

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA**  
**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE**



**EVALUACIÓN AMBIENTAL DE PLASTIFICANTES  
PRESENTES EN LA CUENCA ZAHUAPAN-ATOYAC**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS**  
**EN SISTEMAS DEL AMBIENTE**

P R E S E N T A:

BIÓL. RUBÉN DÍAZ SÁNCHEZ

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

DRA. MIRIAM AHUACTZIN PÉREZ

MSP. PATRICIA LIMÓN HUITRÓN

TUTORA:

DRA. ARELY ANAYA HERNÁNDEZ

IXTACUIXTLA, TLAX., ENERO 2022



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA**  
**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE**



**EVALUACIÓN AMBIENTAL DE PLASTIFICANTES PRESENTES  
EN LA CUENCA ZAHUAPAN-ATOYAC**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:  
**MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL  
AMBIENTE**

P R E S E N T A:

**BIOL. RUBÉN DÍAZ SÁNCHEZ**

BAJO LA DIRECCIÓN DE:  
**MSP. PATRICIA LIMÓN HUITRÓN**  
**DRA. MIRIAM AHUACTZIN PÉREZ**

TUTORA:  
**DRA. ARELY ANAYA HERNÁNDEZ**

IXTACUIXTLA, TLAX., ENERO 2022



## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al posgrado en Ciencias en Sistemas del Ambiente por la formación profesional.

Agradezco al CONACyT por la beca número 748733 que me fue otorgada durante los estudios de maestría.

Agradezco al comité tutorial: Dra. Miriam Ahuactzin Pérez, Dra. Arely Anaya Hernández, Dra. Patricia Limón Huitrón por su valioso tiempo, comentarios y por el conocimiento aportado para este trabajo de investigación.

Quiero agradecerle a la Doctora Miriam Ahuactzin Pérez, al M. en C. José Luis Torres García y la M. en C.A. Georgina Pérez Montiel, por apoyarme durante la realización de este trabajo, su conocimiento y las facilidades que me brindaron en el laboratorio me ayudo bastante para realizar el trabajo, gracias por dejarme ser parte de su equipo de trabajo.

A mi familia. A mi papá, mamá y hermanos esto es por ustedes son mi ejemplo de trabajo y dedicación. Son mi fortaleza y me dan la inspiración de seguir adelante diariamente. Por su apoyo y amor incondicional muchas gracias.

## DEDICATORIA

*A mis abuelitos. Tomasa Bonilla Cortes y Ambrocio  
Díaz Meza. *

*Nunca los olvido, gracias por quererme tanto y donde  
quiera que se encuentren espero que se sientan muy  
orgullosos de mí.*



## ÍNDICE

|                                                                                         |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>                                                            | <b>1</b>  |
| <b>1.1 Cuenca Zahuapan-Atoyac .....</b>                                                 | <b>2</b>  |
| <b>1.1.1 Situación ambiental de la cuenca Zahuapan-Atoyac .....</b>                     | <b>3</b>  |
| <b>1.2 Plastificantes .....</b>                                                         | <b>6</b>  |
| <b>1.3 Di (2-etilhexil) ftalato (DEHF).....</b>                                         | <b>7</b>  |
| <b>1.3.1 Toxicidad del DEHF.....</b>                                                    | <b>8</b>  |
| <b>1.4 Bisfenol A (BFA).....</b>                                                        | <b>10</b> |
| <b>1.4.1 Toxicidad del BFA .....</b>                                                    | <b>11</b> |
| <b>1.5 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).....</b>                         | <b>13</b> |
| <b>2. ANTECEDENTES .....</b>                                                            | <b>15</b> |
| <b>2.1 Contaminación de la cuenca Zahuapan-Atoyac.....</b>                              | <b>16</b> |
| <b>2.2 Presencia de plastificantes en cuerpos de agua.....</b>                          | <b>17</b> |
| <b>2.3 Riesgo toxicológico asociado a plastificantes.....</b>                           | <b>20</b> |
| <b>3. JUSTIFICACIÓN .....</b>                                                           | <b>22</b> |
| <b>4. OBJETIVOS.....</b>                                                                | <b>24</b> |
| <b>4.1 Objetivo general .....</b>                                                       | <b>25</b> |
| <b>4.2 Objetivos específicos .....</b>                                                  | <b>25</b> |
| <b>5. HIPÓTESIS .....</b>                                                               | <b>26</b> |
| <b>6. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>                                                     | <b>28</b> |
| <b>6.1 Etapa 1: Recolección, conservación y manejo de muestras .....</b>                | <b>29</b> |
| <b>6.2 Etapa 2: Cuantificación de plastificantes .....</b>                              | <b>30</b> |
| <b>6.2.1 Pretratamiento de muestras.....</b>                                            | <b>30</b> |
| <b>6.2.2 Extracción Líquido-Líquido .....</b>                                           | <b>31</b> |
| <b>6.2.3 Extracción Sólido-Líquido .....</b>                                            | <b>32</b> |
| <b>6.2.4 Resuspensión.....</b>                                                          | <b>32</b> |
| <b>6.2.5 Análisis instrumental HPLC .....</b>                                           | <b>33</b> |
| <b>6.3 Etapa 3: Cociente de riesgo .....</b>                                            | <b>33</b> |
| <b>6.4. Análisis estadístico.....</b>                                                   | <b>34</b> |
| <b>7. RESULTADOS.....</b>                                                               | <b>35</b> |
| <b>7.1 Fuentes de emisión de plastificantes por actividad industrial y urbana .....</b> | <b>36</b> |
| <b>7.2 Concentración de DEHF en muestras de agua y sedimento.....</b>                   | <b>37</b> |
| <b>7.4 Concentración de BFA en muestras de agua y sedimento .....</b>                   | <b>39</b> |

|                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 7.6 Análisis de componentes principales de DEHF en muestras de agua y sedimento ..... | 42 |
| 7.7 Análisis de componentes principales de BFA en muestras de agua y sedimento .....  | 45 |
| 7.8 Cociente de riesgo ecotoxicológico .....                                          | 47 |
| 8. DISCUSIÓN .....                                                                    | 49 |
| 8.1 Contaminación de la cuenca Zahuapan-Atoyac.....                                   | 50 |
| 8.2 Presencia de BFA y DEHF en muestras ambientales de aguas y sedimentos .....       | 51 |
| 8.3 Evaluación del riesgo ecotoxicológico .....                                       | 54 |
| 9. CONCLUSIÓN .....                                                                   | 56 |
| 10. REFERENCIAS.....                                                                  | 58 |

# **I.ÍNDICE DE TABLAS**

|                                                                                                                                                          |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tabla 1. Principales empresas que están relacionadas con la emisión de plastificantes y que están ubicadas en la cuenca Zahuapan-Atoyac - - - - -</b> | <b>37</b> |
| <b>Tabla 2. Matriz de correlaciones de DEHF en los diferentes tipos de muestras y los disolventes utilizados - - - - -</b><br><b>-</b>                   | <b>44</b> |
| <b>Tabla 3. Matriz de correlaciones de BFA en los diferentes tipos de muestras y los disolventes utilizados - - - - -</b><br><b>- -</b>                  | <b>47</b> |
| <b>Tabla 4. Cociente de riesgo de agua y sedimento del rio Zahuapan-Atoyac - - - - -</b>                                                                 | <b>48</b> |

## **II. ÍNDICE DE FIGURAS**

|                                                                                                                                                  |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Figura1. Segmentos en los que está dividida la RH 18- - - - -</b>                                                                             | <b>3</b>  |
| <b>Figura 2. Estructura química del DEHF - - - - -</b>                                                                                           | <b>8</b>  |
| <b>Figura 3. Estructura química del BFA. - - - - -</b>                                                                                           | <b>10</b> |
| <b>Figura 4. Esquema que muestra las partes más importantes que integran un cromatógrafo de líquidos de alta resolución- - - - -</b>             | <b>14</b> |
| <b>Figura 5. Subcuenca Río Zahuapan - - - - -</b>                                                                                                | <b>30</b> |
| <b>Figura 6. DEHF en muestras de sedimento - - - - -</b>                                                                                         | <b>38</b> |
| <b>Figura 7. DEHF en muestras de agua - - - - -</b>                                                                                              | <b>39</b> |
| <b>Figura 8 BFA en muestras de sedimento. - - - - -</b>                                                                                          | <b>40</b> |
| <b>Figura 9. BFA en muestras de agua. - - - - -</b>                                                                                              | <b>41</b> |
| <b>Figura 10 Gráfico de puntuación de análisis de componentes principales de DEHF en agua y sedimento de la cuenca Zahuapan-Atoyac - - - - -</b> | <b>43</b> |
| <b>Figura 11. Gráfico de correlación de contaminación de DEHF en los sitios de muestreo de la cuenca Zahuapan-Atoyac - - - - -</b>               | <b>44</b> |
| <b>Figura 12 Gráfico de puntuación de análisis de componentes principales de BFA en agua y sedimento de la cuenca Zahuapan-Atoyac. - - - - -</b> | <b>45</b> |
| <b>Figura 13. Gráfico de correlación de contaminación de DEHF en los sitios de muestreo de la cuenca Zahuapan-Atoyac - - - - -</b>               | <b>46</b> |

### **III. RESUMEN**

La cuenca del Alto Balsas pertenece a la Región Hidrológica No. 18 de la República Mexicana, está formada por los ríos Atoyac y Zahuapan y cuenta con una superficie aproximada de 4,011 km<sup>2</sup>. Diferentes estudios evidencian que la cuenca Zahuapan-Atoyac es el principal receptor de los lixiviados de rellenos sanitarios y de las descargas de agua de origen residual y doméstico sin tratamiento. Como consecuencia de estas actividades antrópicas, la contaminación de los ríos es notable. Algunos de los contaminantes que más se han detectado en agua, suelo, sedimentos y en algunos alimentos son los plastificantes, debido a su amplia utilización en productos de uso diario, además de que han sido considerados como productos químicos altamente tóxicos al desempeñar un papel como disruptores endocrinos. Esta investigación tuvo como objetivo la cuantificación de la concentración de Bisfenol A (BFA) y Di (2-etilhexil) ftalato (DEHF) en agua y sedimento de sitios clave en la cuenca Zahuapan-Atoyac. Asimismo, se identificaron las probables fuentes antrópicas de contaminación y se evaluó el riesgo ambiental utilizando el cociente de riesgo (RQ). Para la evaluación de los plastificantes, se ubicaron 5 sitios perturbados (Apizaco, Amaxac, Xicohtzinco, Totolac, Tepetitla), representativos de zonas de descarga de origen urbano e industrial y zonas de uso agrícola, a través de recorrido de campo y revisión bibliográfica. El DEHF en el sedimento y agua varió de 235-353.8 mg/g y 4.05-9.06 mg/L, respectivamente. Para el BFA osciló entre 50.03-82.6 mg/g y 8.05-11.6 mg/L. Las concentraciones promedio de los dos plastificantes fueron más altas en los sedimentos en comparación con las del agua, debido a que las moléculas son hidrófobas y tienden a adherirse a moléculas ricas en carbono que están presentes en los sedimentos. En la evaluación de la salud ambiental, tomando como base el cociente de riesgo de las directrices de la calidad de la vida acuática los resultados indicaron que en el agua no existe riesgo para la biota, sin embargo, el sedimento representa un riesgo ecotoxicológico alto para los organismos causado por ambos plastificantes. La presencia de plastificantes en la cuenca se atribuye principalmente a las descargas de agua residual de origen industrial y doméstico, por lo que las concentraciones detectadas justifican la necesidad de restringir las descargas de agua residual y

contaminación en la cuenca, ya que con los datos presentados se demuestra que existe riesgo ambiental por parte de estos dos contaminantes.

## **IV. ABSTRAC**

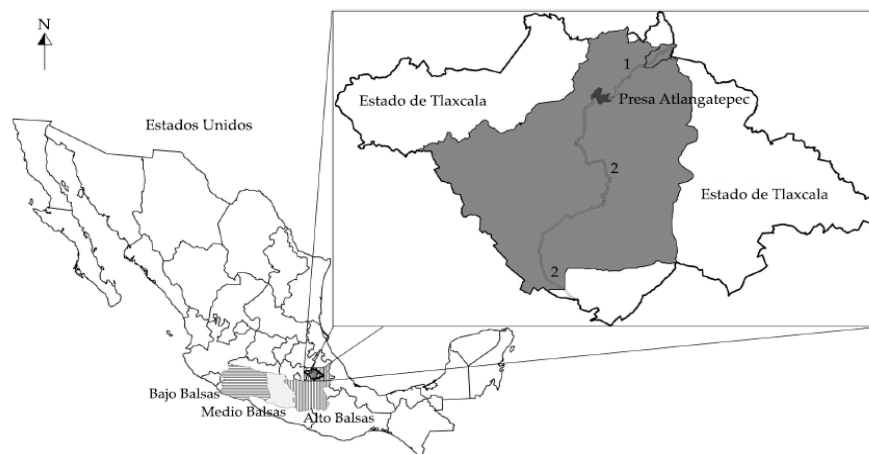
The Alto Balsas basin belongs to Hydrological Region No. 18 of the Mexican Republic, it is formed by the Atoyac and Zahuapan rivers and has an approximate area of 4,011 km<sup>2</sup>. Different studies show that the Zahuapan-Atoyac basin is the main recipient of leachates from sanitary landfills and untreated residual and domestic water discharges. As a consequence of these anthropic activities, the pollution of rivers is notable, one of the pollutants that have been most detected in water, soil, sediments and in some foods are plasticizers. Due to their wide use in daily use products, in addition to being considered highly toxic chemicals due to their role as endocrine disruptors. This research aimed to quantify the concentration of Bisphenol A (BFA) and Di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHF) in water and sediment from the Zahuapan-Atoyac basin. Likewise, the probable anthropic sources of contamination were identified and the environmental risk was evaluated using the risk quotient (RQ). For the evaluation of plasticizers, 5 disturbed sites are located, representative of discharge areas of urban and industrial origin and areas of agricultural use through a field trip and bibliographic review. DEHF in sediment and water ranged from 235-353.8 mg / g and 4.05- 9.06 mg / L, respectively. For the BFA it varied between 50.03-82.6 mg / g and 8.05 11.6 mg / L. Average concentrations of the two plasticizers were higher in sediments compared to water because the molecules are hydrophobic and choose to adhere to molecules rich in carbon that are present in the thirsty. In the evaluation of environmental health for aquatic life, based on the risk ratio of the guidelines for the quality of aquatic life. The results indicate that in the water there is no risk for the biota, however, for the sediment there is a high ecotoxicological risk for the organisms from the two plasticizers. The presence of plasticizers in the basin is mainly attributed to wastewater discharges of industrial and domestic origin. Therefore, these measured concentrations justify the need to restrict the discharge of wastewater and contamination in the basin, since the data shows that there is an environmental risk from these two pollutants.

# **1. INTRODUCCIÓN**

## **1.1 Cuenca Zahuapan-Atoyac**

La cuenca del Alto Balsas pertenece a la Región Hidrológica No. 18 de la República Mexicana y está formada por los ríos Zahuapan y Atoyac, cuenta con una superficie aproximada de 4,011 km<sup>2</sup> hasta la presa de Valsequillo. En el estado de Puebla cubre una extensión de 2,420 km<sup>2</sup>, comprenden 22 municipios y en el estado de Tlaxcala cubre una extensión de 1,591 km<sup>2</sup> y comprende 47 municipios, además, en esta región habitan aproximadamente más de 3 millones de habitantes (CONAGUA, 2010). Esta cuenca está dividida en tres subregiones hidrológicas: a) cuenca del Alto Balsas, b) cuenca del río Cutzamala y el Medio Balsas, y c) cuenca del Bajo Balsas (Fig.1). La red hidrológica Alto Balsas se desglosa en las siguientes subcuencas: Las Cerradas Orientales, Alto Atoyac, Bajo Atoyac, Nexapa, Amacuzac, Tlapaneco y Mixteco; en lo que respecta a la subcuenca del Alto Atoyac están presentes escurrimientos que forman dos corrientes principales: el del río Atoyac y el del río Zahuapan, tal es el caso, que el río Zahuapan es considerado afluente del río Atoyac. El río Zahuapan nace en la sierra de Tlaxco, cerca del Peñón del Rosario a 3,350 msnm, atravesando el estado de Tlaxcala en forma escalonada a través de planicies, vegas ribereñas y barrancas, para recorrer al estado por su parte central; su recorrido va en dirección norte-sur, alimentando su caudal con agua de numerosos arroyos y ríos, donde algunos son tanto permanentes como estacionales, hasta donde confluye sus aguas con las del río Atoyac al sur de Tlaxcala, ya en las inmediaciones de la ciudad de Puebla. El río Atoyac nace en la Sierra Nevada, en las faldas orientales del volcán Iztaccíhuatl y entra en Tlaxcala por el suroeste, donde está ubicada la población de Texmelucan, formando una franja que sigue una dirección paralela al borde político con el estado de Puebla (Toledo, 2003). Espacialmente, la cuenca Zahuapan-Atoyac está situada a 2,240 msnm y decrece en dirección sursureste, hasta llegar a los 2,100 msnm. Esta planicie aluvial está compuesta principalmente por suelos que en su mayor parte son fluvisoles, los cuales juegan un papel fundamental en la vida del suroeste de Tlaxcala y de la vecina ciudad de Puebla (CONAGUA, 2014). Sus bordos y vegas ribereñas han permitido el surgimiento y la existencia de agricultura de humedad y/o riego. Las llanuras aluviales que tienen una mayor importancia por su extensión en

la cuenca son: Panotla al norte, Nativitas al centro y Zacatelco al sur (Handal-Silva et al., 2017).



**Figura 1.** Localización de la región hidrológica número 18 (RH 18), Alto Balsas, Medio Balsas y Bajo Balsas. Los números 1 y 2 indican los segmentos en los que está dividido el río Zahuapan por la presa de Atlangatepec (Muñoz-Nava et al., 2013).

### 1.1.1 Situación ambiental de la cuenca Zahuapan-Atoyac

El ser humano ha impactado las aguas de los ríos debido al uso excesivo de fertilizantes nitrogenados, aplicación de plaguicidas, vertido de agua residual industrial y doméstica, y contaminación por desechar residuos sólidos (latas de comida enlatada, pilas, neumáticos, telas sintéticas, envases de vidrio, etc.). Además, otro tipo de contaminación hacia la cuenca, la ejercen los contaminantes producidos con fines industriales para la fabricación de productos de uso diario (compuestos orgánicos volátiles, bifenilos policlorados, plastificantes) por lo que el destino final de estos contaminantes es recaer en las aguas de los ríos (Silk y Ciruna, 2004).

Diferentes estudios evidencian que la cuenca Zahuapan-Atoyac es el receptor de los lixiviados de rellenos sanitarios y las descargas de agua residual sin tratamiento; de origen urbano, industrial y pecuario. Como consecuencia de estas actividades antrópicas, la contaminación de la cuenca es notable, por lo que es de vital importancia conocer cómo han cambiado a través de los años las concentraciones

de las sustancias químicas en la cuenca Zahuapan-Atoyac, lo que nos ayudará a comprender cómo las concentraciones de contaminantes están relacionadas con las fuentes de deterioro de la matriz ambiental agua (Hammer y Hammer, 2001; García-Nieto et al., 2011). Debido a la presencia de contaminantes en la cuenca Zahuapan-Atoyac los daños ambientales se pueden visualizar desde un punto de vista de calidad del agua para su aprovechamiento en la agricultura u otras actividades humanas, pues se ha reportado un deterioro de la calidad del agua de la cuenca reflejada en parámetros fisicoquímicos (DBO, pH, temperatura, etc.). Dicha contaminación también ha causado la pérdida del hábitat ribereño y su biodiversidad, así como la alteración del sistema hidrológico (caudales) (Barbour et al., 1999). Dado que la contaminación de la cuenca es muy notoria, se ha considerado el biomonitoreo para verificar el estado ambiental de la cuenca utilizando organismos como bioindicadores para determinar la condición del ecosistema. Estos bioindicadores permiten dilucidar la influencia humana sobre un ecosistema acuático; los organismos más utilizados son plantas, peces y macroinvertebrados (Karr, 2006). Es por eso que la contaminación del agua, el deterioro del ecosistema, la pérdida de biodiversidad del sistema hidrológico Zahuapan-Atoyac son problemas inherentes al desarrollo de las sociedades industriales y su consecuente concentración urbana. Prueba de ello, es la creación de parques y corredores industriales para satisfacer las demandas propias del incremento de la población, así como toda la infraestructura para la instalación de complejos urbanos y de carreteras que apoyan al sistema y que facilitan con creces el acceso al agua de la cuenca Zahuapan-Atoyac y su consecuente contaminación (Morales, 2015).

