



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**UNIDAD XOCHIMILCO**

---

---

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**MIGRACIÓN DE FTALATOS EN AGUA EMBOTELLADA PARA  
CONSUMO HUMANO QUE SE COMERCIALIZA EN EL SUR  
DE LA CIUDAD DE MÉXICO**

**T E S I S**

(Idónea Comunicación de Resultados)

**Que para obtener el grado de  
Maestra en Ciencias Agropecuarias**

**PRESENTA**

**Biól. Marcela Vazquez Francisca**

**COMITÉ TUTORAL**

Director

Dr. Salvador Vega y León

Co-director

Dr. Rey Gutiérrez Tolentino

Asesor

Dr. José Jesús Pérez González

México, D. F. a 04 de mayo de 2016

El jurado designado por la Comisión de la Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, aprobó la tesis titulada “migración de ftalatos en agua embotellada para consumo humano que se comercializa en el sur de la Ciudad de México”.

Que presentó

Biól. Marcela Vazquez Francisca

04 de mayo de 2016

Jurado:

  
\_\_\_\_\_  
Presidente: Dr. Vicente J. Hernández Abad

  
\_\_\_\_\_  
Secretario: Dr. José Jesús Pérez González

  
\_\_\_\_\_  
Vocal: Juan Gabriel Rivera Martínez

## **Agradecimientos**

A la Universidad Autónoma Metropolitana por abrirme las puertas de esta casa de estudios y permitirme continuar con mi formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para el desarrollo del presente proyecto.

A mi comité tutorial; el Dr. Salvador Vega, Dr. Rey Gutiérrez y Dr. Jesús Pérez por confiar en mí para el desarrollo de este trabajo de investigación, por su constante apoyo y asesoría durante toda la Maestría.

Así mismo agradezco al Dr. Arturo Escobar del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), de la Habana, Cuba por su asesoría y orientación en el desarrollo y culminación de esta tesis.

A todos mis compañeros del Laboratorio de Análisis Instrumental, que de alguna manera me apoyaron en el desarrollo y mejora de este proyecto a la Mtra. Beatriz Schettino, Dr. Rutilio Ortiz, Clemente Sierra, Javier Chay, finalmente a Marcela Ortiz por bríndame su amistad y apoyo durante la fase experimental.

## Dedicatoria

Antes que nada quiero agradecer a Dios por permitirme llegar hasta este momento y poder cumplir mis proyectos.

Quiero dedicar este logro a cada integrante de mi familia, especialmente a mi mamá (Joaquina) y mi papá (José) porque sin ellos nada de esto hubiera sido posible, por darme la vida y su apoyo incondicional en cada uno de mis proyectos de vida-¡Gracias viejitos! Y los quiero muchísimo-. A mi esposo Javier por motivarme y apoyarme a emprender este proyecto y del mismo modo por su incondicional apoyo para concluirlo -Muchas gracias amor-.

A mi hermana Lucia por sus consejos y apoyo en todo momento, por esas palabras de ánimo cuando más las necesito y porque eres más que una hermana eres mi amiga -Te quiero mucho flaquita-. A mi hermano (Margarito), mi cuñada (Fernanda) y mis sobrinas (Dany y Ximena) por brindarme siempre su cariño y palabras de aliento para continuar cada proyecto -Los quiero mucho-.

¡Gracias a todos por estar conmigo!

# Índice

Índice de figuras .....	iv
Índice de cuadros .....	vi
Índice de abreviaturas .....	vii
Resumen.....	ix
Abstract.....	xi
1. Introducción.....	1
2. Marco teórico y marco de referencia.....	2
2.1. Envasado .....	2
2.2. Sustancias que migran del envase a los alimentos .....	5
2.3. Ftalatos.....	6
2.3.1. Características físicas y químicas de los ftalatos.....	8
2.3.2. Exposición a ftalatos.....	10
2.3.3. Migración y factores para la migración de ftalatos.....	12
2.3.4. Antecedentes de la presencia de ftalatos en alimentos.....	14
2.4. Importancia del agua.....	17
2.5. Estudios en México .....	19
2.5.1 Contaminación del agua embotellada.....	20
2.5.2. Presencia de ftalatos en bebidas.....	21
2.6. Efecto de los ftalatos en la salud.....	23

2.6.1. Metabolismo de los ftalatos.....	26
2.7. Normatividad.....	27
2.8. Métodos de análisis.....	30
2.8.1. Métodos para la determinación y cuantificación de ftalatos en alimentos .....	31
2.8.2. Desarrollo de un método analítico .....	33
3. Hipótesis.....	38
4. Objetivos.....	38
4.1. Objetivo general.....	38
4.2. Objetivos específicos.....	38
5. Materiales y métodos .....	39
5.1. Zona de estudio .....	39
5.2. Toma de muestras.....	39
5.3. Preparación de las soluciones de trabajo.....	39
5.4. Establecimiento de las condiciones de operación del equipo .....	42
5.5. Extracción de ftalatos en agua .....	43
5.6. Validación interna del método .....	44
5.7. Análisis estadístico .....	46
6. Resultados y discusión .....	46
6.1. Establecimiento de las condiciones de operación del equipo .....	46
6.2. Extracción de ftalatos en agua .....	47

6.3. Validación interna del método .....	47
6.4. Evaluación de migración de ftalatos en almacenaje .....	50
6.5. Migración de ftalatos en envases reutilizados .....	53
6.6. Contenido de ftalatos en cuatro marcas de agua .....	56
7. CONCLUSIONES .....	60
8. RECOMENDACIONES .....	60
9. BIBLIOGRAFÍA.....	61

	<b>Índice de figuras</b>	<b>Página</b>
Figura 1	Estructura general de los ftalatos	7
Figura 2	Estructura del FDEH	8
Figura 3	Proceso de pérdida del plastificante	13
Figura 4	Migración de ftalatos: 1) Migración de ftalato de dibutilo con tres temperaturas en aceite de cocina (A) y agua mineral (B). 2) Aumento de la concentración de ftalatos a 20°C durante dos meses en aceite de cocina (A) y agua mineral (B)	16
Figura 5	Cromatograma de la mezcla de los 5 estándares a una concentración de 1mg mL <sup>-1</sup>	46
Figura 6	Linealidad de los compuestos FDE, FDB y FBB	50
Figura 7	Linealidad de FDEH y FDIIN	50
Figura 8	Presencia de ftalato de dibutilo, ftalato de benzilbutilo y ftalato de diisononilo en las muestras de agua durante el tratamiento	51
Figura 9	Migración de FDEH durante 77 días en tres condiciones de almacenaje	53
Figura 10	Migración de FDB, FBB y FDIIN en botellas rellenas	54
Figura 11	Migración de FDEH en agua destilada	55
Figura 12	Integración de la migración de FDEH	56



Figura 13 Resultados de ftalatos en diferentes marcas de agua 59  
embotelladas en la Ciudad de México.

	<b>Índice de cuadros</b>	<b>página</b>
Cuadro 1	Principales materiales utilizados para el envasado de alimentos	3
Cuadro 2	Propiedades físicas y químicas de cinco ftalatos	9
Cuadro 3	Valores máximo de exposición vía oral a ftalatos	28
Cuadro 4	Métodos analíticos para sustancias inorgánicas y orgánicas en diferentes matrices	30
Cuadro 5	Datos de cada ftalato para obtener el volumen	41
Cuadro 6	Gradiente, longitud de onda, flujo y volumen de inyección en HPLC	43
Cuadro 7	Concentraciones con las que se fortificaron las muestras de agua	45
Cuadro 8	Datos del tiempo de retención (Tr), porcentaje de recuperación (%rec.), precisión y límites de detección (LD) y cuantificación (LC) en la validación interna del método	48
Cuadro 9	Presencia de esteres de ftalatos en agua embotelladas comercializadas en la Cuida de México.	57

## Índice de abreviaturas

CENAM: Centro Nacional de Metrología

CLAR: Cromatografía Líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés)

FBB: Ftalato de benzilbutilo

FDB: Ftalato de dibutilo

FDE: Ftalato de dietilo

FDEH o FDO: Ftalato de di-etilhexilo o ftalato de dioctilo

FDIB: Ftalato de diisobutilo

FDID: Ftalato de diisodecilo

FDIIN: Ftalato de diisononilo

FDM: Ftalato de dimetilo

FDnO: Ftalato de di-n-octilo

FmB: Ftalato de monobenzilo

FmDEH: Ftalato de mono- (2-etilhexilo)

FmDO: Ftalato de monodioctilo

FmN: Ftalato de monoisononilo

HCH: hexaclorociclohexano

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

PET: Tereftalato de polietileno

PVC: Cloruro de polivinilo

U.S.EPA: United States Environmental Protection Agency

## Resumen

Los ftalatos se emplean como aditivos en la manufactura de plásticos, pinturas y cosméticos para incrementar su flexibilidad, transparencia y durabilidad. En la última década el consumo de agua embotellada ha aumentado y México constituye el primer consumidos a nivel global. El objetivo de este trabajo fue evaluar la migración de los ésteres de ftalatos del envase plástico de agua a diferentes temperaturas y estudiar tres marcas de mayor distribución y una de menor consumo en relación con la presencia de ftalatos

Se detectaron cuatro compuestos de ésteres de ftalatos en el agua de los envases plásticos donde se estudió la migración a diferentes temperaturas. El ftalato de bis(2etilhexilo) (FDEH) presentó la mayor incidencia en un 94.4%, mientras el ftalato de dibutilo (FDB) y el ftalato de benzilbutilo (FBB) mostraron un 50% cada uno. El FDEH presentó la mayor concentración oscilando entre 86-630  $\mu\text{g L}^{-1}$ , superando al resto de los analitos entre los tres tratamientos. Se observó un incremento ascendente en el tiempo con coeficiente de correlación superior a 0.6, en todos los tratamientos se alcanzó el mayor valor de concentración a los 67 y 70 días. En relación al agua destilada en envase plástico se encontró que el FBB (5.5%) tiene menor incidencia y el ftalato de diisononilo (FDIIN) solo aparece en los tratamiento de 23 y 35°C con un porcentaje de 8 y 5.5% respectivamente. FDEH se encuentra en el 100% de todas las muestras y la concentración más alta.

Los resultados tanto en el agua embotellada como de agua destilada confirman la migración de ftalatos desde el plástico hacia el agua.

En las cuatro marcas de agua embotellada se identificaron FDB, FBB y FDEH con una frecuencia de 54, 25 y 96% respectivamente. En la marca 1 dos muestras sobrepasan el valor permitido para el FDEH (0.05 mg/kg/día), mientras el FDB y FBB se encuentran por debajo de valor establecido por la Unión Europea (U.E.).

Los resultados encontrados alertan a las agencias reguladoras de México acerca de la presencia de ftalatos en agua, considerado como uno de los contaminantes emergentes en el último lustro debido a su relación directa con disruptores endocrinos donde afectan funciones biológicas en animales y seres humanos.

**Palabras Clave:** Ftalatos, Temperatura, Migración, Agua embotellada

## Abstract

Phthalates are used as additives in the manufacture of plastics, paints and cosmetics to increase their flexibility, transparency and durability. In the last decade the consumption of bottled water has increased and Mexico is globally the first consumer. The objective of this study was to evaluate the migration of phthalate esters plastic container of water at different temperatures and study three brands most widely distributed and lower consumption in relation to the presence of phthalates.

Four compounds of phthalate esters were detected in water from plastic containers where migration was studied at different temperatures. The di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) had the highest incidence by 94.4%, while dibutyl phthalate (DBP) and butyl benzyl phthalate (BBP) showed 50% each. The DEHP had the highest concentration ranging from 86-630  $\mu\text{g L}^{-1}$ , outperforming the rest of the analytes between the three treatments. An upward increase was observed in time with coefficient greater than 0.6 correlations in all treatments the highest concentration value at 67 and 70 days was achieved. Regarding the plastic container in distilled water it was found that the BBP (5.5%) and a lower incidence diisononyl phthalate (DIINP) appears only on treatment of 23 and 35 ° C with a ratio of 8 and 5.5% respectively. DEHP is 100% in all samples and the highest concentration.

The results in both bottled water and distilled water confirm the migration of phthalates from plastic to water.

The four brands of bottled water were identified DBP, BBP and DEHP with a frequency of 54, 25 and 96% respectively. In brand 1 two samples exceeded the permissible value for DEHP (0.05 mg / kg / day), while the DBP and BBP are below the value set by the European Union (E. U.).

The results alert Mexico regulatory agencies about the presence of phthalates in water, considered one of the emerging contaminants in the last five years because of its direct relationship to endocrine disruptors which affect biological functions in animals and humans.

**Keywords:** Phthalates, Temperature, Migration, Bottled water



## 1. Introducción

El consumo de agua embotellada a nivel global ha incrementado de forma considerable no solo en cantidad sino en variedad de formas comerciales. Asia, Europa y América del Norte son los mayores consumidores de agua embotellada con el 31, 28,2 y 23,7% respectivamente del consumo total (EFBW, 2016). El promedio *per cápita* de consumo de agua embotellada a nivel global osciló desde 4.6 L hasta 234, donde México es el principal consumidor con un promedio de 234 L per cápita, seguido de Italia y los Emiratos Árabes con 186 y 153,5 L respectivamente. (Morales, 2012).

La inocuidad alimentaria es un problema que hoy en día ha retomado vigencia, debido a la presencia de sustancias químicas en los alimentos destinados al consumo al humano, lo que hace que este tema sea cada vez más importante.

Para realizar un estudio de inocuidad alimentaria completo es necesario abarcar todo el proceso desde la producción primaria hasta el procesamiento y el consumo (Código Alimentario, 2008).

El proceso de envasado es importante ya que todo material que se encuentre en contacto con los alimentos debe estar elaborado de conformidad con las buenas prácticas de fabricación y de acuerdo a lo establecido en la normatividad. En ningún caso los envases podrán transferir sus componentes a los alimentos en cantidades que pudieran representar un peligro para la salud humana, provocar una modificación inaceptable de la composición de los alimentos o una alteración de las características sensoriales de los alimentos (UE, 2004). Se ha visto en los

últimos años que en esta etapa del proceso es donde se encuentra mayor incidencia en la contaminación de los alimentos. Por lo anterior el objetivo del presente estudio fue evaluar la migración y contenido del número de ftalatos presente en muestras de agua embotellada que se comercializa en el sur de la Ciudad de México.

## **2. Marco teórico y marco de referencia**

### **2.1. Envasado**

El envase es el contenedor que está en contacto directo con el producto, en este caso los alimentos, identificándose diferentes tipos de envase de acuerdo a su función, como se exponen a continuación:

Envase primario: Se encuentra en contacto directo con el producto, generalmente permanece en él hasta su consumo. Su principal función es mantener las características del producto protegiéndolo de contaminantes ambientales, así como de microorganismos patógenos potenciales transmisores de enfermedades a través de los alimentos y finalmente brindar información sobre el producto.

Envase secundario: Este contiene a los envases primarios y los accesorios de embalaje como separadores u otros que sirven para proteger al envase primario. En algunos casos este sirve para exhibir al producto y se desecha una vez que se adquiere, también proporciona información y hace más fácil su almacenaje protegiendo a los envases primarios.

Envase terciario: este último envase contiene tanto a envases primarios como secundarios. Se utiliza para agrupar, manipular, almacenar y trasladar los productos (Mathon, 2012).

Generalmente los materiales que se encuentran en contacto directo con los alimentos se les conoce como envase y mientras que a los envases secundarios y terciarios se les denomina como embalaje ya que estos contienen a los envases primarios o contienen alimentos que no necesitan ser envasados como frutas.

El envasado de alimentos es una actividad que se ha venido desarrollando desde los años 20's, ya que la demanda de alimentos aumenta constantemente debido al crecimiento de la población a nivel global. De este modo la especie humana tiene cada vez más la necesidad de desarrollar nuevos materiales para la conservación de los alimentos. En el cuadro 1 se presentan los materiales utilizados para el envasado de alimentos de forma cronológica con sus ventajas y desventajas (Mathon, 2012).

Cuadro 1. Principales materiales utilizados para el envasado de alimentos.

<b>MATERIAL</b>	<b>VENTAJAS</b>	<b>DESVENTAJAS</b>
Fibras naturales	Degradables No contaminan a los alimentos Fácil adquisición	No son herméticos (fácil contaminación por agentes externos) Permeables a aromas y líquidos
Papel y cartón**	Reciclables, degradables y ligeros Versatilidad de formas y	Algunos pueden ser frágiles y romperse

	<p>dimensiones</p> <p>Fácil impresión y decoración</p> <p>Económicos</p>	<p>Permeables ante gases, aromas y líquidos</p>
Madera**	<p>Renovable, reciclable y degradable</p> <p>Alta resistencia</p> <p>Versatilidad de formas</p> <p>Opaco para productos que no se deben exponer a la luz</p> <p>Bajo costo para su fabricación</p>	<p>Ocupa espacio cuando está vacío</p> <p>Uso limitado para muchos alimentos</p> <p>Permeable (ingreso de aromas y líquidos)</p> <p>Envasado manual, no se cuenta con maquinaria</p>
Vidrio*	<p>Reciclable, diversidad de colores y algunos retornables</p> <p>Impermeable y hermético</p> <p>Versatilidad de formas</p> <p>No altera sabor ni aroma</p> <p>Transparente, permite ver el producto</p>	<p>Costoso</p> <p>Ocupa espacio y el pesado cuando está vacío</p> <p>Puede romperse en cualquier parte del proceso y generar daños</p>
Metal* (hojalata y aluminio)	<p>Reciclable, degradable y ligeros</p> <p>Hermeticidad y maleabilidad</p> <p>Impermeable a la luz</p> <p>Conductividad térmica</p>	<p>Ocupa lugar cuando está vacío</p> <p>Puede oxidarse</p> <p>Problemas por olores si no se limpia bien</p> <p>Puede alterar el sabor de su contenido</p>
Plástico*	<p>Reciclable</p> <p>Económico</p>	<p>Puede ocupar espacio cuando el envase es rígido</p>

	Ligero, irrompible y flexible Versatilidad de formas	Algunos son permeables a los gases, aromas y vapor de agua
--	---	--

\* Únicamente como envase; \*\* Puede usarse como envase y embalaje (Mathon, 2012)

Como anteriormente se mencionó el envasado cumple con diversas funciones, como son guardar, proteger, conservar, identificar y dosificar el producto; también facilita su manejo y en términos de comercialización se ha vuelto de suma importancia ya que la mercadotecnia aprovecha cuestiones de innovación de imagen para incrementar sus ventas. Además la creación del envase facilita la amplia distribución de los productos (Mathon, 2012).

## 2.2. Sustancias que migran del envase a los alimentos

Los material utilizado como envase y que entre en contacto con el alimento debe de fabricarse de acuerdo a las buenas prácticas de manufactura para que en las condiciones normales o previsibles de empleo no produzca migración a los alimentos. Dentro de los componentes que pueden migrar del envase al alimento, se encuentran sustancias como: colorantes, adhesivos, bifenilos policlorados, metales, aditivos, plastificantes, resinas, estaño, revestimientos internos, barnices, agentes de retención y dispersantes, antiespumantes, antimicrobianos, estabilizantes, blanqueadores, solventes, mejoradores de superficie, conservadores, agentes de flotación, drenaje, de encolado interno, encolado superficial (Código Alimentario Argentino, 2013).

El caso específico de los envases de plástico, las sustancias más comunes que pueden migrar al alimento son:

1. Metales: Estos pueden haberse incorporado en el momento en que el plástico se encontraba en su forma líquida.
2. Colorantes: Los cuales se utilizan para darle una presentación específica al envase.
3. Aditivos: Sustancias como monómeros, catalizadores u otros que dan propiedades al plástico de durabilidad y resistencia, soporte al calor, etc.
4. Dioxinas: Estas sustancias se liberan durante la elaboración de diversos materiales plásticos provenientes del cloruro de polivinilo (PVC, por sus siglas en inglés), las cuales también pueden liberarse durante el tiempo que estos materiales se encuentren en contacto con los alimentos.
5. Plastificantes: Algunas de estas sustancias son bisfenoles, alquifenoles y ftalatos, el uso general de ellas es para darle una mayor elasticidad, flexibilidad y resistencia al plástico debido a su fragilidad y en algunos casos resistencia al fuego (Lorenzo, 2010).

