



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**DETERMINACIÓN DE BISFENOL A (BPA) EN
FRUTAS, VEGETALES Y CÁRNICOS (FRESCOS Y
PROCESADOS)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

CAROLINA GARCÍA ESPARZA

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Roeb García Arrazola



Ciudad Universitaria, Ciudad De México, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Juan Diego Ortiz Palma Pérez

VOCAL: Profesor: Inés Miranda Martínez

SECRETARIO: Profesor: Roeb García Arrazola

1er. SUPLENTE: Profesor: Tania Gómez Sierra

2° SUPLENTE: Profesor: Jonathan Trapala Reyna

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Circuito de investigación científica s/n. Ciudad Universitaria, UNAM, Facultad de Química. Conjunto E. Departamento de alimentos y Biotecnología. Laboratorio 313

ASESOR DEL TEMA:

Roeb García Arrazola

SUSTENTANTE (S):

Carolina García Esparza

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
OBJETIVOS	5
1. ANTECEDENTES	6
1.1 Contaminantes emergentes en alimentos.....	6
1.2 Disruptores endócrinos (DEs) en alimentos.....	7
1.3 Bisfenol A como contaminante emergente en alimentos.....	9
1.3.1 Riesgos a la Salud causados por el BPA.....	11
1.3.2 Normatividad Internacional de Bisfenol A	13
1.3.3 Interacción del BPA dentro de la matriz alimentaria.....	15
2. METODOLOGÍA	19
2.1 Materiales y métodos.....	21
2.2 Determinación del contenido de BPA en las muestras.....	24
2.2.1 Extracción de BPA en Fase Sólida	24
2.2.1.1 Determinación en frutas, vegetales y atún fresco	24
2.2.1.2 Determinación en pescados y embutidos	25
2.2.2 Columnas cromatográficas	26
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
3.1 Lineamientos metodológicos.....	27
3.2 Extracción de BPA en muestras incorporadas con una concentración conocida.....	28
3.3 Determinación del contenido de BPA en zanahoria, piña, atún y embutido.	30
3.3.1 Determinación del contenido de BPA en zanahoria y piña.....	31
3.3.2 Determinación del contenido de BPA en atún y embutido.....	37
3.4 Estimación de la exposición involuntaria a BPA por consumo de zanahoria, piña, atún y embutido.	45
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	50
BIBLIOGRAFIA	53
ANEXOS	61

RESUMEN

El Bisfenol A es uno de los contaminantes emergentes más estudiados debido a que se ha determinado su presencia en una amplia variedad de alimentos. Además, se ha demostrado que su exposición genera una respuesta hormonal similar a la del estrógeno en el organismo con repercusiones en la salud. El BPA es utilizado para la fabricación de resinas epóxicas en el recubrimiento de latas y para el policarbonato en empaques de alimentos, principalmente. Se ha reportado que el consumo de alimentos es la principal fuente de exposición a bisfenol A en humanos.

En este trabajo se determinó con éxito el contenido de BPA en piña, zanahoria, embutido cárnico y atún por cromatografía líquida. Se emplearon muestras tanto enlatadas como frescas de piña, zanahoria, atún y un embutido cárnico, con el fin de tener una amplia gama de diferentes matrices alimentarias. Además, se discute la influencia de los macronutrientes en cada alimento (proteínas y lípidos, principalmente) para la extracción del BPA. Asimismo, se analiza que las condiciones de proceso y empaque son determinantes para el contenido total de BPA en el alimento.

Se logró una extracción de 0.174 mg/Kg de bisfenol A en zanahoria fresca, 0.107 mg/Kg en zanahoria enlatada, 0.259 mg/Kg en piña fresca, 0.372 mg/Kg en piña enlatada, 1.782 mg/Kg de atún fresco y 0.130 mg/Kg en embutido empacado en funda termo-encogible. Además, se determinó contenido de BPA en muestras de atún y embutido empacado en funda termoencogible, a las cuales se les agregó una concentración conocida, con un porcentaje máximo de extracción de hasta el 90%.

Finalmente, se estimó la ingesta de BPA debido al consumo de cada alimento, con base a los resultados obtenidos y empleando valores reportados de ingesta diaria promedio. En específico, se estimaron valores con los datos experimentales de 0.03 a 2.5 $\mu\text{g}_{(\text{BPA})}/\text{Kg}_{(\text{peso corporal})}\text{-día}$ para un adulto con un peso de 60 Kg conforme a normatividad nacional vigente. Este valor se encuentra por debajo de la Ingesta Diaria Tolerable (TDI, por sus siglas en inglés) de 4 $\mu\text{g}_{(\text{BPA})}/\text{Kg}_{(\text{peso corporal})}\text{-día}$ establecida por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, por sus siglas en inglés) en 2015. Sin embargo, en algunos casos, sobrepasan la ingesta diaria estimada para adolescentes y adultos de 0.12-0.16 $\mu\text{g}_{(\text{BPA})}/\text{Kg}_{(\text{peso corporal})}\text{-día}$ establecida también por EFSA en el 2015.

INTRODUCCIÓN

Los contaminantes emergentes pueden definirse como cualquier compuesto químico, sintético o natural, o microorganismo que tiene el potencial de ingresar al medio ambiente provocando daños ecológicos o a la salud humana (Smital, 2008).

Dentro de estos contaminantes se encuentra un grupo denominado disruptores endócrinos, los cuales tienen el potencial de interactuar con el sistema endócrino. El mecanismo de disrupción endócrina comúnmente involucra la imitación o interferencia de las funciones de algunas hormonas, principalmente estrógenos, andrógenos y hormonas tiroideas (Center for Food Safety of Hong Kong, 2012).

Los procesos mediante los cuales los disruptores endócrinos ingresan al cuerpo humano son varios. Por ejemplo, un gran número de disruptores endocrinos se encuentran en el agua para consumo humano como resultado del efluente proveniente de plantas manufactureras o de los desechos originados de la agricultura (Wells, 2013). Otro ejemplo sería mediante los alimentos expuestos a fertilizantes, pesticidas, el agua de riego, el suelo, además de las hormonas endógenas proveniente de los animales para consumo humano. Otras fuentes de exposición involuntaria a contaminantes emergentes pueden provenir de los muebles, aplicaciones eléctricas, ropa, detergentes, fármacos y otros artículos de uso diario (Shaw, 2009).

En el caso del Bisfenol A (BPA), este es un compuesto químico utilizado principalmente en combinación con otros compuestos para producir plásticos y resinas. Por ejemplo, el BPA es empleado para fabricar policarbonato, el cual se utiliza en contenedores de comida, botellas retornables de bebidas, mamilas, platos y tazas, entre otros (Geens, y otros, 2012). Algunos residuos de BPA están presentes también en resinas epóxicas empleadas para producir los recubrimientos de latas destinadas a almacenar alimentos, estos son empleados en empaques para comida desde los años 60. Se ha determinado que el BPA se libera en mayor cantidad, del empaque al alimento, cuando dicho empaque recibe calor (Kang, Kito y Kondo, 2003).

En una recopilación de diferentes estudios realizados en países como EUA, Japón, Reino Unido, Alemania, entre otros, sobre determinación de BPA en alimentos enlatados; se encontraron concentraciones de BPA que oscilan entre 0.2-95.3 ng/g para vegetales, 5-38 ng/g para frutas, 8.6-602 ng/g para carne y 2.1-192 ng/g para pescado (Goodman y Rhomberg, 2009).

Además de la migración de BPA hacia los alimentos, dependiente del empaque, existen otros factores de riesgo e interacciones que podrían evidenciar que el BPA se encuentra en una amplia variedad de alimentos no procesados. Por ejemplo, el contenido de lípidos juega un papel importante debido a la lipofilidad del BPA (Dalvie, Nair, Kang y Loi, 2010).

OBJETIVOS

Objetivo General:

Determinar el contenido de Bisfenol A en una muestra de fruta (piña), vegetal (zanahoria) y cárnicos (atún y embutido) y realizar un análisis sobre los factores que interfieren en las diferentes concentraciones encontradas tanto en alimentos frescos como enlatados.

Objetivos específicos:

- ✓ Adaptar una técnica de extracción y determinación cromatográfica para medir el contenido de BPA en piña, zanahoria, embutido (empacado en funda termoencogible) y pescado fresco, así como sus procesados (alimentos enlatados en recipientes de cierre hermético con recubrimiento de una resina epoxi).
- ✓ Determinar el contenido de BPA en piña, zanahoria, embutido y pescado fresco, así como sus procesados y, comparar el contenido de BPA entre los alimentos mencionados
- ✓ Calcular el consumo de BPA proveniente de los alimentos evaluados y compararlo con los valores propuestos por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA).

1. ANTECEDENTES

1.1 Contaminantes emergentes en alimentos

Estos se definen como contaminantes que pueden estar presentes en los alimentos como resultados del proceso de producción, del empaque, transporte o almacenamiento. La característica de estos contaminantes es que no necesitan persistir en el ambiente para causar efectos negativos, puesto que sus altas tasas de transformación/remoción se pueden compensar por su introducción continua al ambiente. Otra característica de los contaminantes emergentes, y que difiere de los demás contaminantes, es que no se tiene conocimiento suficiente para determinar los efectos adversos del compuesto químico, los cuales son claves para entender el riesgo asociado a la salud pública y al medio ambiente (Sauvé y Desrosiers, 2014).

Entre los contaminantes emergentes se incluyen fármacos, pesticidas, compuestos de uso cotidiano (cafeína, nicotina y sucralosa), compuestos para el cuidado personal, aditivos industriales y subproductos, aditivos alimentarios, subproductos generados por el tratamiento del agua, retardantes de flama, surfactantes, hormonas y esteroides, así como líquidos iónicos. (Stuart, Lapworth, Crane y Hart, 2012).

Aún existen incertidumbres en cuanto a la presencia, frecuencia, fuente, persistencia, destino y transporte de estos contaminante en el medio ambiente por lo que llegar a una regulación de estos, pareciera una solución a mediano o largo

plazo (EPA, 2015; Stuart, Lapworth, Crane y Hart, 2012; Lapworth, Baran, Stuart, y Ward, 2012).

El departamento de salud de Minnesota (MDH por sus siglas en inglés) se encuentra dentro de las pocas instituciones que han establecido programas con el fin de regular contaminantes emergentes. El programa propuesto por el MDH lleva por nombre “Contaminantes Emergentes de Riesgo en Agua para Beber” y fue establecido en 2010. Su objetivo primordial es el de investigar y comunicar la exposición potencial a contaminantes emergentes a través de agua para consumo.

Dentro de los contaminantes emergentes presentes en alimentos se encuentra un grupo denominado como disruptores endocrinos, el cual, ha sido de gran interés para la investigación debido a los efectos adversos que generan en la salud.

1.2 Disruptores endócrinos (DEs) en los alimentos

Se define a los disruptores endocrinos como sustancias que pueden encontrarse de manera natural o que son generadas por el hombre, las cuales pueden interferir o suplantar la función de las hormonas en el cuerpo, particularmente los estrógenos, andrógenos y las hormonas tiroideas. Estas pueden encender, apagar o modificar las señales hormonales, lo cual afecta a las funciones normales de tejidos y órganos (Center for Food Safety of Hong Kong, 2012).

Existe una amplia variedad de disruptores endocrinos, particularmente xenoestrogenos de origen industrial. Sin embargo, los plastificantes han sido el material de enfoque para investigaciones debido a que muchos de los alimentos se encuentren empacados en plástico (Yang, Yaniger, Jordan, Klein y Bittner, 2011).

El uso indiscriminado de películas antiadherentes tiene como consecuencia que los humanos se encuentren expuestos a disruptores endocrinos diariamente por medio de los alimentos. Además, existe la preocupación de que varios de estos puedan estar migrando a los alimentos debido a que varios disruptores endocrinos (entre ellos varios plastificantes) son lipofilicos (Shaw, 2009).

Es ampliamente aceptado que los alimentos y su consumo son las vías de exposición más importantes a compuestos naturales y sintéticos con propiedades de disrupción endócrina. Los efectos nocivos de la exposición a DEs mediante los alimentos pueden variar en una amplia gama de trastornos dependientes de hormonas, los cuales van desde infertilidad hasta cáncer (Shaw, 2009).

El efecto sobre la actividad biológica en el sistema endocrino causados por los DEs, a diferencia de las hormonas de origen natural, es causado por una concentración relativamente alta de estos, debido a que, sus actividades hormonales son usualmente cinco o seis ordenes de magnitud por debajo del 17β -estradiol. Sin embargo la combinación de DEs a concentraciones más bajas puede resultar en un efecto aditivo o de "coctel", lo que supone un riesgo mayor para el consumidor (Connolly, 2009).

El Bisfenol A presenta una actividad hormonal similar a las del estradiol, ya que se ha reportado su capacidad de unirse al receptor estrógeno y exhibir propiedades estrogénicas y anti androgénicas (Kitamura, y otros, 2005; Sun, Xu, Chen y Wang, 2006; Xu, y otros, 2005).

1.3 Bisfenol A como contaminante emergente en alimentos

El Bisfenol A (BPA) es un monómero ampliamente empleado en la producción de policarbonato, así como de resinas epóxicas (Figura 1). Se ha estimado que aproximadamente el 3% del policarbonato y el 10% de las resinas epóxicas se utilizan en materiales destinados a estar en contacto con alimentos (Liao y Kannan, 2014).

El policarbonato y las resinas epóxicas son ampliamente utilizadas en productos de consumo, incluyendo contenedores plásticos para alimentos y recubrimientos epóxicos de contenedores de cierre hermético empleados en alimentos enlatados (Geens, y otros, 2012).

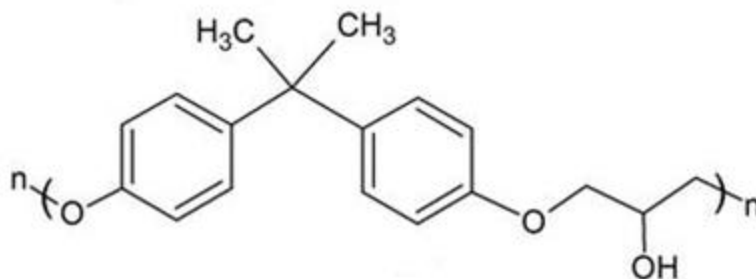


Figura 1.- Estructura de la resina epóxica

El Bisfenol A (2,2-bis (4-hidroxifenil) propano) es generado mediante la condensación de fenol y acetona, catalizados por un compuesto ácido o alcalino (Goodman y Rhomberg, 2009). Las condiciones de polimerización incompleta en las resinas epóxicas pueden dar como resultado la presencia de Bisfenol A residual, el cual tiene la capacidad de transferirse del recubrimiento de la lata al alimento (Cottier, y otros, 1998). Algunos estudios sugieren que esto puede ser influenciado por la cantidad de sales, aceite o grasa así como de glucosa o azúcares en el alimento, así como por el proceso térmico en conjunto con el pH (Brotons, Olea-Serrano, Villalobos, Pedraza y Olea, 1995; Kang, Kito y Kondo, 2003; Munguía-Lopez y otros, 2002). Por ejemplo: los componentes alimenticios, principalmente la grasa, puede migrar dentro de los polímeros empleados en el empaque y aumentar la movilidad de los componentes plásticos, promoviendo la migración al alimento (Brotons, Olea-Serrano, Villalobos, Pedraza y Olea, 1995). Además, las condiciones del procesamiento en alimentos pueden influenciar un aumento en la migración de BPA. Kang, Kito y Kondo en 2003 mostraron que el incremento de la temperatura de 105°C a 121°C en la temperatura de esterilización, incrementa la migración del BPA de 1 a 5 ng/mL.

