

**UNIVERSIDAD METROPOLITANA
ESCUELA GRADUADA DE ASUNTOS AMBIENTALES
SAN JUAN, PUERTO RICO**

**ANÁLISIS DEL RIESGO ASOCIADO AL CONSUMO DE BISFENOL A (BPA)
EN VEGETALES Y FRUTAS ENLATADOS**

Requisito parcial para la obtención del
Grado de Maestría en Ciencias en Gerencia Ambiental
en Evaluación y Manejo de Riesgo Ambiental

Por
Caren Rodríguez Matos

11 de mayo de 2010

DEDICATORIA

Le quiero dedicar este trabajo a Dios y a todas las personas que me apoyan en todas mis metas y que verdaderamente creen en mí. A mis padres por su ejemplo de perseverancia y por enseñarme que no hay caminos imposibles. A mi esposo por su apoyo consistente y a mi hijo por ser una gran inspiración para seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

A mi Directora de Tesis Beatriz Zayas, a los miembros del Comité de Tesis, Osvaldo Cox y Harry Peña, y a la Escuela de Asuntos Ambientales por toda su ayuda y apoyo incondicional. A mis compañeros de universidad, trabajo, familiares, profesores y especialmente a la Escuela de Asuntos Ambientales de la Universidad Metropolitana por hacer que este reto sea más entretenido, por su apoyo cuando todo parecía difícil y por que siempre me brindaron una mano amiga que confió en mí. Simplemente gracias a todos los que de una forma u otra cooperaron cuando me estaba dando por vencida, porque siempre estuvieron presentes brindando estímulo.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
LISTA DE TABLAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
Trasfondo del problema.....	1
Problema del estudio.....	2
Justificación.....	3
Pregunta de investigación.....	4
Meta.....	5
Objetivos.....	5
CAPÍTULO II: REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
Trasfondo histórico.....	6
Marco conceptual o teórico.....	8
Estudios de casos.....	10
Marco legal.....	17
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	22
Área de estudio.....	22
Descripción de la muestra.....	22
Periodo del estudio.....	23
Fuente de datos.....	23
Diseño metodológico.....	23
Análisis cromatográfico de las muestras.....	23
Determinación de pH.....	24
Materiales y reactivos.....	24
Preparación de la muestra.....	24
Determinación de temperatura.....	26
Análisis de datos.....	26
Identificación de BPA.....	26
Cuantificación de BPA.....	26
Determinación del límite de cuantificación.....	27
Determinación del porcentaje de recuperación.....	28
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
Determinación cuantitativa de BPA.....	29
Análisis de las muestras de vegetales enlatadas.....	30
Análisis de las muestras de frutas enlatadas.....	30
Resultados de la determinación de pH en las muestras.....	31
Resultados de los efectos de la temperatura en las muestras.....	31

Determinación de riesgo a la salud humana por exposición a los niveles encontrados de BPA.....	32
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	34
Recomendaciones para prevenir o evitar la exposición al BPA.....	35
LITERATURA CITADA.....	36

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.	Reproducibilidad del método cromatográfico.....	45
Tabla 2.	Linealidad y curva de calibrado del bisfenol A.....	46
Tabla 3.	Prueba de recuperación y validez del método utilizado.....	47
Tabla 4.	Resultados del análisis de las habichuelas tiernas.....	48
Tabla 5.	Resultados del análisis de las muestras de maíz.....	49
Tabla 6.	Resultados del análisis de las muestras de vegetales mixtos.....	50
Tabla 7.	Resultados del análisis de las muestras de guisantes.....	51
Tabla 8.	Resultados del análisis de las muestras de melocotón.....	52
Tabla 9.	Resultados del análisis de las muestras de peras.....	53
Tabla 10.	Resultados del análisis de las muestras de ensalada de frutas.....	54
Tabla 11.	Resultados del análisis de las muestras de piña.....	55
Tabla 12.	Concentración vs pH en las muestras de vegetales.....	56
Tabla 13.	Concentración vs pH en las muestras de frutas.....	57
Tabla 14.	Concentración de BPA en muestras de vegetales que fueron expuestas a 110°C por 30 minutos y las que no fueron expuestas a temperaturas.....	58
Tabla 15.	Concentración de BPA en muestras de frutas que fueron expuestas a 110°C por 30 minutos y las que no fueron expuestas a temperaturas.....	59
Tabla 16.	Niveles de BPA obtenidos en las muestras de vegetales.....	60
Tabla 17.	Niveles de BPA obtenidos en las muestras de frutas.....	61
Tabla 18.	Niveles de BPA obtenidos vs fechas de expiración en muestras de vegetales.....	62
Tabla 19.	Niveles de BPA obtenidos vs fechas de expiración en muestras de frutas.....	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Curva de calibrado del Bisfenol A.....	65
Figura 2.	Cromatograma del Diluyente.....	66
Figura 3.	Cromatogramas de la curva de calibración de distintas concentraciones de Bisfenol A.....	67
Figura 4.	Cromatograma de las habichuelas tiernas y Cromatograma de la muestra de habichuelas tiernas más 0.001 $\mu\text{g/mL}$ de estándar de bisfenol A.....	68
Figura 5.	Concentración de BPA($\mu\text{g/mL}$) en las muestras de vegetales.....	69
Figura 6.	Concentración de BPA(mg/kg) en las muestras de vegetales.....	70
Figura 7.	Concentración de BPA($\mu\text{g/mL}$) en las muestras de frutas.....	71
Figura 8.	Concentración de BPA(mg/kg) en las muestras de frutas.....	72
Figura 9.	Concentración de BPA vs pH en las muestras de vegetales.....	73
Figura 10.	Concentración de BPA vs pH en las muestras de frutas.....	74
Figura 11.	Efecto de la temperatura en vegetales enlatados.....	75
Figura 12.	Efecto de la temperatura en las muestras de frutas.....	76
Figura 13.	Concentración vs pH en las muestras de vegetales.....	77
Figura 14.	Concentración vs pH en las muestras de frutas.....	78

RESUMEN

El propósito principal de este estudio es documentar la presencia de bisfenol A (BPA) en varios tipos de vegetales y frutas enlatados que se venden en los principales supermercados en Puerto Rico, para determinar los niveles y el riesgo de exposición a la salud. Los parámetros evaluados en este estudio fueron concentración de BPA, pH y temperatura. Las concentraciones de BPA se analizaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés). Un total de 28 muestras (14 muestras de vegetales y 14 muestras frutas) fueron preparadas para el análisis. Los métodos de extracción (extracción con disolventes) y detección (HPLC) de BPA utilizados en este trabajo brindaron buenos resultados de recuperación. El límite de detección una vez optimizado el método fue de 1.0×10^{-6} mg/kg. Todas las muestras analizadas presentaron concentraciones de BPA inferiores a los niveles máximos establecidos por el Comité Científico de la Comisión Europea en Alimentos de 3 mg/kg. La ingesta diaria tolerable (TDI, por sus siglas en inglés) de BPA fue evaluada, encontrando que la cantidad de BPA que un consumidor puede estar expuesto (incluyendo bebés y niños) representan un riesgo mínimo si alguno, tomando como referencia los niveles recomendados o aceptados por el Comité Científico de la Comisión Europea en Alimentos y por la FDA.

ABSTRACT

The main objective of this study is to document the presence of bisphenol A (BPA) in different types of vegetables and canned fruits that are sold in the main supermarkets in Puerto Rico, to determine the levels and the health risk exposition. The parameters evaluated in this study were concentrations of BPA, pH and temperature. The BPA concentrations were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). A total of 28 samples (14 samples of vegetables and 14 samples fruits) were prepared for the analysis. The methods of extraction (solvent extraction) and detection (HPLC) of BPA used in this work offered good results of recovery. The limit of detection once optimized the method was of 1.0×10^{-6} mg/kg. All samples analyzed presented BPA concentrations below the maximum levels established by Scientific Committee on Food of the European Union of 3 mg/kg. The tolerable daily ingestion (TDI) of BPA was evaluated; finding that the amount of BPA that a consumer can be exposed (including babies and children) does represents a minimum risk if some, using how reference the levels recommended or accepted by the Scientific Committee on Food and the FDA.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Trasfondo del problema

El bisfenol A (2,2-bis-(4-hidroxifenil) propano, BPA) es un producto químico, que es sintetizado mediante la condensación de acetona y fenol. Este es utilizado en combinación con otros compuestos, para producir policarbonatos y epoxi resinas (Hun Kang, 2002). Los plásticos policarbonatos tienen muchas aplicaciones en la fabricación de botellas y envases plásticos destinados a conservar bebidas y alimentos; ya que es un material resistente a golpes. También es ampliamente utilizado en la fabricación de diversos productos cotidianos como botellas de agua, biberones de bebés, equipos deportivos, juguetes, equipos médicos, discos compactos o electrónica, interiores de carros, empastes dentales, entre otros. Las resinas de epóxidos son esencialmente utilizadas como parte de la recubierta interna de los envases y de las tapas de metal de los alimentos y bebidas (Maragou et al., 2006). Sobre el 65 por ciento del BPA que es producido es para hacer policarbonatos, y aproximadamente el 25 por ciento es utilizado en la producción de resinas de epóxidos. El 10 por ciento restante es utilizado en otros productos tales como resinas especiales y en la manufactura de retardadores de llama, como el tetrabromobisfenol A (European Chemical News, 1999).

El bisfenol A fue desarrollado como estrógeno sintético y luego después fue polimerizado para producir policarbonatos. El BPA es conocido como un disruptor endocrino, un compuesto químico que interfiere con el sistema hormonal en animales y humanos y contribuye a efectos adversos a la salud (NIEHS, 2006). La actividad estrogénica de BPA fue por primera vez reportada en el 1993 (Krishnan, 1993).

Los seres humanos se exponen al bisfenol A diariamente a través del consumo de alimentos y de las bebidas contaminadas con el BPA, así como la contaminación del medio ambiente directamente. Los plásticos policarbonatos pueden llegar a ser inestable en un cierto plazo y con su uso, permitiendo que los lixiviados del bisfenol A entren en contacto con el contenido (Myers, 2007). Además, el bisfenol A penetra en el ambiente y se encuentra comúnmente en partículas de polvo, en el agua superficial y el agua potable, como sobre seis mil millones de libras se producen por todo el mundo cada año (Susiarjo et al., 2007) y la producción de producto químico del bisfenol A lanza aproximadamente doscientos mil libras del producto químico en la atmósfera anualmente (Markey et al., 2001).

Problema de estudio

Actualmente se debate sobre el riesgo que puede llevar una ingesta accidental del bisfenol A debido a su presencia en alimentos que están en contacto con envases que la contienen. Se estima que cantidades pequeñas de esta sustancia pueden pasar del plástico de policarbonato o de las capas de resina a alimentos y bebidas. El bisfenol A es el componente principal de las resinas de epóxi (Goodson, 2004) utilizados en el interior de los envases comerciales, el cual representa un riesgo en la seguridad de los alimentos.

El problema surge cuando la sustancia química presente en el envase pasa al líquido o al alimento que está en contacto con el envase. Al tomar líquidos o alimentos envasados en uno de estos envases, es posible que estemos recibiendo una dosis de BPA. La cantidad de esta sustancia química liberada dependerá del tipo de envase, de la temperatura utilizada para esterilizar el alimento una vez sellada y del alimento mismo (por ejemplo, si es aceitoso, o de la cantidad de sal que contenga).

El riesgo para la salud está asociado a la capacidad del bisfenol A para interactuar con el sistema hormonal, ya que se trata de un disruptor endocrino, es decir, un antagonista de los receptores de estrógeno que podría afectar la fertilidad y la reproducción. El BPA y sus derivados son potencialmente peligrosos a la salud del consumidor, por lo tanto su presencia y niveles de concentración en los productos de alimentos deben ser monitoreados (Yoshida, 2001).

La Administración Federal de Drogas de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés), aprobó por primera vez el BPA en 1963, ya que no se demostraron efectos peligrosos para la salud. Luego el Congreso de Estados Unidos aprobó una ley en 1976 - El Acta de Control de Sustancias Tóxicas- la cual le exige a la Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés) a realizar o verificar estudios de seguridad sobre cada nuevo compuesto químico antes de aprobarlos para su uso. Sin embargo sustancias como el BPA ya estaban en el mercado, sin los estudios necesarios. Esto resulta en una controversia dado que la FDA sostiene que el BPA es seguro. Otro aspecto importante estriba en que para la industria química, el BPA no sólo es seguro, sino también muy difícil de reemplazar por todas sus propiedades: ligero, irrompible, barato, así como otras características difíciles de igualar.

Justificación

Los envases de conservación de alimentos y bebidas contienen una cubierta interna de resinas de epóxi, la cual es esencial para prevenir la corrosión y la contaminación de los alimentos con los metales del envase (García-Prieto, 2008). El BPA es un compuesto tóxico que puede emigrar de la cubierta interna de la lata hacia el alimento durante los procesos y tratamientos térmicos requeridos para su esterilización (Takao, 2002). La fuente principal de

exposición de BPA en los humanos es a través de la dieta. Donde el consumo de frutas y vegetales desempeñan un rol vital en proveer una dieta diversificada y nutritiva (WHO, 2003).

Los efectos adversos del bisfenol (BPA) en la salud humana a través de las bebidas y del consumo de alimentos han generado una gran preocupación durante años. Debido al gran uso del BPA, se han intensificado los estudios para determinar si la cantidad que se libera es peligrosa. Muchos médicos e investigadores están preocupados con el bisfenol A, ya que éstos pueden actuar como las hormonas de nuestro cuerpo. Las hormonas controlan el funcionamiento de nuestro cuerpo. La mayoría de la información sobre estos productos químicos proviene de experimentos en animales. El BPA puede causar cambios en las células de los senos, el útero y la próstata, los cuales pueden incrementar el riesgo del cáncer. Además, el BPA está asociado con incremento en desórdenes de desarrollo del cerebro y sistema nervioso en animales. Desórdenes como el Síndrome de Hiperactividad y Déficit de Atención en humanos (Hinterthuer, 2008).

Por tal razón, es necesario llevar a cabo un estudio el cual determine y evalúe la concentración de BPA en los envases de conservación de frutas y vegetales que se venden en Puerto Rico, y conocer qué cantidad estamos consumiendo; y si cumplen con los límites establecidos que indican que no afectan al ser humano. Esta información se utilizará para determinar si estamos expuestos a un riesgo significativo.

Pregunta de investigación

¿Cuáles son las concentraciones de bisfenol A (BPA) encontradas en los productos enlatados a las que podrían estar expuestos los consumidores? ¿Representan estos niveles un riesgo para la salud de los consumidores?

Meta:

El propósito principal de este estudio es documentar la presencia de bisfenol A en los vegetales y frutas enlatados que se venden en los principales supermercados locales en Puerto Rico para determinar el riesgo de exposición a la salud.

Objetivos:

1. Identificar la presencia y determinar la concentración de BPA que se ha acumulado en los vegetales y frutas enlatados para ver si cumplen con los límites de migración aceptables de BPA en los alimentos establecidos por el Comité Científico de la Comisión Europea en Alimentos de 3mg/kg.
2. Evaluar si el pH y la temperatura son factores que afectan la concentración de BPA en los alimentos analizados.
3. Determinar si los niveles encontrados de BPA podrían presentar un riesgo a la salud humana.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

Trasfondo histórico:

El bisfenol A (BPA) fue sintetizado por primera vez por Aleksandr P. Dianin en 1891 y se comenzó a usar como un estrógeno sintético en la década de 1930. Para mediados de 1930 Edward Charles Dodds, un investigador médico británico, identificó las características estrogénicas del bisfenol A. En su búsqueda para el primer estrógeno sintético, identificó la estrogénicidad de un gran número de productos químicos con las estructuras de dos dimensiones similares, incluyendo el principio del dietilestilbestrol (DES) y del bisfenol A. En los comienzos de los 1940, los doctores prescribieron el estrógeno sintético potente, DES, a millones de mujeres embarazadas para prevenir abortos involuntarios y otros problemas reproductivos; y productores de carne lo inyectaron en el ganado para aumentar la producción de carne. El DES quedó orientado en el mercado de la droga por treinta años hasta que fue prohibido a principios de los años 70 cuando los primeros estudios epidemiológicos divulgaron cánceres vaginales raros en las mujeres jóvenes expuestas al DES mientras estuvieron en la matriz de sus madres; evidencia que confirmó la carcinogenicidad del DES (Herbst, 1971).

El bisfenol A es un estrógeno más débil, que nunca se le encontró uso como droga; su futuro estaba en los plásticos. Varios años después de que Dodds publicara su investigación sobre los estrógenos sintéticos, los químicos en los Estados Unidos y Suiza sintetizaron las primeras resinas de epóxidos usando el bisfenol A. La producción comercial de resinas de epóxidos comenzó a principios de los años 1950. En 1957, los químicos descubrieron otro uso para el bisfenol A cuando está polimerizado (ligado junto en cadenas largas), forma un plástico duro, policarbonato. En respuesta a expandir los mercados de plásticos, la producción del

bisfenol A tuvo un auge en los años 60 y a los años 70. La producción de bisfenol A en los Estados Unidos se triplicó en los años 70 para alcanzar cerca de mil millones de libras para principios de los 1980(Chemical Marketing Reporter, 1972 & 1980).

El aumento dramático de la producción del BPA llamo la atención de investigadores en el Instituto Nacional del Cáncer (NCI) y del programa nacional de la toxicología (NTP). En el final de los 1970, un estudio de dos años de la carcinogénesis del bisfenol A fue iniciado por el Instituto Nacional del Cáncer y conducido por Litton-Bionectics, un subcontratista que trabajaba con el Tractor-Jitco, el contratista principal para el NCI en ese entonces. Durante el plazo del estudio del bisfenol A, la oficina de contabilidad general de los Estados Unidos lanzó un informe que documentó condiciones muy pobres del laboratorio en dicha facilidad (US General Accounting Office, 1979). A pesar de esos resultados, la prueba biológica del bisfenol A fue terminada en 1979, y un proyecto del informe fue preparado por el Tractor-Jitco principal del contratista. En 1982, después de que el programa de la carcinogénesis del NCI fuera transferido al programa nacional nuevamente establecido de toxicología, el estudio del bisfenol A fue lanzado al público.