Desde décadas atrás esta cuenca ha sido fuertemente contaminada, principalmente por actividad antrópica. Por ejemplo, durante la mayor parte de su recorrido, la cuenca Zahuapan-Atoyac recibe las aguas provenientes de actividades humanas e industriales. Además, comunidades aledañas a la cuenca, aprovechan esta corriente para actividades agrícolas, domésticas e industriales. En este lugar la refinería de Pemex y empresas del corredor industrial Quetzalcóatl, descargan en la cuenca sus aguas residuales (Rodríguez-Tapia et al., 2012). Los contaminantes

presentes corresponden con los característicos de industrias de alimentos, textiles, plásticos, eléctricas químicas, petroquímica, automotrices, papeleras, bebidas, hierro y acero, farmacéuticas, tenerías y siderúrgicas, entre otras.

El corredor industrial Puebla-Tlaxcala, cuarto corredor industrial en México, agrupa empresas con diversos giros: agroindustrial, alimentario, automotriz, textil, petroquímico, de minerales no metálicos y agroquímicos, que vierten sus desechos tóxicos (colorantes, metales pesados, organoclorados y compuestos fenólicos) al río Atoyac sin ningún tratamiento previo (Rodríguez-Tapia et al., 2012; Gobierno del Estado de Tlaxcala, 2003). Por tal motivo, la Comisión Nacional de los Derechos Humanos (CNDH) emitió una recomendación de bajar los índices de descargas de aguas residuales a los gobiernos de Puebla y Tlaxcala, por los altos niveles de contaminantes causantes de diversas enfermedades, entre ellas el cáncer en niños (Handal et al., 2017). Estas afecciones están causando mucha inquietud en los habitantes aledaños a la cuenca; sin embargo, las autoridades hacen caso omiso sobre el deterioro ambiental en la red hidrológica por parte de las empresas instaladas en los estados de Tlaxcala y Puebla. Ya que la cuenca Zahuapan-Atoyac es el área donde se producen los recursos consumidos (ropa, medicamentos, alimentos, etc.), es también el área que absorbe los residuos generados (metales pesados, desechos tóxicos, etc.), como consecuencia, es el lugar donde se sufren las enfermedades, pérdida de biodiversidad, de suelo y de hábitat (Yonadab, 2017). Como resultado de la alta contaminación de la cuenca Zahuapan-Atoyac, estamos en pleno auge de una crisis ambiental y la principal responsable es la actividad antrópica. Este tipo de actividad ha cambiado el entorno natural de la cuenca, perturbando la calidad del agua mediante la introducción de diversos agentes químicos, por ejemplo, los plastificantes que se utilizan en una gran variedad de productos de uso diario, para los cuales, el sistema ambiental no tiene forma de degradarlos y se han distribuido en agua, suelo y sedimento (Saldaña et al., 2002).

## 1.2 Plastificantes

Los plásticos son polímeros orgánicos sintéticos, maleables, ligeros, económicos, fuertes y duraderos y pueden moldearse en objetos sólidos de diferentes formas. Estas propiedades los hacen adecuados para la fabricación de una amplia gama de productos (empaques de alimentos, artículos para el hogar, bolsas de compras, limpiadores faciales, artículos para hospitales, etc.), incluidos los productos de un solo uso (Iñiguez et al., 2018). Los plastificantes son materiales de baja volatilidad y con base en sus propiedades físico-químicas y peso molecular se clasifican en monoméricos o poliméricos. Sin embargo, desde un punto de vista práctico es preferible clasificarlos considerando su estructura química y las capacidades asociadas en función de su eficacia, permanencia, flexibilidad a baja temperatura, compatibilidad y poder de solvatación en plastisoles; entre mayor sea la polaridad, cromaticidad o grado de ramificación, mayor será el poder de solvatación y compatibilidad del plastificante (Navarro y Reinecke, 2012).

Entre los diferentes tipos de plastificantes se encuentran los ftalatos, bisfenoles, adipatos, entre otros, los cuales son utilizados para mejorar la elasticidad, flexibilidad, color, resistencia y durabilidad de diferentes polímeros plásticos (Larsson et al., 2017; Szczepańska, Kudlak y Namieśnik, 2018). Los materiales que comúnmente llamamos plásticos son polímeros orgánicos sintéticos de alta masa molecular y si bien se emplean para una gran variedad de propósitos, más de un tercio de la masa total de plásticos producidos a nivel mundial se utiliza para hacer envases que generalmente no se reciclan, sino que terminan como residuos ocasionando un fuerte problema social y ambiental, debido a los efectos tóxicos que estos compuestos químicos ejercen sobre la biota (Fu y Kawamura, 2010; Porwal et al., 2015).

Entre los plastificantes encontramos a los ésteres de ftalato que ejercen una posición dominante en el mercado para manufacturar productos; di (2-etilhexil) ftalato (DEHF), di-isobutil ftalato (DiBF), benzilbutil ftalato (BBF) y di-n-butil ftalato (DBF). Son los plastificantes de mayor uso en polímeros plásticos, lo cuales hacen que los productos plásticos que los contengan posean una buena flexibilidad

(Laturnus y Grøn, 2007). Otro plastificante de gran demanda es el Bisfenol A (BFA) el cual es utilizado como monómero de diferentes productos dado que sus propiedades fisicoquímicas le dan la propiedad cristalina y durable a los productos que lo contengan.

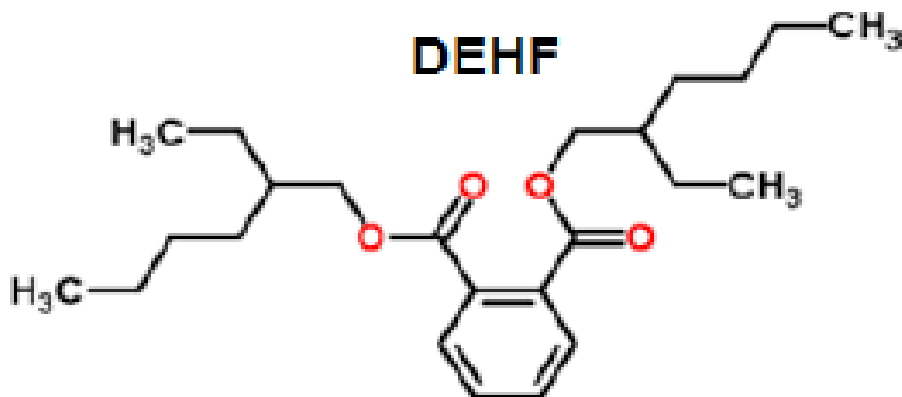
Debido a que el BFA y DEHF son los dos compuestos más empleados en la industria de plásticos a nivel mundial, han sido considerados contaminantes ambientales prioritarios y ubicuos. De hecho, el suelo, el aire y el agua pueden contaminarse con estos agentes químicos por precipitaciones atmosféricas, riego por agua, fertilizantes y aplicaciones de biosólidos (Zhang et al., 2012).

### **1.3 Di (2-etilhexil) ftalato (DEHF)**

Los ftalatos son una familia de diésteres de ácido ftálico que generalmente se usan como aditivos de plásticos para suavizar y aumentar la flexibilidad y maleabilidad de los productos plásticos como el cloruro de polivinilo (Koch, Preuss y Angerer, 2006). Uno de los ftalatos más utilizados en los productos plásticos es DEHF (Fig.2), es un compuesto orgánico cuya fórmula molecular es  $C_6H_4(C_8H_{17}COO)_2$ . Este aditivo del plástico en el 2015 representó una presencia en el mercado del 54% y una producción anual de 3 toneladas al año. El DEHF es un líquido viscoso, incoloro, soluble en aceite, pero no en agua. Su punto de fusión es de  $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$  y su punto de ebullición es de  $230^{\circ}\text{C}$ . La presión de vapor es de  $0.000034\text{ Pa}$  a  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  y su solubilidad en agua es de  $3\text{ g/l}$ . Los plásticos contienen del 1 al 40 % de DEHF por peso y son usados en productos de consumo como imitación de piel, ropa impermeable, calzado, tapicería, suelos, alambre y cable, así como en manteles, cortinas de baño, materiales de envasado de alimentos y juguetes de niños. El DEHF también se encuentra en el alcohol, detergentes líquidos, tintas decorativas, aceites lubricantes industriales y agentes antiespumantes usados durante la manufactura de papel y cartón (Helm, 2007; Horn et al., 2004).

A causa del alto uso de DEHF en productos de uso diario se han reportado altas concentraciones de este contaminante en las matrices ambientales, puesto que, se encuentra mayoritariamente en las aguas residuales y superficiales cercanas a las zonas de producción y procesado, así como en aire, suelo, sedimentos, lixiviados

de rellenos sanitarios y diferentes depósitos naturales de agua. Además, es responsable de la degradación de matrices ambientales mayormente en agua al afectar a la biota acuática por su capacidad de desestabilizar el sistema endocrino y causar diferentes patologías (CERHR, 2006; Mersiowsky et al., 2001).



**Figura 2.** Estructura química del DEHF. El ácido ftálico se esterifica con el 2 etilhexanol, los grupos carbonilo están en ortoposición entre sí en los átomos de carbono vecinos en el anillo aromático (Hauser y Calafat 2005).

### 1.3.1 Toxicidad del DEHF

El DEHF posee una elevada tendencia a separarse de la matriz plástica debido a que no se une químicamente al polímero y debido al valor de su coeficiente de partición octanol-agua ( $K_{ow}$ ), es considerado un compuesto lipofílico, lo que quiere decir que tiende a bioacumularse y también puede liberarse del plástico de forma relativamente sencilla y rápida cuando se pone en contacto con soluciones acuosas ácidas o lipídicas, o por acción del calor, pH y temperatura (Xu et al., 2010). Además, se han reportado estudios *in vitro* que evidencian que el DEHF causa efectos tóxicos para algunos animales mamíferos como ratas y ratones (Martinell, 2006).

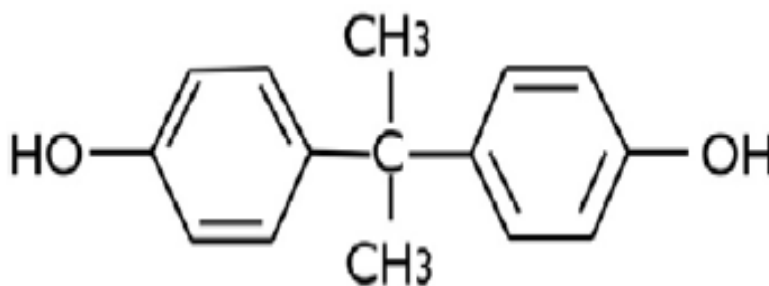
En roedores se han encontrado efectos adversos en hígado, riñón, glándula tiroidea y testículos. En roedores gestantes el DEHF disminuye el número de implantaciones, aumenta la reabsorción fetal, disminuye el peso corporal y aumenta las malformaciones (Swan et al., 2005). Induce mutaciones en los gametos masculinos que pueden ser transmitidos a la siguiente generación por medio de los espermatozoides. Además, disminuye los niveles de los andrógenos. Se ha reportado un daño reproductivo masculino en infantes después de la exposición prenatal al DEHF sugiriendo que esto podría conducir a daños en la salud pública (Dobrzyńska et al., 2012).

Adicionalmente, la exposición a este contaminante puede inducir carcinoma hepatocelular, proliferación de los peroxisomas y mitocondrias, así como de los hepatocitos, supresión de la apoptosis, incremento del peso del hígado, aumento de las enzimas hepáticas, cambios histológicos, entre otros efectos. Los estudios sobre este plastificante reportan que sus moléculas químicas pueden mimetizarse con hormonas interrumpiendo el equilibrio homeostático del sistema endocrino, debido a que la exposición a altas concentraciones de DEHF interviene en procesos genéticos interrumpiendo los factores de transcripción del ADN y aumentando la expresión de genes relacionados con el cáncer (Dobrzyńska et al., 2012).

Respecto a la especie humana, la principal vía de exposición al DEHF es a través de la ingestión, inhalación y exposición dérmica. La exposición dérmica e ingestión son las vías más comunes de exposición a DEHF, ya que como se ha mencionado, el DEHF es usado en productos de uso diario. La mayor fuente de exposición a este tipo de ftalatos es por empaques de diferentes productos alimenticios (CERHR 2006; Fromme et al., 2007; Borchers, 2009). Otra fuente de exposición a ftalatos es a través de los dispositivos médicos que contienen DEHF (bolsas de almacenamiento de alimentos, bolsas de almacenamiento de sangre, juego de tubos, unidades de cuidados intensivos neonatales), especialmente en pacientes que se encuentran en terapia intensiva, que recibieron transfusión de plaquetas, hemodiálisis, cirugía cardiovascular, oxigenación por membrana extracorpórea, entre otros (Heudorf et al., 2007; Schettler et al., 2006; Subotic et al., 2007).

## 1.4 Bisfenol A (BFA)

El bisfenol-A (BFA) [4,4'-dihidroxi-2,2-difenilpropano] (Fig.3) es un compuesto sintético, se obtiene mediante la condensación de dos moléculas de fenol con una de acetona, en presencia de ácido clorhídrico (Vandenberg et al., 2009), y es una de las sustancias químicas industriales más producidas a nivel mundial. Se utiliza principalmente en la fabricación de plásticos de policarbonato, resinas epoxi, también para fabricar productos que entran en contacto con alimentos como botellas reutilizables, incluidos biberones, recipientes para bebidas y alimentos, juguetes para bebés y niños, así como en la producción de equipos médicos, lentes para gafas, medios de embalaje, discos compactos y paneles de ventanas (Mikołajewska, 2015). El BFA es un polvo de color blanco-marrón, no es volátil, sin embargo, sus propiedades físico-químicas incluyen un punto de fusión de 150-159 °C, punto de ebullición de 220 °C a 4 mm de Hg, su punto de inflamación es de 227 °C, una gravedad específica de 1.195 a 25 °C, presión de vapor de  $5.3 \times 10^{-9}$  kPa, su solubilidad en agua es  $<1$  mg/mL a 21.5 °C (insoluble) y una autoinflamabilidad alrededor de 532 °C (Preethi, 2014).



**Figura 3.** Estructura química del BFA. Se condensan dos moléculas de fenol ( $C_6H_6O$ ) y una de acetona ( $C_3H_6O$ ) en presencia de ácido clorhídrico (HCl) (García et al., 2015).

Debido a su amplia aplicación, el BFA ha sido encontrado frecuentemente en aguas residuales, lodos de alcantarillados y sedimentos agrícolas. Por ejemplo, a causa de los vertidos de agua residuales y urbanas se descargan concentraciones considerables de BFA en ambientes acuáticos como ríos y aguas marinas (Kang et al., 2007), sin embargo, también existe rastro de BFA en suero, orina, tejido y sangre humana (Vandenberg et al., 2009; Korner et al., 2000). Existe evidencia que sugiere

que el BFA es persistente en el ambiente. La tasa de fotooxidación atmosférica es rápida y se ha reportado que no se lleva a cabo una hidrólisis debido a que el BFA no contiene grupos funcionales que sean susceptibles a esta reacción química (USEPA, 2010). A pesar de una vida media de solo 1 a 10 días en el suelo, humus, arcilla, limo y sedimento, su ubicuidad lo convierte en un importante contaminante. Cualquier residuo de BFA sin reaccionar que quede en los productos de policarbonato y resinas epoxi puede filtrarse en los alimentos o en el ambiente (Fox et al., 2007).

Las descargas de efluentes provenientes de las industrias donde se sintetiza el compuesto y manufacturan productos que emplean BFA como parte de su estructura química son las principales fuentes de preconsumo (Cousins et al., 2002; Klecka et al., 2009). Las fuentes postconsumo incluyen aquellas asociadas con la eliminación de los materiales que lo contienen, incluida la descarga de efluentes de aguas residuales municipales, lodos utilizados en la agricultura provenientes de plantas de tratamiento, lixiviación en vertederos, combustión de desechos domésticos y la misma degradación de algunos plásticos en el ambiente (Teuten et al., 2009; Fu y Kawamura, 2010; Flint et al., 2012; Huang et al., 2012). Sin embargo, a pesar de los esfuerzos para degradar este contaminante, se siguen reportando concentraciones que oscilan entre 0-1000 mg/kg en suelo y 119-500 mg/L en agua (Leusch et al., 2006; Musolff et al., 2010; Xu et al., 2014). En adición a esto, el calor y el contacto con condiciones ácidas o básicas (pH 6-8) del ambiente aceleran la hidrólisis de los enlaces éster de las moléculas que lo constituyen, dando como resultado una mayor exposición en humanos, animales domésticos y silvestres y su bioacumulación en diversas matrices ambientales (Von Goetz et al., 2010; Flint et al., 2012; Roberts et al., 2014). En el caso de los seres humanos, la exposición se da vía inhalación, ingesta de alimentos empaquetados y a través de la epidermis (Knez et al., 2014).

#### **1.4.1 Toxicidad del BFA**

El BFA forma parte de un grupo de compuestos denominados disruptores endocrinos (DE) los cuales son considerados sustancias exógenas al organismo

que se encuentran comúnmente en el ambiente, en los alimentos y productos destinados a los consumidores. Estos compuestos interfieren en procesos de mimetización de hormonas provocando una alteración en la homeostasis hormonal, así como también, provocando alteraciones genéticas y neuronales del individuo expuesto o en la de sus descendientes (Diamanti-Kandarakis et al., 2009).

Diversos estudios indican que el BFA puede provocar efectos adversos para la salud, como cáncer de próstata, enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, desequilibrio hormonal y alteraciones de las enzimas hepáticas, además de efectos en la reproducción y el desarrollo (anormalidades en los genitales masculinos), efectos neuroquímicos y conductuales (Wetherill et al., 2002; Vom Saal y Hughes, 2005; Signorile et al., 2010). Existen estudios epidemiológicos que potencialmente relacionaron los niveles sanguíneos de BFA con enfermedades ováricas y abortos espontáneos (Takeuchi et al., 2004; Sugiura-Ogasawara et al., 2010). También existe evidencia epidemiológica de que un aumento en el contenido de BFA urinario está asociado tanto con la obesidad como con la resistencia a la insulina (Wang et al., 2012; Li et al., 2013).