El caso de los alimentos enlatados, específicamente, ha sido de gran interés en múltiples estudios relacionados con la migración y contenido de BPA debido a que, las latas de metal se protegen contra la corrosión mediante la aplicación de resinas epóxicas o resinas de organosol, principalmente (Footitt y Lewis, 1995).

Entre los diferentes tipos de resinas, las resinas de organosol han sido el principal tema de estudio. Lo anterior es debido a que son manufacturadas mediante la mezcla de diferentes tipos de resinas, tales como: cloruro de polivinilo (PVC), epoxi, fenólicas y epoxi fenólicas, lo que pudiera llevar a un mayor contenido de BPA. Las resinas de organosol, presentan gran flexibilidad debido a su alto contenido de sólidos, por lo que son empleadas en tapas abre-fácil y envases de gran profundidad que se encuentran ampliamente distribuidos en el mercado. (Cottier, y otros, 1998) Munguía-López, Gerardo-Lugo y otros en 2005 reportaron una migración de 645 µg de BPA /Kg proveniente de latas recubiertas con una resina de organosol hacia un simulante alimenticio graso (aceite de girasol).

Además de emplearse en la producción de empaques para alimentos, existen otras vías de exposición al BPA, las cuales pueden producir un efecto aditivo sobre el consumidor y generar un aumento en la concentración a la que se está expuesto. Algunas de estas vías son el contacto con papel de impresión térmica, adhesivos, recubrimientos, polioles y poliuretanos, líquido para frenos, resinas dentales, retardantes de flama, pinturas, llantas, entre otros (EU, 2003).

1.3.1 Riesgos a la Salud causados por el BPA

El BPA al igual que el estradiol puede unirse al receptor estrógeno y exhibir propiedades estrogénicas y anti androgénicas. Estas propiedades son influenciadas principalmente por el grupo 4-hidroxil en el anillo y la hidrofobicidad que imparte el propano unido a ambos anillos fenólicos (Kitamura, y otros, 2005; Sun, Xu, Chen y Wang, 2006; Xu, y otros, 2005).

Como ya se ha mencionado con anterioridad, el BPA puede imitar a las hormonas naturales y con ello generar un efecto similar provocando daños a la salud. Algunas de las patologías reportadas incluyen: trastornos de fertilidad y obesidad (Trasande, Attina y Blustein, 2012), mala función de las células β del páncreas y en la función de la hormona tiroidea, trastornos cardiovasculares y, aumento del riesgo de desarrollar cáncer (Rubin, 2011).

En humanos el BPA se metaboliza primero en el hígado y la pared intestinal, donde es directamente convertido a glucurónido, así como a sulfato y a glucurónido/sulfatodiconjugado (Pritchett, Kuester y Sipes, 2005; Inoue, Yuki, Yokota y Kato, 2003).

Esencialmente, la totalidad del BPA que se absorbe después de la exposición oral se metaboliza en el hígado y el intestino y es generalmente el conjugado el que es eliminado del cuerpo, en un día, mediante la orina (Völkel, Colnot, Csanady, Filser y Dekant, 2002; Völkel, Bittner y Dekant, 2005). En específico, el glucurónido no ha presentado respuesta biológica o actividad estrogénica (Matthews, Twoney y Zacharewski, 2001).

El BPA se ha relacionado ampliamente con trastornos metabólicos como la obesidad y diabetes; sin embargo la mayoría de los estudios se han realizado en animales, lo que dificulta la extrapolación de estos resultados a seres humanos (Caporossi y Papaleo, 2017).

Como cualquier disruptor endocrino, el BPA puede tener efectos tóxicos aun encontrándose en pequeñas concentraciones en el organismo. El efecto “coctel” entre varias clases de disruptores endocrinos no ha sido del todo estudiado; sin embargo, se han realizado estudios utilizando mezclas multicompuestas de compuestos con actividad estrogénica. En específico, Rajapakse y otros en 2004 encontraron resultados de aditividad en una mezcla formada por 17β -estradiol, 17α -etilnil estradiol, BPA y genisteina.

1.3.2 Normatividad Internacional de Bisfenol A

En lo relacionado a la normatividad de BPA, aun no existen límites máximos establecidos en alimentos con el fin minimizar un riesgo para la salud. Sin embargo, se han establecido límites de consumo como la Dosis Tolerable Diaria (TDI, por sus siglas en inglés) cuyos valores se han modificado a lo largo del tiempo.

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, (EFSA, por sus siglas en inglés) completó su primer reporte de riesgo sobre el BPA en 2006 y estableció una TDI con un valor de $50 \mu\text{g (BPA)}/\text{Kg (peso corporal)-día}$. En este mismo estudio, EFSA evaluó el consumo de BPA a través de la comida y bebida en adultos, niños y bebes; reportando que los valores se situaban por debajo del valor de TDI. En 2010, EFSA actualizó su recomendación acerca del BPA tomando en cuenta estudios recientes sobre toxicología del BPA en dosis bajas de exposición, sin embargo el valor de TDI se mantuvo en $5 \mu\text{g (BPA)}/\text{Kg (peso corporal)-día}$.

En 2012 se realizó una re-evaluación sobre los riesgos asociados a la exposición de BPA por varias fuentes. El estudio concluyó que para todas las poblaciones la

mayor fuente de exposición provenía de la dieta (EFSA, European Food Safety Authority, 2015).

El último reporte publicado por EFSA en enero de 2015, abordando los riesgos a la salud pública relacionados con la presencia de BPA en matrices alimentarias, indicó una disminución en el valor de TDI a $4 \mu\text{g}/\text{Kg}_{(\text{peso corporal})}\text{-día}$. Esto es doce y media veces menor que el valor indicado en el reporte de 2010 (EFSA, European Safety Authority, 2015).

La Comisión Europea decidió restringir, desde el 1 de Junio de 2011, la producción y venta de biberones de policarbonato con base de BPA por el Reglamento REACH de la European Chemicals Regulation (European Chemical Agency, 2016). Entre los países que operan bajo las regulaciones de REACH se encuentran: Austria, Bélgica, Dinamarca, Finlandia, Alemania, Francia, Suecia, entre otros (European Commission, 2016).

Algunos países de la Unión Europea también han establecido restricciones en el uso de empaques plásticos para alimentos que tengan como base al BPA. Por ejemplo, Dinamarca y Bélgica han introducido prohibiciones a nivel nacional como el uso de BPA en materiales en contacto con alimentos destinados a niños. Suecia introdujo una prohibición en el uso de BPA en cubiertas y barnices para materiales en contacto con alimentos para infantes y niños pequeños (European Commission, 2016). Francia es el primer país, a nivel mundial, que suspende al BPA en todos los empaques para alimentos, desde enero de 2015 (USDA, 2013). Cabe señalar que las restricciones mencionadas por los gobiernos de estos países son

independientes de las restricciones establecidas por la Union Europea (Bisphenol A, European Information Center on Bisphenol A, 2016).

En cuanto a la normatividad presente en México la única norma que nos brinda información sobre contaminantes emergentes es la NOM-021-ZOO-1995. En esta normatividad se habla sobre el análisis de residuos de plaguicidas organoclorados y bifenilos policlorados (BPC) en grasa de bovinos, equinos, porcinos, ovinos y aves. Sin embargo, no menciona al bisfenol A, el cual por su naturaleza lipofílica, puede encontrarse en la grasa de bovinos, equinos, etc. (Goodman & Rhomberg, 2009).

1.3.3 Interacción del BPA dentro de la matriz alimentaria

Los alimentos están compuestos por una compleja variedad de macronutrientes, principalmente: proteínas, carbohidratos y lípidos. Esto lo vuelve una de las matrices de estudio más complejas, puesto que se llevan a cabo innumerables reacciones entre estos macronutrientes (Badui Dergal, 2006). Además de estas reacciones, propias de los alimentos, se llevan a cabo interacciones de estos macronutrientes con otros compuestos presentes en los alimentos y en nuestro caso específico con el BPA.

Las interacciones entre el BPA y los macronutrientes han sido reportadas con efecto en la extracción misma del contaminante y con la bioaccesibilidad al momento de realizar la digestión de los alimentos que se encuentren contaminados (Cuhna, Alves, Fernandes, Casal y Marques, 2017).

Una de las interacciones principales es la que se lleva a cabo con los lípidos por sus dos anillos aromáticos que se ha descubierto con la capacidad de tener interacciones lipofílicas (ver figura 2) (Dalvie, Nair, Kang y Loi, 2010).

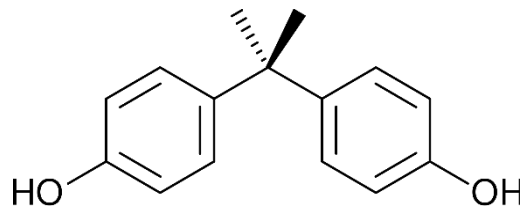


Figura 2.-Estructura del Bisfenol A (BPA)

Entre los alimentos con un mayor contenido de lípidos se encuentran aquellos de origen animal. La carne presenta de 9-40g de lípidos/100g (Chan, 2003), mientras que el pescado contiene entre 1.7-5 g de lípidos /100 g (United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 2016). Con base en lo anterior, el BPA puede llegar a almacenarse en el tejido graso de los cárnicos que consumimos, provenientes de cualquier fuente, además de los productos procesados en los que se empleen como materia prima.

Lo anterior es congruente con las determinaciones publicadas por Goodman y Rhomberg en 2009 (Tabla 1). Las muestras que presentan mayor cantidad de BPA son aquellas de origen animal.

Tabla 1.- Niveles de BPA detectado en alimentos enlatados (adaptado de Goodman & Rhomberg, 2009).

Grupo de alimentos	Concentración mínima encontrada (ng/g o ng/mL)	Concentración máxima encontrada (ng/g o ng/mL)
Vegetales, legumbres	<0.20	5.59
Frutas	5	38
Pescado	2.1	192
Carne	8.6	602

En estudios realizados por Weber y Lanno en 2001 y Wang *et al* en 2010 se demostró que un alto contenido de lípidos en la matriz alimentaria, puede disminuir la absorción intestinal de contaminantes orgánicos (Wang, y otros, 2010; Weber y Lanno, 2001). En ambos estudios se justificó la dificultad de la digestión debido, entre otros factores, a que los lípidos podrían secuestrar a los contaminantes mediante la lipofiliidad de los mismos. Esto también se pudo observar en un estudio realizado por Cuhna y otros en 2017, en el cual se realizaron estudios de bioaccesibilidad de BPA mediante la digestión de varias muestras de pescado enlatado. En este estudio se observaron resultados similares, en los cuales la bioaccesibilidad del BPA fue menor (80%) en la muestra con mayor contenido de lípidos (sardina en aceite, con un contenido de lípidos del 13.68%) (Cuhna, Alves, Fernandes, Casal, & Marques, 2017).

Además de las interacciones con lípidos, el BPA puede interactuar con las proteínas presentes en los alimentos, tales como: miosina, actina, tinina, troponina, actomiocina y tropomiocina.

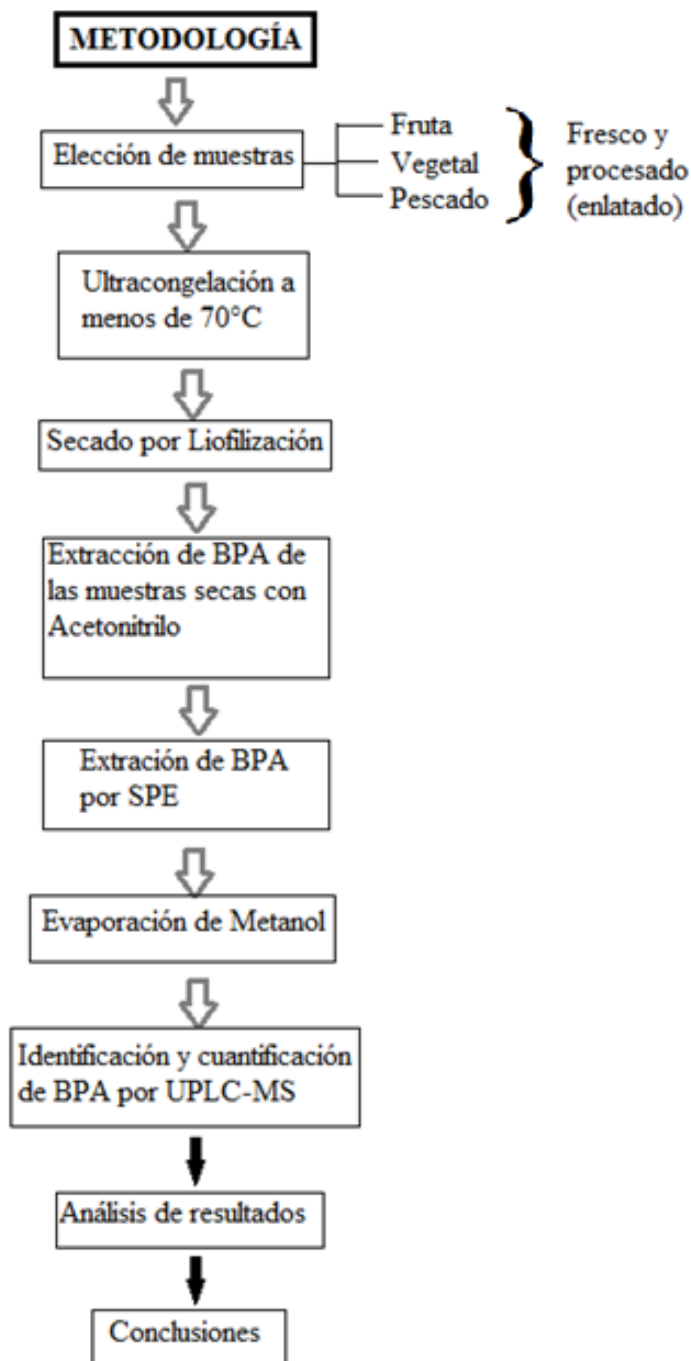
La miosina representa entre un 50% del total de las proteínas presentes en la carne, mientras que la troponina representa el 5% de dichas proteínas (Belitz, Grosch y Schieberle, 2009). Entre los aminoácidos que conforman estas proteínas se encuentran en mayor proporción la lisina, el ácido aspártico, la serina y la glutamina (Bridgen y Koch, 1972). Estos aminoácidos son capaces de interactuar con el BPA mediante puentes de hidrógeno debido a los grupos funcionales presentes en su cadena lateral como se muestra en la Figura 9 (ver apartado 3.3.1), mediante la interacción de un fragmento de la secuencia de tropomiocina con el BPA. A la fecha no se han realizado estudios relacionados con la interferencia de las proteínas en la bioaccesibilidad del BPA.

