

Extracción y caracterización de 4,4'-(propano-2,2-diil) difenol proveniente de papel térmico usado con reincorporación de su celulosa en la línea de reciclaje

Eduard Manuel Flórez Efres

Trabajo de grado para obtener el título de Químico

Director

José Carlos Gutiérrez Gallego

Magister en Química

Codirectora

Cindy Vanessa Gutiérrez Estupiñán

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2020

Agradecimientos

A mi familia, Jose Florez Suares mi padre, Elcida Efres Carreño mi madre y Julian Florez mi hermano por todo el amor que me han brindado. Al amor de mi vida Alejandra Barajas por su compañía, afecto, paciencia y amor.

Al profesor Jose Carlos, más que un profesor y director un gran amigo, a Cindy por su gran ayuda en aspectos técnicos y de escritura.

A mis colegas y profesores quienes a lo largo de la carrera influyeron social y científicamente en mi formación

A mi tía Leo, gracias a ella compre el computador que me acompañó durante toda mi carrera y mi tío Edinson por todos los consejos y extravagancias.

Contenido

Introducción.....	15
1. Objetivos.....	17
2. Planteamiento del Problema.....	18
3. Justificación	19
4. Hipótesis	20
5. Marco Teórico.....	21
5.1 Celulosa.....	21
5.2 “Bisfenol a” y derivados	22
5.3 Aplicaciones del 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol o BPA	23
5.4 Influencia en la salud del 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol o BPA	24
5.4.1 Reproducción.....	24
5.4.2 Metabolismo y desarrollo.. ..	25
5.4.3 Epigenética.....	27
5.4.4 Estrés oxidativo.....	27
5.5 Técnicas de extracción	27

5.5.1	Extracción Soxhlet.....	28
5.6	Análisis de material celulósico y bisfenol A.....	29
5.6.1	Técnicas de análisis clásico.....	29
5.6.2	Técnicas de análisis instrumental.....	30
6.	Antecedentes.....	35
7.	Metodología.....	37
7.1	Recolección de muestra de papel térmico usado.....	37
7.2	Caracterización por espectroscopia de absorción IR de papel térmico usado.....	37
7.3	Síntesis de Bisfenol a.....	38
7.4	Caracterización de Bisfenol A.....	39
7.5	Extracción Soxhlet usando alcohol etílico como disolvente.....	41
7.6	Caracterización de papel térmico usado post extracción Soxhlet.....	43
7.7	Caracterización de extractos.....	43
7.8	Análisis cualitativo de extracto post-extracción mediante cromatografía de capa fina (TLC).....	43
7.8.1	Preparación de placas para técnica de cromatografía de capa fina (TLC).....	44
7.8.2	Preparación de cámara para revelado.....	45

7.8.3	Ensayos de Cribado y determinación del Rf por cromatografía de capa fina (TLC) para el patrón de 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol (bisfenol a) de interés.	46
7.8.4	Determinación de 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol de extractos mediante comparación de Rf del patrón y las bandas de TLC obtenidas de los extractos.	47
7.9	Análisis semicuantitativo mediante espectroscopia UV-VIS de extracto.....	47
8.	Resultados	48
8.1	Caracterización de celulosa.....	48
8.2	Caracterización FTIR de muestras de papel térmico	51
8.3	Síntesis de BPA.....	58
8.3.1	Puntos de fusión del BPA sintetizado	58
8.3.2	Espectro FTIR de BPA sintetizado	60
8.3.3	Espectro UV-VIS de BPA sintetizado	61
8.4	Extracción Soxhlet	62
8.5	Caracterización de extractos	63
8.6	Caracterización de papel post extracto.....	65
8.7	Cromatografía de capa fina de extractos.....	67
8.7.1	Cribado de patrón de Bisfenol A y extracto.....	67

8.7.2	Análisis de cromatografía de capa fina de extracto	69
8.8	Análisis UV-VIS de extracto.	71
8.9	Análisis semicuantitativo por espectroscopia UV-VIS.....	72
9.	CONCLUSIONES	75
	BIBLIOGRAFÍA	77

Lista de tablas

Tabla 1. Bandas de transmitancia en muestras de celulosa	49
Tabla 2. Bandas de transmitancia en el infrarrojo para distintos papeles térmicos.....	51
Tabla 3. Puntos de fusión de BPA sintetizado	59
Tabla 4. Extracciones con solvente	63
Tabla 5. Análisis de cribado de patrón de BPA y extracto en diferentes eluyentes	67
Tabla 6. Análisis cualitativo de extracto y patrón de BPA por cromatografía de capa fina	70