El estudio de toxicidad reproductivo de NTP divulgó que el bisfenol A era un toxicante reproductivo. Sin embargo, porque el estudio también divulgó toxicidad del hígado y del riñón, los autores concluyeron que la toxicidad reproductiva puede ser secundaria a efectos tóxicos generalizados (NTP, 1985).

Aunque estudios demuestran los posibles efectos del bisfenol A en dosis menores a los límites establecidos por la FDA, más datos sobre su toxicidad es requerida. El BPA está recibiendo un escrutinio creciente por su relación potencial de causar cáncer, tumores, y cambios hormonales y de desarrollo en los seres humanos. Sin embargo, la preponderancia de

evidencia no demuestra tales efectos dado al bajo nivel de exposición de BPA que los consumidores reciben (International Food Information Council Foundation, 2008).

Marco Conceptual o Teórico:

El rol principal de los envases o empaques de alimentos es proteger a los productos alimenticios contra las influencias y daño del exterior, para contener el alimento, y para proveer a los consumidores la información alimenticia y los ingredientes (Coles, 2003). Se entiende por envase un producto que puede estar fabricado en una gran cantidad de materiales y que sirve para contener, proteger, manipular, distribuir y presentar mercancías en cualquier fase de su proceso productivo, de distribución o venta.

Todo material en contacto con alimentos deberá: 1) estar fabricado con materiales autorizados para este fin; 2) no ocasionar modificación en composición o caracteres organolépticos del alimento; 3) no ceder constituyentes que supongan riesgo a la salud. Los materiales utilizados como envases se pueden clasificar como: materiales poliméricos, revestimientos a base de barnices y pinturas; y aditivos para materiales poliméricos. Los envases metálicos se construyen principalmente a partir de dos metales: acero y aluminio, siendo el primero más común por razones de costo principalmente (González, 2006).

Uno de los puntos críticos en el envasado de alimentos en envases metálicos, es la adecuación del barniz o laca a las condiciones de elaboración y almacenamiento de los envases. Los barnices son un medio para proporcionar resistencia a la abrasión así como para actuar como barrera frente a la corrosión externa. Limita la superficie metálica en contacto con la atmósfera reduciendo el riesgo de oxidaciones. En ocasiones es suficiente el tratamiento de pasivación del metal (adonizado), pero en la mayoría de sus aplicaciones los envases se protegen con barnices o materiales plásticos (González, 2006). La protección interior del

envase se realiza por revestimientos orgánicos, esto es barnizado, que son compuestos macromoleculares constituidos por una resina base y productos auxiliares que le dan propiedades particulares. Se aplican en forma de soluciones o dispersiones en disolventes orgánicos, que por evaporación del mismo o bien, por reacción química, se transforman en una película sólida adherida al soporte metálico (RAR, UE, 2003).

El problema surge en la interacción envase-alimento que envuelve los compuestos de bajo peso molecular tales como gases o vapores y agua de (1) el alimento a través del envase, (2) el ambiente a través del envase, (3) el alimento al envase, y/o (4) el envase al alimento (IFT, 1988). Estos también pueden incluir cambios químicos en el alimento, en el envase, o en ambos. Estas interacciones dan lugar a la contaminación de los alimentos (un problema potencial a la salud), a la pérdida de integridad del envase (un problema de seguridad potencial), o disminución de la calidad. Las interacciones más comunes de envase-alimento son la migración de sustancias de poco peso molecular tales como estabilizadores, plastificantes, antioxidantes, monómeros, y oligómeros de los materiales de envases plásticos de los alimentos (Arvanitoyannis & Bosnea, 2004). Además, los compuestos de poco peso molecular (volátiles y no volátiles) pueden migrar del alimento a los materiales del envase a través del mecanismo de la absorción (Hotchkiss, 1997). Las sustancias volátiles tales como sabores y aromas afectan directamente al valor nutritivo, mientras que los compuestos no volátiles tales como grasa y los colorantes afectan al envase (Tehrany & Desobry, 2004).

La polimerización de los monómeros constituyentes de las resinas, puede no ser completa por lo que es frecuente encontrar algunos de estos compuestos como contaminantes de los alimentos contenidos en estos alimentos. Además, la esterilización en autoclave de los alimentos contenidos en tales envases metálicos, así como, el calentar los alimentos en el horno de microondas en envases plásticos, los cuales se encuentran en contacto permanente ya sea en

medio ácido o básico, pueden provocar su alteración química, degradación y migración desde la pared del envase (Brotons et al., 1995; Munguía et al., 2002; Yoshida et al., 2001; Goodson et al., 2002; Thomson et al., 2005).

Una de estas sustancias es el bisfenol A (BPA), la cual se utiliza sobre todo como monómero en la producción de policarbonatos y como materia prima para los monómeros de ciertas resinas de epóxi. Las resinas epoxi fenólicas se utilizan como una recubierta interna, protectora de las latas para los alimentos y bebidas. Las resinas de epóxido se aplican a los interiores de latas y después se calientan a temperaturas altas generando reacciones. El BPA que queda atrapado en el plástico o en el interior de los contenedores de alimentos se libera en dosis muy pequeñas cuando éstos se calientan, originando así la absorción de este en los alimentos. Se ha demostrado la presencia de bisfenol A en alimentos, productos manufacturados (Brotons et al., 1995) y productos farmacéuticos (Olea et al., 1996) y por lo que el riesgo de exposición humana es considerable.

El BPA y sus derivados, se encuentran fundamentalmente como componentes de materiales poliméricos de elevada calidad comercial, resistentes a temperaturas elevadas. Sus oligómeros más frecuentes son: Bisfenol A de glicidil éter (BADGE), metacrilato de bisfenol A diglicidil éter (Bis-GMA), dimetacrilato de bisfenol A (BisDMA), y algunos etoxilatos y propoxilatos de bisfenol A. Estos materiales se usan con gran frecuencia, como barnices protectores de latas y en conserva de alimentos (European Commission, 2003).

Estudios de casos:

Debido al enfoque científico y a la atención del público en los productos químicos que pueden imitar la acción endógena de las hormonas e interferir así con la función endocrina del órgano, muchas investigaciones que determinan la toxicidad potencial del BPA se han

publicado en estos últimos años. El bisfenol A es aprobado por la FDA para el uso en policarbonato y las resinas de epóxido que se utilizan en productos de consumo tales como envases de alimento (leche, agua, y botellas infantiles), en las recubiertas internas de los envases de alimento (Staples et al., 1998) y en los materiales dentales (FDA, 2006). Resinas, plásticos del policarbonato, y otros productos manufacturados a partir de bisfenol A puede contener trazas del monómero residual (European Commission, 2003).

El potencial más alto para la exposición humana al bisfenol A es a través de los productos que entran en contacto directamente con el alimento tales como los mencionados anteriormente. Estudios que determinan la extracción de bisfenol A en botellas infantiles de policarbonato en los Estados Unidos encontraron concentraciones $< 5 \mu\text{g/L}$. En biberones de plástico tanto nuevos como de uso simulado sea encontrado que exceden los límites de migración permitidos por la Unión Europea, valores entre $8.4 \pm 0.4 \mu\text{g/Lt}$ y $0.23 \pm 0.12 \mu\text{g/Lt}$ respectivamente. Envases de fórmulas infantiles en los Estados Unidos tenían niveles máximos de $13 \mu\text{g/L}$ en el concentrado, que al ser mezcladas con agua produjeron un máximo de $6.6 \mu\text{g/L}$ (FDA, 1996; Biles et al., 1997). Los estudios de leche materna en los Estados Unidos han encontrado bisfenol A de hasta $6.3 \mu\text{g/L}$ en las muestras (Ye X et al., 2006). Las concentraciones medidas del bisfenol A en alimentos conservados en los Estados Unidos son menos de $39 \mu\text{g/kg}$ (Wilson et al., 2007; FDA, 1996). El muestreo limitado del agua potable en los EU indica que las concentraciones del bisfenol A eran todas por debajo del límite de detección ($<0.1 \text{ ng/L}$) (Boyd et al., 2003).

En los años 90 un grupo de investigación analizó muestras de alimentos vegetales en conserva, de diferentes países (Brasil, Francia, España, Turquía y los Estados Unidos) y se encontraron niveles de BPA entre los 29.9 y los $80 \mu\text{g/kg}$ (Brotons et al., 1995). Luego realizaron estudios en Italia, a un total de 382 muestras de pescado enlatado en aceite, en el que

encontraron, que cerca del 3% de las muestras contenían BADGE a concentración media de 1mg/kg, excediendo los niveles permitidos por la Unión Europea (Simoneau et al., 1999). En Suecia, se analizaron 50 muestras de latas de atún europeas para medir niveles de migración de BADGE, y se determinaron niveles de 20 µg/g en atún y 43 µg/g en aceite. Otros estudios realizados en Japón, en donde se analizaron muestras de alimentos enlatados, encontraron niveles de BPA de 5ng/ml en la porción líquida; sin embargo, fue principalmente detectado en un nivel máximo de hasta 11 µg/lata en la porción sólida (Yoshida et al., 2001). También se han analizado 72 muestras de refrescos de los supermercados locales en Canada, todos eran carbonatados (productos de dieta, no de dieta, sabor a frutas, bebidas energizantes) excepto 4 que eran bebidas de te (Liang Cao, 2009). Donde el BPA fue encontrado en rangos desde 0.032 a 4.5 µg/L. En Singapore, estudios de alimentos enlatados (guisantes, pedazos de piñas, atún, habichuelas, etc.) detectaron niveles de BPA entre 0.0328 a 0.1645mg/kg (Sun et al., 2006).

Investigaciones hechas en Reino Unido, en diferentes tipos de alimentos enlatados (vegetales, sopas, frutas, fórmulas infantiles, bebidas y postres), se detectaron niveles de BPA entre 0.007 mg/kg hasta 0.07mg/kg (Goodson et al., 2002). Otros estudios se han realizado en latas de alimento de gatos y perros, en los que encontraron niveles de BPA de 13 a 136ng/g y de 11 a 206ng/g (Kang et al., 2002).

En otro estudio efectuado en latas de café, se relacionaron los niveles de cafeína encontrados con los de BPA en latas contenedoras de café entero y descafeinado. Los resultados demostraron niveles de 84 y 66.2 ng/mL respectivamente. También, se demostró que la migración de BPA se incrementa paralelamente a la extracción de cafeína cuando se trata con agua caliente (Kang et al., 2002). Por otra parte, Japón ha realizado estudios determinando la relación entre migración de BPA de las latas con recubrimiento epóxido al

medio y soluciones de glucosa, sal, o aceite vegetal, medidos a temperaturas altas y tiempo determinado. Se encontró que a la temperatura de 120°C, la presencia de BPA es de 1 a 10% en salmuera y aceites vegetales (maíz, oliva y soja) y en glucosa resulto similar a la registrada en las muestras de agua control (Kang et al., 2003).

Así mismo en muestras de leche y productos lácteos (yogurt, crema, mantequilla, pudines y leche condensada), se encontró en niveles de 21 a 43 µg/kg en productos enlatados, valores superiores a los permitidos por la Unión Europea y Japón (Kang et al., 2003). Un estudio distinto se realizó para determinar BPA en envases de leches comerciales; los cuales tuvieron resultados entre 1.7 a 15.2 ng/g (Maragou, 2006). Además los límites de migración de BPA también exceden en los biberones de plástico (Brede et al., 2003). Un estudio que examinaba exposiciones en niños de edad preescolar en los Estados Unidos midió concentraciones de bisfenol A en alimentos líquidos y sólidos servidos a los niños en el país y en los centros de cuidado de niños (Wilson et al., 2003). Los análisis fueron conducidos en 4 muestras de alimentos líquidos y 4 muestras de alimentos sólidos del centro de cuidado de niños y 9 muestras de alimentos líquidos y 9 muestras de alimentos sólidos del hogar. El bisfenol A fue detectado en todas las muestras de alimentos sólidos, en 3 muestras de alimentos líquidos del centro de cuidado de niños, y 2 muestras de alimentos líquidos del hogar. La migración de bisfenol A también fue determinada en envases de jalapeños de tres supermercados principales de México, donde encontraron niveles de 5.59 ± 2.43 µg/kg (Munguía-López, 2002).

Aparte de los estudios de migración para los policarbonatos también se han estudiados al mismo tiempo otros monómeros, tales como bisfenoles y ftalatos, (DEP, DBP, BBP, DHEP, nonilfenol, BFA y BADGE). Estos monómeros fueron estudiados en cinco muestras comerciales de leches procesadas y empacadas de diferentes maneras. Las muestras

demonstraron migración entre 0.28 y 85 $\mu\text{g}/\text{kg}$, los valores más altos se obtuvieron en leches esterilizadas. El nonilfenol, DEP, DBP, DEHP fueron los de mayor contribución (Casajuana et al., 2004). Otro estudio realizado en Nueva Zelanda sobre alimentos enlatados, en todas las muestras excepto en bebidas gaseosas, presentaron niveles de BFA con una media de 10 a 29 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Thomson et al., 2005). También se ha desarrollado la determinación de BFA en muestras de alimentos enlatados de frutas y vegetales, detectándose la presencia en niveles de 0.1ng/mL para bebidas enlatadas y de 4.3 ng/mL en vegetales en conserva (Braunrath et al., 2005). La migración de BPA y BADGE en latas de pescado sometidas a calor en su proceso de elaboración permitieron unos valores de 646.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de BPA, cuando el polímero es organosol y entre 11.3 y 138.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de BPA cuando el polímero es epóxido. Valores menores se encuentran en envases de vegetales (Munguía et al., 2005).

Los policarbonatos y resinas de epoxi forman parte importante de otros materiales poliméricos, como es el caso de composites y selladores usados en odontología (González, 2006). Los composites son los productos que pretenden sustituir a las amalgamas. Estudios de la saliva de voluntarios sanos a los que se les ha aplicado sellador, han resultado positiva a dichas concentraciones (Olea et al., 1996). Otro realizado en saliva humana de pacientes con composites dentales, recolectada en un periodo de 1 a 24 horas después de ser aplicado el sellador dental (Delton), el bisfenol A fue encontrado en todas las muestras (Arenholt et al., 1999). En otros trabajos de investigación, en los que se utilizó el bisfenol A y el BisDM, en muestras de materiales para odontología, se determinó la presencia de BisDMA en el total de las muestras, el cual es un derivado de descomposición de BPA (Schafer et al., 2002).

Es de mucha importancia mencionar varios estudios donde se ha encontrado la presencia de bisfenol A y sus derivados en muestras humanas. Estudios desarrollados en muestras de suero de mujer, con disfunción ovárica y obesidad, el bisfenol A fue detectado en

todas las muestras humanas, la concentración de BPA en suero fue significativamente alta ($p < 0.05$) en mujeres no obesas y en mujeres obesas con ovarios poliquísticos, los niveles encontrados fueron de 1.05 ± 0.10 ng/mL y 1.17 ± 0.16 ng/mL respectivamente y en mujeres obesas normales se encontraron concentraciones de 1.04 ± 0.09 ng/mL. Por otra parte también existen correlaciones significativas positivas entre los niveles de BPA encontrados y los niveles de testosterona total lo que comprueba la estrecha relación que hay entre BPA y efectos estrogénicos (Takeuchi et al., 2004). Anteriormente se han analizado muestras de semen humano, para probar la presencia de BPA y los resultados obtenidos mostraron concentraciones entre 0.5 ng/mL y 2.0 ng/mL dependiendo del método utilizado (Inoe et al., 2001). Estudios para medir bisfenol A y nonilfenol en muestras de orina de 394 adultos en los Estados Unidos detectaron BPA en el 95% de las muestras y un 51% de nonilfenol en las muestras examinadas (Calafat, 2005). Niveles de BPA entre 0.3 a 5 ng/mL están presentes en plasma humano adulto y fetal, orina y leche materna (Welshons et al., 2006). El bisfenol es un compuesto lipofílico, puede acumularse en la grasa, con niveles detectables encontrados en 50% de las muestras de tejido adiposo en los pechos de las mujeres (Fernández, 2007). También fue reportado que el BPA altera varias funciones metabólicas (Alonso-Magdalena et al., 2005 & 2006; Masuno et al., 2005).

Numerosos autores han demostrado los riesgos de exposición a bajas concentraciones de BPA. Así mismo otros estudios realizados en ratones demuestran que el BPA enlaza los receptores de estrógeno como también genera otras condiciones. La exposición fetal de ratones a bajas dosis de bisfenol A cambió el momento de la síntesis del ADN en el epitelio y el estroma de sus glándulas mamarias, aumentó el número de conductos terminales y de brotes terminales (las estructuras desde las cuales surge el cáncer), y aumentó la sensibilidad de la glándula mamaria a los estrógenos durante la vida postnatal (Muñoz de Toro et al., 2005;

Markey et al., 2001). Según Markey, estos hallazgos “refuerzan la hipótesis de que la exposición in utero a los estrógenos ambientales puede predisponer al feto en desarrollo a la carcinogénesis de la glándula mamaria en la edad adulta” (2001, p.1215).

Cada vez hay más evidencias que relacionan la exposición intrauterina al bisfenol A (BPA) con drásticos cambios en el desarrollo del sistema reproductivo y las glándulas mamarias (Breast Cancer Fund, 2006). Investigadores de la Universidad de Tufts expusieron a ratones in utero a dosis bajas de BPA. Cuando los investigadores examinaron las glándulas mamarias de las crías hembras a los 10 días, al mes y a los seis meses después del nacimiento, encontraron que el desarrollo de las glándulas mamarias de los animales había sido alterado en formas asociadas con el desarrollo de cáncer de mama en roedores y en humanos (Markey et al., 2001).

Esta evidencia sugiere que los fetos y embriones, cuyo crecimiento y desarrollo están regulados por el sistema endocrino, son los más vulnerables a la exposición a estrógenos sintéticos u otras sustancias químicas que alteran la función endocrina, y pueden sufrir los efectos más duraderos de esa exposición (Breast Cancer Fund, 2006). En 2005, científicos de la Universidad de Tufts observaron que la exposición de ratonas preñadas a niveles sumamente bajos de bisfenol A (BPA) alteraba el desarrollo de la glándula mamaria de las crías hembras en la pubertad. Si los cambios observados (aumento de la sensibilidad a los estrógenos, disminución de la muerte celular y aumento del número y el tamaño de los brotes terminales) llegaran a ocurrir en los seres humanos, elevarían el riesgo de cáncer de mama. Los animales fueron expuestos a niveles de BPA dos mil veces menores que el nivel calificado como seguro por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (Muñoz de Toro, 2005).