En este trabajo se determinó con éxito el contenido de BPA en piña, zanahoria, embutido cárnico y atún. Se discute la influencia de los macronutrientes en cada alimento (proteínas y lípidos, principalmente) en la extracción del BPA. Asimismo, se analiza que las condiciones de proceso y empaque son determinantes para el contenido total de BPA en el alimento.

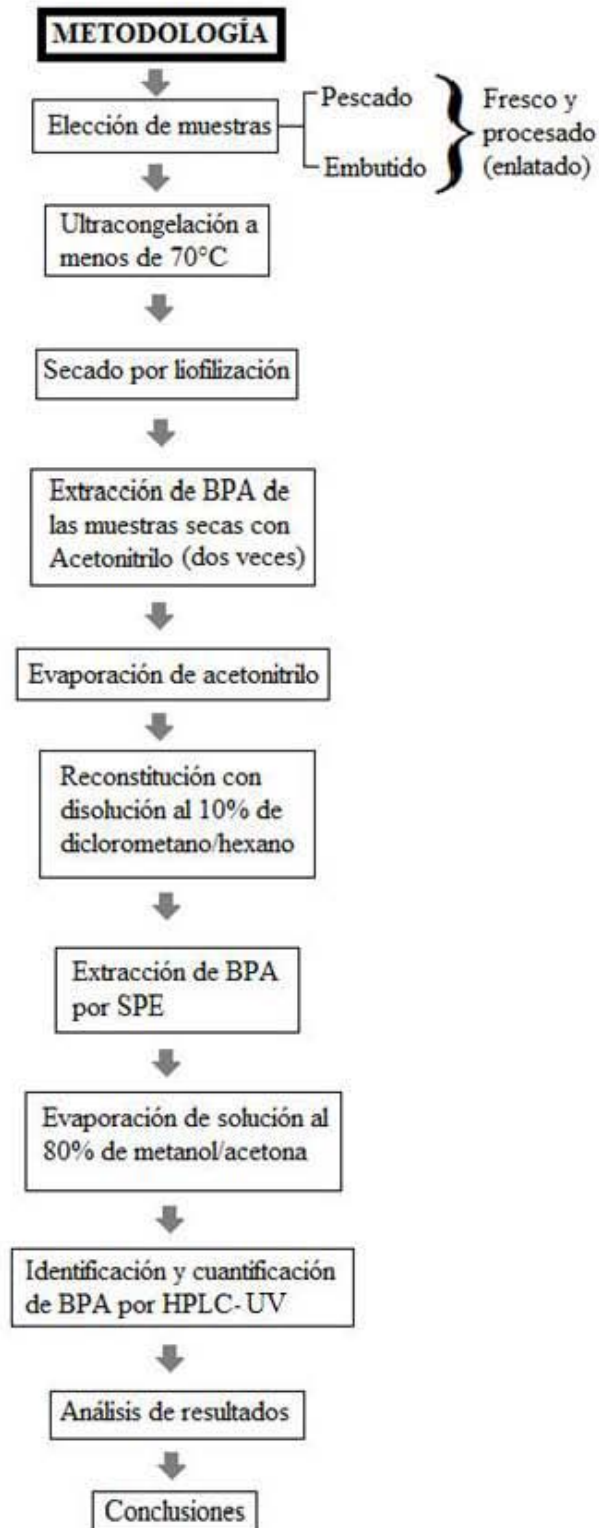
2 METODOLOGÍA

A continuación se muestran las diversas metodologías experimentales empleadas en el presente trabajo.

a) Metodología empleada para la extracción de vegetales, frutas y pescado.



b) Metodología empleada para la extracción en producto cárnico (embutido) y pescado



2.1 Materiales y métodos

Soluciones

Determinación en frutas, vegetales y atún fresco

Estándares de BPA con un intervalo de concentraciones de 0.001- 0.12 mg/mL fueron preparados en metanol HPLC (99.9% adquirido de Sigma-Aldrich) y almacenados en viales ámbar de vidrio a 4°C para su posterior inyección en UPLC-MS.

Determinación en pescado y embutidos

Estándares de BPA con un intervalo de concentraciones de 0.0005- 0.12 mg/mL fueron preparados en acetonitrilo LC-MS (adquirido de Sigma-Aldrich) y almacenados en viales ámbar de vidrio a 4°C para su posterior inyección en HPLC-UV.

Muestras

Piña y zanahorias frescas fueron adquiridas en el supermercado, colocadas en trozos sin lavar en frascos de polietileno de alta densidad. Posteriormente fueron congeladas a menos de 70 ° C y liofilizadas.

Piña y zanahoria enlatada, embutido enlatado (SPAM), embutido empacado en funda termoencogible (Jamón), atún fresco y atún enlatado fueron adquiridos en el supermercado. Las muestras fueron almacenadas hasta ser congeladas a menos de 70 ° C y posteriormente liofilizadas.

Todas las muestras fueron secadas por liofilización para la extracción de BPA (Liofilizadora Free Zone, Modelo 7740020 LABCONCO). Una vez liofilizadas, las muestras se mantuvieron en frascos de polietileno de alta densidad y almacenadas en desecadores hasta su extracción.

Se eligió un vegetal clasificado como raíz (zanahoria), tanto fresco como enlatado, cuya lata contiene como recubrimiento una resina epoxi en toda la lata. Así mismo se seleccionó una fruta (piña), fresca y enlatada, cuya lata únicamente contiene recubrimiento en la parte inferior de la lata, en la unión de la lámina que la conforma y en la tapa. Se eligió un alimento de origen animal (atún) y uno que contara en mayor proporción con una matriz cárnica (embutido).

Cartuchos para extracción en fase sólida (SPE)

Los cartuchos empleados para la extracción en fruta, vegetal y pescado fueron adquiridos de PHENOMENEX (Strata X/Strata XL), con una resina de Divinibenceno/N-vinilpirrolidona, con capacidad de 6mL.

Los cartuchos empleados para la extracción en pescado y embutido fueron adquiridos de PHENOMENEX (Strata NH2) con una resina a base de sílica di sustituida con propilamina, con capacidad de 6mL.

1.1 Lineamientos metodológicos

Con el fin de obtener datos que demuestren que las técnicas analíticas desarrolladas son adecuadas para determinar el contenido de BPA en alimentos se tomaron los siguientes lineamientos.

1.1.1 Linealidad

Determinación en frutas, vegetales y atún fresco

Concentraciones preparadas de 0.001 a 0.120mg/mL en metanol fueron inyectadas al UPLC-MS por duplicado. Se realizó una regresión lineal para obtener la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación (r), con un valor de 0.9948.

Determinación en pescados y embutidos

Concentraciones preparadas de 0.0005 a 0.120mg/mL en acetonitrilo fueron inyectadas al HPLC-UV por duplicado. Se realizó una regresión lineal para obtener la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación (r), con un valor de 0.9853.

1.1.2 Exactitud (porcentaje de recuperación)

Como parte de los resultados experimentales y, con el fin de conocer el grado de extracción en las muestras obtenidas de productos cárnicos, se realizó la adición de una solución de concentración conocida.

Se comenzó agregando una solución de BPA a una muestra de atún fresco, se incorporaron 1.5 mL de una solución 0.2 mg de BPA/mL, esto con el fin de obtener una concentración aproximada de 0.12 mg de BPA/mL.

1.1.3 Precisión (reproducibilidad)

Se evaluó por triplicado cada una de las muestras trabajadas de acuerdo a las metodologías de extracción descritas (punto 2.3.1). En todos los casos se calculó la desviación estándar y coeficiente de variación.

2.2 Determinación del contenido de BPA en las muestras

2.2.1 Extracción de BPA en Fase Sólida

2.2.1.1 Determinación en frutas, vegetales y atún fresco (adaptado de Deceuninck, y otros, 2014)

Se pesaron de 2.5 a 5 gramos de muestra previamente liofilizada y se mezcló con 40 mL de acetonitrilo (99.9% adquirido de Sigma-Aldrich) con agitación magnética durante 18 horas. El líquido se decantó, se centrifugó a 3000 rpm, 5 minutos y fue pasado por cartuchos de Strata X/XL, previamente acondicionados con dos lavados de 5 mL de metanol (99.8% adquirido de Reactivos Meyer) y 3 mL de agua destilada, absorbidos en vacío. Una vez pesada la muestra, se hicieron dos enjuagues usando 3 mL de agua y 4 mL de agua/metanol (90/10). Se descartó el eluato. Posteriormente se recuperó el BPA con 10 lavados de 1 mL de metanol. El extracto de la muestra se evaporó a sequedad en un baño con agua de 65°C a 70°C y se reconstituyó con 2 mL de metanol grado HPLC (99.9% adquirido de Sigma-Aldrich). Se realizó una microfiltración con membrana de politetrafluoroetileno humectable con agua (WWPTFE, por sus siglas en inglés) de un tamaño de poro de 2µm. La muestra se inyectó en un cromatógrafo UPLC-MS (adaptado de Manzano Batista, 2016).

La identificación cuantitativa del analito de interés (BPA) se realizó en una fruta, un vegetal y pescado fresco. En el caso de la fruta se empleó piña, en el caso del vegetal, zanahoria y, por último, en el caso del pescado, atún. El instrumento analítico fue un cromatógrafo de líquidos de ultra resolución acoplado a masas (UPLC-MS). Se empleó una curva tipo con concentraciones conocidas de un estándar de BPA que van hasta 0.12 mg/mL.

2.2.1.2 Determinación en pescados y embutidos (Adaptado de Liao y Kannan, 2013).

Se pesaron de 1 a 3 gramos de muestra previamente liofilizada y se mezcló con 20 mL de acetonitrilo (99.8% adquirido de Sigma-Aldrich) con agitación magnética durante 1 hora. Lo anterior se realizó dos veces, cambiando el disolvente entre cada extracción. El líquido se decantó y se centrifugo a 3000 rpm por 5 minutos. Ambos extractos se combinaron. El líquido se evaporó a sequedad y se re-disolvió con 2mL de una solución de Diclorometano (anhidro 99.8% adquirido de Sigma-Aldrich)/hexano (anhidro 95% adquirido de Sigma-Aldrich) (10/90). El extracto se transfirió a un cartucho Strata NH₂, el cual fue previamente acondicionado con 5mL de una solución de metanol (99.9% adquirido de Sigma-Aldrich)/acetona (99.5% adquirido de Sigma-Aldrich) (80/20) y 5 mL de hexano (anhidro 95% adquirido de Sigma-Aldrich). Posteriormente, el cartucho fue lavado con 5mL de hexano y el analito fue eluido con 5mL de una solución de metanol/acetona (80/20).

El extracto de la muestra se evaporó a sequedad en un baño con agua a 65-70°C y se reconstituyó con 2mL de acetonitrilo LC-MS (adquirido de Sigma-Aldrich). Se realizó una microfiltración con membrana de politetrafluoroetileno humectable con agua (WWPTFE, por sus siglas en inglés) de un tamaño de poro de 2µm. La muestra se inyectó en un cromatógrafo HPLC-UV.

La identificación cuantitativa del analito de interés (BPA) se realizó en un pescado fresco y enlatado, así como un embutido (empacado en una funda termo encogible) y en un enlatado. En el caso del pescado se empleó atún y en el caso del embutido, un producto que contuviera como materia prima carne de cerdo. El instrumento

analítico fue un cromatógrafo de líquidos de alta resolución acoplado a un detector ultravioleta (HPLC-UV). Se empleó una curva tipo con concentraciones conocidas de un estándar de BPA que van hasta 0.12 mg/mL.

2.2.2 Columnas cromatográficas

Determinación en frutas, vegetales y atún fresco

UPLC-MS

Waters SQ, Detector Acquity C18, UPLC BEH, 130°A, 1.7 µm, 2.1mm.x100mm

Determinación en pescados y embutidos

HPLC-UV

El BPA generó una mayor respuesta a una longitud de onda de 223nm con un tiempo de retención de 2.0 a 2.8 min. (Ver ANEXO 3) Se empleó una columna Symmetry Waters C18 de 4.6x150mm y 3.5 µm.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este apartado se presentan los resultados generados durante el desarrollo experimental del trabajo de tesis.

3.1 Lineamientos metodológicos

3.1.1 Linealidad

En el ANEXO 1 se muestran las curvas de calibración empleadas en las diferentes metodologías. Para el uso de UPLC-MS, se obtuvo una r de Pearson con un valor de 0.9973, el cual es aceptable para una prueba unilateral con 9 datos al 95% de confiabilidad (0.798) e indicando correspondencia entre los valores obtenidos con la recta de ajuste y los obtenidos experimentalmente (Harris, 2003). El método empleado cumple con la linealidad y permite determinar valores exactos de concentración del BPA en el intervalo de 0.001 a 0.120 mg/mL. Esta metodología fue empleada para zanahoria y piña, tanto frescos como enlatados y atún fresco.

También en el ANEXO 1 se muestra la curva de calibración empleada en la metodología HPLC-UV. En este caso se obtuvo una r de Pearson con un valor de 0.9964, el cual es aceptable para una prueba unilateral con 11 datos al 95% de confiabilidad (0.735) e indicando correspondencia entre los valores obtenidos con la recta de ajuste y los obtenidos experimentalmente (Harris, 2003). El método empleado cumple con la linealidad y permite determinar valores exactos de concentración del BPA en el intervalo de 0.0005 a 0.120 mg/mL. Esta metodología fue empleada para atún tanto fresco como enlatado y embutido empacado en funda termoencogible como enlatado.

3.2 Extracción de BPA en muestras incorporadas con una concentración conocida.

Se realizó una prueba a fin de conocer la eficiencia de extracción de BPA en las técnicas empleadas. A saber, tanto en las muestras que se cuantificaron mediante UPLC-MS como en HPLC-UV, se incorporó a las muestras 1.5 mL de una solución 0.2 mg de BPA/mL para obtener una concentración aproximada de 0.12 mg de BPA/mL. Los resultados del porcentaje de recuperación por ambas metodologías de extracción se muestran en la tabla 2.

