



**Benemérita  
Universidad Autónoma de Puebla**

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**“REMOCIÓN DE BISFENOL-A EN AGUA  
SINTÉTICA ACOPLANDO PROCESOS DE  
OXIDACIÓN-BIOCATALÍTICO, ADSORCIÓN Y  
ULTRAFILTRACIÓN CON MEMBRANAS.”**

**Fecha: Octubre/2020**

**TESIS PROFESIONAL**

**Presentada para obtener el grado de:  
Licenciatura en Ingeniería Química**

**Presenta:**

**KAREN JOSELYNE AVILEZ CUAHQENTZI**

**Director de Tesis:**

**DRA. Georgette Rebollar Pérez**

**Asesor de Tesis:**

**Eduardo Torres Ramírez**

## **Agradecimientos**

Mi sincero agradecimiento al Dr. Eduardo Torres Ramírez por brindarme su apoyo durante el proyecto y la redacción de la tesis, por su paciencia, tiempo y los conocimientos que me compartió, a la Dra. Georgette Rebollar Pérez por su paciencia, apoyo y tiempo que me dedicó durante toda la investigación y por darme la oportunidad de ser parte de este proyecto, al ICUAP y a la Facultad de Ingeniería Química de la BUAP que me permitieron utilizar los laboratorios que permitieron la realización de la parte experimental.

Con infinito amor agradezco a mis padres por su amor y apoyo incondicional, por darme las herramientas suficientes para siempre lograr mis objetivos, y no darme por vencida, por confiar en mí en cada paso que doy y por compartir su sabiduría conmigo; a mi hermano que ha sido mi cómplice hasta el final.

Extiendo mi agradecimiento a mis compañeros y amigos que formaron parte del equipo que colaboraron en el análisis de muestras para los resultados de esta tesis, Angélica, Maribel y Osvaldo. A Gabriela y José Luis por compartirme sus conocimientos y siempre recibirme con una sonrisa.

Finalmente, gracias a todo mis amigos y seres queridos que siempre me han alentado a perseguir mis sueños y me han brindado su cariño incondicional.



# Índice

<b>1. Introducción</b> .....	4
1.1 Planteamiento del problema.....	4
<b>1.2 Justificación</b> .....	6
<b>1.3 Objetivos de la Investigación</b> .....	9
1.3.1 Objetivo General.....	9
1.3.2 Objetivos particulares .....	9
<b>1.4 Hipótesis</b> .....	9
<b>2 Antecedentes</b> .....	9
2.1 Importancia del agua.....	9
2.2 Contaminación del agua.....	11
2.3 Tipos de contaminantes. ....	12
2.4 Contaminación por compuestos persistentes COP. ....	14
2.5 Bisfenol A.....	17
2.6 Disposiciones relativas al BPA.....	17
2.7 Caracterización del BPA.....	18
<b>2.8 Fuentes de exposición de BPA.</b> .....	19
2.9 <b>Tabla 3</b> Migración de BPA hacia los alimentos (Aids, 2015) .....	22
2.10 Contaminación ambiental con BPA.....	22
2.11 Efectos de BPA las diferentes esferas por BPA.....	26
2.12 Tecnologías de tratamiento para el Bisfenol A.....	30
2.12.1 Tratamiento fotocatalítico .....	31
2.12.2 Tecnología Electroquímica.....	34
2.12.3 Biocatálisis.....	36
2.12.3.1 Aplicación Ambiental.....	37
2.13 Degradación de contaminantes emergentes asistida por HRP. ....	38
2.13.1 Limitaciones.....	44
2.14 Filtración por membrana.....	44
Las tecnologías basadas en filtración por membrana .....	44
<b>3 Metodología</b> .....	46
3.1 Materiales .....	46
3.2 Métodos .....	47

3.2.1	Oxidación enzimática del bisfenol A mediante peroxidasa de rábano.....	47
3.2.2	Determinación del efecto de adsorción por el quitosano. ....	48
3.2.3	Tratamiento enzimático del Bisfenol A en presencia de quitosano. ....	48
3.2.4	Ultrafiltración.....	49
3.2.5	Diseño experimental. ....	49
3.2.6	Optimización de la presión en la ultrafiltración. ....	51
<b>4</b>	<b>Resultados</b> .....	<b>51</b>
4.1	Oxidación enzimática del Bisfenol A mediante la peroxidasa de rábano. ....	51
4.2	Determinación del efecto de adsorción sin reacción enzimática. ....	54
4.3	Tratamiento enzimático en presencia del quitosano. ....	56
4.4	Tratamiento híbrido. ....	57
<b>4.5</b>	<b>Diseño experimental</b> .....	<b>58</b>
4.6	Optimización de la presión en el sistema ultrafiltración .....	65
<b>5</b>	<b>Conclusiones</b> .....	<b>68</b>
<b>6</b>	<b>Bibliografía</b> .....	<b>69</b>

# 1. Introducción

## 1.1 Planteamiento del problema.

El sector industrial es uno de los principales motores de crecimiento y desarrollo económico, al mismo tiempo es un sector productor de compuestos químicos tóxicos persistentes que facilitan el manejo, uso y almacenamiento de diferentes productos, dichos compuestos son liberados sistemáticamente al medio ambiente y posteriormente consumidos de forma continua por el ser humano a través de las distintas vías de exposición; la fabricación y la extensa aplicación de estos componentes químicos sintéticos ha llegado a ser crucial en los sectores industriales, debido a su baja biodegradabilidad de estos compuestos es una seria desventaja que, asociada con su utilización extensiva, genera un problema ambiental grave (Comisión Nacional del Agua, 2012).

Uno de estos compuestos químicos muy utilizado durante los últimos 80 años en este sector industrial es el Bisfenol A (BPA), con una producción mundial de 3.8 millones de toneladas (Fitzgerald et al., 2014). El BPA es un químico pseudo – persistente, el cual a pesar de que tiene una vida corta, su presencia es universal en el ambiente debido a su continuo consumo, durante su fabricación química, transporte y producción. Las vías principales por las cuales se introduce al ambiente son principalmente mediante los efluentes de descarga por las plantas tratadoras de aguas residuales municipales, lixiviación de vertederos, combustión de los residuos domésticos, y la descomposición natural de los plásticos en el ambiente.

La presencia de BPA en diferentes esferas del ambiente como la biósfera, litósfera, hidrósfera y atmósfera lo convierte en un problema de alta preocupación, por tal motivo se encuentra dentro de la categoría de los **contaminantes emergentes** (CE); la forma física y su comportamiento de los diferentes CE son descritos a través de sus propiedades fisicoquímicas; la movilidad de estos contaminantes generalmente depende de su fase original en la cual existen en el ambiente. De forma similar muchos contaminantes orgánicos presentes en estado líquido como el tolueno, solventes clorados, benceno y bisfenoles policlorados; inmiscibles en el medio acuoso persisten por un largo tiempo en el ambiente en comparación a uno

miscible. Así mismo, otras propiedades fisicoquímicas como la evaporación, solubilidad, punto de ebullición, temperatura de fusión, estructura química, y la reactividad de compuestos inorgánicos para formar complejos, volatilidad y potencial de absorción afectan enormemente su destino y transporte (Brusseau et al., 2007).

El Bisfenol A es un monómero utilizado para la producción de plásticos de policarbonato como las botellas de agua, vajillas y contenedores de comida, equipos de procesamiento, tuberías de agua, retardantes de flama, adhesivos, materiales de construcción, componentes eléctricos, revestimientos de papel y resinas epoxi que se usan como revestimiento de protección de diversas latas de alimentos y bebidas (Aids, 2015). Dicho compuesto se ha convertido ubicuo debido a que puede migrar hacia los alimentos, con los estudios previos se remarca al BPA como un contaminante ambiental poco reconocido. Reciclar los plásticos, latas y recipientes puede ser bueno para la reducir energía y la basura, pero esto también implica introducir BPA en la hidrósfera; debido a estudios que han cuantificado los niveles de BPA en diversos medios acuosos, incluyendo aguas superficiales marinas y frescas, afluentes y efluentes de plantas de tratamiento, y agua subterránea.

Diversos estudios han relacionado la exposición a BPA con la aparición de efectos adversos para la salud relacionándolos con cáncer, alteraciones en el desarrollo y a nivel neuronal, daño en el material genético, enfermedades metabólicas y cardiovasculares, así como con alteraciones en el sistema reproductor, relacionadas la mayoría con la afectación de la fertilidad, lo cual permite clasificarlo como un disruptor endócrino (Sangai et al., 2016). Esto generó un interés significativo en el tratamiento y remediación de este compuesto, por lo que, para las aplicaciones ambientales, los materiales de soporte seleccionados deberán ser económicos, no tóxicos, biocompatibles y amigables con el ambiente y que no posean efectos negativos en una solución biodegradable (Bilal, Iqbal, et al., 2019).

Algunos métodos convencionales como filtración, coagulación, ozonización, cribado, tratamientos anaeróbicos y aeróbicos, separación centrífuga, fotólisis UV, floculación y sedimentación han sido utilizados para la degradación y remoción de

los CE. Sin embargo, estos métodos presentan limitaciones de baja eficiencia, y a un alto costo. Para mejorar la capacidad de remoción y eficiencia de los sistemas se han utilizado métodos no convencionales. Estos incluyen microfiltración, extracción por solvente, destilación, oxidación, evaporación, adsorción, intercambio iónico, electrodiálisis, ósmosis inversa, precipitación, electrólisis, ultrafiltración, cristalización y ósmosis directa (Bilal, Adeel, et al., 2019). En este trabajo se implementó un método viable para la remoción de Bisfenol A presente en los cuerpos de agua (siendo la fuente más grande de BPA) evaluando los métodos de remoción no convencionales.

## 1.2 Justificación

En las plantas convencionales de tratamiento de aguas residuales la población microbiana no está adaptada para eliminar compuestos orgánicos persistentes, tanto por su naturaleza química sintética, carácter recalcitrante propio de contaminantes tales como bifenilos policlorados, explosivos aromáticos y los hidrocarburos policíclicos aromáticos; como por sus bajas concentraciones, por lo que estos compuestos son biodegradados parcialmente (Verlicchi et al., 2012).

El problema creciente de los **contaminantes orgánicos persistentes** COP introducidos en el ambiente requirió el desarrollo de tecnologías capaces de minimizar o eliminar exposiciones adversas en el ambiente. Siendo el BPA perteneciente a este grupo, el enfoque es removerlo del agua mediante su biodegradación a través de enzimas oxidorreductasas, como las peroxidasas y lacasas, ya que se consideran como uno de los mecanismos más eficientes y eco-amigables (Méndez et al., 2017). Debido al número de factores bióticos y abióticos incluyendo el potencial redox, características moleculares, diversidad microbiana, temperatura, disponibilidad, propiedades fisicoquímicas, pH, toxicidad, las oxidorreductasas juegan un rol clave en toda la degradación de estos contaminantes (Bilal, Iqbal, et al., 2019), ya que tienen potencial de ser aplicables como parte de métodos de tratamiento ambiental novedoso dado las altas conversiones y la disminución importante de la toxicidad.

Las enzimas extraídas y recuperadas de las raíces de rábanos también han sido empleadas con propósitos de limpieza ambiental. Entre una variedad de distintas

isoenzimas peroxidases encontradas en la naturaleza, las **peroxidases** de rábano C (HRP, EC 1.11.1.7) son consideradas como enzimas abundantes. HRP contiene al grupo hemo, cuenta con un gran poder catalítico capaz de oxidar ácidos fenólicos, fenoles aromáticos y aminas no aromáticas utilizando peróxido de hidrógeno (Bilal, Adeel, et al., 2019), se conoce su mecanismo de reacción y su estructura. Las aplicaciones notables de los HRP incluyen protección, degradación de los fenoles contenidos en las aguas residuales y transformación de compuestos tóxicos como xenobióticos, tintes, fármacos y otros contaminantes peligrosos del agua potable y efluentes industriales

En las condiciones de inmovilización optimizadas, la enzima mostró un mayor rendimiento catalítico y estabilidad en amplios rangos de pH y temperatura en relación con la enzima libre. El sistema biocatalítico HRP inmovilizado mostró un excelente rendimiento de eliminación para la eliminación de varios compuestos fenólicos de una solución acuosa, particularmente para el bisfenol A. Se observó una eficacia de biotransformación elevada del 51,75% para la eliminación de contaminantes de bisfenol A (Bilal, Adeel, et al., 2019). Estos hallazgos podrían ser útiles para diseñar un biocatalizador eficiente, rentable y ecológico con excelente estabilidad y amplias aplicaciones en el tratamiento de aguas residuales, así como en otras aplicaciones industriales.

Uno de los procesos de tratamiento eficaces para la eliminación de compuestos fenólicos y método de inmovilización es la adsorción (Ahmaruzzaman, 2008). El adsorbente más utilizado durante muchos años es el carbón activado, pero el carbón activado es relativamente caro (Hu et al., 2006). En este sentido, los investigadores han estado tratando de desarrollar adsorbentes económicos para la sustitución del carbón activado. Los desechos se han convertido en el centro de atención para la producción de adsorbentes económicos que ayudan a minimizar el reciclaje y la reutilización (Garrigues et al., 2010). El quitosano se ha empleado como un agente coagulante eficaz de compuestos orgánicos y como adsorbente para la eliminación de compuestos orgánicos, incluido el fenol y sus derivados, junto con tintes y otros compuestos en el agua y las aguas residuales.

Las propiedades que destacan el uso de quitosano son: su biodegradabilidad, biocompatibilidad, no es tóxico, inmunogenicidad, actividad bactericida, fungicida, antiviral y biocida, es seguro, respetuoso con el medio ambiente, amino-polisacárido compuesto principalmente de 2-amino-2-desoxi- $\beta$ -D-Glucopiranososa (Dehghani et al., 2016). La quitina es un polímero natural que se encuentra en los exoesqueletos de insectos y crustáceos, así como también en las paredes celulares de algunos hongos, levaduras y algas; de ella se obtiene el quitosano mediante un proceso de desacetilación, este polisacárido también se puede encontrar directamente en algunos hongos (Giraldo, 2015).

La remoción efectiva de las fuentes principales, particularmente los efluentes de las plantas tratadoras de aguas residuales, es necesaria para mediar los efectos nocivos de los Contaminantes Emergentes (CE). La ultrafiltración (UF) por sí sola es ineficaz para la eliminación de CE debido a su corte de alto peso molecular y la inevitable desventaja del ensuciamiento cuando se aplica al tratamiento de aguas residuales. Para lograr una eliminación efectiva, a menudo es necesario emplear remedios auxiliares. La adición de un adsorbente a la membrana mejora la calidad del permeado (Secondes et al., 2014). La combinación de procesos individuales en un solo proceso híbrido funciona mejor porque adapta las fortalezas y elimina los defectos de las técnicas individuales. Los problemas con la membrana pueden aliviarse introduciendo un adsorbente en el sistema y aplicando simultáneamente un método de degradación. El adsorbente retiene los contaminantes y también puede evitar que las posibles incrustaciones se adhieran a la membrana, mejorando así su permeabilidad. Además, la membrana puede separar el adsorbente del efluente. Así mismo la degradación de los CE puede mejorarse mediante las paredes de la membrana y las partículas del adsorbente porque proporcionan interfaces que refuerzan el colapso no homogéneo y los núcleos para el crecimiento de burbujas de cavitación (Secondes et al., 2014).

## **1.3 Objetivos de la Investigación**

### **1.3.1 Objetivo General**

Evaluar la eliminación de Bisfenol A utilizando oxidación enzimática acoplada a separación con membranas.

### **1.3.2 Objetivos particulares**

- 1) Determinar y optimizar la capacidad de la enzima peroxidasa de rábano por sus siglas en inglés (HRP) horseradish peroxidase para oxidar Bisfenol A.
- 2) Determinar y optimizar la adsorción de Bisfenol A utilizando quitosano, para después acoplarlo a la oxidación enzimática.
- 3) Determinar la eficiencia de eliminación de BPA aplicando oxidación en presencia de quitosano acoplada a un sistema de ultrafiltración con membrana comercial.

## **1.4 Hipótesis**

La oxidación enzimática del Bisfenol A en presencia de quitosano, acoplada a la separación por membranas removerá eficientemente el Bisfenol A presente en el agua.

## **2 Antecedentes**

### **2.1 Importancia del agua**

El 70% de la superficie de la Tierra está cubierta por agua y el 30% por tierra firme. Del 70% total de agua el 97.5% es agua salada, y tan solo el 2.5% es agua dulce; del cual casi el 70% de agua no se encuentra disponible para consumo humano debido a que se encuentra en forma de glaciares, nieve o hielo (Comisión Nacional del Agua, 2012) como se muestra en la Figura 1.



**Figura 1** Disponibilidad de agua en el mundo (Comisión Nacional del Agua, 2012).

Se estima que solamente el 0.77% se encuentra como agua dulce disponible para el ser humano y su distribución, la cual se encuentra en forma de lagos, ríos, humedad del suelo y depósitos subterráneos relativamente poco profundos; cuya renovación es producto de la infiltración como se presenta en el esquema de la Figura 2.



**Figura 2** Esquema de distribución del agua en los diferentes sectores (Comisión Nacional del Agua, 2012).

Las aguas subterráneas abastecen de agua potable por lo menos al 50% de la población mundial y representan el 43% de toda el agua utilizada para el riego. Se estima que el 20% de los acuíferos mundiales están siendo sobreexplotados, lo que tiene consecuencias graves, como el hundimiento del suelo y la intrusión de agua salina, así mismo, la disponibilidad de agua se ve comprometida por la contaminación (Comisión Nacional del Agua, 2012).

A nivel mundial, la proporción de extracción de agua es aproximadamente 69% agropecuario, 19% industrial y 12% municipal, cuando se calculan las proporciones de agua extraída por uso para cada país, y se elabora el promedio global, se demuestra que la proporción de extracción de agua es de 59%, 23% y 18% respectivamente para cada rubro (Comisión Nacional del Agua, 2012).

## 2.2 Contaminación del agua

Por contaminación se entiende generalmente una presencia de **sustancias químicas o de otra naturaleza en concentraciones superiores a las concentraciones naturales**. Entre los contaminantes más importantes se encuentran los microbios, los nutrientes, los metales pesados, los químicos orgánicos, aceites y sedimentos; el calor también puede ser un agente contaminante, al elevar la temperatura del agua (Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos, 2009).

En el la Figura 3. se presentan los sectores que influyen en la contaminación del agua.



**Figura 3** Esquema de los Sectores que contribuyen a la contaminación del agua (Comisión Nacional del Agua, 2012).

### 2.3 Tipos de contaminantes.

#### **Físicos.**

Son principalmente sólidos o materiales en suspensión, cuyo impacto en los ecosistemas acuícolas, son consecuencia de la obstrucción de la luz que generan. Por otra parte, el calor proveniente de industrias que utilizan el agua para el enfriamiento de sus equipos o que descargan agua o líquidos a altas temperaturas, interfiere en los ciclos de crecimiento y reproducción de las especies presentes y disminuye la solubilidad de los gases en el agua.

#### **Químicos.**

Los contaminantes químicos pueden ser de origen inorgánico u orgánico.

La contaminación inorgánica consiste en el aporte de nutrientes, detergentes y metales que llegan a los cuerpos de agua. A grandes rasgos los compuestos

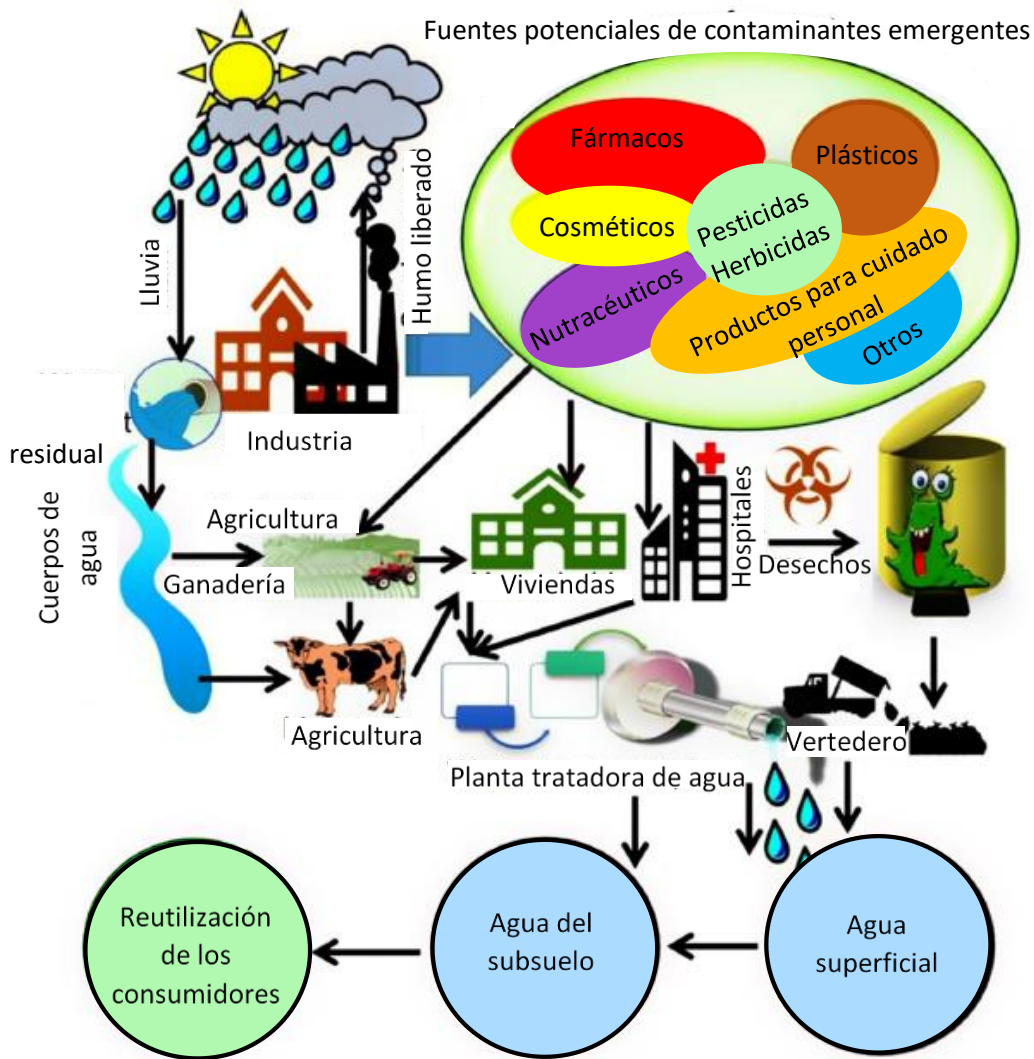
orgánicos se dividen en naturales y sintéticos: los primeros producen mal olor y sabor, mientras que los sintéticos son de origen industrial y son tóxicos. En esta categoría se encuentran los compuestos orgánicos persistentes (**COP**): residuos de plaguicidas, que junto a los disolventes producidos por las actividades industriales tienen principal impacto en el hecho de que son persistentes, bioacumulables, se transportan largas distancias y han sido relacionados con efectos cancerígenos.

Recientemente se ha detectado la presencia de compuestos potencialmente peligrosos, denominados contaminantes emergentes (**CE**) que se derivan principalmente de descargas industriales o domésticas de agua. Aún no existe información suficiente sobre su abundancia e impacto por lo que en su mayoría no están regulados, pero se estima que algunos pueden ser persistentes.