Los humanos tenemos diferentes vías de exposición al BFA: oral, inhalatoria y cutánea. Las fuentes más importantes de exposición al BFA son a través de la dieta, el agua, el polvo, el contacto con papel térmico, materiales dentales, y dispositivos o aparatos utilizados en medicina (Geens et al., 2012). Cuando nos exponemos al BFA por vía oral, este se metaboliza en el hígado con mucha rapidez, convirtiéndose en un metabolito muy soluble: BFA-glucurónico (BFA-GLU) (Völkel et al., 2002). Una cantidad más pequeña de BFA, reacciona con sulfato dando lugar a BFA-Sulfato (Geens et al., 2012). La conjugación del BFA se considera un proceso de desintoxicación, ya que este, se elimina de manera eficiente por la orina. El BFA libre es muy poco biodisponible, lo que demuestra la eficacia del primer paso del metabolismo del BFA. A su vez, el BFA conjugado no presenta actividad estrogénica cuando es metabolizado, finalmente solo una pequeña cantidad de BFA libre puede unirse a los receptores estrogénicos (ER) produciendo la alteración hormonal (Mileva et al., 2014). Dado que los plastificantes se han propagado de una manera

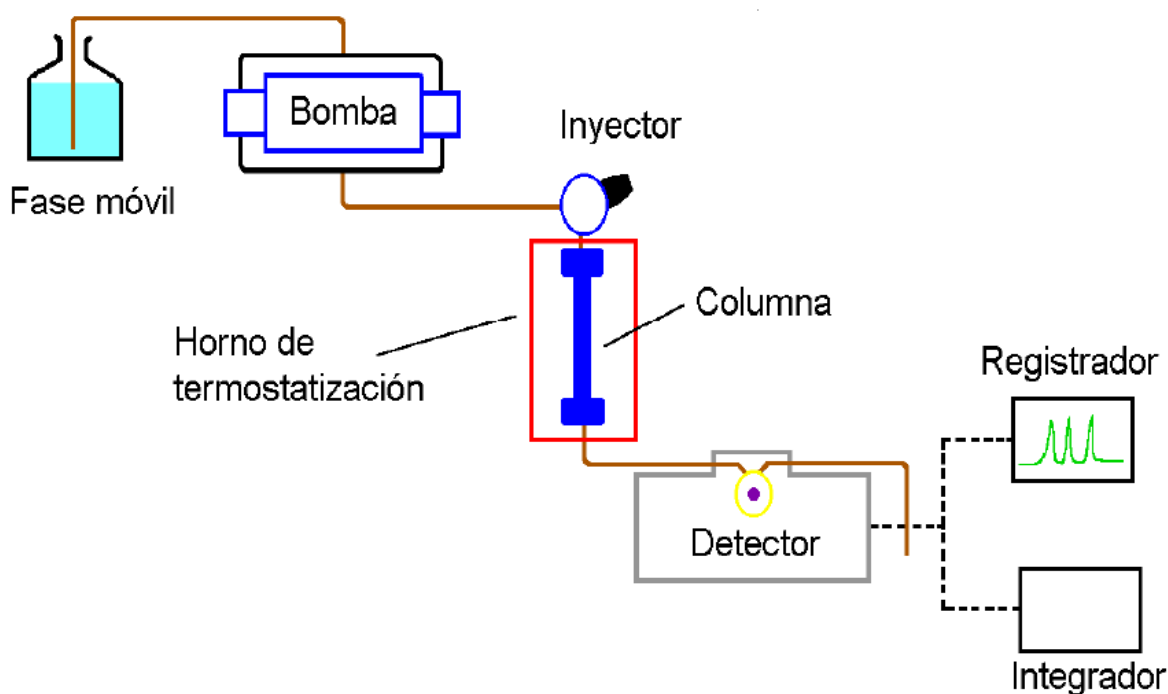
muy fácil en el ambiente, especialmente el BFA y DEHF, ha surgido la necesidad de valorar las concentraciones de estos dos compuestos en diferentes matrices ambientales (suelo, agua y sedimento). Uno de los principales sistemas analíticos para la cuantificación de contaminantes es la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

### **1.5 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)**

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Fig.4), es el método de análisis químico para la separación de los componentes de una mezcla por distribución, el mecanismo de separación se basa principalmente utilizando dos fases; una fase estacionaria no polar (columna) y una fase móvil. La fase estacionaria en la mayoría de los procesos separativos de moléculas utiliza sílica. Respecto a la fase móvil, en esta fase actúa como portador de la muestra un solvente o mezclas de solventes dependiendo de las muestras que se quieran tratar. Durante el proceso para correr muestras en HPLC, la muestra en solución es inyectada en la fase móvil, posteriormente los componentes de la solución viajan de acuerdo con las interacciones no-covalentes de los compuestos presentes en las muestras con la columna utilizada. Estas interacciones químicas determinan la separación de los contenidos en la muestra (Rodríguez, 2012; Gooding, 1990).

Las áreas de aplicación de esta técnica son diversas e incluyen: farmacia, bioquímica, alimentos, química, etc. La cromatografía líquida de alta resolución es una técnica de uso frecuente para la determinación de plastificantes. Se han creado algunos métodos estandarizados de HPLC, por ejemplo, los métodos EPA 6062 y 8106 A3, para determinar plastificantes, en aguas residuales municipales / industriales y matrices acuosas / sólidas (incluidas aguas subterráneas, lixiviados, suelos, lodos y sedimento), respectivamente (Chen et al., 2008). Una de las ventajas de utilizar HPLC es que, la EPA ha establecido la cromatografía líquida como una técnica estándar para el análisis de ftalatos de varias matrices ambientales. Debido a que con este equipo se puede lograr una

sensibilidad de detección eficaz al combinarse con detectores UV. Además, los métodos son más simples, rápidos y sensibles. Así como la instrumentación requerida para la cromatografía es más sencilla y económica. La separación de los ftalatos por HPLC se realiza cotidianamente empleando una fase C18, mientras que la fase móvil es comúnmente una mezcla de acetonitrilo y agua. Para lograr un análisis rápido sin superposición de picos, los análisis de HPLC se realizan principalmente en modo de gradiente (Prevarić et al., 2021)



**Figura 4.** Esquema que muestra las partes más importantes que integran un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (Tomado de: Skoog, Leary. 2000).

## **2. ANTECEDENTES**

## **2.1 Contaminación de la cuenca Zahuapan-Atoyac**

Durante los últimos años se han realizado diferentes estudios para dar un panorama de la situación ambiental de contaminación de la cuenca Zahuapan-Atoyac. En el entorno de la cuenca se asientan 584 localidades (rurales y urbanas) pertenecientes a 42 municipios (PMD, 2011-2013), cuyas actividades socioeconómicas, además de la agricultura y ganadería, incluyen alfarería, comercio, turismo y la industria, dentro de las cuales destacan los corredores industriales Apizaco-Xalostoc-Huamantla (con 14 unidades industriales), ciudad industrial Xicohténcatl (con 16 unidades industriales) y la industria aérea de Atlangatepec, que albergan al sector automotor, de plásticos, textil y de confección, electrónico, autopartes, químico y metal-mecánico (INEGI, 1999).

Se ha documentado que estas actividades antrópicas son las responsables de verter compuestos xenobióticos a la matriz ambiental y por ende causar la contaminación del agua y sedimento. Por ejemplo, Saldaña et al., (2002) demostraron mediante pruebas de toxicidad que la calidad del agua del río Alseseca, al igual que el río Atoyac poseen un coeficiente alto de correlación entre parámetros fisicoquímicos y toxicológicos. La CONAGUA (2007), Sandoval et al., (2009) y Rodríguez-Espinosa et al., (2008) hicieron un estudio en los ríos Atoyac y Zahuapan donde los investigadores reportaron que las aguas residuales de ambos ríos rebasaron los Límites Máximos Permisibles (LMP) de las Normas Oficiales Mexicanas (NOMs) para DBO, DQO, metales y plaguicidas (NOM-001). Aunado a esto, Rodríguez-Tapia et al., (2012) cuantificaron los daños ambientales que provoca la contaminación industrial, textil, automotriz y la asociada a los hidrocarburos vertidos al río Atoyac dejando el antecedente del deterioro del sistema ambiental Zahuapan-Atoyac debido a la actividad antrópica.

Debido a la contaminación de la cuenca, también se ha llevado a cabo la evaluación integral de la condición ecológica del río Zahuapan con un enfoque de cuencas. Ubicando sitios de referencia en zonas de uso forestal y en sitios perturbados, representativos de zonas de uso agrícola, urbano e industrial, a través de un sistema

de información geográfica y recorridos de campo. Los resultados han indicado que la condición del río en todos los sitios perturbados fue pobre, la peor condición en la escala de las evaluaciones menciona que las actividades que más impactan a esta matriz ambiental son derivadas de actividad industrial y público urbano. Dichas actividades son las relacionadas con la emisión de plastificantes a los cuerpos de agua (Mena et al., 2017).

Un estudio reciente sobre la posible emisión de plastificantes fue la de Shruti et al., (2019) donde evaluaron la abundancia, distribución y características (color, morfología, textura) de los microplásticos (MPs) en la cuenca del río Atoyac. Las muestras de sedimento se recolectaron de 29 sitios diferentes a lo largo de la cuenca de la Atoyac en cuatro zonas diferentes: río Zahuapan, río Atoyac, zona de confluencia y presa de Valsequillo. Se encontró que la concentración de MPs es mayor en la sección aguas abajo del río (zona de confluencia:  $833.33 \pm 80.79$  y presa de Valsequillo:  $900 \pm 346.12$  ítems  $\text{kg}^{-1}$ ), revelando impactos significativos por parte de la población densa y el complejo industrial de la ciudad de Puebla y Tlaxcala. Las películas y los fragmentos, los cuales son productos manufacturados a base de plastificantes como BFA y DEHF fueron el tipo más abundante, seguido de las fibras plásticas. Los resultados destacaron la amplia distribución de MPs en los sedimentos de la cuenca de la Zahuapan-Atoyac, México.

## **2.2 Presencia de plastificantes en cuerpos de agua**

Debido a los usos generalizados de los plastificantes en aplicaciones esenciales, desde la electrónica hasta la protección de los alimentos, Erjavec et al., (2016) mencionan que se ha descargado una gran cantidad de estos productos plásticos en el medio acuático. Jin y Zhu (2016) midieron nueve análogos de bisfenol en muestras de agua y sedimentos del lago Taihu (TL), la cuenca del río Liaohe, incluido el río Liaohe (LR) y el río Hunhe (HR), China. Las muestras de agua de LR y HR contenían concentraciones totales de bisfenoles (PBP) altas en las que predominaron el Bisfenol A y el Bisfenol S (BPS) con una contribución sumada de

55, 75 y 75 % a los PBP en aguas TL, LR y HR, respectivamente. En el sedimento, el BFA y el BFF siempre fueron los más predominantes.

En aguas residuales, manantiales y aguas subterráneas del Valle de Mezquital, México, Lesser et al., (2018) analizaron 218 microcontaminantes orgánicos y detectaron cinco compuestos orgánicos volátiles (COV) y nueve compuestos orgánicos semivolátiles (SVOC) en las aguas residuales utilizadas para riego. Solo se detectaron dos COV [ftalato de bis-2- (etilhexilo) y ftalato de dibutilo] en todos los canales de aguas residuales y fuentes de agua subterránea, mientras que no se detectaron COV en las aguas subterráneas y manantiales. De los 118 compuestos farmacéuticamente activos (PhAC) y 7 hormonas reproductivas medidas, se detectaron 65 PhAC y 3 hormonas en las aguas residuales. Por tanto, la presencia de estos PhAC, junto con los altos niveles del disruptor endocrino di-2- (etilhexil) ftalato, indican que las fuentes de agua derivadas de la descarga de los acuíferos estudiados pueden suponer un riesgo para la salud del consumidor.

En una investigación para cuantificar la concentración de BFA en 5 plantas de tratamiento de aguas residuales y la distribución a lo largo de la cuenca de un río en el suroeste del Reino Unido, en la cual los sitios de muestreo incluyeron aguas residuales afluentes y efluentes ( $n = 5$ ), agua de río ( $n = 7$ ) y lodos digeridos ( $n = 2$ ) que fueron monitoreados durante 7 días consecutivos, Petrie et al., (2019), revelaron que las cargas promedio de BFA en las aguas residuales afluentes en dos plantas de tratamiento de aguas residuales fueron de 10 a 37 veces mayores que en las otras aguas residuales monitoreadas. Se midieron concentraciones de hasta  $100 \mu\text{g} / \text{L}$  considerablemente más altas que las reportadas anteriormente para las aguas residuales municipales. La variabilidad temporal a lo largo de la semana (es decir, las concentraciones más altas durante los días de semana), sugiere que estas altas concentraciones están relacionadas con la actividad industrial. No obstante, el análisis de los lodos digeridos de los sitios que recibieron estos niveles elevados de BFA reveló concentraciones promedio de  $4,6 \pm 0,3$  y  $38,7 \pm 5,4 \mu\text{g} / \text{g}$ .

En un estudio de evaluación de plastificantes, Mukhopadhyay et al., (2020) monitorearon la ocurrencia y el riesgo asociado con plastificantes [seis ésteres de ácido ftálico (PAE), bis (2-etilhexil adipato) (DEHA)] y bisfenol A (BFA) en los sedimentos fluviales superficiales de los ríos Adyar y Cooum de / sitios de reciclaje de residuos comerciales, industriales y electrónicos. Los investigadores reportaron concentraciones de los plastificantes en el sedimento fluvial de Adyar (ARS) y el sedimento fluvial de Cooum (CRS) entre 51,82-1796 y 28,13-856 ng / g, respectivamente. Más de las tres cuartas partes de los plastificantes provinieron de di (2-etilhexil) ftalato (DEHF), de acuerdo con la alta producción y uso de este compuesto. El BFA varió entre 10,70-2026 y 7,58-1398 ng/g en ARS y CRS, respectivamente. Las concentraciones promedio de plastificantes y BFA fueron cuatro veces más altas en los sitios de reciclaje de residuos electrónicos en comparación con los sitios industriales y residenciales/comerciales. Así mismo el BFA y el DEHF mostraron una correlación fuerte y significativa ( $R^2 = 0,7$ ;  $p < 0,01$ ) en los sitios de desechos electrónicos, lo que indica tipos de fuentes comunes de emisión. Los sitios presentes en las proximidades de las estaciones de bombeo de aguas residuales contribuyeron al 70 % del BFA total observado en este estudio. La contaminación de plastificantes a los cuerpos de agua, derivada de la diversidad de agentes químicos vertidos a los sistemas hidrológicos, a través de las descargas de aguas residuales urbanas e industriales y aguas de arrastre de las zonas agrícolas y ganaderas. Así como, las aguas residuales de origen industrial y doméstico, los residuos sólidos (plásticos, empaques de comida enlatada, artículos de usos diario, etc.) que son vertidos a los ríos, contienen una gran variedad de contaminantes (plastificantes), de diferente origen y composición molecular. Por lo que la asociación de estos contaminantes promueve la formación de partículas complejas comprometiendo la salud y vida, no solo del hombre, sino de todo el ecosistema.

### **2.3 Riesgo toxicológico asociado a plastificantes**

Los sistemas acuáticos han sido perturbados durante décadas, la principal fuente de contaminación hacia estos cuerpos de agua son las actividades relacionadas con la contaminación antropogénica, ya que las actividades derivadas de la población son las principales emisoras de contaminantes ambientales. Los contaminantes que han tomado importancia recientemente son los plastificantes, pues la contaminación por estos compuestos ha sido la causante de afecciones a los organismos acuáticos y terrestres (Xue et al., 2015). El uso de BFA y DEHF ha sido uno de los ejemplos de plastificantes más debatidos, debido a los efectos tóxicos ejercidos por estos compuestos. Puesto que han sido caracterizados como unos de los principales agentes químicos, que tienen la capacidad de alterar el sistema endocrino de diferentes organismos presentes en los ecosistemas (Kitamura et al., 2005; Roelofs et al., 2015).

Dado que los plastificantes son compuestos capaces de alterar el sistema endocrino, en un estudio (Liao et al., 2012; Vandenberg et al., 2012) con el bisfenol AF (BPAF), el bisfenol AP (BPAP), el bisfenol B (BPB), el bisfenol Z (BPZ), el bisfenol S (BPS) y el bisfenol F (BPF), para reemplazar al BFA como intermediarios en la fabricación de policarbonato, plásticos, polímeros resistentes al fuego, papel térmico y el revestimiento de resina de latas de alimentos y bebidas. Se ha encontrado que estos plastificantes alternativos al uso de BFA, también tienen perfiles toxicológicos similares a los ejercidos por el BFA, como son la toxicidad nerviosa, malformaciones en el desarrollo y la alteración endocrina en especies acuáticas y terrestres.

En una investigación de la presencia de nueve plastificantes entre ellos el BFA y DEHF en agua superficial, materia particulada y sedimentos de lago Taihu, donde los sitios perturbados elegidos para muestrear fueron descargas residuales e industriales, Eladak et al., (2015) hicieron la evaluación de riesgos ecotoxicológicos, la cual reveló un mayor riesgo asociado con las aguas superficiales que con los sedimentos, lo que indica que las descargas residuales industriales y domésticas representan una seria amenaza para los ecosistemas acuáticos (Liu et al., 2016).

He et al., (2009) mencionan que los Ftalatos y BFA son sustancias químicas potencialmente disruptivas endocrinas (EDC) con la capacidad de afectar la función de las hormonas a niveles traza en organismos que estén en contacto con estos compuestos (peces, insectos, crustáceos, etc.). Por lo que la presencia de los plastificantes en los sistemas acuáticos es cada vez más frecuente y por ende aumenta la exposición de los organismos a estos compuestos.

Como los Ftalatos no comparten un enlace químico con el material polimérico, son propensos a lixiviarse principalmente durante la fabricación y eliminación, y eventualmente se vuelven biodisponibles para los seres humanos y el medio ambiente (Cadogan et al., 1994). A diferencia de los Ftalatos, el BFA se une químicamente al material de policarbonato; por lo tanto, la lixiviación de BFA se facilita solo a temperaturas elevadas (30 a 40 ° C) o en condiciones alcalinas (pH 8) (Biedermann-Brem y Grob, 2009). Por lo general, en los países en desarrollo, se informa que la quema al aire libre de desechos vertidos, las aguas residuales no tratadas y las aguas pluviales son las principales fuentes de BFA y Ftalatos en agua y sedimentos. Pues son estas actividades las que desencadenan los daños ecotoxicológicos causados por los plastificantes (Chakraborty et al. 2019<sup>a</sup>; Zhang et al. 2012).

### **3. JUSTIFICACIÓN**

México se encuentra en constante desarrollo y urbanización y la demanda de productos que contienen BFA y DEHF ha ido en constante aumento, ya que estos compuestos son utilizados como monómeros y aditivos de productos plásticos de gran demanda y uso. Además, el BFA y el DEHF, han sido catalogados como contaminantes del medio ambiente y tóxicos para la biota. Se tiene conocimiento de que estos compuestos son disruptores endocrinos, cancerígenos, teratógenos y mutagénicos. Asimismo, las actividades antropogénicas (industrial, pecuario y público urbano) han hecho que los compuestos químicos utilizados como monómeros de plástico estén presentes en diferentes matrices ambientales como en aguas de ríos. En el Estado de Tlaxcala, las aguas de la cuenca Zahuapan-Atoyac, reciben descargas de agua provenientes de las escorrentías en temporada de lluvias y aguas de origen antrópico derivadas de las actividades industriales, agropecuarias y municipales. Dichas descargas impactan, en la calidad del agua para su consumo, recreación y no menos importante mantener el equilibrio ecológico. Debido a las características físico-químicas, el BFA y DEHF migran al agua y sedimentos ocasionando un problema de contaminación. En la actualidad se desconocen las concentraciones de estos contaminantes en la cuenca Zahuapan-Atoyac, por lo que en esta investigación se busca determinar la presencia y concentraciones de BFA y DEHF en sitios puntuales de contaminación. Sin embargo, es necesario conocer los posibles daños que los plastificantes causan en el ecosistema. Por ello, en la presente investigación se pretende estimar el cociente de riesgo basándonos en concentraciones de BFA y DEHF de los diferentes sitios de muestreo (Apizaco, Amaxac, Xicothzinco, Totolac, Tepetitla) y las concentraciones establecidas por las normas de países que tienen reglamentación de estos contaminantes (Union Europea, Canada y NOM-018-STPS-2015). Para así tener un panorama del impacto ambiental de estos plastificantes en la cuenca Zahuapan-Atoyac y aportar información actualizada sobre el grado de contaminación por plastificantes hacia la cuenca y permita orientar a la toma de decisiones, para minimizar la contaminación de la cuenca.

