



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**Determinación de Bisfenol - A en aguas contenidas en botellas de
plástico para beber, realizado en la ciudad de Lima- Año-2017.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

Br. GARCÍA GUTIÉRREZ, WENCESLAO ANDRÉS.

Br. PARRAGUEZ VILCHEZ, WALTER NICOLÁS.

ASESOR:

Mg. Q.F. LIZANO GUTIÉRREZ, JESÚS VÍCTOR.

LIMA- PERÚ

2018

DEDICATORIA

A todos nuestros Familiares que nos apoyaron en lograr día a día, nuestros objetivos, especialmente a nuestros Padres, Esposas e Hijos, que nos dieron la fortaleza y la motivación en alcanzar nuestra carrera de Químico Farmacéutico, a pesar de nuestra Edad, fuimos perseverantes en alcanzar una de nuestras metas.

AGRADECIMIENTO

A Dios con él todo es posible, a nuestra Universidad por Formarnos Académicamente, y prepararnos para asumir retos en la vida Profesional. A Todos Nuestros Profesores y especialmente a Nuestro Asesor Mg. Q.F Jesús Víctor Lizano Gutiérrez.

Índice:

Pág.

I. INTRODUCCION	1
1.1.- Planteamiento del problema:	2
1.2. Justificación:	2
1.3.Objetivos:	5
1.3.1. Objetivo general	5
1.3.2. Objetivos específicos	5
II.- GENERALIDADES	5
2.1. Antecedentes Internacionales	5
2.2. El Bisfenol–A (BPA)	9
2.3. Mecanismo de acción y Metabolismo.....	12
2.4. Valores de referencia	12
2.5 .Variables	13
a) Independiente	13
b) Dependientes	13
2.6. Hipótesis. General y Especifica.	13
III. PARTE EXPERIMENTAL	14
3.1. Tipo de investigación:	14
3.2. Muestra:	14
3.3. Selección de la muestra.	14
3.4. Materiales, Equipos y Reactivos:	14
3.4.1. Materiales:	14
3.4.2. Equipos:	15
3.4.3. Reactivos:	15

	Pág.
3.5. Muestras para Análisis	15
3.6. Soluciones Estándar	15
3.7. Condiciones Cromatográficas	16
3.8. Técnicas de muestreo de aguas de Botellas Plásticas	16
3.8.1. La calidad de la muestra. Criterios de inclusión.....	16
3.8.2. La calidad de la muestra. Criterios de exclusión.....	16
3.8.3. De la producción de agua destilada.	17
3.8.4. De la colección de agua para estudio fisicoquímico.	17
3.9. Análisis de datos:	17
IV. RESULTADOS:	18
4.1. Selección de Muestra.....	18
4.2. Cálculo del Límite de Detección	19
4.3. Cromatografía del Estándar de BPA.	21
V. CONCLUSIONES.....	24
VI. DISCUSIÓN.....	25
VII. RECOMENDACIONES.....	29
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
IX. ANEXOS	53

LISTA DE GRÁFICOS

		Pág.
Gráfico 1	¿De las marcas mencionadas cual prefieres?	34
Gráfico 2	¿Qué tipo de agua envasada consumes?	35
Gráfico 3	¿En qué estación del año consumes más agua envasada en botellas de plástico?	36
Gráfico 4	Edad	37
Gráfico 5	Calibración curva	39
Gráfico 6	Datos cromatográficos del BPA en Muestra A	41
Gráfico 7	Datos cromatográficos del BPA en Muestra B	42
Gráfico 8	Datos cromatográficos del BPA en Muestra C	43
Gráfico 9	Analysis Report - STD 10 ppb INY 1	44
Gráfico 10	Analysis Report - STD 15 ppb INY 1	45
Gráfico 11	Analysis Report - STD 20 ppb INY 1	46
Gráfico 12	Analysis Report - STD 25 ppb INY 1	47
Gráfico 13	Analysis Report - STD 50 ppb INY 2	48
Gráfico 14	Analysis Report - Muestra A2 INY1	50
Gráfico 15	Analysis Report - Muestra B1 INY2	51
Gráfico 16	Analysis Report - Muestra C1 INY1	52

LISTA DE TABLAS

		Pág.
Tabla 01	Policarbonatos más utilizados en la fabricación de materiales	10
Tabla 02	Propiedades químicas del Bisfenol-A	11
Tabla 03	Resultado del Límite de Detección (LDD)	20
Tabla 04	Identificación de muestras	21
Tabla 05	Tabla resumen de resultados	23
Tabla 06	¿De las marcas mencionadas cual prefieres?	34
Tabla 07	¿Qué tipo de agua envasada consumes	35
Tabla 08	¿En qué estación del año consumes más agua envasada en botellas de plástico?	36
Tabla 09	Edad.	37
Tabla 10	Estadística de la curva de calibración	38
Tabla 11	Datos cromatográficos del BPA en Muestra A	40
Tabla 12	Datos cromatográficos del BPA en Muestra B.	40
Tabla 13	Datos cromatográficos del BPA en Muestra C	40
Tabla 14	Datos cromatográficos del BPA en Muestra A1.	49
Tabla 15	Datos cromatográficos del BPA en Muestra B1.	49
Tabla 16	Datos cromatográficos del BPA en Muestra C1.	49

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Tabla 01	Símbolos o Códigos de reciclaje de envases plásticos.	8
Tabla 02	Estructura del Bisfenol-A.	11

LISTA DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

Grado Celsius	°C
Milímetro	mm
Milímetro Cubico	m ³
Centímetro	cm
Centímetro Cubico	cm ³
Kilogramo	Kg
Gramo	g
Milígramo	mg
Microgramo	µg
Mililitro	mL
Microlitro	µL
Kilocalorías	Kcal
Gramo mol	gmol
Dirección General de Medicamentos Insumos y drogas	Digemid
Dirección General de salud	Digesa
Bisfenol A	BPA
Parte por Millón	Ppm
Grados Kelvin	K
Policloruro de Vinilo	PVC

Polipropileno	PP
Poliestireno	PS
Polietileno de baja densidad	PEBD
Polietileno de alta densidad	PEAD
Tereftalato de Polietileno	PETE
Bisfenol A Glucoronido	BPA - GLU
Receptores estrogénicos	RE
Agencia Europea de Seguridad Alimentaria	EFSA
Ingesta diaria tolerable	IDT
Por cada día	P c/día
Disruptores Endocrinos	EDCs
Cromatografía Líquida de Alta Performancia	HLPC

RESUMEN

El Bisfenol-A. es una sustancia química que actúa como un disruptor endocrino, que puede causar desequilibrios en el sistema hormonal inclusive en concentración muy bajas.

Este se encuentra en envases plásticos, latas con recubrimientos y botellas de plásticos conteniendo agua mineral, lo que ha despertado nuestra preocupación, ya que actualmente vivimos rodeados por objetos de plásticos que contiene este agente toxico que ocasiona en general daños a la salud de las personas.

Por ello hemos determinado la concentración de Bisfenol A en las aguas contenidas en botellas plásticas, para lo cual se tomaron 30 botellas de tres marcas más consumidas por las personas encuestadas, los envases fueron adquiridos en quioscos y bodegas de Lima. La determinación fue hecha por HPLC en dos fases, la primera sin someter a ningún tipo de estrés y la segunda se tomó sometiendo a exposición de calor (estrés - 37°C x 7 días) las muestras que no se sometieron a estrés presentaron lecturas por debajo del rango establecido por el límite de detección de 7.190 +/- 0.478 ug/L las muestras "A" 1.167 ug/L, "B" 3.015ug/L y "C" 2.507 ug/L de BPA.

En las muestras sometidas a estrés no se pudieron determinar las concentraciones de BPA por el aumento de ruidos o distorsión en el lector de HPLC, por lo que en ningún caso se pudo determinar concentraciones de BPA por encima del límite de detección establecidas por el equipo de HPLC empleado.

Palabras claves: Bisfenol-A, Toxicidad, Sistema Hormonal, Disruptor endocrino.

SUMMARY

Bisphenol-A It is a chemical that acts as an endocrine disruptor, which can cause imbalances in the hormonal system even in very low concentration.

This is in plastic containers, cans with coatings and plastic bottles containing mineral water, which has aroused our concern, as we currently live surrounded by plastic objects containing this toxic agent that generally causes damage to the health of people .

Therefore we have determined the concentration of Bisphenol A in the water contained in plastic bottles, for which 30 bottles of three brands were consumed by the people surveyed, the containers were purchased in kiosks and warehouses in Lima. The determination was made by HPLC in two phases, the first one without undergoing any type of stress and the second one was subjected to heat exposure (stress - 37 ° C x 7 days) the samples that were not subjected to stress presented readings by below the range established by the limit of detection of 7.190 +/- 0.478 ug / L the samples "A" 1,167 ug / L, "B" 3.015ug / L and "C" 2.507 ug / L of BPA.

In the samples subjected to stress, BPA concentrations could not be determined due to the increase in noise or distortion in the HPLC reader, so in no case could BPA concentrations be determined above the limit of detection established by the equipment. HPLC used.

Key Words: Bisphenol-A, Toxicity, Hormonal System, Endocrine Disruptor.

I.- INTRODUCCION

El Bisfenol-A fue sintetizado por primera vez por el químico ruso Aleksander Dianin en 1891, pero hasta principios de 1930 no se conocían sus propiedades estrogénicas.¹⁵

El Bisfenol-A en el 2003 alcanzó una producción de 3,8 millones de toneladas y se ha ido incrementando su producción año a año, el compuesto químico se obtiene de la condensación de dos moléculas de Fenol y una de acetona en presencia de ácido clorhídrico. Este compuesto químico pertenece hoy en día a los grupos de sustancias disruptores endocrinos, se encuentra presente en los plásticos que son usados en recubrimientos de envases de metal, botellas plásticas, copas plásticas, platos, tazas, CD, DVD, papel térmico, dispositivos médicos, lentes de sol, etc.¹⁵

Al revisar los antecedentes, nos encontramos que el Bisfenol-A está presente en nuestra vida cotidiana, y los informes científicos dan cuenta de la asociación del Bisfenol-A con enfermedades como, la diabetes tipo 2, infertilidad, funciones tiroideas, cáncer de mamas, abortos involuntarios síndrome de ovario poliquísticos, disminución de la calidad de espermatozoides, anormalidades en los genitales masculinos, asma en los niños y otros.³¹

La determinación de la presencia de Bisfenol-A en muestras de botellas plásticas es una información que permitiría saber la calidad de plásticos que contienen las aguas embotelladas y saber si estas están transfiriendo cantidades de Bisfenol-A a los consumidores de nuestro país, no hay antecedentes de trabajos en determinación de Bisfenol-A en productos plásticos, la legislación nacional reglamentada por DIGEMID, solo contempla dos normas la **Alerta Sanitaria N° 29 – 2012-DIGEMID¹⁸** y la resolución **N° 016-2017-DIGEMID-DFAU-UFCENAFyT/MINSA²⁰** por tal sentido este trabajo está enfocado en la determinación de la presencia de Bisfenol-A en botellas plásticas.

1. 1.- Planteamiento del problema.

Hoy en día existen numerosas marcas de agua mineral embotelladas en el mercado, por ello es necesario saber cuál es la que mejor que satisface los requisitos naturales que el organismo necesita.

El agua embotellada tiene cada día más aceptación frente al agua natural sacada del grifo o hervida. Básicamente podemos justificar este cambio de hábitos de los consumidores por la desconfianza que genera el agua potable que proviene de los grifos.¹

Los Bisfenoles son contaminantes que se encuentran en diferentes recipientes y contenedores producidos a base de plásticos donde se almacena productos alimenticios. Determinar la presencia de esta sustancia química, ayudaría a la prevención de enfermedades en las personas que consumen estos líquidos.^{1, 2.}

1.2.- Justificación.

El agua es de vital importancia, ya que es un componente esencial del organismo, donde se realizan todos los procesos bioquímicos que nos permiten mantener la vida. La necesidad de agua por parte de nuestro organismo es constante, por lo cual debe ser vigilada, especialmente en los meses más calurosos del año, y en los grupos que tienden a sufrir deshidratación.¹

Cuando se habla de agua mineral natural, se hace referencia a las aguas que contienen no sólo sales y minerales, sino que tienen además propiedades naturales que surgen de la fuente de la cual fueron obtenidas. Esas propiedades especiales no pueden nunca ser creadas artificialmente para obtener tal calidad de agua. Al provenir directamente de una fuente natural, su contenido mineral es importante y según la legislación, en el etiquetado debe constar obligatoriamente la composición analítica donde se enumeren sus componentes. (Legislación de agua para beber 2010).²⁹

La presencia de sustancias no declaradas en un producto es una infracción grave a las normas de salud (Digemid-Digesa). La Comisión Europea publicó en marzo del 2013 el Libro verde sobre una estrategia europea frente a los residuos de plásticos en el medio ambiente y de las sustancias tóxicas que estas desprenden al medio ambiente produciendo daño a los organismos vivos que la ingieren.³

El Bisfenol-A (BPA) es un disruptor endocrino estrogénico ampliamente utilizado en la producción de plásticos.^{3, 4}

No existe en nuestra Legislación, Leyes o Normas que regulen la presencia de Bisfenol-A, en productos plásticos.

Toxicidad de los Bisfenol-A y donde se encuentran.

Pese a que el BPA pueda resultar potencialmente tóxico para los individuos adultos a lo largo de toda la vida, la exposición infantil al compuesto resulta preocupante, ya que esta sustancia es capaz de acumularse en los tejidos fetales e infantiles, alterando los patrones normales del desarrollo, produciendo efectos adversos prenatales y postnatales. Entre éstos se encuentran: alteraciones en el desarrollo cerebral, en la diferenciación sexual, y en el desarrollo cognitivo y social.²⁸

El Bisfenol-A es un disruptor endocrino. Es capaz de causar desequilibrios en el sistema hormonal a concentraciones muy bajas con posibles repercusiones sobre la salud.

Sus efectos tóxicos se deben al consumo de alimentos que han sido contaminados por contacto con materiales que contienen esta sustancia, tales como envases, botellas plásticas, latas o recipientes de muy diversa clase. La amplia distribución de productos con Bisfenol-A, especialmente en los países desarrollados, provoca una exposición continua de la población, afectando a todas las edades. La presencia continua de este disruptor en el organismo se ha relacionado con un mayor riesgo de padecer diversos trastornos orgánicos del sistema endocrino y del sistema reproductor.⁵

Efectos sobre el sistema reproductor masculino

Numerosos trabajos hacen referencia a una alteración de la espermatogénesis que condiciona un descenso en los niveles de esperma, de la testosterona y en general, de la fertilidad masculina. Además, otros estudios sugieren un cambio en la conducta sexual.²⁸

Efectos sobre el sistema reproductor femenino

En mujeres, se producen cambios en la maduración de los ovocitos, disminuyendo su número y calidad. También existen estudios que relacionan la exposición a Bisfenol-A con efectos negativos sobre el endometrio, aparición de ovarios poliquístico, abortos y partos prematuros.²⁸

Efectos sobre el cerebro y el comportamiento

Diversos ensayos en animales han confirmado el efecto del Bisfenol-A sobre la diferenciación de las neuronas, alteración de los sistemas mediados por glutamina y dopamina y cambios en la expresión de receptores estrogénicos. En humanos se han podido establecer cambios que incluyen hiperactividad, aumento de la agresividad, aumento a la susceptibilidad de sustancias adictógenas y problemas tanto en el aprendizaje como en la memoria.²⁸

Efectos sobre el metabolismo y el sistema cardiovascular

Se han establecido asociaciones de una mayor concentración de Bisfenol-A con casos de diversas enfermedades cardíacas e hipertensión. Además, la exposición a Bisfenol-A conlleva a un aumento de los lípidos en sangre, un aumento del peso y un incremento de la lipogénesis.²⁸

Por ello hemos creído conveniente investigar si las aguas para beber contenidas en botellas plásticas que se venden en Lima contienen Bisfenol-A, por ser una sustancia química altamente toxica.

