. *ACS Omega*, *3*(6), 6523–6532. https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.8B00824

Liao, C., & Kannan, K. (2013). Concentrations and profiles of bisphenol a and other bisphenol analogues in foodstuffs from the united states and their implications for

human exposure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(19), 4655–4662. https://doi.org/10.1021/jf400445n

Liao, C., & Kannan, K. (2014a). A survey of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from nine cities in China. *Food Additives and Contaminants - Part A*, *31*(2), 319–329. https://doi.org/10.1080/19440049.2013.868611

Liao, C., & Kannan, K. (2014b). A survey of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from nine cities in China. *Food Additives and Contaminants - Part A*, *31*(2), 319–329. https://doi.org/10.1080/19440049.2013.868611

Lin, N., Ma, D., Liu, Z., Wang, X., & Ma, L. (2022). Migration of bisphenol A and its related compounds in canned seafood and dietary exposure estimation. *Food Quality and Safety*, *6*. https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyac006

Lv, T., Zhao, X. E., Zhu, S., Qu, F., Song, C., You, J., & Suo, Y. (2014). Determination of bisphenol A, 4-octylphenol, and 4-nonylphenol in soft drinks and dairy products by ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction combined with derivatization and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Separation Science*, *37*(19), 2757–2763. https://doi.org/10.1002/jssc.201400612

Ma, Y., Liu, H., Wu, J., Yuan, L., Wang, Y., Du, X., Wang, R., Marwa, P. W., Petlulu, P., Chen, X., & Zhang, H. (2019). The adverse health effects of bisphenol A and related toxicity mechanisms. *Environmental Research*, *176*. https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108575

Mandel, N. D., Gamboa-Loira, B., Cebrián, M. E., Mérida-Ortega, Á., & López-Carrillo, L. (2019). Challenges to regulate products containing bisphenol A: Implications for policy. *Salud Publica de Mexico*, *61*(5), 692–697. https://doi.org/10.21149/10411

Michałowicz, J. (2014). Bisphenol A - Sources, toxicity and biotransformation. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *37*(2), 738–758. https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.02.003

Mo, R., Liu, H., Lai, R., Deng, G., Zhang, Z., Pei, Z., Li, H., & Xia, E. (2017). Ultrasound-Assisted Upper Liquid Microextraction Coupled to Molecular Fluorescence for Detection of Bisphenol A in Commercial Beverages. *Food Analytical Methods*, *10*(5), 1575–1581. https://doi.org/10.1007/s12161-016-0714-0

Munguia-Lopez, E. M., Peralta, E., Gonzalez-Leon, A., Vargas-Requena, C., & Soto-Valdez, H. (2002). Migration of bisphenol A (BPA) from epoxy can coatings to jalapeño peppers and an acid food simulant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(25), 7299–7302. https://doi.org/10.1021/jf0257502

O'Mahony, J., Moloney, M., McCormack, M., Nicholls, I. A., Mizaikoff, B., & Danaher, M. (2013). Design and implementation of an imprinted material for the extraction of the endocrine disruptor bisphenol A from milk. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, *931*, 164–169. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.05.025

P. Sangai, N., & A. Pandya, H. (2021). BISPHENOL A DETECTION IN PACKAGED DRINKING WATER AND BEVERAGES USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY. *International Journal of Advanced Research*, *9*(03), 111–117. https://doi.org/10.21474/IJAR01/12562

Park, S. R., Park, S. J., Jeong, M. J., Choi, J. C., & Kim, M. K. (2018). Fast and simple determination and exposure assessment of bisphenol A, phenol, p-tert-butylphenol, and diphenylcarbonate transferred from polycarbonate food-contact materials to food simulants. *Chemosphere*, *203*, 300–306. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.185

Parto, M., Aazami, J., Shamsi, Z., Zamani, A., & Savabieasfahani, M. (2022a). Determination of bisphenol-A in plastic bottled water in markets of Zanjan, Iran. *International Journal of Environmental Science and Technology*, *19*(4), 3337–3344. https://doi.org/10.1007/s13762-021-03488-8

Parto, M., Aazami, J., Shamsi, Z., Zamani, A., & Savabieasfahani, M. (2022b). Determination of bisphenol-A in plastic bottled water in markets of Zanjan, Iran.