Tabla 2.- Porcentaje de recuperación en atún y embutido, detección por UPLC-MS y HPLC-UV. Muestras incorporadas con 120 µg de BPA/mL

Detección por HPLC-UV			
Muestra	Concentración extraída (µg/mL)	%de Recuperación	% Coeficiente de variabilidad
Atún fresco	104.238	86.865	54.162
Embutido en funda termoencogible	26.624	22.187	13.812
Detección por UPLC-MS			
Atún fresco	18.197	15.164	29.372
Embutido en funda termoencogible	FLD	FLD	FLD

FLD: Fuera del límite de detección

Como podemos observar, los porcentajes de extracción son mayores por el método HPLC-UV. Esto podría deberse a que se emplearon dos extracciones consecutivas con acetonitrilo. Mientras que en el método por UPLC-MS, se emplea una sola extracción por un tiempo mayor con base a la metodología adaptada de Liao y Kannan, 2013). Los resultados son congruentes con los hallazgos descritos por Martí y colaboradores en los cuales resulta más efectivo el proceso de extracción si se realiza varias veces con pequeños volúmenes que una sola extracción a un mayor volumen (Burriel Martí, Lucena Conde, Arribas Jimeno y Hernández Méndez, 2008).

Además, en la metodología por HPLC-UV, se emplea un cartucho para SPE (Strata NH₂) que reporta unión de BPA a la resina mediante puentes de H y favorecidos por la polaridad del material en el cartucho (Phenomenex, High Quality SPE Products, 2018). En contraste, para la metodología por UPLC-MS se empleó un cartucho Strata X que reporta interacciones con el BPA únicamente mediante puentes de H. (Phenomenex, SPE, Strata X, 2018).

Cabe señalar, que los porcentajes de recuperación obtenidos en el presente trabajo de tesis resultaron menores que los reportados por (Liao, Liu, y Kannan, 2013; Liao y Kannan, 2014), a saber, 62 y 126 %, respectivamente. Por otra parte, Sun, Leong, Barlow, Chan y Bloodworth en 2006, reportan un porcentaje de recuperación entre 86.07 a 114.06% para carne, pescado, vegetales y frutas. Esto podría explicarse por la interacción con los macronutrientes en cárnicos que se detalla más adelante, (ver sección 3.3.1).

3.3 Determinación del contenido de BPA en zanahoria, piña, atún y embutido.

En la Figuras 3 se muestran los cromatogramas por UPLC-UV, en el espectro UV y en el ES (-) MS/MS, de un estándar de BPA con una concentración de 0.08 mg/mL.

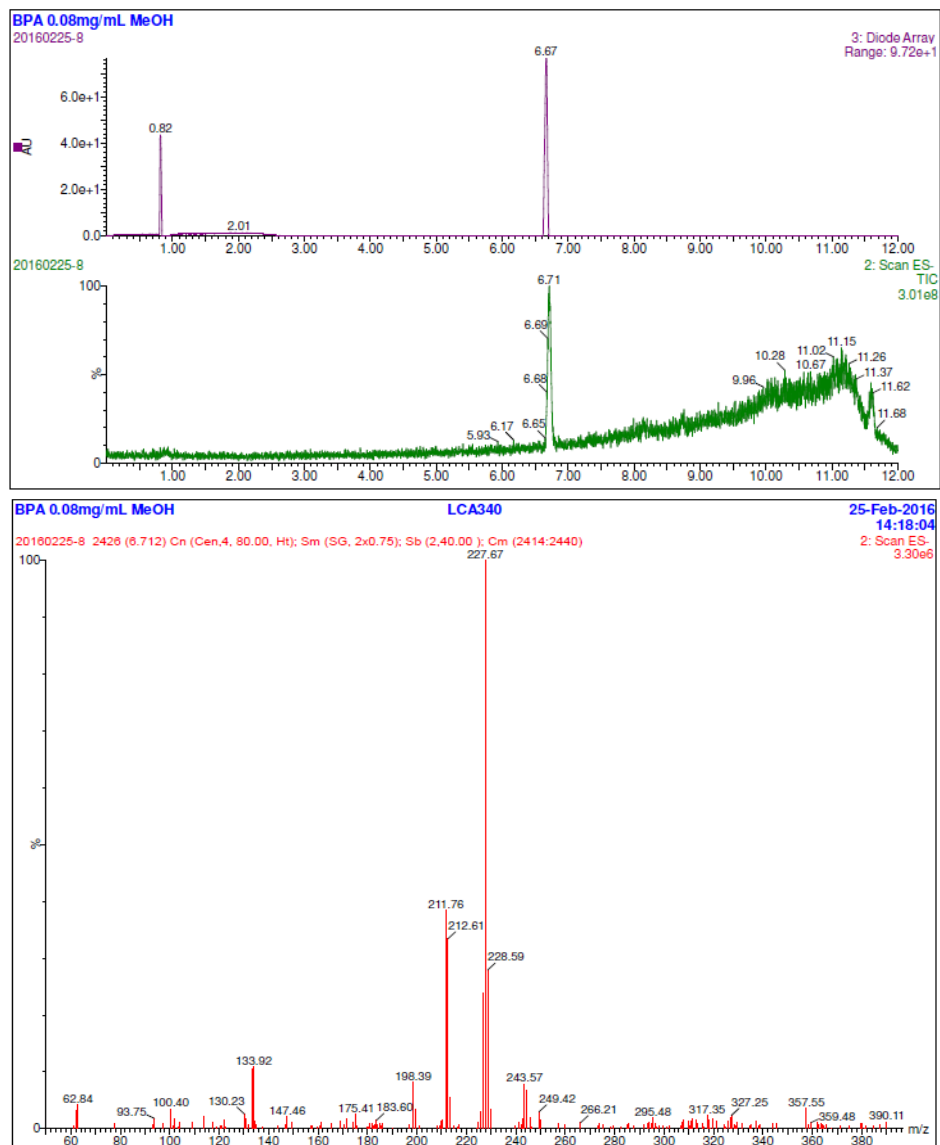


Figura 3. Espectro a) UPLC-UV y b) ES (-) MS/MS de un estándar de BPA con una concentración de 0.08 mg/mL.

En el cromatograma UPLC-UV, se puede observar el pico característico del Bisfenol A entre 6.67 y 6.71 min. En el cromatograma ES (-) MS/MS puede observarse el pico base en 227.67 m/z, el cual es característico de BPA, dado que su masa molar es de 228.29g/mol.

Los resultados obtenidos para cada muestra analizada se exponen en la tabla 3 y se discutirán en las siguientes secciones.

Tabla 3. Concentraciones de bisfenol A en las muestras analizadas

Muestra	No procesadas (frescos) y embutido en funda termoencogible		Muestras procesadas (enlatadas)	
	BPA (mg/Kg)	%CV	BPA (mg/Kg)	%CV
Zanahoria	0.174	0.371	0.107	0.601
Piña	0.259	0.580	0.372	0.384
Atún	1.782	0.176	FLD	FLD
Ebutido	0.130	0.265	FLD	FLD

FLD: Fuera del Límite de Detección

3.3.1 Determinación del contenido de BPA en zanahoria y piña.

Thomson y Grounds en 2005 reportaron el contenido de BPA en una amplia variedad de alimentos enlatados, provenientes en su mayoría de Nueva Zelanda. El límite máximo de BPA reportado en este estudio fue de 24 ng/g en vegetales. Este nivel es significativamente menor al encontrado en el presente estudio, ya que, en el caso de zanahoria fresca, el valor obtenido es de 174 ng de BPA/g de muestra y en el caso de zanahoria enlatada de 107 ng de BPA/g de muestra.

Para el caso de la piña, el valor reportado en frutas (por el mismo estudio mencionado) es $<10\text{ng/g}$, mientras que el valor obtenido en el presente trabajo de tesis fue de 259 ng/Kg en el caso de piña fresca y de 372 ng/Kg en el caso de piña enlatada. Estos valores también se encuentran por encima de los valores reportados por Thomson y Grounds en 2005.

Dado los resultados reportados en la tabla 3 podemos decir que tanto la zanahoria como la piña fresca cuentan con una concentración inicial de BPA mucho mayor que lo reportado por Thomson y Grounds en 2005. Esto podría explicarse por la presencia de BPA desde el agua de riego. En México, se ha reportado presencia de BPA en un rango de $148\text{-}3750\text{ ng/L}$ en agua empleada para riego (Gibson, Durán-Álvarez, León E., Chávez y Jiménez C., 2010).

Calderón-Preciado, Matamoros, y Bayona en 2011, determinaron que existía presencia de BPA en aguas de riego en España, con valores entre 0.024 y 0.055 ng de BPA/L. En este mismo estudio estimaron, consecuentemente, una concentración de $0.032\text{ }\mu\text{g}$ de BPA/Kg en el suelo y $7.677\text{ }\mu\text{g}$ de BPA/Kg en los cultivos.

En 2012, Lu y otros determinaron la concentración de BPA tanto en un tubérculo (papa) como en un fruto cítrico, encontrando concentraciones de BPA de $4.32\text{ }\mu\text{g/Kg}$ y $8.95\text{ }\mu\text{g/Kg}$, respectivamente. Si bien, estos resultados son mucho menores a los determinados experimentalmente en este trabajo de tesis, a saber, $174\text{ }\mu\text{g/Kg}$ para un tubérculo (zanahoria) y $259\text{ }\mu\text{g/Kg}$ para un fruto (piña), concuerdan en que los alimentos cultivados en un nivel inferior al suelo o frutos con pH bajo presentan alto contenido de BPA.

Por otra parte, como podemos observar en la figura 4, la zanahoria enlatada cuenta con una cantidad menor de BPA que la zanahoria fresca. Esto podría estar relacionado directamente con el proceso de elaboración.

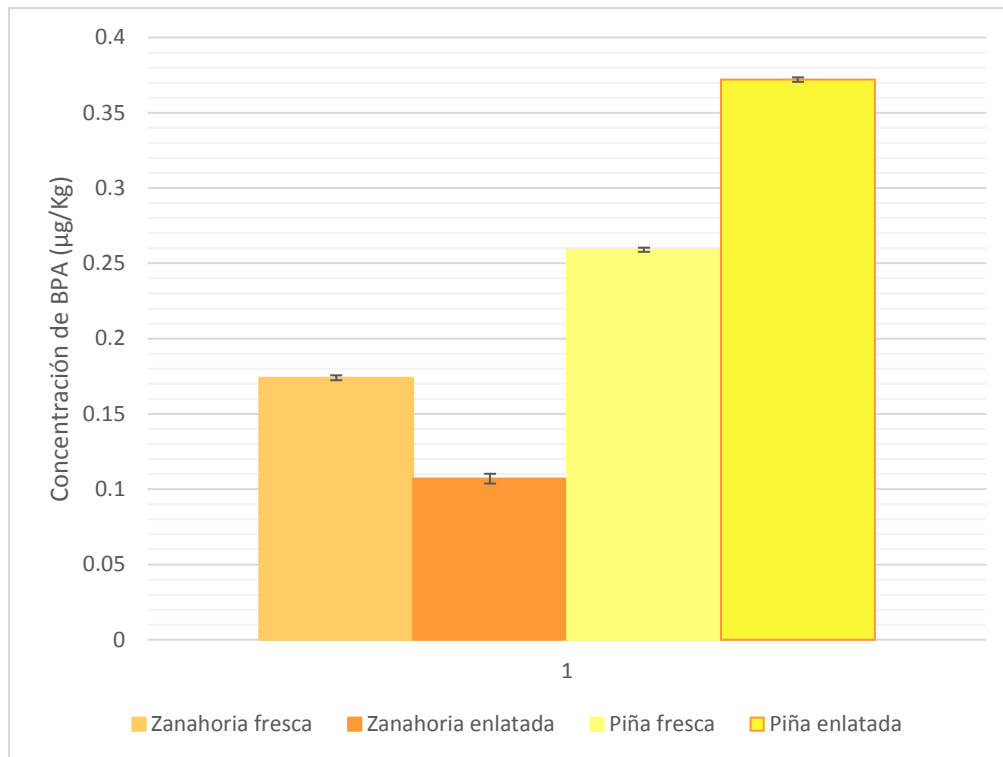


Figura 4. Concentraciones de BPA (µg/Kg) obtenidas en zanahoria y piña

En la figura 5 se muestra el diagrama general de elaboración de zanahoria enlatada y como puede observarse, existe una fase de escaldado, previo al procesamiento térmico. El escaldado es una operación empleada en el procesamiento de frutas y hortalizas en el cual el alimento se somete a un calentamiento rápido.

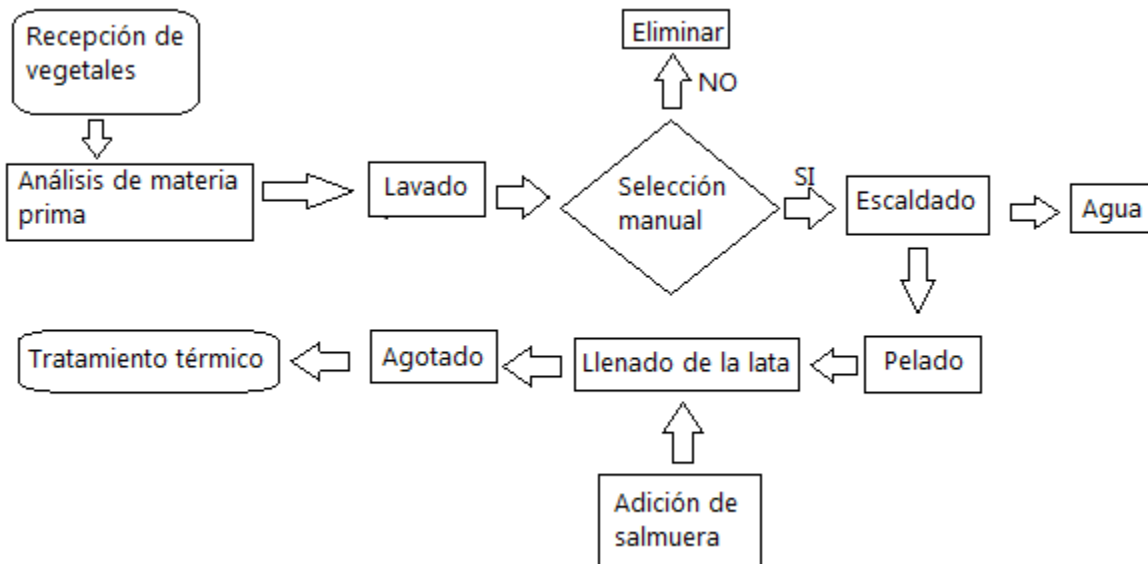


Figura 5. Diagrama general del proceso de elaboración de zanahoria enlatada.

Adaptado de (Downing, 1996).

El escaldado es una parte importante del procesamiento que pretende la inactivación de enzimas y un menor tiempo de procesamiento térmico. Sin embargo, también conlleva una pérdida de nutrientes termolábiles y cambios en la textura del alimento (Ranken, Kill, & Baker, 1997). Las zanahorias, por lo general, son sometidas a condiciones de escaldado entre 2-4 minutos en agua de 88-99°C (Downing, 1996).

En el caso de algunos vegetales como la coliflor, papa y zanahoria, se emplea un tratamiento con soluciones de sulfato para prevenir el obscurecimiento, además de incrementar la estabilidad en el almacenamiento (Ávila, 2011). Se ha reportado que los sulfitos disociados pueden unirse a componentes vegetales y que tienden a tener una unión irreversible con los compuestos fenólicos, tales como el BPA.