1.3.- Objetivos:

1.3.1. Objetivo general

Determinar la presencia de Bisfenol-A en aguas contenidas en botellas plásticas, para beber en la ciudad de Lima año 2017

1.3.2. Objetivos específicos

- Identificar la concentración de Bisfenol-A, en las aguas contenidas en botellas plásticas, en concentraciones que sobrepasan los Límites Permisibles por organismos internacionales.

II.- GENERALIDADES

2.1.- Antecedentes Internacionales

La contaminación ambiental es un grave problema mundial que actualmente preocupa a la comunidad internacional. Las grandes ciudades industrializadas, como la de México, son las más contaminadas. Sin embargo, la contaminación llega hasta zonas alejadas de donde se produce y afecta los ecosistemas. La contaminación es responsable de una alarmante y creciente lista de enfermedades en el hombre, los animales y las plantas.²⁹

El agua embotellada es una fuente de exposición a contaminantes hormonales o disruptores endocrinos, EDCs. Esta exposición puede ser elevada, si tenemos en cuenta que el consumo de agua embotellada ha aumentado en las últimas décadas.³⁰

Este aumento en el consumo se debe, en parte, a una potente labor de marketing que ha hecho que los consumidores consideren que el agua embotellada es “más sana” que la del grifo, según indica un estudio llevado a cabo en Inglaterra.³⁰

Pero parece que el agua embotellada no es tan sana. **Tras analizar en el laboratorio la actividad hormonal de 29 muestras de agua embotellada comercializada en España como “agua mineral natural” y procedente de diferentes manantiales naturales, los resultados indican que todas las muestras de agua tienen acción hormonal.** Esta acción es de cuatro tipos: **Actividad estrogénica**, es decir, contienen sustancias que mimetizan a los estrógenos naturales, **actividad androgénica**, al mimetizar a las hormonas masculinas naturales y **actividades antiestrogénicas y antiandrogénicas**, al tener sustancias que inhiben la acción de ambos tipos de hormonas.³⁰

Las concentraciones de contaminantes hormonales encontradas son pequeñas pero, por desgracia, estos tóxicos causan efectos adversos. Estos efectos van desde problemas de pérdida de fertilidad hasta problemas metabólicos, inmunitarios, de neurodesarrollo y cáncer en órganos dependientes de las hormonas, como cáncer de mama, tiroides, testículos o próstata.³⁰

La idea que tu cuerpo se contamina al tomar agua de las botellas plásticas porque contiene la sustancia química Bisfenol-A o BPA, no es un mito urbano. La realidad es que durante los últimos 10 años el Food and Drug Administration, el Departamento del Ambiente y el mismo Departamento de Sanidad en Estados Unidos, así como un sinnúmero de grupos ambientalistas han debatido y llevado a cabo distintos estudios gubernamentales e independientes, para determinar cómo el BPA puede dañar la salud de las personas, especialmente la de los niños, quienes son más propensos a absorber el químico.³⁰

Sin embargo, diversos estudios científicos independientes afirman que el BPA es nocivo y deben eliminarse o controlarse con mayor rigurosidad en el mercado.

Un estudio nuevo publicado en la revista especializada de la Asociación Americana Médica (JAMA por sus siglas en inglés) midió y estableció una correlación entre la cantidad de BPA en la orina de niños entre los 6 a 19

años de edad y su tendencia a ser obesos. Aunque con el estudio no confirma ni es definitivo que el BPA es el causante de la obesidad infantil, el estudio revela un nuevo paralelismo entre el consumo del químico y su probable efecto nocivo a la salud infantil.^(5.6.)

El Environmental Working Group (EWG), uno de los grupos ambientalistas que ha liderado la campaña en contra del BPA ha descrito al químico como "estrógeno líquido" al asociarlo con diversas enfermedades, incluso las relacionadas a la ansiedad y la hiperactividad, como lo describe una investigación publicada por la Asociación Americana de Pediatría en el 2011.^{7.}

El Bisfenol-A se ha usado en Estados Unidos y en el mundo por más de 40 años para ¿endurecer? los plásticos, prevenir que bacterias germinen en los alimentos y para evitar la corrosión de las latas.³⁰

Lo primero que hay que saber es que las autoridades sanitarias coinciden que los bebés y niños pequeños son los más afectados por el consumo del BPA, porque su consumo de alimentos y bebidas es mayor que su masa corporal, por lo tanto su ingesta y exposición al BPA es mayor. Además, sus cuerpos están en crecimiento y se ven afectados por los cambios.³⁰

En estudios realizados por el Programa Nacional de Toxicología (NTP), el Departamento de Sanidad y el FDA existen "ciertas preocupaciones" sobre los efectos del BPA en el cerebro, trastornos en el comportamiento y la glándula de la próstata en los fetos, los bebés y los niños en edad pre-escolar. Además, estudios independientes han asociado al Bisfenol-A con la diabetes y enfermedades cardiovasculares. Las investigaciones sobre sus efectos en el organismo continúan.³⁰

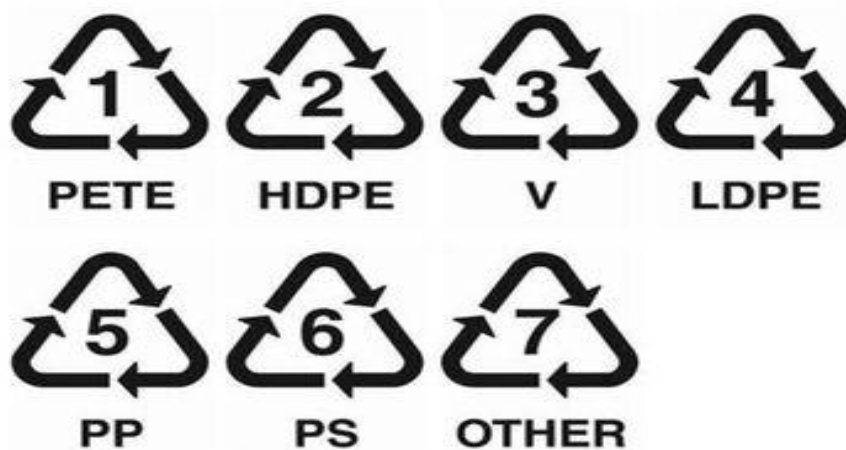
Básicamente se encuentra en todos los plásticos duros que se usan para fabricar desde los discos compactos, los lentes para leer, los vasos para tomar agua, las botellas plásticas de agua, y en los biberones de bebés porque el BPA es el ingrediente principal del plástico policarbonato. También se usa para recubrir el interior de las latas para evitar su corrosión.

En los envases o empaques de alimentos este químico, literalmente se filtra del plástico al alimento o agua.

Cada vez más las nuevas investigaciones apuntan a que el BPA puede resultar cancerígeno y aportar alteraciones varias al organismo, desde obesidad a diabetes o problemas de fertilidad.³⁰

Antes de comprar la botella de agua o el producto plástico, busca el símbolo o código de reciclaje en forma de triángulo que identifica el tipo de plástico que se usó para su fabricación.³⁰

Figura 1 – Símbolos o Códigos de reciclaje de envases plásticos.



Los plásticos que no contienen BPA, ftalato, ni poliestireno expandible son los que llevan los códigos de reciclaje con los números:

- 1 (Pete), Tereftalato de Polietileno.
- 2 (HDPE)), Polietileno de alta densidad.
- 3 (V o PVC), Policloruro de Vinilo o Vinilo.
- 4 (LDPE), Polietileno de baja densidad.
- 5 (PP), Polipropileno.
- 6 (PS), Poliestireno.
- 7 (OTHER), otros. Según PEHSU.

Las dos reglas de oro son:

1. Busca la identificación de la botella. Antes de comprar la botella de agua o el producto plástico, busca el símbolo o código de reciclaje en forma de triángulo que identifica el tipo de plástico que se usó para su fabricación.

2. Familiarízate con códigos de reciclaje. Evita los plásticos o las botellas de agua de plástico que estén identificados con el **número 7, 3 y el 6**. Estos tres números contienen sustancias químicas que es importante evitar:

No. 7 contiene el Bisfenol-A,

No. 3 que diga (PCV) o vinyl porque contiene ftalato y

No. 6 que diga (PS) porque contiene el químico poliestireno expandible.

Existen estudios independientes que indican que los tres ocasionan trastornos graves a la salud, según lo explica la Unidad Especial de Salud Ambiental Infantil (PEHSU por sus siglas en inglés).³⁰

2.2.- El Bisfenol-A (BPA)

El Bisfenol-A es un compuesto químico (2-2-bis (4-hidroxifenil) propano, N° CAS 80-05-7), es una sustancia química usada normalmente como monómero en la producción de plásticos de policarbonatos y de resinas epoxi. El Policarbonato se utiliza ampliamente en la fabricación de materiales en contacto con los alimentos, como biberones, vajillas, utensilio de hornos y de microondas, envases de alimentos, botellas de agua, botellas de leche y otras bebidas, equipos de procesamientos y tuberías de aguas. Las resinas epoxi se usan como revestimiento de protección de diversas latas de alimentos y bebidas, y como recubrimiento de las tapas metálicas de jarras y botellas de vidrio, incluidos los envases de las preparaciones para lactantes. Estos usos provocan la exposición de los consumidores al BPA a través de los alimentos.^{9,10}. Por ello se ha prohibido el uso de biberones plásticos.^{18,23}

Tabla 1. Policarbonatos más utilizados en la fabricación de materiales

Nombre	Uso principal	Abreviatura (opcional)	No. de identificación
Tereftalato de Polietileno	Producción de botellas para bebidas. A través de su reciclado se obtiene principalmente fibras para relleno de bolsas de dormir, alfombras, cuerdas y almohadas.	PET o PETE	1
Polietileno de alta densidad	Se utiliza en envases de leche, detergente, aceite para motor, etc. El HDPE tras reciclarse se utiliza para macetas, contenedores de basura y botellas de detergente.	PEAD o HDPE	2
Policloruro de vinilo o Vinilo	Botellas de champú, envases de aceite de cocina, artículos de servicio para casas de comida rápida, etc. El PVC puede ser reciclado como tubos de drenaje e irrigación.	PVC o V	3
Polietileno de baja densidad	Bolsas de supermercado, de pan, plástico para envolver. El LDPE puede ser reciclado como bolsas de supermercado nuevamente.	PEBD o LDPE	4
Polipropileno	Se utiliza en la mayoría de recipientes para yogurt, sorbetes, tapas de botella, etc. El PP tras el reciclado se utiliza como viguetas de plástico, peldaños para registros de drenaje, cajas de baterías para autos.	PP	5
Poliestireno	Tazas desechables de bebidas calientes y bandejas de carne. El PS puede reciclarse en viguetas de plástico, cajas de cintas para casetes y macetas.	PS	6
Otros	Botellas de cátsup para exprimir, platos para hornos de microondas, etc. Estos plásticos no se reciclan porque no se sabe con certeza qué tipo de resinas contienen.	Otros	7

(El código de Identificación es adoptado en México el 25 de noviembre de 1999 en la NMX-E-232- SCFI-1999 basado en la identificación de Europa y países de América)

Figura 2 – Estructura del Bisfenol-A.

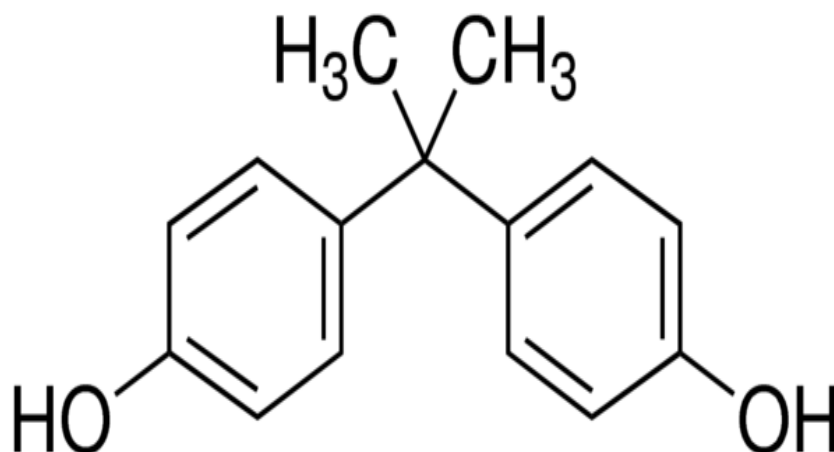


Tabla 2. Propiedades químicas del Bisfenol-A

Fórmula molecular	C₁₅H₁₆O₂
Número CAS	80-05-71
ChEBI	33216
Densidad	1200 kg/m ³ ; 1.20 g/cm ³
Masa molar	228.29 g/mol
Punto de fusión	430 K (157 °C)
Punto de ebullición	493 K (220 °C)
Apariencia: Blanco a la luz, en escamas o en polvo.	
Solubilidad en agua	120–300 ppm (a 21.5 °C)

Datos obtenidos de index merk de química.

2.3. Mecanismo de acción y Metabolismo.

El Bisfenol-A (BPA) tiene diferentes maneras de ingresar al cuerpo humano, usando varias vías de exposición para ingresar al organismo, como vía oral, vía inhalatoria y vía cutánea. Las fuentes más importantes de exposición al BPA son a través de la dieta; alimentos contenidos en componentes plásticos o que estén recubiertos por resinas epoxicas, el agua, el polvo, el contacto con el papel térmico, materiales dentales y dispositivos o aparatos en medicina ^{11,23,24}.