Lista de figuras

Figura 1. Estructura de β –glucopiranososa.....	21
Figura 2. Formula estructural del BPA.....	22
Figura 3. Estructura general de los bisfenoles.....	23
Figura 4. Perturbación en las rutas metabólicas de niños y niñas expuestos a BPA. Adaptado de Khan et al.(2017). Elevated Metabolites of Steroidogenesis and Amino Acid Metabolism in Preadolescent Female Children With High Urinary Bisphenol A Levels: A High- Resolution Metabolomics Study.....	26
Figura 5. Montaje general de extracción Soxhlet convencional. Adaptado de Ido et al.(2015). Practical remediation of the PCB-contaminated soils.....	29
Figura 6. Esquema general de cromatografía de capa fina. Adaptado de Peter (2005). Thin-layer Chromatography A Modern Practical Approach.....	32
Figura 7. Representación de la medida del valor de Rf. Adaptado de Peter (2005) . Thin-layer Chromatography A Modern Practical Approach.....	34
Figura 8. Espectrofotómetro de infrarrojo BRUKER TENSOR II acoplado a accesorio de reflectancia total atenuada ATR Platinum ATR	38
Figura 9. Fusiómetro Thermo Scientific MEL-TEMP 3.0.....	40
Figura 10. Espectrofotómetro UV-VIS UV-24PC SHIMADZU	41
Figura 11. Extractor Soxhlet Convencional con muestra de Papel térmico	42
Figura 12.a. Equipo para fabricación de gel de silica b. Equipo para adición de gel de silica en placas.....	44
Figura 13. Estufa de convección y multímetro con termocupla.....	45
Figura 14. Cámara de revelado para cromatografía de capa fina	46
Figura 15.a. Espectro FTIR de Papel filtro franja azul (negro) b. Espectro FTIR de algodón	49
Figura 16.a. Espectro FTIR de Papel térmico de homecenter parte con tinta b. Espectro FTIR de papel térmico de homecenter parte sin tinta	57
Figura 17. Cristales de BPA sintetizado observado en estereoscopio.....	58
Figura 18. Espectro FTIR de BPA sintetizado	60

Figura 19.Espectro UV VIS de bisfenol A en agua (20 PPM) tomado en espectrofotómetro UV-VIS UV-24PC SHIMADZU.62

Figura 20.a. Espectro FTIR-ATR de extracto. **b.** Espectro FTIR-ATR de bisfenol A sintetizado.....64

Figura 21. a. Espectro FTIR-ATR papel térmico inicial. **b.** Espectro FTIR-ATR papel térmico post extracción. **c.** Espectro FTIR-ATR de celulosa en papel filtro franja azul.....66

Figura 22.a. Espectro UV-VIS de Bisfenol A en agua (10 ppm). **b.** Espectro UV-VIS de Extracto en agua (20 ppm). **c.** Espectro UV-VIS de Bisfenol A en agua (20 ppm).....71

Figura 23.Espectro UV-VIS de banda en 276 Cm-1 en soluciones de 20 , 10 , 5 , 2 ppm y de una solución de 20 ppm del extracto.73

Figura 24. Curva de calibración de BPA.....74

Lista de apéndices

“Los apéndices están adjuntos en el CD y puede visualizarlos en base de datos de la biblioteca UIS”

Resumen

Título: Extracción y caracterización de 4,4'-(propano-2,2-diil) difenol proveniente de papel térmico usado con reincorporación de su celulosa en la línea de reciclaje*

Autor: Eduard Manuel Florez Efres**

Palabras Clave: Disruptor endocrino, Cromatografía de capa fina, polímeros, Bisfenol A, Espectroscopia

Descripción: El 4,4'-(propano-2,2-diil) difenol o Bisfenol A (BPA) es una sustancia química empleada en gran medida en la fabricación de policarbonato y resina epoxi, empleados en una variedad de productos como pinturas, recipientes de comida, e incluso instrumentos médicos y dentales. A pesar de lo anterior, es reconocido a nivel mundial por su efecto como disruptor endocrino además de otros efectos negativos para la salud como promotor de cáncer.

La agencia europea de seguridad alimentaria (EFSA) objetan que se está expuesto a una ingesta diaria admisible (IDA) menor a la dañina ($4 \mu\text{g}/\text{BW}/\text{día}$), cabe considerar que en estos estudios no se considera la interacción por vía cutánea como la dada con el papel térmico, donde también se encuentra este agente.