Un estudio de laboratorio hecho en España sugiere que el bisfenol A (BPA) actúa a través de las mismas vías de respuesta del estrógeno natural (17-beta estradiol) (Rivas, 2002).

Aunque en este estudio se usaron dosis altas, dos estudios recientes mostraron que el BPA a dosis baja aumentaba la proliferación in vitro de células mamarias, vía receptor de estrógeno de la membrana (Watson et al., 2005; Wozniak, 2005).

Una extensa literatura científica implica al Bisfenol A (BPA) en una amplia gama de efectos en la salud. Los desacuerdos con esta literatura provienen casi exclusivamente de los científicos ligados a la industria del plástico, quienes reclaman que no han podido replicar los estudios que demuestran que el BPA puede causar daños (Breast Cancer Fund, 2006).

Un análisis realizado por dos destacados expertos revela un claro patrón de parcialidad en los informes sobre resultados de investigación. Estos expertos solicitaron a la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos la realización de una nueva evaluación de riesgo del BPA (vom Saal & Hughes, 2005). Hasta diciembre de 2004 se había publicado un total de 115 estudios sobre los efectos del BPA en la salud. Ninguno de los 11 estudios financiados por el sector empresarial informó sobre efectos adversos de la exposición a niveles bajos, mientras que 94 de los 104 estudios con financiamiento gubernamental realizados en laboratorios académicos de Japón, Europa y Estados Unidos sí encontraron efectos adversos a niveles bajos de bisfenol A (Breast Cancer Fund, 2006).

Marco legal:

Actualmente no existe un control legislativo específico en cuanto al bisfenol A (BPA) en el medio ambiente, sin embargo se especifican límites de migración de bisfenol A para los alimentos enlatados. Existen dos límites oficiales para el BPA y ciertos compuestos relacionados.

a) Los límites de migración especifican la cantidad de un químico que es permitido para migrar dentro de los alimentos. EU Directivas 76/893, 80/590, 82/711, 85/572 y 90/128

resumen las regulaciones Europeas de los polímeros en contacto con el alimento. La migración específica puede ser evaluada en cualquier alimento en contacto con material polímero o en alimentos simultáneamente.

Para PBA, El Comité Científico de la Comisión Europea en Alimentos (EC SCF, por sus siglas en inglés) ha establecido un límite de migración específico en alimentos de 3mg/Kg (3 ppm), un máximo de 3mg de bisfenol A es permitido para ser transferido del plástico dentro de un kilogramo de alimento. Pero fue cambiado a 0.6mg/kg (0.6ppm) en 2004 (EC, 2004). La US Food and Drug Administration (FDA, por sus siglas en inglés) no tienen impuesto un límite comparable.

Para Bisfenol A diglycidyl éter (BADGE, por sus siglas en inglés) es una sustancia de muchas resinas de epóxidos utilizadas como recubierta interna de los envases, pero también es utilizada como aditivo, funcionando como un estabilizador y plastificador en las mezclas de PVC y resinas de epóxidos (organosoles vinílicos), y para ayudar en el espesor de los poliéster basados en la capas internas de los envases (SCF, 1999).

Para BADGE, en 1996 la SCF aumento el límite permitido y estableció un límite temporero para el BADGE y sus productos de hidrólisis de 1mg/kg de alimento. El límite previo era 20µg de BADGE/kg de alimento; esta fue una decisión bien controversial al aumentarlo. En 1999, el límite alto de 1mg/kg fue reafirmado, pero más data de toxicidad fue requerida (SCF, 1999; Barlow, 2000).

b) Consumo Diario Tolerable (TDI, por sus siglas en ingles) es una cantidad estimada, expresada a base del peso del cuerpo, de un contaminante el cual puede ser ingerido por días o de por vida sin riesgo apreciable a la salud.

TDI para BPA en la Unión Europea

En 1986, EC SCF recomendó un ingesta diaria tolerable (TDI, por sus siglas en ingles) de 0.05milligramos por kilogramo del peso del cuerpo por día para bisfenol A en el contexto de su uso en alimentos en contacto con plásticos. Como siempre, en la luz de nueva data, la SCF planeo reevaluar BPA en el año 2000 (Barlow, 2000). Este TDI Europeo de 50µg/kg basado en el peso por día fue establecido antes por el trabajo de vom Saal que el BPA puede causar efectos a bajas dosis (menor a 2µg/kg peso de cuerpo/día). En agosto 1997, la UK Committe on Toxicity (COT, por sus siglas en inglés) reevaluó el TDI a base del estudio de vom Saal (Nagel & vom Saal, 1997) y otros estudios (algunos publicados) pero en conjunto con la American Society of Plastics Industry. En 2002 la Unión Europea estableció un TDI temporero para BPA de 10µg/kg del peso del cuerpo por día.

Nivel seguro de BPA en los Estados Unidos

La Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés) tiene el mismo nivel como la Unión Europea. La EPA en el 1993 estableció un máximo aceptable o dosis de referencia para BPA de 0.05mg/kg peso del cuerpo/día. Esto fue basado en una prueba de cáncer (CEFIC, 1990).

Algunos polímeros manufacturados con bisfenol A son aprobados por la FDA para el uso en aditivos alimenticios directos e indirectos y en materiales dentales, según esta establecido en el código de las regulaciones federales (21 CFR 17.105) (FDA, 2006). En el CFR, el bisfenol A se refiere a menudo como “4,4’-isopropiylidnediphenol”. Los polímeros fabricados con bisfenol A son aprobados por la FDA para el uso de recubiertas internas, pegamentos, superficies de contacto con alimentos, y materiales de resina dental.

De acuerdo con la FDA (U.S. Food and Drug Administration, por sus siglas en inglés) consideran que el bisfenol A es seguro y no causa efectos, continuaran haciendo investigaciones de posibles efectos potenciales a la salud; como también están abiertos a revisar sus conclusiones como a desarrollar nuevos estudios de la sustancia (Favole, 2009). La FDA regula sustancias que entren en contacto con alimentos, de acuerdo con la definición de § 409 (h) (6) de la Ley de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos. Una sustancia que entre en contacto con alimentos es “cualquier sustancia prevista para el uso como componente de los materiales usados en la fabricación, el embalaje, el empaquetado, el transporte o sostenerse del alimento si el uso no se piensa de tener un efecto técnico en tal alimento” (21 USC §348 (h) (6)).

Estados y países que han declarado el bisfenol A (BPA), compuesto químico utilizado en algunos envases de alimentos, como sustancia peligrosa para la salud.

Europa: La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, por sus siglas inglés) se ha comprometido a revisar los dictámenes establecidos para el uso seguro de esta sustancia y a proporcionar información actualizada sobre sus deliberaciones.

Canadá: BPA es uno de las 23,000 sustancias químicas en el Acta de Protección Ambiental de Canada (CEPA, por sus siglas en inglés) en la lista de sustancias domésticas (DSL, por sus siglas en inglés) identificada para una mayor evaluación bajo el gobierno de plan de gerencia químicos de Canada (CMP, por sus siglas en inglés). Como parte de este proceso de evaluación de BPA, la información de varios productos enlatados es necesaria para conducir un avalúo de exposición tanto para infantes como para la población general (Sarah Schmidt, 2008). Canadá fue uno de los pioneros en exigir que no se vendieran biberones que tuvieran BPA.

Japón: Estableció un límite de 2.5mg/kg (2.5ppm) peso del cuerpo por día para BPA (Masuyama, 1994).

Compañías y agencias gubernamentales:

Con la creciente evidencia de que el bisfenol A puede causar significantes problemas a la salud, compañías y agencias gubernamentales de Estados Unidos han desarrollado políticas para minimizar la exposición pública a este producto químico tóxico. Ejemplos de estas; en el 1999, la compañía *Eden Foods* eliminó el uso de BPA en algunos de sus productos enlatados. La compañía eliminó el BPA de las latas de habichuelas y continúan investigando alternativas para las latas de tomates (Voiland, 2007). También, en diciembre del 2007 el artículo de Newsweek, Target, una de las compañías de mayor en venta, comenzó a ofrecer biberones libres de BPA en respuesta a la demanda de los consumidores (Kuchmen, 2008).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

En este estudio evaluamos la presencia y concentración de bisfenol A en vegetales y frutas enlatados en Puerto Rico. Seleccionamos diferentes marcas de productos enlatados que se venden en supermercados locales. Para llevar a cabo el análisis de detección y cuantificación en las muestras, utilizamos cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, por sus siglas en inglés).

Objetivos:

1. Identificar la presencia y determinar la concentración de BPA que se ha acumulado en los vegetales y frutas enlatados para ver si cumplen con los límites de migración aceptables de BPA en los alimentos establecidos por el Comité Científico de la Comisión Europea en Alimentos de 3mg/kg.
2. Evaluar si el pH y la temperatura son factores que afectan la concentración de BPA en los alimentos analizados.
3. Determinar si los niveles encontrados de BPA podrían presentar un riesgo a la salud humana.

Descripción de la muestra

Con el propósito de validar la teoría de presencia de bisfenol A seleccioné cuatro productos de vegetales enlatados y cuatro productos de frutas enlatadas. En total se analizaran 3 muestras de cada producto para un total de 24 muestras. En la selección de productos enlatados utilizamos como referencia los estudios de Yoshida et al. (2001) y García-Prieto et al. (2008). Como referencia a la metodología analítica para la preparación de las muestras adaptamos la metodología presentada por Yoshida et al. (2001), Kang J. et al. (2002) y Jeong-Hun et al. (2006).

De una gran variedad de productos enlatados estudiamos vegetales enlatados (maíz, habichuelas verdes, guisantes verdes, vegetales mixtos) y frutas enlatadas (ensalada de frutas, melocotones, peras, piñas). Además se escogieron 2 muestras de vegetales y 2 muestras de frutas para evaluar el efecto de la temperatura. Para un total de 28 muestras en el estudio.

Periodo del estudio

Este estudio lo llevé a cabo de junio a noviembre del 2009.

Diseño metodológico:

Análisis cromatográfico de las muestras

Para el análisis de bisfenol A presente en las muestras enlatadas de vegetales y frutas utilizamos el laboratorio de Toxicología Ambiental (Chemetox) de la Universidad Metropolitana. El equipo consta de un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC); marca Waters, modelo 2690, unido a un detector de ultravioleta/visible (Waters 2487 dual λ absorbance). Como fase sólida utilizamos una columna Nova-Pak C18 Waters (3.9 x 150mm, 4 μ m). La fase móvil constó de agua/acetonitrilo (60/40) %. Las condiciones del equipo establecidas fueron las siguientes, flujo de la fase móvil 0.8 mL/min, presión aproximada 567 psi y temperatura de 40°C. La identificación del bisfenol A (BPA) se determinó a un largo de onda de 228nm por medio de un detector de longitud de onda variable. Cada muestra fue inyectada por duplicado y se identificaron los tiempos de retención de cada bisfenol A encontrado. Como también se integraron los picos para poder calcular el área y determinar la concentración.

Determinación del pH

El pH de las muestras enlatadas fue determinado utilizando un metro de pH Accumet Research modelo AR 15 (Fisher Scientific), previamente calibrado con soluciones buffer de 4.00 y 7.00 (Fisher Scientific). Se tomaron 10 mL de cada muestra y se transfieren en un vaso de 50 mL. Las lecturas fueron tomadas en triplicado.

Materiales y Reactivos:

- Bisfenol A (BPA) (>99%), CAS No. 80-05-7, Manufacturero: Sigma Aldrich
- Agua HPLC Grade
- Cartuchos de extracción de fase sólida: Sep-Pak plus Florisil
- Acetona, Manufacturero: Sigma Aldrich $\geq 99.9\%$
- Acetonitrilo, Manufacturero: Sigma Aldrich $\geq 99.5\%$
- Hexano, Manufacturero: Fisher (85%)
- Metanol, Manufacturero: Sigma Aldrich $\geq 99.9\%$
- n-heptano (%) Manufacturero: Sigma Aldrich
- 2- propanol Manufacturero: Sigma Aldrich
- Sulfato de Sodio Anhidro Manufacturero: Fisher
- Filtros Whatman GF/C & Filtros de Nylon 0.45 μ m

Preparación de la muestra; porción sólida de los vegetales y frutas enlatados:(Metodología adaptada según referencia; la cubierta interna de los envases no fue analizada)

- 5 gramos de muestra fueron homogenizados (homogenizador Warning) por 2 minutos con 50mL de acetonitrilo y 15 gramos de sulfato de sodio.

- La muestra homogenizada se filtro con un filtro Whatman GF/C y el residuo fue enjuagado con 30mL de acetonitrilo.
- El filtrado fue agitado vigorosamente por 5 minutos con 50mL de hexano saturado con acetonitrilo. Utilizando un embudo de separación. La solución combinada se dejo reposar por 15 minutos para que las capas separen. La capa de la parte inferior es la del acetonitrilo.
- La capa de acetonitrilo se transfirió a un vaso de precipitado.
- La capa de hexano fue agitada con 50mL de acetonitrilo nuevamente y la capa de acetonitrilo se le añadió con la primera extracción dentro del vaso de precipitado.
- Se añadió 10mL de 2-propanol a las capas de acetonitrilo obtenidas.
- La solución de acetonitrilo se evapora hasta que se seque utilizando un flujo de nitrógeno a 40°C.
- El residuo fue disuelto en 10mL de acetona-n-heptano (3:97, v/v) y luego fue aplicado a los cartuchos Sep-Pak Florisil, previamente condicionados con 10mL acetona-n-heptano (5:95, v/v). Para aislar y recuperar el BPA. Se dejo reposar de 25 a 30 minutos.
- El BPA fue extraído de los cartuchos con 10mL acetona-n-heptano (20:80, v/v).
- La extracción del BPA se evaporó totalmente utilizando un flujo de nitrógeno a 40°C.
- El residuo fue disuelto en 1.0mL acetonitrilo-agua (40/60, v/v), luego 50µL de la solución de muestra fueron inyectados en el sistema de HPLC.

Determinación de temperatura

Dos muestras de vegetales y dos muestras de frutas fueron seleccionadas, y se calentaron a 110°C durante 30 minutos. Luego las muestras se prepararon con el procedimiento anteriormente mencionado.

Análisis de datos

Identificación de bisfenol A por medio de Soluciones Estándar

La identificación de cada uno de los picos obtenidos en los cromatogramas de las muestras analizadas por HPLC se realizó por medio de estándares de bisfenol A. Las soluciones estándares fueron inyectadas en triplicado en el HPLC. Además se determinaron los tiempos de retención, para así tener una mayor confiabilidad a la hora de la identificación.

Cuantificación de bisfenol A por medio de Soluciones Estándares

Para la cuantificación del bisfenol A, una solución *stock* de 50mg/100mL (concentración de 0.5µg/mL) fue preparada. A partir de esta solución se prepararon las soluciones de trabajo para generar una curva de calibración entre las concentraciones de (0.01 y 0.000005) µg/mL. Se utilizó agua/acetonitrilo (60/40) % como solvente diluido para la preparación de las soluciones. Las soluciones estándares de cada concentración se filtraron con una membrana de nylon 0.45 µm. Las mismas se inyectaron en triplicado.

Una curva de calibración “área vs concentración (µg/mL)” fue realizada con el promedio de las áreas de las tres inyecciones. Además determinamos la desviación estándar y el coeficiente de variación, esto con el fin de evaluar la precisión de la metodología utilizada, los límites de detección y la reproducibilidad del método.

Obtenida la curva de calibración determinamos el coeficiente de regresión lineal y la ecuación de la línea recta con la cual estimamos la concentración de cada solución de bisfenol A identificado en las muestras de vegetales y frutas.

La ecuación que utilizamos para la determinación de la concentración de bisfenol A presente en los vegetales y frutas fue la siguiente:

$Y = mX + b$, donde

$Y =$ Área promedio bajo la curva

$m =$ Pendiente de la recta

$X =$ Concentración ($\mu\text{g/mL}$)

$b =$ Intercepto

$$X = \frac{Y - b}{m}$$

Dado que cada pico en el cromatograma nos proporciona un área, esta fue sustituida en la ecuación obtenida en la línea de regresión lineal para entonces obtener la concentración de BPA.

Determinación del límite de cuantificación

Determinamos el límite de cuantificación que el método nos permite detectar. El límite de cuantificación es un parámetro que indica la mínima cantidad que puede ser medida con una exactitud y precisión aceptable. Preparamos soluciones diluídas de concentración ($\mu\text{g/mL}$) conocida de bisfenol A identificadas. Luego se inyectaron por triplicado en el HPLC a las condiciones de análisis anteriormente mencionadas. Este procedimiento se realizó hasta obtener una señal que fuera reproducible y que los valores del área bajo la curva presentaran un coeficiente de variación menor del 5%.

Determinación del porcentaje de recuperación

Para calcular el rendimiento del proceso de extracción y de la limpieza de la muestra se determinó el porcentaje de recuperación. Este paso consiste en añadir una cantidad conocida de cada estándar de bisfenol A identificado a una muestra de vegetal y realizar todo el procedimiento tanto de extracción como el de identificación. Finalmente determinamos la concentración de los estándares de bisfenol A añadidos a la muestra por medio de las curvas de calibración.

La fórmula que utilizamos para la determinación del porcentaje de recuperación fue la siguiente:

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\text{Concentración de bisfenol A añadido obtenido de la curva } (\mu\text{g/mL}) \times 100}{\text{Concentración real del bisfenol A añadido } (\mu\text{g/mL})}$$

Los valores obtenidos de BPA al final del análisis de las muestras fueron comparados con los límites establecidos por El Comité Científico de la Comisión Europea en Alimentos (EC SCF, por sus siglas en inglés). El cual establece un límite de migración específico en alimentos de 3mg/kg (3partes por millón, ppm).

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El propósito de este estudio fue identificar y determinar la concentración de BPA que se ha acumulado en vegetales y frutas enlatados para ver si cumplen con los límites de migración aceptables de BPA en los alimentos. Este capítulo presenta los resultados obtenidos que fueron analizados utilizando el método propuesto. Se analizaron muestras de vegetales y frutas enlatadas, de diferentes tipos, marcas comerciales, calidades y sitios de procedencia.