El compuesto derivado de esta unión resulta ser soluble en agua, lo que favorece su migración hacia el agua del escaldado (Paliyath, Tiwari, Sitbon, & Whitaker, 2012). Como consecuencia de esto, la zanahoria enlatada puede tener una cantidad menor de BPA, dado que una fracción del mismo puede migrar hacia el agua en la etapa de escaldado.

Además, dado el procesamiento térmico al cual es sometida la zanahoria en el proceso de escaldado, la célula vegetal puede llegar a romperse y generar un cambio de textura en el alimento (Downing, 1996). Este fenómeno puede llegar a incrementar la permeabilidad del vegetal, permitiendo la entrada y salida de agua, lo que también propiciaría la salida de compuestos que pudieran encontrarse disueltos en el agua, como es el caso de los compuestos fenólicos, entre ellos el BPA.

Continuando con el caso de los vegetales y frutas enlatados, la migración del BPA de la lata al alimento podría explicarse con base al contenido de glucosa y salmuera en las muestras analizadas.

En un estudio realizado por Kag, Kito y Kondo en 2003, se demostró que concentraciones de glucosa entre un 5% y 20% aumentan la migración de BPA. Específicamente, de un valor inicial de 5ng/mL en agua a 8 ng/mL en las muestras con un porcentaje de glucosa. Igualmente, el aumento en la concentración de sodio generó una migración mayor a 10ng/mL. En el caso del almíbar de la piña enlatada se reporta un contenido de glucosa promedio entre 20-40% m/m (Downing, 1996). En el caso de la zanahoria enlatada se reporta un contenido de cloruro de sodio promedio de 2% m/v (Downing, 1996).

Otro punto que tomar en consideración está relacionado con la fabricación de las latas, dado que, si bien, las latas de zanahoria cuentan con un recubrimiento de resina epóxica completo, las latas de piña únicamente cuentan con un recubrimiento parcial (véase figura 6). Lo anterior es debido que el bajo pH favorece la disolución del estaño de la lata el cual reacciona con compuestos orgánicos de la piña, y como consecuencia, reduce el obscurecimiento no enzimático (Chonhenchob, Tanafranca, & Singh, 2017).



Figura 6. Interior de una lata de piña en almíbar (fotografía propia, 2017)

La resina de color blanco que se observa en la fotografía de la figura 6, tanto en el fondo del contenedor como en la unión de la misma, puede identificarse como dos tipos de recubrimiento, a saber, una resina epóxica con un proceso de curado con ácido trimelítico (TMA) y, una resina de vinil-organosol. Por otra parte, el recubrimiento en la tapa se reporta usualmente como una resina de organosol adicionada con aluminio y usual en tapas abre-fácil por su mayor flexibilidad (Robertson, 2012). Ambas son consideradas fuentes potenciales de BPA.

En 2002, Kang, Kito y Kondo determinaron que un proceso térmico a 121°C por 30 min. generaba una migración de BPA de 5ng/mL. Por otra parte, un procesamiento térmico de 105°C por la misma cantidad de tiempo generaba una migración de 1ng de BPA/mL. Se concluyó que la influencia de la temperatura de proceso de enlatado es determinante para la migración de BPA en la lata hacia el alimento.

Además, Munguía-Lopez y otros en 2002, así como Erricco, y otros en 2014, demostraron la migración de BPA de un recubrimiento de lata hacia un simulante ácido, empleando un procesamiento térmico. Munguía-Lopez y otros obtuvieron valores de 1.73 µg de BPA/Kg con un proceso térmico a 100°C por 9 minutos, mientras que Erricco y otros reportaron valores entre 0.31-3.77 µg de BPA/Kg con un proceso térmico de 121°C por 30 minutos.

Por lo tanto, la acidez de la piña enlatada con pH de 3.4 (Chonhenchob, Tanafranca, & Singh, 2017), el contenido de azúcar en el almibar y el procesamiento térmico, son factor relevantes para la migración de BPA.

3.3.2 Determinación del contenido de BPA en atún y embutidos cárnicos

En el caso de reportes para concentraciones de BPA en pescado y alimentos provenientes del mar, frescos, se tiene un estudio realizado por Liao y Kannan en 2013, en el cual se encontraron valores de 3.23 ng de BPA/g de muestra. Además, en un estudio realizado por Mita y otros en 2010, se encontraron valores de BPA entre 0.2 ng/g y 5 ng/g en músculo de pescados recolectados en zonas marítimas colindantes con Italia.

Estos datos resultan interesantes puesto que el atún es una especie capturada principalmente en el mar. Sin embargo, no se han encontrado estudios concretos que determinen BPA en atún fresco. Al realizar una comparación entre el valor obtenido en el presente trabajo de tesis, a saber, 1782 ng de BPA/g (véase figura 7) y los valores reportados, podemos observar que la cantidad de BPA presente en nuestras muestras supera por mucho a los valores reportados en ambos estudios.

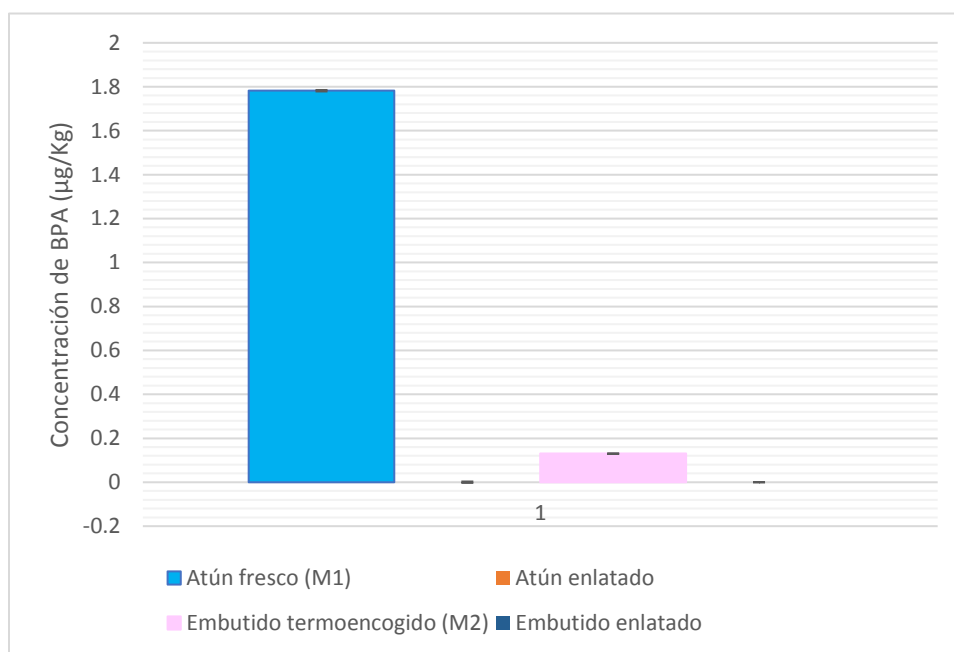


Figura 7. Concentraciones de BPA ($\mu\text{g/Kg}$) obtenidas en atún y embutido

Rochman y otros en 2013, evaluaron la relación entre varios contaminantes marítimos provenientes de residuos plásticos y el contenido de estos en el tejido de algunos peces. En este estudio se determinó que la principal fuente de BPA para los alimentos provenientes del mar no estaba relacionada directamente con el consumo de residuos plásticos por parte de estas especies, si no con la contaminación marítima debida a aguas residuales y lixiviación proveniente de

tiraderos de basura. En el caso del atún fresco, esta podría ser la principal fuente de BPA.

Además, el atún es uno de los pescados con mayor contenido de grasa, con un valor de 4.9 g de grasa/100 g de atún (USDA, 2013), lo cual favorecería la bioacumulación del BPA debido a su lipofiliidad (Goodman y Rhomberg, 2009).

En cuanto al atún enlatado, un estudio realizado en Estados Unidos por Schecter, y otros, en 2010 mostró que existían varias muestras de atún enlatado comercial que presentaban valores entre 0.20 y 1.66 ng de BPA/g. Mientras que otro estudio, realizado por Thompson y Grounds, en 2005, mostró concentraciones en pescado entre 20-109 μg de BPA/Kg. Sin embargo, estos valores no concuerdan con los datos obtenidos en la realización de esta tesis, probablemente debido al método de extracción. Thompson y colaboradores reportan haber empleado una mezcla de acetonitrilo con trimetilpentano para remover la grasa y evitar interacciones con el BPA (Thompson y Grounds, 2005).

Otro factor relevante pudo haber sido la falta de cuantificación en el aceite contenido en las latas de atún. En un estudio realizado por Kang, Kito, y Kondo, en 2003, se encontró un aumento en la migración de BPA para las muestras con aceites vegetales (maíz, oliva y soya), e identificando valores entre 16-18ng de BPA/mL, en contraste para la muestra de atún en agua cuyo valor fue de 5ng/mL. Otro estudio realizado en 2005 por Munguía-López y otros, mostró una migración de 11.3 a 138.4

µg de BPA/Kg cuando un simulante alimenticio graso se colocó en latas de atún nuevas y fue sometido a condiciones de esterilización (121°C/ 90 min).

Por otra parte, se ha demostrado que un alto contenido de lípidos en la matriz alimentaria puede disminuir la absorción intestinal de contaminantes orgánicos (Wang, y otros, 2010; Weber y Lanno, 2001). En ambos estudios se justificó la dificultad de la digestión debido, entre otros factores, a que los lípidos podrían secuestrar a los contaminantes mediante la lipofilicidad de los mismos. Esto también se pudo observar en un estudio realizado por Cuhna y otros en 2017, en el cual se realizaron estudios de bioaccesibilidad de BPA mediante la digestión de varias muestras de pescado enlatado. En este estudio se observaron resultados similares, en los cuales la bioaccesibilidad del BPA fue menor (80%) en la muestra en la cual el contenido de lípidos fue mayor (sardina en aceite) con un contenido de lípidos del 13.68% (Cuhna, Alves, Fernandes, Casal, & Marques, 2017).

En el caso del presente desarrollo experimental, el contenido de grasa pudo haber actuado como un agente secuestrante y retener el BPA de la muestra. Consecuentemente, las matrices cárnicas, atún enlatado y el embutido enlatado (SPAM) observaron un valor de BPA por debajo del límite de cuantificación.

Este mismo fenómeno se pudo observar en las muestras incorporadas con una concentración conocida de BPA, en las cuales no se alcanzó una extracción completa para las muestras de atún fresco y jamón (véase tabla 2).

Además del contenido de grasa en las muestras de atún y embutidos cárnicos, también es muy relevante analizar la interacción del BPA con el contenido proteico.

En la figura 8 se propone la interacción del BPA con los aminácidos presentes en la tropomiocina (proteína del músculo) mediante puentes de hidrógeno. Si bien esta interacción no se encuentra reportada aún en la literatura, existe la posibilidad de que pudiera intervenir en la extracción de BPA.

No existen al día de hoy reportes de BPA presente en embutido empacado en funda termoencogible. Sin embargo, existen datos sobre BPA presente en matrices cárnicas, a saber: Shao y otros, en 2007 encontraron concentraciones en carne de cerdo entre 0.89 y 7.08 μg de BPA/Kg y otro estudio realizado por Liao y Kannan, en 2013 que indica un valor de 0.852 ng de BPA/g en muestras de carne y sus productos. Ambos resultados son indicativos de presencia de BPA en productos cárnicos desde su origen y son mayores que los obtenidos en el presente trabajo de tesis. Esto podría explicarse por la interacción proteica mencionada y el secuestro de BPA debido al contenido de grasa (Wang, y otros, 2010; Weber y Lanno, 2001) de 7.62 g/100g en la muestra de embutido, el cual es mayor que en la carne de cerdo (4.86g de grasa/100g) (USDA, 2013)

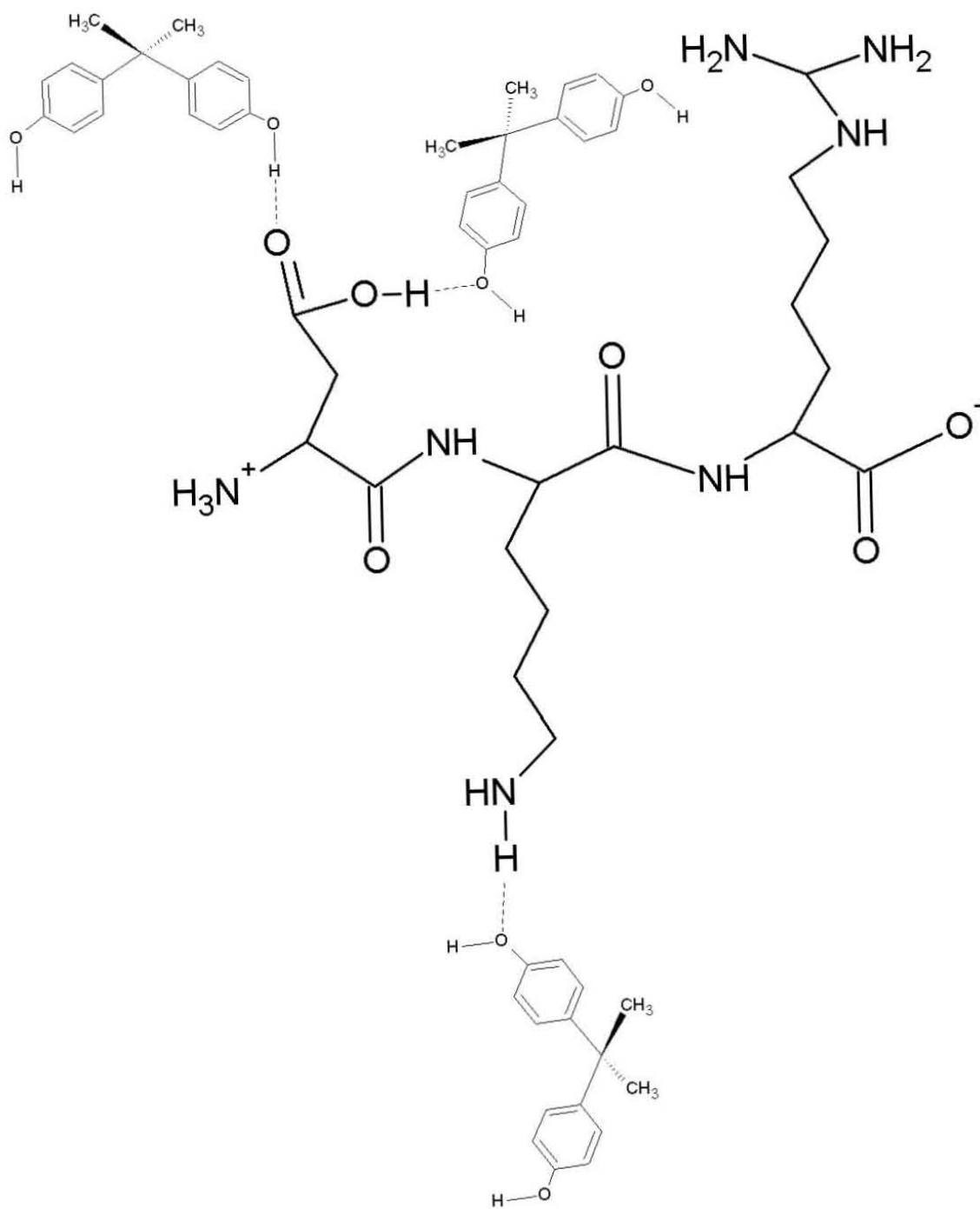


Figura 8.- Modelo propuesto de interacción BPA con un fragmento de la secuencia de aminoácidos de la tropomiocina. (Fragmento de la secuencia tomado de (Bridgen & Koch, 1972))

El origen de la contaminación a BPA en la carne sigue siendo una incógnita (EFSA, European Food Safety Authority, 2015). Sin embargo, se sospecha del consumo de pastura o granos contaminados con BPA por riego con aguas que contengan este disruptor endócrino.