En el grupo de investigación de Química industrial y de polímeros de la Universidad Industrial de Santander en harás de aportar positivamente en esta problemática global, se reporta en el presente trabajo de investigación una metodología pragmática que permite identificar y cuantificar Bisfenol A en muestras de papel térmico usadas mediante espectroscopia FT-IR , UV-VIS y cromatografía de capafina (TLC) además de eliminarlo con el fin de recuperar su celulosa mediante extracciones exhaustivas con un sistema Soxhlet donde en la cámara permanece el papel limpio y en el matrax el extracto.

* Extracción y caracterización de 4,4'-(propano-2,2-diil) difenol proveniente de papel térmico usado con reincorporación de su celulosa en la línea de reciclaje

** Facultad de Ciencias Basicas. Escuela de Química. Director: Jose Carlos Gutierrez Gallego Magister en Química. Codirector: Cindy Vanessa Gutiérrez Estupiñán Química

Abstract

Title: Extraction and characterization of 4,4 '- (propane-2,2-diyl) diphenol from used thermal paper with reincorporation of its cellulose in the recycling line *

Author: Eduard Manuel Florez Efres **

Key Words:Endocrine disruptor, Thin layer chromatography, polymers, Bisphenol A, Spectroscopy

Description: 4,4 '- (Propane-2,2-diyl) diphenol or Bisphenol A (BPA) is a chemical widely used in the manufacture of polycarbonate and epoxy resin, used in a variety of products such as paints, food containers, and even medical and dental instruments. Despite the above, it is recognized worldwide for its effect as an endocrine disruptor as well as other negative health effects as a cancer promoter.

The European Food Safety Agency (EFSA) objects that we are exposed to a less than harmful Acceptable Daily Intake (ADI) (4 µg / BW / day), it should be considered that in these studies the interaction through the cutaneous route is not considered like the given with the thermal paper, where this agent is also found.

In the Industrial Chemistry and Polymers research group on at the Industrial University of Santander, in order to contribute positively to this global problematic. In this research work, a pragmatic methodology is reported that allows Bisphenol A to be identified and quantified in thermal paper samples used by FT-IR spectroscopy, UV-VIS and thin layer chromatography (TLC) in addition to eliminating it in order to recover its cellulose by exhaustive extractions with a Soxhlet system where the clean paper remains in the chamber and in the matrax the extract..

* Extraction and characterization of 4,4 '- (propane-2,2-diyl) diphenol from used thermal paper with reincorporation of its cellulose in the recycling line

** Faculty of Basic Sciences. Chemistry School. Director: Jose Carlos Gutierrez Gallego Master in Chemistry. Co-director: Cindy Vanessa Gutiérrez Estupiñán Chemical

Introducción

A nivel mundial la producción masiva de plásticos repercute en la contaminación de diferentes entes del ambiente tales como el recurso hídrico y el suelo. El 4,4'-(propano-2,2-diil) difenol mejor conocido como Bisfenol A (BPA) no está exento de lo anterior de tal suerte sean encontrado concentraciones en el rango de ng/g de peso seco en lodos residuales de diferentes lugares del mundo.

Por otro lado, el Bisfenol A es reconocido como un importante monómero implicado en la fabricación de policarbonato y resinas epoxicas, productos que podemos encontrar en una variedad de productos como pinturas, recipientes de alimentos, cds, gafas de seguridad, etc. Lo anterior implica una producción extensiva de BPA a nivel global.

Desde otro punto de vista, este agente es reconocido como imitador estrogénico de tal suerte tiene implicaciones en aspectos hormonales relacionados con enfermedades reproductivas, además de tener implicaciones en diferentes trastornos como la artritis reumatoide, el cáncer de mama y próstata, repercusión en la metilación de ADN en hipocampo entre otros.

Lo anterior ha causado multitud de debates entre entes gubernamentales y personalidades de la ciencia a consecuencia de esto en los últimos años se han ajustado las regulaciones de esta sustancia y la actual ingesta diaria admisible (IDA) es 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal por día, no obstante no se tiene en cuenta en los estudios inherentes a la regulación el contacto por vía cutánea como el dado por los papeles térmicos. Cabe destacar que la Agencia Europea de

Seguridad Alimentaria (EFSA) considera que no se está expuesto a esta concentración mientras Francia ha adoptado la prohibición total y a nivel local en Colombia se ha optado por prohibir el BPA en productos que estén en contacto por alimentos.