### **2.3. Ftalatos**

Por lo antes mencionado el uso del plástico es muy común debido a su practicidad y economía, sin embargo a estos materiales se les debe aplicar diversos aditivos para que tomen las características necesarias. Los plastificantes son los más comúnmente utilizados, ya que estos le dan flexibilidad necesaria así como el rendimiento económico. Dentro del grupo de plastificantes se encuentran los ftalatos, los cuales son los más utilizados ya que del 100% de plastificantes utilizado a nivel mundial, el 93% son ftalatos, dejando el otro 7% a ésteres o poliésteres basados en adipatos, ácido fosfórico, sebático, etc. A estos

plastificantes se les llama primarios ya que son las sustancias que se encuentran en mayor cantidad dentro de una formulación de polímeros (Plastivida, 2007; Morales Méndez, 2010).

Los ftalatos son ésteres aromáticos derivados de ácido ftálico o ácido tereftálico sintetizados por condensación de los alcoholes C4 a C9, también se usan en menor cantidad alquil trimetilatos, triaril fosfatos o alquil diésteres de ácidos orgánicos. La estructura química general de un ftalato (figura 1), está compuesta por ácido bencenodicarboxílico y pares de ésteres (Bustamante-Montes *et al.*, 2001; Mendoza Cantú, 2004; García García, 2006; Plastivida, 2007; Romano Mozo, 2012).

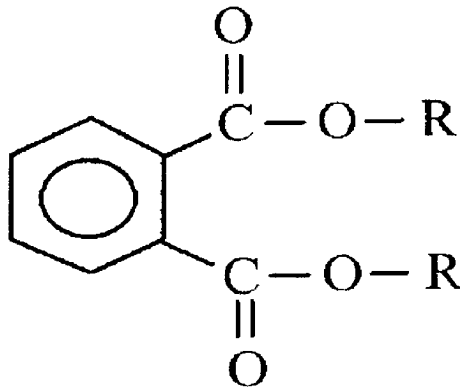


Figura 1. Estructura general de los ftalatos

Los ftalatos se sintetizaron por primera vez en 1920, sin embargo hasta la década de 1950 comenzó su venta a gran escala con la aparición del PVC, para aumentar su flexibilidad y suavidad (Mendoza Cantú, 2004). Existen más de 30 tipos de

ftalatos, sin embargo los más utilizados son: ftalato de di(etilhexilo) (FDEH o FDO), ftalato de diisononilo (FDIIN), ftalato de diisodecilo (FDID), ftalato de benzilbutilo (FBB) y ftalato de dibutilo (FDB) (Cano Serrano *et al.*, 2008. Plastivida, 2007). La concentración de estos plastificantes en una matriz varía de 1 hasta el 80% del peso total de producto. De las cuales el FDEH (figura 2) es el más usado en la industria europea por ser de bajo costo, seguidos por los otros cuatro antes mencionados (Bustamante-Montes *et al.*, 2001; García García, 2006; NTP, 2011; Plastivida, 2007).

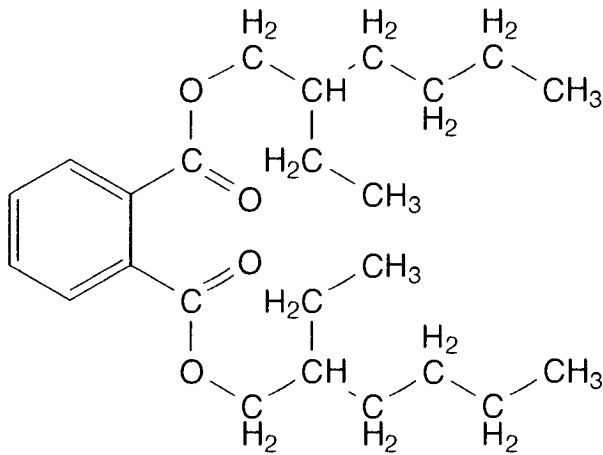


Figura 2. Estructura del FDEH

### 2.3.1. Características físicas y químicas de los ftalatos

Generalmente estos plastificantes tiene una apariencia líquida, aceitosa, incolora y un ligero olor dulce, de naturaleza lipofílica por consiguiente son altamente solubles en solventes orgánicos, aceites y otros compuestos (alcohol, acetona, éter, benceno, cetonas, ésteres, hidrocarburos aromáticos, solventes alifáticos y



grasas), con baja volatilidad, sin embargo son absorbidos por materia orgánica y superficies sólidas en ambientes acuáticos (Autian, 1973). En general los ftalatos se pueden dividir en dos grupos:

Los de bajo peso molecular: Contienen 8 o menos átomos de carbono, en este grupo se encuentran los ftalatos de mayor uso.

Los de elevado peso molecular: Contienen más de 9 átomos de carbono

Sin embargo las características específicas de estos compuestos dependen de las ramificaciones laterales que presenten (Bustamante-Montes *et al.*, 2001; Laborda y Recalde, 2005; Plastivida, 2007). En el cuadro 2 se puede observar las características de algunos ftalatos.

Cuadro 2. Propiedades físicas y químicas de cinco ftalatos

Ftalato Características	Ftalato de dietilo (FDE)	Ftalato de dibutilo (FDB)	Ftalato de benzilbutilo (FBB)	Ftalato de dioctilo (FDO o FDEH)	Ftalato de diisononilo (FDIIN)
Peso molecular g mol	222.24	278.34	312.36	390.6	418.61
Punto de fusión/congelación °C	-3	-35	<-34.99	-55 o -50	-50
Punto de ebullición °C	298-299	340	370	230-233	244-252
Densidad relativa g cm <sup>3</sup>	1.12 a 25 °C	1.043 a 25°C	1.1 a 25°C	0.984 a 20 °C	0.970-0.983 a 20°C

Coefficiente de reparto (Log Pow) n-octanol/agua	2.2 a 41 °C	4.72 a 20°C	4.91 a 20°C	7.5 a 20°C	8.8 a 20°C
Solubilidad en agua g L <sup>-1</sup>	0.932 a 20 °C	0.0114 a 25°C	0.00269 a 25 °C	3 µg L a 20°C	0.6 µg L a 20°C
Viscosidad mm <sup>2</sup> s a 20 °C	11.53	18.8	ND	ND	ND

ND: No Disponible (Sigma aldrich, 2015)

Aunque estas sustancias poseen baja volatilidad, aquellos compuestos que son de cadena ramificada son más volátiles que los isómeros de cadena recta (Autian, 1973).

### 2.3.2. Exposición a ftalatos

Como ya se mencionó anteriormente, una de las principales aplicaciones de los ftalatos es como plastificante, aunque también se pueden encontrar en plaguicidas, sistemas de filtración de aire, repelentes de insectos, perfumes, cosméticos, cremas, jabones, detergentes, tintas, aceites lubricantes, manufactura de papel, adhesivos, materias para construcción, entre otras. Dentro de la industria de la plastificación los podemos encontrar en materiales como: cables, tubos, productos revestidos, revestimiento de casa y carros, aditivos para caucho, látex, de aceites, materiales escolares, materiales para construcción, juguetes, materiales médicos, etc. (Ortega *et al.*, 2002; NTP, 2011).

Al encontrarse estas sustancias en diferentes materiales de uso cotidiano para el humano, se genera una exposición constantemente a estos compuestos. Las

principales fuentes de exposición son: inhalación, dérmica, procedimientos médicos e ingestión (NTP, 2011).

La exposición por inhalación es catalogada por la Agencia de Protección Ambiental de la Estados Unidos (U.S.EPA, por sus sigla en inglés) con potencial bajo, ubicándolo en el tercer lugar de exposición y se da debido a que estos analitos se desprenden de los materiales y productos que se utilizan normalmente en el hogar, así como también desechos que los contengan y después son arrojados al ambiente. Por otro lado, la exposición dérmica es de potencial medio, es decir, que es la segunda forma de mayor exposición, y la cual se da por el contacto con productos que lo contienen (U.S.EPA, 2007; NTP, 2011).

Mientras que la exposición por procedimientos médicos e ingesta son los catalogados como potencialmente altos, ya que se ha reportado que los procedimientos médicos a los que se somete el humano, como transfusiones, alimentación nasogástrica, uso de mascarillas entre otros, los pacientes presentan niveles de ftalatos altos, por ejemplo, en transfusiones de recambio neonatal fueron de 22.6 mg/kg de peso corporal y de 8.5 mg/kg para transfusión en pacientes adultos con traumatismo (NTP, 2011). En cuanto a la ingestión de ftalatos, se realiza por medio de la migración de estas sustancias a los alimentos provenientes de los materiales de empaque. Otro sector de la población que está expuesto a estas sustancias son los infantes a través del uso de juguetes, mamilas y chupones, entre otros. La ingesta y los procedimientos médicos son catalogados como formas de exposición potencialmente altos (U.S.EPA, 2007; Lowell Center, 2011).

Por medio de evidencia científica se sabe que estas sustancias son poco dañinas al humano, ya que una vez que se encuentran en el organismo se metabolizan y se desechan rápidamente de 24 a 48 horas. Sin embargo, sus metabolitos son los que generan distintos daños al cuerpo. Debido a que los ftalatos son sustancias lipofílicas pueden acumularse en el tejido adiposo y posteriormente generar metabolitos, por medio de una hidrólisis en pulmón e intestinos, después este metabolito primario es oxidado en una diversidad de productos polares que reaccionan con las sustancias del cuerpo y generando mayor daño que los ftalatos de donde provienen (Bustamante-Montes *et al.*, 2001; Cano Serrano *et al.*, 2008; Svensson, *et al.*, 2011).

### **2.3.3. Migración y factores para la migración de ftalatos**

La migración es la pérdida del analito en general, de la matriz al medio en este caso del plastificante. Este proceso incluye tres pasos físicos importantes (figura 3):

1. La difusión de los aditivos a la superficie.
2. El transporte a través de la interface.
3. La pérdida del aditivo desde la superficie hacia el medio circundante (Córdoba, 2009).

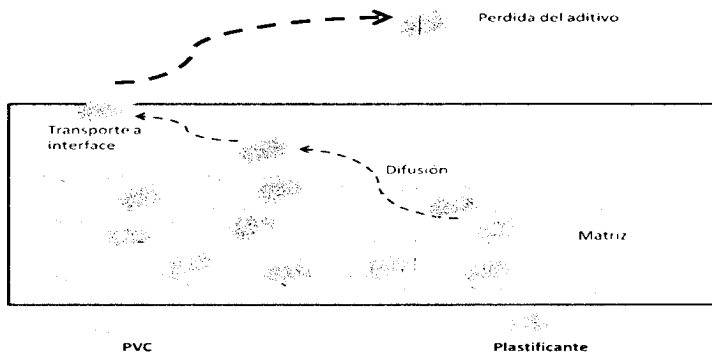


Figura 3. Proceso de pérdida del plastificante (Córdoba, 2009).

En cuanto a los factores que influyen en la migración de los ftalatos como primero se considera la saturación de la matriz, ya que al agregar una mayor cantidad de ftalatos en el plástico no todo el plastificante se polimeriza dejando así moléculas sueltas y generando la pérdida de éstas. Otros factores son las características físicas, químicas y biológicas del alimento, ya que aquellos que son grasos presentan una mayor capacidad de retener o fijar los ftalatos cuando estos se desprenden de la matriz, el pH, los diferentes conservadores que contienen los alimentos son también de suma importancia para la fijación de estos analitos en los alimentos. Factores como el tiempo de contacto con el alimento, el someter los productos a temperaturas altas, la luz, los rayos solares, la superficie de contacto y el tipo de material plástico también son determinantes en la presencia de ftalatos en los alimentos (Bustamante-Montes *et al.*, 2001; Xu *et al.*, 2010).

Por otro lado las ramificaciones de las cadenas de cada uno de los ftalatos proveerán características diferentes lo cual también será un determinante en la migración. Aquellos de cadena corta como ftalato de dibutilo (FDB) y ftalato de

diisobutilo (FDIB) provenientes de un alcohol de cuatro carbonos (C4) que suelen ser muy compatibles con el PVC por lo que en su mezcla se obtienen a bajas temperaturas de gelificación y elevadas viscosidades, pero esta característica los hace que sean más volátiles causando la pérdida de las propiedades del producto. En el caso del ftalato de di-etil hexilo (FDEH), ftalato de di-n-octilo (FDNO) provenientes de alcoholes C8 y el ftalato de diisononilo (FDIIN) (alcoholes C9) por ser de cadena larga son menos volátiles y más estables en el plástico (García García, 2006).

Por último, el peso molecular también influye en el desprendimiento de estas sustancias de la matriz en la que se encuentran, ya que aquellos de peso molecular bajo, frecuentemente poseen una alta movilidad por lo que son capaces de migrar desde el material de empaque hacia el producto empacado (Córdoba y Medina, 2009).

Lo antes planteado genera un problema en la calidad de los productos empacados en envases de plástico, ya que los alimentos presentan cambios sensoriales (olor y/o sabor) o toxicidad debido a su ingestión (Córdoba y Medina, 2009).

#### **2.3.4. Antecedentes de la presencia de ftalatos en alimentos**

Los estudios sobre la presencia de ftalatos en alimentos se han realizado desde los años 80's, analizando la migración de los componentes del tereftalato de polietileno (PET); posteriormente otros investigadores analizaron la migración de estas sustancias, tratando de identificar fuentes de contaminación en las bebidas

embotelladas (Ashby, 1988; Castle *et al.*, 1989; Cao, 2008; Castro-González *et al.*, 2011).

Otros trabajos como los realizados por Mortensen, y colaboradores (2005) determinaron la presencia de seis ftalatos en muestras de leche humana, leche de vaca envasada (orgánica y convencional) y fórmulas infantiles, los resultados demuestran una mayor incidencia de ftalatos en la leche humana debido a que en estas muestras se encontraron los seis monómeros analizados (ftalato de monometilo (FmM), ftalato de monoetilo (FmE), ftalato de mono-nbutilo (FmB), ftalato de monobenzilo (FmBz), ftalato de mono(2-etil hexilo) (FmEH) y ftalato de monoisononilo (FmN)). Sin embargo los monoésteres de mayor concentración fueron FmN, FmDEH y FmBz (101, 9.5 y 3.5  $\mu\text{g L}^{-1}$  respectivamente), mientras que en la leche envasada y las formulas infantiles únicamente se detectó FmB y FmDEH. En general se obtuvo una mayor presencia y concentración de ftalatos en leche humana que en leche envasada y fórmulas infantiles, esto debido a que la especie humana se encuentra más expuesto a la presencia de ftalatos por los diversos alimentos envasados que consume y por productos de uso cotidiano que también están empacados en envases plásticos además de contenerlos como aditivos.

En un estudio hecho por Xu y colaboradores (2010) se demostró el efecto que tiene la temperatura y el tiempo de contacto entre el envase y el tipo de matriz (aceite de cocina y agua mineral), sobre la migración de ocho ftalatos (FDM, FDE, FBB, FDB, FDEH, FDNO, FDIIN y FDID), los resultados obtenidos indican que el aceite de cocina presenta una mayor concentración de los ftalatos debido a que

son sustancias lipofílicas (Fig. 4), asimismo la concentración de estos analitos va en incremento al paso de los días y al incremento de la temperatura (Xu *et al.*, 2010).

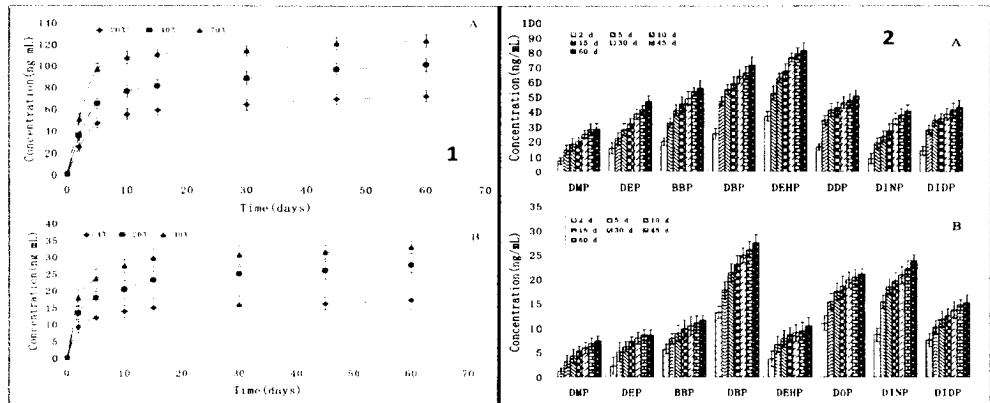


Figura 4. Migración de ftalatos: 1) Migración de ftalato de dibutilo con tres temperaturas en aceite de cocina (A) y agua mineral (B). 2) Aumento de la concentración de ftalatos a 20°C durante dos meses en aceite de cocina(A) y agua mineral (B).

Otros estudios más se han realizado en diversos productos alimenticios por ejemplo: hortalizas, derivados de productos lácteos, frutas, granos, aceites vegetales, condimentos y productos cárnicos con la finalidad de observar la migración de estos compuestos (González-Castro *et al.*, 2011; Cacho *et al.*, 2012; Schechter *et al.*, 2013; Jia *et al.*, 2014). En algunos casos además de hacer la determinación en alimentos también se realizó un análisis a los empaques plásticos.



## 2.4. Importancia del agua

Aunque el agua no se considera como un alimento, ya que por definición un alimento es toda aquella sustancia elaborada, semielaborada o sin procesar y por sus características, aplicaciones, componentes, preparación y estado de conservación, es susceptible a ser consumida por los humanos y aportar nutrimentos. Sin embargo, el agua es una sustancia vital que interviene en todas las funciones fisiológicas de los seres vivos como reacciones bioquímicas, disolución y transporte de sustancias para la alimentación celular y en la eliminación de sustancias tóxicas (Código Alimentario, 2006; FAO 1996a; FAO, 1997).

Aunque el planeta tierra está compuesto por el 70% de agua, solo el 2.5% es agua dulce y el 1% (200 000 Km<sup>3</sup>) es lo que está disponible para consumo humano y el mantenimiento de ecosistemas naturales. La disponibilidad de este recurso para 2004 en México fue en promedio de 4,547 m<sup>3</sup>, lo que nos coloca en el noveno lugar de a nivel internacional (Guerrero *et al.*, 2009). Del volumen antes mencionado el 10% se destina al consumo, aunque este valor parece bajo, se encuentra por encima de la media mundial que es del 8% (CONAGUA, 2011). No todos los habitantes cuentan con agua potable (10 millones) y se prevé que para el 2025 el 60% de la población mundial carecerá del líquido debido al crecimiento de la población y excesivo consumo, según datos de la ONU, difundidos en la celebración del Día Mundial del Agua 2007 (Howard, 2007).

Lo anterior aunado a la percepción que tiene la población sobre el agua potable, ha generado un incremento en el consumo de agua embotellada. Esta percepción en la población que habita la Ciudad de México se generó a partir del sismo de 1985, debido al rompimiento de algunos ductos de agua potable que se mezclaron con aguas negras. Estas circunstancias coincidieron con el desarrollo de las empresas embotelladoras desembocando en el comienzo del consumo de agua embotellada a principio de los 90's (Abaroa, 2007; Moreno, 2014; Profeco, 2014).

El consumo de agua embotellada ha ido incrementando a tal nivel que México se ha posicionado en los primeros lugares a nivel mundial en tan solo 25 años, este dato es impactante ya que anteriormente no se tenía la cultura del consumo de agua embotellada como si se tenía en países como Italia y Francia (Moreno, 2014; Profeco, 2014).

En 2004 el consumo de agua embotellada fue de 169 litros por persona al año, ubicando en segundo lugar a México en el continente americano (el primer lugar lo tenía Estados Unidos), para el 2013 cada habitante de México consumió 234 litros de agua embotellada al año. Esta última cifra coloca a México en primer lugar a nivel mundial, seguido de Italia con 186 litros y por último de los Emiratos Árabes con 153.5 litros (Abaroa, 2007; Profeco, 2014).

Otro factor que influyó este incremento del consumo de agua embotellada fue la mercadotecnia ya que muchas marcas basaban su publicidad en cuestiones de belleza y figura esbelta, además de los beneficios ya conocidos. El uso de botellas de plástico las hace más ligeras y prácticas, además que han salido a la venta

presentaciones de agua con sabor, incoloras, sin endulzantes y presentaciones de 0.5, 1.0 y 1.5 litros incrementando las ventas de este producto (Abaroa, 2007; Morales, 2012; Profeco, 2014).