En el caso de productos cárnicos cocidos (como es el caso del jamón) son empacados en películas plásticas como el etil vinil acetato (EVA)/Cloruro de Polivinilo (PVdc)/EVA o en nylon/ alcohol etil vinílico (EVOH), en un proceso de coextrusión (véase figura 9) con presencia de polímeros (Cruz-Romero & Kerry, 2011). Entre los polímeros con los cuáles se puede llevar a cabo una coextrusión se encuentran los policarbonatos, que son originalmente producidos mediante una reacción entre cloruro de carbonilo y BPA (Robertson, 2012).

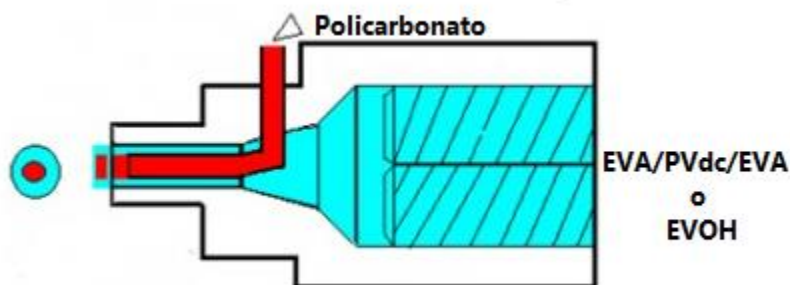


Figura 9. Detalle del proceso de coextrusión (Tomado de: (Cletral, 2018))

Las condiciones de reacción incompleta en el policarbonato, podrían derivar en BPA libre capaz de migrar al alimento empacado (Cottier, y otros, 1998). La coextrusión emplea presión para mezclar la película plástica y el policarbonato, generando una funda fuerte y resistente. Esto es muy importante, debido a que el jamón es

empacado posteriormente a presión dentro de la funda y se cocer *in situ* a 72°C por 30 a 60 min (Toldrá, Mora, & Flores, 2010). Este proceso podría influenciar una importante migración de BPA hacia el alimento, aunque a la fecha no existen estudios que reporten al respecto.

En el caso del SPAM (embutido enlatado) se han reportado valores de BPA <0.20ng/g (Schechter, y otros, 2010). Esta concentración se encuentra por debajo del límite de detección en la metodología empleada en el presente trabajo de tesis. Sin embargo, resulta interesante analizar que el SPAM tiene una cantidad de grasa de 26.6 g/100g, lo que en teoría debería promover la migración de BPA de la lata al alimento. Lo anterior podría deberse a las interacciones del BPA con el contenido de grasa y proteína, sobre las cuales se ha discutido su intervención en la extracción del bisfenol A.

3.4 Estimación de la exposición involuntaria a BPA por consumo de zanahoria, piña, atún y embutido.

Se calculó la Ingesta Diaria Estimada (IDE) para un adulto promedio con un peso de 60 Kg por el consumo de los alimentos evaluados en este trabajo de tesis. La ecuación empleada para evaluar el consumo de BPA fue adaptada de Lorber y otros en un estudio realizado en 2015, a saber,

$$IDE_{BPA}=C_{BPA}*C_P*PC^{-1}$$

Donde:

IDE_{BPA} =Ingesta Diaria Estimada de BPA, $\mu\text{g}/\text{Kg}_{(\text{peso corporal})}$ -día

C_{BPA} =Concentración de BPA en el alimento, $\mu\text{g}/\text{Kg}$

C_P =Consumo promedio diario de cada uno de los alimentos (Kg)

PC^{-1} =Peso corporal promedio de un adulto (60 Kg)

Tomando en cuenta los valores de concentración de BPA obtenidos experimentalmente en los diferentes alimentos, además del consumo diario de cada alimento y el peso promedio de un adulto, se calculó la Ingesta Diaria Estimada.

Los valores obtenidos a partir de la ecuación se presentan en la Tabla 4, mientras que la memoria de cálculo se presenta en el ANEXO 2.

Tabla 4. Ingesta Diaria Estimada (IDE) calculada (μg (BPA)/Kg (peso corporal)-día) ¹

Muestra	En muestras no procesadas (frescos) y embutido en funda termoencogible¹	En muestras procesadas (enlatadas)¹
Zanahoria	1.160	0.713
Piña	1.727	2.480
Atún	0.119	FLD
Embutido	0.030	FLD

¹ Tomando en cuenta:

Consumo actual estimado de frutas y verduras de acuerdo con la OMS (Salud, 2016)

Consumo anual estimado de embutidos (Solleiro & del Valle, 2003)

Consumo anual de atún (González Sánchez, 2018)

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, por sus siglas en inglés) ha emitido diversas opiniones científicas relacionadas con el riesgo por exposición a BPA en los alimentos. En 2015, EFSA, dictaminó una Ingesta Diaria Tolerable (TDI, por sus siglas en inglés) de $4 \mu\text{g}$ (BPA)/Kg (peso corporal)-día.

La EFSA también determinó una exposición alta y una media para BPA por consumo de alimentos enlatados en adolescentes y adultos con valores entre 0.335-0.388 μg (BPA)/Kg y 0.116-0.159 μg (BPA)/Kg (peso corporal)-día, respectivamente (EFSA, European Food Safety Authority, 2015).

Los datos obtenidos, en este trabajo de tesis, para alimentos enlatados en el caso de la zanahoria y la piña fueron de 0.713 μg (BPA)/Kg y 2.480 μg (BPA)/Kg (peso corporal)-día, respectivamente. Estos valores se encuentran por debajo de la IDA establecida por EFSA. Sin embargo, están catalogados dentro de una exposición alta (>0.335 μg (BPA)/Kg (peso corporal)-día) y no está considerando la ingesta involuntaria a BPA por otros alimentos en la dieta diaria.

Por otra parte, se realizó una comparación de los resultados obtenidos contra los datos de la ingesta diaria promedio de BPA (ADI, por sus siglas en inglés) en otros países (Chen, Shen, y Chen en 2016). Cabe señalar, que los valores reportados por Chen et al., 2016 incluyen una mayor diversidad de alimentos.

Los resultados se presentan en la Figura 10 y se puede observar que la ingesta diaria promedio de BPA, estimada en el presente trabajo de tesis, supera por varias unidades la estimada a partir de los alimentos en otros países.

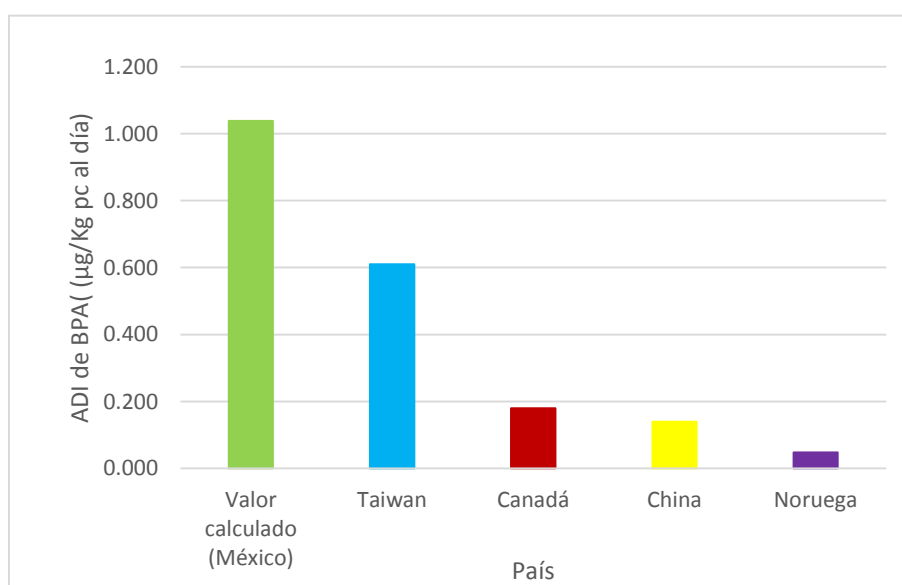


Figura 10.- Comparación de la Ingesta Diaria Promedio (elaboración propia).

En un estudio reciente se demostró que una exposición a BPA de 2.5-25,000 $\mu\text{g}_{(\text{BPA})}/\text{Kg}_{(\text{peso corporal})}\text{-día}$ inducen efectos neuro conductuales adversos a la salud humana (Heindel, y otros, 2015). Ninguno de los valores obtenidos en este estudio supera el rango mencionado. Sin embargo, hay que recordar que los valores experimentales obtenidos reportan la exposición a un solo alimento y, que el contenido de BPA en piña enlatada se encuentra en el límite inferior de exposición reportado por Heindel et al., en 2015.

En un estudio realizado Huang y otros en 2017, se reporta una ingesta diaria global de 0.31 $\mu\text{g}_{(\text{BPA})}/\text{Kg}_{(\text{peso corporal})}\text{-día}$ y se compara la ingesta diaria en más de 30 países, entre los cuales, México se sitúa como uno de los 5 países con una menor ingesta diaria estimada de BPA, cuantificada mediante la determinación en orina ($<0.005 \mu\text{g}_{(\text{BPA})}/\text{Kg}_{(\text{peso corporal})}\text{-día}$), encontrándose también por debajo de la ingesta global estimada en dicho estudio.

Sin embargo, podemos notar que los valores de IDE obtenidos en la presente tesis se encuentran muy por encima de los reportados a nivel mundial por Huang y colaboradores. Además, los resultados reportados para México no coinciden con los obtenidos experimentalmente.

Lo anterior puede explicarse por la presencia de los conjugados en las determinaciones de muestras biológicas. En específico, el cuerpo humano excreta directamente el BPA convertido a glucurónido, así como a sulfato y a glucurónido/sulfatodiconjugado (Pritchett, Kuester, & Sipes, 2005; Inoue, Yuki,

Yokota y Kato, 2003). Huang et al., 2017 no reporta la cuantificación de conjugados, lo cual podría significar una lectura de contenido de BPA menor al que en realidad existe en la muestra.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se logró establecer con éxito una metodología analítica para extraer y cuantificar el contenido de BPA por UPLC-MS y HPLC-UV en una amplia variedad de alimentos, a saber, frutas y vegetales (piña y zanahoria), así como cárnicos (atún y embutido). Además, se discutió sobre las potenciales interacciones que existen entre el BPA y las macromoléculas presentes en las matrices alimentarias, específicamente, contenido de grasa y proteína.

Se determinó una concentración inicial de BPA en zanahoria fresca (0.174 mg/Kg), zanahoria enlatada (0.107 mg/Kg), piña fresca (0.259 mg/Kg), piña enlatada (0.372 mg/Kg), atún fresco (1.782) y embutido empacado en una funda termoencogible (0.130 mg/Kg).

Se discutieron diversos factores asociados con el procesamiento de los alimentos que podrían interferir con el contenido de BPA, específicamente: tipo de empaque (funda termoencogible o enlatado), así como, contenido y concentración de salmuera o azúcares en el medio contenedor del alimento procesado.

Con base en nuestra búsqueda en literatura científica, es la primera vez a nivel mundial que se identifica un riesgo de exposición a BPA por la presencia de la funda termoencogible en embutidos.

Se propuso un modelo de interacción química entre el BPA y las proteínas presentes en productos cárnicos, en particular a través de los puentes de hidrógeno. Además, se analizó la interacción del BPA con lípidos y su efecto en el proceso de extracción.

El cálculo del consumo de BPA proveniente de zanahoria y piña enlatada se observaron dentro de una ingesta elevada de BPA para la población adulta con base a las categorías propuestas por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA).

Finalmente, cabe señalar que los resultados experimentales obtenidos indican la relevancia de continuar generando una mayor cantidad de estudios relacionados con la ingesta de BPA. En particular, se considera importante evaluar los alimentos que son consumidos en promedio por la población mexicana, ya que como se analizó en este trabajo, existen múltiples fuentes de contaminación hacia el alimento fresco y procesado.

A continuación, se enumeran otras recomendaciones para el trabajo futuro:

- Estandarizar y validar la metodología de extracción de BPA en el caso de las muestras de atún enlatado y embutido enlatado con un equipo HPLC acoplado a un detector de masas. Esto con el fin de mejorar el límite de detección y con ello confirmar la presencia o ausencia de BPA en muestras cárnicas enlatadas.
- Realizar un estudio con una mayor variedad de muestras frescas y procesadas, como es el caso de productos lácteos, con el fin de continuar contribuyendo en la generación de información relacionada con el BPA en alimentos que son consumidos por la población mexicana.

- Extender el análisis a otros contaminantes emergentes en los alimentos, con el fin de estudiar el efecto aditivo que estos podrían tener al ser consumidos simultáneamente.
- Continuar con la investigación de la exposición involuntaria a BPA, no solo mediante los alimentos, si no también mediante vías de exposición como la inhalación y absorción dérmica, las cuales en conjunto podrían representar un riesgo importante (Anderson y Meade, 2014).
- Optimizar y explorar otros métodos de extracción con el fin de mejorar los porcentajes de extracción en matrices con alto contenido proteico y lipídico.

Aunado a estas recomendaciones, se considera la necesidad de una legislación coherente y concreta que establezca límites máximos permisibles en la amplia variedad de alimentos y métodos de extracción validados.

Para terminar, se considera importante señalar que la industria en conjunto con la comunidad científica debería empezar a desarrollar empaques libres de BPA como alternativa a la película termo-encogida empleada en diversos alimentos.