La determinación de BPA se obtuvo del análisis de 28 productos enlatados de diversos alimentos según las técnicas descritas en la metodología; en los cuales también se determinaron los parámetros de temperatura y pH. Las concentraciones de BPA fueron determinadas de la porción sólida de los alimentos, la parte que consumimos. Una vez que fueron extraídas y purificadas las muestras fueron inyectadas al HPLC, tras la medición por triplicado de la totalidad de las muestras, se efectuaron los cálculos de las concentraciones de BPA presente en cada una de las muestras, resultando en $\mu\text{g/mL}$ de muestra.

Determinación cuantitativa de BPA

El método de cromatografía utilizado en este estudio presenta unos resultados de alta reproducibilidad para los productos analizados. El sistema de HPLC fue calibrado inyectando diez muestras de soluciones estándares entre las concentraciones (0.01 y 0.000005) $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 1). Una curva de calibración fue obtenida y se determinó el coeficiente de regresión lineal y la ecuación de la línea recta con la cual establecimos la concentración de cada solución de bisfenol A identificado en las muestras de vegetales y frutas. La curva de calibración obtenida fue, $Y = 483513X + 26.325$ con un coeficiente de correlación de 0.9994 ($n = 10$). El

límite de detección calculado fue $5.38 \times 10^{-6} \mu\text{g/mL}$ (0.000001mg/kg) y el límite de cuantificación fue de $1.84 \times 10^{-5} \mu\text{g/mL}$ (0.000004mg/kg) (Tabla 2, Figura 1, 2 y 3).

La validez del método analítico se realizó aplicando el método de adición de estándar. En nuestro caso a la muestra seleccionada (habichuelas tiernas) se le añadió una concentración de estándar de BPA conocida ($0.001\mu\text{g/mL}$). Donde obtuvimos una recuperación de BPA promedio de 96.72% ($n=3$); (Tabla 3 y Figura 4).

Las 28 muestras analizadas resultaron positivas a contener BPA en concentración mayor a los $5.38 \times 10^{-6}\mu\text{g/mL}$.

Análisis de las muestras de vegetales enlatadas

Entre los productos de vegetales enlatados se analizaron habichuelas tiernas, maíz, vegetales mixtos y guisantes. Cada producto en tres marcas diferentes: El Monte, Bohío y Green Giant. Las concentraciones de BPA obtenidas en las habichuelas tiernas fueron las más bajas ($0.00005 - 0.0009\mu\text{g/mL}$) entre los vegetales analizados. Los niveles de BPA fueron ($0.07439 - 0.09294\mu\text{g/mL}$) para el maíz, de ($0.08822 - 0.11237\mu\text{g/mL}$) los vegetales mixtos y de ($0.13001 - 0.15869\mu\text{g/mL}$) los guisantes. Las concentraciones más altas se obtuvieron en los guisantes en comparación con los otros vegetales estudiados (Tablas 4, 5, 6 y 7; Figura 5).

Análisis de las muestras de frutas enlatadas

Las muestras de frutas seleccionadas en este análisis fueron: piña, melocotones, ensalada de frutas y peras. Cada producto en tres marcas diferentes: Del Monte, Bohío y Green Giant. Entre todas las frutas analizadas se encontró que las concentraciones más altas la obtuvieron las latas de piña ($0.08135 - 0.11333\mu\text{g/mL}$). Y las concentraciones más bajas se obtuvieron en las peras ($0.06661 - 0.07172\mu\text{g/mL}$). Los melocotones tuvieron concentraciones de ($0.04666 - 0.09301\mu\text{g/mL}$) y las ensaladas de frutas de ($0.07167 - 0.09597\mu\text{g/mL}$) (Tablas 8, 9, 10 y 11; Figura 7).

Resultados de la determinación de pH en las muestras

Determinamos el pH en todas las muestras de vegetales y frutas analizadas. El pH es una medida de la acidez o alcalinidad de una solución. El pH típicamente va de 0 a 14 en disolución acuosa, siendo ácidas las disoluciones con pH menores a 7, y alcalinas las que tienen pH mayores a 7. El pH determina muchas características notables de la estructura y actividad de las biomacromoléculas.

Los valores de pH determinados en las muestras de vegetales fluctuaron entre 4.50 y 4.77. Para las frutas el pH tuvo valores entre 4.81 y 5.75. Los resultados de las concentraciones de BPA y pH obtenidas en los vegetales y frutas enlatados se demuestran en las tablas 12 y 13; Figura 9 y 10.

El porcentaje de mayor concentración de BPA encontrado en las muestras guarda una relación con el pH determinado. A través de la determinación del pH en las muestras encontramos que mientras más ácidas fue la muestra, mayor fue el por ciento de recuperación de BPA independientemente fueran frutas o vegetales. Esto demuestra que la acidez en los productos enlatados es un factor importante en el proceso de migración del BPA hacia los alimentos.

Resultados de los efectos de la temperatura en las muestras

Seleccionamos 2 muestras de vegetales y dos muestras de frutas enlatadas para evaluar si la temperatura es un factor importante en el proceso de migración de BPA en los alimentos. La temperatura aplicada a las muestras fue de 110°C por 30 minutos, luego se continuó con el método de extracción anteriormente mencionado. Los resultados obtenidos demuestran un

mínimo efecto o cambio en las concentraciones de BPA obtenidas, comparadas con las muestras que no fueron expuestas a temperaturas (Tablas 14 y 15). En las muestras de vegetales y frutas se pudo determinar que la temperatura aumenta el proceso de absorción y concentración del BPA en los alimentos pero no de manera significativamente drástica.

Determinación de riesgo a la salud humana por exposición a los niveles encontrados de BPA

Evidenciamos la presencia de BPA en las muestras de vegetales y frutas enlatadas y por lo tanto determinamos si las concentraciones obtenidas cumplen con los límites de migración de BPA en los alimentos. Los límites de migración especifican la cantidad de un químico que es permitido para migrar dentro de los alimentos.

Para BPA, El Comité Científico de la Comisión Europea en Alimentos ha establecido un límite de migración específico en alimentos de 3mg/Kg (3 partes por millón, ppm), un máximo de 3mg de bisfenol A es permitido para ser transferido de la recubierta interna del envase dentro de un kilogramo de alimento. Los resultados encontrados en las muestras de vegetales y frutas no sobrepasan los límites establecidos. Los niveles más altos encontrados en los vegetales fue en los guisantes con 0.032mg/Kg y en las frutas la piña con 0.023mg/Kg (Tablas 16 y 17; Figuras 6 y 8).

Con los datos obtenidos podemos evaluar el Consumo Diario Tolerable (TDI, por sus siglas en ingles) que es una cantidad estimada, expresada a base del peso del cuerpo, de un contaminante el cual puede ser ingerido por días o de por vida sin riesgo apreciable a la salud. El TDI para la Unión Europea, para la FDA y para la Agencia de Protección Ambiental es el mismo nivel máximo aceptable o dosis de referencia para BPA de 0.05mg/kg peso del cuerpo/día.

$$\text{TDI} = \frac{\text{Cantidad encontrada}(\mu\text{g/kg})(\text{Kg ingeridos/día})}{\text{Peso de corporal (kg)}}$$

Al evaluar los niveles obtenidos encontramos que no exceden el TDI; por lo tanto no son un riesgo para la salud humana.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECONMENDACIONES

El análisis de los resultados presentados en este trabajo consistió en tomar muestras de vegetales y frutas enlatadas para determinar concentraciones de bisfenol A (BPA). El método utilizado de cromatografía líquida de alta resolución permitió la determinación de bisfenol A con un pico bien definido dando lugar a una cuantificación reproducible en las muestras de vegetales y frutas enlatadas. Los métodos de extracción, purificación y detección de BPA utilizados en este trabajo ofrecieron buenos resultados de recuperación y bajos límites de detección en todas las muestras estudiadas. Todas las muestras analizadas presentaron concentraciones de BPA inferiores a los niveles máximos establecidos o regulados.

Las concentraciones más altas de BPA encontradas tanto en las frutas y vegetales tuvieron una relación con la acidez de la muestra. Mientras mas ácido era el producto mayor concentración de BPA fue encontrado. Por otra parte observamos que el parámetro de temperatura al cual se expusieron las muestras no acelero de manera significativa la liberación de BPA en las muestras. También observamos que las concentraciones no guardan relación con las fechas de expiración de cada producto analizado (Tabla 16 y 17).

En el estudio consideramos que todo producto contaminado con BPA es aquel que después de haberle realizado el análisis; su resultado sobrepasa los 3mg/kg. Según los límites establecidos para BPA por la Unión Europea. De acuerdo a los resultados obtenidos en las muestras de vegetales y frutas enlatadas los niveles de concentración de BPA fueron muy bajos, llegando a la conclusión de que las muestras estudiadas no son un riesgo inminente a la salud de acuerdo a los criterios de Europa. Las muestras analizadas no excedieron el límite

establecido de 3mg/kg. También evaluamos el TDI y no representa ningún riesgo a la salud. Actualmente estos parámetros se encuentran en debate con el aumento de estudios y evidencias que cantidades mínimas de BPA en el cuerpo humano son un alto riesgo a la salud. Por tal razón se deben realizar más estudios para determinar un riesgo asociado a la salud humana.

Entre las limitaciones de este estudio podemos identificar la cantidad de diversidad de tipo de productos enlatados que se pueden analizar; como también la falta de información o accesibilidad del tipo de recubierta que contiene cada enlatado. No se pudo hacer una comparación de resultados con estudios previamente realizados con estos productos o productos similares en Puerto Rico por la falta de investigación a nivel local sobre el BPA. Por otro lado, para obtener mejores resultados recomendamos la realización de futuros estudios donde se evalúen otros parámetros importantes como lo son el tipo de recubierta interna que contiene cada enlatado, la exposición a temperatura, tiempo de almacenamiento, entre otros factores que ayudan a la migración del BPA.

Recomendaciones para prevenir o evitar la exposición al bisfenol A:

- Utilice alternativos como recipientes de vidrio o plástico de polietileno (clave #1).
- Evite comida enlatada (el interior de las latas puede contener bisfenol A). También evite alimentos enlatados con alto contenido de grasas, los cuales pueden tener niveles altos de bisfenol A.
- Busque productos que digan “Libres de ftalatos” ó “Libre de bisfenol A”.
- Evite calentar alimentos en envases de policarbonato, ya que el bisfenol A tiende a ser liberado con las altas temperaturas. Use envases de vidrio o cerámica.

- Antes de ser tratado con empastes dentales, coteje con su dentista sobre los ingredientes en los productos que ellos utilizan; algunas formulaciones pueden liberar BPA.

LITERATURA CITADA

Arvanitoyannis, I. S., & Bosnea, L. (2004). Migration of substances from food packaging materials to foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(2), 63–76. doi: 10.1080/10408690490424621.

Barlow, S. (2000, January). Biological factors and study design. In J. Moore (Chair), *Endocrine disruptors low dose peer review*. Symposium conducted at the meeting of the National Institute of Environmental Health Sciences, NIH National Toxicology Program, North Carolina.

Biles, J. E., McNeal, T. P., & Begley, T. H. (1997). Determination of bisphenol A migrating from epoxy can coatings to infant formula liquid concentrates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4697-4700. doi: 10.1021/jf970518v.

Bisphenol A Sector Group of CEFIC. (1998, October). *Human Safety of Bisphenol A: An Overview*. CEFIC, Brussels.

Boyd, G. R., Reemtsma, H., Grimm, D., & Mitra, S. (2003). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in surface and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. *Science of the Total Environment*, 311, 135-149. doi:10.1016/S0048-9697(03)00138-4.

Braunrath, R., Podlipna, D., Padlesak, S., & Cichna-Markl, M. (2005). Determination of bisphenol A in canned foods by immunoaffinity chromatography, HPLC and Fluorescence detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(23), 8911-7. doi:10.1021/jf051525j.

Breast Cancer Fundation. (2006). *Estado de la evidencia ¿Cuál es la conexión entre el medio ambiente y el cáncer de mama?* (Cuarta Edición) San Francisco, CA.

Brede, C., Fjeldal, P., Skjevraak, I., & Herikstad, H. (2003). Increased migration levels of

bisphenol A from polycarbonate baby bottles after dishwashing, boiling and brushing. *Food Additives and Contaminants*, 20(7), 684-9. doi:10.1080/0265203031000119061.

Brotons, J. A., Olea-Serrano, M. F., Villalobos, M., Pedraza, V., & Olea, N. (1995). Xenostrogens released from lacquer coating in food cans. *Environmental Health Perspectives*, 103(6),608-612. Retrieved from <http://ehp.niehs.nih.gov/members/1995/103-6/brotons-full.html>.

Burridge, E. (2003, April). Bisphenol A: product profile. *European Chemical News*, 14(20),17.

Calafat, A. M., Kuklennyik, Z., Reidy, J. A., Caudill, S. P., Ekong, J., & Needham, L. L. (2005). Urinary concentrations of bisphenol A and 4-nonylphenol in a human reference pollution. *Environmental Health Perspectives*, 113(4),431-439. Retrieved from <http://ehp.niehs.nih.gov/members/2004/7534/7534.pdf>.

Casajuana, N., & Lacorte, S. (2004). New methodology for the determination of phthalate esters, bisphenol A, bisphenol A diglycidyl ether, and nonylphenol in commercial whole milk samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(12), 3702-3707. doi: 10.1021/jf040027s.

Coles, R., McDowell, D., & Kirwan, M. (2003). *Food packaging technology* (pp. 1-31). London, U.K.:Blackwell Publishing, CRC Press.

Commission Directive 2004/19/EC (2004, March). Amending Directive 2002/72/EC relating to plastics materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, L17, 8-21. Retrieved from http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/oj/2004/l_071/l_07120040310en00080021.pdf.

Dermer, O., McKelta, J., & Weismantel, G. (1999). *Enciclopedia of Chemical processing and Design* (pp. 406). New York: Marcel Dekker.

Environmental Working Group. (2005). *Body Burden: The Pollution in Newborns*. Retrieved from <http://www.ewg.reports/bodyburden2>.

- European Comision. (2003). 4,4-isopropylidenediphenol (Bisphenol A), CAS No. 80-05-7. *Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection European Chemicals Burea*. Retrieved from http://ecb.jrc.it/DOCUMENTS/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/SUMMARY/bisphenolasum325.pdf.
- Favole, J. A. (2009). FDA to Revisit Decision on Safety of BPA. *The Wall Street Journal*. Retrieved from <http://online.wsj.com/article/SB12440528624868191.html#articleTabs%3Dcomments>.
- FDA. (1996). *Cumulative Exposure Estimated for Bisphenol A (BPA), Individually for Adults and Infants from Its Use in Epoxy-Based Can Coatings and Polycarbonate (PC)*. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration.
- FDA. (2006). *Code of Federal Regulations, Title 21*. Retrieved from <http://www.gpoaccess.gov/cfr/index.html>.
- García-Prieto, A., Lunar, L., Rubio, S., & Perez-Bendito, D. (2008). Decanoic acid reverse micelle-based coacervates for the microextraction of bisphenol A from canned vegetables and fruits. *Analytica Chimica Acta*, 617, 51-58. doi: 10.1016/j.aca.2008.01.061.
- González, M. (2006). *Determinación de la migración de monómeros y aditivos plásticos en envases alimentarios* (Disertación de tesis de maestría publicada). Depto. De Nutrición y Bromatología, Universidad de Granada, España.
- Goodson, A., Summerfield, W., & Cooper, I. (2002). Survey of bisphenol A and bisphenol F in canned foods. *Food Additives and Contaminants*, 19(8),796-802.
- Goodson, A., Robin, H., Summerfield, W., & Cooper, I. (2004). Migration of bisphenol a from can coatings effects of damage, storage conditions and heating. *Food Additives and Contaminants*, 21(12), 1015-26. doi: 10.1080/02652030400011387.
- Herbst, L., Ulfelder, H., & Poskanzer, D. C. (1971). Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. *New England Journal of Medicine*, 284 (15), 878-81.
- Hinterthuer, A. (2008, September). How Harmful Are Bisphenol-A Plastics? . *Scientific*

American Magazine. Retrieved from <http://scientificamerican.com/article.cfm?id=just-how-harmful-are-bisphenol-a-plastics>.

- Hotchkiss, J. (1997). Food-packaging interactions influencing quality and safety. *Food Additives and Contaminants*, 14(6-7), 601–7.
- Hun Kang, J., & Kondo, F. (2002). Determination of bisphenol A in canned pet foods. *Research in Veterinary Science*, 73, 177-182. doi:10.1016/S0034-5288(02)00102-9.
- Inoue, K., Yamaguchi, A., Wada, M., Yoshimura, Y., Makino, T., & Nakazaw, H. (2001). Quantitative detection of bisphenol A and bisphenol A diglycidyl ether metabolites in human plasma by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 765(2), 121-6. doi:10.1016/S0378-4347(01)00393-0.
- Institute of Food Technologists (IFT).(1988). Migration of toxicants, flavors, and odor active substances from flexible packaging materials to food (IFT scientific status summary). *Food Technology*, 42(7), 95–102.
- International Food Information Council Foundation. (2008, October). *Food safety & defense, Question and Answer: Bisphenol A*. Retrieved from http://www.ific.org/publications/qa/upload/Update-Q-A-on-Bisphenol-A_10-20-08.pdf.
- ICIS Chemical Business (1999, October) Bisphenol A (BPA). *European Chemical News*,18-24, 22.
- Kang, J. H., & Kondo, F. (2002). Bisphenol A migration from cans containing coffee and caffeine. *Food Additives and Contaminants*, 19(9),886-90.
- Kang, J. H., Kito, K., & Kondo, F. (2003). Factors influencing the migration of bisphenol A from cans. *Journal of Food Protection*, 66(8),1444-7.
- Kang, J. H., Kondo, F., & Katayama, Y. (2006). Importance of control of enzymatic degradation for determination of bisphenol A from fruits and vegetables. *Analytica Chimica Acta*, 555,114-117. doi:10.1016/j.aca.2005.08.050.
- Krishnan, A. V., Stathis, P., Permuth, S. F., Tokes, L., & Feldman, D. (1993). Bisphenol A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinology*, 132, 2279-2286. doi:10.1210/en.132.6.22.