Inicialmente los envases más pequeños que estaban dirigidos a deportistas se volvieron para todo público. Muy pronto el mercado del agua embotellada en pequeñas cantidades conquistó diversos estratos sociales y lo más común hoy es ver gente consumiendo agua embotellada (Morales, 2012, Euromonitor Internacional, 2015).

La demanda de este producto durante el año 2011 fue de 323.07 millones de litros en producto nacional, sin embargo se importaron 22.68 millones de litros de los cuales el 49% fue de Francia, el 37.4 % de Estados Unidos y el 8.9% de Italia. Esto generó una ganancia promedio de 10 millones de dólares anuales, de la cual cerca del 82% corresponde a empresas de origen extranjero (Morales, 2012; Sánchez, 2012).

## **2.5. Estudios en México**

El estudio de ftalatos en México es muy limitado, sin embargo un estudio realizado por González-Castro y colaboradores (2011) muestra la presencia de estos contaminantes junto con otros disruptores endocrinos en vegetales empacados en plástico, mamilas para bebé y contenedores para horno de microondas. Para el caso de los vegetales se encontraron los tres ftalatos de interés (FDE, FDB y FDO), aunque el que obtuvo mayor frecuencia y concentración fue el FDO, presentándose en 20 de 24 muestras analizadas en una concentración que va

desde 0.024 a 0.664  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Para el caso de los contenedores plásticos y mamilas también se presentó en mayor frecuencia el FDO en 16 de 22 muestras en un intervalo de 0.004 a 0.228  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . En otro estudio se analizó la presencia de seis ftalatos en tres marcas de agua donde únicamente se detectó el FDEH en el 100% de las muestras en un intervalo de 2.567 a 2.725  $\mu\text{g}/\text{L}$  (García *et al.*, 2013).

Ambos estudios muestran que el FDO o FDEH se encontró con alta frecuencia en todas las muestras esto debido quizá a que esta es la sustancia más empleada en la industria.

En otro estudio realizado en México se encontró que existe una relación en las concentraciones altas de ftalatos en orina con el padecimiento de diabetes en mujeres (Svensson *et al.*, 2011).

### **2.5.1 Contaminación del agua embotellada**

La contaminación del agua embotellada destinada al consumo humano se produce cuando el agua contiene demasiada materia orgánica o sustancias tóxicas (FAO, 1996b). La mala calidad del agua afecta infinidad de actividades vitales. Hace unas decenas de años la calidad de agua destinada al consumo humano se centraba principalmente en que el agua estuviera exenta de sabores y olores, que no fuera dura y no hubiera presencia de agentes patógenos, confiando en gran medida del poder autodepurador de los embalses o ríos y la protección de las zonas de captación eran suficientes para lograr una aceptable calidad que se completaría con un tratamiento simple. Hoy en día como consecuencia del avance técnico y científico se consideran otros factores que inciden perjudicialmente en el consumidor como es la inocuidad del agua (Ramírez, 2011).

El agua embotellada debido al proceso tecnológico que implica se considera una sustancia libre de contaminantes. Sin embargo, en un estudio realizado en Holanda en 68 muestras de agua embotellada se determinó que en 37% de las muestras analizadas se encontró presencia de bacterias y en 4% de las muestras se determinó presencia de hongos. En México, Ortiz y colaboradores (2010) evaluaron la presencia de siete bifenilos policlorados en muestras de agua embotellada, las concentraciones estuvieron en un intervalo de 0.002 a 0.069  $\mu\text{g L}^{-1}$ , por otro lado, Gutiérrez y colaboradores (2012) analizaron muestras de agua embotellada encontrando 16 plaguicidas organoclorados en concentraciones elevadas en un intervalo de 0.01 hasta 0.11  $\mu\text{g L}^{-1}$ , los compuestos que presentaron mayores concentraciones fueron el heptaclor (0.11  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) seguido del beta HCH (0.09  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) mientras que el resto de los compuestos presentaron concentraciones menores (0.01 a 0.04  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Los estudios antes mencionados demuestran que el agua embotellada no está libre de contaminantes por lo que la salud de los consumidores pudiera estar en riesgo.

### **2.5.2. Presencia de ftalatos en bebidas**

En cuanto a las bebidas embotelladas en envases plásticos para consumo humano se han encontrado reportes en refrescos con diferentes sustancias usadas como conservadores, jugos, vino, cerveza, agua mineral y agua natural (Dumitraşcu, 2012; García *et al.*, 2013).

Bošnjir y colaboradores (2007) analizaron la presencia de seis ftalatos (FDM, FDB, FDO, FDE, FBB y FDEH) en refrescos con diferentes tipos de conservadores y muestras de agua mineral, las mayores concentraciones las presentó la bebida

gasificada que usó como conservador sorbato de potasio, las concentraciones estuvieron en un intervalo de 48 a 3040  $\mu\text{g/L}$ . Los ftalatos que se encontraron en esta muestra fueron FDM, FDB, FDE, FBB y FDEH, así como también presentaron un pH más alcalino comparado con las otras muestras ( $2.88 \pm 0.15$ ).

En un estudio realizado en China, donde los autores compararon la migración de ocho ftalatos (FDM, FDE, FBB, FDB, FDEH, FDO, FDIIN y FDID) en aceite y agua mineral, se detectaron concentraciones muy bajas en un intervalo de (0.23–5.62  $\text{ng mL}^{-1}$ ), posteriormente estas muestras fueron sometidas a diferentes temperaturas pudiéndose observar que la migración aumentaba en función del paso de los días, demostrando así como el tiempo de contacto y la temperatura de almacenaje influye en este proceso (Xu *et al.*, 2010).

En cuanto a análisis de agua, Cao (2008) identificó y cuantificó la presencia de cuatro ftalatos de nueve que analizó, en este caso las variantes fueron agua embotellada carbonatada y no carbonatada, así como diferentes tipos de envases, los resultados señalan que el agua no carbonatada presentó las mayores concentraciones de ftalatos ya que se comercializa en envases de policarbonato, mientras que el agua carbonatada que se encontraba en envase de vidrio también presentó altas concentraciones de ftalatos lo que explican, según los autores que la fuente de contaminación además de los contenedores de plástico también se debe a la contaminación ambiental. Otro estudio realizado en Suiza analizó la presencia FDEH en agua embotellada de tres lugares de origen diferentes (Honduras, Nepal, Suiza), a estas muestras se les sometió a un tratamiento solar para la eliminación de agentes patógenos, para algunas botellas era la segunda

vez bajo este tratamiento y en otras era la primera ocasión; las concentraciones más altas estuvieron en un intervalo de 0.10 - 0.71 µg/L y estas concentraciones más elevadas se presentaron en las botellas que fueron sometidas por primera vez a este tratamiento (Schmid *et al.*, 2008). Estos estudios muestran que aun cuando los ftalatos no sean solubles en agua se encuentran presentes en ellas por diferentes factores que favorecen su presencia.

## **2.6. Efecto de los ftalatos en la salud**

Los estudios acerca de la presencia de ftalatos en orina de perros, conejos y humanos datan de aproximadamente 1945, sin embargo, estos estudios cobraron mayor relevancia a partir de los años 70's; en un estudio realizado por Jaeger y Rubin (1970) reportaron presencia de FDEH en cadáveres los cuales fueron sometidos a transfusiones durante su padecimiento, estos autores propusieron analizar la posible toxicidad de los ftalatos debido a que se encuentran en materiales de uso clínico. Sin embargo, no fue hasta 1975 que un grupo de científicos realizaron pruebas de toxicidad con 6 tipos de ftalatos en células humanas diploides WI-38<sup>5</sup> de individuos de origen inglés en crecimiento (Autian, 1973; Jones *et al.*, 1975). Los estudios antes citados fueron un punto de referencia para el estudio de toxicidad y efectos de ftalatos.

La información sobre los efectos por exposición en humanos es escasa. Generalmente se han clasificado estas sustancias como disruptores endocrinos, sustancias químicas capaces de alterar el equilibrio hormonal y la regulación del desarrollo embrionario en concentraciones por debajo de lo considerado como

tolerable y, por tanto, con capacidad de provocar efectos adversos sobre la salud humana (Bustamante-Montes *et al.*, 2004; Mendoza, 2004; Bustamante-Montes *et al.*, 2005; Laborda *et al.*, 2005).

Los estudios realizados sobre los efectos en el desarrollo embrionario y otro tipo de padecimientos se han realizado en animales de laboratorio. Algunos de los experimentos que se han realizado en ratas con suplementación de ftalato de diisononilo durante dos años se observó una pequeña disminución del consumo de alimento y una ligera pérdida de peso, incremento en la mortalidad, proliferación en peroxisomas hepáticos. Mientras que el FDEH es hepatocarcinogénico. Por otro lado, en un estudio en primates alimentados con dietas contaminadas con FDEH causó proliferación de peroxisomas, este mismo analito en embriones de pollo causó retardo en el crecimiento y malformaciones. En cuanto al desarrollo del aparato reproductor en ratones se observó un cambio destructor en las células germinales debido a la presencia del FDEH, la exposición en ratas durante la etapa neonatal no afecta la fertilidad pero puede causar efectos en la producción de esperma, también por la presencia de otros ftalatos se han visto malformaciones en el tracto reproductor, malformaciones del pene, disminución del descenso testicular, degeneración testicular (Bustamante-Montes *et al.*, 2001; Mendoza-Cantú, 2004; ACAT, 2013).

Estudios realizados en humanos se han enfocado más a la exposición por procedimientos médicos en los cuales se analizó la presencia de estos compuestos así como su concentración y algunas características o alteraciones que pudieran presentar recién nacidos. Un estudio realizado en China comparó la



concentración de tres ftalatos y los monómeros de dos de ellos (FDE, FDB, FDEH, FMB y FMEH) entre un grupo control y un grupo de infantes de bajo peso al nacer, tomando como muestras sangre materna, sangre del cordón y meconio neonatal. Los resultados mostraron que en las muestras de sangre se encontró una mayor concentración de ftalatos en el grupo de bajo peso al nacer en comparación con el grupo control, mientras que para las muestras del meconio del grupo de bajo peso al nacer también se hallaron ftalatos en elevadas concentraciones (Zhang *et al.*, 2009).

Algunos ftalatos son relacionados con la obesidad y la resistencia a la insulina ocasionando diabetes, tal es el caso del estudio realizado por Svensson y colaboradores (2011), en el cual se tomó una muestra de orina en una población de mujeres de aproximadamente 54 años, de estas muestras todas presentaron al menos un monómero de algún ftalato, sin embargo, aquellas que padecían de diabetes presentaron mayores concentraciones de los monómeros de FDEH y FDnO, indicando que estas sustancias juegan un papel importante en la diabetogenesis.

En general el principal efecto por exposición a los ftalatos es la irritación en piel, ojos y membrana mucosa pasando posteriormente al tracto respiratorio, mientras que los isómeros de cadenas ramificadas pueden causar depresión en el sistema nervioso central, en el caso particular del FDM una prolongada exposición puede generar una parálisis eventual (Autian, 1973).

### **2.6.1. Metabolismo de los ftalatos**

Los estudios sobre el metabolismo de estas sustancias son escasos, sin embargo se sabe que su toxicidad es baja y decrece con el incremento de su peso molecular. Estas sustancias se bioacumulan en invertebrados, peces y plantas, mientras que en animales superiores como los mamíferos son metabolizados y excretados entre 24 y 48 horas después de sus ingesta (Autian, 1973; Bustamante-Montes *et al.*, 2001).

Los ftalatos pueden ser absorbidos por el tracto intestinal, cavidad intraperitoneal y pulmones. Hay estudios en ratones que muestran que estas sustancias son distribuidas hacia el hígado, pueden permanecer en el pulmón o acumularse en la grasa abdominal. Se sabe que una vez que estas sustancias son ingeridas en el caso del FDO por la acción de las lipasas gastrointestinales se transforma en su monómero FmDO, este metabolito presenta una mayor toxicidad en el organismo humano.

En el caso particular del FDB puede causar oxaluria en altas concentraciones, esto indica que esta sustancia puede biotransformarse en el organismo humano (Autian, 1973).

Como ya se ha mencionado es importante realizar más estudios sobre el metabolismo de estas sustancias, ya que los pocos estudios que se han realizado son de los años 70.

## 2.7. Normatividad

Actualmente se cuenta con organismos normalizadores como la Unión Europea (U.E) y U.S. EPA encargadas de establecer normas que regulan la presencia de ftalatos en alimentos para garantizar que estos sean inocuos y protejan la salud humana.

En 2004 la U.E. dio a conocer el reglamento N° 1935, sobre materiales y objetos destinados a entrar en contacto con los alimentos, en el cual establece que todo material u objeto en contacto directo o indirecto con alimentos debe ser suficientemente inerte para evitar que se transfieran sustancias a los alimentos en grandes cantidades, al grado de poner en peligro la salud humana o provocar una modificación inaceptable de la composición de los productos alimenticios (U.E., 2004). Para el año 2011 el Parlamento Europeo estableció el nuevo reglamento, N° 10 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos, tomando en cuenta el citado reglamento, se estableció una lista de monómeros, sustancias de partida y aditivos que puedan utilizarse en la fabricación de materiales y objetos plásticos, dentro de las sustancias que se mencionan se encuentran los ftalatos. Posteriormente a este reglamento se le hace la modificación N° 1282/2011, donde se añaden a la lista otras sustancias (U.E., 2011a; U.E., 2011b).

Por otro lado la U.S. EPA, establece valores de toxicidad en algunos ftalatos, vía oral. Para el caso especial del ftalato de 2-etil exilo (FDEH) esta agencia también

estable valores que pueden provocar cáncer por ingesta de agua potable el cual es de 0.0004 ng L<sup>-1</sup>.

Cuadro 3. Valores máximos de exposición vía oral a ftalatos

Ftalato	Ingesta diaria tolerable	
	(mg/kg/día)	
	U.S.EPA	U.E.
Ftalato de dibutilo (FDB)	0.5	0.01
Ftalato de Bis (2-etilhexilo) (FDEH)	0.02	0.05
Ftalato de benzilbutilo (FBB)	0.2	0.5
Ftalato de dietilo (FDE)	0.8	NE
Ftalato de dimetilo (FDM)	NE	NE
Tereftalato de dimetilo (TFDM)	0.1	NE
Ftalato de di-n-octilo (FDnO)	3	NE
Ftalato de diisononilo (FDIIN)	NE	0.15
Ftalato de diisodecilo (FDID)	NE	0.15

NE: No evaluado (U.S. EPA, 2007)

En el caso de México la normatividad se enfoca a diversos sectores de la inocuidad alimentaria, como se mencionan en las normas siguientes para el caso de alimentos y agua:

NOM-041-SSA1-1993, Bienes y servicios. Agua purificada envasada. Especificaciones sanitarias.

NOM-117-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, fierro, zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrometría de absorción atómica.

NOM-130-SSA1-1995, Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometido a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias.

NOM-201-SSA1- 2002, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano envasado y a granel. Medidas sanitarias.

Las normas anteriormente mencionadas únicamente tienen como objetivo regular la posible presencia de: aditivos en alimentos (NOM-130), metales pesados, microorganismos, plaguicidas (NOM-041), presencia de objetos (madera, cristal, cabellos, entre otros), pruebas sensoriales, transporte y almacenaje, sin embargo, todavía no se habla de posibles componentes que puedan migrar del empaquetado hacia los alimentos (NOM-041-SSA1-, 1993; NOM-117-SSA1-, 1994; NOM-130-SSA1-, 1995; NOM-201-SSA1-, 2002).

Los datos de los estudios de migración antes mencionados, al ser comparados con la Ingesta Diaria Tolerable (IDT), no superan las concentraciones más elevadas, sin embargo, esto no implica que no se deban seguir realizando estudios acerca de las concentraciones a las que se puedan encontrar expuesta la especie humana.

## 2.8. Métodos de análisis

El método analítico es un camino para llegar a un resultado mediante la descomposición de un fenómeno en sus elementos constitutivos y el método seleccionado debe ser adecuado a los fines para lo que se requiere (FAO, 1996b).

Existen diversos métodos analíticos en función al tipo de sustancia que se desea analizar, en el Cuadro 4 se muestran los diferentes tipos de métodos analíticos para determinar sustancias inorgánicas y orgánicas para matrices ambientales, biológicas y alimenticias (Lopera *et al.*, 2010)

Cuadro 4. Métodos analíticos para sustancias inorgánicas y orgánicas en diferentes matrices.

Sustancias inorgánicas	Sustancias orgánicas
<ul style="list-style-type: none"><li>• Método volumétrico</li><li>• Método colorimétrico</li><li>• Método electrolítico</li><li>• Cromatografía iónica</li><li>• Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, siglas en inglés)</li><li>• Espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS, siglas en inglés)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Cromatografía de líquidos de alta precisión (HPLC, siglas en inglés)</li><li>• Cromatografía de gases (GC, siglas en inglés)</li><li>• Cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (GC/MS, siglas en inglés)</li><li>• Cromatografía de gases separados en la cabeza de la columna acoplada con</li></ul>

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Espectrometría de absorción atómica electrotermica (EAAS, siglas en inglés)</li> <li>• Espectrometría de emisión atómica con fuente de plasma acoplado por inducción (ICP/AES, siglas en inglés)</li> <li>• Espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado por inducción (ICP/MS, siglas en inglés)</li> </ul>	<p>espectrometría de masas (en inglés «headspace GC/MS»)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cromatografía de gases obtenidos mediante purga y atrapamiento (en inglés, purge-and-trap GC)</li> <li>• Cromatografía de gases obtenidos mediante purga y atrapamiento acoplada con espectrometría de masas (en inglés, purge-and-trap GC/MS)</li> </ul>
--	---

(Lopera *et al.*, 2010)

### 2.8.1. Métodos para la determinación y cuantificación de ftalatos en alimentos

Los métodos para realizar la extracción y purificación de ftalatos en distintas matrices se realizan mediante el empleo de solventes orgánicos no polares debido a que estos analitos presentan mayor afinidad para disolverse en ellos (García García, 2006). González-Castro y colaboradores (2011) realizaron la extracción de ftalatos utilizando tres tipos de solventes orgánicos: hexano al 100%, hexano: éter etílico 1:1 y cloroformo al 100%. En ese trabajo se obtuvo que el cloroformo alcanzó un mayor porcentaje de recobro de los siguientes ftalatos DOP, DBP y DEP de 83.9 a 95 %, mientras que la mezcla hexano: éter etílico fue el segundo que obtuvo cantidades de 30.2 a 58.2 %, dejando al hexano en último lugar con

21.7 a 50 % de recobrado. Otro caso es el reportado por Russo y colaboradores (2012) quienes utilizando metanol, hexano, diclorometano y disulfuro de carbono para determinar el porcentaje de recobro de 6 ftalatos como estándares (FDM, FDE, FDB, FBCH, FBB y FDEH). Se obtuvo que el disulfuro de carbono fue el que obtuvo mayor porcentaje de recobro (89%), seguido de diclorometano (0.5-64.7%), posteriormente hexano (3.3-46%) y metanol (0-48.4%) aun cuando el metanol presenta valores más elevados la frecuencia en el recuperado fue mínima.

Mientras que los métodos de identificación y cuantificación se realizan por espectroscopio, calorimetría diferencial de barrido, cromatografía de gases o cromatografía de líquidos, este último está cobrando importancia debido a su sensibilidad y robustez, ya que se obtiene una separación óptima entre los compuestos (Lakshmi y Jayakrishnan, 1998; González-Castro, 2006; Marcella *et al.*, 2012).

La determinación por cromatografía de gases puede realizarse mediante el detector de ionización de flama (FID, por sus siglas en inglés) o por captura de electrones (ECD, por sus siglas en inglés), sin embargo para la determinación con estos equipos suele ser más utilizado un cromatógrafo de gases acoplado a masas debido a la robustez de los resultados que se obtienen. Las condiciones para este equipo, generalmente se trabaja con una columna capilar de fenilmetilpolisiloxano DB%-MS, como gas acarreador nitrógeno o helio, temperatura de las rampas de 150 a 280°C y un volumen de inyección de 10 a 20 µL (Blanco *et al.*, 2009; Adeniyi *et al.*, 2011; Bergh *et al.*, 2012; Yan *et al.*, 2012).