## **4. OBJETIVOS**

#### **4.1 Objetivo general**

Evaluar el riesgo ambiental a la salud de la vida acuática asociado a la concentración de BFA y DEHF presentes en agua y sedimento de la cuenca Zahuapan-Atoyac.

#### **4.2 Objetivos específicos**

- Identificar las posibles fuentes de contaminación de los plastificantes BFA y DEHF, mediante la búsqueda de información disponible en la literatura de actividades antrópicas que influyen en la contaminación de la cuenca Zahuapan-Atoyac y que se relacionan con la emisión de los dos plastificantes a la matriz ambiental, para elegir los sitios a muestrear.
- Cuantificar BFA y DEHF por HPLC en muestras de aguas y sedimentos de los diferentes sitios de muestreo de la cuenca Zahuapan-Atoyac empleando dos disolventes de extracción para determinar cuál disolvente permite obtener los valores más exactos de los contaminantes y determinar el grado de correlación entre los sitios y los compuestos extraídos con cada disolvente.
- Identificar los sitios con mayor riesgo ambiental utilizando el cociente de riesgo mediante las concentraciones de BFA y DEHF presentes en aguas y sedimentos de la cuenca Zahuapan-Atoyac de los cinco sitios.

## **5. HIPÓTESIS**

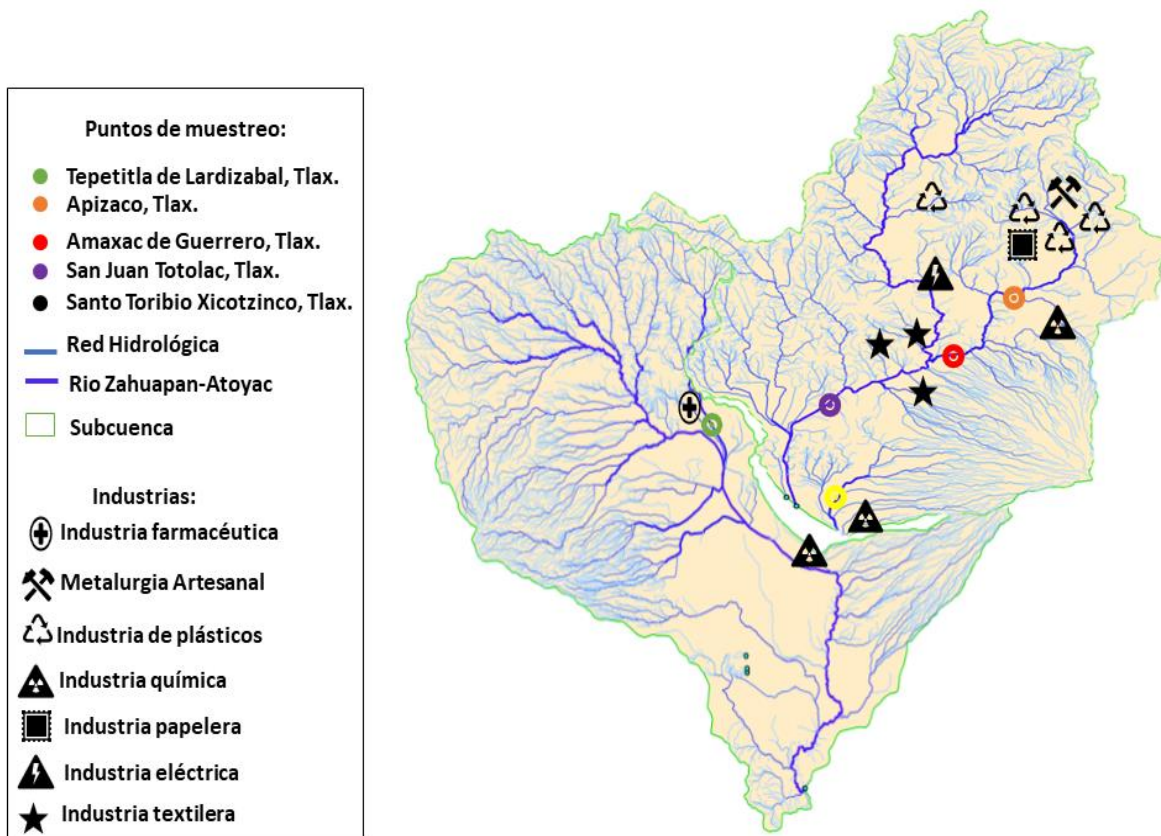
Las concentraciones de BFA y DEHF presentes en la cuenca Zahuapan-Atoyac son una consecuencia de la contaminación por las descargas industriales y público-urbano. Estas concentraciones se encontrarán en mayor cantidad en la parte de sedimento que en agua; y los valores del cociente de riesgo supondrán un riesgo para la salud ambiental de la calidad de la vida acuática.

## **6. MATERIALES Y MÉTODOS**

## **6.1 Etapa 1: Recolección, conservación y manejo de muestras**

Se recolectaron muestras de agua y sedimento en cinco puntos de muestreo estratégicos de las descargas de aguas residuales de las industrias recicladoras de plásticos, papel, textileras, plastificadoras y descargas de agua residual de origen público-urbano en la cuenca Zahuapan-Atoyac en temporada de estiaje (enero 2020). Los sitios muestreados fueron: Amaxac de Guerrero, Barrio de la Concepción Tlax, 19.344593, -98.181859; Apizaco, Emilio Sánchez Piedras Tlax, 19.414369, -98.122440; San Juan Totolac, Atzinco Tlax, 19.323205, -98.251362; Tepetitla de Lardizábal, Tlax, 19.278166, -98.369812; Santo Toribio Xicohtzinco, Tlax. 19.157738, -98.235190 (Fig.5).

Se recolectaron muestras de sedimentos superficiales (0-10 cm de profundidad) en al menos 3 metros a la orilla de la cuenca, en frascos de vidrio (2 L de volumen) en cada sitio de muestreo con ayuda de una palilla de acero inoxidable. Las muestras de agua se recolectaron en frascos de vidrio ámbar (2 L de volumen) directamente del agua superficial de la cuenca. Posteriormente, las muestras de agua se almacenaron en botellas de vidrio de 750 ml y las muestras de sedimentos se almacenaron en papel aluminio. Todos los recipientes y herramientas de muestreo se esterilizaron y limpiaron previamente con metanol, ácido clorhídrico 5N y agua destilada antes de cada muestreo para evitar la contaminación cruzada. Las muestras de agua y sedimentos se transportaron inmediatamente con hielo al laboratorio y se almacenaron a 20 °C hasta la extracción. Se recolectaron un total de 30 muestras de sedimentos y agua en la cuenca Zahuapan-Atoyac.



**Figura 5.** Subcuenca Zahuapan-Atoyac. Los círculos de colores indica los puntos de muestreo y los símbolos indican el giro que tienen las empresas ubicadas a la cercanía de los puntos de muestreo.

## 6.2 Etapa 2: Cuantificación de plastificantes

### 6.2.1 Pretratamiento de muestras

Una vez en el laboratorio, las muestras de sedimento se homogeneizaron y se liofilizaron durante 7 días, posteriormente, se pesaron 500 g de sedimento y se tamizaron hasta obtener partículas de menos de 80 mm de diámetro. Al mismo tiempo, las muestras de agua se filtraron utilizando una bomba de vacío con papel filtro Whatman No. 4. Posteriormente, las muestras de agua se calentaron hasta ebullición y se sometieron a un choque térmico durante 5 minutos. Por último, las muestras se incubaron a 4 °C hasta su posterior análisis. Cada réplica de muestra

de cada sitio de muestreo de sedimento y agua se mezclaron minuciosamente para obtener una muestra homogénea.

### **6.2.2 Extracción Líquido-Líquido**

Las muestras de agua y sedimentos se extrajeron siguiendo el método descrito en Yang et al., (2014), pero con algunas modificaciones. Las extracciones se hicieron utilizando dos disolventes (acetato de etilo y diclorometano), ya que, uno de los principales problemas para la cuantificación de plastificantes es el riesgo de contaminación, dado que los plastificantes son ubicuos y el ahorro de pasos durante la extracción es de suma importancia. Se debe evitar la posible contaminación de las muestras, ya que algunos disolventes orgánicos que son bastante usados para extraer los plastificantes, por ejemplo, el propanol necesita la adición de sales orgánicas para la separación de las fases aumentando así el proceso experimental, debido a que el propanol es miscible en agua. En nuestro caso los dos disolventes elegidos no son miscibles, además son disolventes con baja polaridad y que son solubles en los dos plastificantes; sin embargo, necesitamos saber cual de los dos ofrece mejores rendimientos de extracción y datos más exactos de las concentraciones de BFA y DEHF.

Las muestras de agua (500 ml) se extrajeron por líquido-líquido utilizando acetato de etilo y diclorometano como disolventes de extracción tomando en cuenta las características fisicoquímicas de los compuestos y los disolventes (Coeficiente de distribución, miscibilidad, polaridad y solubilidad). La mezcla de reacción se realizó utilizando 10 ml de agua en 10 ml de disolvente, el mismo volumen se utilizó para todos los sitios de muestreo y los dos disolventes. Más adelante se sometieron a agitación con vórtex durante 30 minutos, donde la muestra está directamente en constante interacción con el disolvente. A continuación, se separó la fase orgánica de la fase acuosa con un embudo de decantación. Finalmente, se dejó evaporar la muestra a 60 °C y se incubó a 4 °C para la resuspensión.

### **6.2.3 Extracción Sólido-Líquido**

Para las muestras de sedimento (500 g) las extracciones se hicieron por sólido-líquido, en este caso se utilizó un soxhlet para realizar las extracciones. De igual manera se utilizó acetato de etilo y diclorometano como disolventes (2:100). La mezcla de reacción se realizó utilizando 2 g de sedimento en 100 ml de disolvente, posteriormente, las muestras se sometieron a 5 reflujos para la extracción. La técnica consistió en poner en contacto el líquido (disolvente) con el sólido (sedimento), durante un lapso de 2 horas y media por muestra, donde la muestra queda totalmente disuelta en el disolvente, posteriormente se evapora en un matraz y se condensa mediante el refrigerante. Finalmente, el material disuelto se dejó evaporar a 60 °C y se incubó a 4 °C para la resuspensión.

### **6.2.4 Resuspensión**

En primer lugar, se llevó a cabo el tratamiento de los viales, los cuales se dejaron en una solución de HCl 1N durante 24 horas en un frasco de vidrio. Una vez cumplidas las 24 horas los viales se pasaron a una solución de acetona-hexano durante 7 días en un frasco de vidrio totalmente hermético, posteriormente, se dejaron secar durante 1 hora para colocar la muestra.

Las extracciones de agua y sedimento anteriormente ya evaporadas e incubadas, se resuspendieron con 2 ml de metanol y se le aplicó agitación con vórtex durante 5 minutos. La técnica consistió en tomar 2 ml de metanol con una jeringa estéril y verterlo en el frasco de la muestra homogeneizando con una espátula de metal tratada y lavada con HCl al 5% para evitar contaminación. Finalmente, se tomaron los 2 ml de metanol y se colocaron en cada vial, rotulado con el sitio, tipo de muestra, técnica de extracción y disolvente utilizado.

### **6.2.5 Análisis instrumental HPLC**

La cuantificación de BFA y DEHF de las muestras ambientales se analizaron utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), equipado con un detector de luz UV y una columna Restek C-18 fase reversa (que correspondió a la fase estacionaria y como fase líquida se utilizó acetonitrilo, metanol y agua). En primer lugar, se hicieron las curvas patrón de DEHF y BFA utilizando concentraciones de (5, 15, 30, 50, 100, 200, 300, 400 y 500 mg/L). Las condiciones del HPLC para el BFA fueron: en condiciones no isocráticas utilizando una fase móvil de Metanol-Agua con diferentes flujos y tiempos (ml/min) (minuto 0, 80:20, minuto 6, 10:0, minuto 9, 10:0 y minuto 12, 60:40) con una longitud de onda de 230 nm y un volumen de inyección de 10 µL. Para la cuantificación del DEHF: la condición de HPLC fue de manera isocrática, utilizando una fase móvil de Acetonitrilo-Metanol-Agua a un flujo de (90:5:5 ml/min) durante 12 minutos, a una longitud de onda de 228 nm y un volumen de inyección de 10 µL. Posteriormente con base en los cromatogramas del HPLC se identificaron los tiempos de retención de los dos compuestos, y más adelante con el apoyo de los cromatogramas de las muestras ambientales se ubicó el tiempo de retención y el valor del área bajo la curva correspondiente para BFA y para DEHF. Finalmente, se calcularon las concentraciones por cada sitio utilizando la ecuación de la línea recta  $y=mx+b$ .

### **6.3 Etapa 3: Cociente de riesgo**

El cociente de riesgo (RQ) que se utiliza ampliamente para evaluar las propiedades de riesgo por contaminantes en el medio acuático (Liu et al., 2017; Xiong et al., 2016) se caracterizó comparando la concentración medida en las muestras ambientales de cada contaminante (BFA y DEHF) de todos los sitios de muestreo, con los correspondientes lineamientos de las directrices de la calidad de la vida acuática basadas en consenso (Pautas canadienses y europeas de calidad de sedimentos y agua para la protección de la vida acuática). Por lo que los datos de toxicidad utilizados en este estudio se obtuvieron de la literatura (USEPA, 2010;

RETER, 2017). El valor de RQ se define como la relación entre la concentración ambiental máxima medida (MEC) y la concentración prevista sin efecto (PNEC), que se describe como la siguiente ecuación (1). El criterio común de clasificación de riesgo para el medio ambiente es riesgo bajo ( $0.01 < RQ < 0.1$ ), riesgo moderado ( $0.1 < RQ < 1.0$ ) y riesgo alto ( $RQ > 0.1$ ) (Blair et al., 2013).

$$RQ = \sum MEC / PNEC \quad (1)$$

#### **6.4. Análisis estadístico**

Se utilizó IBM SPSS 25 y Minitab 19 Statistical software para todos los análisis estadísticos. En la primera etapa, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de un factor para evaluar las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en las concentraciones de DEHF y BFA por cada sitio de muestreo. Para identificar entre que valores había diferencias se realizó una prueba post hoc de Tukey.

Se utilizó el análisis de componentes principales (PCA) con la finalidad de comparar el grado de correlación existente entre el tipo de muestra, sitios de muestreo y los disolventes utilizados. Este análisis nos permitió conocer si existe una alta o baja correlación con respecto a la presencia de los plastificantes en las muestras, que solvente es el que permite la mayor extracción y en qué sitio se encuentra más concentrado el plastificante.

## **7. RESULTADOS**

## **7.1 Fuentes de emisión de plastificantes por actividad industrial y urbana**

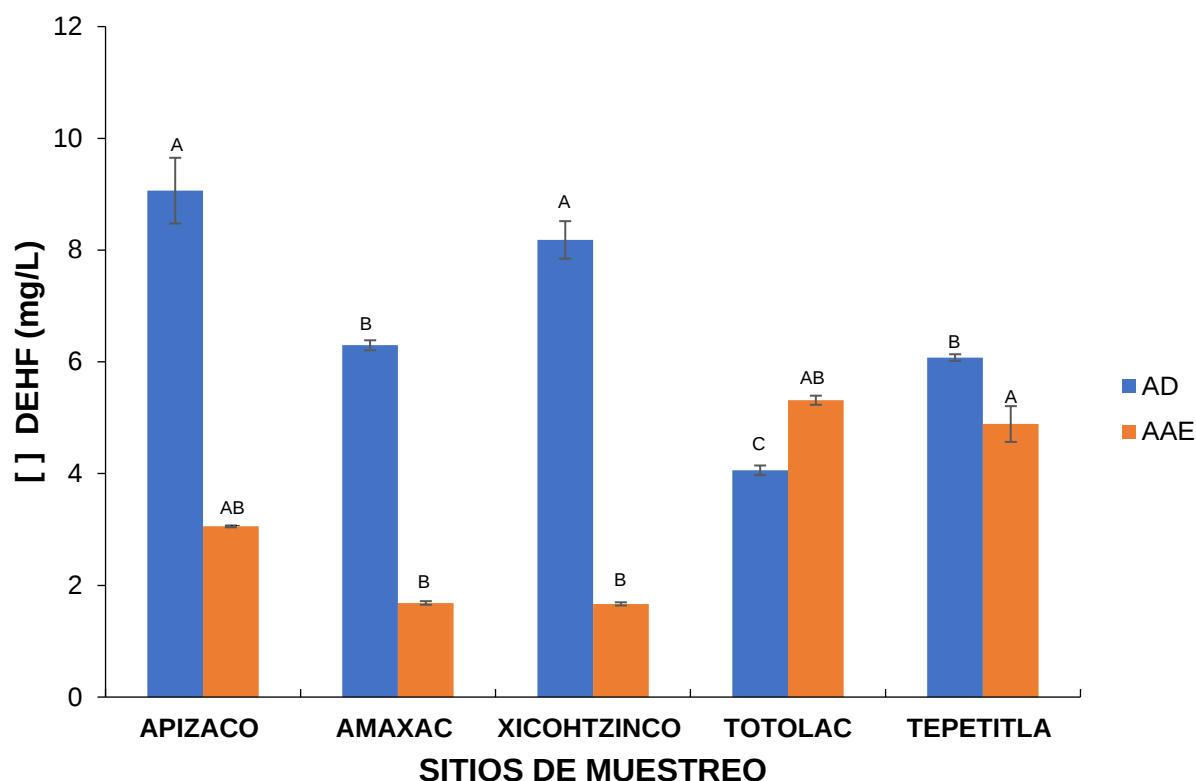
Se muestran las principales empresas relacionadas con la emisión de los dos plastificantes (BFA y DEHF), (Tabla 1). La actividad agrícola-pecuaria, descargas de aguas residuales provenientes de servicios domésticos y actividad industrial son las principales fuentes de emisión de los plastificantes, puesto que, con base en la bibliografía revisada (Fürhacker et al., 2000; Lee et al., 2004; Suzuki et al., 2004; Höhne y Püttmann, 2008; Sánchez-Avila et al., 2009), son estas actividades las que más contribuyen a la contaminación de la cuenca. Las fuentes puntuales de contaminación en la cuenca Zahuapan-Atoyac se presentan en los sitios de descarga de aguas residuales de origen industrial y público-urbano. Los giros de las empresas que emiten plastificantes a la cuenca son: industria textil, industria de plásticos, industria eléctrica, industria papelera, etc. (Martínez-Tavera et al., 2017). Sin embargo, también existen otro tipo de factores de perturbación que están relacionados con la emisión de plastificantes, ya que se lograron observar asentamientos urbanos en la mayor parte del recorrido de la cuenca especialmente por el centro del estado de Tlaxcala y en la parte de Apizaco. En estos dos lugares, la población urbana ubicada en las orillas de la cuenca, vierte descargas de origen doméstico, incluyendo residuos sólidos (plásticos, papeles, metales, llantas de autos, etc.), contribuyendo a la contaminación. Con base en todo lo mencionado anteriormente, el muestreo realizado en la temporada seca presenta alta incidencia de contaminación y omnipresencia de desechos sólidos y líquidos que contribuyen al desequilibrio del sistema hidrológico Zahuapan-Atoyac.