Cuando el BPA alcanza por vía oral el organismo, se metaboliza en el hígado con mucha más rapidez, convirtiéndose en un metabolito muy soluble: BPA-glucoronido (BPA_GLU) ^{12,13}. Una cantidad más pequeña de BPA, reacciona con el sulfato dando lugar a BPA-Sulfato. La conjugación del BPA se considera un proceso de desintoxicación ya que este, se elimina de manera eficiente por la orina. Tras la exposición oral, el BPA libre es muy poco biodisponible, lo que demuestra la eficacia del primer paso del metabolismo del BPA, pero una pequeña cantidad del BPA libre puede unirse a los receptores estrogénicos (RE) produciendo la alteración hormonal y los consiguientes efectos adversos. ^{11,12,13,25}

2.4.- Valores de referencia

En la última reunión científica realizada en por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en el 2015, se realizó una evaluación de la exposición dietética al BPA, las concentraciones más altas se encontraron en los alimentos y productos envasados, en comparación con los alimentos no envasados, donde las medidas muestra concentraciones de 18.68 ug/Kg. y 1.5 ug/Kg de BPA respectivamente. El valor de Ingesta Diaria Tolerable (IDT) del BPA ha sido modificado en el último informe realizado por la EFSA en el 2015, y ha pasado de un valor de 50 ug/Kg pc/día a 4 ug/Kg pc/día. En referencia al análisis de la exposición del BPA realizado por la EFSA, este concluye que la exposición dietética no supera el valor de IDT para ningún grupo de edad, ya que los niveles calculados se encuentran 3 a 4 veces por debajo del valor IDT. También se hace referencia y se apunta que la

evaluación de la exposición de fuentes no dietéticas presenta cierta incertidumbre y debe ser estudiada.^{11,14,15,26}

La agencia EFSA ha realizado diferentes estudios y ha emitido un total de 4 opiniones científicas sobre el riesgo para la salud del BPA en los años: 2006, 2008, 2010 y el último fue el 2015.

Los valores de referencia han ido cambiando conforme se han ido incrementado los trabajos científicos y los estudios en los laboratorios con animales de experimentación, estos fueron en un inicio de 0.05 mg BPA/kg.pc/día en el 2006 en la actualidad los valores se han reducidos a 4 ug BPA/kg pc/día informe del 2015 y hace hincapié en la necesidad de evaluar de manera más detallada la exposición de fuentes no dietéticas.^{10,11,14,27}

Es importante tener en cuenta que el informe de la EFSA-2015 se afirma que *“existen algunas incertidumbres que deben ser evaluadas y estudiadas en referencia a la evaluación de la exposición del BPA de fuentes no dietéticas, como son la exposición a través de papel térmicos, cosméticos y botellas plásticas”*^{10,11,27}

2.5.- Variables:

a).- Independiente:

Agua embotellada de los Quioscos y Bodegas.

b).- Dependiente:

La concentración de Bisfenol-A en las muestras de agua embotelladas.

2.6.- Hipótesis.

Las aguas comercializadas en botellas plásticas en Lima Metropolitana, tienen presencia de Bisfenol-A.

Hipótesis específicas

Las botellas plásticas que contiene agua para beber sometidas al calor desprender Bisfenol-A.

III.- PARTE EXPERIMENTAL

3.1.- Tipo de investigación:

Experimental, Analítico, Descriptivo, Transversal.

3.2.- Muestra:

Agua contenida en botellas plásticas de mayor consumo en Lima.

3.3.- Selección de muestra.

Se realizó una encuesta a 100 personas de diferentes edades en Lima Metropolitana, para averiguar la preferencia del tipo de agua embotellada que prefieren para su consumo. Se Adquirieron 30 botellas de agua de mesa en diferentes centros de venta, 10 de cada marca seleccionada (Tabla 4).

Las muestras seleccionadas fueron previamente tratadas para el análisis. (Tabla 7, Grafico 2).

Antes de ser inyectados en el equipo de HPLC fueron filtrados en filtros de jeringa de 0.45 μ m.

3.4.- Materiales, Equipos y Reactivos:

3.4.1.- Materiales:

- Equipo de destilación de vidrio con bordes biselados, marca SIMAX.
- Cocina eléctrica de una hornilla, marca IMACO.
- Pinzas para soporte universal.
- Soporte universal.
- Balón de vidrio de 5 litros.
- Frascos con tapa biselada de vidrio de un litro.
- Probetas de vidrio de 100, 250 mL
- Papel aluminio.
- Tambor de acero quirúrgico N° 24 grado 316.

3.4.2. -Equipos:

- Horno eléctrico marca: memmert, modelo: SN 30 de 0 a 250 °C.
- Analizador HPLC.
- CROMATÓGRAFO LÍQUIDO DE ALTO RENDIMIENTO-HPLC. SHIMADZU.
 - Desgasificador: DGU-20A5R
 - Bomba: LC-30AD
 - Automuestreador: SIL-30AC
 - Horno de Columna: CTO-20AC
 - Detector de Arreglo de Fluorescencia: RF-20^a XS
 - Control de Sistema: CBM-20^a
- BALANZA ANALÍTICA DIGITAL. SARTORIUS, CPA225D. EQUIPO ULTRASONIDO, WISD Laboratory Instruments.
- EQUIPO DE AGUA ULTRA PURA. ELGA PURELAB CLASSIC UV.

3.4.3.- Reactivos:

- Estándar Bisfenol-A, >99%, adquirido de SIGMA ALDRICH. certificado del estándar en Anexos.
- Acetonitrile, gradient 240nm/far UV HPLC grade, adquirido de MERCK PERUANA.
- Fosfato de Sodio P.A., adquirido de MERCK PERUANA.
- Agua ultrapura, purificada en equipo ELGA PURELAB CLASSIC UV.

3.5.- Muestras para Análisis.

Las muestras fueron previamente tratadas para el análisis.

Antes de ser inyectados en el equipo de HPLC Fueron filtrados previamente en filtros de jeringa de 0.45 um.

3.6.- Soluciones Estándar

Se preparó una solución STOCK de 100 ppm de Bisfenol-“A” en acetonitrilo y se procedió a diluir hasta obtener un nuevo STOCK de 50 ppb en agua.

Se realizó la curva de calibración del estándar de Bisfenol-“A”. En Concentraciones de 10, 15, 20, 25 Y 50 ppb mediante inyecciones de 2, 4, 6, 8 y 10 uL del STOCK de 50 ppb.

3.7.- Condiciones Cromatográficas

Columna	RP C18 de 250 mm x 4.6 mm ID x 5 µm Partícula
Horno de Columna	40°C
Detector	Fluorescencia
Longitud de onda	Excitación : 230 nm Emisión : 310 nm
Bomba	Cuaternaria
Flujo	0.8 mL/min
Fase móvil	A: Buffer Fosfato 10 mM pH 2 B: Acetonitrilo
Elución isocrática	A:B, 65:35
Volumen de Inyección	10 µL
Tiempo de corrida	30 min
Integración	Área vs Concentración

3.8.- Técnicas de muestreo de aguas de Botellas Plásticas.

3.8.1.- La calidad de la muestra. Criterios de inclusión.

- a) Se registró, fecha, hora y lugar de recolección de las muestras.
- b) Se usaron botellas selladas herméticamente.
- c) Que los envases estén sin deterioro o dañada la tapa externamente.
- d) Que se encuentren limpios y en buen estado de conservación
- e) Fecha de vencimiento vigente a la hora del muestreo.
- f) Se adquirieron en quioscos y bodegas.

3.8.2.- La calidad de la muestra. Criterios de exclusión.

- a) Que el envase se encuentre con fecha vencida.
- b) No adquirir en Supermercados.
- c) Que no se encuentren húmedos o en contenedores con agua.
- d) Que la etiqueta se encuentre deteriorada o rota.
- e) Que su almacenamiento no sea el adecuado. (este apilado o mezclado con otros envases de otras marcas).

3.8.3.- De la producción de agua destilada.

Se procedió a producir agua destilada en un destilador de vidrio, que contengan bordes biselados para las uniones, esta agua se usara para el lavado de todo el material de vidrio a usar, para evitar la contaminación cruzada. El agua destilada se almaceno en un balón de vidrio de 2000 mL.

3.8.4. De la colección de agua para estudio fisicoquímico.

Se usó una probeta de vidrio de 100 mL esterilizado a 250 C° por 2 horas, se tomaron 100 mL de cada botella y se colocó en un envase de vidrio de 1000 mL. Con tapa de vidrio biselado Para su transporte.

Se realizó para cada tipo de marca seleccionada, materiales limpios y esterilizados.

Se procedió a tomar 100mL. De agua en probeta de 10 botellas de agua de cada marca, hasta completar 1000 mL.

Se asignó el código A, B, C, para cada marca respectivamente.

Luego se cubrió la tapa con papel metálico. (Codex cap.13. 8,9)

Se rotulo cada muestra con su respectivo código.

Se almaceno en un tambor de acero quirúrgico N° 24, las 3 muestras y se transportaron cuidadosamente a los laboratorios de la Universidad Nacional de Ingeniería, para los análisis respectivos.

Se realizó Análisis de Bisfenol-“A” por HPLC, en Laboratorio LABICER- Facultad de Ciencias de la UNI. Utilizando el Método de Cromatografía Liquida de Alto Rendimiento.

3.9.- Análisis de datos

Los datos fueron procesados y analizados bajo el programa estadístico SPSS 23.

IV. RESULTADOS

4.1.- Selección de muestra

Para elegir a los envases plásticos a estudiar en el presente trabajo se realizó una encuesta a 100 personas para saber cuál era las marcas de mayor consumo, obteniéndose los resultado del 36% para la marca San mateo, 32% para la marca Cielo, 23% para la marca San Luis, 4% para la marca Vida, 3% para la marca San Carlos, otras marcas 2%. (Tabla 6, Grafico 1).

De la preferencia con gas o sin gas, el 84% escogió sin gas y el 16% con gas (Tabla 7, Grafico 2).

A la pregunta en que estación del año consume más agua embotellada los resultados fueron: En verano 72%, todo el año 23%, en primavera 2%, en otoño 2%, invierno 1% (Tabla 8, Grafico 3).

Las edades de mayor consumo de agua embotellada se encontró en el rango de los 41 a 50 años con 30%, las edades de 31 a 40 años con un 28% los mayores de 51 años con un 23%, los jóvenes mayores de 18 años en un 16%, y en menores de 18 años en un 3% (Tabla 9, Grafico 4)

PARAMETROS DE CALIBRACIÓN DE EQUIPO HPLC.

DATOS DEL ESTÁNDAR DE BISFENOL A

NOMBRE DEL PRODUCTO	:	BISFENOL A
NÚMERO DEL PRODUCTO	:	1002391024
NÚMERO DE LOTE	:	MKBX9458V
MARCA	:	SIGMA
PUREZA	:	> 99 %
CONTENIDO	:	50 g
RECEPCIÓN DE LA MUESTRA	:	LAB. LABICER – FAC. DE CIENCIAS
CONDICIONES AMBIENTALES	:	T: 22°C; Humedad relativa: 60 %
MÉTODO UTILIZADO	:	CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTO RENDIMIENTO.
DOCUMENTO DE REFERENCIA	:	High performance liquid chromatography. Applications using “Prominence RF-20Axs” Fluorescence Detector. Analysis of Bisphenol A at High Sensivity

4.2.- Cálculo del Límite de Detección

El límite de detección se refiere a la cantidad mínima de un componente objetivo que se puede detectar cualitativamente. El límite de detección es la cantidad mínima necesaria de un componente que puede ser reconocido como un pico en los cromatogramas LC.

El método aplicado para el análisis de acuerdo al instrumento es el de la relación señal –ruido (signal to noise). El software usa la relación S/N para determinar el límite de detección según la siguiente ecuación:

$$\text{LDD} = a \times \text{Conc} \times N / S \dots (\text{Ec. 01})$$

LDD: Límite de detección

α : Coeficiente (3.3)

Conc: Concentración del pico

N : Noise (Ruido)

S: Altura del pico

Se realizaron 10 repeticiones del estándar de menor concentración de la curva de calibración (10.27 ug/L) para el cálculo del límite de detección los cuales se muestran a continuación:

TABLA 3. Resultado del LÍMITE DE DETECCIÓN (LDD).

La sensibilidad es uno de las propiedades más importantes del detector de cromatografía de alto rendimiento en fase líquida, su capacidad de detectar concentraciones mínimas está basado en realizar 10 repeticiones de la concentración mínima para establecer un promedio del analito.¹⁴.

Repetición	Tiempo de retención	Área	Conc. (ug/L)	Noise (Ruido)	LDD= 3.3xConcx N/ S (ug/L)
1	23.786	12709	10.670	80.22	7.28
2	23.781	11164	9.838	77.41	7.78
3	23.824	11203	9.859	77.29	6.59
4	23.875	12068	10.325	74.83	7.73
5	23.801	11586	10.066	76.30	6.89
6	23.806	12632	10.628	76.71	6.95
7	23.870	11633	10.091	81.41	7.82
8	23.791	11738	10.147	74.81	6.76
9	23.766	11111	9.810	75.84	6.72
10	23.852	12169	10.379	79.62	7.50
Promedio	23.815	11801	10.181	77.44	7.19
Desviación	0.038	581.151	0.313	2.270	0.478
RSD, %	0.002	0.049	0.031	0.029	0.066

Reemplazamos en:

$$\text{LDD} = \alpha \times \text{Conc} \times \text{N} / \text{S} \dots (\text{Ec. 01})$$

$$= 3.3 \times 10.181 \times 0.214$$

$$= 7.190 \text{ ug/L}$$

$$\text{LDD} = 7.190 \text{ ug/L} \pm 0.478 \text{ ug/L}$$

4.3.- Cromatografía del Estándar de BPA.

Todas las muestras del estándar se sometieron a dos mediciones, dando como resultado los valores promedio de las mismas.

- A una concentración de 10 ppm dio un área de 13244 mm correspondiente a un valor promedio de 10.270 ug/L de BPA.
- A la concentración de 15 ppm dio un área de 22422 mm correspondiente a un valor promedio de 15.405 ug/L de BPA.
- A la concentración de 20 ppm dio un área de 29643 mm correspondiente a un valor promedio de 20.540 ug/L de BPA.
- A la concentración de 25 ppm dio un área de 38886 mm correspondiente a un valor promedio de 25.675 ug/L de BPA.
- A la concentración de 50 ppm dio un área de 89154 mm correspondiente a un valor promedio de 51.350 ug/L de BPA.

Con relación a estos resultados se estableció una curva de calibración (Tabla 10, Grafico 5)

Tabla 4. Identificación de las Muestras

MUESTRAS	DESCRIPCIÓN
A: (agua Cielo)	MUESTRA DE 1L DE AGUA EN FRASCO DE VIDRIO CON TAPA BISELADA Y TAMBOR DE ACERO QUIRÚRGICO
B: (agua San Luis)	
C: (agua san Mateo)	

Los resultados de los análisis de las muestra "A", "B" Y "C" que se tomaron de forma directa, sin someter a ningún tipo de estrés dieron NO DETECTADOS por el análisis de HPLC, como se demuestra en las Tablas de resultados 11, 12 y 13, pero en las gráficas se evidencian picos menores a los valores que se establecen como límites mínimos de detección (Gráficas 6,7 y 8) con un área de 11801 mm y una concentración promedio de 10.181 ug/L..

Los tiempos donde aparecen los picos de BPA en la curva de calibración del estándar están entre los 22.928 min. y los 24.041 min. Como se evidencia en las Gráficas 9, 10, 11, 12 y 13

Los resultados de las primeras muestras analizadas, mostraron la NO Presencia de Bisfenol-A. Luego se procedió las mismas muestras, a someter a estrés de temperatura de 37 °C, por siete días en una estufa a temperatura controlada, posteriormente se procedió a tomar las muestras de igual manera que la primera vez, las cuales se codificaron con las claves de "A.1", "B.1", "C.1". Finalmente se analizaron mediante el mismo procedimiento y bajo las mismas condiciones por el método de HPLC.