- Kuchment, A. (2008, January 14). The Baby Bottle Blues. *Newsweek*. Retrieved from <http://www.newsweek.com/id/84533>.
- Maragou, N. C., Lampi, E. N., Thomaidis, N. S., & Koupparis, M. A. (2006) Determination of bisphenol A milk by solid phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1129(6),165-173. doi:10.1016/j.chroma.2006.06.103.
- Markey, C., Michaelson, C., Sonnenschein, C., Soto, A. (2001). Alkylphenols and bisphenol A as environmental estrogens. In M. Metzler (Eds.), *The Handbook of Environmental Chemistry*. (Part L, Endocrine Disruptors—Part I, Vol. 3, pp. 129-153). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Markey, C. M., Luque, E. H., Muñoz de Toro, M., Sonnenschein, C., & Soto, A. (2001). In utero exposure to bisphenol A alters the development and tissue organization of the mouse mammary gland. *Biology of Reproduction*, 65, 1215-1223. Retrieved from <http://www.ourstolenfuture.org/NewScience/human/cancer/2001markeyetal.htm>.
- Masuyama, K. (1994). The amendment of the specification on plastic packages. *Japanese Food & Sanitation Research*, 44, 9-27.
- Munguía-López, E. M., Peralta, E., González-León, A., Vargas-Requena, C. & Soto-Valdéz, H. (2002). Migration of bisphenol A (BPA) from epoxy can coatings to jalapeño peppers and an acid food stimulant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(25), 7299-7302. doi:10.1021/jf0257502.
- Munguía-López, E. M., Gerardo-Lugo, S., Peralta, E., Bolumen, S., & Soto-Valdez, H. (2005). Migration of bisphenol A (BPA) from can coatings into a fatty-food simulant and tuna fish. *Food Additives and Contaminants*, 22(9), 892-898. doi: 10.1080/02652030500163674.
- Muñoz de Toro, M., Markey, C., Perinaaz, R., Luque, E., Rubin, B., Sonnenschein, C., & Soto, A. (2005). Perinatal exposure to bisphenol A alters peripubertal mammary gland development in mice. *Endocrinology*, 146(9),4138-4147. doi:10.1210/en.2005-0340.

- Myers, J. (2007). *Our stolen future: background on BPA: What is it, how is it used and what does science say about exposure risks*. Retrieved from <http://www.ourstolenfuture.org/NewScience/oncompounds/bisphenola/bpauses.htm>.
- National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS). (2006). *Endocrine Disruptors*. Retrieved from <http://www.endocrinedisruption.com/endocrine.bisphenol.overview.php>.
- National Toxicology Program. (1985, May). NTP, "Bisphenol A: reproduction and fertility assessment in CD-1 mice when administered in the feed". *Chemical Marketing Reporter*, 227, 9.
- Olea, N., Pulgar, R., Pérez, P., Olea-Serrano, F., Rivas, A., Novillo-Fertrell, A., Pedraxe, V., Soto, A.M., & Sonnenshein, C. (1996). Estrogenicity of resin based composites and sealants used in dentistry. *Environmental Health Perspectives*, 104(3), 298-305. Retrieved from <http://ehp.niehs.nih.gov/docs/1996/104-3/oleaabs.html>.
- Rivas, A., Lacroix, M., Olea-Serrano, F., Laios, I., Leclercq, G., & Olea, N. (2002). Estrogenic effect of a series of bisphenol analogues on gene and protein expression in MCF-7 breast cancer cells. *Journal of Steroid Biochemical and Molecular Biology*, 82(1), 45-53. doi:10.1016/S0960-0760(02)00146-2.
- Scientific Committee on Food (SCF). (1999, March 24). *Opinion on Bisphenol A diglycidyl ether (BADGE)*. European Commission, Brussel. Retrieved from <http://europa.eu.int/comm/dg24health/sc/scf>.
- Simoneau, C., Theobald, A., Hannaert, P., Roncari, P., Roncari, A., Rudolph, T., Anklam, E. (1999). Monitoring of bisphenol-A-diglycidyl-ether(BADGE) in canned fish in oil. *Food Additives Contaminants* 16(50):189-95.
- SRI. (2004, August). *CEH Product Review - Bisphenol A* (pp. 4). SRI Consulting. Retrieved from <http://www.claruscanadian.com/docs/dow.pdf>.
- Staples, C. A., Dome, P. B., Klecka, G. M., OBlock, S. T., & Harris, L. R. (1998). A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*, 36(10), 2149-2173. doi:10.1016/S0045-6535(97)10133-3.

- Sun, C., Leong, L. P., Barlow, P. J., Chan, S. H., & Bloodworth, B. C. (2006). Single laboratory validation of a method for the determination of bisphenol A, bisphenol A diglycidil ether and its derivatives in canned foods by reversed-phased liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 1129(1), 145-148. doi:10.1016/j.chroma.2006.08.018.
- Susiarjo, M., Hassold, T., Freeman, E., Hunt, P. (2007). Bisphenol A exposure in utero disrupts early oogenesis in the mouse. *PLOS Genetics*, 3(1),63-70. doi:10.1371/journal.pgen.0030005.
- Takao, Y., Lee, H. C., Kohra, S., & Arizono, K. (2002). Release of bisphenol A from food can lining upon heating. *Journal of Health Sciences*, 48, 331-334.
- Takeuchi, T., Tsutsumi, O., Ikezuki, Y., Takai, Y., Taketani, Y. (2004). Positive relationship between androgen and the endocrine disruptor, bisphenol A, in normal women and women with ovarian dysfunction. *Endocrine Journal*, 51(2),165-9. Retrieved from http://www.jstage.jst.go.jp/article/endocrj/51/2/165/_pdf.
- Tehrany, E. A., & Desobry, S. (2004). Partition coefficient in food/packaging systems: a review. *Food Additives and Contaminants*, 21(12),1186–202. doi: 10.1080/02652030400019380.
- Thomson, B. M., & Grounds, P. R.(2005). Bisphenol A in canned foods in New Zealand: an exposure assessment. *Food Additives and Contaminants*, 22(1),65-72. doi: 10.1080/02652030400027920.
- Voiland, A. (2007, August 8). *How to avoid a controversial plastics Chemicals*. US News & World Report. Retrieved from <http://health.usnews.com/usnews/health/articles/070808/8bisphenola.htm>.
- vom Saal, F., & Hughes, C. (2005). An extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol A shows the need for a new risk assessment. *Environmental Health Perspectives*,113(8), 926-933. Retrieved from <http://ehp.niehs.nih.gov/docs/2005/113-8/toc.html>.
- Watson, C. S., Bulayeva, N. N., Wozniak, A. L., & Finnerty, C. C. (2005). Signaling from the membrane via membrane estrogen receptor-alpha: estrogens, xenoestrogens, and phytoestrogens. *Steroids*, 70, 364-371. doi:10.1016/j.steroids.2005.03.002.

- Whelson, W. V., Nagel, S. C., & vom Saal, F. S. (2006). Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanism mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure. *Endocrinology*, 147(6),56-69. doi:10.1210/en.2005-1159.
- World Health Organization. (2003). Expert Report on Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. FAO/WHO, WHO Technical report series, 916. Geneva: World Health Organization, Geneva.
- Wilson, N. K., Chuang, J. C., Lyu, C., Menton, R., & Morgan, M. K. (2003). Aggregate exposures of nine preschool children to persistent organic pollutants at day care and at home. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, 13, 187–202. doi:10.1038/sj.jea.7500270.
- Wilson, N. K., Chuang, J. C., Morgan, M. K., Lordo, R. A., & Sheldon, L. S. (2007). An observational study of the potential exposures of preschool children to pentachlorophenol, bisphenol-A, and nonylphenol at home and daycare. *Environmental Research*, 103(1), 9-20. doi:10.1016/j.envres.2006.04.006.
- Wozniak, A. L., Bulayeva, N. N., Watson, C. S. (2005). Xenoestrogens at picomolar to nanomolar concentrations trigger membrane estrogen receptor-alpha-mediated Ca²⁺ fluxes and prolactin release in GH3/B6 pituitary tumor cells. *Environmental Health Perspectives*, 113(4), 431-439. Retrieved from <http://ehp.niehs.nih.gov/docs/2005/7505/abstract.html>.
- Xu-Liang, C., Corriveau, J. & Popovic, S. (2009). Levels of bisphenol A in canned soft drink products in Canadian Markets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(4), 1307-1311. doi: 10.1021/jf803213g.
- Ye, X., Kuklennyik, Z., Needham, L. L., & Calafat, A. M..(2006). Measuring environmental phenols and chlorinated organic chemicals in breast milk using automated on-line column-switching-high performance liquid chromatography - isotope dilution tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B:Biomedical Sciences and Applications*, 831,110-115. doi:10.1016/j.jchromb.2005.11.050.
- Yoshida, T., Horie, M., Hoshino, Y., & Nakazawa, H. (2001). Determination of bisphenol a in canned vegetables and fruit by high performance liquid chromatography. *Food Additives and Contaminants*,18(1), 69-75.

TABLAS

Tabla 1

Curva de Calibración

Concentración (µg/mL):	Área	Promedio
0.000005	6.707	6.715
	6.713	
	6.725	
0.00001	13.401	13.408
	13.413	
	13.411	
0.00005	66.741	66.744
	66.747	
	66.745	
0.0001	49.998	49.970
	49.959	
	49.952	
0.0005	260.148	260.154
	260.015	
	260.299	
0.001	529.865	530.049
	530.591	
	529.690	
0.003	1486.688	1480.102
	1479.195	
	1474.424	
0.005	2460.057	2461.691
	2460.834	
	2464.182	
0.008	4033.462	4025.554
	4017.034	
	4026.165	
0.01	4749.901	4745.254
	4746.988	
	4738.874	

Tabla 2

Linealidad de la curva de calibrado del bisfenol A

Producto	Ecuación de la recta	R²	R
Bisfenol A	$Y = 483513X + 26.325$	0.9988	0.9994

Tabla 3

Prueba de recuperación y validez del método utilizado

Producto: Habichuelas tiernas

Resultados de la extracción de BPA y porcentaje de recuperación

Muestra + 0.001µg/mL de BPA Estándar	Muestra sin Estándar
Muestra (1) + 1 mL (0.001µg/mL)	Muestra (1)
496.589	47.542
496.742	47.801
496.611	47.598
Promedio:	47.647
% Recuperación = (0.00097272/0.001) x 100 = 97.27% % Bisfenol A = 0.00004410 %	
Muestra (2) + 1 mL (0.001µg/mL)	Muestra (2)
491.032	46.881
491.011	47.053
491.121	47.944
Promedio:	47.293
% Recuperación = (0.00096115/0.001) x 100 = 96.12% % Bisfenol A = 0.00004337 %	
Muestra (3) + 1 mL (0.001µg/mL)	Muestra (3)
494.210	47.996
494.001	47.985
494.453	47.942
Promedio:	47.974
% Recuperación = (0.00096770/0.001) x 100 = 96.77% % Bisfenol A = 0.00004477 %	
n=3	n=3
pH de la Muestra	
4.74	
4.74	
4.75	
Promedio:	4.74

Tabla 4

Resultados del análisis de las habichuelas tiernas

Muestra 1 Marca: Bohío	Muestra 2 Marca: Del Monte	Muestra 3 Marca: Green Giant
Área	Área	Área
147.614	149.569	445.869
147.789	149.012	446.121
147.671	149.999	445.965
Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas
147.691	149.527	445.985
% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado
0.00025101	0.00025481	0.00086794
pH	pH	pH
4.74	4.77	4.72
4.74	4.78	4.71
4.75	4.47	4.71
pH promedio	pH promedio	pH promedio
4.74	4.77	4.71

% Bisfenol A Recuperado (µg/mL); n=3 por marca

Tabla 5

Resultados del análisis de las muestras de maíz

Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Marca: Bohío	Marca: Del Monte	Marca: Green Giant
Área	Área	Área
44963.214	38469.657	35998.915
44963.225	38469.872	35998.854
44963.241	38469.584	35998.954
Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas
44963.227	38469.704	35998.908
% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado
0.09293835	0.07950847	0.07439838
pH	pH	pH
4.510	4.65	4.52
4.500	4.63	4.52
4.500	4.64	4.52
pH promedio	pH promedio	pH promedio
4.50	4.64	4.52

% Bisfenol A Recuperado (µg/mL); n=3 por marca

Tabla 6

Resultados del análisis de las muestras de vegetales mixtos

Muestra 1 Marca: Bohío	Muestra 2 Marca: Del Monte	Muestra 3 Marca: Green Giant
Área	Área	Área
54359.592	42684.102	43698.321
54359.258	42684.095	43698.365
54359.578	42684.111	43698.362
Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas
54359.476	42684.103	43698.349
% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado
0.11237164	0.08822468	0.09032234
pH	pH	pH
4.58	4.62	4.61
4.57	4.63	4.60
4.57	4.62	4.60
pH promedio	pH promedio	pH promedio
4.57	4.60	4.60

% Bisfenol A Recuperado (µg/mL); n=3 por marca

Tabla 7

Resultados del análisis de las muestras de guisantes

Muestra 1 Marca: Bohío	Muestra 2 Marca: Del Monte	Muestra 3 Marca: Green Giant
Área	Área	Área
66896.958	76758.968	62888.365
66897.054	76758.966	62888.547
66896.985	76758.978	62888.524
Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas
66896.999	76758.971	62888.479
% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado
0.13830171	0.15869821	0.13001130
pH	pH	pH
4.72	4.61	4.72
4.72	4.61	4.71
4.71	4.61	4.71
pH promedio	pH promedio	pH promedio
4.72	4.61	4.71

% Bisfenol A Recuperado (µg/mL); n=3 por marca

Tabla 8

Resultados del análisis de las muestras de melocotón

Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Marca: Del Monte	Marca: Goya	Marca: Libby's
Área	Área	Área
33367.926	22589.999	44995.630
33367.958	22589.982	44995.583
33367.962	22589.974	44996.001
Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas
33367.949	22589.985	44995.738
% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado
0.06895704	0.04666609	0.09300559
pH	pH	pH
5.00	5.12	4.82
5.01	5.11	4.81
5.01	5.12	4.81
pH promedio	pH promedio	pH promedio
5.01	5.12	4.81

% Bisfenol A Recuperado (µg/mL); n=3 por marca

Tabla 9

Resultados del análisis de las muestras de peras

Muestra 1 Marca: Del Monte	Muestra 2 Marca: Goya	Muestra 3 Marca: Libby's
Área	Área	Área
32231.432	34705.871	32427.006
32230.995	34705.858	32426.983
32231.021	34705.797	32426.997
Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas
32231.149	34705.842	32426.995
% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado
0.06660591	0.07172406	0.06701096
pH	pH	pH
5.51	4.92	5.25
5.51	4.92	5.22
5.50	4.92	5.24
pH promedio	pH promedio	pH promedio
5.51	4.92	5.24

% Bisfenol A Recuperado (µg/mL); n=3 por marca

Tabla 10

Resultados del análisis de las muestras de ensalada de frutas

Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Marca: Del Monte	Marca: Goya	Marca: Libby's
Área	Área	Área
34680.692	46429.929	43709.998
34680.675	46429.788	43710.034
34680.669	46429.803	43710.025
Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas
34680.679	46429.840	43710.019
% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado
0.07167202	0.09597160	0.09034647
pH	pH	pH
5.02	4.88	4.94
5.02	4.87	4.91
5.02	4.88	4.93
pH promedio	pH promedio	pH promedio
5.02	4.88	4.93

% Bisfenol A Recuperado (µg/mL); n=3 por marca

Tabla 11

Resultados del análisis de las muestras de piña

Muestra 1 Marca: Del Monte	Muestra 2 Marca: Goya	Muestra 3 Marca: Libby's
Área	Área	Área
48999.937	39361.053	49987.128
48999.959	39360.996	49986.956
48999.936	39360.041	49987.098
Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas	Promedio de las Áreas
48999.944	39360.697	49987.061
% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado	% Bisfenol A Recuperado
0.10128708	0.08135122	0.10332863
pH	pH	pH
5.32	5.75	5.00
5.32	5.75	5.00
5.30	5.76	5.00
pH promedio	pH promedio	pH promedio
5.31	5.75	5.00

% Bisfenol A Recuperado (µg/mL); n=3 por marca

Tabla 12

Concentración vs pH en las muestras de vegetales

<i>Marca del Producto</i>	<i>Habichuelas Tiernas (µg/ml)</i>	<i>pH</i>
Del Monte	0.00025	4.77
Bohío	0.00025	4.74
Green Giant	0.00087	4.71
<i>Marca del Producto</i>	<i>Maíz (µg/ml)</i>	<i>pH</i>
Del Monte	0.07951	4.64
Bohío	0.09294	4.50
Green Giant	0.07439	4.52
<i>Marca del Producto</i>	<i>Vegetales Mixtos (µg/ml)</i>	<i>pH</i>
Del Monte	0.08822	4.60
Bohío	0.11237	4.57
Green Giant	0.09032	4.60
<i>Marca del Producto</i>	<i>Guisantes (µg/ml)</i>	<i>pH</i>
Del Monte	0.15869	4.61
Bohío	0.13830	4.72
Green Giant	0.13001	4.71

n=3, por marca

Tabla 13

Concentración vs pH en las muestras de frutas enlatadas

<i>Marca del Producto</i>	<i>Melocotón (µg/ml)</i>	<i>pH</i>
Del Monte	0.06896	5.01
Goya	0.04667	5.12
Libby's	0.09301	4.81
<i>Marca del Producto</i>	<i>Peras (µg/ml)</i>	<i>pH</i>
Del Monte	0.06661	5.51
Goya	0.07172	4.92
Libby's	0.06701	5.24
<i>Marca del Producto</i>	<i>Ensalada de Frutas (µg/ml)</i>	<i>pH</i>
Del Monte	0.07167	5.02
Goya	0.09597	4.88
Libby's	0.09035	4.93
<i>Marca del Producto</i>	<i>Piña (µg/ml)</i>	<i>pH</i>
Del Monte	0.10129	5.31
Goya	0.08135	5.75
Libby's	0.10333	5.00

n=3, por marca

Tabla 14

Concentración de BPA en muestras de vegetales que fueron expuestas a 110°C por 30 minutos y las que se mantuvieron a temperatura ambiente (TA)