Las fuentes potenciales de CE y las vías de contaminación del agua subterránea y superficial se muestran en la Figura 4. La producción de contaminantes y su impacto en el ambiente general depende de su uso y disposición. Predominantemente, estos contaminantes pueden ser producidos mediante una ruta, por ejemplo, planta de tratamiento de agua, suelo, centro de residuos médicos, estiércol, materiales crudos pobremente tratados, ganadería, e industrias. Numerosos contaminantes farmacéuticos entran al ambiente a través de las plantas de tratamiento de aguas residuales a muchos países desarrollados, por ejemplo: USA, Finlandia, Japón, España y Reino Unido con concentraciones de  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  a  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (Bilal, Adeel, et al., 2019).

Dado que los agentes antimicrobianos y antimicóticos (triclocarbán, triclosán y miconazol) se usan ampliamente en productos domésticos como jabones, champús, geles de ducha con ungüento, aerosoles, cremas dérmicas y pasta de dientes; después de haber sido utilizados estos agentes antimicrobianos y antimicóticos son descargados por el sistema de desagüe doméstico para después ingresar a la región acuática. Filtros UV orgánicos (alcanfor 4-metilbencilo, oxibenzona, y octocrileno) usados en su mayoría en productos cosméticos como: lociones corporales, labiales, cremas de belleza, shampoos y protectores solares son

introducidos a la bioma acuática ya sea de forma directa o indirecta ya sea al nadar, lavar o bañarse en lagos y ríos(Bilal, Adeel, et al., 2019).



**Figura 4** Ciclo de la distribución de los contaminantes emergentes (Bilal, Adeel, et al., 2019)

#### 2.4 Contaminación por compuestos persistentes COP.

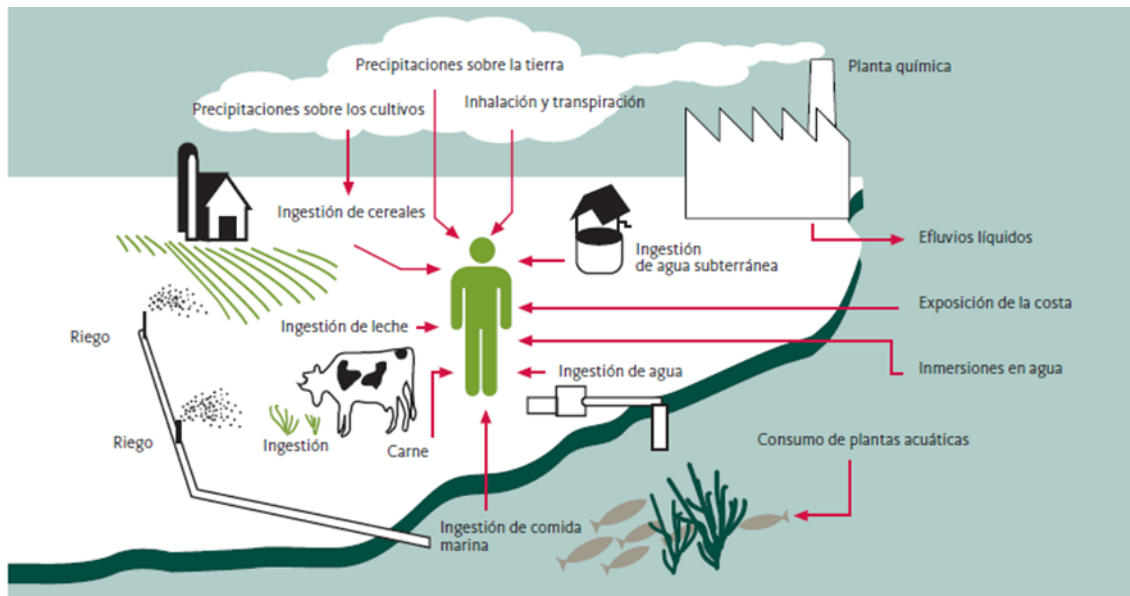
Los **compuestos orgánicos persistentes** (COP) son un subgrupo de los **compuestos tóxicos persistentes** (CTP). Se trata de un conjunto de compuestos orgánicos, tóxicos y resistentes tanto a la degradación biológica y química como a la fotolítica, presentan consecuentemente una elevada persistencia; la estructura

química de estos compuestos está formada por átomos de carbono, de hidrógeno y de halógenos (Bosch M, Cabrera C, Castro A, 2008).

Una de las principales características de los COP es que son lipofílicos, muchos se **bioacumulan** en los tejidos grasos de los organismos vivos. La bioacumulación es el proceso por el cual algunas sustancias se almacenan en los tejidos biológicos; es una característica necesaria para que se pueda producir la **biomagnificación** o aumento de las concentraciones de una sustancia a medida que se va subiendo en la cadena trófica.

Los COP incluyen una gran variedad de sustancias, y que la gran mayoría de ellas han sido sintetizadas por el hombre con fines concretos. Así los COP pueden ser clasificados en función del uso para el que fueron creados, como plaguicidas, dioxinas, furanos, colorantes, hidrocarburos aromáticos policíclicos, retardadores de flama, refrigerantes o como productos industriales (por ejemplo, los bifenilos policlorados) (Bosch M, Cabrera C, Castro A, 2008).

La exposición del ser humano a los COP es casi o completamente universal, los COP se encuentran repartidos en el planeta. Los COP llegan a nuestros organismos a través de una exposición ambiental continua, y generalmente a dosis bajas. Fundamentalmente el ser humano como muchos otros organismos vivos incorporan a los COP a través de la dieta, aunque existen otras rutas de exposición como la inhalación o la absorción por la piel, que pueden producir tanto por una exposición laboral como por accidente, en la Ilustración 5 se presentan las diferentes fuentes de ingesta de COP para el ser humano.



**Figura 5** Esquema representativo de las diferentes fuentes de ingesta de los COP para el ser humano (Bosch M, Cabrera C, Castro A, 2008).

Algunos estudios indican que en la población general un 90% o más de las concentraciones corporales de estos compuestos proceden de los alimentos.

El registro PRTR-España ofrece datos de emisiones al aire, agua y suelos de sustancias y grupos contaminantes procedentes de un número limitado de actividades y complejos industriales obligados a notificar y hacer pública esta información según la Ley 16/2002 de prevención y control integrados de la contaminación (IPPC). La Tabla 1 recoge datos de las emisiones totales de dichas sustancias y grupos durante el 2010 (Instituto Sindical de Trabajo, Ambiente y Salud, 2013).

**Tabla 1** Emisiones de algunos Disruptores Endócrinos (Instituto Sindical de Trabajo, Ambiente y Salud, 2013).

Contaminante	Emisiones en aire [Toneladas por año]	Emisiones en agua [Toneladas por año]
COP	33.75	0.53
Arsénico	4.77	3.23
Cadmio	1.5	0.6
Mercurio	2.1	0.5
Plomo	40.94	8.4

## 2.5 Bisfenol A

El bisfenol A (BPA) es un químico industrial que se usa ampliamente como monómero o aditivo para fabricación de plásticos de policarbonato (PC), resinas epoxi, otros materiales poliméricos y también determinados productos de papel (por ejemplo, papel térmico). Las propiedades del PC, por ejemplo: rigidez, transparencia y resistencia, hacen que estos plásticos sean especialmente adecuados para muchas aplicaciones técnicas. El PC se utiliza para recipientes de alimentos y líquidos, como vajillas (platos y tazas), recipientes para microondas, depósitos para dispensadores de agua y aplicaciones no alimentarias como juguetes y chupones con protectores para PC. Las resinas epoxifenólicas a base de BPA se utilizan como revestimientos protectores para latas de alimentos y bebidas y como revestimiento de tanques de almacenamiento de agua potable residencial. El BPA también se utiliza en una serie de aplicaciones, por ejemplo: pinturas a base de resina epoxi, dispositivos médicos, revestimientos de superficies, tintas de impresión, papel térmico, retardantes de llama y también en materiales plásticos como CD, DVD y partes de productos electrónicos (Sangai et al., 2016).

El consumo global de BPA en 2011 fue predicho que excedería las 5.5 millones de toneladas métricas; se estima que los compartimientos ambientales más contaminados de BPA son abióticos y están asociados con el agua y sólidos suspendidos (53%p/p), suelo (25%p/p), o sedimentos (23%p/p) (Sangai et al., 2016).

## 2.6 Disposiciones relativas al BPA

El BPA fue evaluado por primera vez en 1984 por el Comité Científico de Alimentos (CCA) para su uso en materiales y artículos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos y estableció una Ingesta Diaria Tolerable (IDT) de 0.05 mg•Kg<sup>-1</sup> de peso corporal. Posteriormente fue incluido como un monómero permitido por la Directiva de la Comisión con un límite de migración específico (LME) de 3 mg•Kg<sup>-1</sup> de alimento (EFSA, 2007).

En 2002, el CCA redujo la IDT y posteriormente se estableció un LME menor total de  $0.6 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$  de alimento. En 2006, la EFSA redujo el factor de incertidumbre, estableciendo un IDT de  $0.05 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$  de peso corporal, y el LME en  $0.6 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$  de alimento (EFSA, 2007).

En 2011, la Directiva de la Comisión impuso una restricción al uso de BPA en la fabricación de biberones infantiles con PC a partir del 1 de marzo de 2011 y la comercialización de estos biberones a partir del 1 de junio de 2011 (EFSA, 2007).

En mayo de 2010, Dinamarca prohibió el uso de BPA en biberones y todos los materiales en contacto con alimentos, especialmente aquellos destinados a niños entre cero y tres años (Aids, 2015).

Suecia decidió prohibir el uso de BPA o compuestos que contienen BPA en barnices o revestimientos para envases de alimentos destinados a niños de cero a tres años el 1° de julio de 2013 (Aids, 2015)

El 24 de diciembre de 2012, Francia adoptó una ley que suspende la fabricación, importación, exportación y poner en el mercado todos los materiales en contacto con alimentos que contengan BPA (Aids, 2015).

El 1° de enero del 2012, en Bélgica entró en vigor la ley que prohíbe la comercialización y la fabricación de envases para productos alimenticios, que contengan BPA, en particular aquellos destinados a niños de cero a tres años (Aids, 2015).

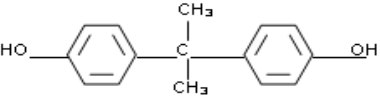
El 6 de octubre de 2011, Austria publicó un decreto que prohibía el uso de BPA en chupones y biberones (EFSA, 2007).

## 2.7 Caracterización del BPA

El BPA es un químico orgánico sintetizado por condensación de 2 mol de fenol con 1 mol de acetona en el presencia de un catalizador ácido, es un sólido blanco disponible en forma de cristales o escamas (Sangai et al., 2016). En la Tabla 2, se presenta una tabla de las propiedades fisicoquímicas del Bisfenol A, una baja solubilidad en el agua, alto punto de fusión y baja presión de vapor, con base en

estas características se estima que los compartimientos ambientales más grandes de BPA son abióticos y están asociados con el agua y los sólidos en suspensión.

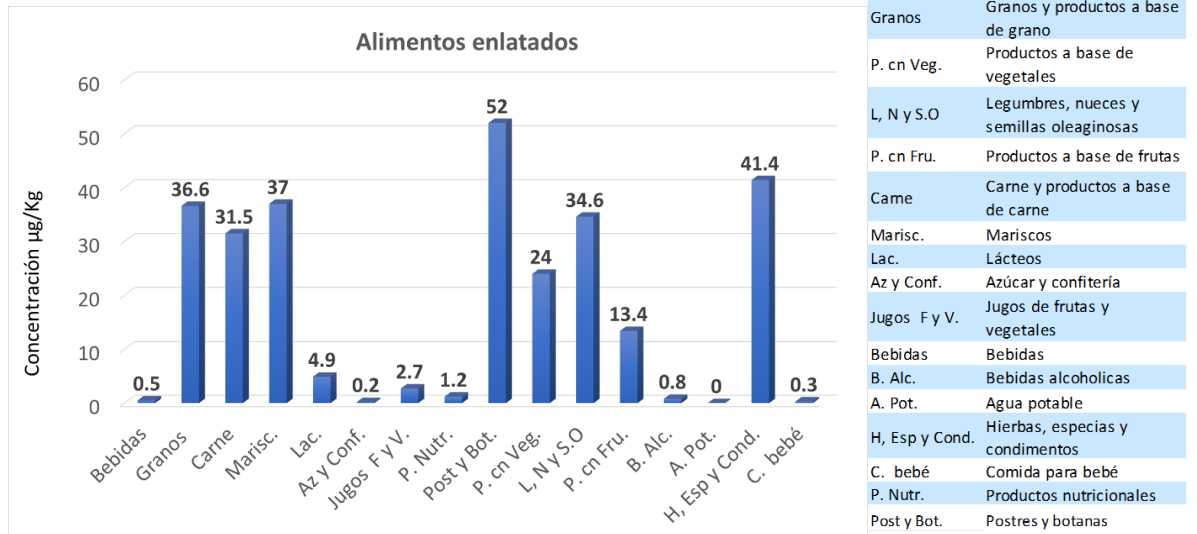
**Tabla 2** Propiedades fisico-químicas del Bisfenol A (Aids, 2015).

<b>Propiedades fisicoquímicas del BPA</b>	
<b>Peso molecular:</b>	228.29 gr/mol
<b>Fórmula molecular:</b>	$C_{15}H_{16}O_2$
<b>Fórmula estructural:</b>	
<b>Solubilidad en agua:</b>	120-300 mg/L
<b>Punto de fusión:</b>	155-157°C, dependiendo del proceso de fabricación.
<b>Punto de ebullición:</b>	360-398°C a 101.3 kPa (también puede ocurrir descomposición).
<b>Presión de vapor:</b>	$5.3 \times 10^{-9}$ kPa a 25°C
<b>Densidad relativa:</b>	1.1-1.2 kg/m <sup>3</sup> a 25°C
<b>Límite de explosividad:</b>	La mínima concentración explosiva es 0.012 g/l con una concentración de oxígeno > 5%
<b>Propiedades oxidantes:</b>	No es un agente oxidante

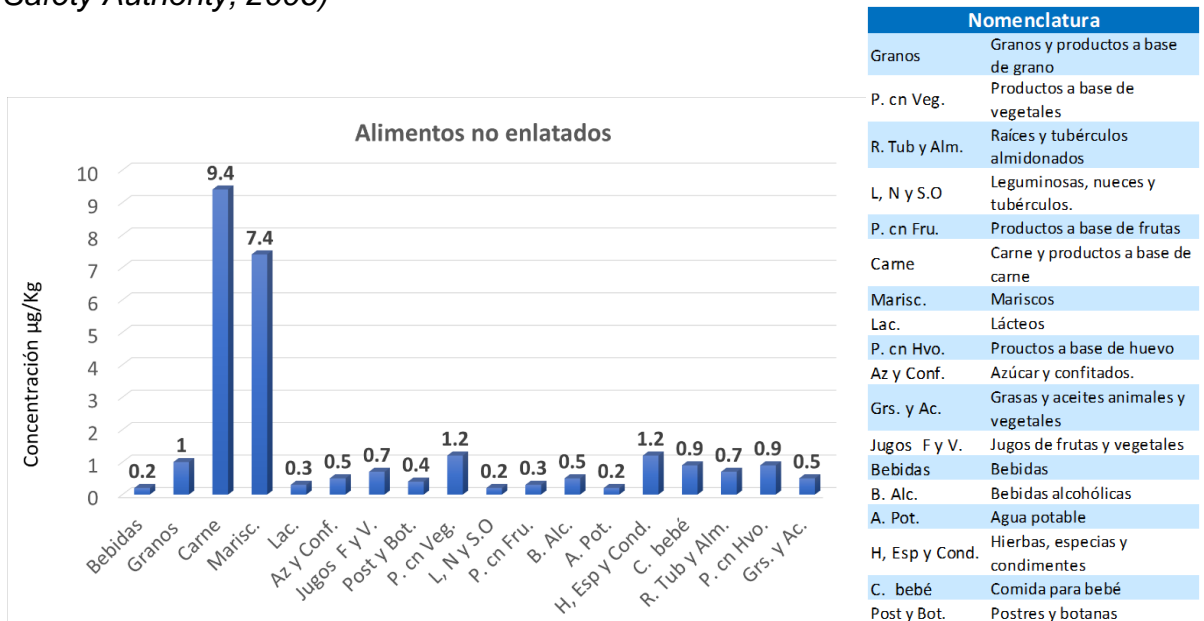
## 2.8 Fuentes de exposición de BPA.

Para este rubro se considera las diferentes vías de exposición: Ingestión, inhalación, absorción y dérmica.

La ingesta de BPA se presenta a través de los alimentos enlatados y no enlatados, en la Ilustración 5 se muestra una gráfica que presenta los diferentes alimentos enlatados y las concentraciones de BPA que esos presentan, después en la Ilustración 6 se presenta la gráfica de alimentos no enlatados y sus respectivas concentraciones de BPA.



**Figura 6** Concentraciones de BPA en los alimentos enlatados (European Food Safety Authority, 2006)



**Figura 7** Concentraciones de BPA en los alimentos NO enlatados (European Food Safety Authority, 2006)

El BPA puede migrar del PC a los alimentos por difusión del BPA residual presente en el polímero después del proceso de fabricación, así como por hidrólisis de los enlaces de éster del polímero, una reacción que es catalizada por hidróxido cuando el polímero está en contacto con alimentos acuosos (Aids, 2015). Algunos estudios indican que la migración controlada por difusión del monómero residual hace una contribución menor a la liberación de BPA de los artículos de policarbonato, y que la hidrólisis de las cadenas de polímero de policarbonato en la interfaz con el medio acuoso es el principal proceso de liberación. De hecho, se descubrió que la migración de BPA de plásticos de PC a medios acuosos era esencialmente independiente de la concentración residual, lo que indica que se producen mecanismos de transferencia distintos de la difusión. Se encontró que los valores de migración de los revestimientos de los utensilios de cocina eran inferiores a  $6 \mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$  después de la tercera reutilización con aceite de oliva a  $175^\circ\text{C}$  durante 30 minutos y con una tendencia a disminuir en los períodos de contacto secuenciales (Aids, 2015).

Se evaluó la migración de BPA a simuladores de alimentos a partir de 11 materiales de envasado de alimentos comunes, los resultados de la migración de BPA de los materiales de envasado de alimentos obtenidos están resumidos en la Tabla 3.

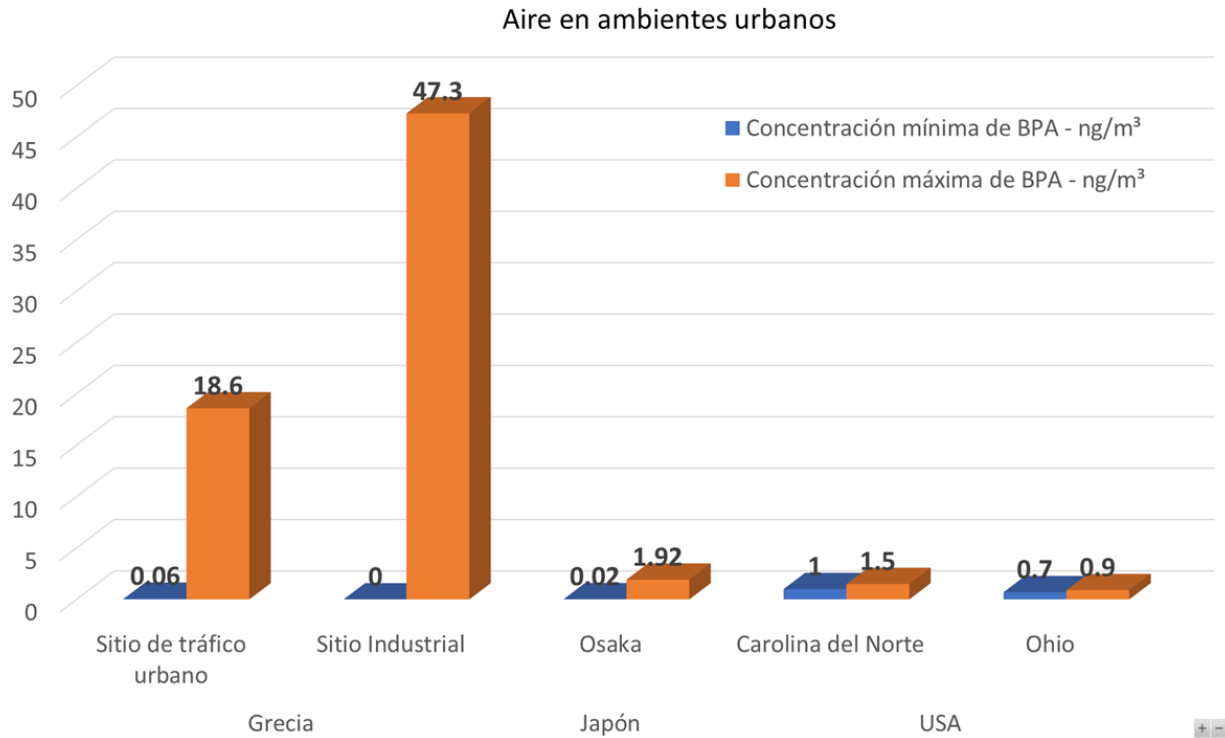
**Tabla 3** Migración de BPA hacia los alimentos (Aids, 2015)

Material en contacto con comida	Promedio de migración µg/L		No detectados/n
	Límite inferior	Límite superior	
Lata de epoxi	1.26	1.27	8/23
Lata de poliester	0	0.05	4/4
Recubrimiento de utensilios de cocina	0.6	0.76	21/26
Botella de copoliéster	0	0.09	10/10
Taza de HDPE	0	0.03	3/3
Película de LDPE	0.9	0.11	3/6
Biberón de PA	25	25	8/28
Biberón de PC	0.7	1.2	461/588

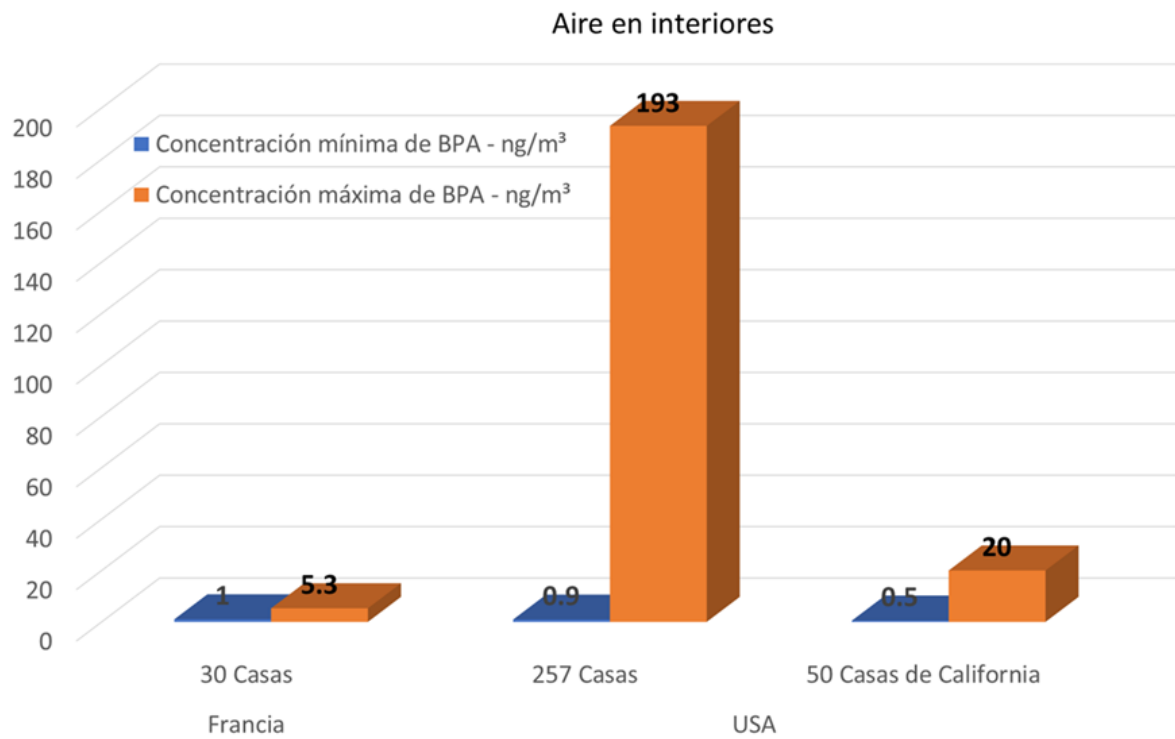
## 2.9 Contaminación ambiental con BPA.