Se inyectaron 10 uL por prueba, realizándose cuatro mediciones por muestras.

Los resultados obtenidos luego de los análisis por HPLC, fueron NO DETECTADOS como se demuestra en las Tablas 14, 15 y 16. Los gráficos de medición mostraron una mayor presencia de ruidos cromatográficos, evidenciando picos por debajo de los límites de detección, pero dentro de los tiempos de medición del estándar se formaron picos menores como se demuestra en los Gráficos 14, 15 y 16.

Tabla 5

Tabla resumen de resultados

muestras	Características del envase	Área de lectura en mm	Concentración de BPA ug/l	rango de detección
“A” (Agua Cielo)	Envase plástico cerrado/sin gas N° lote: 143 FV: 17 oct.17	1353 mm	1.167 ug/L	7.190 ug/L
“B” (Agua San Luis)	Envase plástico cerrado/sin gas N° lote: 29960302 FV:23ABR17	3495 mm	3.015 ug/L	7.190 ug/L
“C” (Agua San Mateo)	Envase plástico cerrado/sin gas N° lote: LHVO40101 FV:03NOV17	2907 mm	2.507 ug/L	7.190 ug/L
“A1” * (Agua Cielo)	Envase plástico cerrado/sin gas N° lote: 143 FV: 17 oct.17	Intensificación de ruidos	Intensificación de ruidos	7.190 ug/L
“B2” * (Agua San Luis)	Envase plástico cerrado/sin gas N° lote: 29960302 FV:23ABR17	Intensificación de ruidos	Intensificación de ruidos	7.190 ug/L
“C3” * (Agua San Mateo)	Envase plástico cerrado/sin gas N° lote: LHVO40101 FV:03NOV17	Intensificación de ruidos	Intensificación de ruidos	7.190 ug/L

*Muestras que se sometieron a calentamiento (37 °C x 7 días)

V.- CONCLUSIONES

- 1.- No se ha podido demostrar la presencia de concentraciones de BPA en aguas embotelladas por el método de HPLC según la curva de calibración de la técnica establecida. Las muestras analizadas dan lecturas menores a los rangos establecidos por la curva de calibración, dando como valores para las muestras de código "A" 1.167 ug/L de BPA. Las muestras de código "B" presento una concentración de 3.015 ug/L de BPA y la muestra con código "C" una concentración de 2.507 ug/L de BPA.
- 2.- Las muestras sometida a estrés de calentamiento "A1", "B1" y "C1" desprenden más impurezas, lo cual se evidenció al comparar las Gráficas de las lecturas 6, 7 y 9 con las Gráficas de las lecturas 14, 15 y 16. En los rangos de lecturas de las bandas del estándar con respecto a las muestras, estas presentan picos menores a lo establecido por la curva de calibración, pero dentro de los valores del BPA estándar.
- 3.- El no contar con una pre-columna de HPLC que permitiera eliminar las impurezas no favoreció a bajar los límites de detección a rangos más bajos. Solo podemos decir que son NO DETECTADOS por el lector de HPLC porque solo cuenta con una sola columna.

VI.- DISCUSIÓN

Los BPA se utilizan como componentes destinados a la fabricación de policarbonatos y resinas epoxicas plásticos hoy en día, es uno de los productos más usados por la industria alimentaria y cosméticas, como medios de transportes y almacenamientos de los mismos. Unos de los efectos del polietileno es que cuando están en contacto con los alimentos se desprenden cierta sustancia como el BPA que en cantidades mínimas contaminan el producto que se encuentren dentro de el^{12,15}. Según la agencia CDC de Estados Unidos, el 93 % de las personas mayores a 6 años tienen niveles detectables de BPA en sangre.

En este estudio se realizó la determinación de la presencia de BPA en aguas para beber contenidas en botellas plásticas, se realizó una encuesta para determinar cuáles eran las marcas preferidas por los consumidores de agua embotellada, en la Tabla 6 y Grafico 1, se muestran que las marcas preferidas por las personas encuestadas son, agua embotellada San Mateo con un 36%, agua Cielo con un 32% y agua San Luis con un 23%. Las personas encuestadas dieron como preferencia beber agua embotellada sin gas en un 84% y con gas en un 16 % como se demuestra en la Tabla 7 y Grafico 2.

La época de año con mayor consumo de agua embotellada según la Tabla 8 y Grafico 3, la estación de verano con 72% de consumidores en todas las marcas, y con 23% que toman agua embotellada todo el año.

Es importante resaltar que los BPA son sustancias químicas que se acumulan en el organismo¹⁰. Por esta razón las personas que consumen todo el año aguas embotellada pueden acumular mayor cantidad de BPA en el organismo.^{13, 14}

Al realizar el estudio de aguas contenidas en botellas plásticas, se tuvo que eliminar el factor de contaminación cruzada, para ello se procedió a obtener agua destilada evitando que en el proceso de destilación, se utilicen componentes plásticos, por ello se usó material de vidrio con tapas biseladas.

Para conservar el agua que se utilizaría principalmente para el lavado de recipientes y materiales a usar, se esterilizo todo el material de vidrio a 250 °C por 2 horas, para garantizar la eliminación de todo rastro de BPA teniendo en cuenta que su punto de ebullición del BPA es 220 °C.

Todas las muestras fueron tomadas en el mismo días y transportadas en tambores de acero quirúrgico hasta el laboratorio de la Facultad de Química Orgánica (Laboratorio N°12) de la Universidad Nacional de Ingeniería.

Los resultados obtenidos luego del análisis por HPLC de las muestras que se enviaron al laboratorio, dieron como resultados NO DETECTADO para BPA, en las concentraciones establecidas por la curva de calibración, para todas las muestras, al observar las Gráficas 6, 7 y 8 de la corrida se detectó que las gráficas de los procedimientos de las muestras presentaban picos menores a los establecidos por la curva de calibración pero que si evidenciaban presencia de cantidades menores al límite de detección de $7.190 \text{ ug/L} \pm 0.478 \text{ ug/L}$, que no se pudo eliminar el efecto de ruidos o interferencias en las lecturas de las muestras debido a que no se contaba con una pre columna que ayudaría a eliminar otras sustancias y que permitirían bajar más el límite de detección, en la Gráfica 6, correspondiente a la muestra "A" de agua embotellada, en los tiempos establecidos por la curva de calibración presento un pico de 1353 mm en el tiempo de 23.187 minutos dentro del rango de calibración para el BPA dando como resultados una concentración de 1.167 ug/L. En la Gráfica 7 para la muestra "B" presento un pico de 3495 mm a los 22.623 minutos, dando como resultados una concentración de 3.015 ug/L. Y en la Gráfica 8 de la muestra "C" presento un pico de 2907mm a los 22.922 minutos, dando como resultados una concentración de 2.507 ug/L. Estos tres resultados están por debajo del rango de calibración, pero demuestran presencia de la sustancia química que están dentro del rango de lectura del estándar para el BPA, por lo cual se estaría evidenciando trazas menores a la concentración (Tabla 5) usada como límite mínimo al no contar con una pre columna para eliminar el factor de impureza o ruidos de distorsión en la lectura por HPLC de la muestra de aguas para beber contenidas en botellas plásticas.

De la misma manera se procedió a estudiar también las aguas contenidas en envases plásticos sometidas a estrés de calentamiento (37 °C x 7 días). Se procedió a tomar las muestras de la misma manera que las muestras anteriores y con los mismos controles de calidad para evitar la contaminación de BPA externo, luego se trasladó en los tambores de acero quirúrgico para evitar cualquier interferencia de contaminación en el proceso de transporte. Las muestras se codificaron como “A1”, “B1” y “C1” respectivamente, de los análisis realizados por HPLC dio como resultados NO DETECTADOS para todas las muestras. Al analizar las gráficas de la lectura por HPLC, estas presentaron una mayor cantidad de ruidos como se evidencia en las Gráficas 14, 15 y 16, lo que demuestra que el calentamiento permite desprender mayor sustancias químicas y otros compuestos que hacen que se intensifiquen las señales de distorsión o ruidos en las gráficas por lo tanto es necesario contar con una pre columna que ayudaría a eliminar otros compuestos químicos para su estudio a niveles más bajos y poder determinar las concentraciones presentes en estas muestras.

El Dr. Elmer Huerta en su artículo publicado el 2 de febrero del 2015 en el diario “El Comercio” “Los plásticos y la salud humana y ambiental” vivimos en un mundo rodeado de plásticos y destaca la presencia e importancia del estudio del BPA en nuestra población y los líquidos que se encuentran en envases plásticos sueltan más metabolitos tóxicos cuando se calientan¹⁷. Las normas peruanas, hasta la fecha no han podido establecer restricciones para el uso masivo de agua embotellada en envases plásticos por carecer de información relevante que demuestre su presencia de BPA en las aguas embotelladas, la primera norma que se emite en protección de los niños lactantes por ser la población más expuesta es la **Alerta Sanitaria N° 29 – 2012-DIGEMID**¹⁸, que da cuenta “El Bisfenol-A es un producto químico que se utiliza como componente para la fabricación de policarbonato. Al calentarse los policarbonatos pueden desprenderse pequeñas cantidades de Bisfenol-A, mezclarse con las bebidas contenidas en ellos, y ser ingeridas; los lactantes se consideran el grupo de población de mayor exposición, por usar biberones fabricados con policarbonato”^{19,21,22}. 5 años más tarde DIGEMID emite la

resolución **Nº 016-2017-DIGEMID-DFAU-UFCENAFyT/MINSA**, en la cual se solicita informar que dispositivos médicos que contengan BPA, este informe está basado en el informe del comité científico de riesgo sanitario emergentes y recientemente identificados de la comisión europea (SCENIHR), que señala que el riesgo del efecto del BPA está directamente relacionado a la exposición sistémica en neonatos en unidades de cuidados intensivos²⁰.

Francia desde el año 2015 prohíbe las botellas plásticas para el uso de agua para beber.

Se ha querido buscar las concentraciones mínimas de BPA que se encuentran en las aguas embotelladas en los envases plásticos, no pudiendo Determinar los límites de detección por factores externos que nos permiten evidenciar cantidades menores.

VII.- RECOMENDACIONES

- 1.- Realizar más estudios a envases plásticos con muestras de agua sometidas a otros tipos de estrés para poder determinar si estas favorecen al desprendimiento de BPA que contamine a los alimentos contenidos en ella.
- 2.- Realizar estudios sometiendo las muestras al análisis de una pre-columna **(Shim-pack spc-RP2 4.6 mm x 1cm. MARCA: SHIMADZU – CODIGO: 228-18838-91-Japon)** que permita disminuir los ruidos o contaminantes y puedan ser detectados los valores de BPA por HPLC y así poder determinar rangos de valores más bajos.
- 3.- Revisar si se han emitidos más normas de control y restricción con respecto a BPA en nuestra legislación y en países de alta vigilancia sanitaria.
- 4.- Promover la incorporación de información de ausencia de BPA en los envases plásticos, para que el público usuaria este informado.
- 5.- Realizar campañas de información a la población de los riesgos de consumir bebidas calientes en envases plásticos, para evitar mayor contaminación de sustancias toxicas como el BPA.

VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Dra. García, S. La contaminación ambiental con bisfenilos policlorados y su impacto en salud pública.
- 2.- Como identificar los seis tipos de plásticos más habituales en envases y para que se pueden reutilizar.
- 3.- Ramírez Q., Francisco. Control de calidad en las aguas de consumo humana, análisis de los principales parámetros, técnicas analíticas de aguas embotelladas.
- 4.- Miller C., Sánchez E. Los contaminantes ambientales bifenilos policlorados (PCB) y sus efectos sobre el Sistema Nervioso y la salud, 23 de febrero de 2009.
- 5.- Catalogo Sigma hoja de especificaciones, Número CE 201-245-8, PubChem Identificación de Sustancias 24854386
- 6.- GARCIA W. Evaluación de la presencia de Microplasticos en productos cosméticos exfoliantes y en especies marinas *Platyxanthus orbigny* “cangrejo violáceo”, *Cáncer setosus* “cangrejo de peña o peludo” y *Choromytilus chorus* “choro” en la playa de ancón – 2014.
- 7.- Reglamento de la calidad del agua para consumo humano DS N° 031-2010-SA 2011. Vol. N°13.
- 8.- Codex Stan 227-2001. Normas técnicas para las aguas potables embotelladas/ envasadas
- 9.- Red Internacional de Autoridades en materia de Inocuidad de los alimentos (INFOSAN), N° 5/2009 - Bisfenol A, 27 de noviembre del 2009.
10. - Fitz Gerald RE y Wilks MF. Bisphenol A- Whyan adverse outcome pathway framework needs to be applied. *Toxicology letters*. 230:368-374.2014
- 11.- ESFA. Informe del 21- 01 – 1015 de la agencia europea para el control de alimentos y productos enlatados.(INFOSAN-FAO)
- 12.- Guergana M. Bisphenol-A: Epigenetic Reprogramming and Effects on Reproduction and Behavior. *Int. J. Environ. Pg.* 7537-7561; Res. Public 11-2014.

- 13.-https://www.researchgate.net/publication/11073578_Metabolism_and_Kinetics_of_Bisphenol_A_in_Humans_at_Low_Doses_Following_Oral_Administration [accessed Mar 24 2018].
- 14.- Quattrocchi O. Abelaira S. Introducción a la HPLC, fundamentos de la técnica. Edit. Argentina, artes gráficos faro SA. 1992.
- 15- Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N & Welshons WV,2007. Human exposure to Bisphenol A (BPA). Reproductive Toxicology. 24:139-177.
- 16.- Juan-García A. Toxicidad del Bisfenol A: Revisión. Laboratorio de Toxicología, Facultad de Farmacia, Universitat de Valencia. Rev. Toxicol (2015) 32: 144-160.
- 17.- Huertas E. Los Plásticos y la Salud Humana y Ambiental. Materiales con toxicidad. Diario el comercio editorial de ciencias publicado el 02-02-2015.
- 18.- DIGEMID: Se prohíbe el uso de plásticos que contengan BISFENOL- A en los biberones plásticos. Alerta Sanitaria N° 29 – 2012-DIGEMID
- 19.- .Reglamento 321/2011, de 1 de abril, por el cual queda restringido el uso de bisfenol A en biberones de plástico para lactantes.ESFA.
- 20.- DIGEMID: información de seguridad de los productos que contienen Bisfenol-A, N° 016-2017-DIGEMID-DFAU-UFCENAFyT/MINSA.
- 21.- Real Decreto 866/2008, de 23 de mayo, por el cual se aprueba a lista de sustancias permitidas para la fabricación de materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con los alimentos y se regulan determinadas condiciones de ensayo. (BOE núm. 131 de 30 de mayo de 2008).
- 22.- Reglamento 10/2011, de 14 de enero, por el cual se aprueba la Norma de materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. ESFA-Real decreto.
- 23.- Ptak A. Gregoraszczyk: Effects of bisphenol A and 17 β - estradiol on vascular endothelial growth factor A and its receptor expression in the non-cancer and cancer ovarian cell lines. Cell biology and toxicology.31:187-197, 2015.