<i>Marca del Producto</i>	<i>Habichuelas Tiernas (µg/ml) a 110°C</i>	<i>Habichuelas Tiernas (µg/ml)(TA)</i>
Del Monte	0.00028	0.00025
Bohío	0.00005	0.00005
Green Giant	0.00091	0.00087
<i>Marca del Producto</i>	<i>Maíz (µg/ml) a 110°C</i>	<i>Maíz (µg/ml)</i>
Del Monte	0.08001	0.07951
Bohío	0.09387	0.09294
Green Giant	0.07493	0.07439

n=3, por marca

Tabla 15

Concentración de BPA en las muestras de frutas que fueron expuestas a 110°C por 30 minutos y las que se mantuvieron a temperatura ambiente (TA)

<i>Marca del Producto</i>	<i>Melocotón (µg/ml) a 110°C</i>	<i>Melocotón (µg/ml)(TA)</i>
Del Monte	0.07032	0.06896
Goya	0.05098	0.04667
Libby's	0.09642	0.09301

<i>Marca del Producto</i>	<i>Peras (µg/ml) a 110°C</i>	<i>Peras (µg/ml)</i>
Del Monte	0.06689	0.06661
Goya	0.07314	0.07172
Libby's	0.06746	0.06701

n=3, por marca

Tabla 16
Niveles de BPA en la muestras de vegetales

<i>Marca del Producto</i>	<i>Habichuelas Tiernas (mg/kg)</i>
Del Monte	0.000050
Bohío	0.000010
Green Giant	0.000174
Promedio:	0.000078
<i>Marca del Producto</i>	<i>Maíz (mg/kg)</i>
Del Monte	0.015902
Bohío	0.018588
Green Giant	0.014878
Promedio:	0.016456
<i>Marca del Producto</i>	<i>Vegetales Mixtos (mg/kg)</i>
Del Monte	0.017645
Bohío	0.022474
Green Giant	0.018064
Promedio:	0.019394
<i>Marca del Producto</i>	<i>Guisantes (mg/kg)</i>
Del Monte	0.031738
Bohío	0.027660
Green Giant	0.026002
Promedio:	0.028467

n=3, por marca

Tabla 17

Niveles de BPA en la muestras de frutas enlatadas

<i>Marca del Producto</i>	<i>Melocotón (mg/kg)</i>
Del Monte	0.013792
Goya	0.009334
Libby's	0.018602
Promedio:	0.013909
<i>Marca del Producto</i>	<i>Peras (mg/kg)</i>
Del Monte	0.013322
Goya	0.014344
Libby's	0.013402
Promedio:	0.013689
<i>Marca del Producto</i>	<i>Ensalada de Frutas (mg/kg)</i>
Del Monte	0.014334
Goya	0.019194
Libby's	0.018070
Promedio:	0.017199
<i>Marca del Producto</i>	<i>Piña (mg/kg)</i>
Del Monte	0.020258
Goya	0.016270
Libby's	0.022666
Promedio:	0.019731

n=3, por marca

Tabla 18

Niveles de BPA obtenidos vs Fechas de Expiración en muestras de vegetales

<i>Marca del Producto</i>	<i>Habichuelas Tiernas (mg/kg)</i>	<i>Fecha de Expiración</i>
Del Monte	0.000050	09/17/2011
Bohío	0.000010	09/2011
Green Giant	0.000174	07/29/2012
<i>Marca del Producto</i>	<i>Maíz (mg/kg)</i>	<i>Fecha de Expiración</i>
Del Monte	0.015902	08/17/2012
Bohío	0.018588	07/2011
Green Giant	0.014878	09/10/2011
<i>Marca del Producto</i>	<i>Vegetales Mixtos (mg/kg)</i>	<i>Fecha de Expiración</i>
Del Monte	0.017645	08/25/2012
Bohío	0.022474	04/12
Green Giant	0.018064	11/20/2011
<i>Marca del Producto</i>	<i>Guisantes (mg/kg)</i>	<i>Fecha de Expiración</i>
Del Monte	0.031738	02/02/2012
Bohío	0.027660	02/12
Green Giant	0.026002	07/27/2012

n=3, por marca

Tabla 19

Niveles de BPA obtenidos vs Fechas de Expiración en muestras de frutas

<i>Marca del Producto</i>	<i>Melocotón (mg/kg)</i>	<i>Fecha de Expiración</i>
Del Monte	0.013792	08/07/2011
Goya	0.009334	10/11/2010
Libby's	0.018602	12/2011
<i>Marca del Producto</i>	<i>Peras (mg/kg)</i>	<i>Fecha de Expiración</i>
Del Monte	0.013322	09/11/2010
Goya	0.014344	11/10/2010
Libby's	0.013402	12/2011
<i>Marca del Producto</i>	<i>Ensalada de Frutas (mg/kg)</i>	<i>Fecha de Expiración</i>
Del Monte	0.014334	08/01/2011
Goya	0.019194	10/10/2010
Libby's	0.018070	12/2011
<i>Marca del Producto</i>	<i>Piña (mg/kg)</i>	<i>Fecha de Expiración</i>
Del Monte	0.020258	03/27/2011
Goya	0.016270	10/10/2010
Libby's	0.022666	11/2010

n=3, por marca

FIGURAS

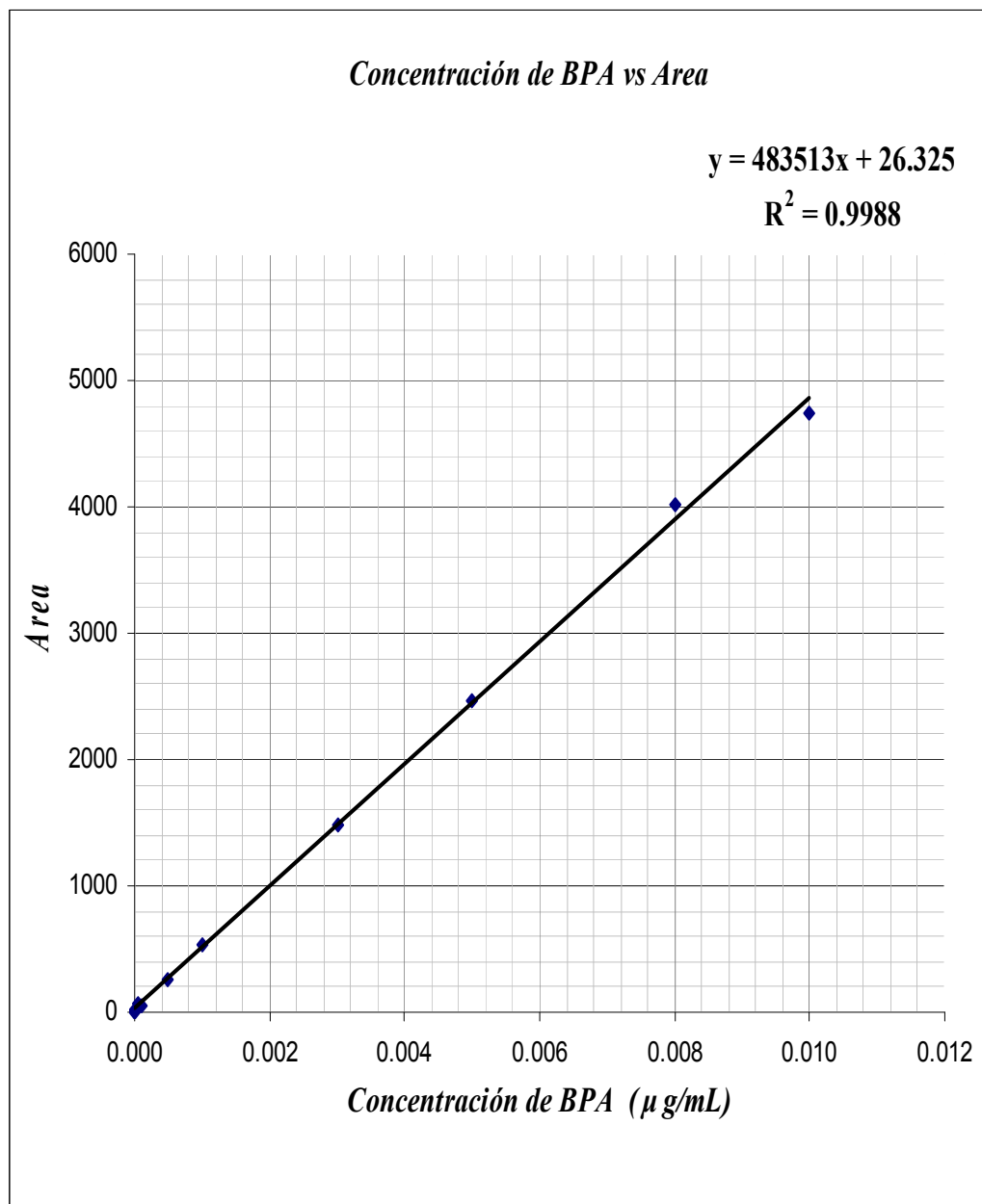


Figura 1. Curva de calibrado del Bisfenol A

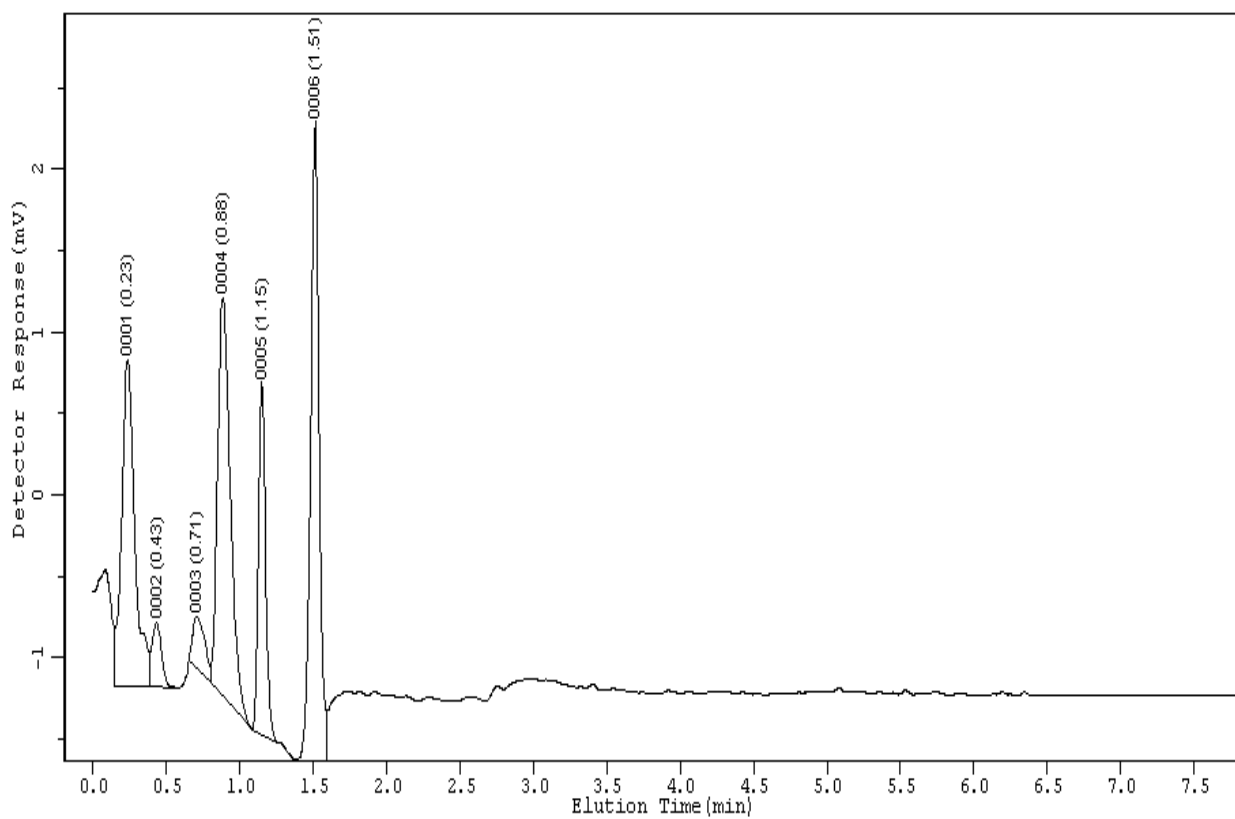


Figura 2. Cromatograma del diluyente acetonitrilo-agua(40/60,v/v)

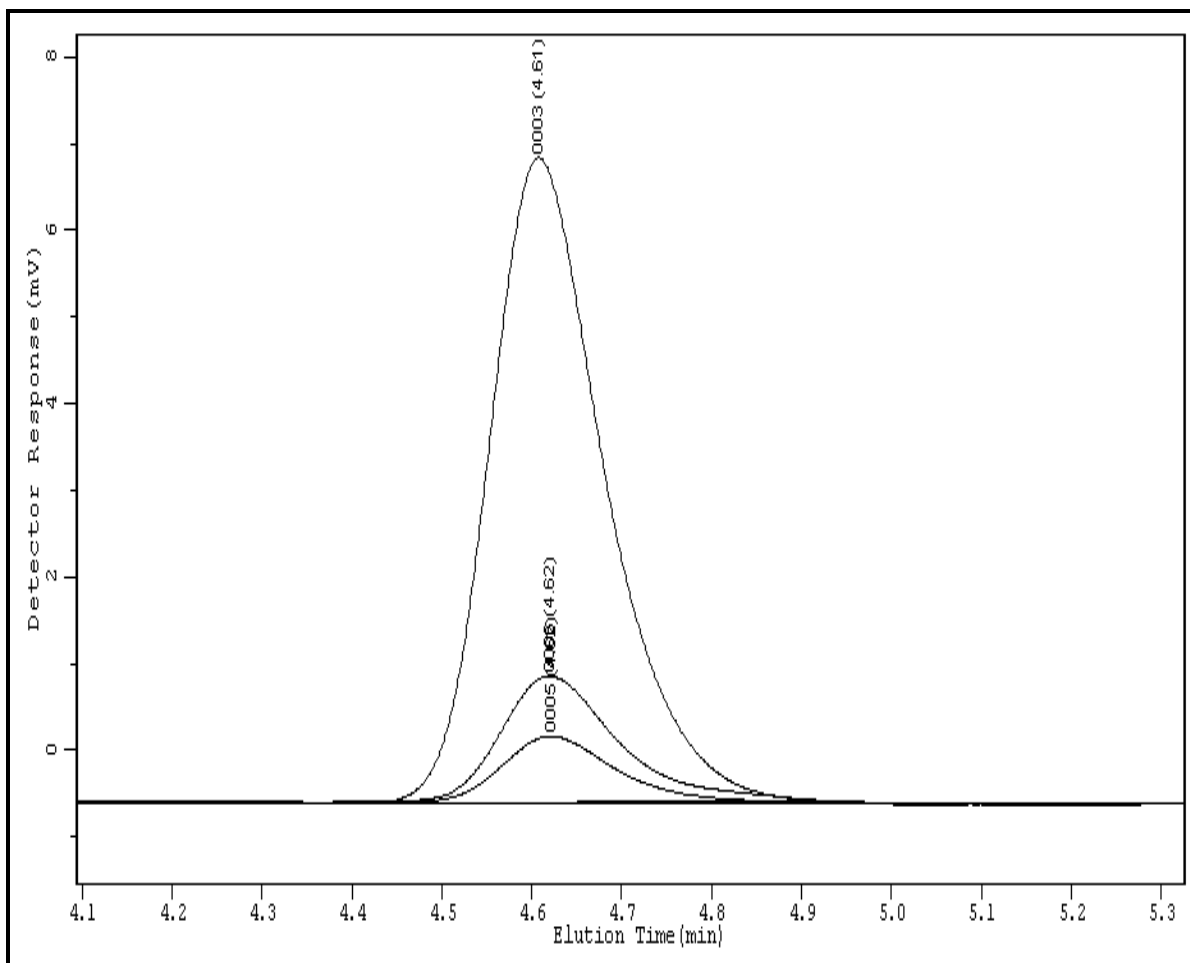


Figura3. Cromatogramas de la curva de calibración de distintas concentraciones de Bisfenol A

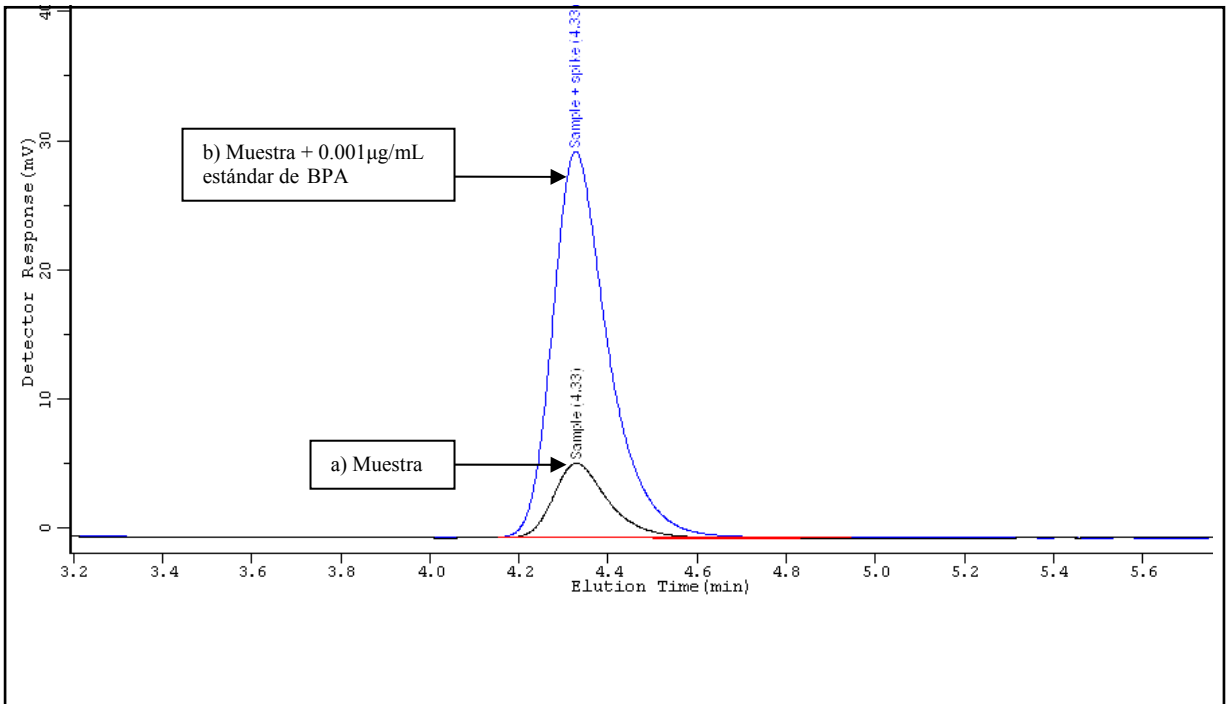


Figura 4. Cromatograma de las habichuelas tiernas (a); Cromatograma de la muestra de habichuelas tiernas más 0.001 µg/mL de estándar de bisfenol A (b).