**Tabla 1.** Principales empresas que están relacionadas con la emisión de plastificantes y que están ubicadas en la cuenca Zahuapan-Atoyac (SEMARNAT, 2009).

| <b>Giro de la empresa</b>        | <b>No.</b> |
|----------------------------------|------------|
| Industria Textil                 | 373        |
| Industria de Plásticos           | 28         |
| Industria de Alimentos y Bebidas | 5          |
| Industria Química                | 6          |
| Industria Papelera               | 1          |
| Industria Eléctrica              | 1          |

## 7.2 Concentración de DEHF en muestras de agua y sedimento

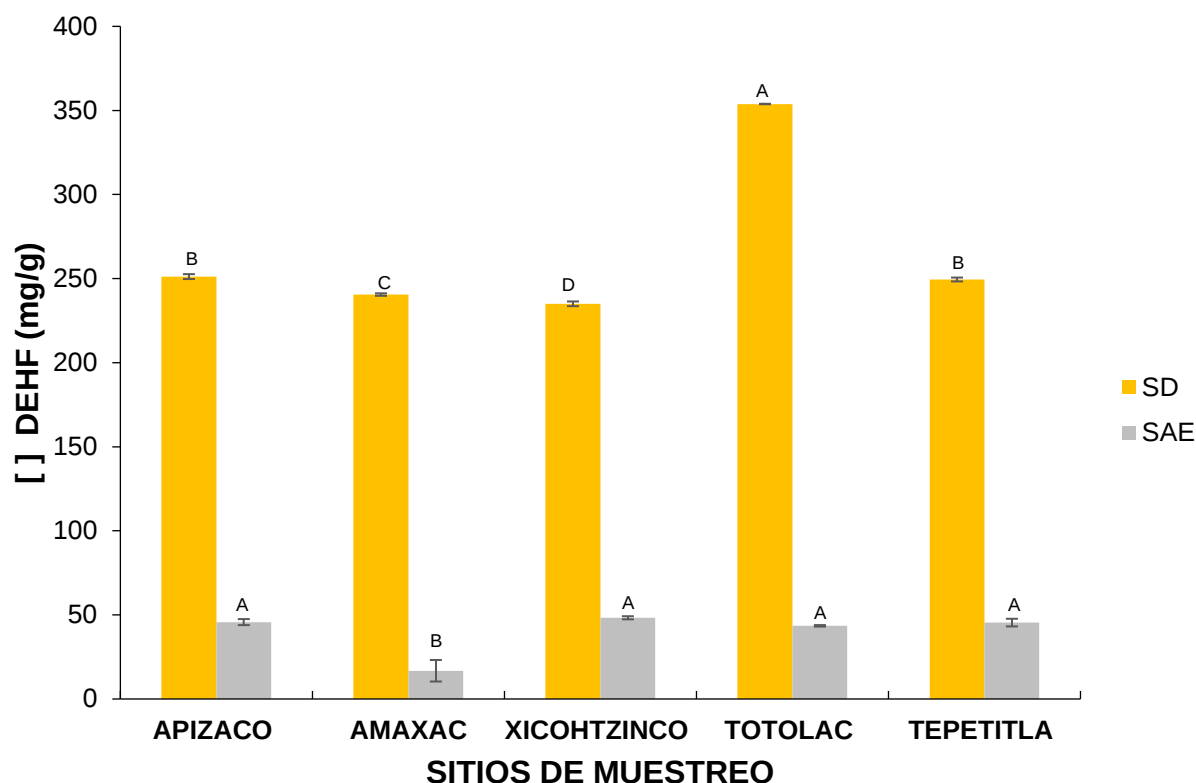
Se encontró DEHF en todas las muestras ambientales de agua de la cuenca Zahuapan-Atoyac, utilizando como técnica analítica la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La concentración de DEHF en muestras de agua se presenta en un intervalo de 4.05-9.06 mg/L que representan un promedio de 5.02 mg/L  $\pm$  2.5 de DEHF. La concentración más alta se observó en el sitio de muestreo de Apizaco 9.06 mg/L y los sitios Totolac, Amaxac, Xicohtzinco y Tepetitla presentan concentraciones de DEHF ( $6.2 \pm 0.8$ ,  $8.1 \pm 0.3$ ,  $4.05 \pm 0.8$  y  $6.07 \pm 0.5$  mg/L de DEHF respectivamente) (Fig. 6). Los resultados obtenidos del ANOVA, indican que los sitios de Apizaco y Xicohtzinco si presentan diferencias significativas, de igual manera los sitios de Amaxac, Tepetitla y Totolac ( $F=80.30 > F_{\alpha(4,5)}=5.19$ ) en concentración de DEHF utilizando el solvente diclorometano. Respecto al solvente acetato de etilo, la prueba indica que Apizaco, Totolac, Amaxac, Xicohtzinco y Tepetitla son similares estadísticamente en concentraciones de DEHF ( $F=6.64 > F_{\alpha(4,5)}=5.19$ ).



**Figura 6.** Concentraciones promedio de DEHF en muestras de agua de la cuenca Zahuapan-Atoyac, AD, indica agua usando diclorometano y AAE, agua usando acetato de etilo. Cada barra indica la media de dos replicas  $\pm$  DE. \* Las letras iguales indican que no existen diferencias significativas y letras diferentes muestran diferencias significativas entre los sitios de acuerdo con la prueba post hoc de Tukey ( $p < 0.05$ ).

Respecto a la concentración de DEHF en sedimento, también se encontró este compuesto en todas las muestras ambientales. Las concentraciones de DEHF para sedimento de todos los sitios de muestreo se presentan en un intervalo de 235 a 353 mg/g, que representan un promedio de  $152.98 \pm 12.3$  mg/g. La concentración más alta de DEHF se observó en el sitio de muestreo que corresponde a Totolac con un valor de 353.8 mg/g. Los sitios de Apizaco, Amaxac, Xicohtzinco y Tepetitla también presentan una elevada presencia de DEHF en los sedimentos ( $251.2 \pm 1.4$ ,  $240.5 \pm 0.7$ ,  $235 \pm 1.3$  y  $249.4 \pm 1.1$  mg/g de DEHF, respectivamente) (Fig. 7). Los

sitios de Apizaco, Amaxac, Xicohtzinco, Totolac y Tepetitla presentan diferencias significativas ( $F=41.09 > F_{\alpha(4,5)}=5.19$ ) en concentraciones de DEHF utilizando como solvente diclorometano. Respecto al acetato de etilo también se encontraron diferencias ( $F=33.70 > F_{\alpha(4,5)}=5.19$ ) en concentración de DEHF en los cinco sitios.

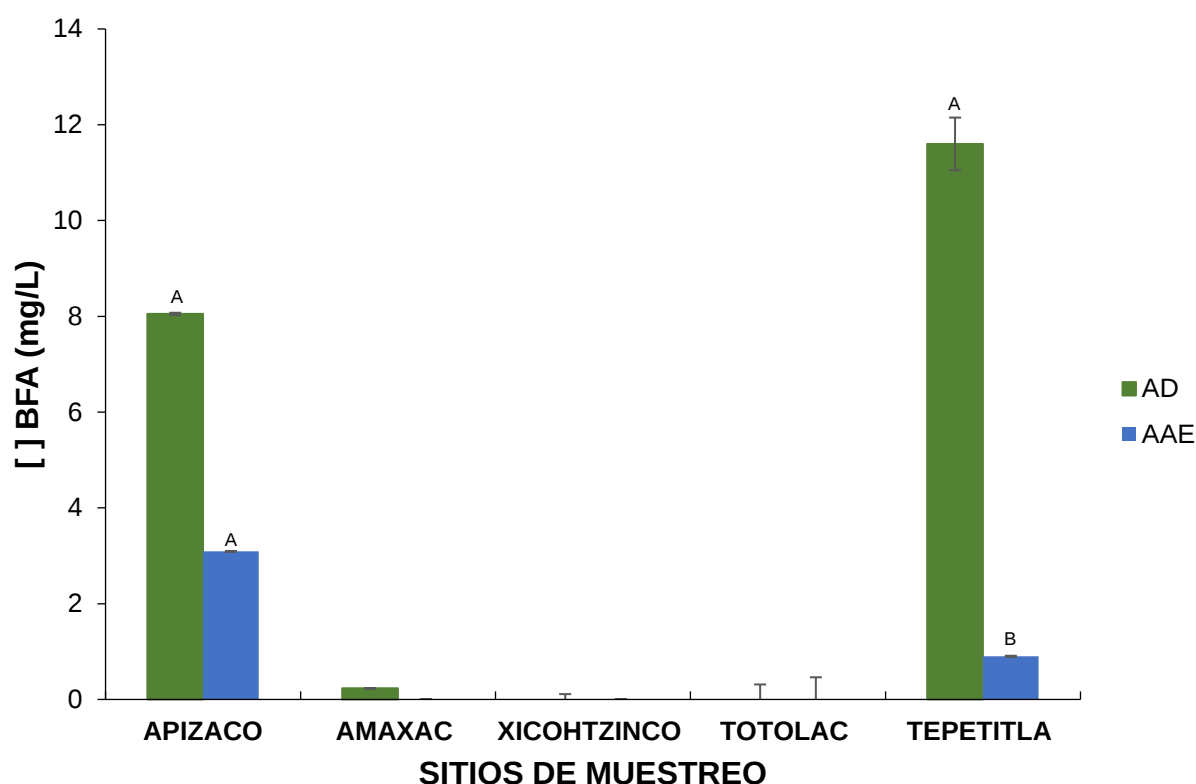


**Figura 7.** Concentraciones promedio de DEHF en muestras de sedimento de la cuenca Zahuapan-Atoyac, SD, indica sediento usando diclorometano y SAE, indica sediento utilizando acetato de etilo. Cada barra indica la media de dos replicas  $\pm$  DE. \* Las letras iguales indican que no existen diferencias significativas y letras diferentes muestran diferencias significativas entre los sitios de acuerdo con la prueba post hoc de Tukey ( $p<0.05$ ).

#### 7.4 Concentración de BFA en muestras de agua y sedimento

Se encontró BFA en las muestras ambientales de la cuenca Zahuapan-Atoyac utilizando como técnica analítica la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), sin embargo, en algunos sitios no se logró detectar este compuesto. Respecto a las muestras de agua, la concentración encontrada de BFA (Fig. 8) presenta un

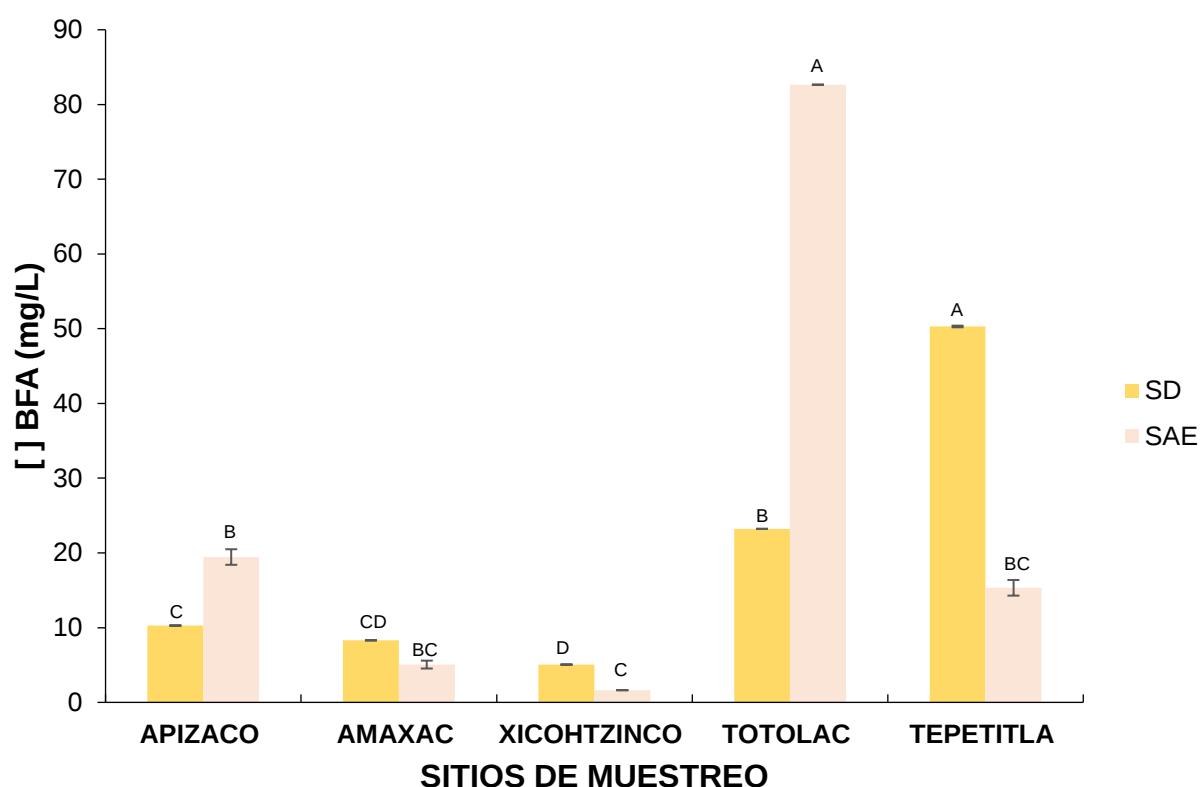
promedio de  $2.3 \pm 4.1$  mg/L de BFA. La concentración más alta estuvo presente en el sitio que corresponde a Tepetitla con un valor de  $11.6 \pm 0.5$  mg/L de BFA, en los sitios de Apizaco fue de  $(8.05 \pm 0.2)$  mg/L de BFA), Amaxac, Xicohtzinco y Totolac no se logró detectar BFA. De acuerdo con el análisis en los sitios donde se detectó BFA, Apizaco y Tepetitla empleando como solvente diclorometano no hay diferencia ( $F=2.13 < F_{\alpha(4,5)}=5.19$ ) en concentraciones; en el caso de solvente acetato de etilo, los mismos sitios si presentaron diferencia significativa de concentración de BFA ( $F=44.23 > F_{\alpha(4,5)}=5.19$ ).



**Figura 8.** Concentraciones promedio de BFA en muestras de agua en la cuenca Zahuapan-Atoyac, AD, indica agua usando diclorometano y AAE, agua usando acetato de etilo. Cada barra indica la media de dos replicas  $\pm$  DE. \* Las letras iguales indican que no existen diferencias significativas y letras diferentes muestran diferencias significativas entre sitios de acuerdo con la prueba post hoc de Tukey ( $p < 0.05$ ).

Respecto a las muestras de sedimentos las concentraciones presentaron en promedio  $22.03 \pm 2.5$  mg/g de BFA, la concentración más alta se presentó en el sitio

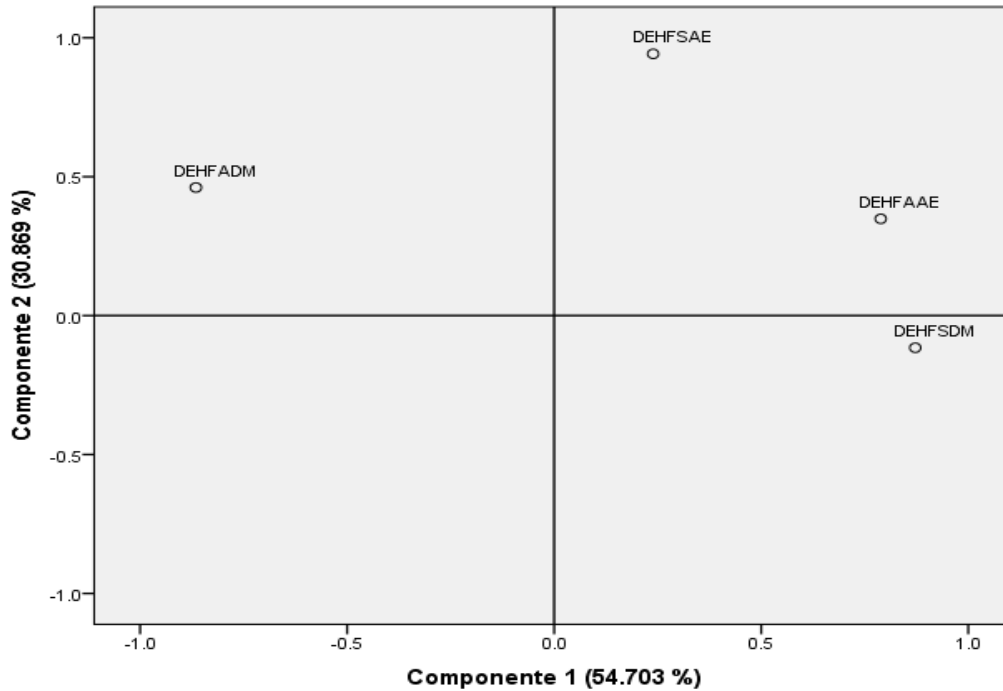
que corresponde a Totolac con un valor de  $(82.6 \pm 1.1 \text{ mg/g})$ , en los otros cuatro sitios: Apizaco, Amaxac, Xicohtzinco y Tepetitla presentaron valores de  $(19.4 \pm 1.4, 5.06 \pm 8.3 \pm 1.2, 15.33 \pm 1.04 \text{ mg/g})$ , los datos del análisis indican que Apizaco, Amaxac, Xicohtzinco, Totolac y Tepetitla si presentan diferencias significativas ( $F=48.57 > F_{\alpha(4,5)}=5.19$ ) utilizando como solvente diclorometano; de igual manera con acetato de etilo Apizaco, Amaxac, Xicohtzinco, Totolac y Tepetitla se encontraron diferencias en concentraciones de BFA ( $F=142.63 > F_{\alpha(4,5)}=5.19$ ) (Fig. 9).



**Figura 9.** Concentraciones promedio de BFA en muestras de sedimento de la cuenca Zahuapan-Atoyac, SD, indica sedimento usando diclorometano y SAE, sedimento usando acetato de etilo. Cada barra indica la media de dos replicas  $\pm$  DE. \* Las letras iguales indican que no existen diferencias significativas y letras diferentes muestran diferencias significativas entre sitios de acuerdo con la prueba post hoc de Tukey ( $p < 0.05$ ).