24. - Mileva G, Baker SL, Konkle A y Bielajew C, Bisphenol-A: epigenetic reprogramming and effects on reproduction and behavior. *International journal of Environmental Research and public health*.11:7537-7561.2014
- 25.-Vom Saal: Integration of mechanisms, effects in animals and potential to impact human health at current levels of exposure. *Rev. Toxicology* 2007 Aug-Sep; 24(2):131-8. Epub 2007 Jul Send to
- 26.- Real Decreto: Lista de sustancias permitidas para la fabricación de materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con los alimentos. (BOE núm 131 de 30 de mayo de 2008)
- 27.- Lucacova J, Jambor T, Knazixka:. Dose- and time-dependent effects of Bisphenol-A on bovine spermatozoa in vitro. *Environmental Science and Health*.50:669-676. N, 2015.
28. - Elobeid M.A. et al. 2012, *Bisphenol A detection in various brands of Drinking bottled water in Riyadh, Saudi Arabia using gas Chromatrography/ Mass spectrometer*, **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 11, 455
- 29.- González et al. 2011, Toxicidad del BPA: migración desde los envases a los alimentos. **Salud Pública**.
- 30.- Departamento de Sanidad, FDA, Asociación Americana de Pediatras, EPA, Enviromental Working Group, PEHSU.

ENCUESTA

PREFERENCIAS POR AGUA DE MESA ENVASADA EN BOTELLA DE PLÁSTICO (mayo de 2017)

I. DATOS GENERALES:

Edad: Menor de 18 años () Mayor de 18 años () De 30 a 40 años ()

De 41 a 50 años () Mayor de 51 años ()

Sexo: Femenino () Masculino ()

II. DATOS DEL ESTUDIO:

1. ¿En qué estación del Año consumes más agua envasada en botella de plástico?

a) En Primavera ()

b) En Verano ()

c) En Otoño ()

d) En Invierno ()

e) Todo el año ()

2. ¿Con que frecuencia tomas agua de Mesa envasada en botella de plástico?

a) Todos los días ()

b) Dejando un día ()

c) Una vez a la Semana ()

d) No consumo agua envasada ()

3. ¿Cuántas veces al día tomas agua envasada en botella de plástico?

a) Una vez al día ()

b) Dos veces al día ()

c) Tres veces al día ()

d) Más de 4 veces al día ()

4. ¿Qué tipo de agua envasada consumes?

a) Sin gas ()

b) Con Gas ()

5. De las marcas mencionadas cual prefieres?

a) Agua San Carlos ()

b) Agua San Luis ()

c) Agua San Mateo ()

d) Agua Cielo ()

e) Agua Vida ()

f) Otras Marcas ()

Tabla 6

¿De las marcas mencionadas cual prefieres?

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Agua San Carlos	3	3,0	3,0	3,0
	Agua San Luis	23	23,0	23,0	26,0
	Agua San Mateo	36	36,0	36,0	62,0
	Agua Cielo	32	32,0	32,0	94,0
	Agua Vida	4	4,0	4,0	98,0
	Otras Marcas	2	2,0	2,0	100,0
	Total	100	100,0	100,0	

Grafico 1

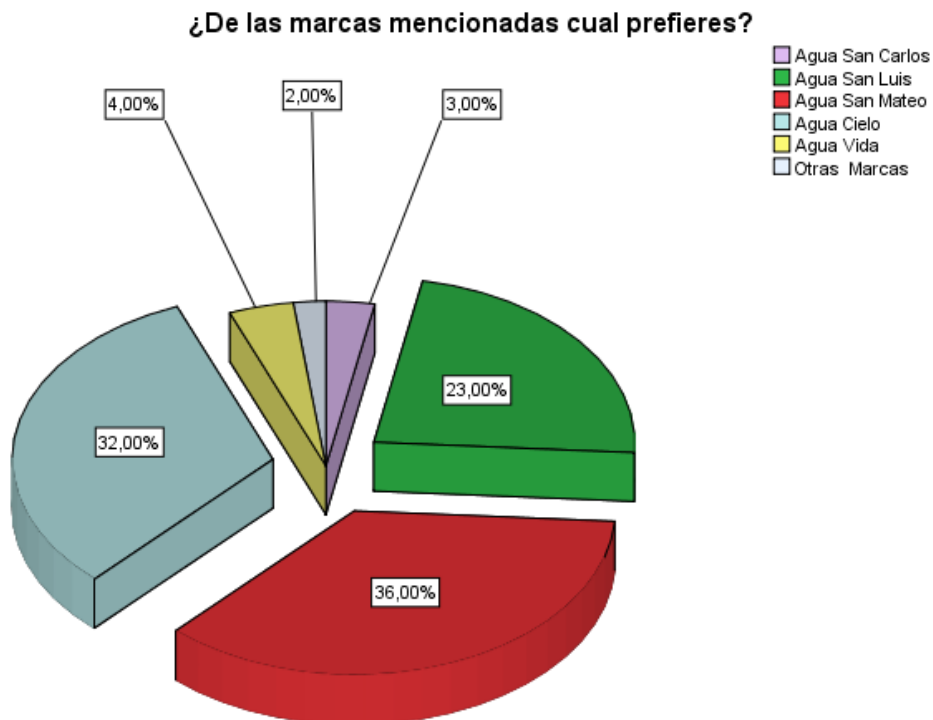


Tabla 7

¿Qué tipo de agua envasada consumes?

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Sin gas	84	84,0	84,0	84,0
	Con Gas	16	16,0	16,0	100,0
	Total	100	100,0	100,0	

Grafico 2

¿Qué tipo de agua envasada consumes?

■ Sin gas
■ Con Gas

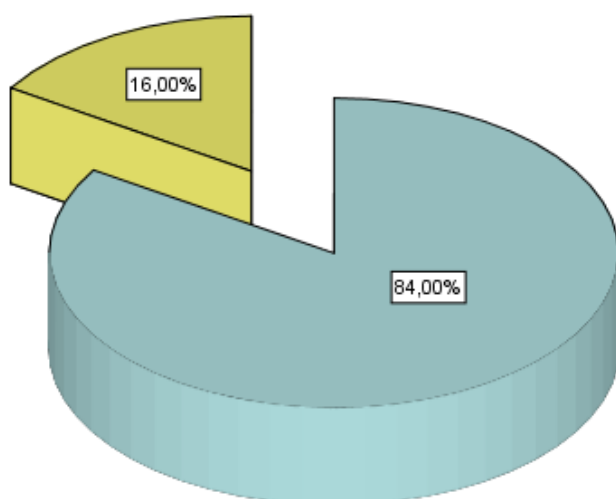


Tabla 8

¿En qué estación del Año consumes más agua envasada en botella de plástico?

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	En Primavera	2	2,0	2,0	2,0
	En Verano	72	72,0	72,0	74,0
	En Invierno	1	1,0	1,0	75,0
	Todo el año	23	23,0	23,0	98,0
	En Otoño	2	2,0	2,0	100,0
	Total	100	100,0	100,0	

Grafico 3

¿En qué estación del Año consumes más agua envasada en botella de plástico?

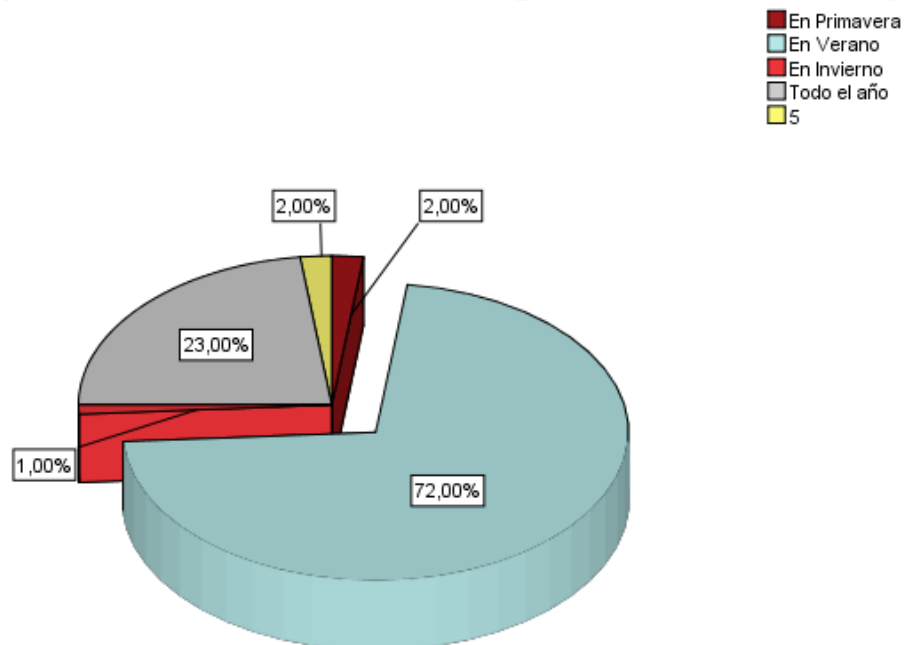


Tabla 9

EDAD					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	<18	3	3,0	3,0	3,0
	18 < x < 30	16	16,0	16,0	19,0
	31 < x <40	28	28,0	28,0	47,0
	41 < x < 50	30	30,0	30,0	77,0
	51 <	23	23,0	23,0	100,0
	Total	100	100,0	100,0	

Grafico 4

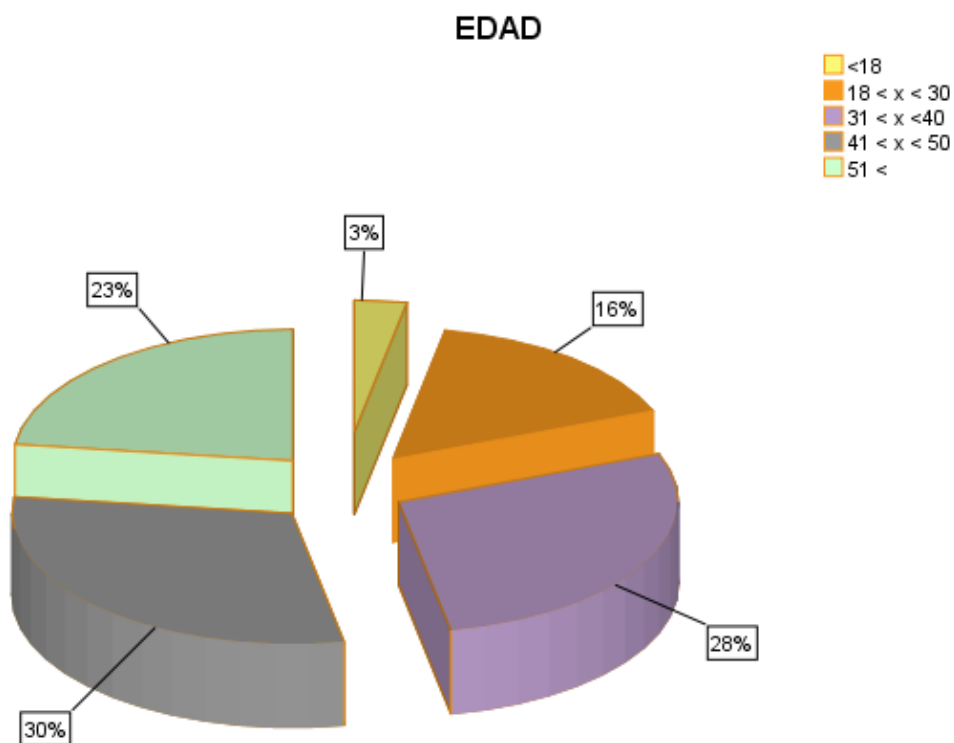


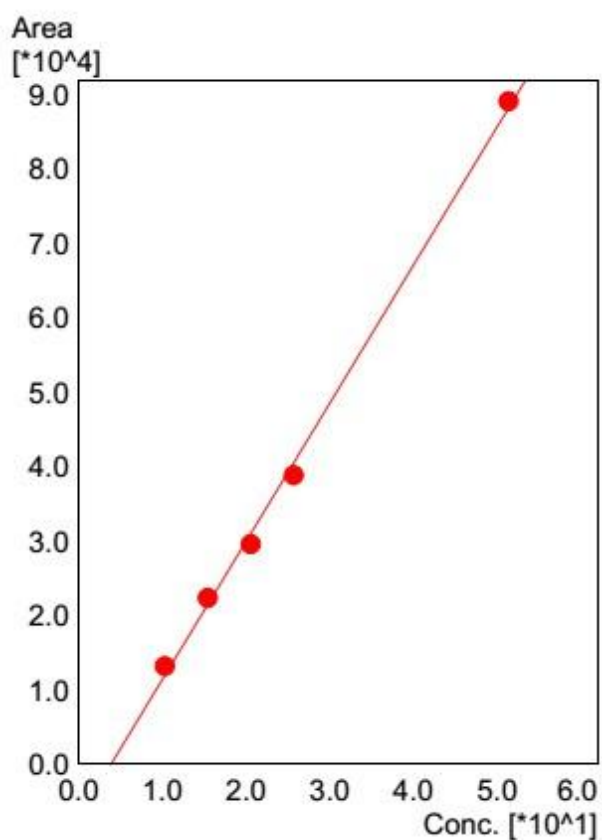
Tabla 10**Estadísticas de la Curva de Calibración**

Nivel	Concentración ug/L	Área Inyección 1	Área Inyección 2	Área Promedio	Desviación estándar, SD	Desviación estándar relativa, %RSD
1	10.270	13211	13277	13244	33.0	0.002
2	15.405	22512	22332	22422	90.0	0.004
3	20.540	29525	29762	29643	118.5	0.004
4	25.675	38911	38861	38886	25.0	0.001
5	51.350	89445	88864	89154	290.5	0.003

Grafico 5

Calibration Curve

Name : BFA
Quantitative Method : External Standard
Function : $f(x)=1858.19 \cdot x - 7130.88$
Rr1=0.9988578 Rr2=0.9977170 RSS=8.083555e+006
MeanRF: 1.487806e+003 RFSD: 1.526480e+002 RFRSD: 10.259935
FitType : Linear
ZeroThrough : Not Through
Weighted Regression : None
Detector Name : Detector A



#	Conc.(Ratio)	MeanArea
1	10.27	13244
2	15.405	22422
3	20.54	29643
4	25.675	38886
5	51.35	89154

Tabla 11

Datos cromatográficos del BPA en MUESTRA A

N° de Inyección	Tiempo de Retención, min	Área	Concentración HPLC, ug/L
SAMPLE A. Inyección 1	N.D.	N.D.	N.D.
SAMPLE A. Inyección 2	N.D.	N.D.	N.D.
Promedio	N.D.	N.D.	N.D.
S.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Tabla 12

Datos cromatográficos del BPA en MUESTRA B

N° de Inyección	Tiempo de Retención, min	Área	Concentración HPLC, ug/L
SAMPLE B. Inyección 1	N.D.	N.D.	N.D.
SAMPLE B. Inyección 2	N.D.	N.D.	N.D.
Promedio	N.D.	N.D.	N.D.
S.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Tabla 13