International Journal of Environmental Science and Technology, *19*(4), 3337–3344. https://doi.org/10.1007/s13762-021-03488-8

Priovolos, I., & Samanidou, V. (2023). Bisphenol A and its analogs migrated from contact materials into food and beverages: An updated review in sample preparation approaches. *Journal of Separation Science* , *46*. https://doi.org/10.1002/jssc.202300081

PubChem. (2019). *Bisphenol A*. PubChem. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/bisphenol-A

Regueiro, J., & Wenzl, T. (2015). Determination of bisphenols in beverages by mixed-mode solid-phase extraction and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, *1422*, 230–238. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.10.046

Reyes-Gallardo, E. M., Lucena, R., Cárdenas, S., & Valcárcel, M. (2016). Dispersive micro-solid phase extraction of bisphenol A from milk using magnetic nylon 6 composite and its final determination by HPLC-UV. *Microchemical Journal*, *124*, 751–756. https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.10.025

Rezaee, M., Yamini, Y., Shariati, S., Esrafili, A., & Shamsipur, M. (2009). Dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography-UV detection as a very simple, rapid and sensitive method for the determination of bisphenol A in water samples. *Journal of Chromatography A*, *1216*(9), 1511–1514. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.12.091

Roberts John D., & Caserio Marjorie C. (2014, April). *Spectral Properties of Arenes*. https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Basic_Principles_of_Organic_Chemistry_(Roberts_and_Caserio)/22%3A_Arenes_Electrophilic_Aromatic_Substitution/22.03%3A_Spectral_Properties_of_Arenes

Rodriguez, R., Castillo, E., & Sinuco, D. (2019). Validation of an HPLC method for determination of bisphenol-A migration from baby feeding bottles. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, *2019*. https://doi.org/10.1155/2019/1989042

Roy, A., Bauer, S. M., & Lawrence, B. P. (2012). Developmental exposure to bisphenol a modulates innate but not adaptive immune responses to influenza a virus infection. *PLoS ONE*, *7*(6). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038448

Schmid, P., & Welle, F. (2020). Chemical migration from beverage packaging materials—a review. *Beverages*, *6*(2), 1–19. https://doi.org/10.3390/beverages6020037

Senado de la República Mexicana. (2020, May). *Demanda Morena regular bisfenol A (BPA) y bisfenol-S (BPS) en el recubrimiento del papel térmico*. http://comunicacion.senado.gob.mx/index.php/informacion/boletines/47467-demanda-morena-regular-bisfenol-a-bpa-y-bisfenol-s-bps-en-el-recubrimiento-del-papel-termico.html

Snyder, L. R., & Kirkland, J. J. (Joseph J. (1979). *Introduction to modern liquid chromatography*. Wiley.

Sonavane, M., & Gassman, N. R. (2019a). Bisphenol A co-exposure effects: a key factor in understanding BPA's complex mechanism and health outcomes. *Critical Reviews in Toxicology*, *49*(5), 371–386. https://doi.org/10.1080/10408444.2019.1621263

Sonavane, M., & Gassman, N. R. (2019b). Bisphenol A co-exposure effects: a key factor in understanding BPA's complex mechanism and health outcomes. *Critical Reviews in Toxicology*, *49*(5), 371–386. https://doi.org/10.1080/10408444.2019.1621263

Songue Same, O., Piveteau, C., Biela, A., Kamga, R., & Deprez, B. (2023). Occurrence of bisphenols and contribution of edibles liquids conditioned in plastic packaging to the dietary exposure in Cameroon. *Scientific African*, *19*, e01515. https://doi.org/10.1016/J.SCIAF.2022.E01515

Stuart D. James, Provatas A. Anthony, Perkins R. Christopher, & Willig R. Michael. (2021). *A review on the recent advances in the analyses of Bisphenol-A and its replacements in beverages and foods with commentary*. 35–47.