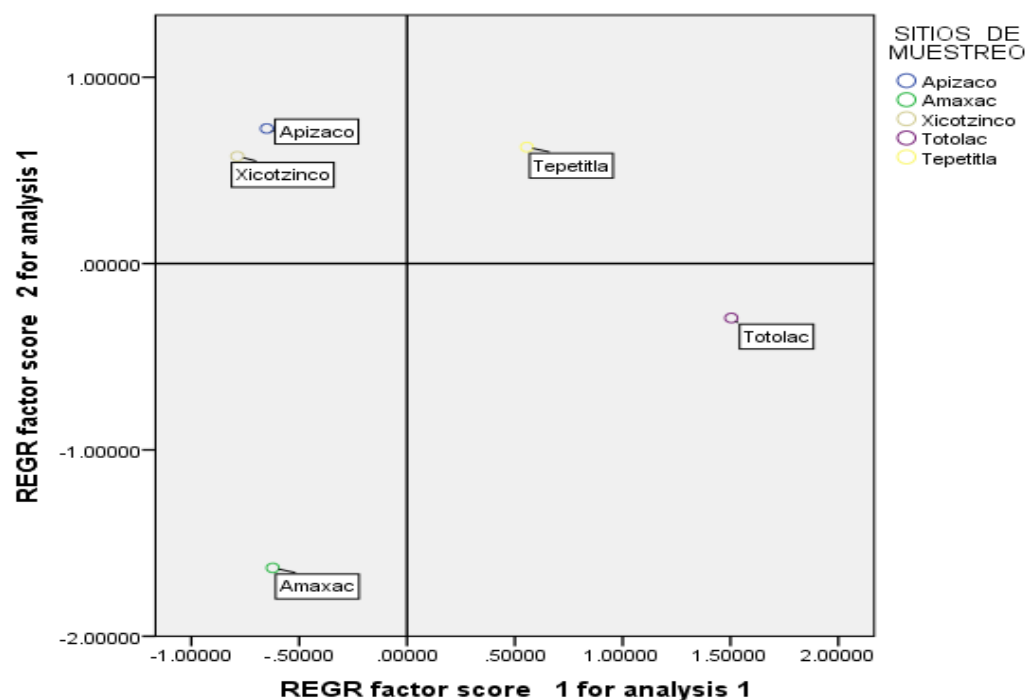
## **7.6 Análisis de componentes principales de DEHF en muestras de agua y sedimento**

El análisis de componentes principales para el plastificante DEHF nos permitió agrupar los datos en dos principales componentes, explicando el 85 % de los datos dentro de nuestro análisis de componentes principales. El componente 1 explica el 54.7 % y en el componente 2 un 30 % de los datos. Por lo que al obtener por arriba del 70 % de reducción de la dimensionalidad de los datos (Fig.10), el caso del DEHF se logró identificar el grupo agua, usando como solvente de extracción acetato de etilo (DEHFAAE) y en sedimento usando como solvente de extracción diclorometano (DEHFSDM) (Tabla 2). Los cuales contenían las concentraciones más altas de DEHF, tanto en las muestras de agua como en las muestras de sedimento. Se muestra una alta correlación entre los sitios de Totolac y Tepetitla para las muestras de sedimento, utilizando acetato de etilo como solvente para la extracción. Para los sitios de Apizaco, Xicohtzinco y Amaxac se muestra una alta correlación en las muestras de agua utilizando como solvente de extracción diclorometano (DEHFADM). No obstante, el DEHF con mayor concentración en los sedimentos se encontró utilizando como solvente de extracción diclorometano, de igual manera, la concentración más alta en agua se encontró cuando utilizamos diclorometano como solvente de extracción, este comportamiento de que con el diclorometano se extraigan las concentraciones más elevadas pudiera deberse a que es un solvente con baja polaridad y el DEHF es un compuesto apolar, lo cual le confiere la propiedad de que sea soluble en el diclorometano. Por tanto, se espera obtener mayores rendimientos de extracción en disolventes con baja polaridad como el diclorometano, y así lo ha reportado la literatura. Cuando se extraen plastificantes con diclorometano se obtienen rendimientos superiores al 80 % (Net et al., 2015).



**Figura 10.** Gráfico de puntuación de análisis de componentes principales de DEHF en agua y sedimento de la cuenca Zahuapan-Atoyac.

Respecto al mismo análisis en la Fig.11 se logra visualizar la correlación que hay entre los sitios de muestreo. En los sitios de Apizaco y Xicohtzinco se observa una correlación positiva debido a que en estos sitios fue donde se encontraron concentraciones altas de DEHF, sin embargo, también se observa correlación con los sitios de Tepetitla y Totolac, donde también hubo concentraciones altas de DEHF, lo que indica fuentes de contaminación de DEHF similares en los sitios de muestreo (empresas que vierten descargas de agua residual y residuos sólidos directamente en la cuenca). El sitio de Amaxac no se relaciona de manera positiva, se sugiere que este comportamiento se debe a que la concentración de DEHF fue en una cantidad menor.



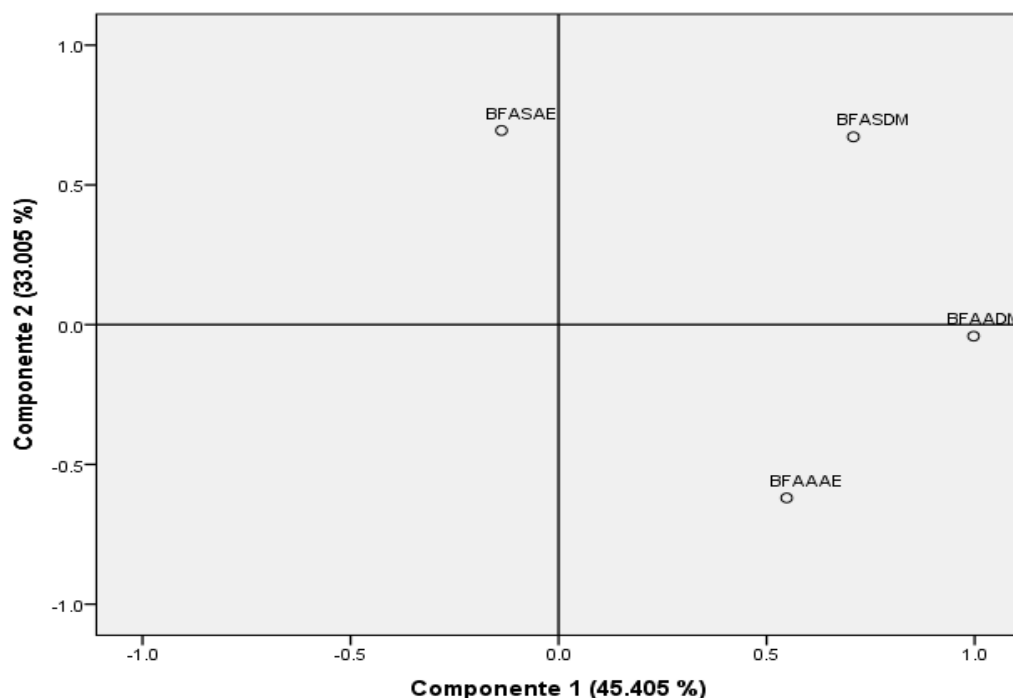
**Figura 11.** Gráfico de correlación de contaminación de DEHF en los sitios de muestreo de la cuenca Zahuapan-Atoyac.

**Tabla 2.** Matriz de correlaciones de la variable DEHF y cada disolvente utilizado en los diferentes tipos de muestras de agua y sedimento, que muestran las asociaciones del contaminante y el tipo de muestra.

| Matriz de correlaciones <sup>a</sup> |         |         |         |         |         |
|--------------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
|                                      |         | DEHFAAE | DEHFADM | DEHFSAE | DEHFSDM |
| Correlación                          | DEHFAAE | 1.000   | -----   | -----   | -----   |
|                                      | DEHFADM | -.537   | 1.000   | -----   | -----   |
|                                      | DEHFSAE | .403    | .221    | 1.000   | -----   |
|                                      | DEHFSDM | .431    | -.754   | .181    | 1.000   |
| a. Determinante = .098               |         |         |         |         |         |

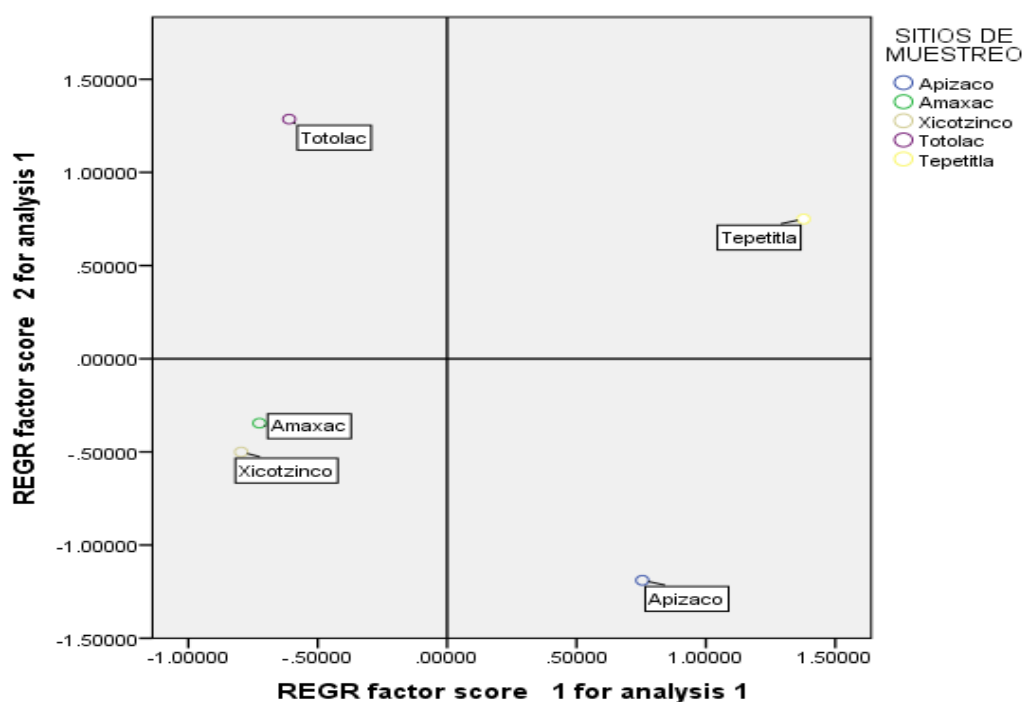
### 7.7 Análisis de componentes principales de BFA en muestras de agua y sedimento

El análisis de componentes principales para BFA (Fig. 12) en la cuenca Zahuapan-Atoyac, en este caso se lograron extraer dos componentes principales que representan el 78.8 % de la explicación de los datos. El componente 1 explica el 45.5 % de los datos y el componente 2 explica el 33.05 % de los datos. Para el BFA se identificó una asociación en los sitios de Tepetitla y Apizaco entre las muestras de sedimento utilizando como solvente de extracción el diclorometano (BFASDM), agua utilizando como solvente de extracción el diclorometano (BFAADM) y agua usando como disolvente de extracción el acetato de etilo (Tabla 3). En el caso del sitio de Totolac, no se mostró una correlación para las muestras de sedimento utilizando acetato de etilo (BFASAE) como solvente de extracción, con respecto a los demás sitios, sin importar el solvente utilizado, sin embargo, este sitio mostró la mayor concentración de BFA.



**Figura 12.** Gráfico de puntuación de análisis de componentes principales de BFA en agua y sedimento de la cuenca Zahuapan-Atoyac.

Con respecto al mismo análisis en la Figura 13 se logra visualizar la correlación que hay entre los sitios de muestreo y las concentraciones que se encontraron en cada sitio. En los sitios de Apizaco y Tepetitla se observa una correlación positiva, esto se debió a que en ambos sitios se encontró la concentración más alta de BFA, sin embargo, también hay correlación con Totolac lo que también podría sugerir fuentes de contaminación de BFA similares en estos tres sitios. El sitio de Amaxac y Xicotzinco se relacionan entre sí de manera positiva, sin embargo, en los dos sitios junto con Totolac en las muestras de agua no se detectó BFA.



**Figura 13.** Gráfico de correlación de contaminación de DEHF en los sitios de muestreo de la cuenca Zahuapan-Atoyac.

**Tabla 3.** Matriz de correlaciones de la variable BFA y cada disolvente utilizado en los diferentes tipos de muestras de agua y sedimento, que muestran las asociaciones del contaminante y el tipo de muestra.

| <b>Matriz de correlaciones<sup>a</sup></b> |               |               |               |               |               |
|--------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| <b>Correlación</b>                         |               | <b>BFAAAE</b> | <b>BFAADM</b> | <b>BFASAE</b> | <b>BFASDM</b> |
|                                            | <b>BFAAAE</b> | 1.000         | -----         | -----         | -----         |
|                                            | <b>BFAADM</b> | .539          | 1.000         | -----         | -----         |
|                                            | <b>BFASAE</b> | -.110         | -.207         | 1.000         | -----         |
|                                            | <b>BFASDM</b> | -.149         | .692          | .217          | 1.000         |
| <b>a. Determinante = .000</b>              |               |               |               |               |               |

### 7.8 Cociente de riesgo ecotoxicológico

Los resultados para estimar el cociente de riesgo (RQ) basándonos en las directrices de la calidad de la vida acuática tomando como valores los establecidos en la literatura (DEHF: 130 mg/L y 201 mg/Kg agua y sedimento), que son valores para un número variado de organismos basados en ensayos de concentración prevista sin efecto (PNEC). Para este compuesto, los valores de RQ revelaron que las concentraciones de DEHF en las muestras de agua están por debajo del criterio para interpretar el riesgo, es decir, el DEHF en agua no representa una amenaza para la vida acuática, no obstante, las concentraciones de DEHF en las muestras de sedimento revelaron que exceden los valores del RQ, por lo que estos valores encontrados en los sedimentos representan un mayor riesgo para la vida acuática. Respecto a la evaluación del riesgo para estimar el peligro de la calidad de la vida acuática para BFA, igualmente usando el PNEC tomando los valores reportados en la literatura para este compuesto (BFA 16 mg/L y 1.75 mg/Kg agua y sedimento). Los valores de RQ en las muestras de agua no presenta un peligro, ya que los valores están por debajo del nivel de riesgo, pero para los sedimentos si existe una

amenaza dado que los valores de BFA en sedimentos también presentan un RQ elevado para los organismos de vida acuática (Tabla 4).

**Tabla 4.** Cociente de riesgo de Di 2 (etilhexil ftalato y Bisfenol A) en agua y sedimento de la cuenca Zahuapan-Atoyac de acuerdo con las normas de la Union Europea, Canada y NOM-018-STPS-2015.

|                       | <b>BFA Agua</b> | <b>BFA Sedimento</b> | <b>DEHF Agua</b> | <b>DEHF Sedimento</b> |
|-----------------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------------|
|                       | <b>RQ</b>       | <b>RQ</b>            | <b>RQ</b>        | <b>RQ</b>             |
|                       | PNEC            | PNEC                 | PNEC             | PNEC                  |
| <b>S1-APIZACO</b>     | 0.504           | 5.880                | 0.045            | 2.512                 |
| <b>S2-AMAXAC</b>      | 0.015           | 4.793                | 0.031            | 2.405                 |
| <b>S3-XICOHTZINCO</b> | 0.000           | 3.206                | 0.041            | 2.350                 |
| <b>S4-TOTOLAC</b>     | 0.000           | 1.269                | 0.020            | 3.538                 |
| <b>S5-TEPETITLA</b>   | 0.730           | 2.749                | 0.030            | 2.495                 |

## **8. DISCUSIÓN**

## **8.1 Contaminación de la cuenca Zahuapan-Atoyac**

El sistema hidrológico Zahuapan-Atoyac es impactado negativamente durante todo su recorrido por las descargas de aguas residuales de origen urbano e industrial y por los retornos de aguas de campos agrícolas de los municipios de Nativitas, Tepetitla, Apizaco, Xicohtzinco, Papalotla y Totolac, entre otros. En esta parte del Estado es donde se encuentra el asentamiento mayor de la población, en donde el uso excesivo de agroquímicos, tanto fertilizantes como plaguicidas, residuos plásticos y productos foliares, se mezclan con el agua limpia de los manantiales. Además, en la cercanía de esta cuenca está ubicado un gran número de empresas dedicadas a la actividad industrial con giros textiles, plastificadoras, papeleras, recicladoras de residuos sólidos, electrónicas, etc., las cuales contribuyen a la contaminación de las matrices ambientales, entre ellas los cuerpos de agua (Rodríguez-Tapia et al., 2011). En nuestra investigación se logró constatar la contaminación que atraviesa la cuenca Zahuapan-Atoyac, ya que durante el recorrido para el muestreo se logró observar el grado del deterioro de la cuenca y se tomó como base la información de la literatura para elegir los sitios donde están presentes los plastificantes, ya que anualmente se vierten 32.5 millones de m<sup>3</sup> de aguas negras al río Zahuapan, que son potenciales emisoras de plastificantes. En las zonas urbanas; el 40 % del agua es tratada y la restante es liberada al río, mientras que en las zonas rurales; hasta el 80 % es descargada directamente a este sistema (Espejel y Carrasco, 1999). En la presente investigación se tomaron como base este tipo de actividades de contaminación para realizar la toma de muestras ambientales (agua y sedimento), ya que como se mencionó anteriormente, en esta cuenca está el asentamiento de la mayor parte de la población (Apizaco, Totolac, Atlagantepec) y la actividad industrial y urbana están en aumento, además el vertido de las aguas sin sanear es muy recurrente y en volúmenes cada vez mucho mayores. Igualmente, en la zona de muestreo se lograron observar campos de cultivo donde se utilizan pesticidas y el agua de esta cuenca también es utilizada para riego agrícola. Lo que representa una ruta de exposición ambiental hacia los contaminantes dado que las especies vegetales que se cultivan en estas zonas son para consumo humano (Rodríguez-Espinosa et al., 2014). Así que el problema

ambiental se ha intensificado debido a la incorporación de aguas residuales provenientes de industrias del ramo textil, químico, automotriz y domésticas sin tratar de los estados de Puebla y Tlaxcala aumentado el número de contaminantes en la cuenca (metales pesados, plaguicidas, compuestos fenólicos y específicamente los plastificantes que fueron los que se cuantificaron en esta investigación).

## **8.2 Presencia de BFA y DEHF en muestras ambientales de aguas y sedimentos**

En la presente investigación se evidencia la presencia y distribución de BFA y DEHF en la red hidrológica Zahuapan-Atoyac, los resultados han mostrado que estos contaminantes están presentes en los sitios muestreados, debido a su ubicuidad, pues también han sido identificados en diferentes cuencas hidrológicas de distintos países. Dado que el uso de productos plásticos que contienen estos agentes químicos, sumamente utilizados y producidos a nivel mundial, están en la mayoría de los accesorios y los productos de uso diario (Huang et al. 2012).

Por lo general, en los países en desarrollo se ha informado que la quema al aire libre de desechos vertidos (Chakraborty et al., 2019a), las aguas residuales no tratadas, las aguas pluviales y la contaminación por residuos sólidos (Zhang et al., 2012), son la principal fuente de emisión de DEHF y BFA en agua y sedimento; sin embargo, la mayor parte de los contaminantes tienden a quedarse en mayor concentración en los sedimentos. En la presente investigación, el BFA y DEHF que se encontraron en muestras ambientales de agua y sedimento de la cuenca Zahuapan-Atoyac se cuantificaron de sitios puntuales de contaminación tomando como base escenarios similares a las muestras de la investigación antes mencionada (descargas de aguas residuales de empresas y domésticas), las concentraciones reportadas de plastificantes BFA y DEHF (4.05- 9.06 mg/L y 235-353.8 mg/g DEHF y 8.05 11.6 mg/L y 50.03-82.6 mg/g BFA) variaron dependiendo de los sitios y el tipo de actividad que se ejerce en el lugar. De igual modo que en la

investigación anterior en este trabajo se encontró en mayor cantidad DEHF en las muestras ambientales de sedimentos, esto puede deberse a que este plastificante no se une químicamente con el polímero que lo contiene y tiende a migrar de una manera sencilla al ambiente así lo menciona Sha et al., (2007). Además, el tipo de actividad que se lleva a cabo en cada sitio influye demasiado, ya que casi la mitad de las cargas de DEHF y BFA observadas en el estudio provienen de sitios de desechos donde hay un alto índice de residuos sólidos y descargas residuales, pues el análisis de componentes principales mostró la relación de estos dos compuestos en los diferentes sitios. El BFA también estuvo presente en los sitios de muestreo, de este compuesto se encontraron de igual manera, mayores concentraciones en sedimento, sin embargo, las concentraciones de este agente químico son menores con respecto al DEHF.

Nuestra investigación se relaciona con la de Lee et al. (2019), ya que mencionan que el coeficiente de partición octanol-agua (Log Kow) juega un papel importante en la deposición de los plastificantes en el sedimento debido a que encontraron concentraciones más altas en los sedimentos que en el agua. En la presente investigación el DEHF y BFA cuyos compuestos tienen un coeficiente de partición octanol-agua elevado (7.6 para DEHF y 4.16 para BFA) tienden a tener una mayor afinidad a la materia orgánica del suelo, debido a esto es que se encontraron altas concentraciones en los sedimentos.