La población en general también puede estar expuesta al BPA de fuentes ambientales como el agua superficial (durante la natación) y el aire exterior (inhalación de aerosoles). Además, la liberación de BPA de pavimentos a base de epoxi, adhesivos, pinturas, electrónicos. Se informa que los equipos y las placas de circuito impreso son una fuente de contaminación del aire interior (incluido el polvo en el aire) y el polvo asentado. Así mismo la presencia de BPA en diferentes esferas ambientales representa la contaminación de estas, en las Figuras 5 a 10 se presenta la concentración máxima y mínima de BPA encontrada en:

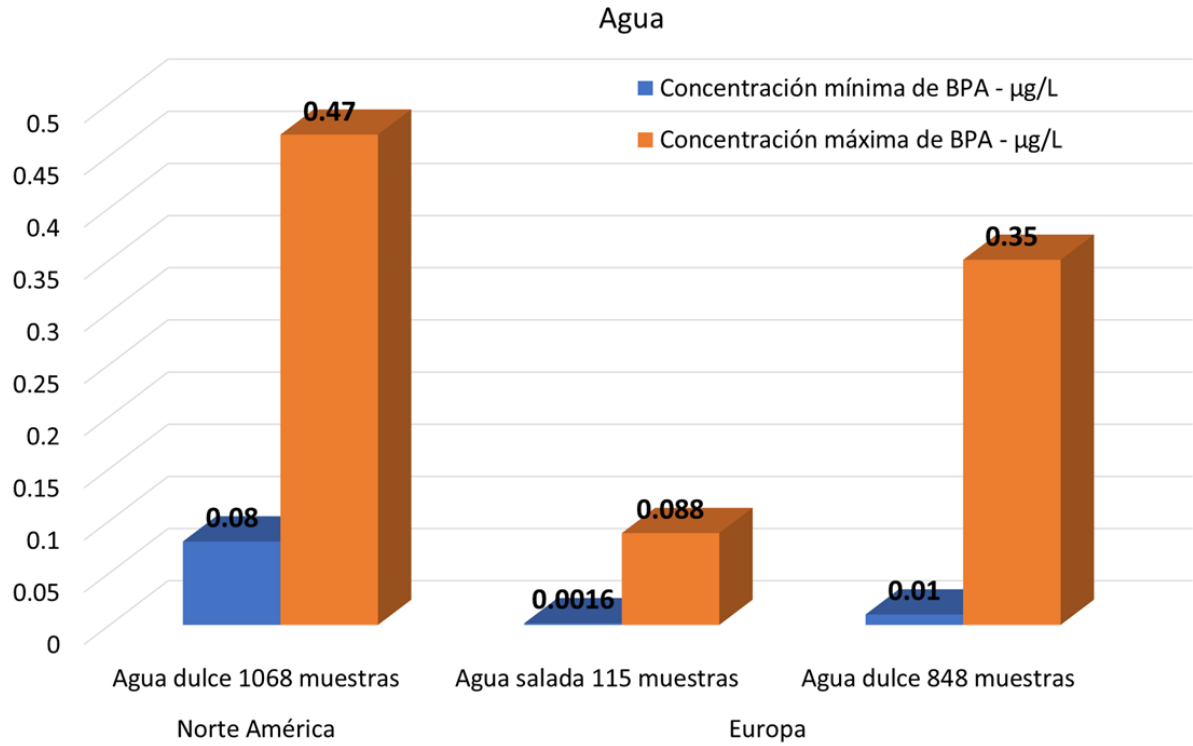
- Aire
- Agua y Sedimentos.
- Aguas residuales
- Polvo



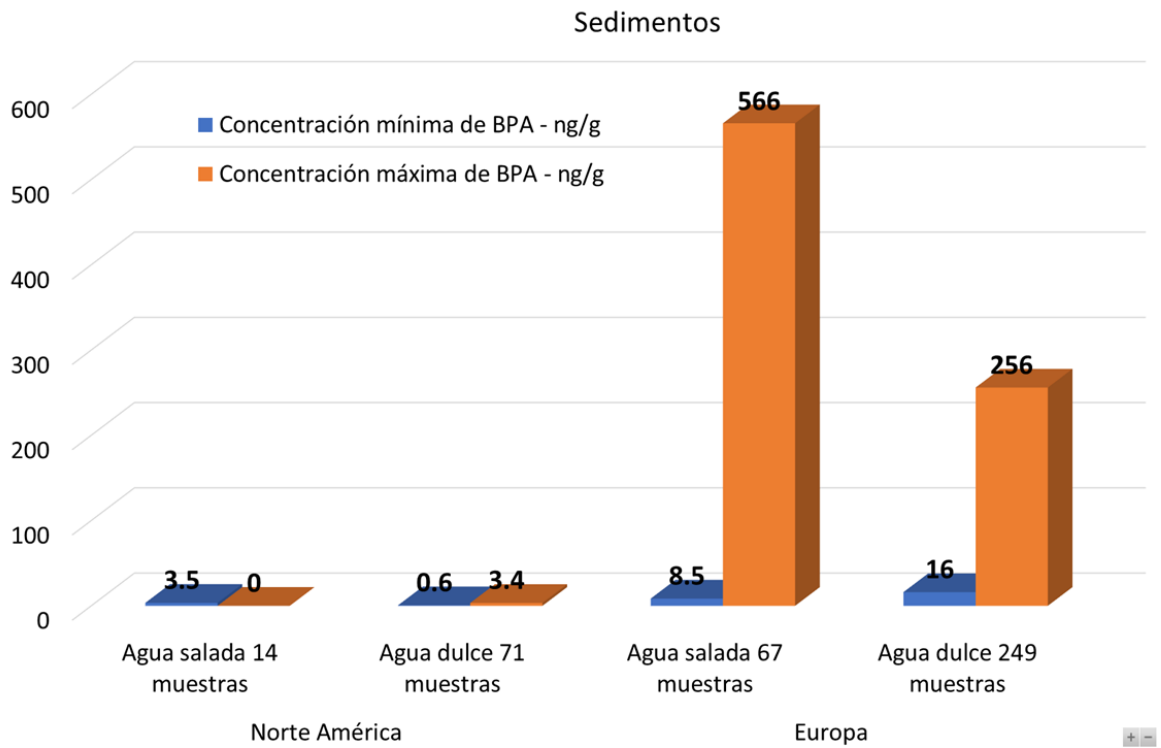
**Figura 8** Concentraciones de BPA en Aire (*Salapasideou et al., 2011, Wilson et al., 2007, Matsumoto et al., 2005*).



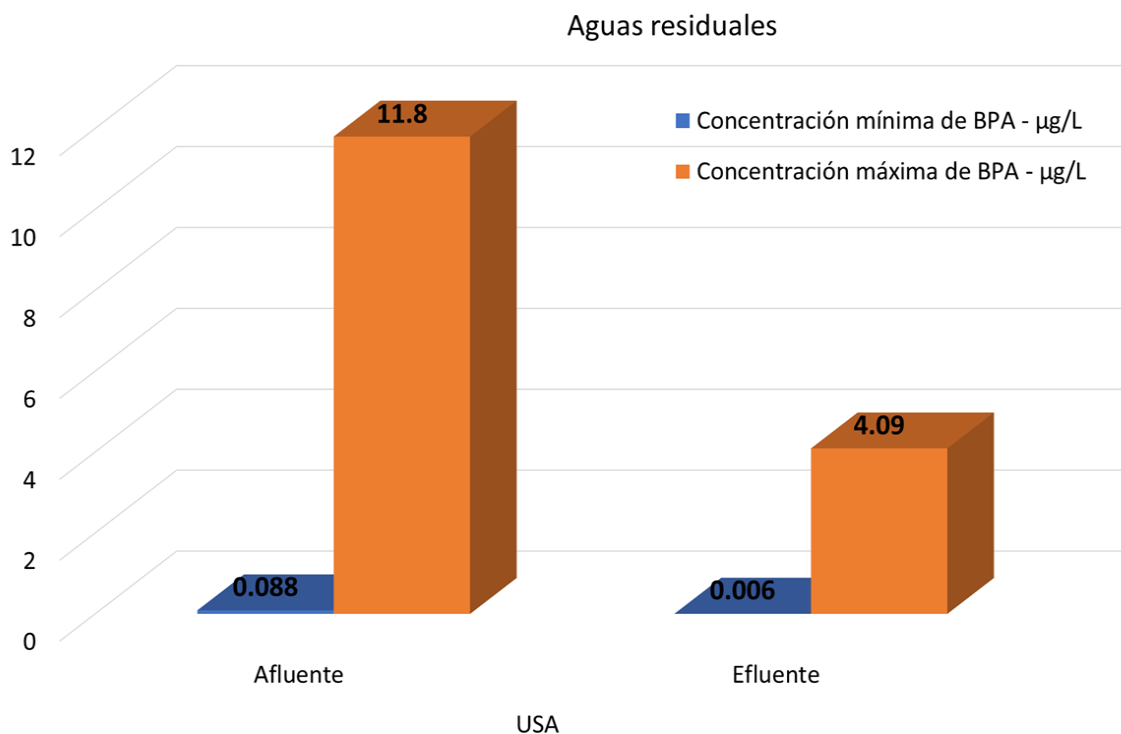
**Figura 9** Concentraciones de BPA en el aire en interiores (*Wilson et al., 2007, EFSA, 2007*).



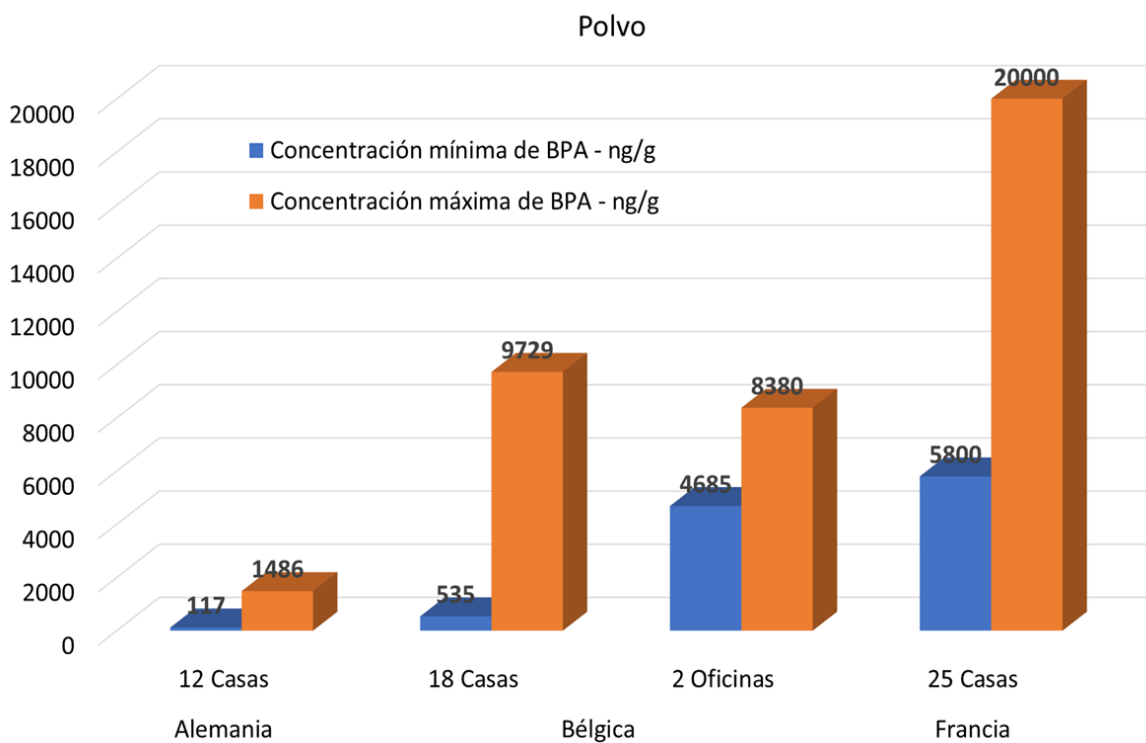
**Figura 10** Concentraciones de BPA en muestras de agua (Klečka et al., 2009).



**Figura 11** Concentraciones de BPA en muestras de sedimentos (Klečka et al., 2009).



**Figura 12** Concentraciones de BPA en Aguas Residuales (Deblonde et al., 2011).



**Figura 13** Concentraciones de BPA en el polvo (Aids, 2015)

## 2.10 Efectos de BPA las diferentes esferas por BPA

### Agua

- La ruta principal de contaminación por BPA son los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales y los vertederos
- La lixiviación de BPA podría ser una preocupación en sitios marinos donde se han acumulado desechos plásticos, aunado a que la fracción biodisponible de BPA disuelto puede aumentar con salinidad (Sangai et al., 2016).

### Suelos y Sedimentos

- La biodegradación en ambientes anaeróbicos disminuye en presencia de BPA
- El BPA interfiere con la fijación de nitrógeno en las raíces de las plantas leguminosas asociadas con el simbiote bacteriano *Sinorhizobium Meliloti* (Mountfort et al., 1997)

### Aire

- El BPA puede ser liberado a la atmósfera a través de la producción industrial con una tasa de 100 toneladas por año.
- El BPA podría ser emitido por la combustión de placas de circuitos impresos de computadora en desechos electrónicos y por la pulverización de pintura (Owens Jr CV, 2007).
- La quema al aire libre de residuos plásticos domésticos ser una fuente de emisión significativa de BPA atmosférico
- La disminución general de BPA desde la región costera asiática hasta el centro del Océano Pacífico Norte indica que el continente asiático es un fuerte "emisor" de BPA, que puede ser transportado a largas distancias por los vientos del oeste (Sangai et al., 2016).

## Vida Silvestre

- Valores que van de 1 a 10 mg•L<sup>-1</sup> de BPA se clasifica como "moderadamente tóxico" y "tóxico" para la biota acuática por la Comisión Europea y la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA de los Estados Unidos).
- También se informaron impactos negativos sobre la diferenciación sexual en vertebrados acuáticos en concentraciones más bajas y relevantes para el medio ambiente. En cola de espada (*Xiphophorus helleri*), el desarrollo de la espada como una característica sexual secundaria de los peces machos se inhibió en un rango de concentración de 0.2 a 20 µg•Kg<sup>-1</sup> (Oehlmann et al., 2006).
- Estudios de los efectos del BPA en la vida silvestre indican que el compuesto puede ser dañino incluso en concentraciones ambientalmente relevantes, que se definen como menores a 12 mg•L<sup>-1</sup> (Oehlmann J, 2006).

## Ser Humano

- En 2008, el **Programa Nacional de Toxicología** (NTP) de EE. UU publicó su informe final sobre el potencial del BPA para causar daños a la reproducción o el desarrollo humanos (NTP-CERHR, 2008). Se expresó cierta preocupación por los efectos sobre el desarrollo de la glándula prostática y el cerebro, y sobre el comportamiento en bebés y niños después de la exposición pre y postnatal al BPA a los niveles actuales de exposición humana. El NTP tenía una preocupación mínima por los efectos del BPA en el desarrollo de la glándula mamaria y la aceleración de la pubertad en las mujeres con los niveles actuales de exposición humana. El NTP expresó una preocupación insignificante de que la exposición de las mujeres embarazadas al BPA resultaría en mortalidad fetal o neonatal, defectos de nacimiento o reducción del peso al nacer y el crecimiento de su descendencia. NTP también expresó una preocupación insignificante de que la exposición al BPA causaría efectos reproductivos en adultos no expuestos ocupacionalmente y una preocupación mínima por los trabajadores expuestos a niveles más altos en entornos ocupacionales. En el mismo

informe, el NTP también proporcionó estimaciones de exposición diaria para bebés, niños y adultos basadas en escenarios realistas. Para la población general, se informó que la exposición diaria estimada más alta al BPA ocurrió en bebés y niños. Los lactantes alimentados con fórmula (de 0 a 6 meses de edad) tenían una ingesta estimada de 1 a 11  $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$  de peso corporal por día, los lactantes de 6 a 12 meses de edad de 1.65 a 13  $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$  de peso corporal por día y los niños mayores (hasta 6 años) de 0.04-14.7  $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$  peso corporal por día, para la población adulta en general, la ingesta de BPA se estimó en 0.008-1.5  $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$  de peso corporal por día.

- En septiembre de 2011, La **Agencia Francesa de Seguridad y Salud Alimentaria, Ambiental y Ocupacional** (ANSES) publicó un informe sobre el BPA, que incluía una parte sobre sus efectos en la salud humana y la otra sobre sus usos (ANSES, 2011). Además, llegó a la conclusión de que la exposición al BPA se asoció con efectos probados en animales y efectos sospechosos en humanos, también a niveles de exposición por debajo de los umbrales regulatorios actuales. Estos efectos fueron el foco principal de la evaluación de riesgos posterior que completó ANSES en abril de 2013.

En la Tabla 4 y 5 se muestran los efectos de BPA en el ser Humano a partir de diferentes estudios realizados.

**Tabla 4 Efectos del BPA en el Ser Humano** (Bhandari et al., 2013, Braun et al., 2011 y Rees Clayton et al., 2011).

Estudios en Humanos		
Efectos del BPA en la reproducción adulta.	En Boston, EE.UU., se estudiaron 137 mujeres que se sometieron a 180 ciclos de Fertilización In Vitro (FIV) para investigar el vínculo entre el BPA y los resultados reproductivos al principio del proceso de FIV.	Aumentaron las probabilidades de fracaso de la implantación con los cuartiles más altos de los cuartiles de BPA en orina ( $2^{\circ}=1.02$ , $3^{\circ}=1.60$ y $4^{\circ}=2.11$ ) y una sugestiva asociación de respuesta a la dosis con la falla de la implantación.
Efectos neurológicos, del neurodesarrollo y neuroendocrinos	Se estudiaron 244 madres y sus hijos de 3 años para caracterizar las exposiciones al BPA prenatal e infantil mediante el uso de las concentraciones medias totales de BPA (no conjugado más conjugado). Los autores se centraron en seis subescalas: agresión, atención, hiperactividad, depresión, ansiedad y somatización.	El estudio encontró que cada aumento de 10 veces en la concentración de BPA prenatal se asoció con un comportamiento defectuoso principalmente en las niñas. Resultados: escala de ansiedad todos: $\beta = 7.0$ (IC del 95%: 1.7, 12), solo niñas: $\beta = 12$ (IC del 95%: 4.7, 20). Resultados Escala de depresión: todos: $\beta = 4.9$ (IC del 95%: 0.0, 9.9), solo niñas: $\beta = 11$ (IC del 95%: 3.6, 18).
Efectos inmunes	Posibles asociaciones de los niveles de BPA en orina con los niveles de anticuerpos contra el citomegalovirus (CMV) en suero y el diagnóstico de alergias o fiebre del heno en adultos y niños estadounidenses > 6 años de edad (n = 3728).	Los modelos estadísticos se estratificaron por edad (<18 años y $\geq 18$ años), los niveles de BPA en orina más altos se asociaron con títulos de anticuerpos contra CMV más altos (p < 0,001). En el grupo de edad <18 años, niveles más bajos de BPA se asociaron con títulos más altos de anticuerpos contra CMV (p < 0.05).
Efectos cardiovasculares	Se estimaron las asociaciones entre la exposición al BPA evaluada en la orina puntual y la aterosclerosis coronaria graduada angiográficamente en 591 pacientes en Reino Unido.	La concentración media de BPA en orina (no ajustada) fue de $1.28 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ en pacientes con arterias coronarias normales y de $1.53 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ en pacientes con EAC grave. La concentración urinaria de BPA fue significativamente mayor en aquellos con EAC grave (n = 385) (OR por uBPA SD = $5.96 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).

**Tabla 5 Efectos del BPA en el Ser Humano** (Melzer et al., 2012, Bhandari et al., 2013 y Duan et al., 2013).

Estudios en Humanos		
Efectos metabólicos	Se examinó la asociación transversal entre el BPA urinario y la obesidad en niños de 6 a 18 años (n = 2200). La exposición primaria fue el BPA urinario y el resultado fue la obesidad, definida como el percentil $\geq 95$ del índice de masa corporal específico para la edad y el sexo.	Se observó una asociación positiva entre los niveles crecientes de BPA en orina y la obesidad. La asociación positiva observada estuvo presente predominantemente en niños (Razón de probabilidad de 3.80, IC del 95%: 2.25, 6.43 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) y en blancos no hispanos (Razón de probabilidad de 5.87, IC del 95%: 2.15, 16.05 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).
Carcinogenicidad	Se compararon las concentraciones urinarias de BPA en 243 pacientes masculinos y femeninos con diagnóstico de meningioma confirmado por neurorradiología con las de 258 controles sanos emparejados que se sometieron a exámene en Wuhan, China.	Asociación positiva entre el aumento de las concentraciones de BPA en muestras de orina y el meningioma. En comparación con el cuartil 1, la razón de posibilidades ajustada multivariante del meningioma asociado con el cuartil 4 fue 1.45 (IC del 95%, 1.02–1.98) (tendencia de $p = 0.03$ ).
Estudios de cultivo celular sobre los efectos epigenéticos del BPA	Efecto del BPA (0,25 a 25 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ de BPA durante seis días (medio refrescado los días 2 y 4) en microARN (miARN) en células placentarias humanas.	El análisis reveló que varios miARN se alteraron significativamente en respuesta al tratamiento con BPA en dos líneas celulares (3A y HR-8). Los resultados de la PCR confirmaron que miR-146a se indujo de manera particularmente fuerte y su sobreexpresión en las células condujo a una proliferación más lenta.

## 2.11 Tecnologías de tratamiento para el Bisfenol A.

Teniendo en cuenta que el agua es uno de los principales medios donde se deposita el BPA como residuo de procesos industriales y de desecho, es necesario desarrollar sistemas para tratamientos de agua y purificación de esta. En la práctica, la aplicación de estos métodos de tratamiento debe tener en cuenta tanto la naturaleza como las propiedades fisicoquímicas de las aguas o efluentes a tratar. Sin embargo, en algunos casos estos procedimientos resultan inadecuados para alcanzar el grado de calidad requerido por ley o por el uso posterior del efluente

tratado. Es el caso de las tecnologías utilizadas para la separación de sustancias orgánicas del agua tratada, las cuales, están basadas en procesos de adsorción con carbón activado o por arrastre con aire. Esto implica que dichos procesos sólo transfieren los contaminantes de su fase acuosa a otra que resulta también contaminada, por lo tanto, el problema persiste. Este problema ha generado la necesidad de implementar nuevos procesos para tratar compuestos no biodegradables (Méndez et al., 2017).

Para el tratamiento de aguas residuales que contienen BPA, se pueden utilizar distintas combinaciones de tratamientos biológicos y fisicoquímicos, los cuales se describen brevemente a continuación.