En la metodología por HPLC para determinar ftalatos el detector más utilizado es de fluorescencia, debido a la propiedad fluorescente de los ftalatos. Para la identificación y cuantificación de los ftalatos con este detector se emplean longitudes de onda de 275 y 300 nm de excitación y emisión respectivamente. Pocos son los estudios que se han realizado empleando un detector ultravioleta para detectar ftalatos, aunque su análisis se realiza con una longitud de onda de 230 a 280 nm (Liang *et al.*, 2010, Sendón *et al.*, 2012). Para el análisis de estos metabolitos se usa una columna fase reversa generalmente un C18, la fase móvil con diferentes porcentajes de solventes orgánicos como acetonitrilo, hexano, cloroformo, metanol y/o éter etílico; un flujo de  $1\text{ mL min}^{-1}$ , corrida en gradiente de 20 a 45 min y un volumen de inyección entre 10 y 20  $\mu\text{L}$  (González-Castro *et al.*, 2011).

### **2.8.2. Desarrollo de un método analítico**

Generalmente cuando se desarrolla un nuevo método en un laboratorio se debe realizar una validación del mismo. La validación es el proceso para establecer las características de desempeño, limitaciones de un método, la identificación de las influencias que pueden modificar esas características y hasta qué punto, esta definición es para métodos recién implantados sin tener noción de ella. Mientras que para aquel método que se realiza para un propósito en específico es: el proceso de verificación de que un método es adecuado para un analito en específico (CENAM, 2005).

En un ensayo de validación se debe acordar la necesidad analítica, la cual define los requisitos de desempeño que un método debe tener. Algunas características a evaluar, de acuerdo al CENAM, son las siguientes:

- **Identidad y selectividad/especificidad:** En la identidad es necesario establecer que la señal producida se debe únicamente al analito y no a la presencia de sustancias químicas o factores físicos. Mientras que la selectividad y la especificidad son medidas que garantizan la confiabilidad de las mediciones en presencia de interferencias. En este parámetro se determina el tiempo de retención del analito que se esté analizando.
- **Linealidad:** Es la proporcionalidad entre la concentración de analito y su respuesta. En este parámetro se determina el *rango lineal*, es decir, el intervalo comprendido entre la concentración mínima y máxima. Estas diluciones se inyectan al menos por duplicado y se determina la curva de calibración a través de una regresión  $Y = bX + a$ . Posteriormente se grafica para su documentación.
- **Precisión:** La precisión está relacionada con la dispersión de las medidas alrededor de su valor medio o central y corresponde al grado de concordancia entre los resultados de pruebas independientes. La precisión se determina en términos de desviación estándar.
- **Exactitud:** Es la cantidad referida a las diferencias entre la media de una serie de resultados o un resultado individual y el valor, el cual se acepta como valor verdadero o correcto para la cantidad medida.

Matemáticamente se le conoce como porcentaje de recuperación (% R), el cual se expresa de la siguiente manera:

$$\% R = \frac{X}{x} * 100 \dots \dots \dots \text{ecu. 1}$$

Donde:

X es el valor medio

x es el valor verdadero

- **Sensibilidad:** Es el cambio en la respuesta de un instrumento de medición dividido por el correspondiente cambio del estímulo. Los parámetros a evaluar en la sensibilidad son el límite de detección y límite de cuantificación

**Límite de Detección (LD):** Es la menor concentración de un analito que puede detectarse.

**Límite de Cuantificación (LC):** Es la menor concentración de un analito que puede determinarse con precisión y exactitud razonable.

El LD y LC se calculan con la siguientes formulas

$$LD = \frac{Y_{bl} + 3 S_{bl}}{b} \dots \dots \dots \text{ecu. 2}$$

$$LC = \frac{Y_{bl} + 10 S_{bl}}{b} \dots \dots \dots \text{ecu. 3}$$

Donde:  $Y_{bl}$  es el valor promedio de las muestras;  $S_{bl}$  es la desviación estándar y  $b$  es la pendiente de la curva de calibración

- **Robustez:** La robustez de un procedimiento analítico es una medida de su capacidad de permanecer inalterado por variaciones pequeñas pero deliberadas en los parámetros del método y proporciona una indicación de su confiabilidad durante su uso normal.
- **Repetibilidad:** Condiciones según las cuales los resultados independientes de una prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, usando el mismo equipo y dentro de intervalos de tiempo cortos. Por medio de la desviación estándar permite al analista decidir si es significativa la diferencia entre análisis duplicados de una determinada muestra bajo las mismas condiciones.
- **Reproducibilidad:** Condiciones según las cuales los resultados de prueba se obtienen con el mismo método sobre objetos de prueba idénticos, en diferentes laboratorios, por diferentes operadores, usando diferentes equipos. Por medio de la desviación estándar se puede decir si es significativa la diferencia entre análisis duplicados de una muestra determinados bajo condiciones de reproducibilidad.

En algunos sectores pero en particular en el análisis de los alimentos para determinar la inocuidad, es necesario utilizar métodos "totalmente validados" y sugeridos por organismos como la IUPAC, EPA o AOAC. Sin embargo, no

siempre es práctico o necesario realizar una validación total de un método analítico. En esos casos, puede resultar adecuado llevar a cabo una “validación interna del método” efectuada en un solo laboratorio.

La finalidad de validar un método analítico es que el mismo proporcione resultados confiables y esto sólo se logra mediante la validación.

El concepto de validación, según se establece en la norma iso-17025, plantea que es el establecimiento de pruebas documentales que aportan un alto grado de seguridad, de que un proceso planificado se efectuará uniformemente en conformidad con los resultados previstos especificados. Las ventajas de contar con métodos validados es que proporcionan seguridad en el método, garantizan la calidad de sus resultados obtenidos, disminuyen el número de fallos y de repeticiones, optimizan el método y posibilitan el cumplimiento de los exigencias legales (EURACHEM, 2014).

La validación del método en un solo laboratorio es pertinente en diferentes circunstancias, como por ejemplo:

- Para garantizar la viabilidad del método antes de realizar un costoso ensayo colectivo formal;
- Para obtener pruebas de la fiabilidad de los métodos analíticos si no se dispone de datos de un ensayo colectivo o si no es posible realizar un ensayo colectivo formal;
- Para garantizar que se utilizan correctamente los métodos validados estándares.

### **3. Hipótesis**

El incremento de la temperatura durante el almacenamiento favorece la presencia y concentración de esteres de ftalatos en agua embotellada, afectando la calidad e inocuidad de la misma en diferentes marcas comerciales.

### **4. Objetivos**

#### **4.1. Objetivo general**

Evaluar la migración y contenido del número de ftalatos (FDE, FDB, FBB, FDEH y FDIIN) presentes en muestras de agua embotellada que se comercializa en el sur de la Ciudad de México.

#### **4.2. Objetivos específicos**

1. Establecer en el Laboratorio de Análisis Instrumental el método analítico para la determinación de ftalatos en agua por Cromatografía de Líquidos de Alta resolución (HPLC).
2. Evaluar la migración de los ftalatos del envase al agua embotellada, bajo tres diferentes condiciones de almacenamiento y rellenado de las botellas.
3. Conocer el contenido de ftalatos en cuatro marcas de agua embotellada que se comercializa en el sur de la Ciudad de México.

## **5. Materiales y métodos**

### **5.1. Zona de estudio**

La zona de estudio para el desarrollo del presente trabajo fue al sur de la Ciudad de México, ubicado entre las coordenadas  $19^{\circ} 21'$  latitud norte y  $99^{\circ} 10'$  longitud oeste (INEGI, 2002).

### **5.2. Toma de muestras**

Se realizó un muestreo de un lote de agua en presentación de un litro los cuales fueron divididos en tres grupos de 12 cada uno con un total de 36 muestras, el primer grupo se sometió a  $8^{\circ}\text{C}$ , el segundo a  $23^{\circ}\text{C}$  y el tercero a  $35^{\circ}\text{C}$ . a estas muestras se les realizó la extracción de los ftalatos cada siete días, posteriormente estos envases fueron rellenos con agua destilada, la cual fue previamente analizada y sometidos a las condiciones antes mencionadas.

Se realizó un segundo muestreo mensual de julio a diciembre ( $n=24$ ), mediante la adquisición de tres marcas y presentación más consumidas, según datos de Profeco, y una cuarta de marca de menor consumo, las muestras fueron adquiridas aleatoriamente y de diferentes lotes en establecimientos de autoservicio al sur de la Ciudad de México.

### **5.3. Preparación de las soluciones de trabajo**

Las soluciones de trabajo se prepararon utilizando cinco estándares de ftalatos: ftalato de dietilo (FDE) (CAS. N°. 84-66-2), ftalato de dibutilo (FDB) (CAS. N°. 84-74-2), ftalato de benzilbutilo (FBB) (CAS. N°. 85-68-7), ftalato de bis(2 etilhexilo) (FDEH) (CAS. N°. 117-81-7) y ftalato de diisononilo (FDIIN) (CAS. N°. 28553-12-0), todos con una pureza entre el 98 a 99.5 %, adquiridos en la empresa Aldrich

Chemistry, mientras que el FBB fue adquirido en la compañía Supelco. Para la elaboración de las soluciones patrón se determinó el volumen a utilizar de cada uno de los estándares por medio de la siguiente formula:

$$V = \frac{M}{d * \% \text{ de pureza}} \dots\dots\dots \text{ecu. 4}$$

Donde:

$V$  = Volumen, en este caso será el volumen que se tomó del estándar de cada ftalato.

$M$  = Masa del ftalato

$d$  = Densidad de cada uno de los ftalatos

$\%$  de pureza de acuerdo al certificado de análisis de cada ftalato

En el cuadro 5 se puede observar el volumen para la preparación de cada uno de los estándares.



Cuadro 5. Datos de cada ftalato para obtener el volumen

Datos de cada ftalato	Fórmula y volumen
M = 0.01g	$V = 0.01/(1.121)*(0.995)$
FDE $d = 1.121 \text{ g mL}^{-1}$	$V = 0.0089654 \text{ mL} \approx 8.96 \mu\text{L en 1 mL}$
Pureza = 99.5 %	
M = 0.01g	$V = 0.01/(1.043)*(0.99)$
FDB $d = 1.043 \text{ g mL}^{-1}$	$V = 0.0096845 \text{ mL} \approx 9.68 \mu\text{L en 1 mL}$
Pureza = 99 %	
M = 0.01g	$V = 0.01/(1.23)*(0.98)$
FBB $d = 1.23 \text{ g mL}^{-1}$	$V = 0.0082960 \text{ mL} \approx 8.29 \mu\text{L en 1 mL}$
Pureza = 98 %	
M = 0.01g	$V = 0.01/(0.985)*(0.995)$
FDEH $d = 0.985 \text{ g mL}^{-1}$	$V = 0.010203 \text{ mL}^{-1} \approx 10.20 \mu\text{L en 1 mL}^{-1}$
Pureza = 99.5 %	
M = 0.01g	$V = 0.01/(0.972)*(0.99)$
FDIIN $d = 0.972 \text{ g mL}^{-1}$	$V = 0.01039 \text{ mL} \approx 10.39 \mu\text{L en 1 mL}$
Pureza = 99 %	

Posteriormente en un matraz volumétrico de 10 mL se colocaron los siguientes volúmenes y se aforaron con metanol, para obtener una concentración final de  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  para cada uno de los estándares.

FDE: 89.6  $\mu\text{L}$

FDB: 96.8  $\mu$ L

FBB: 82.9  $\mu$ L

FDEH: 102  $\mu$ L

FDIIN: 103.9  $\mu$ L

**Nota:** Todas estas soluciones se guardaron en refrigeración y protegidas de la luz. Las diluciones de los estándares para ser leídos por el equipo se realizaron con acetonitrilo HPLC.

#### **5.4. Establecimiento de las condiciones de operación del equipo**

Para la identificación y cuantificación de los ftalatos se empleó un cromatógrafo HPLC marca Hitachi Elite LaChrom, bomba Hitachi L-2130, detector UV-VIS Hitachi L-2420, horno para columna Hitachi L-2300 y automuestreador Hitachi L-2200. Una columna XTerra RP 18, dimensiones 3 x 150 mm y un tamaño de partícula de 5  $\mu$ m. Como fase móvil para establecer el sistema de gradiente se utilizó metanol HPLC (J.T.Baker, cat 9093-03) al 100% (fase A) y como fase B se utilizó agua destilada la cual se filtró con un purificador ELGA Purelab flex, con la finalidad de obtener agua con grado de pureza HPLC. Las condiciones de trabajo en el equipo, así como la longitud de onda y volumen de inyección fueron de acuerdo a lo propuesto por Xu y colaboradores (2010) y Sendón y colaboradores (2012) modificados en algunos puntos, ver cuadro 6.

Cuadro 6. Gradiente, longitud de onda, flujo y volumen de inyección en HPLC.

Tiempo (Minutos)	Fase móvil		Longitud de onda: 230 nm
	Metanol grado HPLC al 100%	Agua grado HPLC al 100%	
0-6	50%	50%	Tiempo de corrida: 30 minutos
6-8	70%	30%	
8-18	70%	30%	Flujo: 0.7 mL min <sup>-1</sup>
18-21	100%	0%	
21-25	100%	0%	
25-27	50%	50%	Volumen de inyección: 20 µL
27-30	50%	50%	

### 5.5. Extracción de ftalatos en agua

La extracción de los ftalatos se realizó de acuerdo con lo propuesto por Amiridou y Voutsas (2011) con algunas modificaciones, el cual se describe a continuación; se tomaron 200 mL de agua destilada la cual se fortificó con 1µg mL<sup>-1</sup> de una mezcla de los cinco estándares de ftalatos, posteriormente esta muestra se colocó en un embudo de separación de 500 mL y se agregaron 50 mL de hexano grado HPLC. En otro embudo de separación se colocó la misma cantidad de muestra y se agregaron 100 mL de hexano.

Los embudos se agitaron durante 2 minutos, este paso se repite tres veces, se dejó pasar unos minutos hasta que se separaron las dos fases (acuosa y orgánica), la fase acuosa fue desechada, mientras que la fase orgánica se recuperó en un matraz balón de 125 mL, posteriormente se condensó hasta sequedad empleando un rotovapor a temperatura de 30°C con presión constante. Los analitos se recuperaron con 1 mL en un vial color ámbar de 2 mL y se mantuvieron en refrigeración hasta su análisis por HPLC. Las extracciones en cada muestra fortificada se realizaron por triplicado.

### **5.6. Validación interna del método**

Los parámetros de desempeño que se determinaron para la validación interna fueron los siguientes:

- Identidad y selectividad/especificidad

Se realizaron diluciones en acetonitrilo con los cinco estándares en diferentes concentraciones, se inyectaron en el equipo de HPLC de forma individual y en mezcla, para posteriormente identificar cada uno de los analitos de acuerdo al tiempo de retención (Tr) que se obtuvieron cada una de ellas en forma individual que se presentaron en los cromatogramas.

- Exactitud y Precisión

Se fortificaron diferentes muestras de agua, con diferentes concentraciones (Cuadro 7), a las cuales se les realizó la extracción y análisis, (el análisis de cada muestra se realizó cinco veces), el análisis con estos resultados se obtuvo el

porcentaje de recuperación (% R) con la finalidad de obtener la exactitud; la dispersión se calculó para obtener la precisión.

Cuadro 7. Concentraciones con las que se fortificaron las muestras de agua

<b>Ftalato</b>	<b>Concentraciones <math>\mu\text{g mL}^{-1}</math></b>
FDE	0.125, 0.25, 0.5, 1, 2
FDB	0.062, 0.125, 0.25, 0.5, 1
FBB	0.062, 0.125, 0.25, 0.5, 1
FDEH	0.5, 1, 2, 4, 8
FDIIN	0.25, 0.5, 1, 2, 4

- Sensibilidad

En esta característica se determinó el límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC), para lo cual se fortificaron muestras por triplicado, a concentraciones más bajas detectables visiblemente. Para posteriormente sacar los LC y LD por medio de las ecuaciones 2 y 3.

- Linealidad

Se realizaron cinco diluciones para cada uno de los estándares de acuerdo a lo que indica el cuadro 7, empezando el análisis en el equipo por la concentración mínima, cada dilución se realizó por triplicado, así como el análisis por HPLC, las áreas obtenidas se graficaron contra la concentración, para obtener la curva de

calibración (C.C.) para determinar la pendiente, el intercepto y el coeficiente de correlación entre el área y la concentración del analito.

### 5.7. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante el programa estadístico R versión 212.2 para Windows.

## 6. Resultados y discusión

### 6.1. Establecimiento de las condiciones de operación del equipo

En la figura 5 se muestra el perfil de los ftalatos en nuestras condiciones lo cual permite identificar cinco compuestos similar al perfil que presentan otros autores (Xu *et al.*, 2010; Sendón *et al.*, 2012), solo el ftalato de diisodécilo no se identificó por no contarse con este estándar, este ftalato es uno de los compuestos de importancia por encontrarse dentro de los seis más usados.

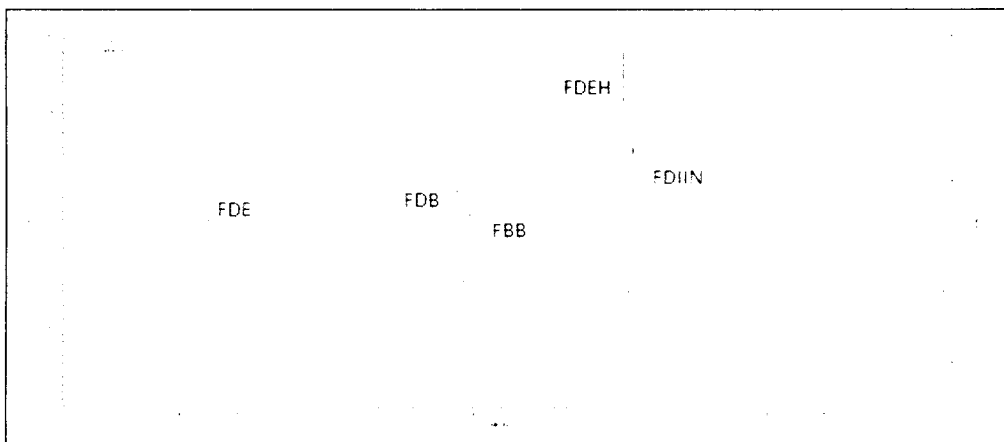


Figura 5. Cromatograma de la mezcla de los 5 estándares a una concentración de  $1\text{ mg mL}^{-1}$

El cromatograma obtenido es muy semejante a lo reportado por Xu y colaboradores (2010) quienes analizaron 8 ftalatos en agua mineral, en este cromatograma (figura 5) se aprecia que después de ser identificado el FDE se detecta la señal del FDB y posteriormente se presenta el FBB a diferencia del estudio realizado por Xu, los autores presentan primero el FBB y posteriormente el FDB, en cuanto el FDEH y FDIIN estos compuestos salen muy juntos a diferencia de lo reportado por estos autores quienes presentan los picos más separados. Estas variaciones se puede atribuir al tipo de columna ya que a pesar de ser una columna C18 se utilizó la marca XTerra con tamaño de partícula de 5  $\mu\text{m}$ , otro factor es la fase móvil empleada.

## **6.2. Extracción de ftalatos en agua**

Las pruebas realizadas en las muestras de agua destilada donde se evaluó la efectividad de los dos volúmenes de hexano (50 y 100 mL) se obtuvo las mismas concentraciones en cada uno de las muestras fortificadas en ambos volúmenes de hexano, por lo cual se decidió tomar los 50 mL de hexano para realizar las extracciones de los ftalatos en la muestras de agua.

## **6.3. Validación interna del método**

Los resultados obtenidos en la validación interna del método se presentan en el cuadro 8, así como también la linealidad para cada uno de los compuestos (Figura 6 y 7).