En nuestra investigación los valores de BFA y DEHF más altos fueron reportados en los sitios de Apizaco y Totolac, pues el hecho de que estos sitios mostraron diferencias significativas en concentraciones de los plastificantes puede deberse a que en estos dos lugares se encuentra asentada la población urbana que más impacta en la contaminación de la cuenca (Rodríguez-Tapia et al., 2011), algo adicional es que el sitio de Totolac es una zona de confluencia de la red hidrológica, lo que sugiere que las altas concentraciones se deben a las actividades antrópicas (descargas de agua residual industrial, doméstica y lixiviados de vertederos), por lo que la omnipresencia de BFA y DEHF se debe principalmente a las actividades urbanas e industriales. Haciendo referencia al trabajo de Mukhopadhyay et al.

(2020) podemos considerar que en la cuenca Zahuapan-Atoyac, los plastificantes comparten fuentes similares de contaminación, cabe mencionar que las concentraciones del presente estudio son mucho más elevadas con respecto a la información reportada por Mukhopadhyay et al. 2020.

En adición a esto, las concentraciones medias de BFA y DEHF en el presente estudio fueron también más altas que en el tramo inferior del río Ganges en la India del estudio de (Chakraborty et al., 2019a). Estos investigadores también se basaron en muestras de agua y sedimento que reciben desechos industriales y domésticos junto con la escorrentía de aguas pluviales de la ciudad de Calcuta y sus distritos contiguos a lo largo de transectos urbanos y suburbanos. Las altas concentraciones de BFA y DEHF en el corredor industrial suburbano probablemente reflejen una fuente común, posiblemente asociada con las industrias de reciclaje de desechos plásticos y electrónicos.

Por otro lado, en nuestra investigación se consideró la temporada de seca para realizar los muestreos, ya que como menciona Chakraborty et al., 2019b, la baja dinámica del río, conlleva a un bajo flujo de corriente y la dilución de los contaminantes es mucho menor. Por ello, asumimos que las altas concentraciones de plastificantes en los diferentes sitios de muestreo podrían deberse a la temporada en la que se hizo el muestreo, además también hay que considerar la urbanización y la dinámica de los contaminantes, los valores fisicoquímicos de los compuestos químicos evaluados, el tipo de muestras ambientales, la demanda y producción de estos compuestos, ya que las actividades antes mencionadas desempeñan un papel importante en la aparición de estos tóxicos en las matrices ambientales. Lo que sugiere que las tasas de flujo bajas y la menor dilución podrían ser las razones del aumento de BFA y Niveles de DEHF como lo han reportado en otros lugares (Yang et al., 2015). De seguir este escenario como hasta el momento, es inminente el riesgo en salud ambiental, ya que actualmente las especies acuáticas han desaparecido de esta cuenca y las especies que aún se conservan, no solo acuáticas sino también vegetales, que están establecidas a orillas de la

ribereña, están en constante riesgo, por lo que es necesario considerar que la contaminación presente no solo en el agua, sino también en el sedimento está afectando a la cuenca en general.

### 8.3 Evaluación del riesgo ecotoxicológico

En la presente investigación los plastificantes BFA y DEHF se detectaron en agua y sedimento de la cuenca Zahuapan-Atoyac, estudios han demostrado que el BFA y DEHF son compuestos ubicuos en estas dos matrices ambientales (Mai et al., 2002; Ye et al., 2012), todo derivado de la contaminación antrópica y se ha evidenciado que la presencia de estos compuestos puede presentar un riesgo ambiental. Zhengyu et al. (2017) reportaron la ecotoxicidad de los BP en el agua superficial y los sedimentos del lago Taihu y el lago Luoma utilizando el cociente de riesgo (RQ). Para el lago Taihu, el RQt varió de 6,8 10<sup>3</sup> a 0,25 para el agua superficial y de 2, 10, 4 a 3,6, 10, 3 para los sedimentos, respectivamente. Los resultados indicaron que no se esperaba un alto riesgo en todos los sitios de muestreo del lago Taihu para los organismos acuáticos (RQt <1.0). Para el lago Luoma, el RQt osciló entre 1,7, 10, 2, y 6,3 10, 2 para el agua superficial, lo que también implica que no se produjo ninguna elevación en el agua superficial del lago Luoma. En nuestro estudio los valores de ecotoxicidad de los plastificantes presentes en la cuenca Zahuapan-Atoyac utilizando de igual manera el RQ sugieren que en las muestras de agua no presentan un peligro para la vida acuática según el valor de RQ tanto para BFA como para DEHF, ya que no exceden el valor; siguiendo el criterio de este cálculo los valores de cociente se mantuvieron por debajo del valor 1 (RQ <1.0). No obstante, los sedimentos de todos los sitios de muestreo en la cuenca mostraron valores que excede el criterio para la evaluación de riesgo (RQ > 1), ya que todos estos sitios presentaron un valor mayor a 1.

La literatura ha reportado (Mukhopadhyay et al., 2020) que los plastificantes son causantes de diferentes efectos adversos sobre los organismos acuáticos, (algas: *Pseudokirchneriella subcapitata*; crustáceos: *Daphnia magna*; peces: *Lepomis*

*macrochirus*), donde el DEHF representó el mayor riesgo para los tres organismos. Entre los organismos de estudio, los pertenecientes a un nivel trófico inferior (algas y crustáceos) tuvieron el valor mediano más alto de RQ. En el caso de evaluación del riesgo ecotoxicológico previsto de BFA para un número variado de organismos: porífera, cnidaria, moluscos, crustáceos, artrópodos, insectos y peces. Los valores medianos de RQ revelaron que los insectos, peces y moluscos estaban sujetos a un mayor riesgo por BFA en comparación con otros organismos. En nuestra investigación, cabe señalar que las concentraciones promedio de DEHF y BFA fueron más altas, además en la presente investigación solo se indagó en el riesgo para organismos de vida acuática. Sin embargo, nuestros datos reflejan concentraciones de plastificantes demasiado altas con respecto a las que ya han sido reportadas en estudios previos, por ello deben determinarse los efectos de toxicidad específicos de la exposición diferentes etapas de la vida a los plastificantes en organismos acuáticos (Diao et al., 2017). Pues los plastificantes en el agua pueden ingresar a los organismos acuáticos principalmente a través de la respiración, que es un proceso fisiológico inevitable (Arnot y Gobas, 2006). Por lo tanto, es importante reducir las concentraciones de BFA y DEHF en el agua y sedimentos mediante métodos físicos, químicos o biológicos para proteger a los organismos acuáticos. El hallazgo del riesgo potencial de plastificantes en sedimentos del presente estudio refleja que hay que tener una visión más a futuro sobre la toxicidad de estos contaminantes ambientales, ya que como se sabe, en la matriz ambiental real se encuentra una mezcla muy compleja de contaminantes además del BFA y DEHF. Esto es solo un resultado preliminar de peligro hacia la comunidad acuática y se espera más investigación para conocer los posibles riesgos para los diferentes organismos que se encuentran aledaños a la cuenca (Fuhrman et al., 2014). Pues en nuestra investigación, las concentraciones de plastificantes son mucho más elevadas en comparación con estudios del continente asiático los cuales son los que más producen estos compuestos (Ye et al., 2012). Esto refleja que hay una falta de regulación de descargas y emisiones de contaminantes hacia nuestras matrices ambientales.

## **9. CONCLUSIÓN**

Este estudio informa la presencia de plastificantes en la cuenca Zahuapan-Atoyac en temporada seca, los niveles de plastificantes se atribuyeron principalmente a las descargas de aguas residuales de origen doméstico e industrial y a los residuos sólidos tirados directamente a la cuenca. Los valores de plastificantes encontrados, se presentaron en mayor concentración en los sedimentos en comparación con el agua.

La evaluación de riesgos por estos contaminantes utilizando el cociente de riesgo arrojó que las concentraciones que se encontraron, presentan un riesgo para la salud ambiental de los organismos de vida acuática. Por lo que se necesita más investigación, ya que no se puede ignorar un efecto sinérgico sobre los organismos influenciados por una mezcla de contaminantes.

Finalmente, las concentraciones de plastificantes en agua y sedimentos justifican la necesidad de restringir la descarga de aguas residuales en la cuenca y reducir la contaminación por residuos sólidos, además de que los datos presentados en este estudio son de fundamental importancia para llevar a cabo reformas políticas para el beneficio del ambiente, ya que actualmente no se conoce en México ninguna norma que regule o monitoree las concentraciones de BFA y DEHF en las aguas y sedimentos de los ríos mexicanos.

## **10. REFERENCIAS**

- Arnot, J.A., Gobas, F.A., 2006. A review of bioconcentration factor (BCF) and bioaccumulation factor (BAF) assessments for organic chemicals in aquatic organisms. *Environ. Rev.* 14:257–297. <http://dx.doi.org/10.1139/a06-005>.
- Barbour M.T., Gerritsen J., Snyder B.D. y Stribling J.B. (1999). Protocols for use in streams and weadable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish. 2a ed. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water. Washington, EUA, 339 pp.
- Biedermann-Brem, S., & Grob, K. (2009). Release of bisphenol A from polycarbonate baby bottles: Water hardness as the most relevant factor. *European Food Research and Technology*, 228(5), 679–684.
- Blair, B.D. (2013). Pharmaceuticals and personal care products found in the Great Lakes above concentrations of environmental concern. *Chemosphere* 93, 2116–2123.
- Borchers A., Teuber S., Keen C. (2009). Food Safety. *Clinical Reviews in Allerge and Immunology*, 39:95-141.
- Cadogan, D., Papez, M., Poppe, A., Pugh, D., & Scheubel, J. (1994). Assessment of the release, occurrence and posible effects of plasticizers in the environment. *Progress in Rubber and Plastics Technology*, 10(1), 1–19.
- CERHR. (2006). NTP-CERHR monograph on the potential human reproductive and developmental effects of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP). National Toxicology Program Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction, NTP-CERHR-DEHP-05.
- CONAGUA (2010). Estadísticas del agua en México. *Edición 2010*. México, D.F. Comisión Nacional del Agua, Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, 249 pp.
- CONAGUA (2014). Estadísticas del Agua en México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, D.F. Edición 2014 Pág. 239. [www.conagua.gob.mx](http://www.conagua.gob.mx).
- CONAGUA. (2007). Estudio y Declaratoria de Clasificación de los Ríos Atoyac y Zahuapan. [www.ccbalsas.org.mx/GruposConsejo/GrupoSegEvaluacion/Presen-taciones/pes31sesion/6APresentacion\\_RioAtoyac-Zahuapan.pdf](http://www.ccbalsas.org.mx/GruposConsejo/GrupoSegEvaluacion/Presen-taciones/pes31sesion/6APresentacion_RioAtoyac-Zahuapan.pdf).
- Cousins, I.T., Staples, C.A., Klecka, G.M., Mackay, D. (2002). A multimedia assessment of the environmental fate of bisphenol A. *Human and Ecological Risk Assessment*, 8: 1107-1135.
- Chakraborty, P., Mukhopadhyay, M., Sampath, S., Ramaswamy, B. R., Katsoyiannis, A., Cincinelli, A. (2019a). Organic micropollutants in the Surface riverine sediment along the lower stretch of the transboundary river Ganga: Occurrences, sources and ecological risk assessment. *Environmental Pollution*, 249, 1071–1080.
- Chakraborty, P., Sampath, S., Mukhopadhyay, M., Selvaraj, S., Bharat, G. K., & Nizzetto, L. (2019b). Baseline investigation on plasticizers, bisphenol A, polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in the surface soil of the informal electronic waste recycling workshops and nearby open dumpsites in Indian metropolitan cities. *Environmental Pollution*, 248, 1036–1045.
- Chen, J., Xu, Q., Rohrer, J. (2008). Determination of Seven Phthalates and Four Parabens in Cosmetic Products Using HPLC-DAD and GC-MS Methods. *J. Sep. Sci*, 30, 48–54.
- Choi S, Park S, Jeong J, Cho E, Phark S, Lee M, Kwak D, Lim J, Jung W y Sul D. (2010). Identification of toxicological biomarkers of di (2-ethylhexyl) phthalate in

- proteins secreted by HepG2 cells using proteomic analysis. *Proteomics* 10:1831-1846.
- Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J. P. y Giudice, L. C. (2009). Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocrine Society*. 30. 293-342.
- Diao, P., Chen, Q., RuiWang, Sun, D., Cai, Z., Wu, H., Duan, S. (2017). Phenolic endocrine-disrupting compounds in the Pearl River Estuary: Occurrence, bioaccumulation and risk assessment. *Science of the Total Environment* 584–585: 1100–1107.
- Dobrzyńska M, Ewa J.T., Derezińska E., Pachocki K. (2012). Two generation reproductive and development toxicity following subchronic exposure of pubescent male mice di (2-ethylhexyl) phthalate. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 19(1):31-37.
- Erjavec, B., Hudoklin, P., et al., (2016). Glass fiber-supported TiO<sub>2</sub> photocatalyst: efficient mineralization and removal of toxicity/estrogenicity of bisphenol A and its analogs. *Appl. Catal. B Environ.* 183, 149-158.
- Eladak, S., Grisin, T., et al., (2015). A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. *Fertil. Steril.* 103,11-21.
- Espejel, R. A., Carrasco, R. G. (1999). El deterioro ambiental en Tlaxcala y las políticas de desarrollo estatal 1988 1999. *Gaceta Ecológica INE-SEMARNAP*, México 52: 41-52.
- Flint, S., Markle, T., Thompson, S., Wallace, E. (2012). Bisphenol A exposure, effects, and policy: a wildlife perspective. *Journal of Environmental*
- Fox, J, E., Gullledge, J., Engelhaupt, E., Burrow, M, E., McLachlan, J, A. (2007). Pesticides reduce symbiotic efficiency of nitrogen-fixing rhizobia and host plants. *Proc Nat Acad Sci*;104: 10(28):2–7.
- Fromme H., Bolte G., Koch H.M., Angerer J., Boehmer S., Drexler S., Mayer R., Liebl B. (2007). Occurrence and daily variation of phthalate metabolites in the urine of an adult population. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 210(1):21-33.
- Fu, P., y Kawamura, K. (2010). Ubiquity of bisphenol a in the atmosphere. *Environmental Pollution*, 158(10), 3138–3143.
- Fuhrman, V.F., Tal, A., Arnon, S., (2014). Why endocrine disrupting chemicals (EDCs) challenge traditional risk assessment and how to respond. *J. Hazard. Mater.* 286C: 589–611. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.012>.
- Fürhacker, M., Scharf, S., Weber, H., (2000). BPA: emission from point sources. *Chemosphere* 41, 751–756.
- García-Nieto E., Carrizales-Yañez L., Juárez-Santacruz L., García-Gallegos E., Hernández-Acosta E., Briones- Corona E. y Vázquez-Cuecuecha O. G. (2011). Plomo y arsénico en la subcuenca del Alto Atoyac en Tlaxcala, México. *Rev. Chapingo Ser. Cie.* 1, 7-17. DOI: 10.5154/r.rchscfa.2010.06.040.
- García J-A., Gallego C., Font G. (2015). Toxicidad del Bisfenol A: Revisión. *Rev. Toxicol*, 32: 144-160.
- Geens, T., Aerts, D., Berthot, C., Bourguignon, J, P., Goeyens, L., Lecomte, P., Maghuin-Rogister, G., Pironnet, A, M., Pussemier, L., Scippo ML y Covaci A. (2012). A review of dietary and nondietary exposure to bisphenol-A. *Food and chemical toxicology*, 50:3725-3740.
- Gobierno del Estado de Tlaxcala y Coordinación General de Ecología. (2003). Análisis e informe de la problemática ambiental en materia de agua residual delMunicipio

- de Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, Gobierno del Estado de Tlaxcala, pp. 14-20.
- Gooding K. and Regnier F. (1990) *HPLC of Biological Macromolecules*, Chromatographic Science Series, Marcel Dekker Inc, 51:30-55.
- Hammer, M.J. y Hammer, M.J.Jr. (2001). *Water and wastewater technology*. Fourth edition. Upper Saddle River, USA: Prentice Hall, 536 pp.
- Handal-Silva, A., Pérez-Castresana, G., Moran-Perales, J.L. y García-Suastegul, W. (2017). Historia de la contaminación hídrica de Alto Balsas. *Revista del desarrollo urbano y sustentable*, 3 (9): 10-23.
- Hauser R., Calafat A.M. 2005. Phthalates and human health. *Occupational and Environmental Medicine*, 62:806-818.
- He, P.-J., Zheng, Z., Zhang, H., Shao, L.-M., & Tang, Q.-Y. (2009). PAEs and BPA removal in landfill leachate with Fenton process and its relationship with leachate DOM composition. *Science of the Total Environment*, 407(17), 4928–4933.
- Helm, D. (2007). Correlation between production amounts of DEHP and daily intake. *Science of the Total Environment* 388: 389-391.
- Heudorf U., Mersch-Sundermann V., Angerer J. (2007). Phthalates: toxicology and exposure. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 210(5):623-634.
- Höhne, C., Püttmann, W., (2008). Occurrence and temporal variations of xenoestrogens bisphenol A, 4-tert-octylphenol, and tech. 4-nonylphenol in two German wastewater treatment plants. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 15, 405– 416.
- Horn, O., Nalli, S., Cooper, D., Nicell, J. (2004). Plasticizer metabolites in the environment. *Water Resercher* 38: 3693-3698.
- Huang, Y.Q., Wong, C.K.C., Zheng, J.S., Bouwman, H., Barra, R., Wahlstrom, B., Neretin, L., Wong, M.H. (2012). Bisphenol A (BPA) in China: A review of sources, environmental levels, and potential human health impacts. *Environment International*, 42: 91-99.
- INEGI (1999). Censo General de Población y Vivienda, México [en línea]. <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/ccpv/cpv2010/> 10/01/2017.
- Iñiguez, M.E., Conesa, J.A., Soler, A., (2018). Effect of marine ambient in the production of pollutants from the pyrolysis and combustion of a mixture of plastic materials. *Mar. Pollut. Bullet.* 130, 249–257.
- Jennen, D., Ruiz-Aracama, A, Magkoufopoulou, C., Pejinenburg, A, Lommen, A, Snyder L. R., Kirkland J. J. and Glajch J. L. (1997). *Practical HPLC method development*, 2nd ed., John Wiley and Sons, USA.
- Jin, H., Zhu, L. (2016). Occurrence and partitioning of bisphenol analogues in water and sediment from Liaohe River Basin and Taihu Lake, China. *Water Research* 103: 343-351.
- Kang, J. H., Kondo, F., & Katayama, Y. (2006). Human exposure to bisphenol A. *Toxicology*, 226(2): 79–89.
- Kang, J.H., Asai, D., Katayama, Y., (2007). Bisphenol A in the aquatic environment and its endocrine-disruptive effects on aquatic organisms. *Crit. Rev. Toxicol.* 37: 607–625.
- Karr J.R. (2006). Seven foundations of biological monitoring and assessment. *Biologia Ambientale* 2, 7-18.
- Kawahata, H., Ohta, H., Inoue, M., y Suzuki, A. (2004). Endocrine disrupter nonylphenol and bisphenol A contamination in Okinawa and Ishigaki islands. Japan-within coral reefs and adjacent river mouths. *Chemosphere*, 55, 1519–1527.