BIBLIOGRAFIA

- Anderson, S. E., & Meade, B. J. (2014). Potential Health Effects Associated with Dermal Exposure to Occupational Chemicals. *Environmental Health Insights*, 8: 51-62.
- Ávila, I.. *Los sulfitos como conservantes y su control en los alimentos: ¿Beneficio o riesgo para la salud?* Obtenido de Laboratorio de Salud Pública en Madrid. [En línea] Disponible en: <http://www.madridsalud.es/temas/aditivos.php> (último acceso: 20 de Octubre de 2017)
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos*. México: Pearson Addison Wesley.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry*. Munich: Springer.
- *Bisphenol A, European Information Center on Bisphenol A*. [En línea] (Actualizado al 10 de Abril de 2016). Disponible en: <http://www.bisphenol-a-europe.org/index.php?page=legislation> (Último acceso 20 de Mayo de 2017)
- Braunrath, R., Podlipna, D., Padlesak, S., & Cichna-Marki, M. (2005). Determination of bisphenol A in canned foods by immunoaffinity chromatography, HPLC and fluorescence detection. *J. Aric. Food Chem.*, 53 (23):8911-8917.
- Bridgen, J., & Koch, G. E. (1972). Structural Investigation of Peptides and Proteins . En R. Sheppard, *Amino-acids, Peptides and Proteins* (págs. 86-89). Burlington House, Londres: The Chemical Society.
- Brotons, J., Olea-Serrano, M., Villalobos, M., Pedraza, V., & Olea, N. (1995). Xenoestrogens released from lacquer coatings in food cans. *Environ. Health Perspect.*, 103(6): 608-612.
- Burriel Martí, F., Lucena Conde, F., Arribas Jimeno, S., & Hernández Méndez, J. (2008). *Química Analítica Cuantitativa*. pp, 302: Paraninfo Cengage Learning.
- Calderón-Preciado, D., Matamoros, V., & Bayona, J. M. (2011). Occurrence and potential crop uptake of emerging contaminants and related compounds in an agricultural irrigation network. *Science of the Total Environment*, 412-413:14-19.
- Caporossi, L., & Papaleo, B. (2017). Bisphenol A and Metabolic Disease: Challenges for Occupational Medicine. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14, 959.

- Center for Food Safety of Hong Kong, R. N. (2012). *Endocrine Disrupting Chemicals in Food*. Hong Kong, Japan: Food and Environmental Hygiene Department.
- Chan, W. (2003). Human Nutrition Macronutrients in meat. En W. K. Jensen, C. Devine, & M. Dikeman, *Encycloedia of Meat Sciences*. Nueva Zelanda: Elsevier Academic Press.
- Chen, W.-Y., Shen, Y.-P., & Chen, S.-C. (2016). Assessing bisphenol A (BPA) exposure risk from long-term dietary intakes in Taiwan. *Science of the Total Environment*, 543, 140-146.
- Chonhenchob, V., Tanafranca, D., & Singh, P. (2017). Packaging technologies for pineapple and pineapple products. En M. G. Lobo, & R. E. Paull, *Handbook of Pineapple Technology, Production, Postharvest Science, Processing and Nutrition* (pág. pp. 116). Oxford, UK: WILEY Blackwell.
- Clextal, *Extrusion Expertise Excellence*. Coextrusión [En línea] Disponible en: <http://www.clextal.com/es/tecnologias-lineas/tecnologias-y-procesos/co-extrusion/> (Último acceso: 21 de Enero de 2018)
- Connolly, L. (2009). Endocrine-disrupting chemicals: origins, fates and transmission into the food chain. En I. Shaw, *Endocrine-disrupting chemicals in food* (págs. 103-125). New Zeland: CRC Press, Woodhead Publishing Limited.
- Cottier, S., Feingenbaum, A., Mortreuil, P., Reynier, A., Dole, P., & Riquet, A. (1998). Interaction of a vinylic organosol used as can coating with solvents and food simulants. *Journal of Food Agriculture and Food Chemistry*, 46:5254-5261.
- Cruz-Romero, M., & Kerry, J. P. (2011). Packaging of cooked meats and muscle-based, convenience-style processed foods. En P. Kerry, & J. F. Kerry, *Processed meats, Improving safety, nutrition and quality* (pág. 687). Nueva Delhi, India: Woodhead Publishing.
- Cuhna, S. C., Alves, R. N., Fernandes, J. O., Casal, S., & Marques, A. (2017). First approach to assess the bioaccessibility of bisphenol A in canned seafood. *Food Chemistry*, 232, 501-507.
- Dalvie, D., Nair, S., Kang, P., & Loi, C. -M. (2010). Influence of Aromatic Rings on ADME Properties of Drugs. En D. A. Smith, *Metabolism, Pharmacokinetics and Toxicity of Functional Groups* (pág. 301). Cambridge: RSC Publishing.
- Deceuninck, Y., Durand, S., Bemrah, N., Zendong, Z., Morvan, M., Marchand, P., . . . Le, B. (2014). Development and validation of a specific and sensitive gas chromatography tandem mass spectrometry method for the

determination of bisphenol A residues in a large set of food items. *Journal of Chromatography A*, 1362, 241-249.

- Downing, D. L. (1996). *A Complete Course in Canning, Processing Procedures for Canned Food Products*. pp. 43: CTI Publications, Inc.
- EFSA, European Food Safety Authority.. Obtenido de Scientific opinion on Bisphenol [En línea] Disponible en: http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/fact_sheetbpa150121.pdf (Último acceso 8 de Septiembre de 2017)
- EPA, U.. *Contaminants of Emerging Concern*. Obtenido de United States Environmental Protection Agency [En línea] Disponible en: <http://water.epa.gov/scitech/cec/.US>. (Último acceso 3 de Agosto de 2017)
- Erricco, S., Bianco, M., Mita, L., Migliaccio, M., Rossi, S., Nicolucci, C., . . . Diano, N. (2014). Migration of bisphenol A into canned tomatoes produced in Italy, Dependence on temperature and storage conditions. *Food Chemistry*, 160: 157-164.
- EU. (2003). *European Union Risk Assessment Report Bisphenol A, CAS No. 80-05-7*. 3rd Priority List, Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities.: Institute of Health and Consumer Protection , European Chemicals Bureau, European Commission Joint Research Centre.
- European Chemical Agency.. Obtenido de ECHA [En línea] Disponible en: <https://echa.europa.eu/es/regulations/reach> (Último acceso 4 de Noviembre de 2017)
- European Commission. [En línea] Disponible en: http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach_en.htm (Último acceso 4 de Diciembre de 2017)
- European Commission.. Obtenido de Environment, REACH, [En línea] Disponible en: http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reports_en.htm (Último acceso 4 de Septiembre de 2017)
- Food Standards Australia New Zealand.. [En línea] Disponible en: http://www.foodstandards.gov.au/consumer/chemicals/bpa/pages/regulation_andmonitor5377.aspx (Último acceso 25 de Julio de 2017)
- Footitt, R., & Lewis, A. (1995). *The canning of fish and meat*. Glasgow: Blackie: 114-118.
- Geens, T., Aerts, D., Berthot, C., Bourguignon, J., Goeyers, L., Lecomte, P., . . . Scippo, M. (2012). A review of dietary and nondietary exposure to bisphenol A. *Food Chem Toxicol.*, 50:3725-3740.

- Gibson, R., Durán-Álvarez, J. C., León E., K., Chávez, A., & Jiménez C., B. (2010). Accumulation and leaching potential of some pharmaceutical and potential endocrine disruptors in soils irrigated with wastewater in the Tula Valley, Mexico. *Chemosphere*, 81:1437-1445.
- González Sánchez, J. A.. *El Economista*. Obtenido de Impactos nutricionales y económicos del atún [En línea] Disponible en: <https://www.eleconomista.com.mx/opinion/Impactos-nutricionales-y-economicos-del-atun-20160707-0005.html> (Último acceso 12 de Enero de 2018)
- Goodman , J., & Rhomberg, L. (2009). Bisphenol A. En I. Shaw, *Endocrine Disrupting chemicals in food* (págs. 16: 406-436). CRC Press.
- Goodson , A., Summerfield, W., & Cooper, I. (2002). Survey of Bisphenol A and bisphenol F in canned foods. *Food Addit. Contam.*, 19:796-802.
- Goodson, A., Robin, H., Summerfield, W., & Cooper, I. (2004). Migration of bisphenol A from can coatings-effects, damage, storage conditions and heating. *Food Addit. Contam.*, 21:1015-1026.
- Harris, D. C. (2003). *Análisis químico cuantitativo*. Barcelona, España: Reverté .
- Heindel, J., Newbold, R., Bucher, J., Camacho , L., Delclos, K., Lewis, S., . . . Schug, T. (2015). NIEHS/FDA CLARITY-BPA research program update. *Reproductive Toxicology* , 58, 33-44.
- Huang, R.-p., Liu, Z.-h., Yuan, S.-f., Yin, H., Dang, Z., & Wu, P.-x. (2017). Worldwide human daily intakes of bisphenol A (BPA) estimated from global urinary concentration data (2000-2016) and its risk analysis. *Environmental Pollution*, 230, 143-152.
- Inoue, H., Yuki, G., Yokota , H., & Kato, S. (2003). Bisphenol A glucuronidation and absorption in rat intestine. *Drug Metab. Dispos.* , 31(1):140-144.
- Kang, J., Kito, K., & Kondo, F. (2003). Factors influencing the migration of Bisphenol A from cans. *J. Food Prot.*, 66:1444-1447.
- Kitamura, S., Suzuki, T., Sahon, S., Kohta, R., Jinno, N., Sugihara, K., . . . Ohta, S. (2005). Comparative Study of the endocrine disrupting activity of bisphenol A and 19 related compounds. *Toxicol. Sci*, 84:249-259.
- Lapworth, D., Baran, N., Stuart, M., & Ward, R. (2012). Emerging organic contaminants in groundwater: a review of sources, fate and occurrence . *Environ. Pollut*, 163 (1), 287-303.

- Liao, C., & Kannan, K. (2013). Concentrations and profiles of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuff from the United States and their implications for human exposure. *J. Agric. Food Chem.*, (61) 4655-4662.
- Liao, C., & Kannan, K. (2014). A survey of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from nine cities in China. *Food Addit. Contam.*, Part A 31(2) 319-329.
- Lorber, M., Schechter, A., Paepke, O., Shropshire, W., Christensen, K., & Birbaum, L. (2015). Exposure assessment of adult daily intake of bisphenol A (BPA) with emphasis on canned food dietary exposure. *Environment International*, 77, 55-62.
- Lu, J., Wu, J., Stoffella, P. J., & Wilson, C. (2012). Isotope dilution-gas chromatography/mass spectrometry method for the analysis of alkylphenols, bisphenol A and strogens in food corps. *Journal of Chromatography A*, 1258: 128-135.
- Manzano Batista, G. E. (2016). Determinación del contenido de Bisfenol A en Guayaba, Chayote, Zanahoria y sus papillas comerciales. Ciudad de México: Tesis de Licenciatura.
- Matthews, J., Twoney, K., & Zacharewski, T. (2001). In vitro and in vivo interactions of bisphenol A and its metabolite; bisphenol A glucuronide, with estrogen receptors a and b. *Chem. Res. Toxicol.*, 14(2):149-157.
- MDH. (17 de Marzo de 2016). *Contaminants of Emerging Concern, Protecting Minnesota's Water Resources*. Obtenido de Minnesota Department of Health: <http://www.health.state.mn.us/cec>
- Mita, L., Bianco, M., Viggiano, E., Zollo, F., Bencivenga, U., Sica, V., . . . Mita, D. G. (2010). Bisphenol A content in fish caught in two different sites of the Tyrrhenian Sea (Italy). *Chemospher*, 87:405-410.
- Munguía-López, E. M., Gerardo-Lugo, S., Peralta, E., Bolumen, S., & Soto-Valdez, H. (2005). Migration of bisphenol A (BPA) from can coatings into fatty-food simulant and tuna fish. *Food additives & Contaminants*, 22(9): 892.898.
- Munguía-Lopez, E., Gonzalez-Leon, A., Peralta, E., Vargas-Requena, C., & Soto-Valdez, H. (2002). Migration of bisphenol A (BPA) from can coatings to jalapeño peppers and an acid food simulant. *J. Agric. Food Chem.*, 50:7299-7302.
- Naidu, R., Jit, J., Kennedy, B., & Arias, V. (2016). Emerging contaminant uncertainties and policy: The chicken or the egg conundrum. *Chemosphere*, 154; 385-390.

- Paliyath, G., Tiwari, K., Sitbon, C., & Whitaker, B. (2012). Biochemistry of fruits. En B. Simpson, *Food Biochemistry and foos processing* (pág. 634). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Pedersen, S., & Lindholst, C. (1999). Quantification of xenostrogens 4-tert-octylphenol and bisphenol A in water and in fish tissue based on microwave assisted extraction, solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal Of Chromatography A*, , 864: 17-24.
- Phenomenex.. *High Quality SPE Products*. Obtenido de NH2 Phase Detail [En línea] Disponible en: <https://www.phenomenex.com/Products/SPDetail/Strata/NH2> (Último acceso 14 de Enero de 2018)
- Phenomenex.. *SPE, Strata X*. Obtenido de X, Polymeric Reverse Phase [En línea] Disponible en: <http://www.phenomenex.com/Products/SPDetail/StrataX/X,%20Polymeric%20Reversed%20Phase?culture=es-es> (Último acceso 14 de Enero de 2018)
- Pritchett, J., Kuester, R., & Sipes, I. (2005). Metabolism of bisphenol A in primary cultures hepatocytes from mice, rats and humans. *Drug Metab. Dispo.*, 30 (11): 1180-1185.
- Rajapakse, N., Silva, E., Scholze, M., & Kortenkamp, A. (2004). Deviation from additivity with estrogenic mixtures containing 4-nonylphenol and 4-tert-octylphenol detected in the E-SCREEN assay. *Environ.Sci.Technol.*, 38:6343-6352.
- Ranken, M. D., Kill, R. C., & Baker, C. J. (1997). *Food Industries Manual*. pp. 258: Blackie Academic & Professional.
- Robertson, G. L. (2012). *Food Packaging Principles and Practice*. pp 207-208: CRC Press.
- Rochman, C. M., Lewison, R. L., Eriksen, M., Allen, H., Cook, A.-M., & Teh, S. J. (2013). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in fish tissue may be an indicator of plastic contamination in marine habitats. *Science of the Total Environment*, 476-477, 622-633.
- Rubin, S. (2011). Bisphenol A: an endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 127 (1), 27-34.
- Organización Mundial de Salud (OMS). *Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud*. [En línea] Disponible en: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/fruit/es/> (Último acceso 20 de Septiembre de 2017)

- Sauvé, S., & Desrosiers, M. (2014). A review of what is an emerging contaminant. *Chemistry Central Journal* , 8(1), 15.
- Schecter, A., Malik, N., Haffner, D., Smith , S., Harris, R. T., Paepke, O., & Birnbaum, L. (2010). Bispheno A (BPA) in U.S. Food. *Environ. Sci. Technol*, 44:9425-9430.
- Shao, B., Han, H., Li, D., Ma, Y., Tu, X., & Wu, Y. (2007). Analysis of alkylphenol and bispheno A in meat by accelerated sovent extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 105: 1236-1241.
- Shaw, I. (2009). *Endocrine disrupting chemicals in food*. CRC Press.
- Smital, T. (2008). Acute and Chronic Effects of Emerging Contaminants. En D. Barceló, & M. Petrovic, *Emerging Contaminants from Industrial and Municipal Waste. The Handbook of Environmental Chemistry* (págs. 5 (105-142)). Belin: Springer, Berlin, Heidelberg.
- Solleiro, J. L., & del Valle, M. (2003). *Estrategias competitivas de la industria alimentaria*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Stuart, M., Lapworth, D., Crane, E., & Hart, A. (2012). Review of risk for potential emerging contaminants in UK groundwater. *Sci. Total Environ.*, 416, 1-21.
- Sun, H., Xu, L., Chen , J.-F., & Wang, X.-R. (2006). Effect of bisphenol A, tetrachlorobisphenol A and pentachlorobisphenol on the transcriptional activities of androgen receptor-mediate reported gene. *Food Chemistry Toxicology*, 44:1916-1921.
- Thompson, B., & Grounds, P. (2005). Bisphenol A in canned foods in New Zealand: an exposure assesment. *Contam., Food Aditt.*, 22:65-72.
- Toldrá, F., Mora, L., & Flores, M. (2010). Cooked Ham. En F. Toldrá, *Handbook of meat processing* (págs. 301-311). Iowa, USA: Wiley-Blackwell.
- Trasande, L., Attina , T. M., & Blustein, J. (2012). Association between urinary bisphenol A concentration and obesity prevalence in children and adolescents. *American Medical Association*, 308 (11), 1113-1121.
- U.S. Government Publishing Office, F. a. (2012). *Indirect Food Additives: Polymers*. [En línea] Disponible en: <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-2012-07-17/pdf/2012-17366.pdf>: 21CFR Part 177/ FDA-2012-F-0031. (Último acceso 10 de Enero de 2018)
- Ulloa, J. A. (2007). *Frutas auto estabilizadas en el envase por la tecnología de obstáculos*. Nayarit, México: Universidad Autónoma de Nayarit.