Cuadro 8. Datos del tiempo de retención (Tr), porcentaje de recuperación (%rec.), precisión y límites de detección (LD) y cuantificación (LC) en la validación interna del método

<b>Ftalato</b>	<b>Tr. (minuto)</b>	<b>% rec. y Precisión</b>	<b>LD (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>LC (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>
<b>FDE</b>	4.97 $\pm$ 0.19	112.64 $\pm$ 0.005	15	25
<b>FDB</b>	13.48 $\pm$ 0.34	113 $\pm$ 0.024	34	45
<b>FBB</b>	13.88 $\pm$ 0.23	87.62 $\pm$ 0.004	13	16
<b>FDEH</b>	23.61 $\pm$ 0.12	82.07 $\pm$ 0.021	54	80
<b>FDIIN</b>	23.95 $\pm$ 0.14	60.15 $\pm$ 0.009	14	20

En los resultados obtenidos durante la validación del método se puede observar que los tiempos de retención son diferentes a los obtenidos por Sendón y colaboradores (2012) del cual se partió para el establecimiento de la condiciones de trabajo ya que ellos obtuvieron un tiempo de retención de 6.95 y 7.12 minutos para FBB y FDB respectivamente y de 12.40 y 13.12 minutos para FDEH y FDIIN respectivamente, sin embargo, en el estudio mencionado se realizó la lectura de los analitos individualmente y no en mezcla como lo reportado por Xu y colaboradores (2010) ya que al realizar una comparación, éstos reportan tiempos de retención en los minutos nueve para FDE, 14.2 y 14.8 para FBB y FDB respectivamente, para FDEH de 22.2 y finalmente para FDIIN de 26.8, posteriores a lo obtenido en el presente trabajo. Hay que resaltar que en los estudios antes mencionados primero obtuvieron FBB y posteriormente al FDB mientras que en



este caso no fue así. Estas variaciones en los resultados se deben a que tanto la fase móvil, el gradiente, tiempo de corrida, detector son diferentes y columna. Finalmente, el porcentaje de recuperación obtenido, de acuerdo a Quatrochi y colaboradores (1992), la obtención entre un 60 y 80% de recuperación es adecuada ya que en presente investigación se obtuvieron porcentajes de recuperación por arriba del 80%, solo para un compuesto el FDIIN fue del 60%. Mientras que la precisión entre los datos presenta poca desviación estándar lo cual nos indica que dicho método es adecuado en cuanto a las cantidades de extracción de los analitos.

En cuanto a los valores de linealidad para los cinco niveles de ensayo, el valor del coeficiente de regresión fue superior a 0.99 estando acorde con lo reportado para estos compuestos por la norma mexicana NMX-CH-5725-2-IMNC-2006 (ver figura 6 y 7). El intervalo de trabajo se estableció de 16 hasta 8100  $\mu\text{g L}^{-1}$ , siendo 15, 34, 13, 54 y 14  $\mu\text{g L}^{-1}$  los límites de detección y 25, 45, 16, 80 y 20 los límites de cuantificación para FDE, FDB, FBB, FDEH y FDIIN respectivamente. Estos resultados difieren de lo reportado por Xu y colaboradores (2010), lo cual se puede atribuir a las condiciones de trabajo (fase móvil y gradiente), equipo empleado tipo de columna y la altura de la ciudad de México.

Por otro lado los límites de cuantificación, se obtuvo valores por debajo de lo reportado por Sendón y colaboradores (2012), ya que este estudio reporta valores de 150 a 570  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Estos resultados cambian ya que aunque se trabajó con la misma fase móvil, el gradiente no fue el mismo, además que para el desarrollo de este trabajo se utilizó un detector de UV con una longitud de onda de 230 nm.

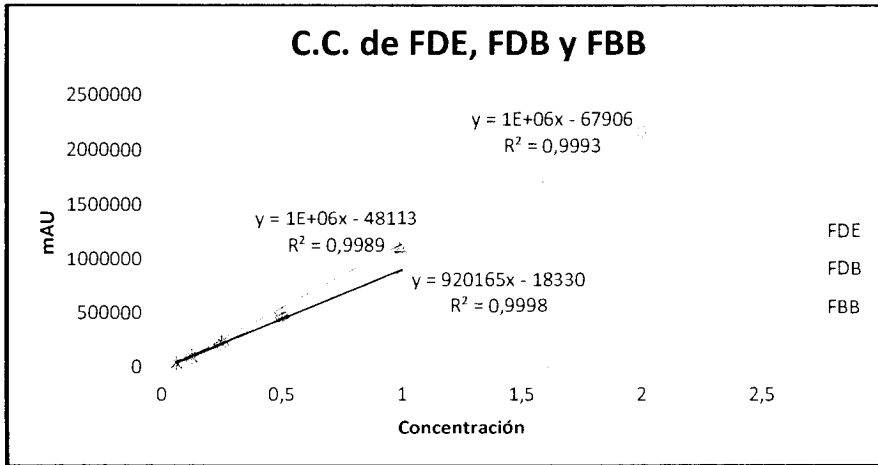


Figura 6. Linealidad de los compuestos FDE, FDB y FBB.

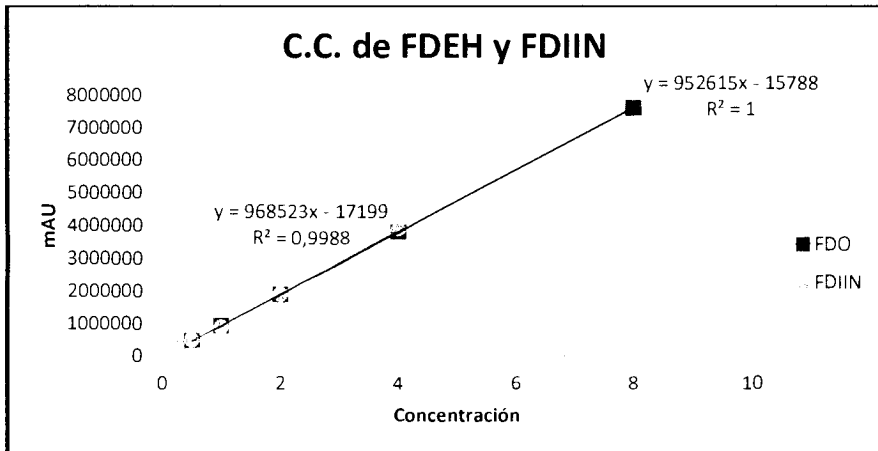


Figura 7. Linealidad de FDEH y FDIIN.

#### 6.4. Evaluación de migración de ftalatos en almacenaje

En los tres tratamientos se encontró la presencia de FDB, FBB, FDEH y FDIIN variando su frecuencia y concentración en función a la temperatura. En la figura 8 se muestra la frecuencia y concentración de FDB, FBB y FDIIN, donde de 36

muestras analizadas en el 50% de ellos se detectaron estos tres analitos, la mayor frecuencia se encuentra en las muestras sometidas a 35 °C con un intervalo de 20.96 a 92.73  $\mu\text{g L}^{-1}$  de los tres compuestos. Sin embargo, las mayores concentraciones de ftalatos fueron detectados en las muestras correspondientes a los dos últimos muestreos para los tres tratamientos, debido a que estas muestras se encontraron más tiempo en contacto con los envases. En cuanto al FDE no se detectó en ninguna de las muestras analizadas.

Un factor que puede favorecer la presencia o ausencia de los ftalatos en las muestras, es que cada muestreo se realizó de botellas independientes y aunque el agua pertenecía al mismo lote, los envases provenían de diferentes lotes (L 1, L 4, L 5, L 10, L 12 y L15) lo cual puede generar diferencias entre envases.

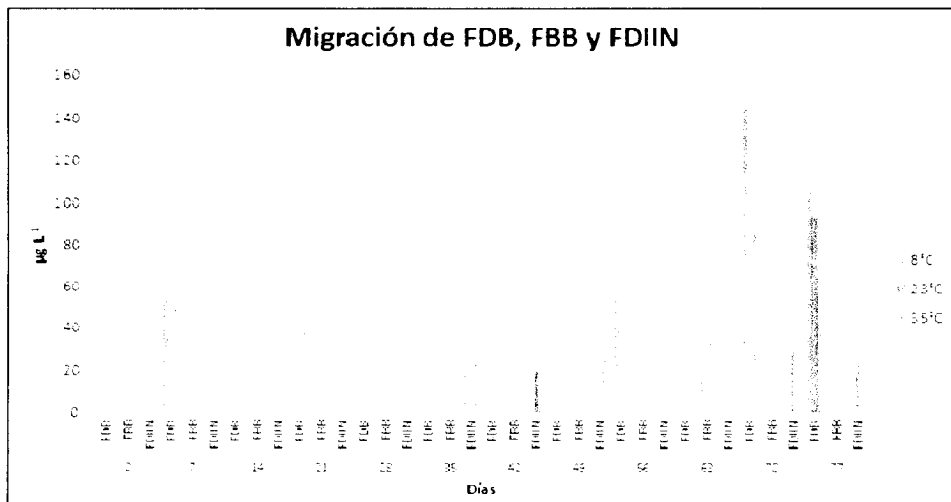


Figura 8. Presencia de ftalato de dibutilo, ftalato de benzilbutilo y ftalato de diisonilo en las muestras de agua durante el tratamiento.

En cuanto la migración de FDEH fue el más constante presentándose en 34 (94.4%) de las 36 muestras analizadas, así también este analito fue el que presentó las concentraciones más altas que van desde 85.6 hasta 629.5  $\mu\text{g L}^{-1}$  en los tres tratamientos, en el tiempo cero, que fue el análisis al momento de la adquisición, se presentó una concentración de 209  $\mu\text{g L}^{-1}$  en las muestras antes de ser sometidos a las tres temperaturas, los posteriores muestreos aunque no se muestra una migración, las concentraciones si aumentan con el paso de los días.

Ya que al observar la figura 9 los gráficos muestran una linealidad, en las cuales la recta fue significativa ( $p < 0.05$ ) y mostró un coeficiente de correlación de 0.6, lo que confirma que el tiempo influye directamente en la migración de los ftalatos. Se puede ver que las muestras sometidas a 35°C presentaron concentraciones de cero a 7 y 14 días pero las concentraciones más altas se presentaron a los 63 días de exposición al tratamiento. En la sumatoria (ver cuadro 9), las muestras sometidas a 23°C presentaron mayor concentración de FDEH (3,445.8  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), estos resultados concuerdan con lo obtenido por Dumitraşcu, (2012), quien sometió muestras de agua a temperatura ambiente (24°C) y en refrigeración (4°C), ya que al igual que en el presente trabajo las concentraciones más altas fueron las muestras sometidas a temperatura ambiente, por otro lado, Atkins, (2012) sometió tres marcas de agua a temperatura ambiente y a 60 °C, obteniendo concentraciones altas en muestras sometidas al calor, debido a que esta condición genera un mayor desprendimiento del plastificante.

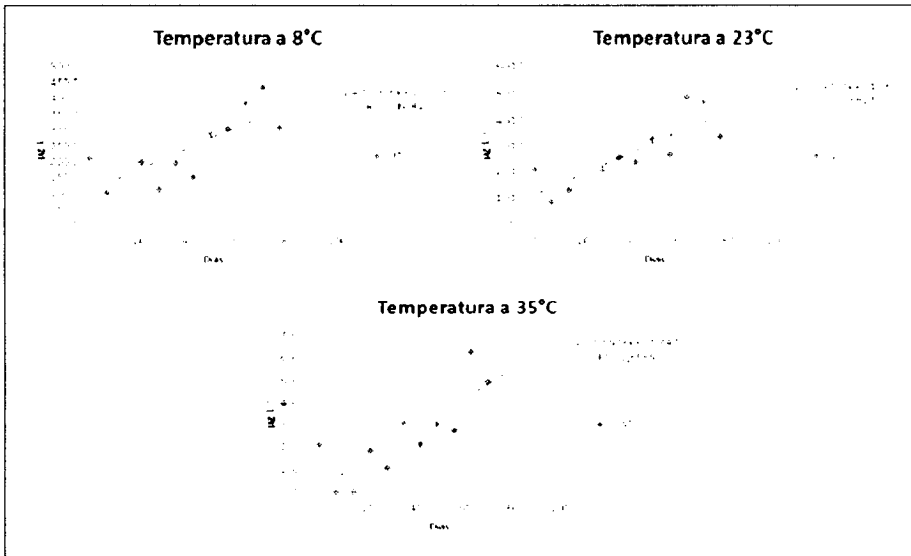


Figura 9. Migración de FDEH durante 77 días en tres condiciones de almacenaje

Al comparar la suma de las concentraciones de FDEH en los tres tratamientos el que presento menor concentración fueron las muestras sometidas a 8°C seguido de la temperatura a 35°C y finalmente a 23°C, este comportamiento puede ser causado a que una temperatura baja retarda ligeramente la liberación de los ftalatos del plástico, mientras que a temperaturas más elevadas promueven fácilmente su liberación y que incluso se degradan (Atkins, 2012; Musa *et al.*, 2013).

### 6.5. Migración de ftalatos en envases reutilizados

En el experimento de rellenado de botellas no se detectó el FDE, el FBB solo se presentó en dos muestras que fueron sometidos a 8°C en concentraciones de 39 y 44.68  $\mu\text{g L}^{-1}$  y una de 33.18  $\mu\text{g L}^{-1}$  para 35°C, el FDIIN fue el segundo en

presentarse con más frecuencia, 8 veces para las muestras a temperatura de 23°C en un intervalo de 21.1 a 91.45  $\mu\text{g L}^{-1}$  y dos veces para 35°C con una concentración de 49.74 y 52.07  $\mu\text{g L}^{-1}$ , mientras que para las muestras a 8°C no se presentó. Finalmente, el caso del FDB presentó la mayor frecuencia en intervalos de 62.61 a 68.88, 69.34 a 90.63 y 53.08 a 102.80  $\mu\text{g L}^{-1}$  en los tratamientos de 8, 23 y 35°C respectivamente. En la figura 10 se puede observar que los ftalatos se presentaron con mayor frecuencia en las muestras con tratamiento a 35°C, posteriormente a 23°C y finalmente en el 8°C, esto se puede explicar debido a que los ftalatos son sustancias que fácilmente se diseminan de los envases plásticos ya que durante la formulación del plástico estas sustancias son mezcladas con la matriz a base de presión y temperatura alta generando que algunas moléculas de ftalatos queden libres en la matriz y así facilitando su migración, además del tiempo de contacto que haya entre el plástico y en este caso el agua (Xu *et al.*, 2010).

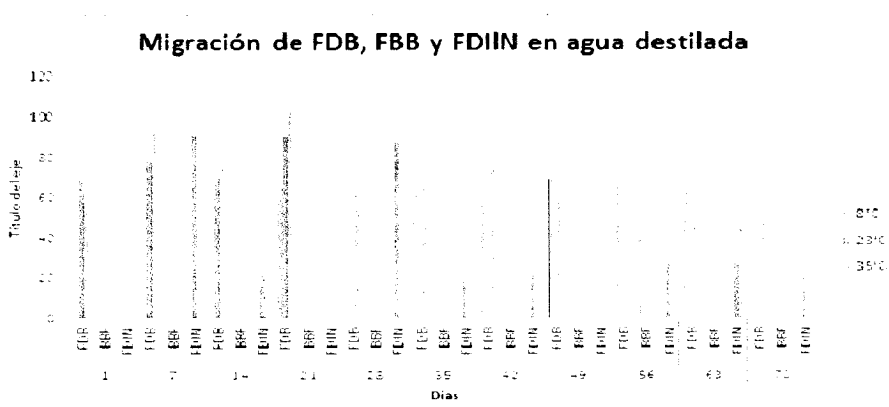


Figura 10. Migración de FDB, FBB y FDIIN en botellas rellenas

En cuanto a la migración de FDEH en la figura 11 se puede corroborar que a altas temperaturas existe una migración de los ftalatos del plástico hacia el agua en valores que oscilan entre 101.6 y 142.5  $\mu\text{g L}^{-1}$ , en cuanto a 8 y 23°C apenas se alcanzaron valores de 67  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

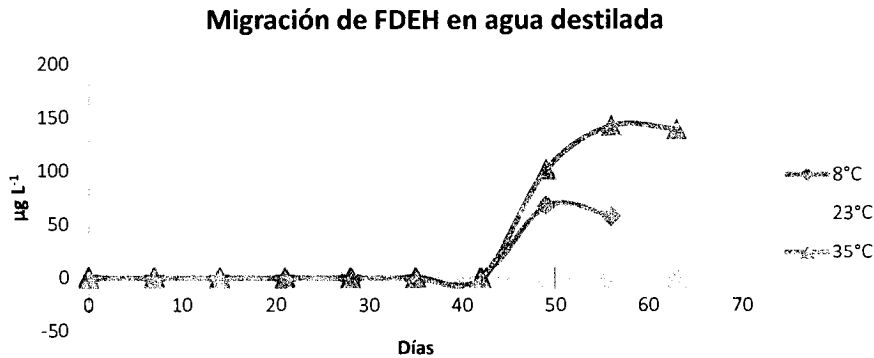


Figura 11. Migración de FDEH en agua destilada.

Estos resultados son inferiores a lo encontrado en las muestras de agua originales donde ya ocurrió una migración previa de estos compuestos. Si se observa en la figura 12 donde se integran ambas migraciones en la cual alcanzan valores de hasta 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  en los tres tratamientos, asimismo se puede notar el efecto de la temperatura a través del tiempo donde el coeficiente de correlación se encuentra por encima de 0.8 para todos los tratamientos, corroborando el efecto de estos factores en la migración de ftalatos hasta llegar posiblemente a la saturación o el máximo de migración. Este efecto de saturación fue descrito en un estudio realizado en agua mineral embotellada, cuando se almacenó durante 1,200 días a la temperatura de 22 °C y partir de los 44 días incrementó su valor inicial en un factor 1.5 a los 25 meses (Keresztes et al., 2013).

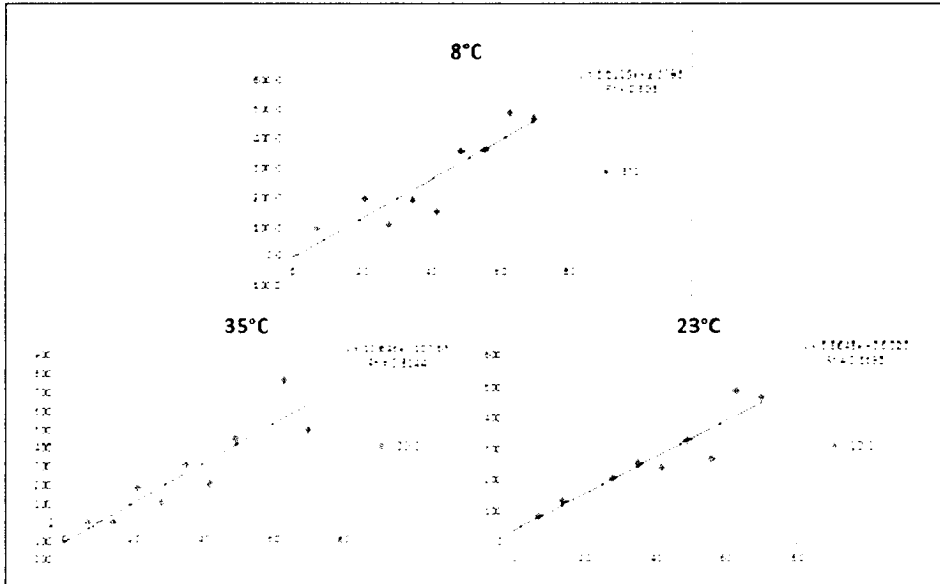


Figura 12. Integración de la migración de FDEH

### 6.6. Contenido de ftalatos en cuatro marcas de agua

De los cinco ésteres de ftalatos analizados en las diferentes marcas de agua embotelladas y solo tres compuestos fueron identificados, estos son: ftalato de dibutilo (FDB), ftalato de benzilbutilo (FBB) y ftalato bis (2etilhexilo) (FDEH) con una frecuencia de 54, 25 y 96 % respectivamente. En mayores concentraciones se encontró el FDEH (Cuadro 9).



Cuadro 9. Presencia de esteres de ftalatos en aguas embotelladas comercializadas en la Cuida de México.

	Media $\mu\text{g L}^{-1}$	Mediana $\mu\text{g L}^{-1}$	EE	Mín. $\mu\text{g L}^{-1}$	Max $\mu\text{g L}^{-1}$	frecuencia%
FDB	81.98	71.00	8.00	50.0	139.8	54
FBB	29.42	21.05	8.28	18.9	70.5	25
FDEH	844.55	190.0	418.54	20.0	8100.0	96
sum_EF	898.56	223.90	421.88	20.0	8190.0	

En un estudio realizado en Tailandia, se analizaron los siguientes compuestos: el ftalato de dimetilo (FDM); FDE; FDB y el FDEH en agua embotellada con dos tipos de materiales (tereftalato de polietileno (PET) y polietileno (PE)), encontrando la mayor frecuencia en FDM seguido de FDE, FDEH y FDB con valores de 58, 33, 25 y 17% respectivamente (Kanchanamayoon *et al.*, 2012). En Arabia Saudita de seis marcas de agua embotellada envasadas en PET y PE, se evaluaron seis ftalatos (FDM; FDE; FDB, FBB, FDEH y F<sub>n</sub>DO), encontrando la mayor concentración en el FBB (Mousa *et al.*, 2013). En Jordania un estudio realizado en agua embotellada analizaron seis ftalatos (FDM; FDE; FDB, FBB, FDEH y F<sub>n</sub>DO) y se identificaron solamente el FDB, FDEH y F<sub>n</sub>DO (Zaater *et al.*, 2014).