- Kitamura, S., Suzuki, T., et al., 2005. Comparative study of the endocrine disrupting activity of bisphenol A and 19 related compounds. *Toxicol. Sci. An Official J. Soc. Toxicol.* 84, 249-259.
- Klecka, G.M., Staples, C.A., Clark, K.E., Van der Hoeven, N., Thomas, D.E., Hentges, S.G. (2009). Exposure analysis of bisphenol A in surface water systems in North America and Europe. *Environmental Science and Technology*, 43: 6145-6150.
- Knez, J., Kranvogel, R., Breznik, B.P., Vončina, E., Vlaisavljević, V. (2014). Are urinary bisphenol A levels in men related to semen quality and embryo development after medically assisted reproduction? *Fertility and Sterility*, 101 (1): 215-221.
- Koch HM, Preuss R, Angerer J. (2006). Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): human metabolism and internal exposure – an update and latest results. *Int J Androl*; 29:155–65.
- Korner, W., Bolz, U., Suûmuth, W., Hiller, G., Schuller, W., Hanf, V. and Hagenmaier, H. (2000). Input/output balance of estrogenic active compounds in major municipal sewage plant in Germany. *Chemosphere* 20:1131-1143.
- Larsson, K., Lindh, C. H., Jönsson, B. A., Giovanoulis, G., Bibi, M., Bottai, M., Berglund, M. (2017). Phthalates, non-phthalate plasticizers and bisphenols in Swedish preschool dust in relation to children's exposure. *Environment International*, 102, 114–124.
- Laternus, F., y Grøn, C. (2007). Organic waste products in agriculture monitoring the waste constituent's phthalate esters in soil-crop system by gas chromatography and ion trap tandem mass spectrometry. *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management*, 15, 253–260.
- Liao, C., Liu, F., et al., 2012c. Bisphenol analogues in sediments from industrialized areas in the United States, Japan, and Korea: spatial and temporal distributions. *Environ. Sci. Technol.* 46, 11558-11565.
- Lee, H.B., Peart, T.E., Chan, J., Gris, G., (2004). Occurrence of endocrine-disrupting chemicals in sewage and sludge samples in Toronto, Canada. *Water Qual. Res. J. Can.* 39, 57–63.
- Lee, Y.-M., Lee, J.-E., Choe, W., Kim, T., Lee, J.-Y., Kho, Y, I. (2019). Distribution of phthalate esters in air, water, sediments, and fish in the Asan Lake of Korea. *Environment International*, 126, 635–643.
- Lesser, L. E., Mora, A., Moreau, C., Mahlknecht, J., Hernández-Antonio, A., Ramírez, A I., Barrios-Piña, Héctor. (2018). Survey of 218 organic contaminants in groundwater derived from the world's largest untreated wastewater irrigation system: Mezquital Valley, Mexico, *Chemosphere* 198: 510-521.
- Leusch, F.D., Chapman, H.F., Van den Heuvel, M.R., Tan, B.L., Gooneratne, S.R., Tremblay, L.A. (2006). Bioassay-derived androgenic and estrogenic activity in municipal sewage in Australia and New Zealand. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65: 403-411.
- Li, D-K., Miao, M., Zhou, Z., Wu, Ch., Shi, H., Liu, X., Wang, S., Yuan, W., (2013). Urine bisphenol-A level in relation to obesity and overweight in school-age children. *PLoS* 8, 65399–65410.
- Liu, Y.-H., Zhang, S.-H. (2017). Occurrence, distribution and risk assessment of suspected endocrine-disrupting chemicals in surface water and suspended particulate matter of Yangtze River (Nanjing section). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 135, 90-97.
- Liu Dan., Jining Liu, Min Guob., Huaizhou Xu., Shenghu Zhang b., Lili Shi., Cheng Yao. (2016). Occurrence, distribution, and risk assessment of alkylphenols, bisphenol A, and tetrabromobisphenol A in surface water, suspended particulate matter,

- and sediment in Taihu Lake and its tributaries. *Marine Pollution Bulletin* 112 (2016) 142–150.
- Lyons J., Navarro-Pérez S., Cochran P.A., Santana E. y Guzmán-Arroyo M. (1995). Index of biotic integrity based on fish assemblages for the conservation of streams and rivers in west-central Mexico. *Conserv. Biol.* 3, 569-584.
- Mai, B.X., Fu, J.M., Sheng, G.Y., Kang, Y.H., Lin, Z., Zhang, G., et al., (2002). Chlorinated and polycyclic aromatic hydrocarbons in riverine and estuarine sediments from Pearl River Delta, China. *Environ. Pollut.* 117:457–474. [http://dx.doi.org/10.1016/s0269-7491\(01\)00193-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0269-7491(01)00193-2).
- Martinell, M.I. (2006). Impacto de la exposición crónica al contaminante alimentario di (2-etil hexil) ftalato (DEHF) sobre aspectos metabólico nutricionales en animales de experimentación. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas Universidad Nacional del Litoral 9-30.
- Martínez M.M., Gutiérrez O.C., Reyes S.J.R., Mata A.I. y Sánchez D.L.F. (2017). Estudio hidrogeológico de la porción alta del acuífero Alto Atoyac (Estado de Tlaxcala). Subcoordinación de Hidrología Subterránea, Coordinación de Hidrología, Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. SEMARNAT. Reporte técnico. Jiutepec, Morelos. 95 p.
- Mena, I., Bustamante Á., Vargas S., Olvera, J. I., Méndez J. A. (2017) Evaluación de la condición ecológica del río Zahuapan. *Revista internacional de contaminación ambiental.* 33(1) 7-17.
- Mersiowsky, I., Weller, M., Ejlerthsson, J. (2001). Fate of plasticized PVC products under landfill conditions: a laboratory-scale landfill simulation reactor study. *Water Reserch* 35: 3063-3070.
- Mikołajewska, k., Stragierowicz, J., Gromadzińska, J. (2015). Bisphenol A: application, sources of exposure and potential risks in infants, children and pregnant women. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 28(2):209-241.
- Mileva, G., Baker, S.L., Konkle, A., Bielajew, C. (2014). Bisphenol-A: epigenetic reprogramming and effects on reproduction and behavior. *International journal of environmental research and public health.* 11:7537-7561.
- Morales Novelo, Jorge Armando, Rodríguez Tapia, Lilia, Torres Ayala, Francisco. 2015. Modelo de contaminación del río Atoyac e incidencia de enfermedades en la región PueblaTlaxcala. 2º Congreso Nacional AMICA.
- Mukhopadhyay, M., Sampath, S., Muñoz-Arnanz, J., Jiménez, B. Chakraborty, P. (2020). Plasticizers and bisphenol A in Adyar and Cooum riverine sediments, India: occurrences, sources and risk assessment, *Environmental Geochemistry and Health*, <https://doi.org/10.1007/s10653-020-00516-3>.
- Musolff, A., Leschik, S., Reinstorf, F., Strauch, G., Schirmer, M. (2010). Micropollutant loads in the urban water cycle. *Environmental Science and Technology*, 44: 4877-4883.
- Navarro, R y Reinecke, H. (2012). Plastificantes de todo tipo, Instituto de ciencia y tecnología de polímeros. *Revista de palsticos modernos*, 103 (664): 14-19.
- Petrie, B., Lopardo, L., Proctor, K., Youdan, J., Barden, R., Kasprzyk-Hordern B. (2019). Assessment of bisphenol-A in the urban water cycle. *Science of the Total Environment* 650: 900–907.
- Porwal, H. J., Mane, A, V., Velhal, S, G. (2015). Biodegradation of dairy effluent by using microbial isolates obtained from activated sludge. *Water Resources and Industry* 9, 1–15.

- Prevarić, V., Sigurnjak, M., Bureš, a M. Cvetnić, a M. Miloloža, a D. Kučić Grgić, a M. Markić, a K. Bule, a M. Milković, b T. Bolanča, a, b . Ukića Š. (2021). The Problem of Phthalate Occurrence in Aquatic Environment: A Review. *Chem. Biochem. Eng. Q.*, 35 (2) 81–104.
- Preethi, S., Sandhya K., Lebonah, D.E., Prasad, Ch.V., Sreedevi, B., K. Chandrasekhar, J., Kumari, P. (2014). Toxicity of bisphenol a on humans: a review. *International Letters of Natural Sciences*, 27, 32-46.
- RETER Comercializadora de Productos Petroquímicos S.A. de C.V. Safety Data Sheet: bis(2-ethylhexyl) phthalate (2017).  
[http://www.idesapetroquimica.com/data/nuestros\\_productos/hoja\\_seguridad/en\\_producto\\_10/MSDS%20DOP%20EN%202016.pdf](http://www.idesapetroquimica.com/data/nuestros_productos/hoja_seguridad/en_producto_10/MSDS%20DOP%20EN%202016.pdf)
- Roberts, S., Higgins, C., McCray, J. (2014). Sorption of emerging organic wastewater contaminants to four soils. *Water*, 6: 1028-1042.
- Rodríguez Tapia L. y Jorge A. Morales Novelo. (2011). Contaminación e internalización de costos en la industria textil. *Rev. Sociotam* ISSN: 1405-3543. 21 (1): 143-169.
- Rodriguez, J. C. (2012) Cromatografía Líquida.  
[https://www.ucm.es/data/cont/docs/650-2013-12-02\\_gases%20I%C3%ADquidos.pdf](https://www.ucm.es/data/cont/docs/650-2013-12-02_gases%20I%C3%ADquidos.pdf)
- Rodríguez-Espinosa, P, F., Martínez, E., Morales, S, S., ShrutiVenkata, C., Milán, S. (2014). Resultados de los Estudios Geo-Ambientales en la Cuenca del Alto Atoyac, Tlaxcala, Puebla, México.
- Rodríguez-Espinosa, S.S. Morales García, M.P. Jonathan, M. Navarrete-López, A.A. Bernal-Campos, A. González-Cesar y N.P. Muñoz-Sevilla. (2008). Servicio Ambiental de la Presa Valsequillo para las cuencas de los Ríos del Atoyac-Sahuapan y Alseseca, Puebla, Tlaxcala, México.
- Rodríguez-Tapia, Lilia; Morales Novelo, Jorge A.; Zavala Vargas, Patricia. (2012). Evaluación socio económico de daños ambientales por contaminación del río Atoyac en México *Tecnología y Ciencias del Agua*, ISSN: 0187-8336, Vol. III, pp. 143-151 Instituto Mexicano de Tecnología del Agua Morelos, México.
- Roelofs, M.J., van den Berg, M., et al., 2015. Structural bisphenol analogues differentially target steroidogenesis in murine MA-10 Leydig cells as well as the glucocorticoid receptor. *Toxicology* 329, 10-20.
- Saldaña FP, Alcocer Y VH, Lerdo de Tejada BA, Gómez BMA. (2002). Calidad del Agua en Colectores de la Ciudad de Puebla y la Aplicación de Análisis de Toxicidad. XXVIII Cong. Interam. Ingeniería Sanitaria y Ambiental. 27-31 oct. Cancún, México.
- Sánchez-Avila, J., Tauler, R., Lacorte, S., (2009). Determination and occurrence of phthalates. alkylphenols. BPA. PBDEs. PCBs. and PHAs in an industrial sewage grid discharging to a Municipal Wastewater Treatment Plant. *Sci. Total, Environ.* 407, 4157–4167.
- Sandoval Villasana Ana María; Pulido-Flores Griselda; Monks Scott; Gordillo Martínez Alberto José; Villegas Villarreal Elba Cristina. (2009). Evaluación físicoquímica, microbiológica y toxicológica de la degradación ambiental del río Atoyac, México. *Interciencia*, ISSN (Versión impresa): 0378-1844. Vol. 34, Núm. 12, diciembre-sin mes, pp. 880-887. Asociación Interciencia Venezuela.
- Schettler T. (2006). Human exposure to phthalates via consumer products. *International Journal of Andrology*, 29(1):134-139.
- SEMARNAT. (2009). Guía para la elaboración de la cédula de operación anual. Tratamiento de residuos peligrosos.

- Shruti, V.C., Jonathan, M.P., Rodriguez-Espinosa, P.F., Rodríguez-González, F. (2019). Microplastics in freshwater sediments of Atoyac River basin, Puebla City, Mexico. *Science of the Total Environment* 654: 154–163.
- Signorile, P.G., Spugnini, E.P., Mita, L., Mellone, P., D'Avino, A., Bianco, M., Diano, N., Caputo, L., Rea, F., Viceconte, R., Portaccio, M., Viggiano, E., Citro, G., Pierantoni, R., Sica, V., Vincenzi, B., Mita, D.G., Baldi, F., Baldi, A., (2010). Pre-natal exposure of mice to Bisphenol A elicits an endometriosis-like phenotype in female offspring. *Genetic Competence Endocrinology*. 168, 318–325.
- Silk, N. Y K. Ciruna (eds.). Guía de un profesional para la conservación de la biodiversidad de agua dulce. Conservación natural. Boulder, Colorado. 2004.
- Skoog, Leary. (2000) Crotatografia liquida de alta eficacia. Tomado de: [file:///C:/Users/Ruben/Desktop/Protocolo%20maestria/articulos/HPLC/cromatografia\\_liquida\\_de\\_alta\\_eficacia.pdf](file:///C:/Users/Ruben/Desktop/Protocolo%20maestria/articulos/HPLC/cromatografia_liquida_de_alta_eficacia.pdf)
- Subotic U., Hannmann T., Kiss M., Brade J., Breitkopf K., Loff S. (2007). Extraction of the plasticizers diethyl hexyl phthalate and polyadipate from polyvinylchloride 107 nasogastrics tubes through gastric juice and feeding solution. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 44(1):71-76.
- Sugiura-Ogasawara, M., Ozaki, Y., Sonta, S.I., (2010). Exposure to bisphenol A is associated with recurrent miscarriage. *Human Reproduction*. 20 (8), 2325–2329.
- Suzuki, T., Nakagawa, Y., Takano, I., Yaguchi, K., Yasuda, K., (2004). Environmental fate of bisphenol A and its biological metabolites in river water and their xenoestrogenic activity. *Environ. Sci. Technol.* 38, 2389–2396.
- Swan S.H., Main K.M., Liu F., Stewart S.L., Kruse R.L., Calafat A.M., Mao C.S., Redmon J.B., Sullivan S., Teague J.L. (2005). Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environmental Health Perspectives*, 113(8):1056-1061.
- Szczepańska, N., Kudlak, B., & Namieśnik, J. (2018). Assessing ecotoxicity and the endocrine potential of selected phthalates, BADGE and BFDGE derivatives in relation to environmentally detectable levels, *Science of the Total Environment*, 610–611, 854–866.
- Takeuchi, T., Tsutsumi, O., Ikezuki, Y., Takai, Y., Taketani, Y. (2004). Positive relationship between androgen and the endocrine disruptor, bisphenol A, in normal women and women with ovarian dysfunction. *Endocr. J.* 51, 165–169.
- Teuten, E.L., Saquing, J.M., Knappe, D.R.U., Barlaz, M.A., Jonsson, S., Bjorn-Rowland, S.J., Thompson, R.C., Galloway, T.S., Yamashita, R., Ochi, D., Watanuki, Y., Moore, C., Viet, P.H., Tana, T.S., Prudente, M., Boonyatumanond, R., Zakaria, M.P., Akkhavong, K., Ogata, Y., Hirai, H., Iwasa, S., Mizukawa, K., Hagino, Y., Imamura, A., Saha, M., Takada, H. (2009). Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B*, 364: 2027-2045.
- Toledo, A (2003). *Ríos, costas y mares: hacia un análisis integrado de las regiones hidrológicas de México*. México, D.F.: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología y El Colegio de Michoacán, 116 pp.
- USEPA (2010). Bisphenol A Action Plan (CASRN 80-05-7)  
[https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-09/documents/bpa\\_action\\_plan.pdf](https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-09/documents/bpa_action_plan.pdf)

- Vandenberg, L.N., Maffini, M.V., Sonnenschein, C., Rubin, B.S., Soto, A.M. (2009). Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocrine reviews*, 30: 75-95.
- Vandenberg, L.N., et al., 2012. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocr. Rev.* 33, 378-455.
- Völkel, W., Colnot, T., Csanády, G. A., Filser, J. G. y Dekant W., (2002). Metabolism and kinetics of bisphenol A in humans at low doses following oral administration. *Chemical research in toxicology*. 15:1281-1287.
- Vom Saal, F.S., Nagel, S.C., Timms, B.G., Welshons, W.V., (2005). Implications for human health of the extensive bisphenol A literature showing adverse effects at low doses: a response to attempts to mislead the public. *Toxicology* 212 (2–3), 244–252.
- Von Goetz, N., Wormuth, M., Scheringer, M., Hungerbühler, K. (2010). Bisphenol A: How the most relevant exposure sources contribute to total consumer exposure. *Risk Analysis*, 30: 473-487.
- Wang, T., Li, M., Chen, B., Xu, M., Xu, Y., Huang, Y., Lu, J., Chen, Y., Wang, W., Li, X., Liu, Y., Bi, Y., Lai, S., Ning, G., (2012). Urinary bisphenol A (BPA) concentrations associates with obesity and insulin resistance. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 97, E223–E227.
- Wetherill, Y.B., Petra, C.E., Monk, K.R., Puga, A., Knudsen, K.E., (2002). The xenoestrogen BPA induces inappropriate androgen receptor activation and mitogenesis in prostate adenocarcinoma cells. *Mol. Cancer Ther.* 7, 515–524.
- Xiong, J., Li, G. (2016). Emission patterns and risk assessment of polybrominated diphenyl ethers and bromophenols in water and sediments from the Beiji River, South China. *Environ Pollut.*
- Xu, E.G., Liu, S., Ying, G.G., Zheng, G.J., Lee, J.H., Leung, K.M. (2014). The occurrence and ecological risks of endocrine disrupting chemicals in sewage effluents from three different sewage treatment plants, and in natural seawater from a marine reserve of Hong Kong. *Marine Pollution Bulletin*, 85: 352-362.
- Xu, Y., Humbal, E.A.C., Little, J.C. (2010). Predicting residential exposure to phthalate plasticizer emitted from vinyl flooring: sensitivity, uncertainty, and implications for biomonitoring. *Environmental Health Perspective* 118(2): 253-558.
- Xue, J., Wu, Q., et al., (2015). Urinary levels of endocrine-disrupting chemicals, including bisphenols, bisphenol A diglycidyl ethers, benzophenones, parabens, and triclosan in obese and non-obese Indian children. *Environ. Res.* 137, 120-128.
- Yang, G. C., Wang, C.-L., & Chiu, Y.-H. (2015). Occurrence and distribution of phthalate esters and pharmaceuticals in Taiwan river sediments. *Journal of Soils and Sediments*, 15:(1) 198–210.
- Yang, Y., Lu, L., Zhang, J., Yang, Y., Wu, Y., Shao, B. (2014). Simultaneous determination of seven bisphenols in environmental water and solid samples by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1328, 26-34.
- Ye, F., Huang, X., Zhang, D., Tian, L., Zeng, Y., 2012. Distribution of heavy metals in sediments of the Pearl River estuary, Southern China: Implications for sources and historical changes. *J. Environ. Sci.* 24:579–588. [http://dx.doi.org/10.1016/s1001-0742\(11\)60783-3](http://dx.doi.org/10.1016/s1001-0742(11)60783-3).

- Yonadab, Cabrera. (2017). Proporcionado por, sin embargo, Periódico Central. Redacción 18 de abril, Ciudad de México. <https://www.sinembargo.mx/09-02-2020/3727297>
- Zhang, L. F., Dong, L., Ren, L. J., Shi, S. H., Zhou, L., Zhang, T., y Huang, Y. R. (2012). Concentration and source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons and phthalic acid esters in the surface water of the Yangtze River Delta, China. *Journal of Environmental Sciences*, 24, 335–342. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(11\)60782-1](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(11)60782-1)
- Zhengyu Y., Yanhua L., Kun Y., Shengmin W., Zhihua H., Ruixin G., Meihong C., Qiulian Y., Shenghu Z., Jianqiu C. (2017). Bisphenol analogues in surface water and sediment from the shallow Chinese freshwater lakes: Occurrence, distribution, source apportionment, and ecological and human health risk. *Chemosphere* 184, 318-328.