Datos cromatográficos del BPA en MUESTRA C

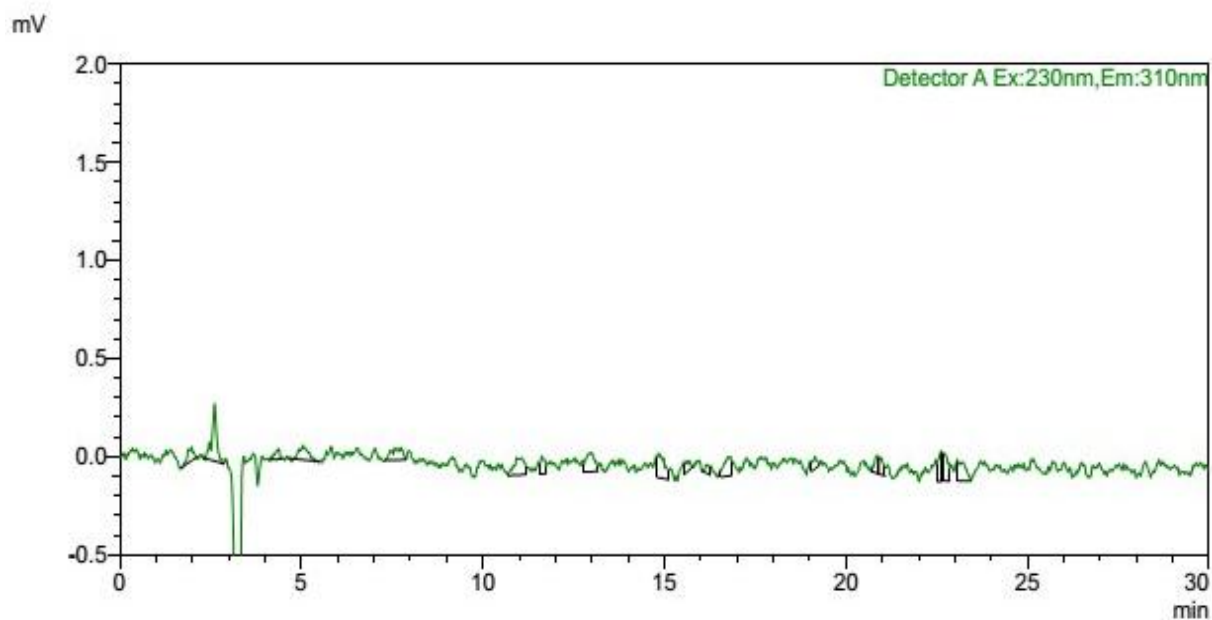
N° de Inyección	Tiempo de Retención, min	Área	Concentración HPLC, ug/L
SAMPLE C. Inyección 1	N.D.	N.D.	N.D.
SAMPLE C. Inyección 2	N.D.	N.D.	N.D.
Promedio	N.D.	N.D.	N.D.
S.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. : No detectado
 (*)L.D.D.: Límite de detección= 7.190 ug/L ± 0.478 ug/L.

Grafico 6

Datos cromatográficos del BPA en MUESTRA "A"

<Chromatogram>



<Peak Table>

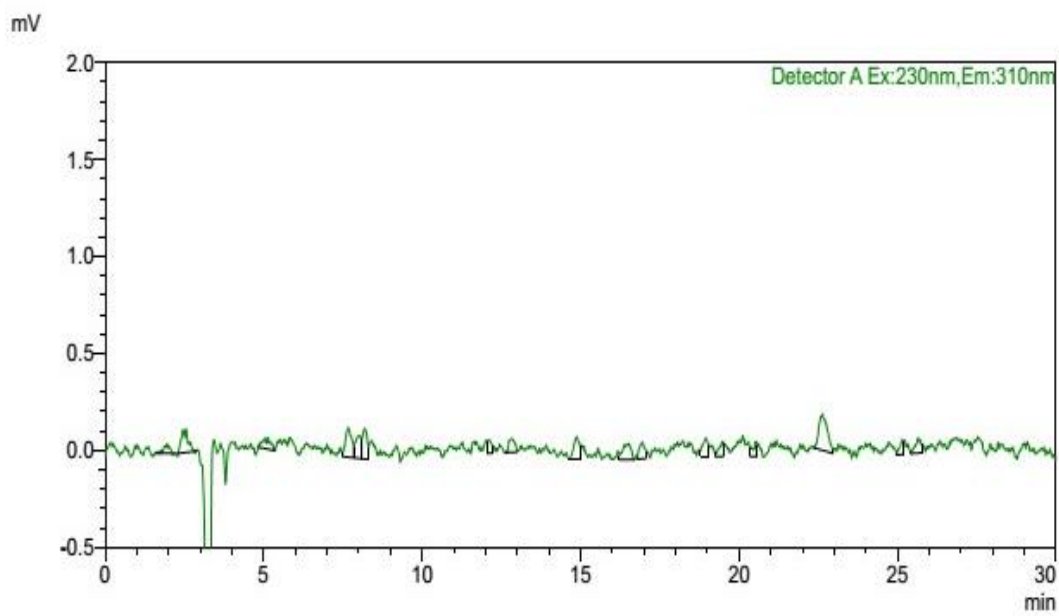
Detector A Ex:230nm,Em:310nm

Peak#	Ret. Time	Area	Conc.	Unit	Name
1	1.978	782	0.000		
2	2.606	2548	0.000		
3	4.385	495	0.000		
4	5.044	1163	0.000		
5	7.753	1312	0.000		
6	11.058	1747	0.000		
7	11.621	761	0.000		
8	12.977	1601	0.000		
9	14.850	1687	0.000		
10	15.663	491	0.000		
11	16.170	399	0.000		
12	16.789	1334	0.000		
13	19.142	511	0.000		
14	20.858	621	0.000		
15	20.958	734	0.000		
16	22.615	1105	0.000		
17	22.725	1028	0.000		
18	23.187	1353	0.000		
Total		19671			

Grafico 7

Datos cromatográficos del BPA en MUESTRA "B"

<Chromatogram>



<Peak Table>

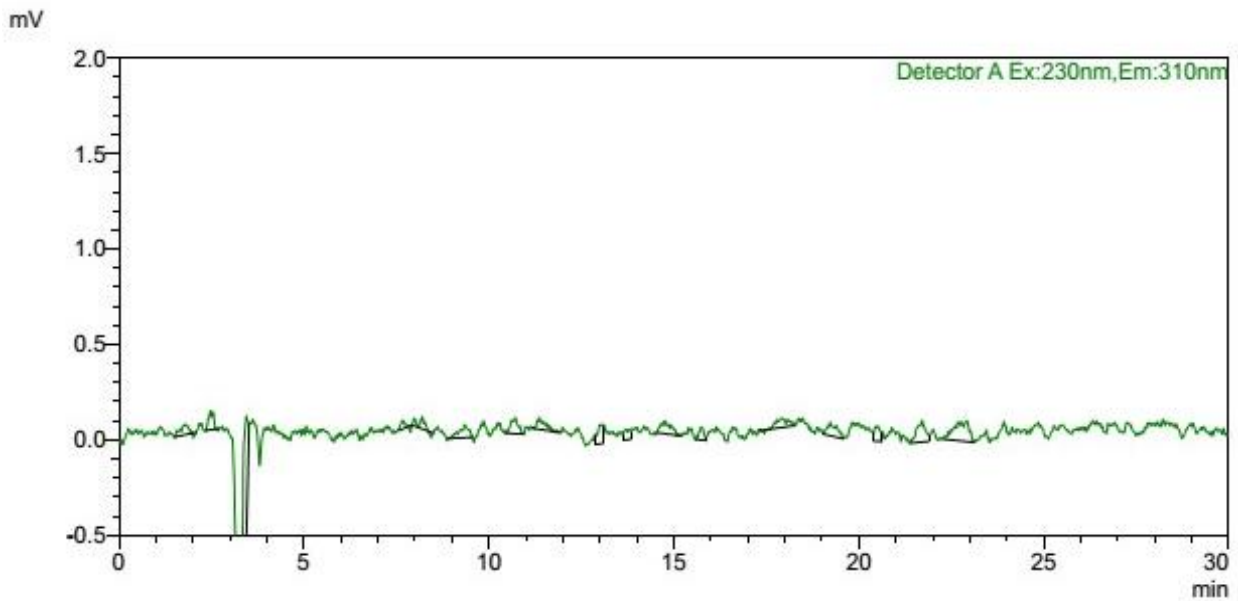
Detector A Ex:230nm,Em:310nm

Peak#	Ret. Time	Area	Conc.	Unit	Name
1	1.936	600	0.000		
2	2.548	1725	0.000		
3	5.050	995	0.000		
4	7.667	2050	0.000		
5	7.958	1500	0.000		
6	8.178	1569	0.000		
7	12.110	564	0.000		
8	12.838	924	0.000		
9	14.876	1379	0.000		
10	16.527	1482	0.000		
11	16.950	1001	0.000		
12	18.941	1093	0.000		
13	19.460	699	0.000		
14	20.550	699	0.000		
15	22.623	3495	0.000		
16	25.142	613	0.000		
17	25.633	955	0.000		
Total		21344			

Grafico 8

Datos cromatográficos del BPA en MUESTRA "C"

<Chromatogram>



<Peak Table>

Detector A Ex:230nm,Em:310nm

Peak#	Ret. Time	Area	Conc.	Unit	Name
1	1.790	783	0.000		
2	2.468	822	0.000		
3	3.442	8544	0.000		
4	7.651	275	0.000		
5	8.193	609	0.000		
6	9.349	1179	0.000		
7	10.715	1129	0.000		
8	11.365	870	0.000		
9	13.018	892	0.000		
10	13.715	605	0.000		
11	14.733	1241	0.000		
12	15.734	609	0.000		
13	17.917	1070	0.000		
14	19.223	1236	0.000		
15	20.514	857	0.000		
16	21.698	1819	0.000		
17	22.922	2907	0.000		
Total		25445			

Grafica 09



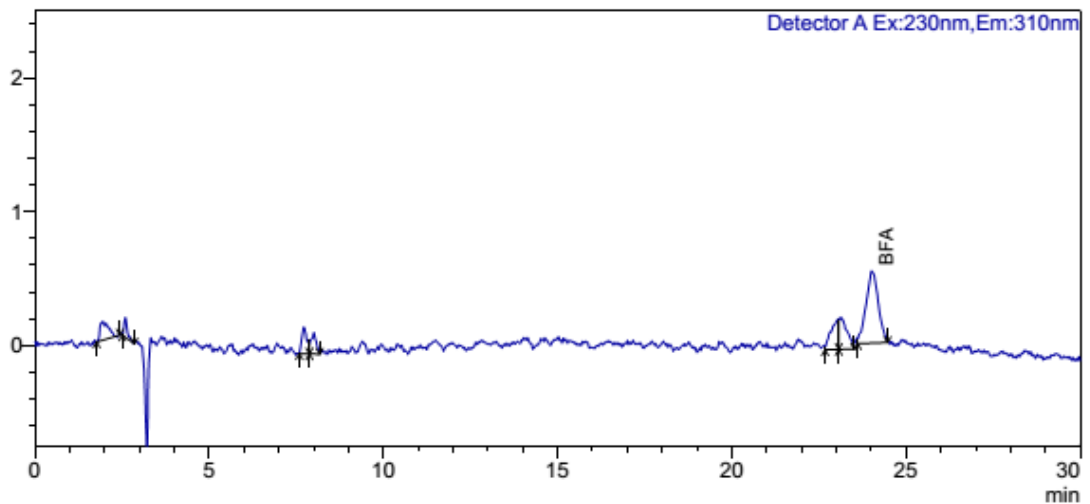
Analysis Report

<Sample Information>

Acquired by : System Administrator
Sample Name : STD 10 ppb INY 1
Sample Type : Standard
Vial# : 1
Data Filename : STD 10 ppb INY 1.lcd
Date Acquired : 18/07/2017 02:46:31 p.m.
Date Processed : 21/07/2017 07:05:52 p.m.

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

STD 10 ppb INY 1

Detector A Ex:230nm, Em:310nm

Peak#	Ret. Time	Area	Conc.	Unit	Name
1	1.946	2286	0.000		
2	2.592	898	0.000		
3	7.712	2063	0.000		
4	8.004	1641	0.000		
5	23.042	3412	0.000		
6	23.130	3827	0.000		
7	24.006	13211	10.270	ug/L	BFA
Total		27339			

Grafica 10



SHIMADZU
LabSolutions

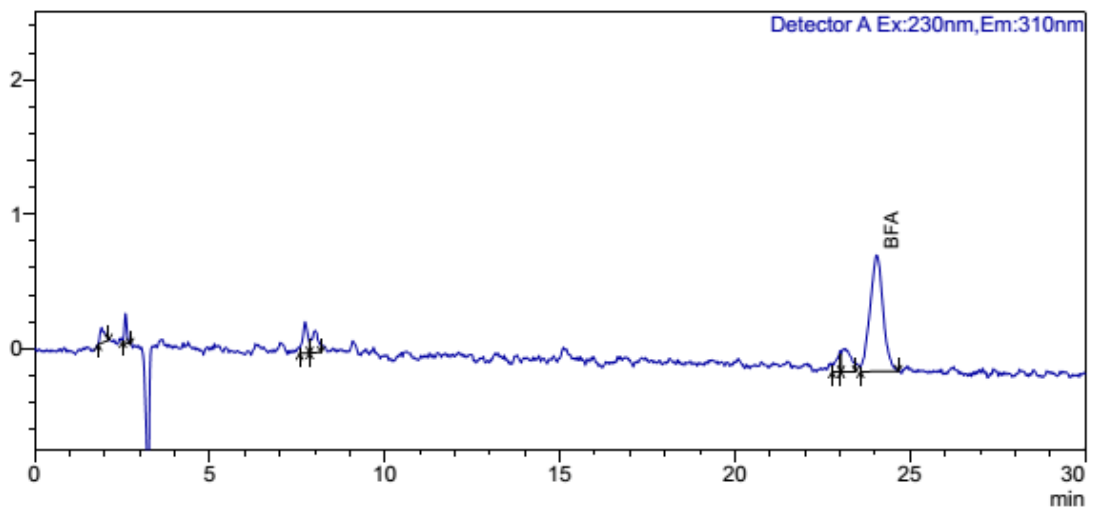
Analysis Report

<Sample Information>

Acquired by : System Administrator
Sample Name : STD 15 ppb INY 1
Sample Type : Standard
Vial# : 1
Data Filename : STD 15 ppb INY 1.lcd
Date Acquired : 18/07/2017 03:47:28 p.m.
Date Processed : 21/07/2017 07:06:05 p.m.