Concentración de BPA en las Muestras de Vegetales

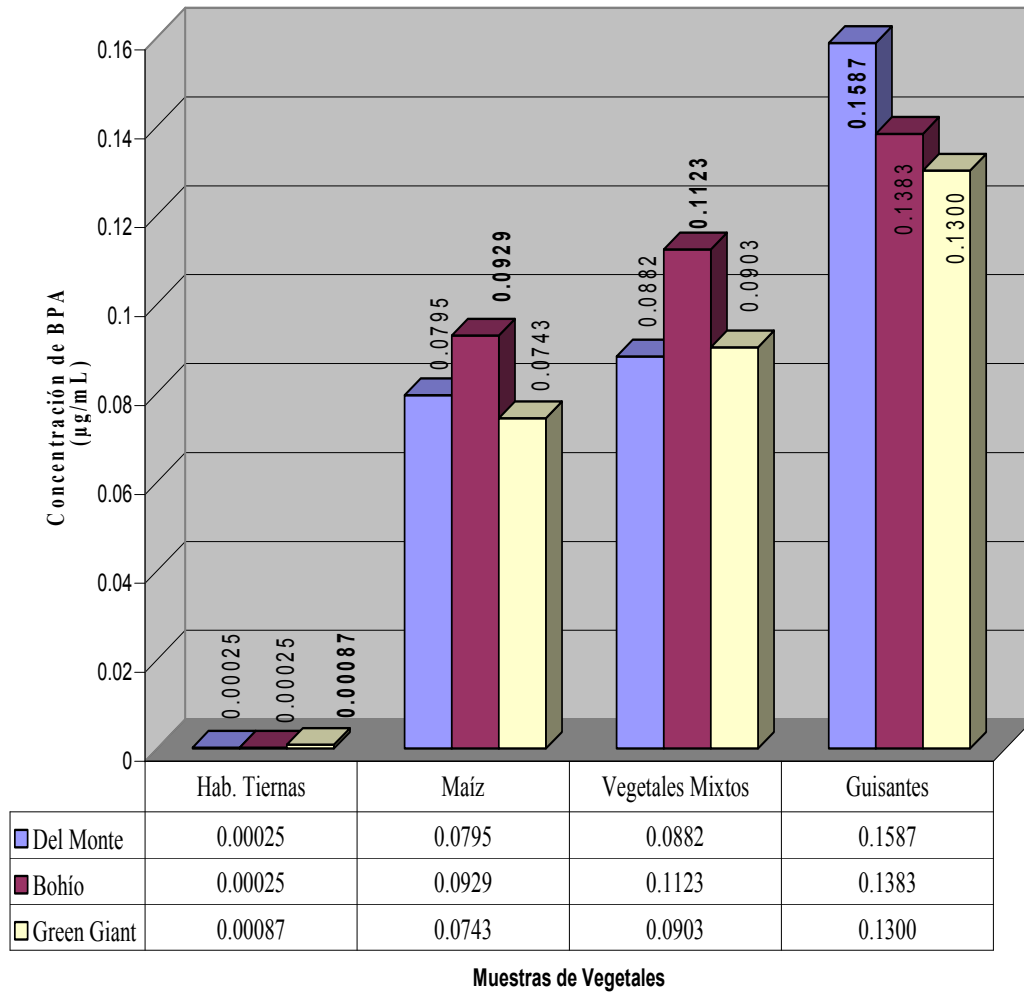


Figura 5. Concentración de BPA ($\mu\text{g/mL}$) en las muestras de vegetales

Concentración de BPA en las Muestras de Vegetales

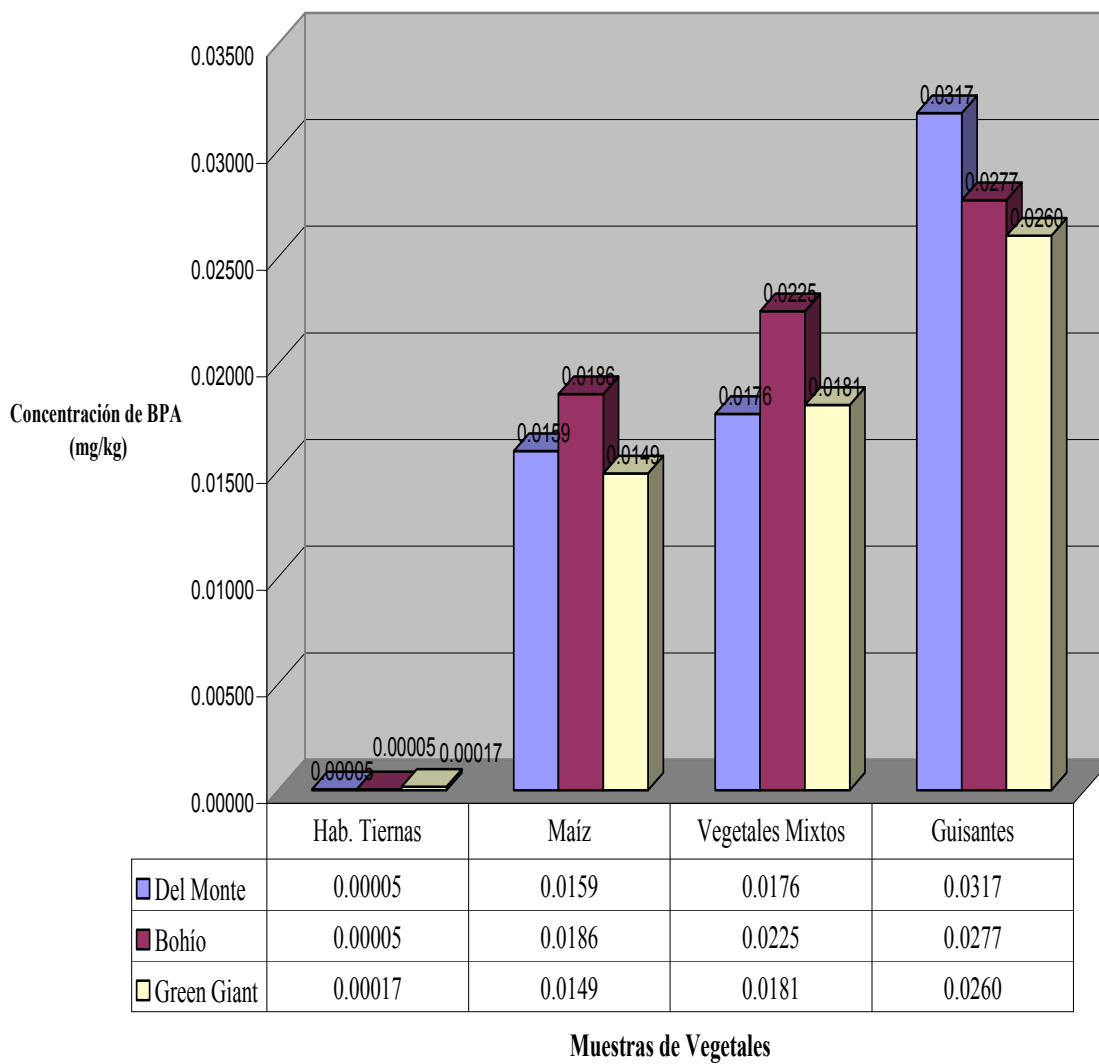


Figura 6. Concentración de BPA (mg/kg) en las muestras de vegetales

Concentración de BPA en las Muestras de Frutas

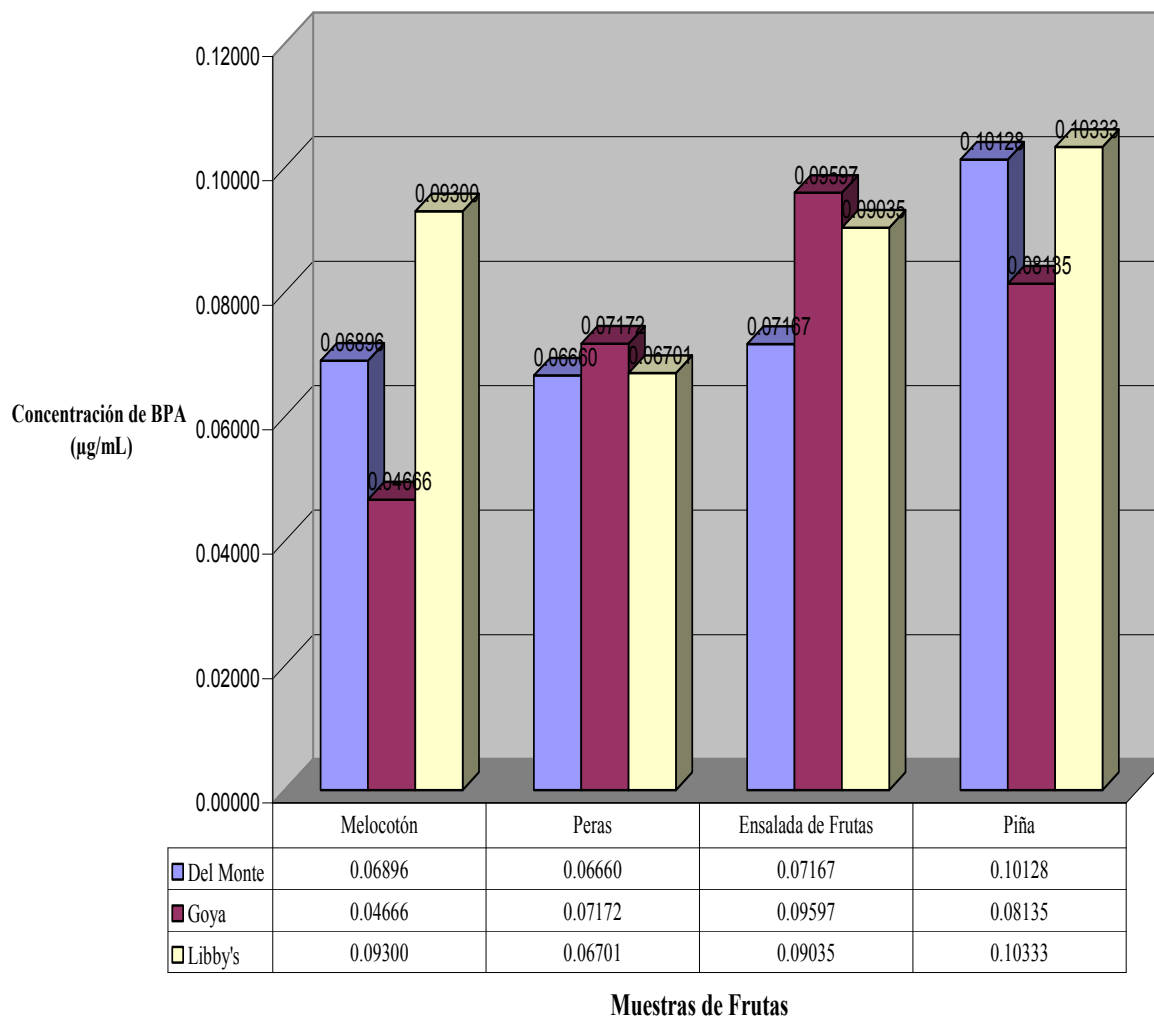


Figura 7. Concentración de BPA ($\mu\text{g/mL}$) en las muestras de frutas

Concentración de BPA en las Muestras de Frutas Enlatadas

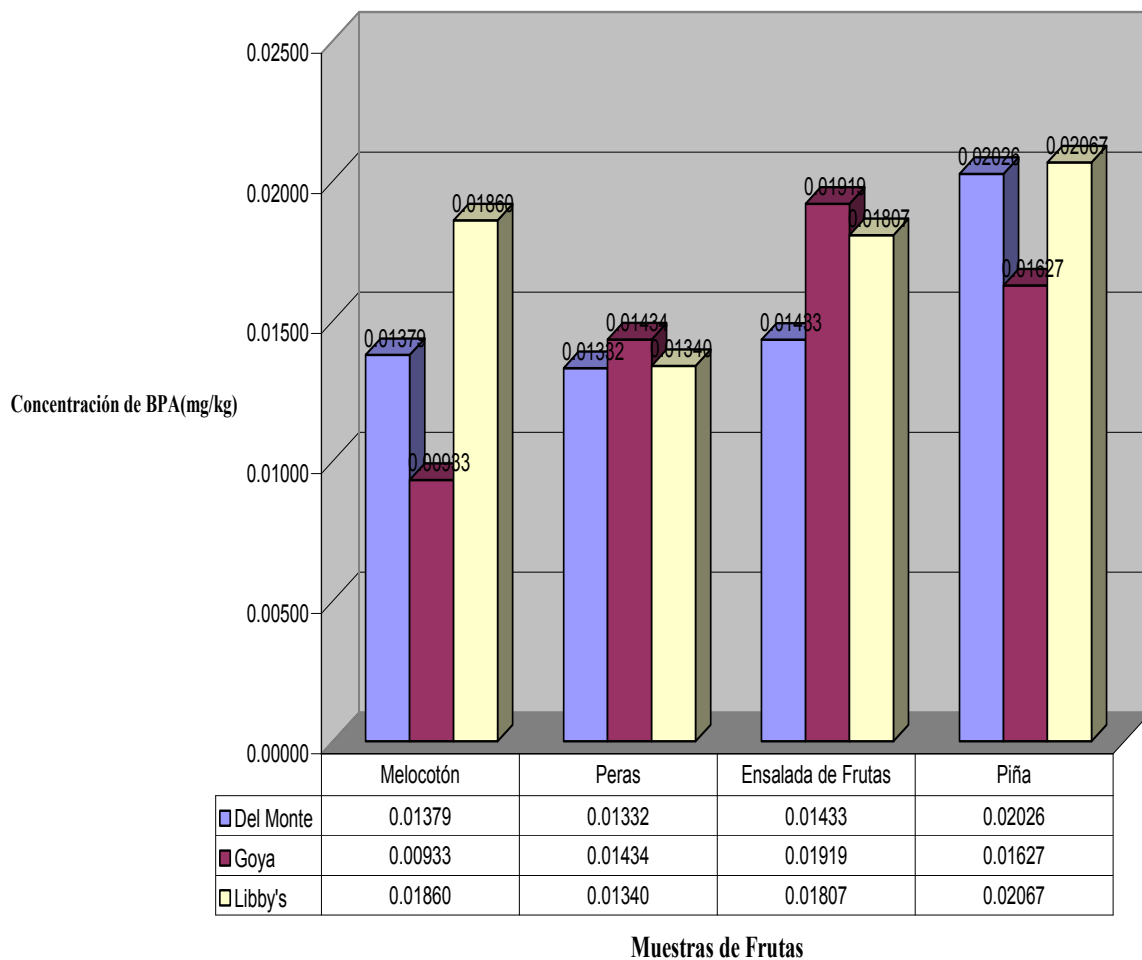


Figura 8. Concentración de BPA (mg/kg) en las muestras de Frutas

Concentración de BPA vs pH

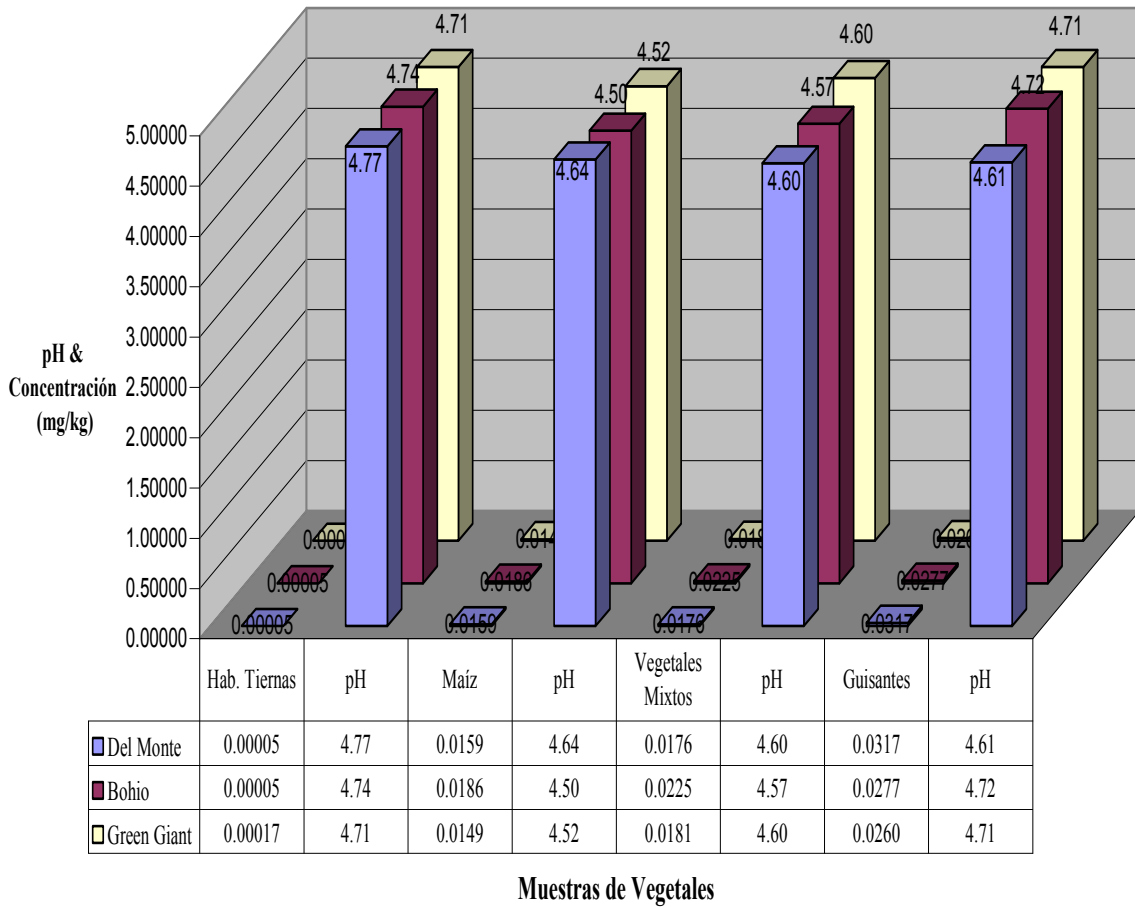


Figura 9. Concentración de BPA vs pH en las muestras de vegetales