#### 2.11.1 Tratamiento fotocatalítico

Procesos fotocatalíticos de oxidación avanzada (AOP)

- Fotólisis
- Fotocatálisis
- Ozonización
- Sonólisis
- Radiólisis
- Electrólisis
- Reacciones con  $H_2O_2$

Los parámetros principales evaluados en los métodos electroquímicos son:

- Fotocatalizador
- Semiconductor
- Fuente de luz
- Compuesto oxidante

Ventajas

- Una muestra con varios contaminantes puede tratarse completamente sin selectividad.
- Degradación de antibióticos, herbicidas y tintes.

- Requisitos de equipo simple y alta eficiencia.

#### Desventajas

- En el semiconductor transportar los electrones de vuelta a la banda de valencia.
- La formación de pares de electrones vacíos disminuye la eficiencia de degradación.

**Tabla 6** Degradación de algunos antibióticos por el tratamiento de fotocatalisis (Méndez et al., 2017)

Familia o Grupo	Compuesto	Condiciones experimentales	Eficiencia de remoción [%]	Comentarios
Cefalosporina	Ceftiofur	Nanopartículas de oro cargadas TiO <sub>2</sub> (Au-TiO <sub>2</sub> ), UV-visible y Visible, 2horas.	95% UV 65% Vis	Efectos de TiO <sub>2</sub> <5% CFS degradación en luz visible.
Aminoglucósidos	Amikacina	Nanocinturones de TiO <sub>2</sub> (NBs) preparados por anodización y calcinación. Irradiación solar simulada, 150min, para los NBs de TiO <sub>2</sub>	70%	Degradación fotocatalítica de amikacina se adapta a la pseudo cinética de primer orden.
Cefalosporina primera generación	Cefazolina	Suspensiones de TiO <sub>2</sub> dopadas y sin dopar bajo irradiación UV y solar, 60 minutos.	53% UV/TiO <sub>2</sub> 76% (50 min) 80% de cefazolina removida en 30 minutos.	Degradación de cefazolin producida a través de la división intramolecular.
Penicilina	Amoxicilina	TiO <sub>2</sub> reconstruido con nitrato de carbono (C <sub>3</sub> N <sub>4</sub> ) y plata (Ag) para formar un ternario (C <sub>3</sub> N <sub>4</sub> )-Ag/TiO <sub>2</sub> . Luz visible	Significativamente alto	Amoxicilina (AMX) es un contaminante fotosensible deficiente pero se degradó a la velocidad más alta.
Penicilina	Amoxicilina	TiO <sub>2</sub> /Ge compuesto bajo radiación ultravioleta-A	91.60%	—

## 2.11.2 Tecnología Electroquímica

### Métodos electroquímicos de oxidación avanzada (EAOPs)

- Oxidación anódica
- Eletro-Fenton
- Foto-Electro-Fenton
- Solar-Foto-Electro-Fenton
- Sono-electroquímica

Los parámetros principales evaluados en los métodos electroquímicos son:

- Corriente
- Aplicación de potencial
- Naturaleza del material del electrodo
- Concentración del electrolito

### Ventajas

- Fácil operación
- Seguridad
- Bajo costo
- Tiempos cortos de retención comparado con los métodos convencionales.
- Compatibilidad ambiental
- Versatilidad
- Potencial para un alto grado de automatización

### Desventajas

- Para que sea económico se debe optimizar el consumo de corriente eléctrica, lo cual implica un periodo largo de tiempo.

Los métodos electroquímicos pueden alcanzar más de un 99% de degradación para algunos antibióticos mostrados en la Tabla 7. Sin embargo, el porcentaje depende de la naturaleza de electrodo utilizado.

**Tabla 7** Degradación de algunos antibióticos por tratamientos electroquímicos en aguas residuales (Méndez et al., 2017).

Familia o Grupo	Compuesto	Condiciones experimentales	Eficiencia de remoción [%]	Comentarios
Sulfonamidas	Sulfametoxazol	Concentración: 0.0208 nM Ánodo: BDD Cátodo: Filtro de carbono pH:3 Sistema:Celda de vidrio pequeña, abierta y cilíndrica.	94%	Se necesito menos tiempo para la remoción de SMX a una corriente más alta.
Quinoles Fluoroquinolones	Ciprofloxacina	Concentración: 0.245 mM Electrolito: en 0.05 M Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a pH:3 Oxidante:H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> electrogenerado en el lugar. Electrodo:BDD o ánodo de Pt. Sistema: Reactor de tanque agitado.	96%	Proceso con ánodo de BDD operando a 66.6 mA cm <sup>-2</sup> durante 360 min, removió en su totalidad el Carbón orgánico disuelto.
Sulfonamidas	Trimetroprima	Sistema: Célula electrolítica por lotes no dividida. Ánodo: Ti/IrO <sub>2</sub> -Ta <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -SnO <sub>2</sub> Cátodo: Placa de Titanium.  Concentración:20 mg L <sup>-1</sup> Fe <sup>2+</sup> Densidades: 5mA cm <sup>-2</sup> Ánodo:BDD Cátodo:Carbón Temperatura:25°C pH:3.5	99%       73%	El procesos de Osmosis con la función de la oxidación electroquímica demostró una excelente degradación de trimetroprima después de 60  El poder relativo de EAOPs para degradar la solución de trimetroprima aumentó por la fotólisis UV de FeOH <sup>2+</sup> fotoactivo.
Antibióticos Penicilinas	Clorotetraciclina	Concentración: 80 mg de CTC. Sistema:Célula electroquímica constituida por dos ánodos (Ti/IrO <sub>2</sub> )y dos cátodos (Ti/PbO <sub>2</sub> ). Electrodo de referencia: Ag, AgCl.	96%	Ti/PbO <sub>2</sub> fue determinado como el mejor material anódico, operando a una intensidad de 2.0 A durante 49 min a 14°C.

### 2.11.3 Biocatálisis

El reto actual es desarrollar herramientas biotecnológicas que formen parte de procesos limpios y eficientes energéticamente para la prevención, el control y la remediación de la contaminación ambiental, es imperativo que las transformaciones enzimáticas o microbiológicas de dichos contaminantes, conlleven a la reducción o eliminación de su impacto ambiental (Valencia, 2007), se han explorado diversas fuentes de enzimas en la naturaleza. Las enzimas son proteínas especializadas en la catálisis de las reacciones biológicas. Como todos los catalizadores, las enzimas disminuyen la energía de activación, es decir, disminuyen la cantidad de energía necesaria para llevar las moléculas a un estado de transición en la cima de la barrera de activación, sin alterar los parámetros termodinámicos como el cambio de energía libre de la reacción o la constante de equilibrio químico. Las reacciones catalizadas por las enzimas son de  $10^3$  a  $10^{20}$  veces más rápidas que las mismas sin catalizar (Valencia, 2007).

El éxito de las enzimas como catalizadores industriales se debe a las características que presentan en el proceso catalítico:

- Son altamente eficaces y específicas, ya que poseen gran poder catalítico y un elevado rendimiento, no forman subproductos indeseados y tienen la capacidad de reconocer un sustrato, incluso sus isómeros.
- Funcionan en condiciones suaves a presión atmosférica, temperatura ambiente y pH neutro (Yang et al., 2013).
- Son biodegradables, su uso no requiere equipos resistentes a presión, calor o corrosión, ahorrando dinero y energía; pueden sustituir o reducir la utilización de sustancias químicas contaminantes en distintos tipos de industrias y se producen ecológicamente a partir de organismos vivos y nutrientes naturales, por lo que los procesos enzimáticos son considerados como sustentables.

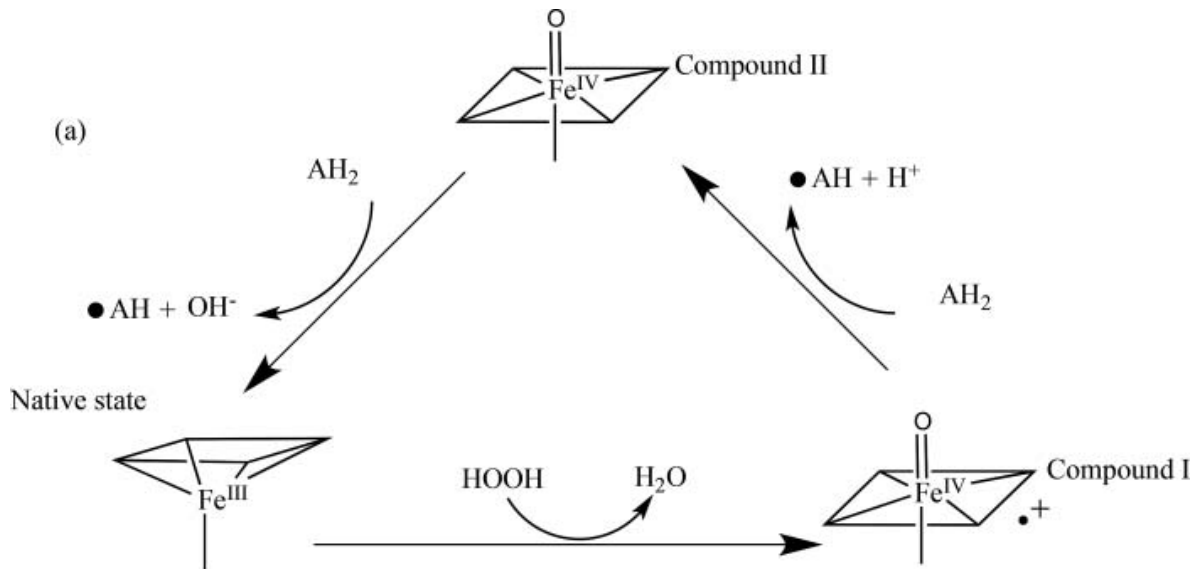
Esto ha hecho de las enzimas catalizadores muy atractivos para su empleo en diversas áreas industriales:

- Textil

- Industrias del cuero y piel
- Papelera
- Aceites y grasas
- Zumos y viticultura
- Cervecera

#### 2.11.3.1 Aplicación Ambiental

Para este rubro se encuentran las peroxidasas y las lacasas, que son enzimas oxidativas, útiles para catalizar la oxidación de compuestos contaminantes de familias aromáticas (Torres, Eduardo; Méndez Albores, 2019). En los organismos estas enzimas tienen diversa variedad de funciones, desde defensivas, de protección antioxidante, de síntesis y de degradación (Dunford, 1999). Las lacasas son las enzimas oxidorreductoras que se utilizan ampliamente en diversas aplicaciones industriales debido a sus propiedades biocatalíticas únicas de fácil disponibilidad, alta estabilidad y especificidad de sustrato de amplio espectro. Estas enzimas pueden oxidar una amplia gama de contaminantes, como aromáticos, anilinas, tintes contaminantes, fenoles, etc. Varios estudios han utilizado reacciones catalizadas por enzimas homogéneas basadas en lacasas para la biotransformación y biodegradación del BPA de las aguas residuales. Para el caso de las peroxidasas, éstas poseen un grupo hemo, el cual es el centro activo de la catálisis. En la Figura 14 se muestra el mecanismo biocatalítico de la oxidación por la peroxidasa. El grupo hemo se encuentra unido a la proteína sólo por interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno, dentro de un canal de accesos que permite el ingreso de moléculas a oxidarse; como su nombre lo indica, las peroxidasas usan peróxido de hidrógeno como agente oxidante.

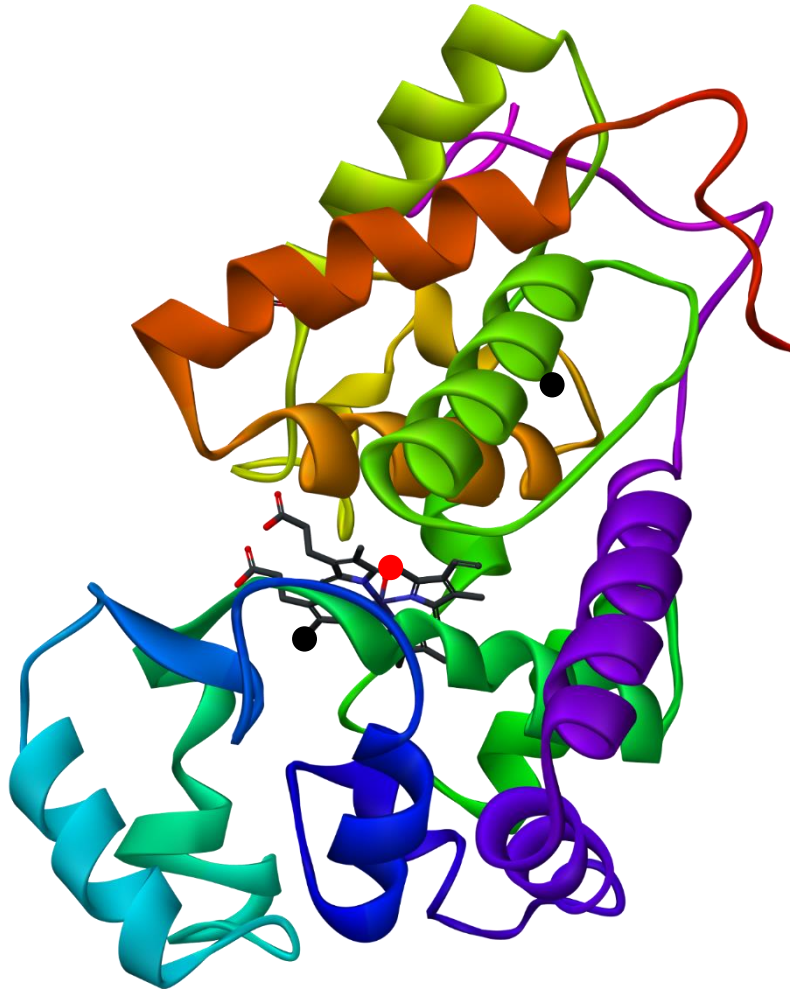


**Figura 14** Representación esquemática del mecanismo de reacción de la peroxidasa (Torres, Eduardo; Méndez Albores, 2019).

Las enzimas oxidativas tienen potencial de ser aplicables como parte de métodos de tratamiento ambiental novedoso dadas las altas conversiones y la disminución importante de la toxicidad.

## 2.12 Degradación de contaminantes emergentes asistida por HRP.

En la Figura 15 se muestra la estructura tridimensional de la peroxidasa de rábano picante el grupo hemo está en el centro de la enzima que se muestra en negro con el átomo de hierro como la esfera roja. Los dos átomos de calcio son esferas negras y se encuentran dentro de las regiones helicoidales de la enzima con una en la región distal y una en la región proximal. Las regiones de la enzima  $\alpha$ -Helicoidal y  $\beta$ -laminar se muestran como las estructuras helicoidales multicolores. Según Veitch "Cada sitio de calcio tiene siete coordenadas con ligandos donadores de oxígeno proporcionados por una combinación de carboxilatos de cadena lateral de aminoácidos (Asp), grupos hidroxilo (Ser, Thr), carbonilos del esqueleto y una molécula de agua estructural (solo en el sitio distal). Tanto el grupo hemo como los átomos de calcio son cruciales para que la enzima funcione correctamente" (Berglund et al., 2002).



**Figura 15** Peroxidasa de rábano (Rivas Almagro Gabriel, 2016).

En otro estudio, la enzima de HRP fue covalentemente inmovilizado en 3-aminopropiltriétoxissilano recubierto de sílice funcionalizado, nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  que usan glutaraldehído como agente de acoplamiento. Los catalizadores resultantes mostraron una mayor durabilidad y resistencia a variación de pH y calentamiento en comparación con el derivado enzimático libre. Además, la enzima de HRP inmovilizada degradó efectivamente el 2,4-diclorofenol con una eliminación máxima del 80% después de 3 h, indicando un alto potencial para la eliminación de contaminantes orgánicos de las aguas residuales (Chang & Tang, 2014).

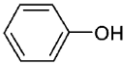
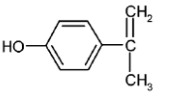
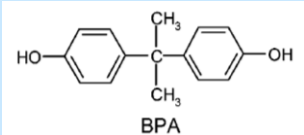
La reciclabilidad de HRP incrementó significativamente y el resultado de inmovilización en un sistema biocatalítico perseveró un 70% de actividad preliminar después de 10 lotes reutilizados consecutivamente (Llorens-Blanch et al., 2015).

La enzima HRP cuenta con una notable resistencia a las variaciones de pH, la inmovilización biocatalítica demostró un 90% de su actividad en comparación a la enzima libre, la cual demostró un 60% de actividad después de 2 hrs a 40°C. Finalmente mostró una eficiencia de remoción del 100% incluso con altas concentraciones de fenol (López-Fernández et al., 2012).

La eficiencia de biodegradación de HRP para fenoles con grupos electro-donantes fueron observados por duplicado siguiendo la inmovilización de nano esferas de carbón (Bilal, Adeel, et al., 2019). La inmovilización biocatalítica de HRP desempeña un excelente rendimiento para la eliminación de una gran variedad de compuestos fenólicos de una solución acuosa, particularmente **bisfenol A**, cloro fenoles y 4-metoxifenilo.

Un estudio describe los comportamientos y mecanismos de transformación de las conversiones de bisfenol A en sistemas de reacción de acoplamiento oxidativo mediados por peroxidasa de rábano picante (HRP) libre. Se identificaron un total de 13 productos intermedios de reacción y productos utilizando técnicas de LC / MS y GC / MS. La eficacia de la reacción a niveles de concentración bajos se demuestra mediante un procedimiento analítico sensible que implica extracción en fase sólida y que tiene un límite de detección de 0.4 nM. En dicho estudio se buscó identificar productos formados en las reacciones BPA mediadas por HRP utilizando técnicas GC / MS y LC / MS. Los productos en fase sólida se caracterizaron mediante LC / EM. Las tablas 8 a 10 representan una lista exhaustiva de todas las especies que se pueden identificar utilizando la técnica respectiva.

**Tabla 8** Caracterización por GC/MS de extractos por extracción de fase sólida (SPE) de muestras en fase de solución tomadas después de 1 minuto de reacción (Huang & Weber, 2005).

Tiempo de retención (GC min)	Especie asignada
11.3	 Phenol
16.5	 4-isopropenylphenol
30	 BPA

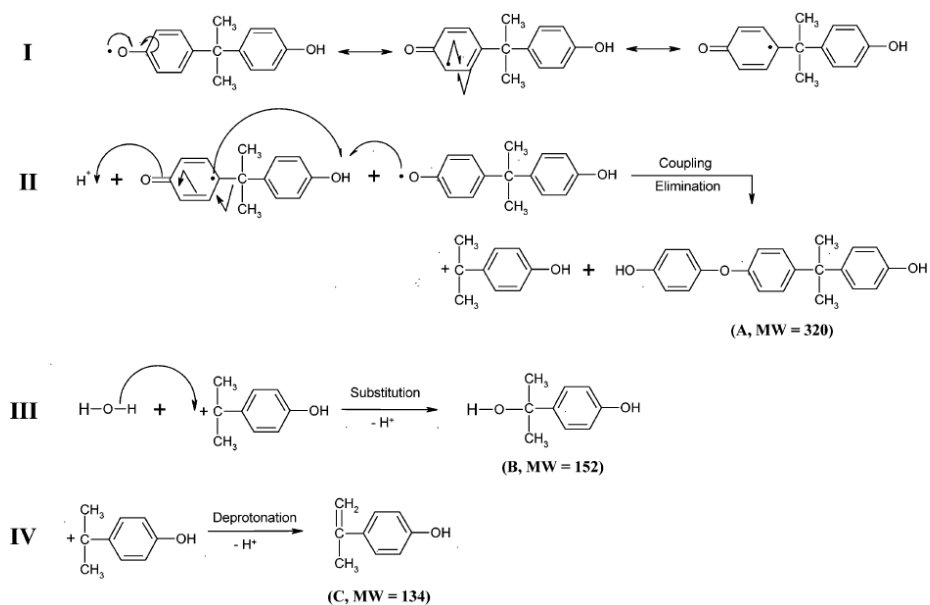
**Tabla 9** Caracterización por LC/MS de extractos de SPE de muestras en fase de solución tomadas después de 1 minuto de reacción (Huang & Weber, 2005)

Tiempo de retención (LC min)	Posible vía de formación	Posible especie
5.2	III	B
9.8	IV	C
14.5		BPA
21.9	V	D
25.9	III	A
26.9	VII, VIII o acoplamiento BPA	Dímero F, G o BPA.
29.4	Acoplamiento entre C y BPA	Oligómero (BPA+C)
33.1	VII, VIII o acoplamiento BPA	E
35.8	Acoplamiento entre D y BPA	Oligómero (BPA+D)

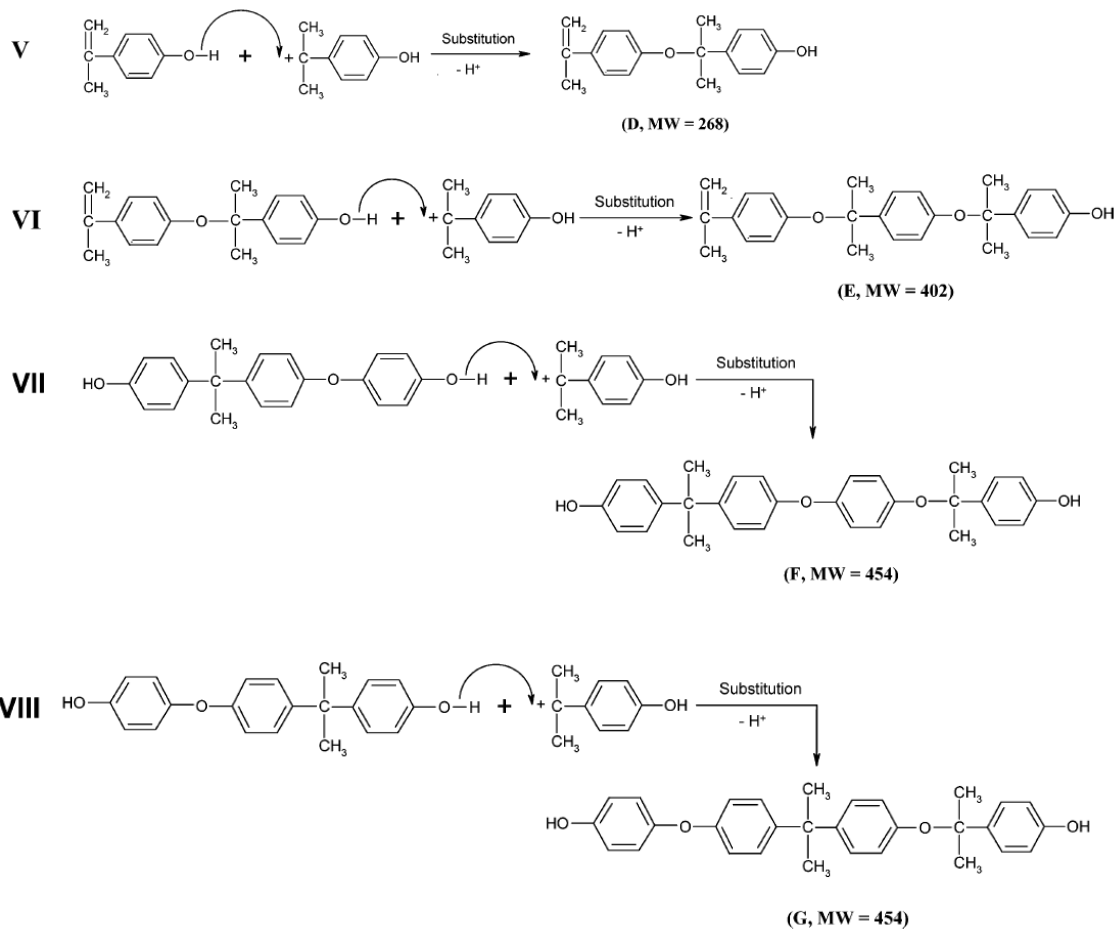
**Tabla 10** Caracterización por LC / MS de extractos en disolventes de muestras de precipitado tomadas después de 1 minuto de reacción (Huang & Weber, 2005)

Tiempo de retención (LC min)	Posible especie
26.9	Dímero F, G o BPA
28.1	Trímero u oligómeros de BPA (BPA + F o G)
34.9	Dímero E, F o BPA
44.8	Oglímero (BPA+A)
50.4	Trímero u oligómeros de BPA (BPA + F o G)
55.8	Trímero u oligómeros de BPA (BPA + F o G)

Los números griegos y las letras del alfabeto inglés, respectivamente, indican vías de reacción y especies químicas que se muestran en las Figuras 16 y 17.