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

STD 15 ppb INY 1

Detector A Ex:230nm,Em:310nm

Peak#	Ret. Time	Area	Conc.	Unit	Name
1	1.909	1059	0.000		
2	2.589	1008	0.000		
3	7.720	2306	0.000		
4	8.009	2148	0.000		
5	22.997	1446	0.000		
6	23.166	3195	0.000		
7	24.041	22512	15.405	ug/L	BFA
Total		33674			

Grafica 11



SHIMADZU
LabSolutions

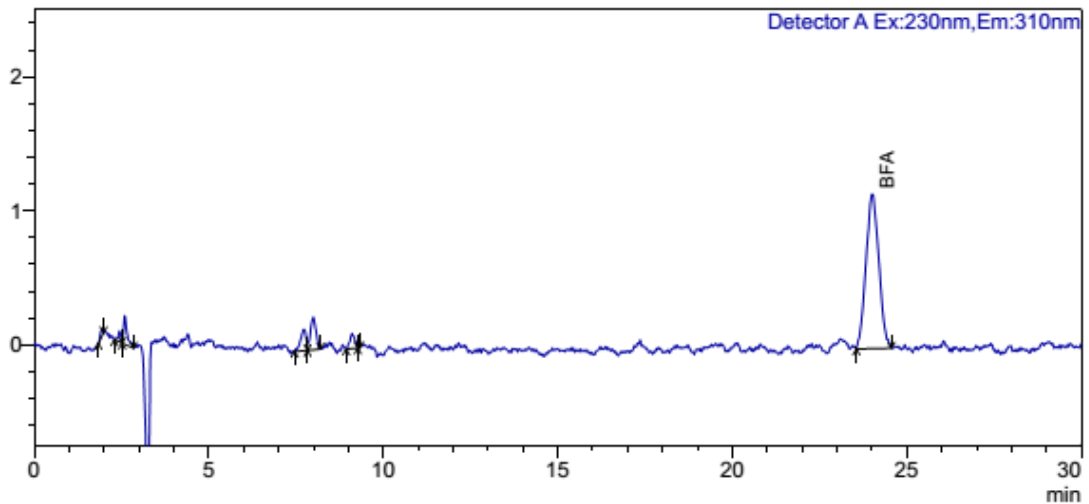
Analysis Report

<Sample Information>

Acquired by : System Administrator
Sample Name : STD 20 ppb INY 1
Sample Type : Standard
Vial# : 1
Data Filename : STD 20 ppb INY 1.lcd
Date Acquired : 18/07/2017 04:48:27 p.m.
Date Processed : 21/07/2017 07:06:09 p.m.

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

STD 20 ppb INY 1

Detector A Ex:230nm, Em:310nm

Peak#	Ret. Time	Area	Conc.	Unit	Name
1	1.936	287	0.000		
2	2.441	460	0.000		
3	2.585	1460	0.000		
4	7.725	1778	0.000		
5	7.993	2659	0.000		
6	9.104	1096	0.000		
7	9.283	28	0.000		
8	23.997	29525	20.325	ug/L	BFA
Total		37292			

Grafica 12



SHIMADZU
LabSolutions

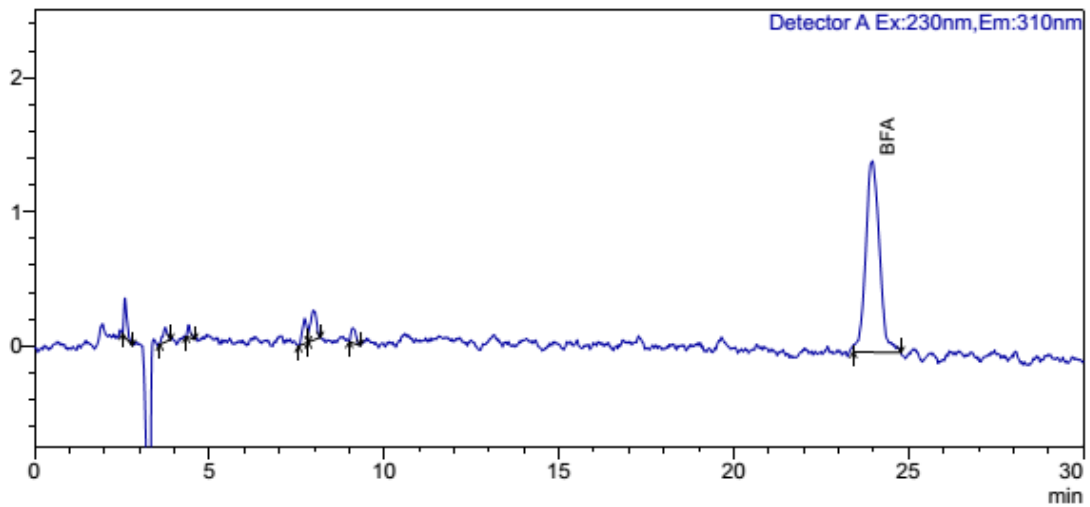
Analysis Report

<Sample Information>

Acquired by : System Administrator
Sample Name : STD 25 ppb INY 1
Sample Type : Standard
Vial# : 1
Data Filename : STD 25 ppb INY 1.lcd
Date Acquired : 18/07/2017 05:49:26 p.m.
Date Processed : 21/07/2017 07:06:12 p.m.

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

STD 25 ppb INY 1

Detector A Ex:230nm, Em:310nm

Peak#	Ret. Time	Area	Conc.	Unit	Name
1	2.578	1663	0.000		
2	3.736	1025	0.000		
3	4.403	558	0.000		
4	7.725	1692	0.000		
5	7.973	2716	0.000		
6	9.098	1095	0.000		
7	23.961	38911	25.815	ug/L	BFA
Total		47661			

Grafica 13



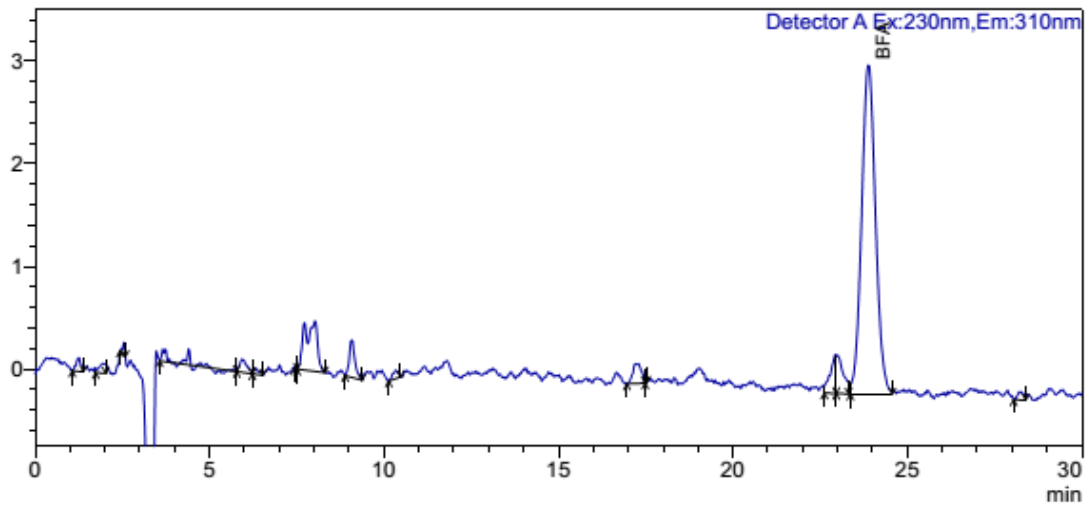
Analysis Report

<Sample Information>

Acquired by : System Administrator
 Sample Name : STD 50 ppb INY 2
 Sample Type : Standard
 Vial# : 1
 Data Filename : STD 50 ppb INY 2.lcd
 Date Acquired : 21/07/2017 06:02:36 p.m.
 Date Processed : 21/07/2017 07:15:35 p.m.

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

STD 50 ppb INY 2

Peak#	Ret. Time	Area	Conc.	Unit	Name
1	1.258	1322	0.000		
2	1.980	1186	0.000		
3	2.547	514	0.000		
4	4.395	1755	0.000		
5	5.928	1895	0.000		
6	6.310	614	0.000		
7	7.450	63	0.000		
8	8.026	12116	0.000		
9	9.071	4140	0.000		
10	10.329	932	0.000		
11	17.241	3280	0.000		
12	17.525	33	0.000		
13	22.928	4404	0.000		
14	23.000	4994	0.000		
15	23.870	88864	51.660	ug/L	BFA
16	28.202	1013	0.000		
Total		127126			

Tabla 14

Datos cromatográficos del BPA en MUESTRA "A.1"

N° de Inyección	Tiempo de Retención, min	Área	Concentración HPLC, ug/L
MUESTRA A.1 Inyección 1	N.D.	N.D.	N.D.
MUESTRA A.1 Inyección 2	N.D.	N.D.	N.D.
MUESTRA A.1 Inyección 3	N.D.	N.D.	N.D.
MUESTRA A.1 Inyección 4	N.D.	N.D.	N.D.
Promedio	N.D.	N.D.	N.D.

Tabla 15

Datos cromatográficos del BPA en MUESTRA "B.1"

N° de Inyección	Tiempo de Retención, min	Área	Concentración HPLC, ug/L
MUESTRA B.1 Inyección 1	N.D.	N.D.	N.D.
MUESTRA B.1 Inyección 2	N.D.	N.D.	N.D.
MUESTRA B.1 Inyección 3	N.D.	N.D.	N.D.
MUESTRA B.1 Inyección 4	N.D.	N.D.	N.D.
Promedio	N.D.	N.D.	N.D.

Tabla 16

Datos cromatográficos del BPA en MUESTRA "C.1"

N° de Inyección	Tiempo de Retención, min	Área	Concentración HPLC, ug/L
MUESTRA C.1 Inyección 1	N.D.	N.D.	N.D.
MUESTRA C.1 Inyección 2	N.D.	N.D.	N.D.
MUESTRA C.1 Inyección 3	N.D.	N.D.	N.D.
MUESTRA C.1 Inyección 4	N.D.	N.D.	N.D.
Promedio	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. : No detectado
 (*)L.D.D.: Límite de detección= 7.190 ug/L ± 0.478 ug/L.

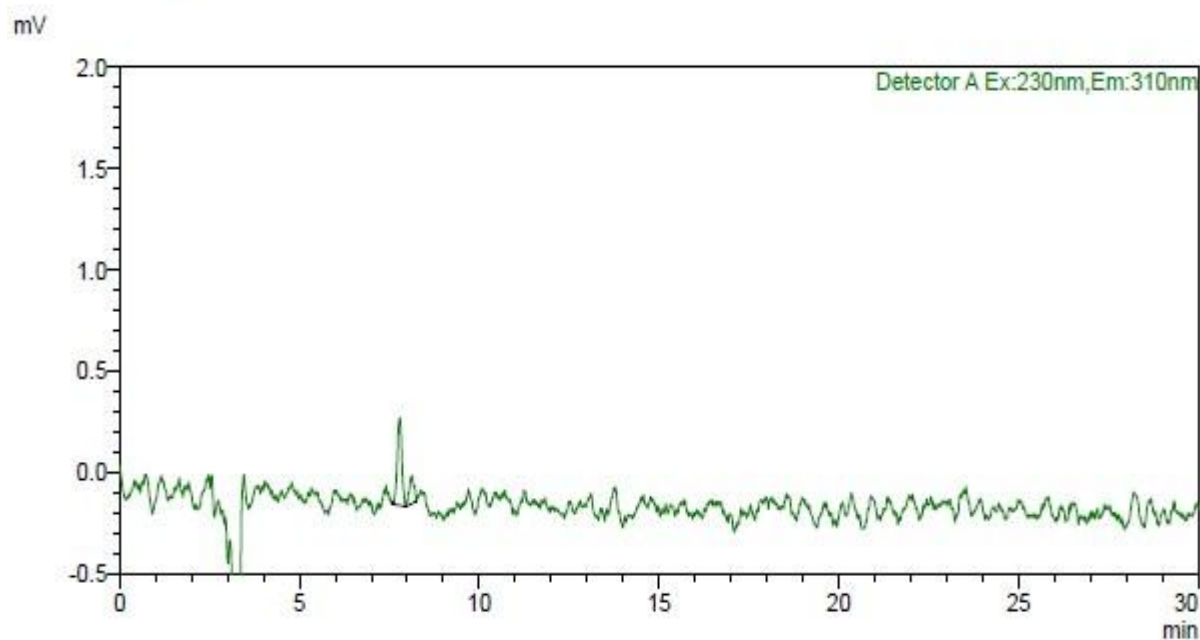


Analysis Report

<Sample Information>

Acquired by : System Administrator
 Sample Name : MUESTRA A.2 INY1
 Sample Type : Unknown
 Vial# : 4
 Injection Volume : 10 uL
 Date Acquired : 02/09/2017 02:30:31 a.m.
 Date Processed : 05/09/2017 04:22:17 p.m.

<Chromatogram>



<Peak Table>

Detector A Ex:230nm,Em:310nm

Peak#	Ret. Time	Area	Conc.	Unit	Name
1	7.592	6	0.000		
2	7.792	3893	0.000		
3	8.125	1254	0.000		
Total		5153			

Grafico 15

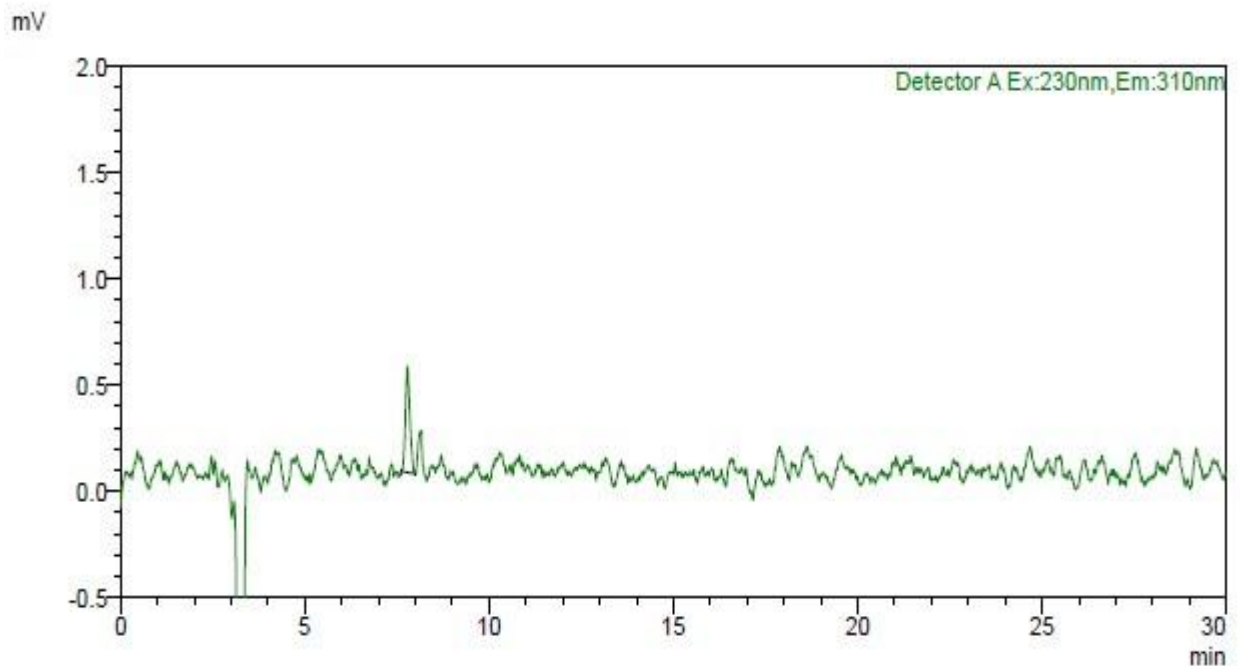


Analysis Report

<Sample Information>

Acquired by : System Administrator
Sample Name : MUESTRA B.1 INY2
Sample Type : Unknown
Vial# : 5
Injection Volume : 10 uL
Date Acquired : 02/09/2017 04:01:58 a.m.
Date Processed : 05/09/2017 04:39:58 p.m.