Los estudios antes mencionados corroboran que los ftalatos mencionados son los más frecuentes analizados a nivel global y el patrón puede variar en función de la

composición del envase plástico. En este trabajo la mayores concentraciones aparecen en el FDEH y esto puede estar relacionado ya que el uso de este compuesto sigue siendo uno de los plastificantes más utilizados en todo el mundo, que se aplica principalmente en la industria del PVC (MCGROUP, 2016).

En la figura 1 se muestra el patrón de ftalatos obtenidos por las diferentes marcas de agua embotelladas, donde el FDEH presentó las mayor concentración con relación al resto de los compuestos y la marca 1 fue superior con una mediana de 300  $\mu\text{g L}^{-1}$  y el rango de valores osciló entre 110 a 8100  $\mu\text{g L}^{-1}$ , el resto de las marcas presentaron mediana entre 70 a 240  $\mu\text{g L}^{-1}$  y el valor máximo alcanzado fue 1212  $\mu\text{g L}^{-1}$  en el tercer muestreo de la marca B. A pesar de las diferencias encontradas no existió diferencia significativa ( $p > 0.05$ ), debido a la dispersión de las concentraciones, lo que corrobora la naturaleza de estos compuestos. El FDB presentó el valor de la mediana más alta 112  $\mu\text{g L}^{-1}$  en la marca 2 con relación al resto de las marcas existiendo diferencia significativa entre ellas ( $p < 0.005$ ). El FBB presentó la mayor frecuencia en la marca 2 (13%) con una mediana de 19  $\mu\text{g L}^{-1}$ , en el resto de las marcas solo se detectó en una muestra de 24 en total. Integrando la suma de todos los ftalatos, la marca 1 presentó el mayor valor medio con 2509  $\mu\text{g L}^{-1}$  seguidos de las marcas 2,4 y 3 con valores de 457, 233 y 203  $\mu\text{g L}^{-1}$  respectivamente.

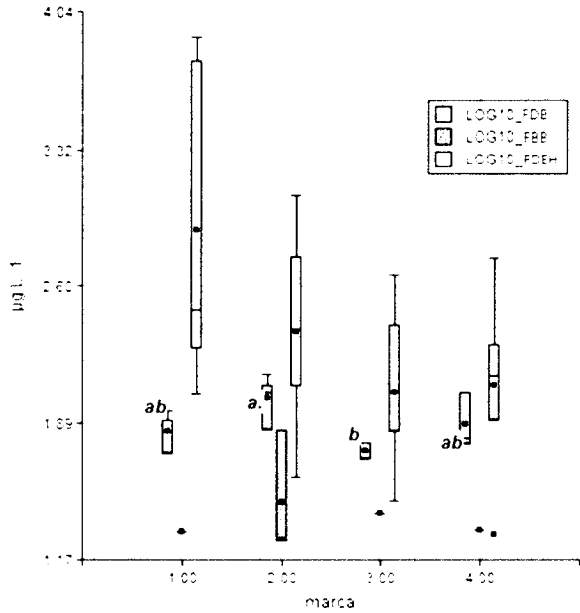


Figura 13. Resultados de ftalatos en diferentes marcas de agua embotelladas en la Ciudad de México.

Por ultimo las concentraciones obtenidas no superan a las normas propuestas por la U.S. EPA ni por la U.E. para FDB y FBB, mientras que para el caso del FDEH el 9% de las muestras sobrepasan el límite establecido por ambos organismos reguladores, ya que una persona de 70 Kg estaría consumiendo entre 0.23 y 0.34 mg de FDEH si toma de dos a tres litros de agua embotellada al día, de acuerdo a lo recomendado por la NOM-043-SSA2-2012, para el caso de la industria A.

## 7. CONCLUSIONES

El incremento de la temperatura y el almacenamiento favorece la migración del FDEH en los envases plásticos de agua embotellada llegando a una saturación a los 70 días

Se encontró que el FDEH estuvo presente en todas las marcas comercializadas de agua embotelladas en la Ciudad de México y en la marca 1 dos muestras sobrepasaron el límite permisible para este compuesto (0.02 o 0.05 mg/Kg/día), mientras los ftalatos FDB y FBB sus valores se encuentra por debajo del límite umbral establecido.

Estos resultado alertan a las instancias reguladoras de la necesidad de contar con programas de monitoreo para el FDEH y otros ftalatos que se han relacionado directamente con disruptores endocrinos, que son capaces de imitar o bloquear la acción de las hormonas naturales que afectan a las funciones biológicas en animales y seres humanos.

## 8. RECOMENDACIONES

- ❖ Alertar a las agencias reguladoras de las concentraciones presentes de ftalatos en agua, debido a pueden afectar la salud, al encontrar marcas que supera el límite permisible de FDEH en un 9%.
- ❖ Incrementar el estudio de esterres de ftalato en otras bebidas embotelladas en envases plásticos considerando que México es el principal consumidor de estos productos y que permitan proponer recomendaciones sobre el valor umbral.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Abaroa S. I. 2007. Comparativo de Precios: Agua embotellada. Brújula de compra de Profeco Disponible en: [http://www.profeco.gob.mx/encuesta/brujula/bruj\\_2007/bol40\\_agua.asp](http://www.profeco.gob.mx/encuesta/brujula/bruj_2007/bol40_agua.asp).
2. Adeniyi, A.A., Okedeyi, O.O., Yusuf, K.A. 2011. Flame ionization gas chromatographic determination of phthalate esteres in water, surface sediments and fish species in the Ogun river catchments, Ketu, Lagos, Nigeria. *Environ Monit Asses.* 172: 561-569.
3. Alaska Community Action on Toxics (ACAT). 2013. Phthalates. Disponible en: [http://www.akaction.org/wp-content/uploads/2013/03/Phthalates\\_ACAT2.pdf](http://www.akaction.org/wp-content/uploads/2013/03/Phthalates_ACAT2.pdf). Última revisión 13 de mayo del 2015.
4. Amiridou D., Voutsas D. 2011. Alkylphenols and phthalates in bottled waters. *Journal of Hazardous Materials.* 175: 281-286.
5. Ashby R. 1988. Migration from polyethylene terephthalate under all conditions of use. *Food Additives and Contaminants.* 5 (Suppl. 1): 485-492
6. Atkins P. 2012. The effect of heat exposure on BPA and phthalates content in comercial bottled water. Spex Certi Prep. Disponible en: [http://www.spexcertiprep.com/knowledge-base/files/AppNote\\_BPABottledWater.pdf](http://www.spexcertiprep.com/knowledge-base/files/AppNote_BPABottledWater.pdf). Última revisión 11 de mayo del 2015.
7. Autian J. 1973. Toxicity and health threats of phthalate esters: Review of the literature. *Environmental Health Perspectives,* 4: 3–26.

8. Bergh, C., Luongo, G., Wise, S., Östman, C. 2012. Organophosphate and phthalate esters in standard reference material 2585 organic contaminants in house dust. *Anal Bioanal Chem.* 402:51–59.
9. Blanco M., Rico G., Pargada L., Aguilar E., Castillo F. 2009. Determinación de los ftalatos utilizados como aditivos en la geomembrana de la balsa de la florida mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas. *Ingeniería Civil.* 154: 87-95.
10. Bošnjir J., Puntarić D., Galić A., Škes I., Dijanić T., Klarić M., Grgić M., Čurković M., Šmit Z. 2007. Migration of phthalates from plastic containers into soft drinks and mineral water. *Food Technology and Biotechnology.* 45 (1): 91-95.
11. Bustamante-Montes P., Lizama-Soberanis B., Olaíz-Fernández G., Vázquez-Moreno F. 2001. Ftalatos y efectos en la salud. *Rev. Int. de Contam. Ambient.* 17 (4): 205-215.
12. Bustamante-Montes, P., Lizama-Soberanis, B., Vázquez-Moreno, F., García-Fábila, M.M., Corea-Téllez, K.S., Olaíz-Fernández, G., Borja-Aburto, V.H. 2004. Exposición infantil a plastificantes potencialmente tóxicos en productos de uso oral. *Salud Pública de México.* 46 (6): 501-508.
13. Bustamante-Montes, P., García-Fábila, M.M., Martínez-Romero, E., Vázquez-Moreno, F., Muñoz-Navarro, S., Karam-Calderón, M.A., Ozorno-Torres, R., Borja-Aburto, V.H. 2005. Exposición a ftalatos por procedimientos médicos en varones recién nacidos. *Rev. Int. de Contam. Ambient.* 21 (2): 63-69.

14. Cacho J. I., Campillo N., Viñas P., Hernández-Córdoba M. 2012. Determination of alkylphenols and phthalate esters in vegetables and migration studies from their packages by means of stir bar sorptive extraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Journal Chromatography A*. 1241, 21-27.
15. Cao X.L. 2008. Determination of phthalates and adipate in bottled water by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1178: 321-238.
16. Castle L., Mayo A., Crews C., Gilbert J. 1989. Migration of poly(ethylene terephthalate) (PET) oligomers from PET plastics into foods during microwave and conventional cooking and into bottled beverages. *Journal of Food Protection*. 52 (5):337-342.
17. Castro-González, M. I., Olea-Serrano, M. F., Rivas-Velasco, A. M., Medina-Rivero, E., Ordoñez-Acevedo, L. G., León-Rodríguez, A. d. 2011. Phthalates and Bisphenols Migration in Mexican Food Cans and Plastic Food Containers. *Bull Environ Contam Toxicol* 86, 627-631.
18. Cano Serrano E., Cerezo G.L., Urbina F.M. 2008. Alternativas a los ftalatos en adhesivos y tintas. Informe de vigilancia tecnológica. Círculo de Innovación en Materiales, Tecnología Aeroespacial y Nanotecnología (CIMTAN) y Parque Científico de la Universidad Carlos III de Madrid Leganés Tecnológico. 3-10 p.p.
19. Centro Nacional de Metrología (CENAM). CNM-MRD-PT-030. Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito: Guía de Laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. Querétaro, México. Noviembre de 2005.

20. Código Alimentario. 2006. Código alimentario: Principios generales. Código Alimentario, 1-19.
21. Código Alimentario. 2008. Directrices para la validación de medidas de control de la inocuidad de los alimentos. CAC/GL 69-2008. Disponible en: [http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/11022/CXG\\_069s.pdf](http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/11022/CXG_069s.pdf). Última revisión 19 de octubre de 2015.
22. Código Alimentario Argentino. 2013. Artículos: 184 al 219- Utensilios, Recipientes, Envases, Aparatos y Accesorios. Disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas\\_alimentos\\_caa.asp](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp). Última revisión 11 de noviembre del 2015.
23. CONAGUA. 2011. Estadística del Agua en México. Comisión Nacional del Agua, 1-185.
24. Córdoba U.A., Medina P.J.A. 2009. Optimización de formulaciones de PVC flexible: Sistema plastificante DOP-ESBO. Revista Iberoamericana de Polímeros. 9(3): 143-165.
25. Dumitraşcu I. 2012. Determination of phthalates from bottled water by GC-MS. Conference Air & Water Components of the Environment. 20-22 of march 2012, University Cluj Napoca, Faculty of Geography, Rumania.
26. EFBW. 2016. The European Federation of Bottled Water. "Natural Mineral & Spring Waters". Revisado Disponible en: [http://www.efbw.eu/fileadmin/user\\_upload/documents/Publications/EFBW\\_Industry\\_Report\\_2015\\_02.pdf](http://www.efbw.eu/fileadmin/user_upload/documents/Publications/EFBW_Industry_Report_2015_02.pdf)



27. Euromonitor International. 2015. Bottled Water in Mexico. Disponible en <http://www.euromonitor.com/bottled-water-in-mexico/report>. Visitado por última vez 20 de abril del 2015.
28. EURACHEM. 2014. The fitness of purpose of analytical methods: A laboratory guide to method validation and related topics., English language versions (edition 1.0 1998) are available in hard copy from LGC via the UK NMS chemBio Website. Alternatively, you may download the guide from this website [https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV\\_guide\\_2nd\\_ed\\_EN.pdf](https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf)
29. García E.F., Bustamante M. L., García F.M. 2013. Presencia de ftalatos en bebidas en el estado de México. Revista Iberoamericana para la Investigación y el Desarrollo Educativo. 11. Disponible en: <http://ride.org.mx/1-11/index.php/RIDSESECUNDARIO/issue/view/4>.
30. García García S.M. 2006. Tesis doctoral. Migración de plastificantes de PVC. Universidad de Alicante. Departamento de Ingeniería Química.
31. González-Castro M.I. 2006. Tesis doctoral. Determinación de la migración de monómeros y aditivos plásticos en envases alimentarios. Universidad de Granada, Facultad de Farmacia, Departamento de Nutrición y Bromatología. ISBN: 978-84-338-4021-9.
32. González-Castro M.I., Olea-Serrano M.F., Rivas-Velasco A.M., Medina-Rivero E., Ordoñez-Acevedo L.G., De León-Rodríguez A. 2011. Phthalates and bisphenols migration in mexican food cans and plastic food containers. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 86: 627-631.

33. Guerrero T., Rives C., Rodríguez A., Saldívar Y., Cervantes V. 2009. El agua en la ciudad de México. *Ciencias* 94, 16-23.
34. Gutiérrez R., Vega S., Ortiz R., Schettino B. 2012. Presence of organochlorine contaminants in bottled drinking water from Mexico City. *Water Science & Technology* 12(4), 470-479.
35. Howard G. 2007. México ocupa el 2° lugar mundial en consumo de agua embotellada; el 32% de la población rural carece de red potable: La Crónica. Disponible en: <http://www.cronica.com.mx/notas/2007/291821.html>.
36. INEGI. 2002. Territorio y dimensión socioeconómica. Editorial INEGI. 24p.
37. Jaeger R. J., Rubin, R. J. 1970. Plasticizers from plastic devices: extraction, metabolism, and accumulation by biological systems. *Science* 170: 460-462
38. Jia W., Chu X., Ling Y., Huang J., Chang J. 2014. Analysis of phthalates in milk products by liquid chromatography coupled to quadrupole orbitrap high-resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1362: 110-118.
39. Jones A., Kahn R., Groves J. and Napier Jr. E. 1975. Phthalate ester toxicity in human cell cultures. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 31: 283-289.
40. Kanchanamayoon W., Prapatpong S., Chumwangwapee S., Chaithongrat S. 2012. Analysis of phthalates esters contamination in drinking water samples. *African Journal of Biotechnology*. 11 (96): 16263-16269.
41. Keresztes S., Tatar E., Czegeny Z., Zaray G., Mihucz V. G. 2013. Study on the leaching of phthalates from polyethylene terephthalate bottles into mineral water. *Sci Total Environ*, 458-460, 451-458.

42. Laborda G.R., Recalde R.D. 2005. Efectos de la exposición laboral a ftalatos. *Prevención*.168: 34-41.
43. Lakshmi S., Jayakrishnan. 1998. Migration resistant, blood-compatible plasticized polyvinyl chloride for medical and related applications. *Artificial Organs*. 22 (3): 222-229.
44. Liang P., Zhang L., Peng L., Li Q., Zhao E. 2010. Determination of phthalates ésteres in soil samples by microwave assted extraction and High Performance Liquid Chromatography. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 85: 147-151.
45. Lopera E. j., Ramírez G.C., Zuluaga A. M., Ortiz V. J. 2010. El método analítico como método natural. *Revista Crítica de Ciencias Sociales y Jurídicas*, 25: 1-27.
46. Lorenzo J. 2010. Materiales en contacto con alimentos. CNTA Disponible en: <http://www.cnta.es/boletin/b6/articulos/materiales.php>.
47. Lowell Center for Sustainable Production. 2011. Phthalates and their alternatives: health and environmental concerns. University of Massachusetts Lowell. Consultado el: 18/10/2013.
48. Marcella F., Federica C., Giorgio P., Luca G., Tiziana E., Stefania P., Francesco C., Giuseppe L. 2012. Di-(2-ethylhexyl)-phthalate migration from irradiated poly (vinyl chloride) blood bags for graft-vs-host disease prevention. *International Journal of Pharmaceutics*. 430: 86-88.
49. Mathon Y. 2012. Cuadernillo para unidades de producción. Apoyo al trabajo popular: Envases y embalajes. 1ª ed. Inst. Nacional de Tecnología Industrial (INTI), 28 Pp.

50. MCGROUP. 2016. Diethyl Phthalate (DEHP): 2016 World Market Outlook and Forecast up to 2020. Disponible en: <http://mcgroup.co.uk/researches/diethyl-phthalate-dehp>
51. Mendoza Cantú A. 2004. Fataletos en Fernández B.A., Yarto R.M., Castro D.J. com. Las sustancias Tóxicas persistentes. 1ra ed. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales-Instituto Nacional de Ecología. México D.F. Pág 151-164.
52. Morales Méndez J.E. 2010. Introducción a la ciencia y tecnología de los plásticos. 1ra Ed. Trillas. México, D.F. 133-144 pág.
53. Morales R. 2012. Auge de agua embotellada en el país. El Economista Disponible en: <http://eleconomista.com.mx/industrias/2012/06/14/auge-agua-embotellada>.
54. Moreno C. D. 2014. Requieren capitalinos certeza sobre la calidad del agua que reciben en el hogar. Semanario de la AUM. XX (22): 4-5.
55. Mortensen K. G., Main M. K., Anderson A.M., Leffers H., Skakkebaek E. N. 2005. Determination of phthalate monoesters in human milk, consumer milk, and infant formula by tandem mass spectrometry (LC-MS-MS). Anal. Bioanal. Chem. 382: 1084-1092.
56. Mousa A., Basheer, C., Rahman Al-Arfaj, A. 2013. Determination of phthalate esters in bottled water using dispersive liquid-liquid microextraction coupled with GC-MS. J Sep Sci. 36(12): 2003-2009.
57. National Toxicology Program (NTP). 2011. Di (2-ethylhexyl) Phthalate. National Toxicology Program, Department of Health and Human Services. Disponible en: <http://ntp.niehs.nih.gov/go/roc12>. Última revisión 03/10/2013.

58. Norma Oficial Mexicana. 1993. NOM-041-SSA1-1993, Bienes y servicios. Agua purificada envasada. Especificaciones sanitarias. Norma Oficial Mexicana 1-29.
59. Norma Oficial Mexicana. 1994. NOM-117-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, fierro, zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrometría de absorción atómica. Norma Oficial Mexicana 1-45.
60. Norma Oficial Mexicana. 1995. NOM-130-SSA1-1995, Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias. . NORMA Oficial Mexicana, 1-20.
61. Norma Oficial Mexicana. 2002. NOM-201-SSA1-2002, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados a granel. Especificaciones sanitarias. Norma Oficial Mexicana, 1-57.
62. Norma Oficial Mexicana. 2012. NOM-043-SSA2-2012, Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación. Norma Oficial Mexicana, 1-79.
63. Ortega G.J.A., Ferris T.J., Molini M.N., López A.J., García C.J., Cánovas C.C., Aliaga V.J., Alcón S.J., Ortí M.A.M., Beseler S.B., Andreu A.E. 2002. Hospital sostenible (parte I). Exposición pediátrica a cloruro de polivinilo y ftalatos. Medidas preventivas. Rev. Esp. Pediatr. 58 (4): 251-266.
64. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 1996a. El agua, en Organización de las Naciones Unidas para la

alimentación y la agricultura. FAO. Com. Ecología y enseñanza rural.  
Estudio FAO Montes Ed. Disponible en  
<http://www.fao.org/docrep/006/w1309s/w1309s00.htm#TopOfPage>.