**Figura 16** Vías de formación y posibles especies (Huang & Weber, 2005).



**Figura 17** Vías de transformación y posibles especies (Huang & Weber, 2005)

Finalmente, en la Tabla 11, se muestra **una actualización reciente** de la degradación de BPA por la inmovilización de HRP en diferentes materiales de soporte.

**Tabla 11** Estudios de degradación en Bisfenol A por peroxidasa de rábano (Bilal; Adeel et al., 2019 y Bilal; Iqbal et al., 2019).

Tratamientos de oxidación enzimática en BPA.				
Enzima	Recurso enzimático	Compuesto	Condiciones experimentales	Resultados
Peroxidasa	<i>Coprinus cinereus</i>	BPA	pH óptimo de 9 a 10 T=40 ° C H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /BPA molar = 2.	Toxicidad aguda y actividad estrogénica de BPA fueron completamente eliminadas.
HRP	<i>Horseradish</i>	BPA	pH 7.0 T=40 ° C BPA <sub>inicial</sub> = 0.01 Mm	BPA transformado/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> molar = 0.46
HRP	<i>Horseradish</i>	BPA	HRP inmovilizada = 0.5 U / ml Potencial aplicado 1.6 V pH 5, T= 25 ° C flujo de O <sub>2</sub> =25 mL / min .	El BPA se eliminó un 80.3%

### 2.12.1 Limitaciones

Dos factores limitan la aplicación a gran escala de las enzimas: su actividad y, sobre todo, su estabilidad en condiciones de procesos. Las peroxidases y en general la hemoproteína se inactivan en la presencia de un exceso de sustrato, el peróxido de hidrógeno, o en ausencia de un sustrato reductor (por ejemplo, un contaminante). Por medio de un diseño racional y mutaciones específicas se ha podido obtener un biocatalizador estable a las condiciones de reacción.

### 2.13 Filtración por membrana

Las tecnologías basadas en filtración por membrana son procesos en los cuales se utiliza como medio filtrante de superficie una membrana, son utilizadas para aplicaciones de separación, purificación de agua procesada y efluentes o con el propósito de concentrar compuestos de valor agregado o reducir el número de contaminantes para las diferentes actividades industriales que entran en el ambiente (Luo et al., 2014). En cuanto a los contaminantes emergentes, un ejemplo de los procesos basados en membranas son los biorreactores de membrana (RBM), los cuales cuentan con los siguientes beneficios:

- 1) Los sistemas trabajan altos tiempos de retención hidráulicos (TRH) y altas concentraciones de biomasa, las cuales mejoran la biodegradación del contaminante y reducen los tiempos de retención de lodos (TRL) (Llorens-Blanch et al., 2015).
- 2) El uso de membranas brinda una mejor capacidad de desinfección, compacidad, y ofrece una gran flexibilidad de operación, la cual permite una calidad constante en el agua tratada durante las variaciones de carga y flujo (Duan et al., 2013).
- 3) Los RBM retienen sólidos suspendidos así que otros contaminantes atrapados por los flóculos de lodos son efectivamente retenidos (Méndez et al., 2017).

El ensuciamiento de la membrana es una desventaja inevitable cuando las membranas se aplican al tratamiento de aguas residuales. Este efecto normalmente se confirma por la disminución del flujo de permeado con el aumento de los tiempos de procesamiento. El ensuciamiento puede ser una consecuencia de formación de torta y puede derivarse del bloqueo de poros o incluso la bio-incrustaciones (Méndez et al., 2017). Otro inconveniente principal de los procesos de membranas es que durante la filtración pueden concentrar a los contaminantes hasta formar residuos sólidos.

**Tabla 12** Sistemas de filtración por membrana para la eliminación de BPA (Zhang et al., 2006, Chen et al., 2008, Ruíz et al., 2012, Acero et al., 2017).

Método de eliminación	Condiciones de trabajo	Observaciones
Tecnología de membranas: nanofiltración	pH= 5,6 ;T=20 °C, [BPA] <sub>0</sub> = (1, 5,10) ppbP=(5·10 <sup>5</sup> -20·10 <sup>5</sup> ) Pa. Membrana: Desal 5kD. Rporo=0.47 nm, Pmax=: 400·10 <sup>5</sup> Pa.	Retención del BPA mayor del 90% al inicio de la filtración. El coeficiente de retención observado disminuye un 50% cuando se satura la membrana.
Lodos activados (LA) y biorreactor de membrana (MBR)	[BPA] <sub>0</sub> = (0.1-80) mg/L Volumen de LA: 24.8 L Volumen de MBR: 10 L	MBR consigue eliminar 90% de BPA.
Tecnología de membranas: nanofiltración	[BPA] <sub>0</sub> = (1.45·10 <sup>-10</sup> M) @60°C, P=(250-830)kPa Membrana:NF270 Flujo operación: 87 L/m <sup>2</sup> ·h	La eficiencia de remoción fue de un 91.8%
Ultrafiltración micelar mejorada	[KET,HYD,DIC] <sub>0</sub> =(0.5 mg·L <sup>-1</sup> ) [CPC] <sub>0</sub> =5 mM,T= 20°C, P=(3 bar), pH=7.9 Membrana:PT, Flujo de operación= (40-70 L·/h·m <sup>2</sup> ) Vol = 300mL , Tporo=5 kDa	Retención de ketorolaco, hidroxifenilo y diclofenaco fue de un 98.7%

### 3 Metodología

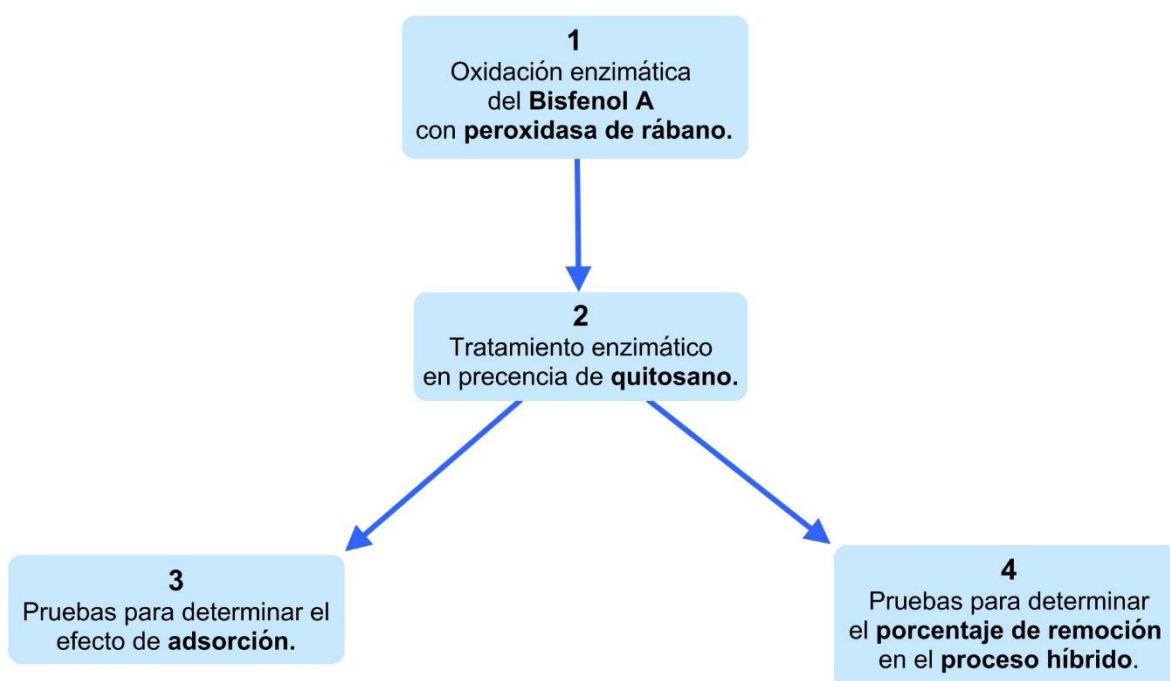
#### 3.1 Materiales

Los materiales que se utilizarán para la preparación de las diferentes soluciones sintéticas son: bisfenol A ≥99% (Sigma-Aldrich Chemistry), peroxidasa de rábano ≥250 unidades·mg<sup>-1</sup> sólido (Sigma-Aldrich Chemistry), fosfato de sodio monobásico ≥98% (Karal), fosfato de sodio dibásico 100% (J.T Baker), quitosano de bajo peso molecular (Sigma-Aldrich Chemistry) y peróxido de hidrógeno al 30% (Sigma-Aldrich Chemistry). El equipo utilizado durante la investigación fue: celda de filtración (EMD Milipore UFSC05001 5122 celda de agitación Amicon Modelo 8050,

50 mL para filtros de 44.5 mm;  $1 \cdot \text{Pk}^{-1}$ ), membrana de celulosa regenerada (Amicon Bioseparations) tamaño de poro 1 kDa, espectrofotómetro UV-Visible y sus celdas de cuarzo (VARIAN Cary 50) y centrífuga (HERMLE).

### 3.2 Métodos

En la Figura 18 se muestran un resumen del método experimental que se llevó a cabo durante la investigación en muestras sintéticas, con el propósito de determinar el efecto de cada proceso y el aporte de cada uno para la remoción del Bisfenol A.



**Figura 18** Metodología planteada (Elaboración propia, 2019).

#### 3.2.1 Oxidación enzimática del bisfenol A mediante peroxidasa de rábano.

Para poder determinar la capacidad oxidativa de la enzima peroxidasa de rábano hacia el Bisfenol A, se prepararon reacciones preliminares con BPA a 0.1 mM, peróxido de hidrógeno a 1 mM y amortiguador a diferentes pH: 4,5 y 7, lo cual permitió fijar el medio en el que la oxidación de BPA se desarrollara mejor, se

agregó la enzima a una concentración de  $1.4 \times 10^{-5}$  mM, después y antes de 24 horas de agitación se monitorearon los cambios de absorbancia en un intervalo de 200 nm a 400 nm de longitud de onda en el espectrofotómetro UV-Visible, se registraron los valores de absorbancia a 278 nm y 295 nm lo cual permitió cuantificar el porcentaje de oxidación utilizando la Ecuación 1.

$$\% \text{ de eliminación de BPA} = 1 - \left( \frac{(Abs_{278} - Abs_{295})_{t=24h}}{(Abs_{278} - Abs_{295})_{t=0h}} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación 1.}$$

El experimento control se llevará a cabo en ausencia del peróxido de hidrógeno, o ausencia de enzima para determinar posibles cambios de absorbancia debidos a otros efectos que no fueran la oxidación biocatalítica.

### 3.2.2 Determinación del efecto de adsorción por el quitosano.

Se determinó el efecto de adsorción por el quitosano en estado sólido y líquido hacia el bisfenol A. Para ello se preparará una solución de quitosano a una concentración de  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  de amortiguador de acetatos pH 4; para después añadirlo a una reacción con amortiguador de fosfatos pH 7 con una concentración de 60 mM y BPA a una concentración de 0.1 mM; para el caso del quitosano en estado sólido se prepararon reacciones con 100 mg y 500 mg.

Al final de la agitación de las reacciones durante 24 hrs, éstas se centrifugaron a 14000 rpm durante 5 minutos, y así evitar el ruido generado por el quitosano durante el análisis UV-visible en el espectrofotómetro, dicho proceso se aplicará en todas las muestras que contengan quitosano. Para cuantificar el porcentaje de adsorción se utilizó la **Ecuación 2**.

$$\% \text{ de Adsorción} = 1 - \left( \frac{(Abs_{Ads278} - Abs_{Ads295})_{t=24h}}{(Abs_{Ads278} - Abs_{Ads295})_{t=0h}} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación 2.}$$

### 3.2.3 Tratamiento enzimático del Bisfenol A en presencia de quitosano.

Se llevó a cabo la oxidación del bisfenol A con todos los componentes acoplando así oxidación + adsorción en volúmenes de 25 mL con BPA a 1mM,  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 1 mM,

amortiguador de fosfatos a 60 mM y HRP a  $1.4 \times 10^{-5}$  mM y 500 mg de quitosano. El porcentaje de oxidación+ adsorción se determinará de acuerdo con la **Ecuación 3**.

$$\% \text{ Oxidación + Adsorción} = 1 - \left( \frac{(Abs_{Ox+Ads\ 278} - Abs_{Ox+Ads295})_{t=24h}}{(Abs_{Ox+Ads278} - Abs_{Ox+Ads295})_{t=0h}} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación 3.}$$

### 3.2.4 Ultrafiltración

En esta parte se acopló el sistema híbrido, acoplando: Oxidación enzimática + Adsorción + Ultrafiltración.

Las condiciones de ultrafiltración serán las siguientes:

- Presión: 1 kg/cm<sup>2</sup>
- Velocidad de agitación: 100 rpm
- Membrana de celulosa con un tamaño de poro de 1 kDa

El porcentaje de remoción de BPA se determinó utilizando el principio de la **Ecuación 4**.

$$\% \text{ Remoción} = 1 - \left( \frac{(Abs_{Trat.híbrido\ 278} - Abs_{Trat.híbrido295})_{t=24h}}{(Abs_{Trat.híbrido278} - Abs_{Trat.híbrido295})_{t=0h}} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación 4.}$$

### 3.2.5 Diseño experimental.

Con el propósito de optimizar la remoción de BPA en el proceso híbrido se aplicó un diseño experimental  $2^3$ , es decir, se tendrán 3 variables del proceso a dos niveles, en 25 mL de volumen de reacción.

En la Tabla 13 se muestran las variables y sus niveles, obteniendo 8 combinaciones en Minitab, cada experimento filtró por duplicado obteniendo 16 experimentos en total.

**Tabla 13** Diseño experimental (Minitab, 2017).

LETRA	FACTOR	Nivel	
		BAJO[-1]	ALTO[1]
a	pH	6	7
b	Cant. Quitosano	250	500
c	Tiemp. de reacción	15	24

Combinaciones	pH	Quitosano	Tiempo de reacción
[1]	-1	-1	-1
a	1	-1	-1
b	-1	1	-1
ab	1	1	-1
c	-1	-1	1
ac	1	-1	1
bc	-1	1	1
abc	1	1	1

Después de la ultrafiltración se analizaron las muestras y se clasificaron de la siguiente manera:

- **Alimentación:** A tiempo cero de reacción.
- **Retenido:** lo que queda en la celda y no fue filtrado a 24 hrs de reacción.
- **Permeado:** Lo que se obtuvo después de filtrar a 24 hrs de reacción.

Se monitorearon las reacciones en el intervalo de 200 nm a 600 nm en el espectrofotómetro. Se registraron los valores obtenidos en las bandas de alimentación, retenido y permeado, consecuentemente utilizando las **Ecuaciones 5 y 6** se determinará el **porcentaje de remoción de bisfenol A del proceso híbrido** en el retenido y en el permeado.

$$\% \text{ Remoción Retenido} = 1 - \left( \frac{(Abs_{\text{Retenido}278} - Abs_{\text{Retenido}295})_{t=24h}}{(Abs_{\text{Alimentación}278} - Abs_{\text{Alimentación}295})_{t=0h}} \right) \times 100$$

**Ecuación 5.**

$$\% \text{ Remoción Permeado} = 1 - \left( \frac{(Abs_{\text{Permeado}278} - Abs_{\text{Permeado}295})_{t=24h}}{(Abs_{\text{Alimentación}278} - Abs_{\text{Alimentación}295})_{t=0h}} \right) \times 100$$

**Ecuación 6.**

### 3.2.6 Optimización de la presión en la ultrafiltración.

Al ensayo con mayor porcentaje de remoción a pH 7 que se obtuvo en el diseño experimental, se le aplicaron **diferentes presiones de ultrafiltración**, a las siguientes condiciones:

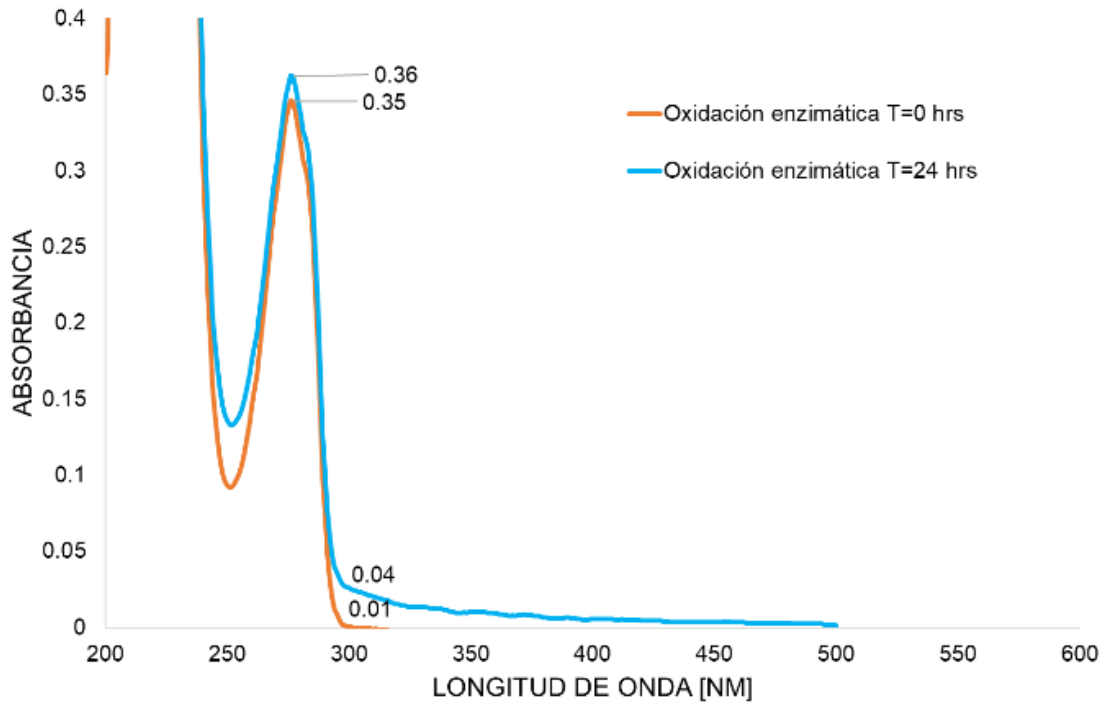
- Velocidad de agitación de 100 rpm
- Membrana de 1 kDa.
- Presiones de 1 kgf/cm<sup>2</sup> a 4 kgf/cm<sup>2</sup>

Se registraron los tiempos de filtración y los porcentajes de remoción se calcularon para cada ensayo utilizando las **Ecuaciones 5 y 6**.

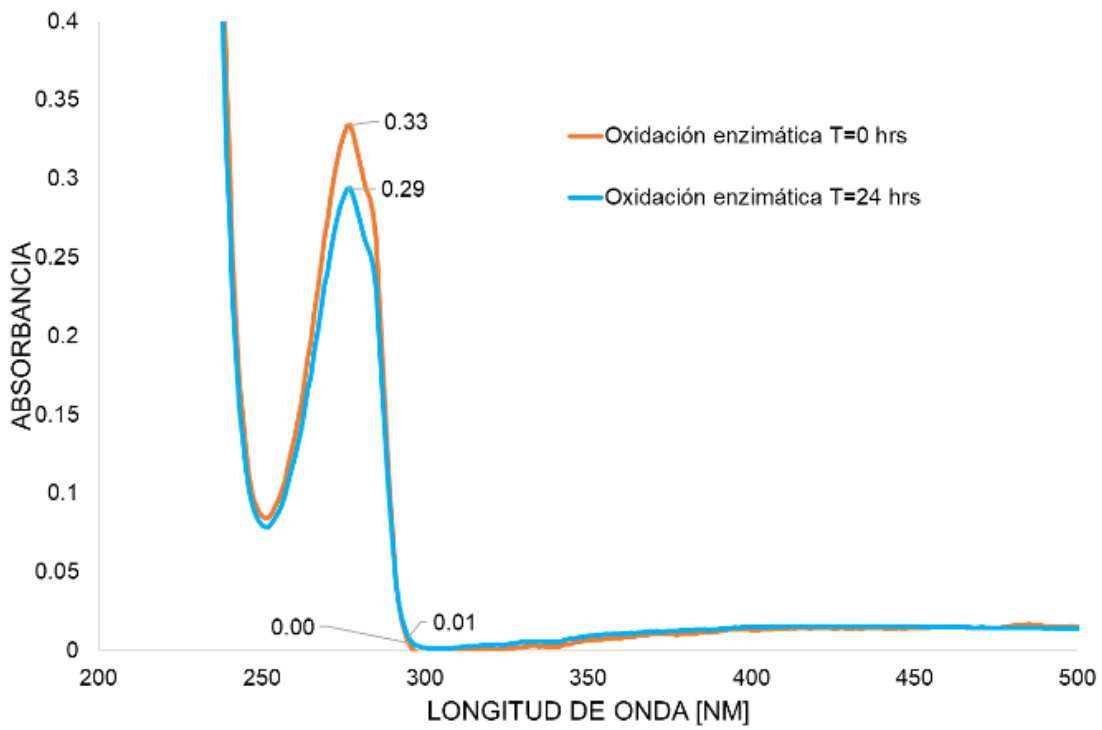
## 4 Resultados

### 4.1 Oxidación enzimática del Bisfenol A mediante la peroxidasa de rábano.

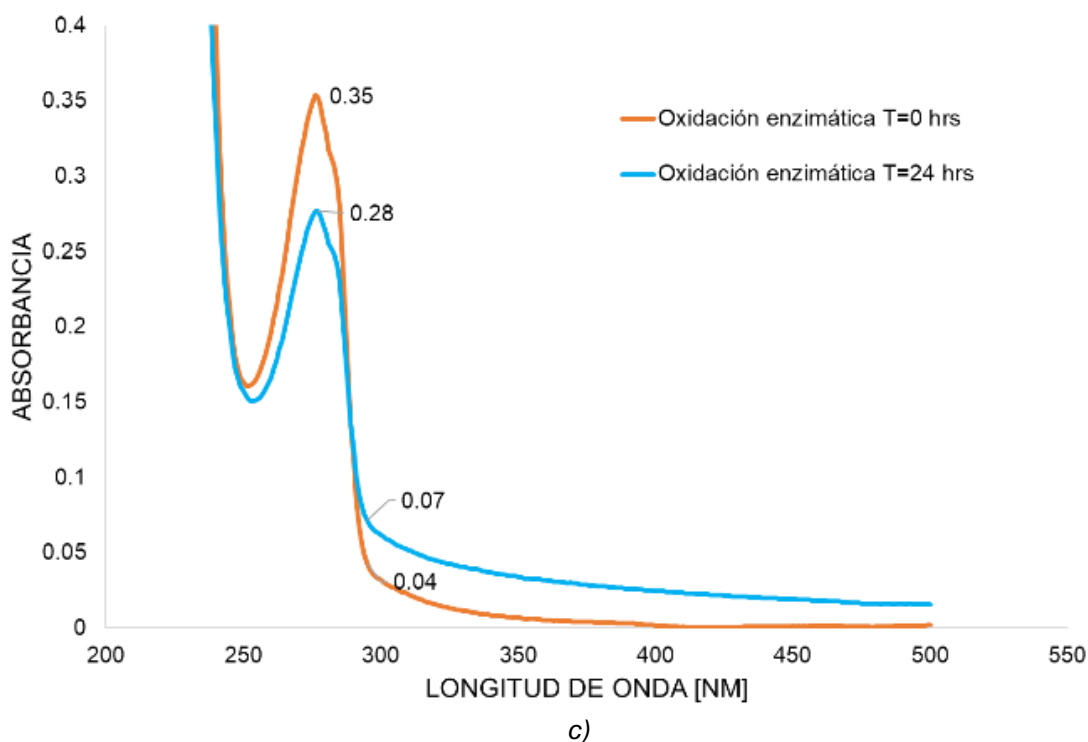
Se analizaron en el UV las muestras preparadas con BPA al tiempo cero y después de 24 hrs de reacción. Las señales del compuesto a estos tiempos y a diferentes pH se observan en la Figura 19, donde la banda anaranjada representa el tiempo cero y la azul después de 24 horas de reacción.



a)



b)



**Figura 19** Espectros de BPA a *tiempo cero* y *24 hrs de reacción* bajo las condiciones de a) pH4 b) pH5 y c) pH7 BPA = 0.1mM, HRP =  $1.4 \times 10^{-5}$ mM,  $H_2O_2 = 1$  mM y amortiguador de acetatos/fosfatos = 60 mM.