Sungur, Ş., Koroğlu, M., & Özkan, A. (2014). Determination of bisphenol a migrating from canned food and beverages in markets. *Food Chemistry*, *142*, 87–91. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.034

Tatiana Goloubkova, & Poli Mara Spritzer. (2000). Xenoestrogênios: o Exemplo do Bisfenol-A. *Arq Bras Endocrinal Metab*, *44*(4), 323–330.

Thermo Spectronic. (n.d.). *Basic UV-Vis Theory, Concepts and Applications*. Retrieved May 10, 2024, from https://www.du.edu.eg/upFilesCenter/sci/1596861637.pdf

Tzatzarakis, M. N., Karzi, V., Vakonaki, E., Goumenou, M., Kavvalakis, M., Stivaktakis, P., Tsitsimpikou, C., Tsakiris, I., Rizos, A. K., & Tsatsakis, A. M. (2017a). Bisphenol A in soft drinks and canned foods and data evaluation. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance*, *10*(2), 85–90. https://doi.org/10.1080/19393210.2016.1266522

Tzatzarakis, M. N., Karzi, V., Vakonaki, E., Goumenou, M., Kavvalakis, M., Stivaktakis, P., Tsitsimpikou, C., Tsakiris, I., Rizos, A. K., & Tsatsakis, A. M. (2017b). Bisphenol A in soft drinks and canned foods and data evaluation. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance*, *10*(2), 85–90. https://doi.org/10.1080/19393210.2016.1266522

Vandenberg, L. N., Hauser, R., Marcus, M., Olea, N., & Welshons, W. V. (2007). Human exposure to bisphenol A (BPA). In *Reproductive Toxicology* (Vol. 24, Issue 2, pp. 139–177). https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.07.010

Vilarinho, F., Sendón, R., van der Kellen, A., Vaz, M. F., & Silva, A. S. (2019). Bisphenol A in food as a result of its migration from food packaging. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 91, pp. 33–65). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.012

Wang, X., Nag, R., Brunton, N. P., Siddique, M. A. B., Harrison, S. M., Monahan, F. J., & Cummins, E. (2022). Human health risk assessment of bisphenol A (BPA) through meat products. In *Environmental Research* (Vol. 213). Academic Press Inc. https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113734

Wu, H., Wu, L. H., Wang, F., Gao, C. J., Chen, D., & Guo, Y. (2019). Several environmental endocrine disruptors in beverages from South China: occurrence and human exposure. *Environmental Science and Pollution Research*, *26*(6), 5873–5884. https://doi.org/10.1007/s11356-018-3933-7

Xu, J., Huang, G., & Guo, T. L. (2016). Developmental Bisphenol A Exposure Modulates Immune-Related Diseases. *Toxics*, *4*(23). https://doi.org/10.3390/toxics4040023

Yang, L., Chen, Y., Shen, Y., Yang, M., Li, X., Han, X., Jiang, X., & Zhao, B. (2018). SERS strategy based on the modified Au nanoparticles for highly sensitive detection of bisphenol A residues in milk. *Talanta*, *179*, 37–42. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.10.055

8 Logros académicos



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Química

Otorga el presente

Reconocimiento

por haber obtenido

1er lugar

a

Raúl Olascoaga Díaz, María Magdalena García Fabila, Jorge Javier Ramírez García

por la presentación Oral en la mesa "Toxicología Ambiental"
con el trabajo titulado

"Bisfenol A en envases alimentarios y su repercusión en la inocuidad de los alimentos"

dentro del 3° Foro Ambiental, en la Facultad de Química.

Toluca de Lerdo, 23/ 24 de noviembre de 2023.

Patria, Ciencia y Trabajo

"2023, Conmemoración de los 195 Años de la Fundación del Instituto Literario del Estado de México"

Doctor en Ciencias Químicas
Víctor Varela Guerrero
Director de la Facultad de Química

U.A.E.M.
FACULTAD DE QUÍMICA
DIRECCIÓN

La Asociación Mesoamericana de Ecotoxicología y Química Ambiental

AQUATIC ECOSYSTEM HEALTH & MANAGEMENT SOCIETY

OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

a:

Raúl Olascoaga Díaz, María Magdalena García Fabila, Jorge Javier Ramírez García

por su valiosa participación en el X Congreso de la Asociación Mesoamericana de Ecotoxicología y Química Ambiental (AMEQA) y 1st Meeting of the Aquatic Ecosystem Health & Management Society-Latin American Chapter (AEH&MS-LA) con la exposición oral "Detección de BPA en bebidas herramientas analíticas para evaluar la contaminación".