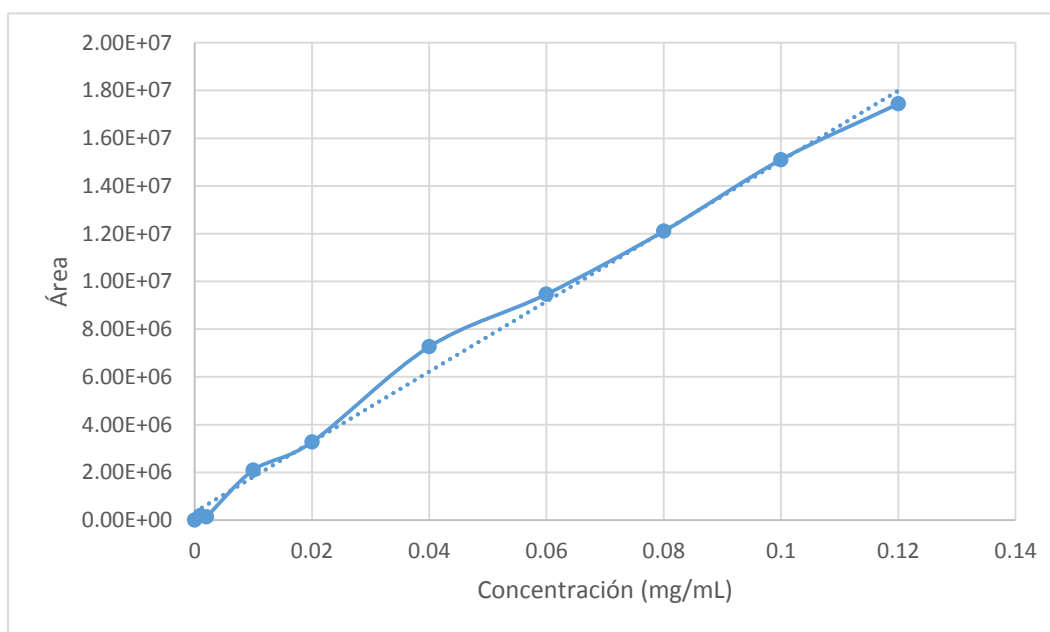
- Union, O. J. (2011). *Regulations, Commission Implementing Regulation (EU) No 321/2011, Regulation No. 10/2011 as regards of use of Bisphenol A in plastic infant feeding bottles*. [En línea] Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:087:0001:0002:EN:PDF>: The European Commission.(Último acceso 8 de Enero de 2018)
- *United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service*. Obtenido de National Nutrient Database for Standard Reference Release [En línea] Disponible en: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/70> (Último acceso 21 de Octubre de 2017).
- USDA, F. A.). *USDA United States Department of Agriculture*. Obtenido de French Law Banning Bisphenol A in Food Containers Enacted [En línea] Disponible en: https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/French%20Law%20Banning%20Bisphenol%20A%20in%20Food%20Containers%20Enacted_Paris_France_2-5-2013.pdf (Último acceso 2 de Junio de 2017)
- Völkel, W., Bittner, N., & Dekant, W. (2005). Quantitation of Bisphenol a an Bisphenol A Glucuronide in Biological Samples by HPLC-MS/MS. *American Society for Pharmacology and Experimentla Therapeutics*, Agosto.
- Wang, H. -S., Man, Y. -B., Wu, F. -Y., Zhao, Y. -G., Wong, C. K., & Wong, M. -H. (2010). Oral bioaccesability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) through fish consumption based on an in vitro digestion model. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58, 11517-11524.
- Weber, L. P., & Lanno, R. P. (2001). Effect of bile salts, lipid and humic acids on absorption of benzo[a] pyrene by isolated channel catfish (*Ictalurus purictatus*) intestine segnments . *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20, 1117-1124.
- Wells, V. (2013). *Endocrine Disruptors in Drinking Water and Associated Health Effects*. [En línea] Disponible en: <http://www.nccch.ca/sites/default/files/Guelph-Wells-2013.pdf> (Último acceso 22 de Agosto de 2017)
- Yang, C. Z., Yaniger, S. I., Jordan, V. C., Klein, D. J., & Bittner, G. D. (2011). Most Plastic Products Release Estrogenic Chemicals: A Potential Health Problem That Can Be Solved. *Environmental Health Perspectives* , 119(7) 989-996.

ANEXOS

ANEXO 1

Regresión lineal de la curva patrón empleada para el método UPLC-MS

Concentración de BPA (mg/mL)	Área
0.001	1.86×10^5
0.002	1.38×10^5
0.010	2.09×10^6
0.020	3.26×10^6
0.040	7.26×10^6
0.060	9.46×10^6
0.080	1.21×10^7
0.100	1.51×10^7
0.120	1.74×10^7



$$\text{Área} = 1 \times 10^8 X + 333827$$

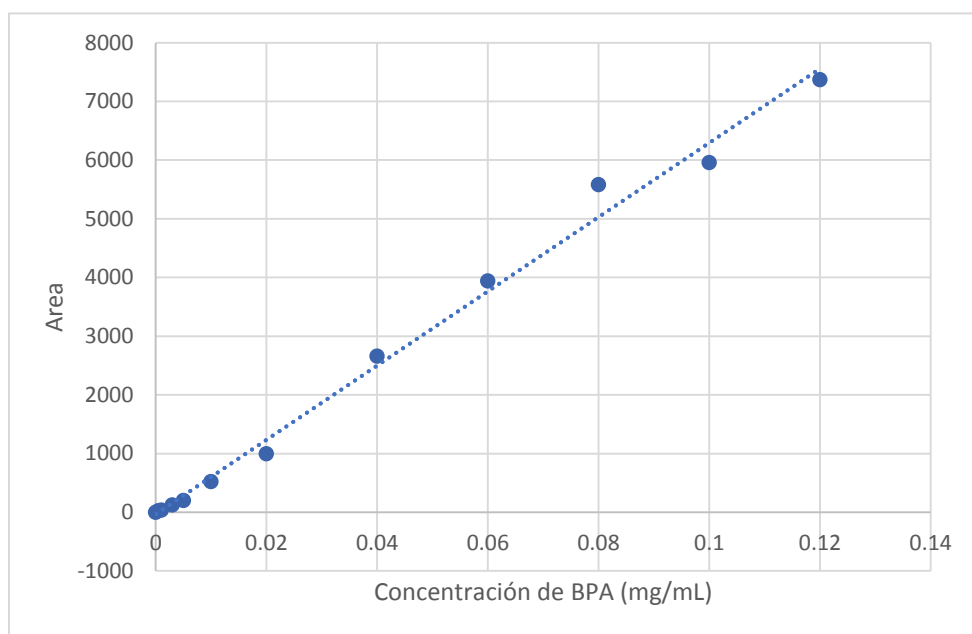
$$R^2 = 0.9948$$

$$R = 0.9973$$

Donde X = Concentración (mg/mL)

Regresión lineal de la curva patrón empleada para el método HPLC-UV

Concentración de BPA (mg/mL)	Tiempo de retención (min.)	Area ($\lambda=223$ nm)
0.0005	7.521	25.0
0.0010	7.535	37.8
0.0030	7.531	124.9
0.0050	7.541	199.3
0.0100	7.525	525.2
0.0200	7.555	997.5
0.0400	7.572	2660.2
0.0600	7.571	3941.6
0.0800	7.541	5583.5
0.1000	7.556	5959.1
0.1200	7.548	7372.7



$$\text{Área} = 63.23 X - 30.24$$

$$R^2 = 0.9929$$

$$R = 0.9964$$

Donde X = Concentración (mg/mL)

ANEXO 2

Memoria de cálculo (todos se muestra con base a la piña enlatada)

- 1) Concentración de BPA interpolando en la curva patrón

$$[\text{BPA}] = \frac{\text{Area} - 333827}{1 \times 10^8} = \frac{616040 - 333827}{1 \times 10^8} = 0.003 \frac{\text{mg de BPA}}{\text{mL}}.$$

- 2) Concentración de BPA en la muestra

$$\begin{aligned} & \left(\frac{0.003 \text{ mg de BPA}}{2.5 \text{ g de muestra}} \right) \left(\frac{100 - 76 \text{ g de muestra húmeda}}{100 \text{ g de muestra}} \right) \left(\frac{1000 \text{ g}}{1 \text{ Kg}} \right) \\ & = 0.271 \text{ mg. de } \frac{\text{BPA}}{\text{Kg}} \text{ de muestra} \end{aligned}$$

- 3) Concentración de BPA en la muestra comercial (lata), considerando una masa drenada de ~170g.

$$\begin{aligned} & \left(\frac{0.003 \text{ mg de BPA}}{2.5 \text{ g de muestra}} \right) \left(\frac{100 - 76 \text{ g de muestra húmeda}}{100 \text{ g de muestra}} \right) (170 \text{ g de muestra}) \\ & = 0.146 \text{ mg. de BPA por muestra comercial (lata)} \end{aligned}$$

- 4) Cálculo de ingesta estimada

$$\text{IDE} = \frac{\text{Promedio de la Concentración encontrada} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{Kg}} \right) \times \text{Kg. ingeridos por día}^1}{\text{Peso corporal promedio del sujeto}^2 (\text{Kg})}$$

$$\text{IDE} = \frac{\left(372 \frac{\mu\text{g}}{\text{Kg}} \right) \times 0.400 \text{ Kg. ingeridos por día}}{60 \text{ Kg de peso corporal}}$$

$$= 2.480 \mu\text{g de } \frac{\text{BPA}}{\text{Kg}} \text{ de peso corporal/día}$$

¹Consumo actual estimado de frutas y verduras de acuerdo a OMS (Salud, 2016)

Consumo anual estimado de embutidos (Solleiro & del Valle, 2003)

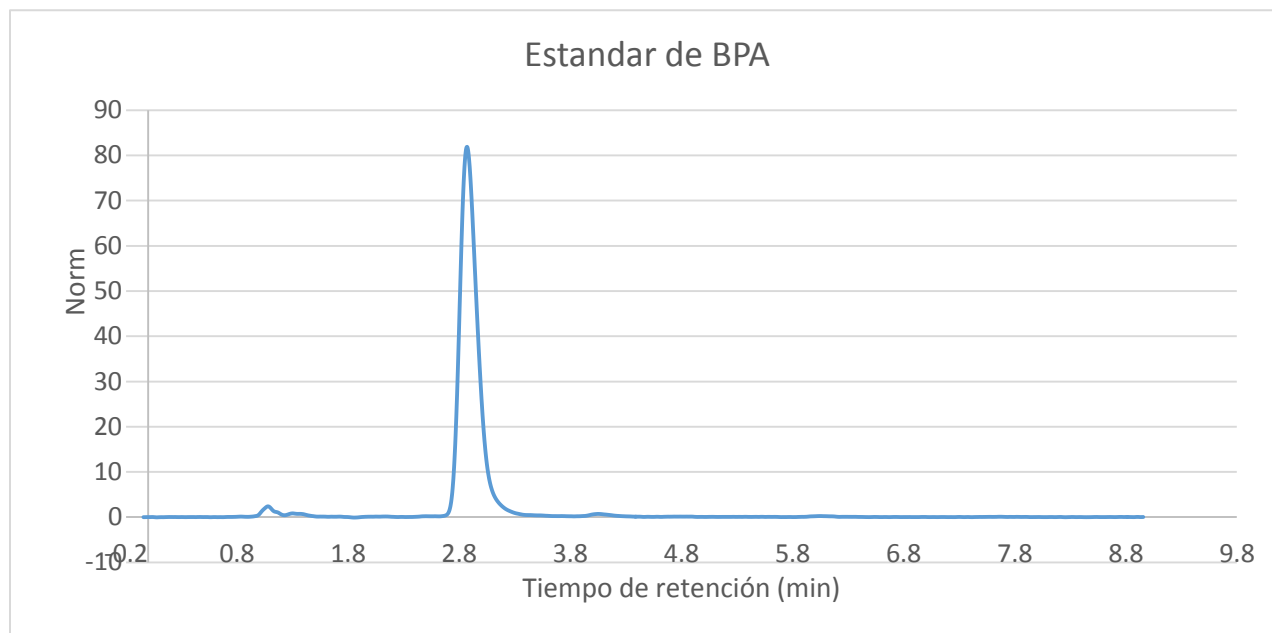
Consumo anual de atún (González Sánchez, 2018)

²Valor tomado de la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-008-SSA1-1993, Control de la Nutrición, crecimiento y desarrollo del niño y del adolescente. Criterios y procedimientos para la prestación del servicio. *NOTA: Esta norma ya no se encuentra vigente al momento, sin embargo, no se encontró otro documento que mostrara algún valor de referencia.

ANEXO 3

Cromatogramas de HPLC-UV

a) Espectro de UV generado por un estándar de BPA por el espectrofotómetro



b) Espectro de UV generado por una muestra de atún por el espectrofotómetro