Los porcentajes de oxidación de BPA obtenidos se calcularon con la Ecuación 1, en la Tabla 14, se muestran los porcentajes de oxidación obtenidos en cada ensayo.

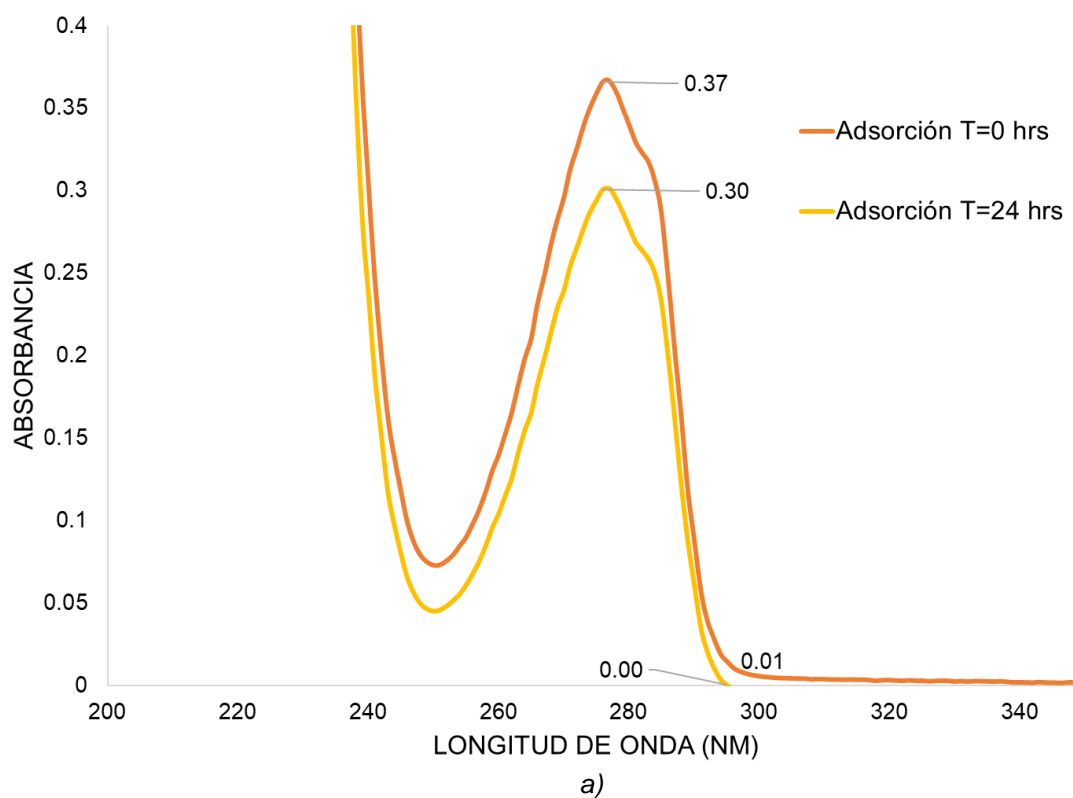
**Tabla 14** Porcentajes de oxidación obtenidos.

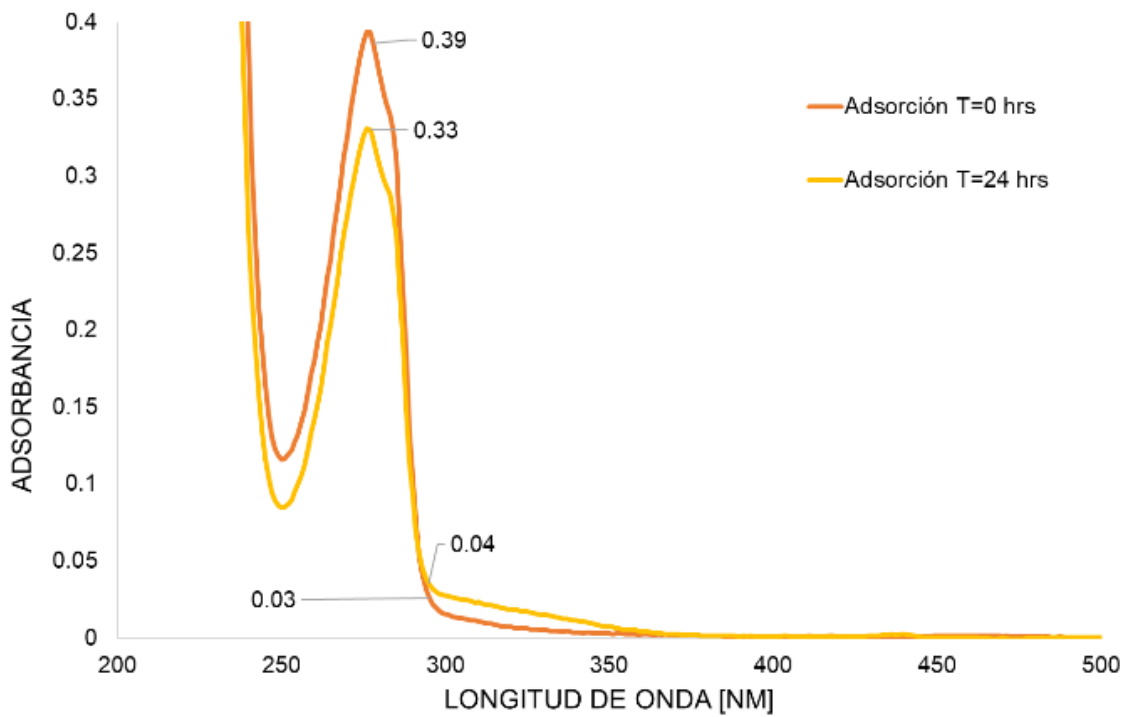
pH	% de oxidación
4	5.88
5	15.15
7	32.25

A partir de los porcentajes de reacción enzimática obtenidos se decidió trabajar las reacciones siguientes a un pH 7, siendo el medio en el que se obtuvo una mayor oxidación con la peroxidasa de rábano.

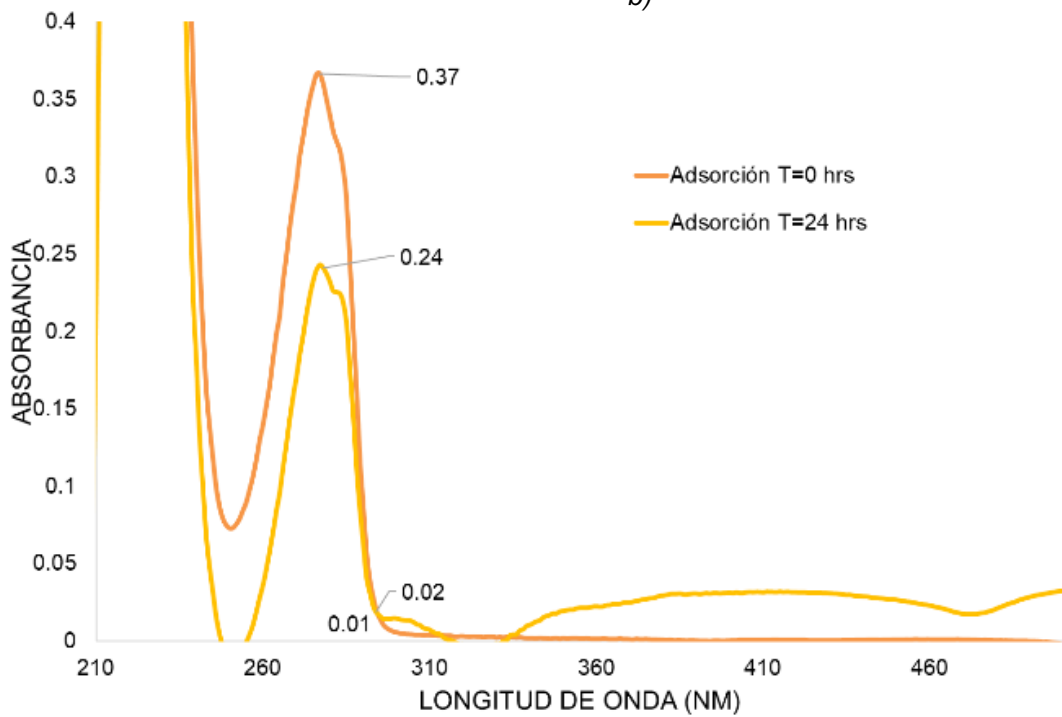
#### 4.2 Determinación del efecto de adsorción sin reacción enzimática.

Se determinó el porcentaje de adsorción aportado por el quitosano como único proceso. Los espectros obtenidos se muestran en la Figura 20 la banda de color anaranjado representa el efecto de adsorción en  $T = 0$  hrs y la banda de color amarillo el efecto de adsorción en  $T = 24$  hrs.





b)



c)

**Figura 20** Espectros de BPA a tiempo cero y 24 hrs de reacción bajo las condiciones a) quitosano diluido, b) 100 mg de quitosano y c) 500 mg de quitosano. BPA = 0.1 mM y amortiguador de fosfatos = 60 mM

El porcentaje de adsorción se cuantificó con la Ecuación 2, en la Tabla 15 se presentan los porcentajes de adsorción obtenidos para cada ensayo.

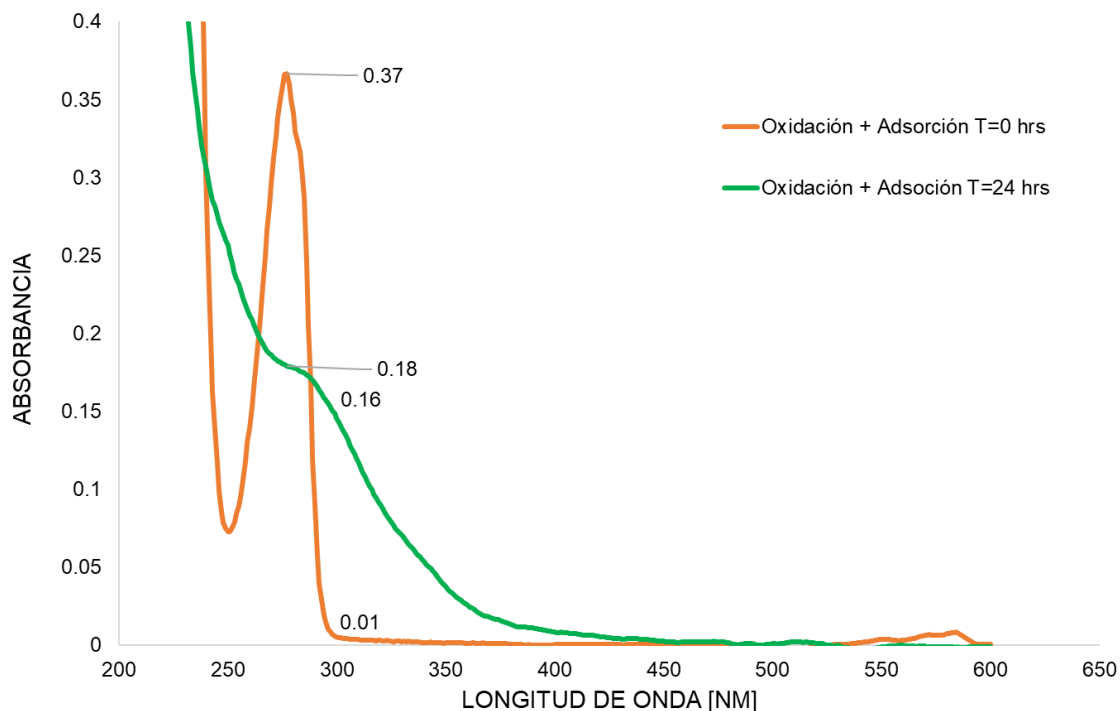
**Tabla 15** Porcentajes de adsorción obtenidos.

Quitosano	% de adsorción
0.1 mg/mL	16.66
100 mg	19.44
500 mg	38.88

A partir de los porcentajes de adsorción obtenidos se decidió trabajar con cantidades de quitosano mayores a 100 mg o iguales a 500 mg para las reacciones siguientes.

#### 4.3 Tratamiento enzimático en presencia del quitosano.

En esta etapa se acoplaron los procesos de oxidación y adsorción, agregando a la solución la peroxidasa de rábano y 500 mg de quitosano, después se llevó a cabo el análisis en el espectrofotómetro de UV-Visible para monitorear los cambios de absorbancia en la banda de BPA. En la Figura 21 se muestra de color anaranjado la banda en T = 0 hrs y de color verde la banda en T = 24 hrs.

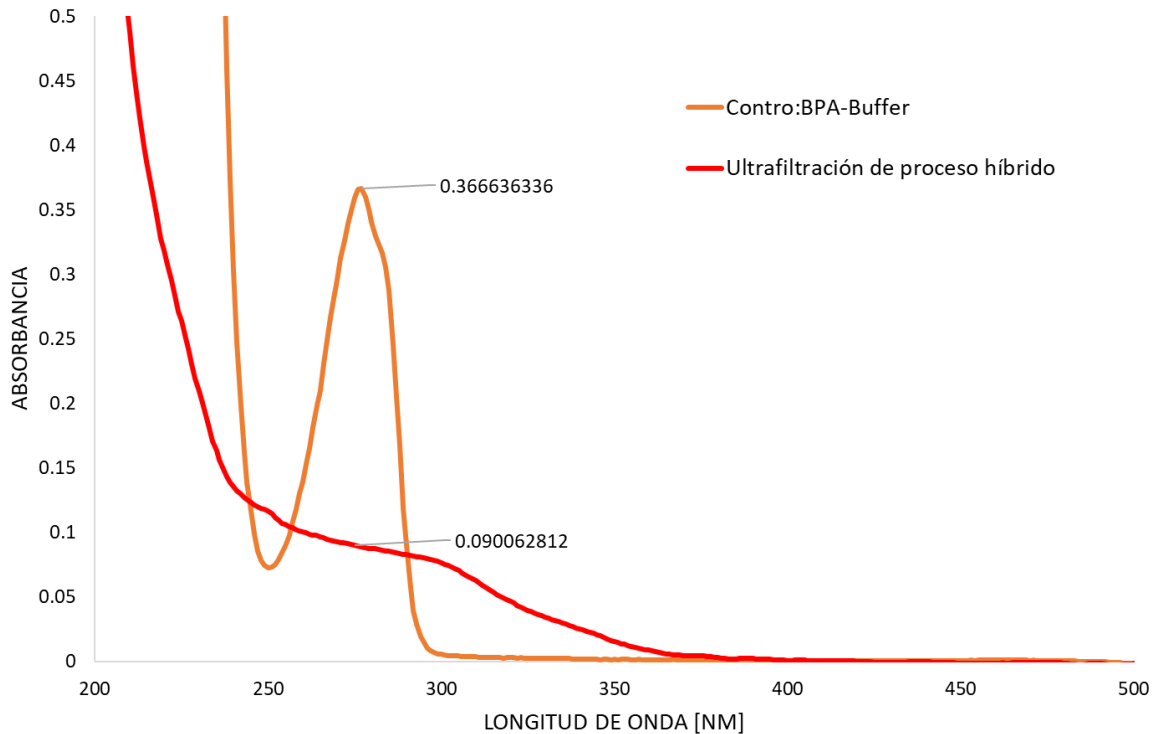


**Figura 21** Espectro de BPA a *tiempo cero* y *24 hrs de reacción* bajo las condiciones: quitosano = 500 mg, BPA = 0.1mM, HRP =  $1.4 \times 10^{-5}$  mM,  $H_2O_2$  = 1 mM, y amortiguador de fosfatos = 60mM.

El porcentaje de Oxidación + Adsorción se cuantificó con la Ecuación 3, el cual fue del **94.44%**, lo cual permitió demostrar que el acoplamiento de los procesos aumentó drásticamente la eliminación de BPA. La presencia del quitosano permite que no se desencadenen todas las posibles vías de reacción, así mismo no se obtienen todas las posibles especies como producto de la oxidación.

#### 4.4 Tratamiento híbrido.

En este tratamiento se determinó el porcentaje de remoción de BPA acoplando oxidación + adsorción + ultrafiltración; en la Figura 22 se muestran las bandas obtenidas después del análisis en el espectrofotómetro, de color anaranjado la banda en T = 0 hrs y de color rojo la banda en T = 24 hrs.

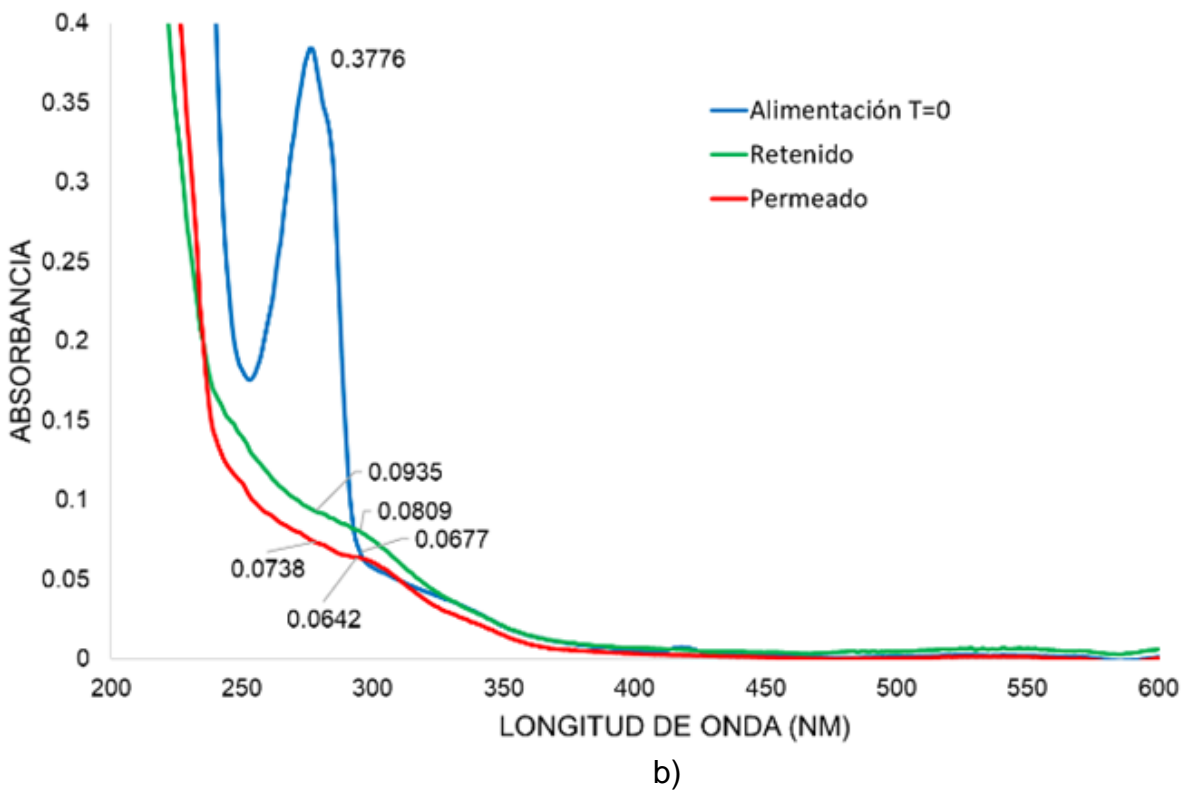
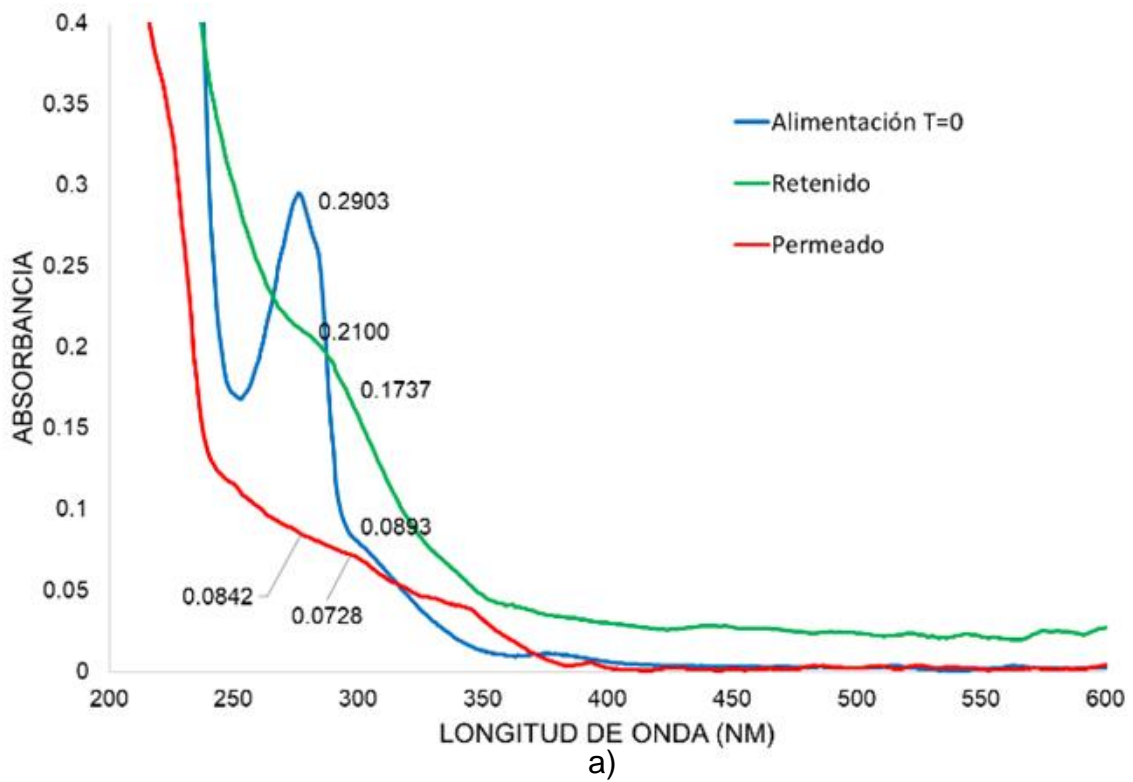