Consultado el 23 de febrero de 2015. -

65. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 1996b. Manuales para el control de calidad de los alimentos. La garantía de la calidad en el laboratorio químico de control de alimentos. Cap. 7. FAO Ed. 39-50 p..
66. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 1997. Definiciones para los fines del Codex Alimentarius. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/w5975s/w5975s08.htm>.
67. Ortiz R., Schettino B., Gutiérrez R., Díaz G., Vega S. 2010. Presence of polychlorinated biphenyls (PCBS) in bottled drinking water in México City. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 85, 372-376.
68. Plastivida. 2007. Ésteres de ftalatos: Su relación con el PVC y sus diferentes aplicaciones. Plastivida Argentina, Centro de Información Técnica 4, 1-21.
69. Profeco. 2014. Reporte especial: Consumo de agua embotellada. Revista del consumidor. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=E3wfKyecYI8>. Consultado: 22 de septiembre de 2014.
70. Quattrocchi O.A., Abelaira A.S.I., Laba R.F. (1992). Introducción a la HPLC: Aplicación y Práctica. 1er Ed. Buenos Aires, Argentina. Pp. 301-328.

71. Ramírez F. 2011. Control de la Calidad en las aguas de consumo humano. Notas, 1-41.
72. Redacción. 2010. México, primer lugar en consumo de agua embotellada. *El Economista*. Disponible en: <http://eleconomista.com.mx/sociedad/2010/05/17/mexico-primer-lugar-consumo-agua-embotellada>. México.
73. Romano Mozo D. 2012. Disruptores endocrinos: Nuevas respuestas para nuevos retos. *ISTAS*, 3-28.
74. Russo M.V., Notardonato I., Cinelli G., Avino P. 2012. Evaluation of an analytical method for determining phthalate esters in wine samples by solid-phase extraction and gas chromatography coupled with ion-trap mass spectrometer detector. *Anal Bioanal Chem*. 402:1373–1381.
75. Sánchez E. 2012. Firmas extranjeras, dueñas del mercado de agua embotellada. *El Economista* Disponible en: <http://eleconomista.com.mx/industrias/2012/10/14/firmas-extranjeras-duenas-mercado-agua-embotellada>.
76. Schechter A., Lorber M., Guo Y., Wu Q., Yun S.H., Kannan K., Hommel M., Imran N., Hynan L.S., Cheng D., Colacino J.A., Birnbaum L. S. 2013. Phthalate Concentrations and Dietary Exposure from Food Purchased in New York State. *Environmental Health Perspectives*. 121 (4): 473-479.
77. Schmid P., Kohler M., Meierhofer R., Luzi S., Wegelinn, M. 2008. Does the reuse of PET bottles during solar water disinfection pose a health risk due to the migration of plasticisers and other chemicals into the water? *Water Research*. 42: 5054-5060.

78. Sendón R., Sanches-Silva A., Bustos J., Martín P., Martínez N., Cirugeda, M.E. 2012. Detection of migration of phthalates from agglomerated cork stoppers using HPLC-MS/MS. *J. Sep. Sci.* 35: 1319-1326.
79. Sigma-Aldrich. 2015. Ficha de datos de seguridad: Phthalates. Disponible en: <http://www.sigmaaldrich.com>. Consultado 30 de enero de 2015.
80. Svensson K., Hernández-Ramírez R.U., Burguete-Garc A., Cebrián M.E., Calafat A.M., Needham L.L., Claudio L., López-Carrillo L. 2011. Phthalate exposure associated with self-reported diabetes among Mexican women. *Environmental Research.* 111: 792-796.
81. Unión Europea. 2004. Reglamento (CE) N° 1935/2004, Sobre materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos y por el que se derogan las directivas 80|590|CEE y 89|109|CEE. Parlamento Europeo y del Consejo, L 338|4- L 338|17.
82. Unión Europea (U.E.). 2011a. Reglamento (UE) N° 10/2011, sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. Parlamento Europeo y del Consejo, L 12|1- L 12|89.
83. Unión Europea (U.E.). 2011b. Reglamento (UE) N° 1282/2011, sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. Parlamento Europeo y del consejo, L 12|1- L 12|91.
84. United States. Environmental Protection Agency (U.S.EPA). 2007. Phthalates: TEACH Chemical Summary. United States. Environmental Protection Agency. Disponible en: <http://epa.gov/teach/>. Última revisión 30/09/2013.



85. Xu Q., Yin X., Wang M., Wang H., Zhang N., Shen Y., Xu S., Zhang L., Gu Z. 2010. Analysis of phthalate migration from plastic containers to packaged cooking oil and mineral water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 11311-11317.
86. Yan, H., Cheng, X., Yang, G. 2012. Dummy molecularly imprinted solid-phase extraction for selective determination of five phthalate esters in plastic bottled functional beverages. *J. Agric. Food Chem.* 60:5524-5531.
87. Zaater M. F., Tahboub Y. R., AL Sayyed A. N. 2014. Determination of phthalates in Jordanian bottled water using GC-MS and HPLC-UV: environmental study. *J Chromatogr Sci*, 52(5), 447-452.
88. Zhang Y., Lin I., Cao Y., Chen B., Zheng I., Ge R.S. 2009. Phthalate levels and low birth weight: A nested case-control study of Chinese newborns. *The Journal of Pediatrics*. 155 (4): 500-.504.



# Presencia de ftalatos en agua embotellada comercializada en la ciudad de México y su migración durante el almacenamiento a diferentes temperaturas.

Presence of phthalates in bottled water commercialized in Mexico City and their migration during storage at different temperatures.

Marcela Vazquez Francisca<sup>1</sup>, Rey Gutiérrez Tolentino<sup>2</sup>, Salvador Vega y León<sup>2\*</sup>, J. Jesús Pérez González<sup>2</sup>, Arturo Escobar Medina <sup>2,3</sup> J. Gabriel Rivera Martínez<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Alumna de Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Calzada del hueso 1100, Col. Villa Quietud, Coyoacán, C.P. 04960, Ciudad de México.

<sup>2</sup>Profesor-Investigador del Departamento de Producción Agrícola y Animal. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Calzada del hueso 1100, Col. Villa Quietud, Coyoacán, C.P. 04960, México.

\*autor para correspondencia: svega@correo.xoc.uam.mx

<sup>3</sup>Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CFNSA). Carretera de Jamaica u Autopista Nacional, Aptd. 10, C.P. 32700, S. José de las Lajas. Mayabeque, Cuba

<sup>4</sup>Profesor-Investigador del Departamento de Biología de la Reproducción. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina, Iztapalapa, C.P. 09340, de México.

## Resumen

El objetivo de este estudio fue investigar la presencia de ftalatos en cuatro marcas de agua embotellada y evaluar el efecto de la temperatura en la migración a través del tiempo. Se realizó un muestreo durante seis meses de cuatro marcas comercializadas en la ciudad de México con la finalidad de determinar el contenido de esteres de ftalatos por HPLC y se evaluó la migración de los esteres de ftalato en el agua a partir de sus envases plásticos (1.5L) a tres temperaturas (8-12°C; 22-25 °C; y 35±1 °C) durante 70 días. En las cuatro marcas de agua embotellada fueron identificados los ftalato de dibutilo (FDB), ftalato de benzilbutilo (FBB) y ftalato bis (2etilhexilo) (FDEH) con una frecuencia de 54, 25 y 96 % respectivamente. En la marca 1 dos muestras sobrepasaron el límite permisible para este compuesto (6 µg L-1), mientras los ftalatos FDB y FBB sus valores se encuentra por debajo del límite umbral establecido por la EPA. El FDEH fue el más abundante en las muestras investigadas. Se observó un incremento de FDEH a los 70 días alcanzando la saturación en todos los tratamientos evaluados. Estos resultado alertan a las instancias reguladoras de la necesidad de contar con programas de monitoreo para el FDEH y otros ftalatos que se han relacionado directamente con enfermedades endocrinas a nivel global.

**Palabras clave:** Ftalatos, Agua embotellada, Migración, Temperatura, Almacenamiento

## Abstract

The aim of this study was to investigate the presence of phthalates in four brands of bottled water and assess the effect of temperature on migration over time. Sampling was conducted for six months in four different water brands commercialized in Mexico City in order to determine their phthalate esters content by HPLC and evaluate the migration of phthalate esters in water from their plastic containers ( 1.5 L) at three temperatures (8-12 ° C; 22-25 ° C; 35 ± 1 ° C) for 70 days. In the four brands of bottled water the dibutyl phthalate (DBP), benzil butilo phthalate (BBP) and bis (2-ethyl hexyl) phthalate (DEHP) were identified with a frequency of 54, 25 and 96% respectively. Two samples in brand (1) exceeded the allowable limit for this compound (6 µg L-1), while the DBP and BBP phthalates have values is below the threshold limit set by the EPA. The DEHP was the most

abundant phthalate in the investigated samples. At the 70th observation day, there was a DEHP increase, reaching saturation in all evaluated treatments. These results set an alert for regulatory organization the need for DEHP and other phthalates monitoring programs, which have been linked globally with endocrine diseases.

**Keywords:** Phthalates, Bottled Water, Migration, Temperature, Storage

## **Introducción**

El consumo de agua embotellada a nivel global ha incrementado de forma considerable no solo en cantidad sino en variedad de formas comerciales. Asia, Europa y América del Norte son los mayores consumidores de agua embotellada con el 31, 28,2 y 23,7% respectivamente del consumo total (EFBW, 2016). El promedio per cápita de consumo de agua embotellada a nivel global osciló desde 4.6 L hasta 234 en el 2014, donde México es el principal consumidor con un promedio de 234 L per cápita, seguido de Italia y los Emiratos Árabes con 186 y 153,5 L respectivamente. (Casajuana & Lacorte, 2003; Redacción, 2010).

Hay diferentes categorías de agua embotellada según su origen: agua mineral natural, agua de manantial y agua potable embotellada (denominada agua tratada). Estas aguas embotelladas son regulados por la Directiva 2009/54 / CE (UE, 2009) y la Directiva 98/83 / CE (UE, 1998) para el análisis químico y pruebas microbiológicas.

Estudios recientes realizados en México han demostrado la presencia de contaminantes químicos y microbiológicos en agua embotelladas, donde sugieren que se realice programas de monitoreo que garantice la calidad e inocuidad de la misma, ya que la presencia de los mismos puede ser un peligro para la salud humana (Arévalo-Pérez, Martínez-León, Lemus-Pérez, & Rodríguez-Susa, 2014; Gutiérrez, Vega, Ortiz, & Schettino, 2012; Ortiz, Schettino, Gutiérrez, Díaz, & Vega y León, 2010).

En los últimos años se han dado a conocer un listado de contaminantes emergentes que se identifican como problemas importantes en la química ambiental y ha despertado un interés creciente por su potencial riesgo para la salud, entre estos aparecen los ftalatos en agua embotellada (Gil, Soto, Usma, & Gutiérrez, 2012; Yang, Yen, & Wang, 2014).

Los esteres de ftalatos (EF) son empleados ampliamente como aditivos en la manufactura de plástico pinturas y cosméticos, para incrementar su flexibilidad, transparencia y durabilidad (Kissin, Liu, Pollick, Brungard, & Chang, 2008). Existen más de 30 tipos de ftalatos, sin embargo los más utilizados son: ftalato bis 2 etilhexil (FDEH), ftalato de diisononilo (FDIIN), ftalato de diisodécilo (FDID), ftalato de benzilbutilo (FBB) y ftalato de dibutilo (FDB) (Cano, Cerezo, & Urbina, 2008). La concentración de estos plastificantes en una matriz varía de 1 hasta el 80% del peso total de producto, esta interacción son muy débiles y conduce a la lixiviación de los ftalatos a partir de los materiales de plástico (Guart, Bono-Blay, Borrell, & Lacorte, 2014; Moreira, Andre, & Cardeal, 2014; Xu *et al.*, 2010). Por otra parte existe un conjunto de factores que favorecen esta emigración como son pH, tiempo de contacto, temperatura de almacenamiento entre otros (Guart *et al.*, 2014).

En México los estudios de la presencia de ftalatos en agua embotellada son escasos y solo se conoce un trabajo presentado en un congreso virtual (García, 2015), por otra parte existe una gran variedad de marca de agua embotellada que se comercializan en la Ciudad de México y no se informa si las concentraciones de ftalatos se encuentran dentro de los valores recomendados por la Agencia de Protección de Medioambiente de Estados Unidos (EPA) para diferentes ftalatos (EPA, 1991). Por otra parte no se conoce el efecto de la temperatura en la concentraciones de los esteres de ftalatos durante el almacenamiento.

Por todo lo anterior el objetivo de este estudio fue detectar y cuantificar la presencia de esteres de ftalatos en cuatro marcas de agua embotellada comercializadas en la Ciudad de México y evaluar el efecto de la temperatura en la migración de esteres de ftalatos a través del tiempo.

## **Materiales y método**

### **Toma de muestras**

Veinticuatro muestras de agua (1.5 L cada uno) embotelladas en envases plásticos de cuatro marcas, de las cuales tres corresponden con las de mayor consumo en México (PROFECO, 2007) y una de menor consumo, fueron tomadas de manera aleatoria en establecimientos de autoservicio ubicados al sur de la Ciudad de México por un periodo de seis meses (julio a diciembre del 2014)

### **Efecto de la temperatura en la concentración de esteres de ftalatos durante el almacenamiento de aguas embotelladas.**

Se tomaron envases de 1.5 L de agua proveniente de la marca 1 (No de Lote 159), se prepararon tres grupos de muestras para ser almacenadas a temperatura ambiente (22-25 °C); temperatura de refrigeración (8-12°C) y temperatura de 35±1 °C, que fueron analizadas en el tiempo cero hasta los 70 días con un intervalo de siete días entre los muestreos.

### **Preparación de la muestras**

La extracción de la muestra se realizó mediante líquido-líquido descrito por Amiridou y Voutsas (Amiridou y Voutsas, 2011). A continuación se describen el procedimiento: se tomó 250 mL de la muestra y se depositó en un embudo de separación de 500 mL, se agregó 50 mL de n-hexano y se agitó vigorosamente, se dejó reposar durante cinco minutos y se repitió el mismo proceso en dos ocasiones más. Una vez que se separaron las dos fases (orgánica y acuosa), se desechó la fase acuosa y la fase orgánica se recuperó en un matraz bola de 125 mL, pasándolo por un papel filtro (Whatman, No. 2), con 1g de sulfato de sodio anhidro, cada muestra se realizó por triplicado.

Posteriormente se unen las fases orgánicas y se evaporó hasta sequedad a temperatura (40°C) y presión constante en un rotoevaporador (Büchi, Alemania) y la muestra se conservó en refrigeración (8-12°C) hasta su análisis. Al momento de su análisis se resuspendió en 1 mL de acetonitrilo.

### **Análisis instrumental**

Los ftalatos fueron determinados en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución acoplado a un detector UV-visible a 230 nm (Hitachi Elite LaChrom) empleando una columna XTerra RP 18 (150 x 3 mm, con un tamaño de partícula de 5 µm) y como fase móvil un sistema de gradiente binario, donde la fase A esta compuesta por Metanol, y la fase B por agua destilada ultra pura (de 0 a 6 min. 50% fase A; de 6 a 18 min. 70% fase A; de 18 a 25 100% fase A y finalmente de 25 a 30 min. 50% fase A) para un tiempo total de 30 minutos, con un flujo fue de 0.7 mL min<sup>-1</sup> y un volumen de inyección de 20 µL empleando un automuestreador (Hitachi L-2200).

### **Reactivos y materiales**

Los estándares de ftalatos: ftalato de dietilo (FDE) (CAS. N°. 84-66-2), ftalato de dibutilo (FDB) (CAS. N°. 84-74-2), ftalato bis (2-etilhexilo) (FDEH) (CAS. N°. 117-81-7) y ftalato de diisononilo (FDIIN) (CAS. N°. 28553-12-0), todos con una pureza entre el 98 a 99.5 %, fueron adquiridos en la empresa Sigma Aldrich Chemistry, mientras que el ftalato de benzilbutilo (FBB) fue adquirido en la compañía Supelco.

Todos los solventes orgánicos (grado HPLC) y los reactivos químicos (calidad reactivo) provienen de la casa comercial J.T.Baker.

El agua ultra pura se obtuvo a partir de un purificador ELGA Purelab flex con una conductividad 18.2 ΩM.



## **Cuantificación y parámetros de calidad**

Su identificación se realizó mediante el método del estándar externo con el procesador de datos EZ Chrom Elite Versión 3.3.2SP2. El método presentó una linealidad entre 15 hasta 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  con coeficiente de regresión superior a 0.99 para cada uno de los estándares. El límite de detección fue de 15, 73, 17, 26 y 64  $\mu\text{g L}^{-1}$  para FBB, FDE, FDB, FDIIN y FDEH respectivamente. El recobrado fue  $112.64 \pm 0.01$ ;  $113.00 \pm 0.02$ ;  $87.62 \pm 0.01$ ;  $82.07 \pm 0.02$  y  $60.15 \pm 0.01$  para FBB ( $0.062 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), FDE ( $0.125 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), FDB ( $0.062 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), FDIIN ( $0.25 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) y FDEH ( $0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) respectivamente. La repetibilidad fue menor de 5%.

## **Análisis estadístico**

Se realizó un Anova para el tratamiento estadístico de los resultados de las diferentes marcas empleando el test de Kruskal-Wallis. Se analizó una regresión lineal con relación a la presencia de ftalato en función del tiempo. Se realizó un análisis descriptivo de todas las variables analizadas. Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante el paquete de software InfoStat versión 2010. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

## **Resultados y discusión**

Existen más de treinta tipos de esteres de ftalatos y son empleados indistintamente en la fabricación de cloruro de polivinilo (PVC) (WIKIPEDIA, 2016), en nuestras condiciones analizamos cinco esteres de ftalatos en las diferentes marcas de agua embotelladas y solo tres compuestos fueron identificados, estos son: ftalato de dibutilo (FDB), ftalato de benzilbutilo (FBB) y ftalato bis (2etilhexilo) (FDEH) con una frecuencia de 54, 25 y 96 % respectivamente. En mayores concentraciones se encontró el FDEH (Cuadro 1).

En un estudio realizado en Tailandia, se analizaron los siguientes compuestos: el ftalato de dimetilo (FDM); FDE; FDB y el FDEH en agua embotellada con dos tipos de materiales (tereftalato de

polietileno (PET) y polietileno (PE)), encontrando la mayor frecuencia en FDM seguido de FDE, FDEH y FDB con valores de 58, 33, 25 y 17% respectivamente (Kanchanamayoon, Prapatpong, Chumwangwapee, & Chaithongrat, 2012). En Arabia Saudita de seis marcas de agua embotellada envasadas en PET y PE, se evaluaron seis ftalatos (FDM; FDE; FDB, FBB, FDEH y FnDO), encontrando la mayor concentración en el FBB.(Mousa, Basheer, & Rahman Al-Arfaj, 2013). En Jordania un estudio realizado en agua embotellada analizaron seis ftalatos (FDM; FDE; FDB, FBB, FDEH y FnDO) y se identificaron solamente el FDB, FDEH y FnDO (Zaater, Tahboub, & Al Sayyed, 2014).

Los estudios antes mencionados corroboran que los ftalatos mencionados son los más frecuentes analizados a nivel global y el patrón puede variar en función de la composición del envase plástico, en este estudio solamente no se analizó el FDM. En el caso de FDM a pesar que no se analizó aparece un pico delante de FDE en las muestras que pudiera ser este, sin embargo debe ser corroborado en otros estudios empleando un estándar externo o por espectrometría de masa. En este trabajo la mayores concentraciones aparecen en el FDEH y esto puede estar relacionado ya que el uso de este compuesto sigue siendo uno de los plastificantes más utilizados en todo el mundo, que se aplica principalmente en la industria del PVC (MCGROUP, 2016).