Concentración de BPA vs pH en las muestras de frutas

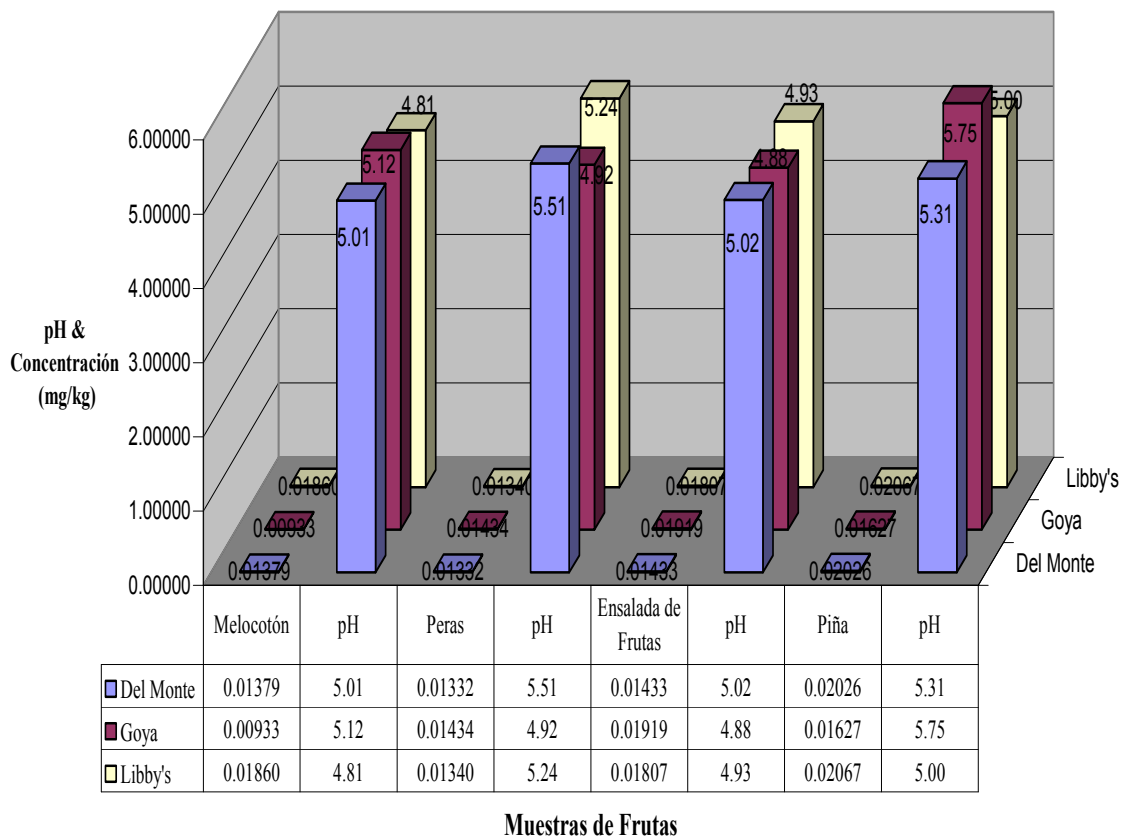


Figura 10. Concentración de BPA vs pH en las muestras de frutas

Efecto de la Temperatura en Vegetales Enlatados

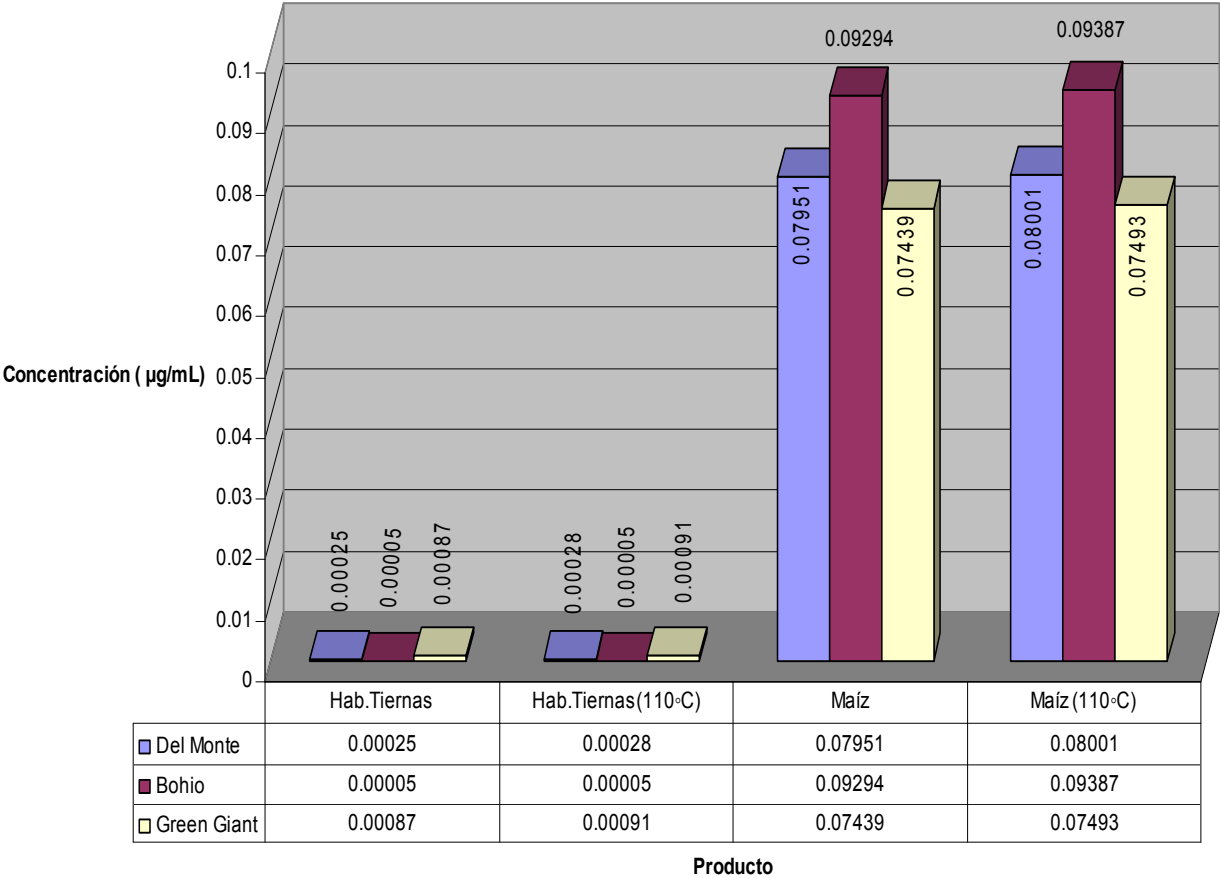


Figura 11. Efecto de la temperatura en vegetales enlatados

Efecto de la Temperatura en las Frutas Enlatadas

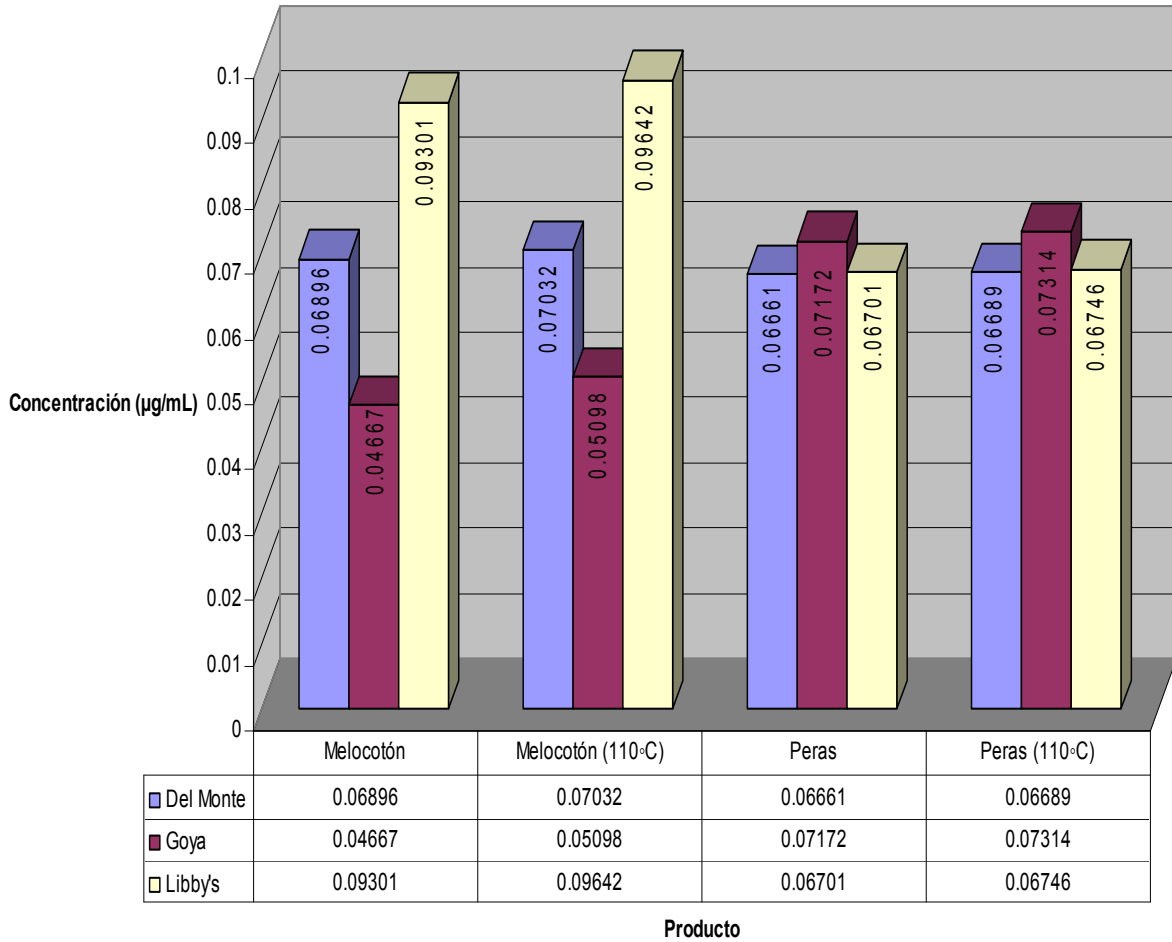


Figura 12 Efecto de la temperatura en las muestras de frutas

Concentración vs pH en vegetales enlatados

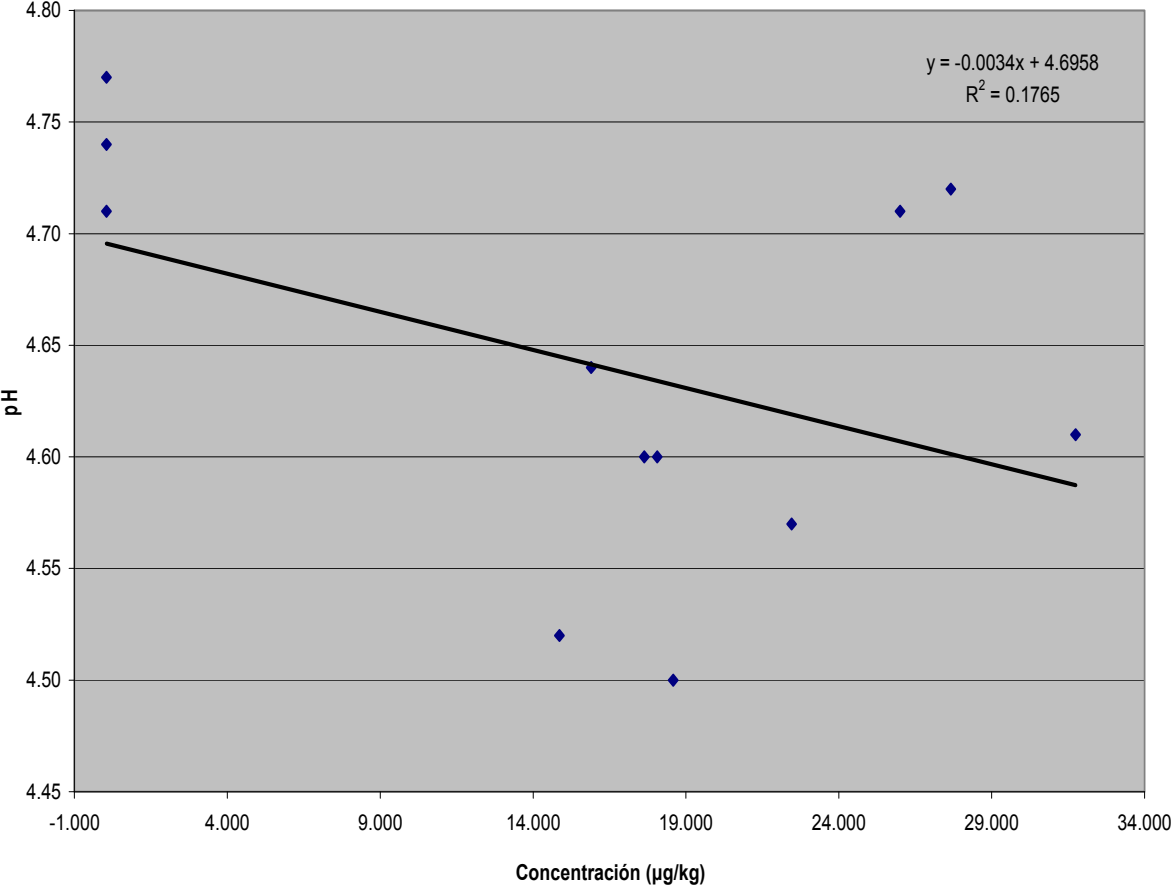


Figura 13 Concentración vs pH en las muestras de vegetales

Concentración vs pH en frutas enlatadas

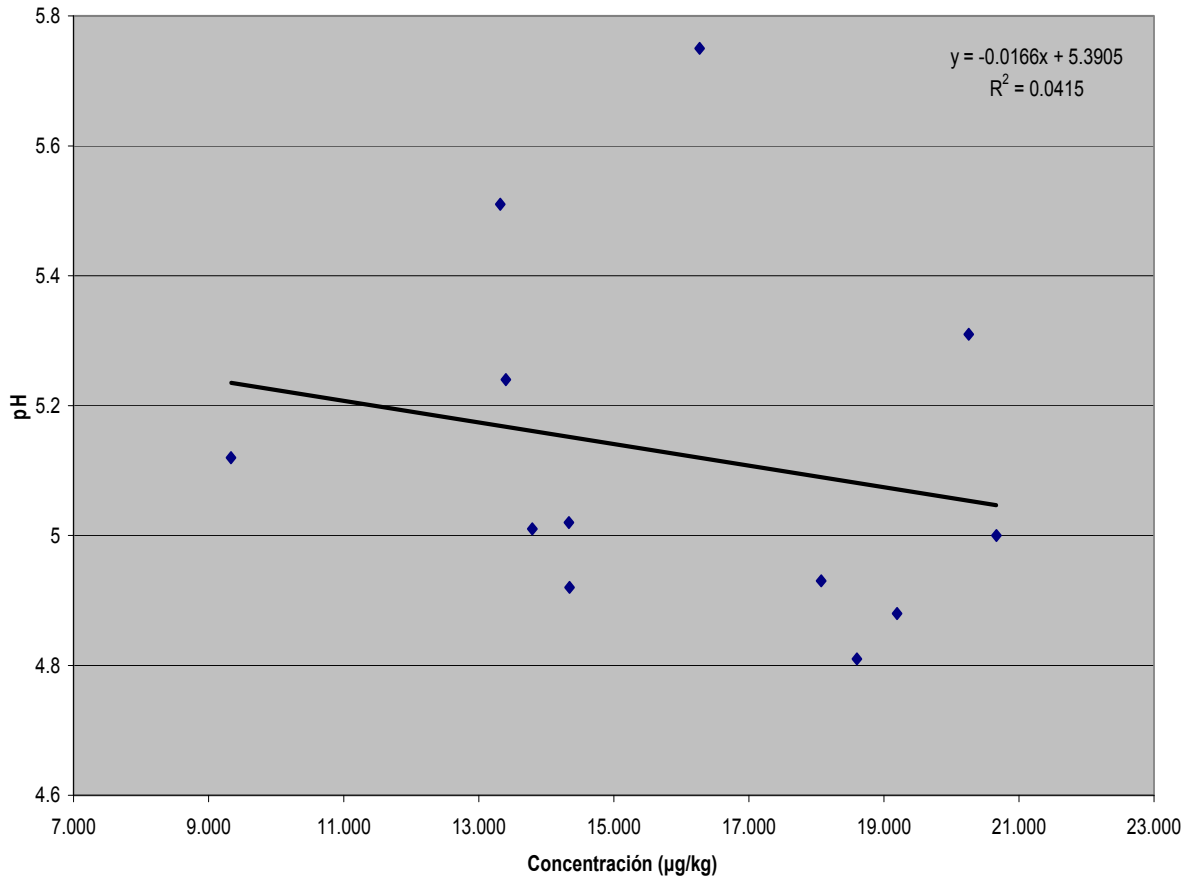


Figura 14 Concentración vs pH en las muestras de frutas