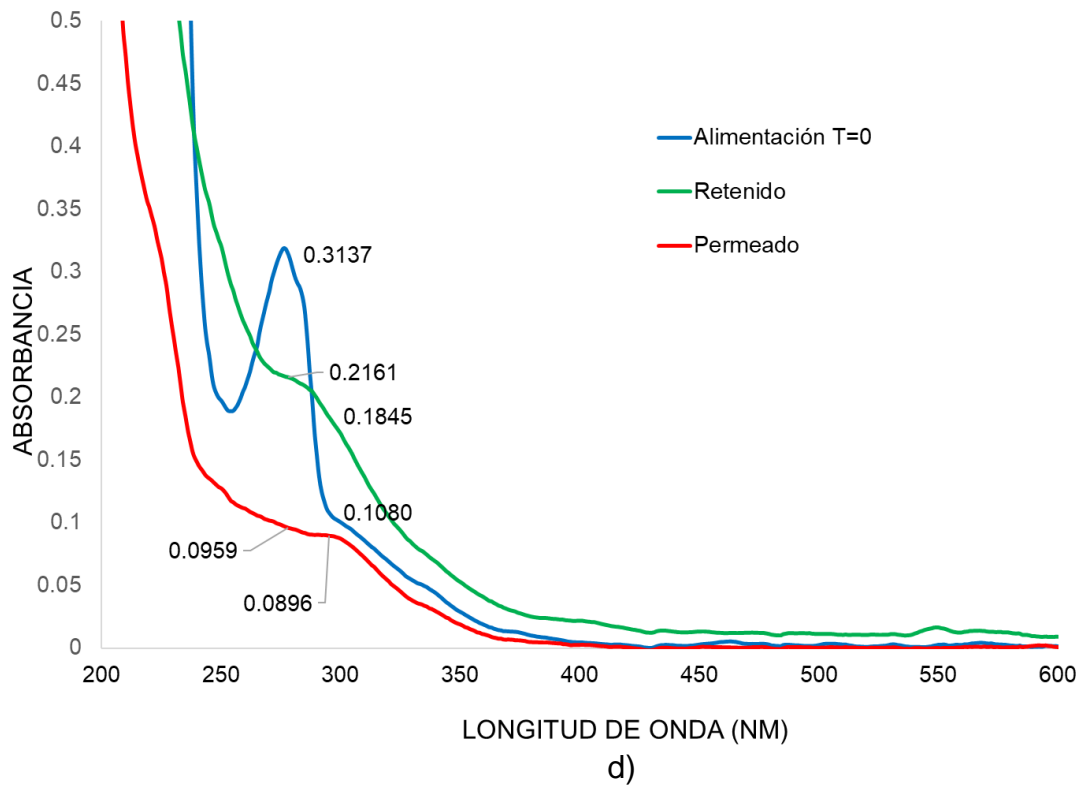
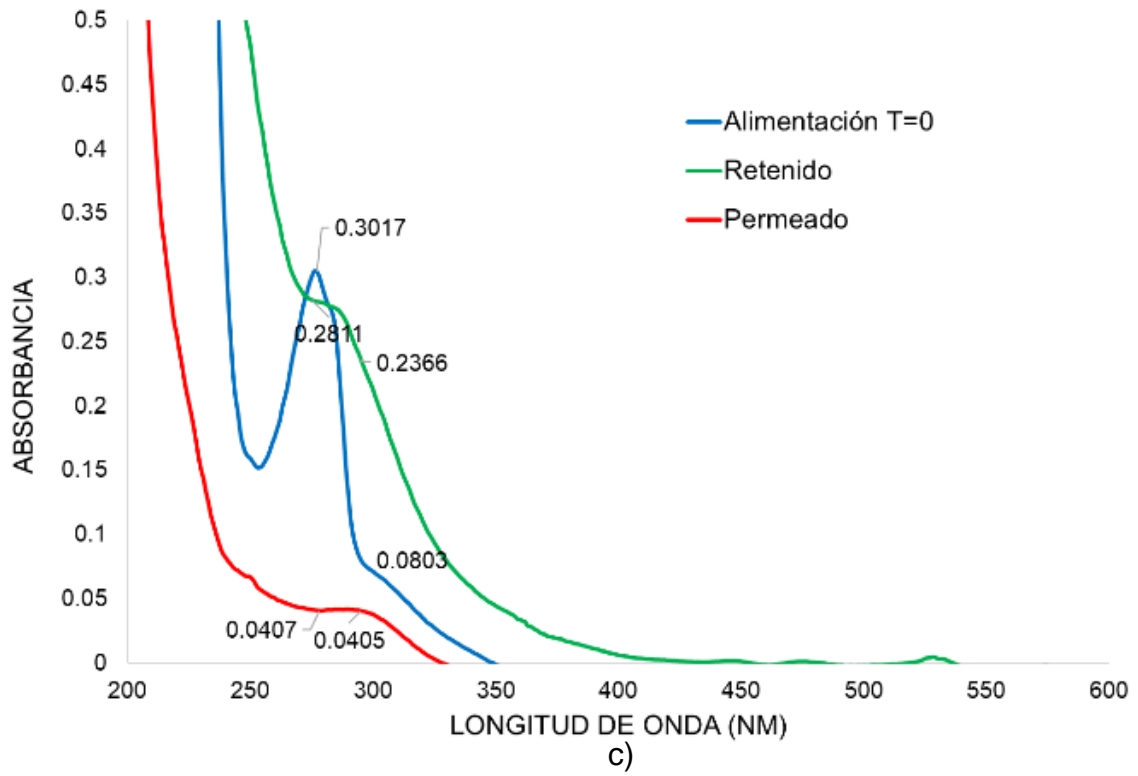
**Figura 22** Espectro de BPA a *tiempo cero* y *24 hrs de reacción* bajo las condiciones: BPA = 0.1 mM, quitosano = 500mg, HRP =  $1.4 \times 10^{-5}$  mM,  $H_2O_2$  = 1 mM y amortiguador de fosfatos = 60 mM.

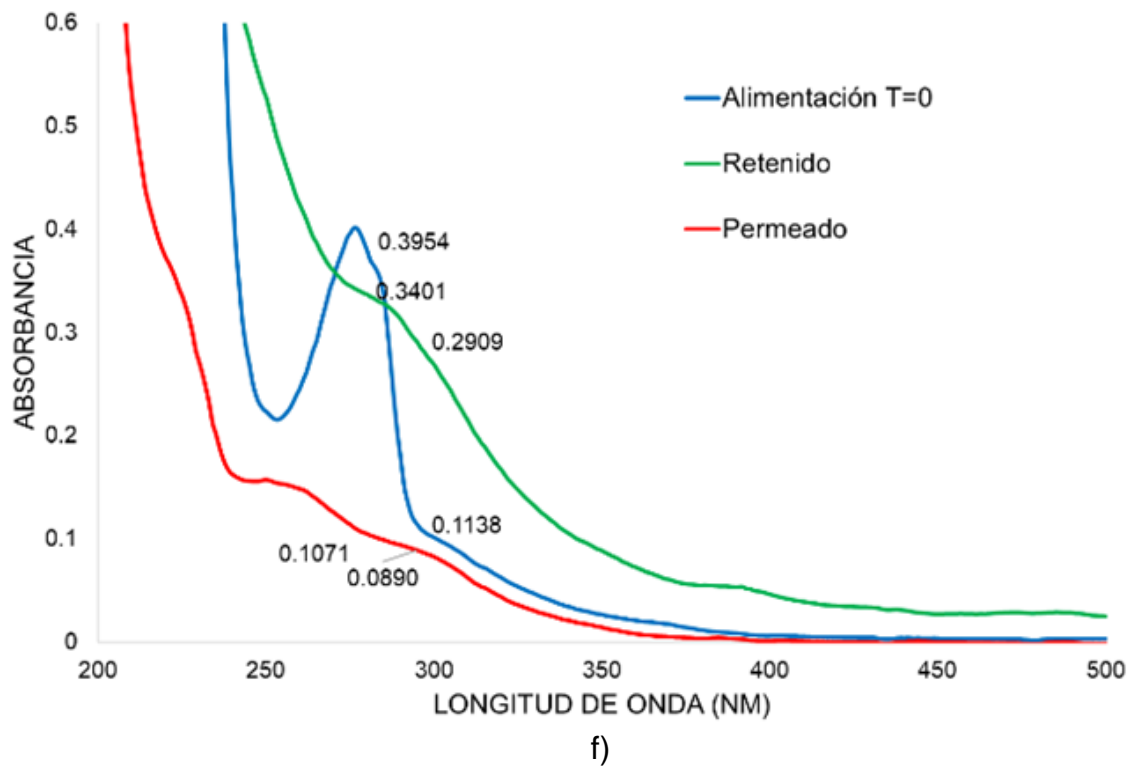
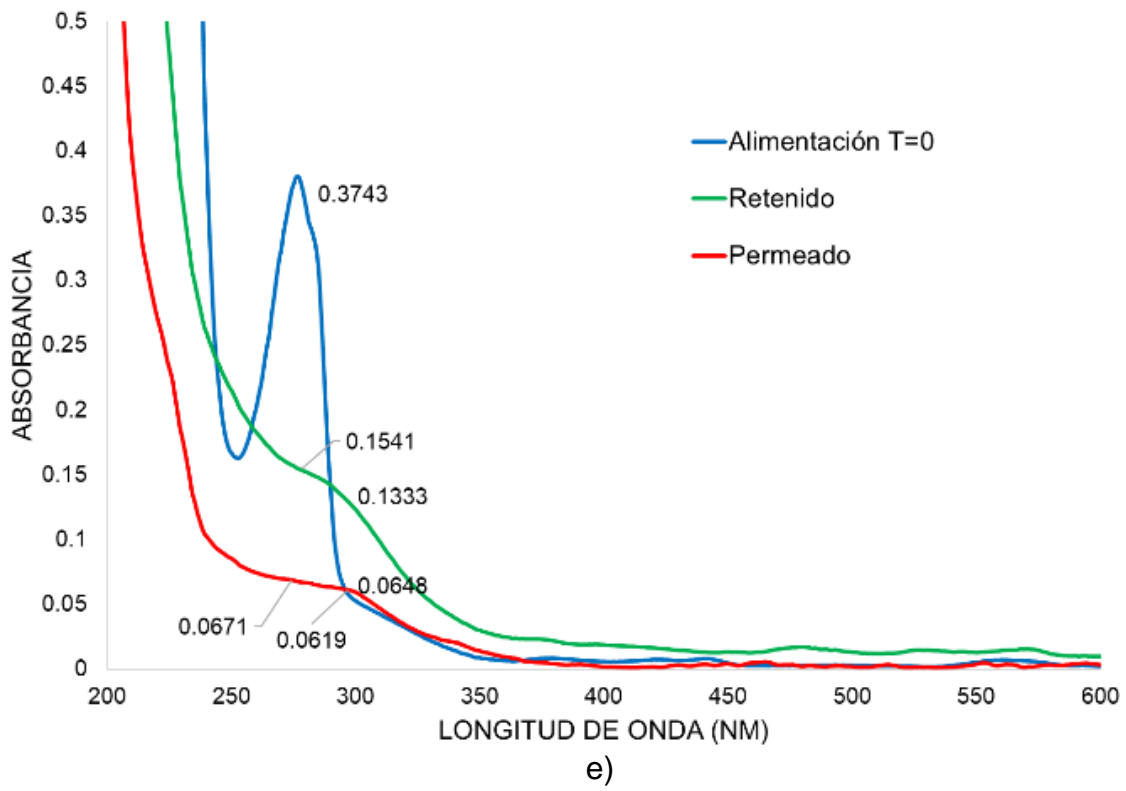
El porcentaje de remoción de BPA se calculó con la Ecuación 4 el y fue del **97.2%**. A partir del porcentaje obtenido se observó el impacto de la filtración al ser incorporada al proceso de remoción del Bisfenol A, a partir de lo cual implementó el desarrollo de un método para optimizar el proceso.

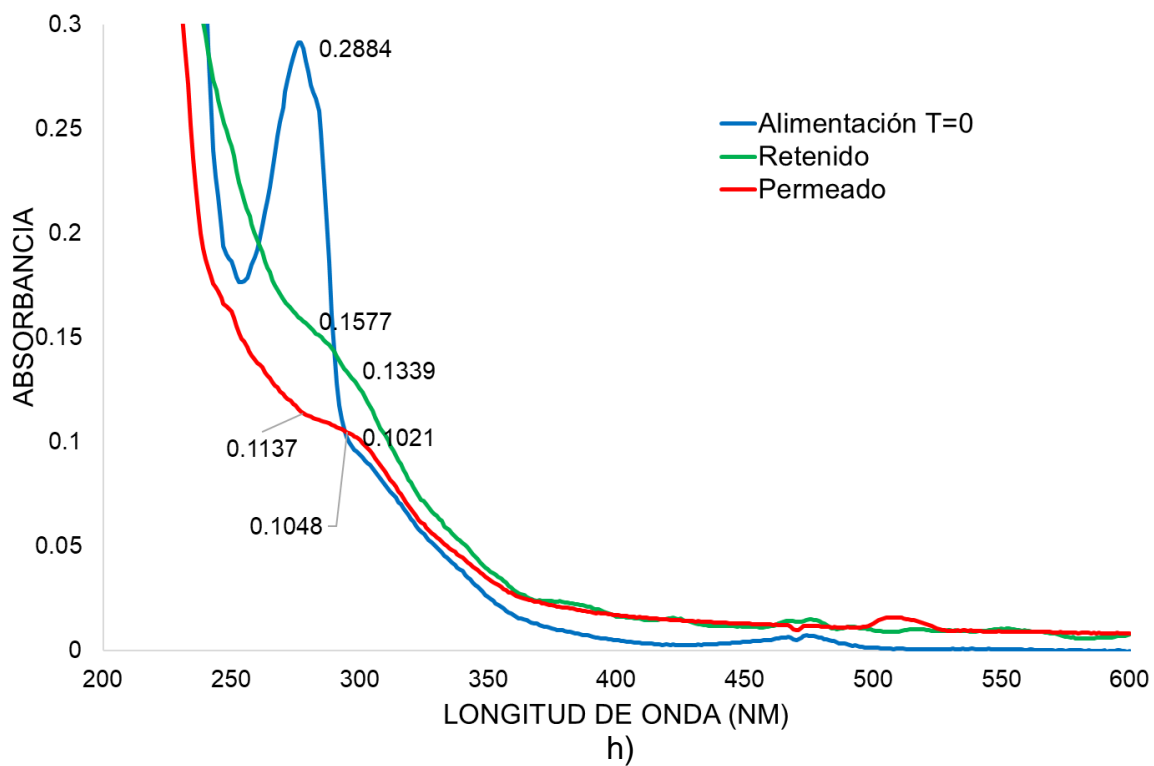
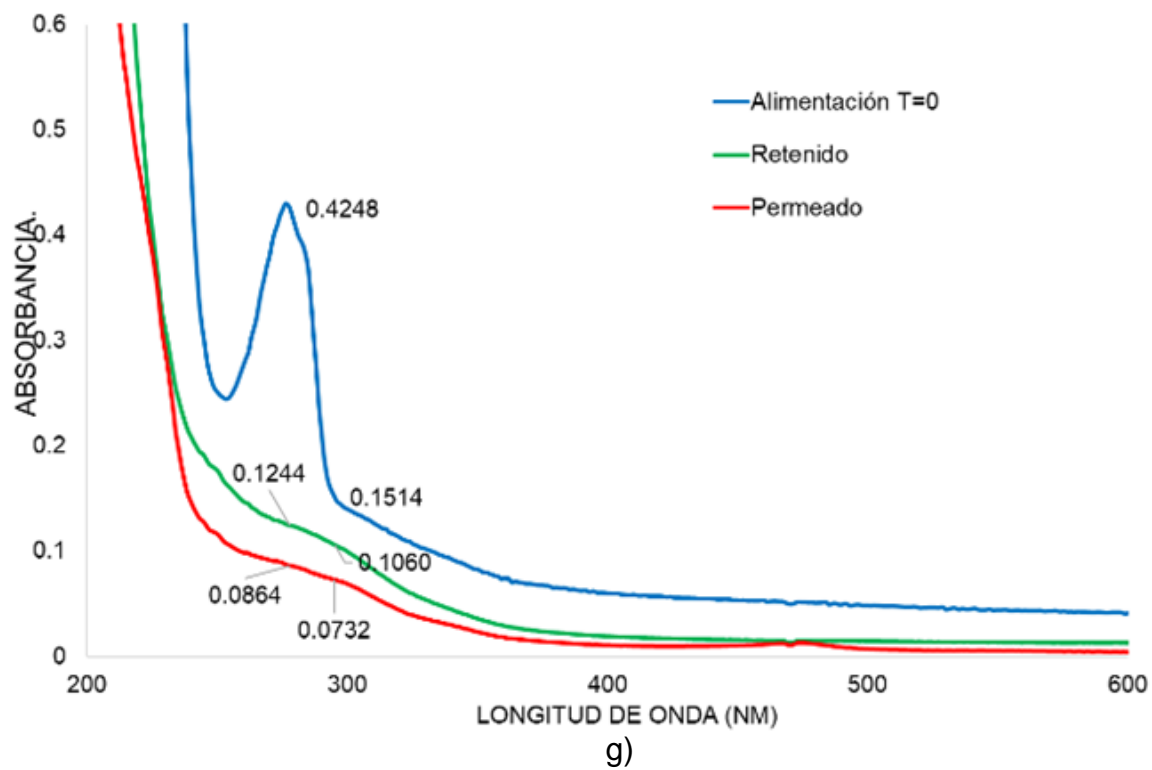
#### 4.5 Diseño experimental

A partir del resultado obtenido en el proceso híbrido, se determinó un diseño experimental <sup>23</sup>. En la Figura 23 se muestran los espectros de BPA para todos los experimentos de la Tabla 13. La alimentación representa el tiempo cero (banda azul); el retenido es la parte de la solución remanente en la celda de filtración tras filtrarla después de 24 horas de reacción enzimática (banda verde); el permeado es la parte de la solución filtrada después de 24 horas de reacción (banda roja).









**Figura 23** Espectros de BPA en la **alimentación**, **retenido** y **permeado**. Condiciones de reacción pH/quitosano/tiempo de reacción: a) 6/250/15, b) 7/250/15, c) 6/500/

15, d) 7/500/15, e) 6/250/24, f) 7/250/24, g) 6/500/24, h) 7/500/24. BPA = 0.1 mM, HRP =  $1.4 \times 10^{-5}$  mM,  $H_2O_2$  = 1 mM y amortiguador de fosfatos = 60 mM.

En las gráficas se puede observar que al comparar en cada espectro la banda de **permeado** con la de **alimentación**, se observan remociones de BPA mayores al 93% representando el proceso híbrido, y la banda de **retenido** muestra en los diferentes espectros remociones de BPA mayores al 50% representando el acoplamiento de los procesos de oxidación + adsorción. En algunas gráficas de la Figura 23, la banda de **retenido** se encuentra en un intervalo de 0.3 a 0.4 de absorbancia, esto sucede porque es la muestra con mayor concentración de quitosano motivo por el cual esta muestra se centrifuga antes de su análisis, sin embargo, a pesar de dicho tratamiento quedan partículas de quitosano en la muestra, lo cual no permite el paso de la luz al momento de su análisis ya que el quitosano es un material opaco y el espectrofotómetro de UV-visible no puede analizar un fenómeno distinto al fenómeno de absorción de luz. Los porcentajes promedio ( $\bar{x}$ ) de remoción de BPA para el retenido y permeado de cada experimento con su duplicado se presentan en la Tabla 16.

**Tabla 16** Porcentajes de remoción de BPA para cada experimento (Elaboración propia, 2020).

Combinaciones	pH	Quitosano	Tiempo de reacción	[% Remoción]	
				$\bar{x}$ Retenido	$\bar{x}$ Permeado
[1]	6	250	15	86.5	95.4
a	7	250	15	95.7	97.2
<b>b</b>	6	500	15	66.4	99.5
ab	7	500	15	85.8	96.0
c	6	250	24	93.0	97.6
ac	7	250	24	93.7	95.5
bc	6	500	24	81.0	93.8
abc	7	500	24	88.8	95.5

Se determinó que a las condiciones de pH 6, 500mg de quitosano y 15 horas de reacción se obtienen mayores porcentajes de remoción de BPA. Este resultado se puede corroborar con la Figura 25, la cual muestra que los efectos significativos son los que tienen un valor  $p < 0.05$  y los efectos más importantes aquellos con el valor

F más elevado, por lo que aumentar o disminuir la cantidad de quitosano tiene un efecto significativo sobre los resultados de porcentaje de remoción de BPA, y la interacción de las variables de pH y tiempo de reacción al trabajar ya sea en un nivel bajo o alto tienen efectos significativos sobre el resultado final de porcentaje de remoción de BPA.

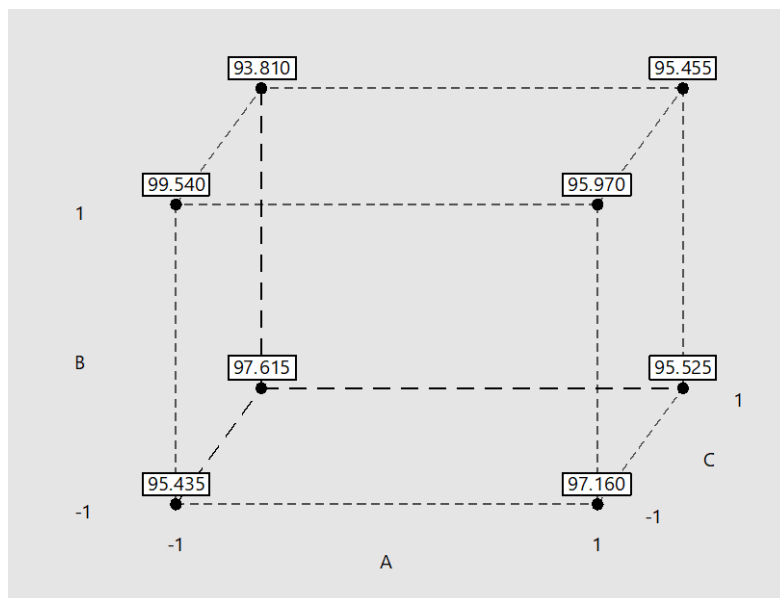
### Regresión factorial: Respuesta vs. pH, Tiempo rxn, [Quitosano]

#### Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	7	3393.60	484.80	2.20	0.146
Lineal	3	1916.97	638.99	2.90	0.102
pH	1	188.93	188.93	0.86	0.382
Tiempo rxn	1	122.53	122.53	0.56	0.477
[Quitosano]	1	1605.51	1605.51	7.28	0.027
Interacciones de 2 términos	3	1445.55	481.85	2.18	0.168
pH*Tiempo rxn	1	1022.77	1022.77	4.64	0.063
pH*[Quitosano]	1	341.82	341.82	1.55	0.248
Tiempo rxn*[Quitosano]	1	80.95	80.95	0.37	0.561
Interacciones de 3 términos	1	31.08	31.08	0.14	0.717
pH*Tiempo rxn*[Quitosano]	1	31.08	31.08	0.14	0.717
Error	8	1764.75	220.59		
Total	15	5158.35			

**Figura 24** ANOVA (Minitab, 2017)

La gráfica de cubo para cada respuesta que se observa en la Figura 26, indicó que los mayores porcentajes de remoción se observan cuando el factor a (pH) es menor, el factor b (quitosano) es mayor y el factor c (tiempo de reacción) es menor.