1ST MEETING OF THE AQUATIC ECOSYSTEM HEALTH & MANAGEMENT-LATIN AMERICAN CHAPTER (AEH&MS-LA)

CIUDAD DE MÉXICO DEL 29 DE ENERO AL 02 DE FEBRERO DE 2024

Dr. Leobardo Manuel Gómez Oliván
Presidente de AMEQA

Dra. Marcela Galar Martinez
Vicepresidenta de AMEQA

OCOYOACAC

LA PRESIDENCIA MUNICIPAL A TRAVÉS DE LA DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN Y CULTURA
OTORGA LA SIGUIENTE:

CONSTANCIA

a

Q. Raúl Olascoaga Díaz

Por impartir la conferencia Bisfenol A: Enemigo Invisible

Dentro del ciclo de conferencias del medio ambiente llevada a cabo el día 12 de Marzo de 2024 en la Escuela Oficial No. 85 "Martín Chimaltecatl" en el municipio de Ocoyoacac, Estado de México.

Luis Esteban Galicia León
Director de Educación y Cultura

XXXVI Congreso Nacional de Química Analítica
XXVI Simposio Estudiantil

La Asociación Mexicana de Química Analítica y la Universidad Autónoma del Estado de México otorgan la presente:

CONSTANCIA

A: Raúl Olascoaga Díaz*, Ma. Magdalena García Fabila, Jorge Javier Ramírez García

Por la presentación del trabajo en la modalidad oral:

"Determinación de Bisfenol A en bebidas comerciales"

En el marco del XXXVI Congreso Nacional de Química Analítica y XXVI Simposio Estudiantil celebrado del 12 al 16 de agosto de 2024

Dra. María Fernanda Ballesteros Rivas
Directora de la Facultad de Química

Dra. Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo
Presidenta del AMQA



AMQA
ASOCIACIÓN MEXICANA DE QUÍMICA ANALÍTICA A.C.



CONGRESO
XXI INTERNACIONAL
XXVII NACIONAL de CIENCIAS AMBIENTALES
ANCA
VIII IBEROAMERICANO de FÍSICA y QUÍMICA AMBIENTAL
28 - 30 AGOSTO 2024

La Academia Nacional de Ciencias Ambientales ANCA, la Sociedad Iberoamericana de Física y Química Ambiental y la Universidad Autónoma de Campeche a través del Instituto de Ecología, Pesquerías y Oceanografía del Golfo de México, Laboratorio de Humedales Costeros, la Dirección General de Estudios de Posgrado e Investigación.

Otorgan la siguiente

CONSTANCIA

a:

Olascoaga Díaz Raúl, García Fabila Ma. Magdalena, Ramírez García Jorge Javier

por la presentación de su trabajo titulado:

EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR BISFENOL A EN UNA BEBIDA CARBONATADA MEDIANTE HPLC-UV

En el marco del **CONGRESO XXI Internacional, XXVII Nacional de Ciencias Ambientales ANCA, VIII Iberoamericano de Física y Química Ambiental**
San Fco. de Campeche, Campeche, del 28 al 30 de Agosto de 2024.

Dr. Alberto Pereira Corona
Presidente de ANCA

Dr. Homero J. Eudes Campo Alves
Presidente de SIFyQA

Dr. Domingo Concepción Flores Hernández
Director General de Estudio de Posgrado e Investigación de la UACam

Submission Confirmation

Thank you for your revision

Submitted to
Food Additives and Contaminants - Part B

Manuscript ID
TFAB-2024-0089.R1

Title
Bisphenol A from a non-alcoholic beverage widely consumed by a child population

Authors
Olascoaga Díaz, Raúl
Ramírez García, Jorge
García Fabila, María
Sanchéz Meza , Juan