<Chromatogram>



<Peak Table>

Detector A Ex:230nm,Em:310nm

Peak#	Ret. Time	Area	Conc.	Unit	Name
1	7.781	4211	0.000		
Total		4211			

Grafico 16

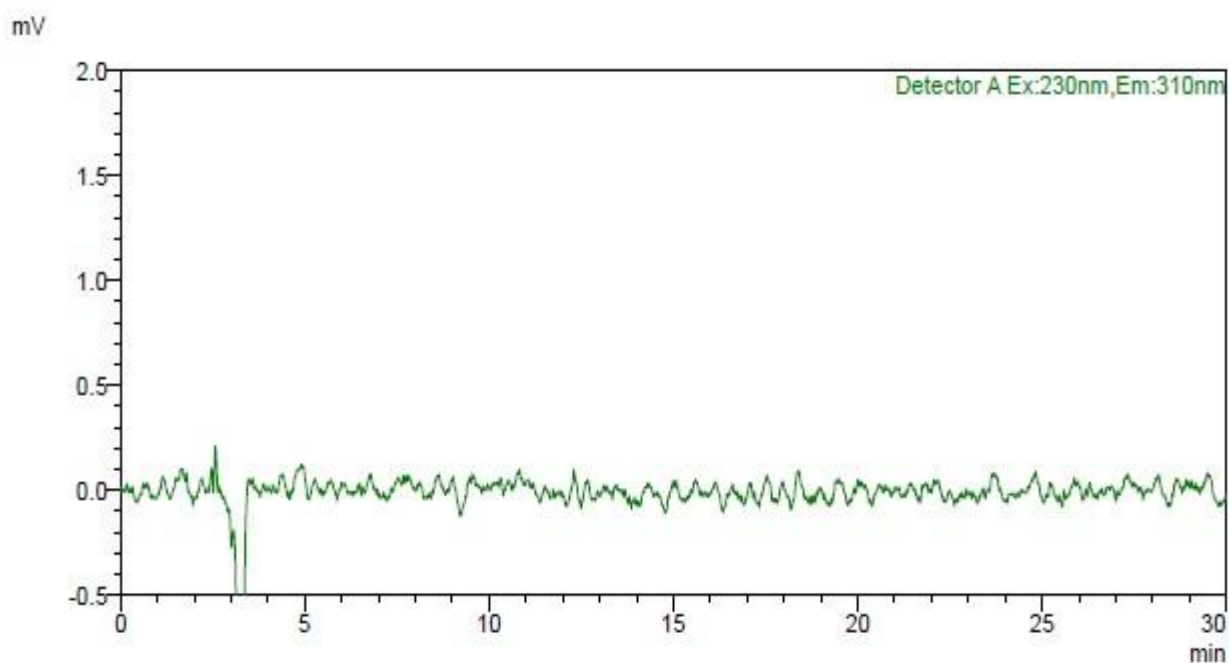


Analysis Report

<Sample Information>

Acquired by : System Administrator
Sample Name : MUESTRA C.1 INY1
Sample Type : Unknown
Vial# : 6
Injection Volume : 10 uL
Date Acquired : 02/09/2017 05:33:27 a.m.
Date Processed : 05/09/2017 04:22:29 p.m.

<Chromatogram>



<Peak Table>

Detector A Ex:230nm,Em:310nm

Peak#	Ret. Time	Area	Conc.	Unit	Name
Total					

Anexos

SIGMA-ALDRICH

sigmaaldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

Website: www.sigmaaldrich.com

Email USA: techserv@sigmaaldrich.com

Outside USA: eurtechserv@sigmaaldrich.com

Certificate of Analysis

Product Name:
Bisphenol A - ≥ 99%

Product Number: 233658
Batch Number: MKBK9458V
Brand: ALDRICH
CAS Number: 80-05-7
MDL Number: MFCD00002386
Formula: C₁₅H₁₆O₂
Formula Weight: 228.29 g/mol
Quality Release Date: 08 APR 2016



Test	Specification	Result
Appearance (Color)	White	White
Appearance (Form)	Conforms to Requirements	Beads
Powder, Beads or Granules		
Infrared Spectrum	Conforms to Structure	Conforms
Purity (HPLC)	≥ 99.9 %	100.0 %
Solubility (Turbidity)	Clear	Clear
60 MG/ML METHANOL		
Solubility (Color)	Colorless	Colorless

Michael Grealy, Manager
Quality Control
Milwaukee, WI US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Version Number: 1

Page 1 of 1

Application News

High Performance Liquid Chromatography

No.L408

Applications Using "Prominence RF-20Axs" Fluorescence Detector (Part 6)
Analysis of Bisphenol A at High Sensitivity

Fluorescence detectors are widely used in the environmental analysis due to their high sensitivity and high selectivity. Even trace amounts of chemical compounds often affect the ecosystem. Bisphenol A is one of such compounds for which trace-level analysis of environmental water is greatly required.

Here we introduce examples of high-sensitivity analysis of bisphenol A using the Prominence RF-20Axs fluorescence detector by direct injection and by using an automated column-switching pre-concentrating system.

■ Analysis of Bisphenol A by Direct Injection

Fig. 1 shows the structure of bisphenol A. There is concern that bisphenol A, a substance that is widely used as a raw material in polycarbonate and epoxy resin, can adversely affect the endocrine system.

Bisphenol A can be analyzed by HPLC with a fluorescence detector due to its natural fluorescence property. In this experiment, high-sensitivity analysis by direct injection without pre-concentration was performed using the Prominence RF-20Axs.

Fig. 2 shows the chromatogram obtained after injecting 10 μ L of bisphenol A standard solution (1 μ g/L, diluted with water following dissolution in methanol). The on-column amount of bisphenol A is 10 pg, and a detection limit (S/N = 3) of 4 pg was obtained.

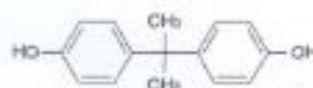


Fig. 1 Structure of Bisphenol A

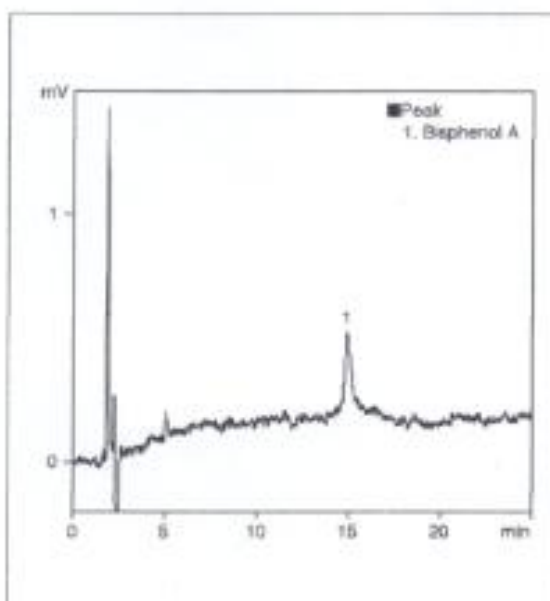
Fig. 2 Chromatogram of Bisphenol A (1 μ g/L, 10 μ L injected)

Table 1 Analytical Conditions

Column	: Shim-pack VP-ODS (150 mmL, ϕ 4.6 mm, D)
Mobile Phase	: 10 mmol/L (sodium) phosphate buffer (pH2.6) / Acetonitrile = 65 / 35 (v / v)
Flow Rate	: 0.8 mL/min
Column Temperature	: 40 $^{\circ}$ C
Injection Volume	: 10 μ L
Detection	: RF-20Axs Ex. at 230 nm, Em. at 310 nm
Cell Temperature	: 30 $^{\circ}$ C

■ Analysis of Bisphenol A with an Automated Column-Switching Pre-Concentrating System

An example of the analysis of bisphenol A using an automated column-switching pre-concentrating LC/MS system was presented in Application News No. L398, however, here we performed ultra-high sensitivity analysis using the RF-20Axs fluorescence detector. Fig. 3 shows a flow diagram of this system, and Table 2 shows the analytical conditions used.

With this system, 50 mL of sample is injected using a pump for sample concentration, and analysis is conducted after the sample is concentrated by the pretreatment column. (For details on the column switching system, refer to Application News No. L398).

Table 2 Analytical Conditions

Analytical Column	Shim-pack VP-ODS (150 mmL × 4.6 mmI.D.)
Pretreatment Column	GVT-ODS (10 mmL × 4.6 mmI.D.)
Mobile Phase	10 mmol/L (sodium) phosphate buffer (pH 2.6) / Acetonitrile = 65 / 35 (v/v)
Flow Rate	0.8 mL/min (analysis) 2.0 mL/min (concentration)
Column Temperature	40 °C
Injection Volume	50 mL
Detection	RF-20Axs Ex. at 230 nm, Em. at 310 nm
Cell Temperature	30 °C

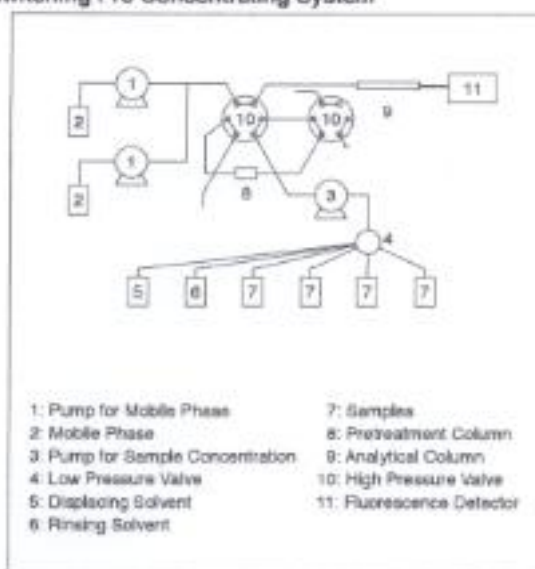


Fig. 3 Flow Diagram

Fig. 4 shows the chromatograms obtained from 6 repeated injections of a 10 ng/L bisphenol A standard solution. Excellent peak area repeatability ($n = 6$) was obtained, with 1.4 % RSD. In addition, it was evident from the chromatogram obtained from an analysis of a 1 ng/L bisphenol A standard solution that high-sensitivity analysis with a detection limit of 0.1 ng/L ($S/N = 3$) was possible.

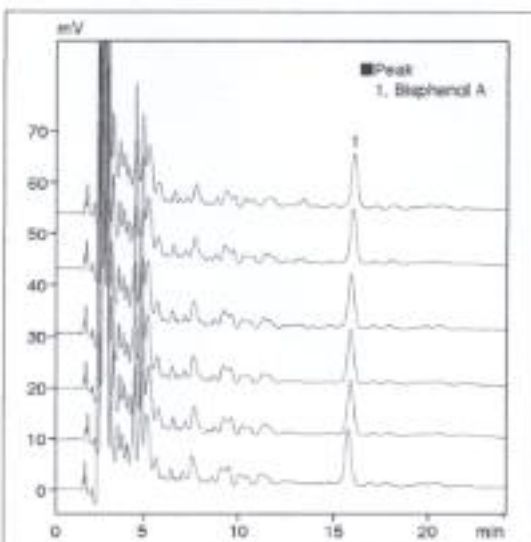


Fig. 4 Repeated Analyses of Bisphenol A (10 ng/L, 50 mL injected)

Fig. 5 shows an analysis of river water sample spiked with 2.5 ng/L bisphenol A. (The detection limit in the actual sample is different from that of the standard solution due to the influence of the matrix.)

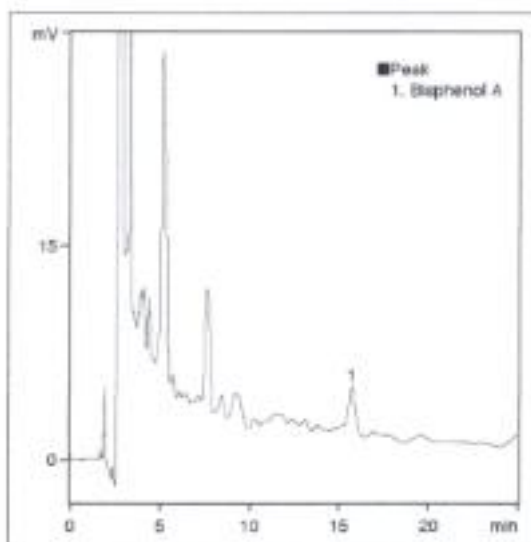


Fig. 5 Chromatogram of River Water (spiked with 2.5 ng/L bisphenol A standard)

 **SHIMADZU**

SHIMADZU CORPORATION, International Marketing Division

1-1, Katsushika-cho, 1-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8448, Japan Phone: 81(3)3218-5841 Fax: 81(3)3218-6710

Cable Adu.SHMADZU TOKYO



ELECTROMEDICA PERUANA S.A.

Magdalena, 16 de Mayo del 2017

Cotización N° SH-20170365

Señores

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA

Av. Tupac Amaru s/n

Rímac, Lima

Ref. : Su Solicitud de Cotización

Estimados señores:

A continuación encontrarán la cotización solicitada.

Item	Descripción	Unid.	Cant.	Precio Unitario en Soles	Precio Total en Soles
1	Shim-pack SPC-RP2, 4.6 mm x 1 cm Marca: SHIMADZU Código: 228-18838-91 Procedencia: JAPON.	unid.	1	5540.57	5540.57
				SUB TOTAL S/.	5,540.57
				I.G.V S/.	997.30
				TOTAL INC. I.G.V. S/.	6,537.88

CONDICIONES DE VENTA:

Forma de Pago : Factura a los 30 días

Precios : En Soles

Tiempo de entrega : 45-60 días

Validez de la Oferta : 15 días.

Sin otro particular nos despedimos de ustedes.

Atentamente ,

Electromédica Peruana S.A.


.....
Ing. Juan Miyamoto A.
Gerente División Analítica

Av. Prolg. Javier Prado Oeste Nro. 630 – Magdalena del Mar – Lima 17 – Perú Telf: 460-1317 – Fax: 460-1448 / 461-0434

E-Mail: analitica@empesa.net

www.empesa.net



Material y equipos completamente esterilizados.



Muestra A, seleccionada para proceder a extraer 100 mL.



Muestra B, seleccionada para proceder a extraer 100 mL.



Muestra C, Con su rotulación respectiva



Procedimiento de extracción de 100 mL. De cada botella de la muestra A.



Culminando de extraer los 1000 mL. De la muestra A, B, C.



Muestras con sus respectivos códigos para ser transportados para su análisis al laboratorio.



Todas las muestras sometidas al estrés aplicando calor a 37° C, controlado en Estufa.