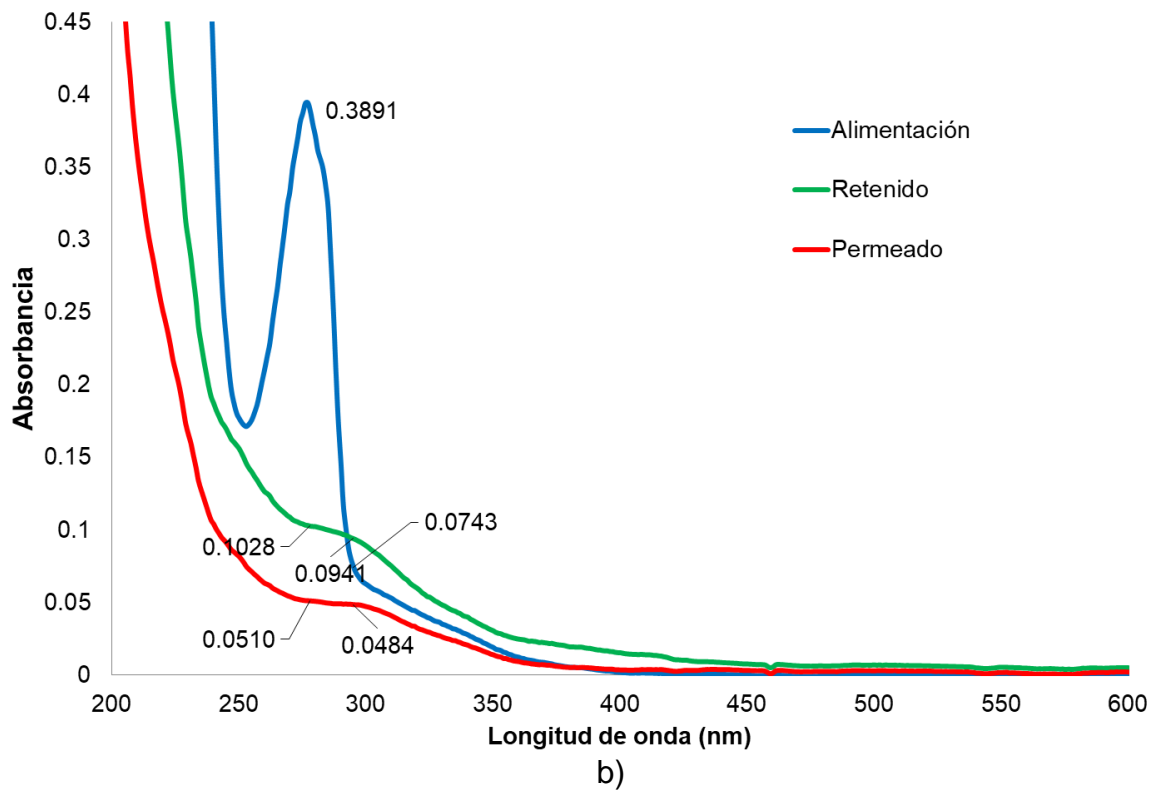
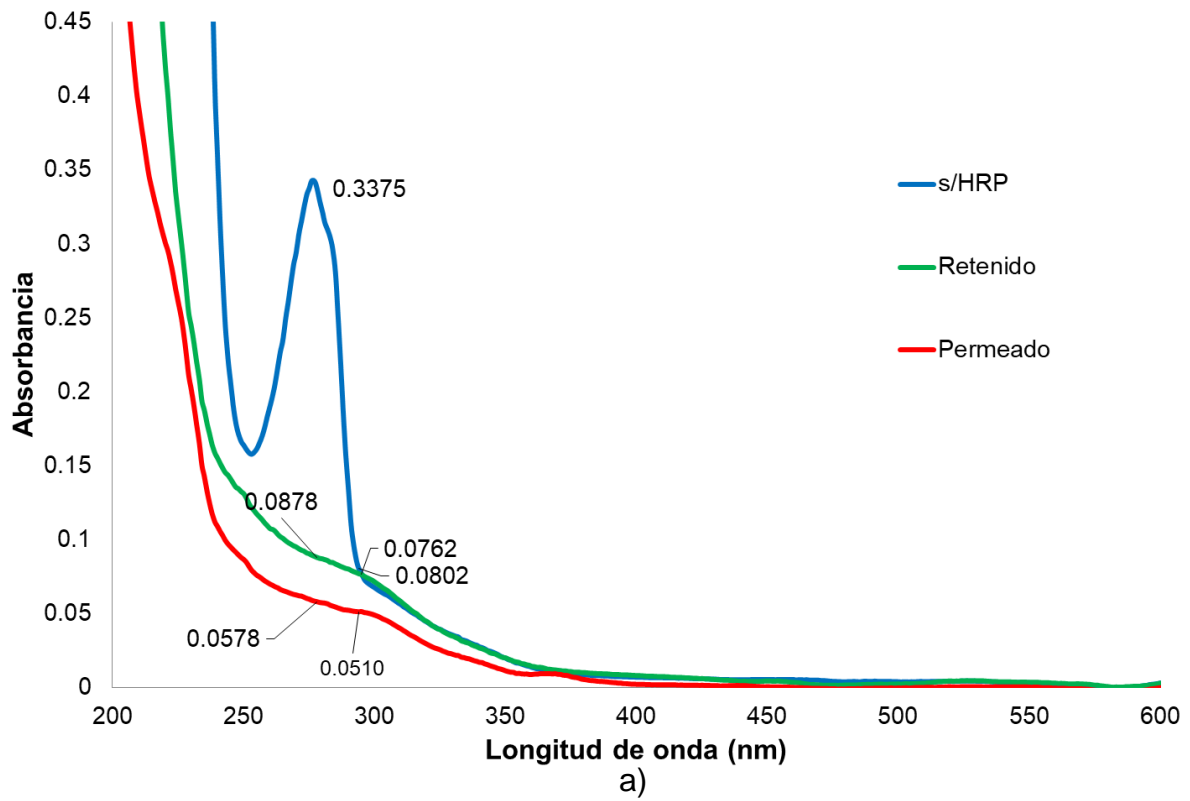


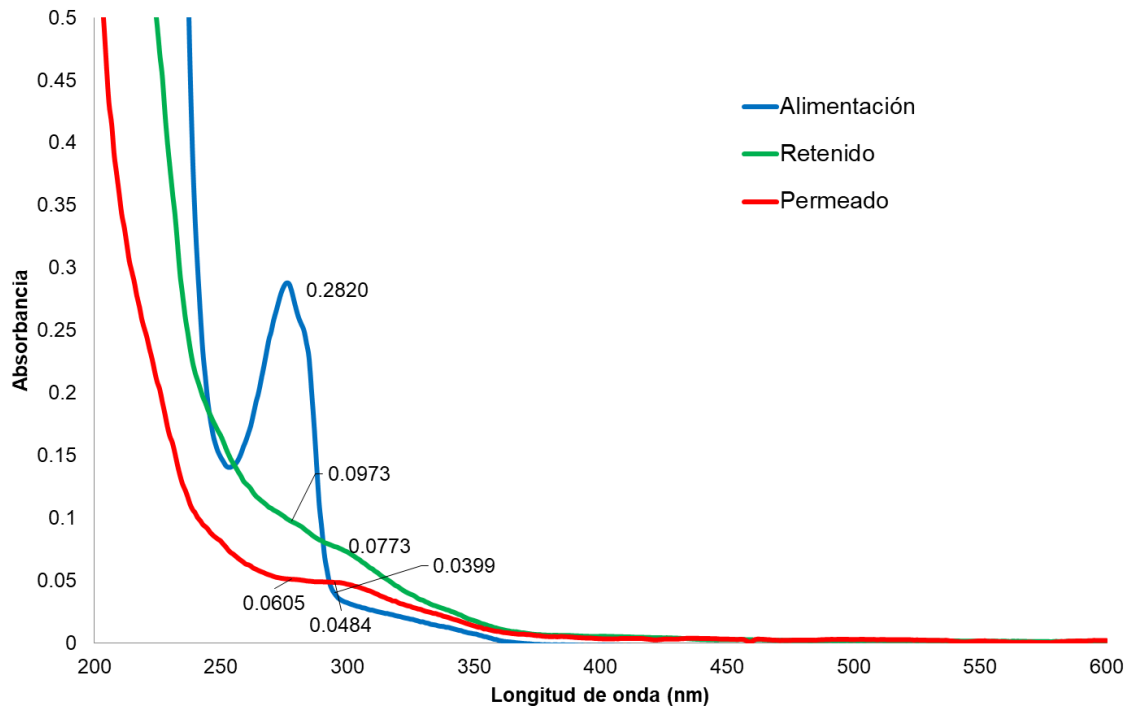
**Figura 25** Vértices: 8 tratamientos

#### 4.6 Optimización de la presión en el sistema ultrafiltración

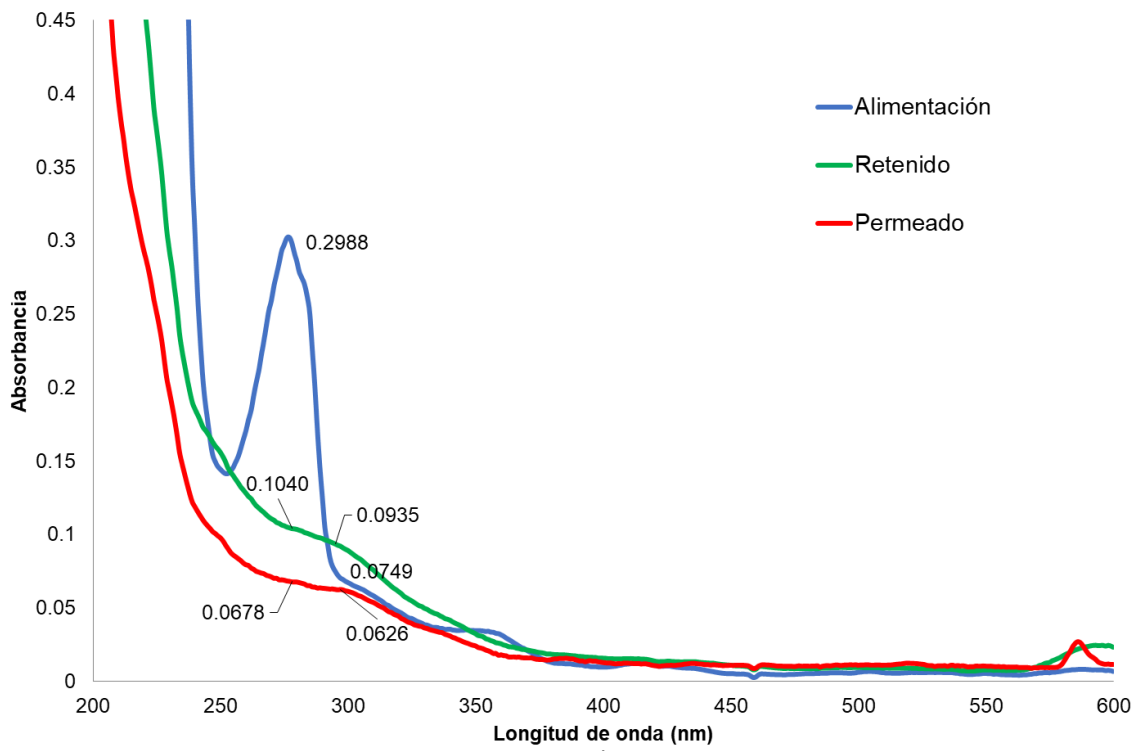
El siguiente paso fue optimizar el tiempo de ultrafiltración. Para tal efecto se varió la presión de ultrafiltración de  $2\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$  a  $4\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$ , las condiciones para estos ensayos fueron pH 7, 250 mg de quitosano y 15 hrs de reacción. Cada ensayo se llevó a cabo por duplicado.

En la Figura 26 se muestran los resultados de los experimentos mediante las bandas de BPA obtenidas a las diferentes presiones durante la filtración.





c)



d)

**Figura 26** Espectros de BPA en la *alimentación*, *retenido* y *permeado*. Condiciones de presión: a)  $1\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$ , b)  $2\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$ , c)  $3\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$ , d)  $4\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$ . BPA =  $0.1\text{ mM}$ , HRP =  $1.4\times 10^{-5}\text{ mM}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2 = 1\text{ mM}$  y amortiguador de fosfatos =  $60\text{mM}$ .

Los porcentajes promedio de remoción de BPA y los tiempos promedio de filtración se resumen en la Tabla 17.

**Tabla 17** Porcentajes de remoción y tiempos de UF.

Presión	% de Remoción $\bar{x}$ Permeado	$\bar{x}$ Tiempo de filtración [HRS]
1	97.11	3.20
2	99.13	1.34
3	95.07	1.06
4	96.42	0.47

## 5 Conclusiones

Se determinó inicialmente la capacidad de oxidación del Bisfenol A con la enzima en solución a pH 7, obteniendo un porcentaje de degradación promedio de 32.3%. De acuerdo con la literatura, los mecanismos de biodegradación de este sustrato por la peroxidasa de rábano son conocidos; sin embargo, en este trabajo no fue posible identificar los subproductos obtenidos durante el proceso híbrido.

El efecto de adsorción tuvo un aporte del 38.88 %; a partir de dichos resultados se realizó la oxidación biocatalítica del Bisfenol A en presencia de quitosano, con dicho experimento se observó que la oxidación se veía beneficiada por la adsorción al obtener un 94.44% de eliminación de BPA.

Posteriormente se acoplaron los procesos de oxidación, adsorción y ultrafiltración en un sistema híbrido, mediante el cual se obtuvo un 97.2% de remoción de BPA, es decir, en esta parte se determinó que la ultrafiltración mejoró la calidad del permeado; lo cual dio pie a la optimización del proceso con el apoyo de un diseño experimental 23.

Los porcentajes de remoción de BPA obtenidos en el diseño fueron mayores al 90% lo cual demostró la alta eficiencia del proceso. El experimento que obtuvo el mayor

porcentaje de remoción fue del 99.5% bajo las condiciones de pH 6, 500 mg de quitosano y 15 horas de reacción.

Finalmente se buscó optimizar la presión de ultrafiltración del experimento con mayor porcentaje de remoción a pH7, ya que a pH 6 el quitosano es soluble por lo que a pH 7 ya se tiene insolubilizado para su recuperación, las condiciones de dicho experimento fueron pH 7, 250 mg de quitosano y 15 horas de reacción, se observó que al aumentar la presión a  $2 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$  se redujo el tiempo de filtración de 3.20 hrs a 1.34 hrs y se obtuvo una remoción de Bisfenol A del 99.13%, por lo que se determinó que con aumentar la presión  $1 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$  respecto a la presión original se alcanzó el porcentaje de remoción deseado.

## 6 Bibliografía

Acero, J. L., Benitez, F. J., Real, F. J., y Teva, F. (2017). Removal of emerging contaminants from secondary effluents by micellar-enhanced ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, 181, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.03.021>

Agua, C. N. del. (2012). *Algunas cifras relevantes*. Recuperado de <https://agua.org.mx/en-el-planeta/#cuanta-hay>

Ahmaruzzaman, M. (2008). Adsorption of phenolic compounds on low-cost adsorbents: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 143(1–2), 48–67. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2008.07.002>

Aids, P. (2015). Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal*, 13(1). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.3978>

Bhandari, R., Xiao, J., y Shankar, A. (2013). Urinary bisphenol a and obesity in US children. *American Journal of Epidemiology*, 177(11), 1263–1270. <https://doi.org/10.1093/aje/kws391>

Bilal, M., Adeel, M., Rasheed, T., Zhao, Y., y Iqbal, H. M. N. (2019). Emerging contaminants of high concern and their enzyme-assisted biodegradation – A

- review. *Environment International*, 124(1), 336–353.  
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.011>
- Bilal, M., Iqbal, H. M. N. y Barceló, D. (2019). Mitigation of bisphenol A using an array of laccase-based robust bio-catalytic cues – A review. *Science of the Total Environment*, 689, 160–177. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.403>
- Bosch, M., Cabrera, C., y Castro A, E. M. (2008). *Alimentación, Medio Ambiente Y Salud. Buenos Aires, Argentina: Ecol Desarrollo.*
- Braun, J. M., Kalkbrenner, A. E., Calafat, A. M., Yolton, K., Ye, X., Dietrich, K. N., y Lanphear, B. P. (2011). Impact of early-life bisphenol A exposure on behavior and executive function in children. *Pediatrics*, 128(5), 873–882.  
<https://doi.org/10.1542/peds.2011-1335>
- Chen, J., Huang, X., y Lee, D. (2008). Bisphenol A removal by a membrane bioreactor. *Process Biochemistry*, 43(4), 451–456.  
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.01.001>
- Deblonde, T., Cossu-Leguille, C., y Hartemann, P. (2011). Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 214(6), 442–448.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2011.08.002>
- Dehghani, M. H., Ghadermazi, M., Bhatnagar, A., Sadighara, P., Jahed-Khaniki, G., Heibati, B., y McKay, G. (2016). Adsorptive removal of endocrine disrupting bisphenol A from aqueous solution using chitosan. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4(3), 2647–2655.  
<https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.05.011>
- Duan, B., Hu, X., Zhao, H., Qin, J., y Luo, J. (2013). The relationship between urinary bisphenol A levels and meningioma in Chinese adults. *International Journal of Clinical Oncology*, 18(3), 492–497. <https://doi.org/10.1007/s10147-012-0408-6>
- EFSA, J. (2007). Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the

- commission related to Lutein for use in particular nutritional uses. *EFSA*, 5(12), 1–75. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2007.315>
- Garrigues, S., Armenta, S., y Guardia, M. de la. (2010). Green strategies for decontamination of analytical wastes. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 29(7), 592–601. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.03.009>
- Giraldo, J. (2015). Propiedades, obtención, caracterización y aplicaciones del quitosano. *University of Concepcion*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3350.9287>
- Hu, X., Peng, J., Liu, J., Jiang, G., y Jönsson, J. Å. (2006). Evaluating the impacts of some environmentally relevant factors on the availability of bisphenol A with negligible-depletion SPME. *Chemosphere*, 65(11), 1935–1941. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.07.028>
- Huang, Q., y Weber, W. J. (2005). Transformation and removal of bisphenol A from aqueous phase via peroxidase-mediated oxidative coupling reactions: Efficacy, products, and pathways. *Environmental Science and Technology*, 39(16), 6029–6036. <https://doi.org/10.1021/es050036x>
- Instituto Sindical de Trabajo, Ambiente y Salud, I. (2013). *Disruptores Endocrinos*. *Disruptores Endocrinos*. [https://doi.org/10.1016/S1698-031X\(07\)74052-9](https://doi.org/10.1016/S1698-031X(07)74052-9)
- Klečka, G. M., Staples, C. A., Clark, K. E., Van Der Hoeven, N., Thomas, D. E., y Hentges, S. G. (2009). Exposure analysis of bisphenol A in surface water systems in North America and Europe. *Environmental Science and Technology*, 43(16), 6145–6150. <https://doi.org/10.1021/es900598e>
- Llorens-Blanch, G., Badia-Fabregat, M., Lucas, D., Rodriguez-Mozaz, S., Barceló, D., Pennanen, T.,...Blánquez, P. (2015). Degradation of pharmaceuticals from membrane biological reactor sludge with *Trametes versicolor*. *Environmental Sciences: Processes and Impacts*, 17(2), 429–440. <https://doi.org/10.1039/c4em00579a>
- López-Fernández, R., Martínez, L., y Villaverde, S. (2012). Membrane bioreactor for

the treatment of pharmaceutical wastewater containing corticosteroids. *Desalination*, 300, 19–23. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2012.05.032>

Luo, Y., Guo, W., Ngo, H. H., Nghiem, L. D., Hai, F. I., Zhang, J.,... Wang, X. C. (2014). A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Science of the Total Environment*, 473–474, 619–641. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.065>

Matsumoto, H., Adachi, S., y Suzuki, Y. (2005). Bisphenol A in ambient air particulates responsible for the proliferation of MCF-7 human breast cancer cells and its concentration changes over 6 months. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48(4), 459–466. <https://doi.org/10.1007/s00244-003-0243-x>

Melzer, D., Gates, P., Osborn, N. J., Henley, W. E., Cipelli, R., Young, A., ...Galloway, T. S. (2012). Urinary bisphenol a concentration and angiography-defined coronary artery stenosis. *PLoS ONE*, 7(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043378>

Méndez, E., González-Fuentes, M. A., Rebollar-Perez, G., Méndez-Albores, A., y Torres, E. (2017). Emerging pollutant treatments in wastewater: Cases of antibiotics and hormones. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 52(3), 235–253. <https://doi.org/10.1080/10934529.2016.1253391>

Mountfort, K. A., Kelly, J., Jickells, S. M., y Castle, L. (1997). Investigations into the potential degradation of polycarbonate baby bottles during sterilization with consequent release of bisphenol A. *Food Additives and Contaminants*, 14(6–7), 737–740. <https://doi.org/10.1080/02652039709374584>

Oehlmann, J., Schulte-Oehlmann, U., Bachmann, J., Oetken, M., Lutz, I., Kloas, W., y Ternes, T. A. (2006). Bisphenol a induces superfeminization in the ramshorn snail *Marisa cornuarietis* (Gastropoda: Prosobranchia) at environmentally relevant concentrations. *Environmental Health Perspectives*, 11(1), 127–133.

<https://doi.org/10.1289/ehp.8065>

Rees Clayton, E. M., Todd, M., Dowd, J. B., y Aiello, A. E. (2011). The impact of bisphenol A and triclosan on immune parameters in the U.S. population, NHANES 2003-2006. *Environmental Health Perspectives*, 119(3), 390–396. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002883>

Ruíz, F. N., Arévalo, A. A., Álvarez, J. C. D., y Cisneros, B. J. (2012). Operating conditions and membrane selection for the removal of conventional and emerging pollutants from spring water using nanofiltration technology: The Tula Valley case. *Desalination and Water Treatment*, 42(1–3), 117–124. <https://doi.org/10.1080/19443994.2012.682969>

Salapavidou, M., Samara, C., y Voutsas, D. (2011). Endocrine disrupting compounds in the atmosphere of the urban area of Thessaloniki, Greece. *Atmospheric Environment*, 45(22), 3720–3729. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2011.04.025>

Sangai, N., Pandya, H. A., y Singh, R. (2016). Critical review on Bisphenol A: Invisible pollution. *International Journal of Pharma Research and Health Sciences*, 4(2), 1043–1049.

Secondes, M. F. N., Naddeo, V., Belgiorno, V., y Ballesteros, F. (2014). Removal of emerging contaminants by simultaneous application of membrane ultrafiltration, activated carbon adsorption, and ultrasound irradiation. *Journal of Hazardous Materials*, 264, 342–349. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.11.039>

Torres, Eduardo; y Méndez Albores, A. (2019). Biocatálisis Ambiental: Detección, cuantificación y tratamiento de contaminantes emergentes. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Valencia, R. T. (2007). Biocatálisis ambiental. *Biotecnología*, 14, 347–360.

Verlicchi, P., Al Aukidy, M., y Zambello, E. (2012). Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk

after a secondary treatment-A review. *Science of the Total Environment*, 429, 123–155. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.028>

Wilson, N. K., Chuang, J. C., Morgan, M. K., Lordo, R. A., y Sheldon, L. S. (2007). An observational study of the potential exposures of preschool children to pentachlorophenol, bisphenol-A, and nonylphenol at home and daycare. *Environmental Research*, 103(1), 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2006.04.006>

Yang, S., Hai, F. I., Nghiem, L. D., Price, W. E., Roddick, F., Moreira, M. T., y Magram, S. F. (2013). Understanding the factors controlling the removal of trace organic contaminants by white-rot fungi and their lignin modifying enzymes: A critical review. *Bioresource Technology*, 141, 97–108. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.173>

Zhang, Y., Causserand, C., Aimar, P., y Cravedi, J. P. (2006). Removal of bisphenol A by a nanofiltration membrane in view of drinking water production. *Water Research*, 40(20), 3793–3799. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.09.011>