En la figura 1 se muestra el patrón de ftalatos obtenidos por las diferentes marcas de agua embotelladas, donde el FDEH presentó las mayor concentración con relación al resto de los compuestos y la marca 1 fue superior con una mediana de 300  $\mu\text{g L}^{-1}$  y el rango de valores osciló entre 110 a 8100  $\mu\text{g L}^{-1}$ , el resto de las marcas presentaron mediana entre 70 a 240  $\mu\text{g L}^{-1}$  y el valor máximo alcanzado fue 1212  $\mu\text{g L}^{-1}$ . A pesar de las diferencias encontradas no existió diferencia significativa ( $p > 0.05$ ), debido a la dispersión de las concentraciones, lo que corrobora la naturaleza de estos compuestos. El FDB presentó el valor de la mediana más alta 112  $\mu\text{g L}^{-1}$  en la marca 2 con relación al resto de las marcas existiendo diferencia significativa entre ellas ( $p < 0.005$ ). El FBB

presentó la mayor frecuencia en la marca 2 (13%) con una mediana de 19  $\mu\text{g L}^{-1}$ , en el resto de las marcas solo se detectó en una muestra de 24 en total. Integrando la suma de todos los ftalatos, la marca 1 presentó el mayor valor medio con 2509  $\mu\text{g L}^{-1}$  seguidos de las marcas 2,4 y 3 con valores de 457, 233 y 203  $\mu\text{g L}^{-1}$  respectivamente.

Aparte de FDEH ( $<6 \mu\text{g L}^{-1}$ ) (FDA, 2012), no hay legislaciones actuales para otros esteres de ftalatos en agua embotellada para el consumo humano sin embargo, US EPA propuso valores umbrales para FDE; FDB y FDM de 555, 455 y 5000  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Kanchanamayoon et al., 2012) y en otro trabajo de la misma agencia propuso para el FBB un valor de 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Mousa et al., 2013). Tomando como referencia las normativas antes mencionadas y los resultados obtenidos por García en México en tres marcas de agua que solo reportaron la presencia de FDEH en un rango entre 2.6 y 2.7  $\mu\text{g L}^{-1}$  (García, 2015) y los obtenidos en este trabajo donde el 9% de las muestras sobrepasaron el límite establecido de 6  $\mu\text{g L}^{-1}$  y el 91% presentaron valores que oscilaron entre 20-1200  $\mu\text{g L}^{-1}$ , podemos inferir que la presencia de este compuesto, puede constituir una problemática en el agua embotellada y requiere al menos de un programa de monitoreo para garantizar la calidad e inocuidad de la misma. El resto de los esteres de ftalatos el FDB y FBB no presentaron valores por encima de los valores orientativos 550 y 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  respectivamente, lo que no afectó la calidad del agua embotellada.

#### **Efecto de la temperatura en la concentración de esteres de ftalatos durante el almacenamiento de aguas embotelladas.**

Es conocido que durante la fabricación de diferentes tipos de plásticos se emplean diferentes plastificantes (ácido ftálico ó ftalatos) para incrementar su elasticidad, sin embargo, al no estar químicamente ligados a la matriz plástica estos pueden migrar, aspecto que se favorece por el

incremento de la temperatura, el volumen del envase plástico y el pH entre otros (Keresztes, Tatar, Czegeny, Zaray, & Mihucz, 2013; Xu *et al.*, 2010).

En los tres tratamientos se encontró la presencia de FDB, FBB, FDIIN FDEH, variando su prevalencia en función de la temperatura (figura 2), se observa que el FDEH está presente en todas las muestras, le sigue el FDB por encima 35% en todos los tratamientos, los compuestos FBB y FDIIN aparece con baja frecuencia a las temperaturas de 8-10 °C y 35 °C, mientras el FDIIN se encuentran en un 73% a la temperatura de 23-25 °C.

El comportamiento anterior puede deberse a las características de los compuestos que al evaporarse con el incremento de la temperatura o degradarse genera la aparición de nuevos picos en el cromatograma. En este aspecto un estudio realizado en seis marcas expuesta a la luz solar durante 222 horas en un intervalo de temperatura entre 34 y 57°C, encontraron la presencia de seis esteres de ftalatos, donde el FBB y FDEH presentaron las mayores concentraciones a las 36 h de exposición con valores de 83-124 y 57-75 µg L-1 respectivamente, al aumentar el tiempo de exposición y la temperatura se elevó por encima de 50°C, las concentraciones disminuyeron infiriendo una posible evaporación de estos compuestos (Mousa *et al.*, 2013). Otra explicación puede ser que a pesar de ser un mismo lote del agua se confirmó que los lotes de las botellas eran diferentes, aspecto este que puede cambiar el perfil de migración.

En la figura 3 se muestran los gráficos de linealidad para el FDEH a los diferentes tratamientos y no para el resto de los ftalatos por no mostrar un comportamiento homogéneo, en todos los casos la recta fue significativa ( $p < 0.05$ ) y mostró un coeficiente de correlación de 0.7, lo que corroboró que la temperatura influye directamente en la migración de los esteres de ftalatos, conjuntamente con el tiempo de almacenamiento aspectos que han sido discutidos por otros autores (Casajuana *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2010; Zaater *et al.*, 2014).

En la figura 4 se muestra el incremento en porcentaje de FDEH donde se observa que el almacenamiento a temperatura refrigerada inhibe la migración en los tiempos iniciales, pero a medida que el almacenamiento es mayor, se va igualando la concentraciones en los tiempos finales, al parecer se alcanza la máxima saturación del compuesto en esas condiciones. Este efecto de saturación fue descrito en un estudio realizado en agua mineral embotellada, cuando se almacenó durante 1200 días a la temperatura de 22 °C y partir de los 44 días incremento su valor inicial en un factor 1.5 a los 25 meses (Keresztes *et al.*, 2013). Las diferencias que existen en la literatura en relación con la presencia de esteres de ftalatos, la concentración, el tiempo de saturación, entre otros, está dado fundamentalmente por la variabilidad y la composición de los plásticos, así como de los procesos tecnológicos empleado en su fabricación (Guart, Bono-Blay, Borrell, & Lacorte, 2011; Guart, Calabuig, Lacorte, & Borrell, 2014).

### **Conclusiones**

Se encontró que el FDEH estuvo presente en todas las marcas comercializadas de agua embotelladas en la Ciudad de México y en la marca 1 dos muestras sobrepasaron el límite permisible para este compuesto (6 µg L<sup>-1</sup>), mientras los ftalatos FDB y FBB sus valores se encuentra por debajo del límite umbral establecido por la EPA.

El incremento de la temperatura y el almacenamiento favorece la migración del FDEH en los envases plásticos de agua embotellada llegando a una saturación a los 70 días

Estos resultado alertan a las instancias reguladoras de la necesidad de contar con programas de monitoreo para el FDEH y otros ftalatos que se han relacionado directamente con disruptores endocrinos, que son capaces de imitar o bloquear la acción de las hormonas naturales que afectan a las funciones biológicas en animales y seres humanos (Huang *et al.*, 2012).

### **Referencias**

- AMIRIOU, D., & VOUTSA, D. (2011). Alkylphenols and phthalates in bottles water. *J. Hazard. Mater*, 185, 281–286.
- ARÉVALO-PÉREZ, E. C., MARTÍNEZ-LEÓN, A. J., LEMUS-PÉREZ, M. F., & RODRÍGUEZ-SUSA, M. S. (2014). Aproximación a la presencia de SPD y microorganismos en agua embotellada. *Tecnología y ciencias del agua*, 5(2), 05-18.
- CASAJUANA, N., IACORTE, S. (2003) Presence and release of phthalic esters and other endocrine disrupting compounds in drinking water. *Chromatographia*, 57, 649–655.
- CANO, S. E., CERESO, G. L., & URBINA, F. M. (2008). Alternativas a los ftalatos en adhesivos y tintas informe de vigilancia tecnológic. Recuperado de <http://orff.uc3m.es/bitstream/handle/10016/3790/Alternativas%20a%20los%20ftalatos%20en%20adhesivos%20y%20tintas.pdf?sequence=1>
- EFBW. (2014). Natural waters: The natural choice for hydration. Key statistic. Revisado en abril de 2016, recuperado de <http://www.efbw.eu/index.php?id=90>
- EFBW. (2016, 2014). The European Federation of Bottled Water. "Natural Mineral & Spring Waters". Revisado en abril de 2016, recuperado de [http://www.efbw.eu/fileadmin/user\\_upload/documents/Publications/EFBW\\_Industry\\_Report\\_2015\\_02.pdf](http://www.efbw.eu/fileadmin/user_upload/documents/Publications/EFBW_Industry_Report_2015_02.pdf)
- EPA. (1991). US Environmental Protection Agency, National primary drinking water regulations; Fed. Reg. part 14, 40 CFR part 141, USEPA, Washington DC, 1 July, 1991, p. 395.
- FDA. (2012). Guidance for Industry Bottled Water Quality Standard: Establishing an Allowable Level for di(2-ethylhexyl)phthalate Small Entity Compliance Guide. Revisado en abril de 2016, recuperado de <http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/UCM302173.pdf>
- GARCÍA, F. (2015). Presencia de ftalatos en bebidas en el estado de México. *Revista Iberoamericana para la Investigación y el Desarrollo Educativo* ISSN: 2007-2619(11).
- GIL, M. J., SOTO, A. M., USMA, J. I., & GUTIÉRREZ, O. D. (2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción+ Limpia*, 7(2), 52-73.
- GONZALEZ-CASTRO, M., OLEA-SERRANO, M., RIVAS-VELASCO, A., MEDINA-RIVERO, E., ORDOÑEZ-ACEVEDO, L. G., & DE LEON-RODRIGUEZ, A. (2011). Phthalates and bisphenols migration in Mexican food cans and plastic food containers. *Bull Environ Contam Toxicol*, 86(6), 627-631.
- GUART, A., BONO-BLAY, F., BORRELL, A., & IACORTE, S. (2011). Migration of plasticizers phthalates, bisphenol A and alkylphenols from plastic containers and evaluation of risk. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 28(5), 676-685. doi: 10.1080/19440049.2011.555845

- GUART, A., BONO-BLAY, F., BORRELLI, A., & LACORTE, S. (2014). Effect of bottling and storage on the migration of plastic constituents in Spanish bottled waters. *Food Chem*, 156, 73-80. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.01.075
- GUART, A., CALABUIG, I., LACORTE, S., & BORRELLI, A. (2014). Continental bottled water assessment by stir bar sorptive extraction followed by gas chromatography-tandem mass spectrometry (SBSE-GC-MS/MS). *Environ Sci Pollut Res Int*, 21(4), 2846-2855. doi: 10.1007/s11356-013-2177-9
- GUTIÉRREZ, R., VEGA, S., ORTIZ, R., & SCETTINO, B. (2012). Presence of organochlorine contaminants in bottled drinking water from Mexico City. *Water Science and Technology: Water Supply*, 12(4), 470-479.
- HUANG, P.-C., LIOU, S.-H., HO, I.-K., & CHIANG, H.-C. (2012). Phthalates exposure and endocrinal effects: An epidemiological review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 20(4).
- KANCHANAMAYOON, W., PRAPATPONG, P., CHUMWANGWAIPEE, S., & CHAITHONGRAT, S. (2012). Analysis of phthalate esters contamination in drinking water samples. *African Journal of Biotechnology*, 11(96), 16263.
- KERESZTES, S., TATAR, E., CZEGENY, Z., ZARAY, G., & MIHUCZ, V. G. (2013). Study on the leaching of phthalates from polyethylene terephthalate bottles into mineral water. *Sci Total Environ*, 458-460, 451-458. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.04.056
- KISSIN, Y. V., LIU, X., POLIICK, D. J., BRUNGARD, N. L., & CHANG, M. (2008). Ziegler-Natta catalysts for propylene polymerization: Chemistry of reactions leading to the formation of active centers. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 287(1), 45-52.
- MCGROUP. (2016). Diocetyl Phthalate (DOP): 2016 World Market Outlook and Forecast up to 2020. Revisado en abril de 2016, recuperado de <http://mcgroup.co.uk/researches/dioctyl-phthalate-dop>
- MOREIRA, M. A., ANDRE, L. C., & CARDEAL, Z. L. (2014). Analysis of phthalate migration to food simulants in plastic containers during microwave operations. *Int J Environ Res Public Health*, 11(1), 507-526. doi: 10.3390/ijerph110100507
- MOUSA, A., BASHEER, C., & RAHMAN AL-ARFAJ, A. (2013). Determination of phthalate esters in bottled water using dispersive liquid-liquid microextraction coupled with GC-MS. *J Sep Sci*, 36(12), 2003-2009.
- ORTIZ, R., SCETTINO, B., GUTIÉRREZ, R., DÍAZ, G., & VEGAY LEÓN, S. (2010). Presence of polychlorinated biphenyls (PCBs) in bottled drinking water in Mexico City. *Bull Environ Contam Toxicol*, 85(4), 372-376.
- PROFECO. (2016, 7 abril 2011). Comparativo de precios: Agua embotellada. *Brújula de compra de Profeco*. Recuperado de <http://www.profeco.gob.mx/encuesta/brujula/pdf-2007/Comparativo-de-precios-agua-embotellada.pdf>
- REDACCION. (2010). México, primer lugar en consumo de agua embotellada. *El Economista*. Recuperado de <http://eleconomista.com.mx/sociedad/2010/05/17/mexico-primer-lugar-consumo-agua-embotellada>. Mexico.

DIRECTIVA 98/83/CE DEL CONSEJO de 3 de noviembre de 1998 relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano (1998).

DIRECTIVA 2009/54/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 18 de junio de 2009 sobre explotación y comercialización de aguas minerales naturales (2009).

WIKIPEDIA. (2016, 28 February 2016). Phthalate. Revisado en abril de 2016, recuperado de [https://en.wikipedia.org/wiki/Phthalate#Table\\_of\\_the\\_most\\_common\\_phthalates](https://en.wikipedia.org/wiki/Phthalate#Table_of_the_most_common_phthalates)

XU, Q., YIN, X., WANG, M., WANG, H., ZHANG, N., SHEN, Y., . . . GU, Z. (2010). Analysis of phthalate migration from plastic containers to packaged cooking oil and mineral water. *J Agric Food Chem*, 58(21), 11311-11317. doi: 10.1021/jf102821h

YANG, G. C., YEN, C.-H., & WANG, C.-L. (2014). Monitoring and removal of residual phthalate esters and pharmaceuticals in the drinking water of Kaohsiung City, Taiwan. *J Hazard Mater*, 277, 53-61.

ZAATER, M. F., TAHBOUB, Y. R., & AL SAYYED, A. N. (2014). Determination of phthalates in Jordanian bottled water using GC-MS and HPLC-UV: environmental study. *J Chromatogr Sci*, 52(5), 447-452. doi: 10.1093/chromsci/bmt059



Cuadro 1. Presencia de esteres de ftalatos en agua embotelladas comercializadas en la Cuida de México.

Lista de figuras

Figura 1. Resultados de ftalatos en diferentes marcas de agua embotellados en la Ciudad de México.

Figura 2. Prevalencia de esteres de ftalatos en agua embotelladas por tratamientos

Figura 3. Comportamiento en el tiempo del ftalato de bis-(2-etilhexilo) en los tres tratamientos

Figura 4. Incremento de ftalato bis(2-etilhexilo) (FDEH) a los 35 y 70 días en los diferentes tratamientos

Cuadro 1. Presencia de esteres de ftalatos en agua embotelladas comercializadas en la Cuida de México.

	Media $\mu\text{g L}^{-1}$	Mediana $\mu\text{g L}^{-1}$	EE	Mín. $\mu\text{g L}^{-1}$	Max $\mu\text{g L}^{-1}$	frecuencia%
FDB	81.98	71.00	8.00	50.0	139.8	54
FBB	29.42	21.05	8.28	18.9	70.5	25
FDEH	844.55	190.0	418.54	20.0	8100.0	96
sum_EF	898.56	223.90	421.88	20.0	8190.0	

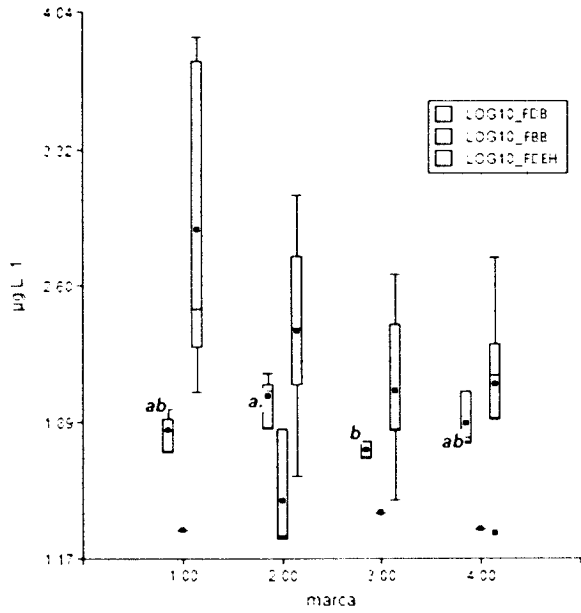


Figura 1. Resultados de ftalatos en diferentes marcas de agua embotellados en la Ciudad de México.

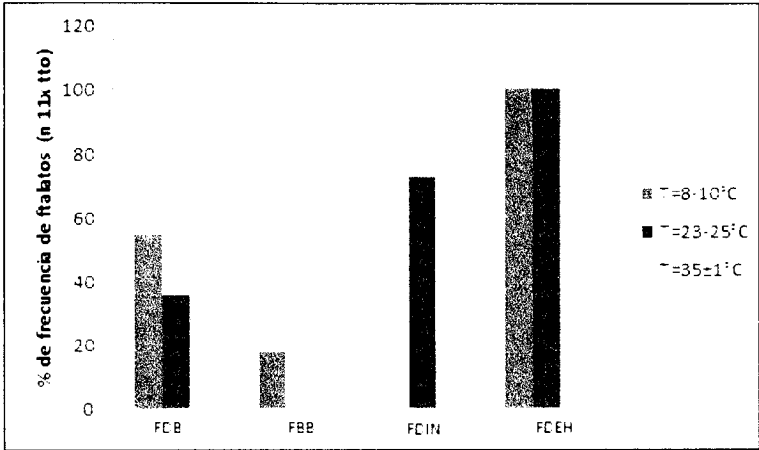


Figura 2. Prevalencia de esteres de ftalatos en agua embotelladas por tratamientos

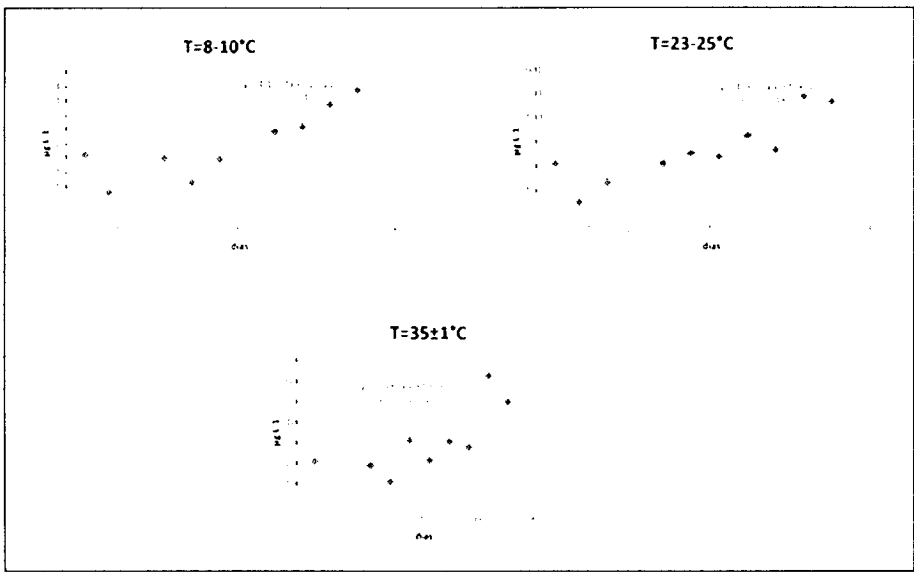


Figura 3. Comportamiento en el tiempo del ftalato de bis-(2-etilhexilo) en los tres tratamientos

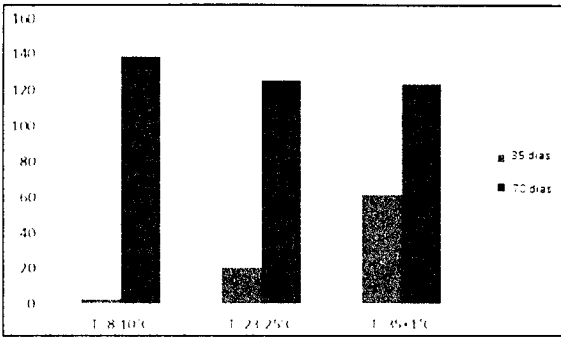


Figura 4. Incremento de ftalato bis(2-etilhexilo) (FDEH) a los 35 y 70 días en los diferentes tratamientos