En consecuencia a lo anterior, debido a la importancia de participar activamente en este tema de actualidad, el presente trabajo de investigación muestra una metodología práctica a nivel de laboratorio que permite eliminar Bisfenol A contaminante de matrices de papel térmico mediante extracción exhaustivas con un sistema Soxhlet. Es destacable que se sintetizó y caracterizó el agente Bisfenol A para usarlo como blanco de comparación, así mismo, se caracterizaron diferentes matrices de papel mediante espectroscopia FTIR buscando especialmente las bandas de vibraciones aromáticas inherente al BPA. A posteriori a las extracciones se caracterizó mediante espectroscopia FTIR el extracto y el papel post extracto encontrando espectros idénticos en el primer caso al BPA y en el segundo caso al de la celulosa, se llevaron a cabo mediciones UV-VIS del extracto encontrando las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ en el corrimiento exacto para el BPA. Finalmente se llevaron a cabo análisis confirmativos mediante cromatografía de capa fina (TLC) y un análisis semicuantitativo empleando para ello la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ de mayor longitud de onda es decir la banda α .

1. Objetivos

Objetivo General

Proponer un método que permita eliminar 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol (**bisfenol A**) contaminante de una muestra de papel térmico usado, con el fin de reincorporar la celulosa en sistemas de reciclaje.

Objetivos Específicos

- Caracterizar mediante espectroscopia infrarroja el papel térmico usado previamente recolectado.
- Sintetizar y caracterizar 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol con el fin de emplearlo como blanco de comparación.
- Extraer el 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol del papel térmico mediante extracción Soxhlet
- Separar y caracterizar el 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol obtenido en el extracto mediante cromatografía en capa fina
- Caracterizar mediante espectroscopia infrarroja la celulosa regenerada proveniente del papel térmico usado

2. Planteamiento del Problema

La investigación de sustancias de elevado uso industrial como el 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol más conocido como “bisfenol a” (BPA), reviste una gran importancia debido a su empleo como aditivo en resinas epoxi, policarbonatos, en la industria papelera, en el sector de los alimentos, en fungicidas, entre otros sistemas poliméricos. Se han reportado riesgos para la salud, entre los que se encuentran su funcionalidad como disruptor endocrino, que incide sobre la reproducción, el desarrollo y el metabolismo, la epigenética, estrés oxidativo, función tiroidea y función inmune, entre otros (Cheong et al., 2018; Council, 2010; Hamdy, Yahia, Afifi, & Salem, 2018; Khan et al., 2017).

Cabe resaltar que el BPA ha sido prohibido en Colombia para productos que se encuentran en contacto con alimentos. En la Unión Europea se ha prohibido solo para el caso de biberones. No obstante, Francia ha adoptado la prohibición total (Comisi et al., 2018; Ministerio de Salud y Protección Social, 2012). Desde otra perspectiva, bajo distintos estudios toxicológicos realizados por entes públicos como la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), se ha concluido que el BPA no representa un riesgo potencial para la salud, debido a las bajas cantidades involucradas en contaminación cruzada alimento-recipiente y las barreras toxicológicas de los humanos para esta sustancia (Authority, 2017). Sin embargo, en la actualidad, diversos estudios han llegado a la conclusión de que el contacto por otros medios y la basta cantidad de productos donde se encuentra el agente BPA sí representa

un riesgo para la salud incluso en bajas concentraciones (Carchia et al., 2015; Rochester, 2013).

3. Justificación

En la actualidad existe una fuerte disputa acerca de la peligrosidad del uso del BPA. Por un lado, diversos estudios de comunidades científicas, especialmente en Canadá y la Unión Europea, argumentan los perjuicios para la salud de la sustancia química BPA y, en contraposición, entes públicos como la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y el Departamento de Salud y Servicios Sociales de los Estados Unidos (HHS) justifican su uso bajo el parámetro de la ingesta diaria admisible (IDA), del cual argumentan que la dosis de exposición diaria es inferior a la dañina o tóxica (4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal por día) (Authority, 2017; Comisi et al., 2018).

Ahora bien, en diferentes países se han tomado distintas medidas con respecto a su regulación. En Francia se ha prohibido en su totalidad el uso de BPA que entre en contacto con humanos, de tal suerte que no se emplea este agente en la industria del papel térmico usado en las impresiones de tickets de la mayoría las compras del mercado en este país.

En Colombia, mediante la resolución 4143 de 2012 del Ministerio de Salud y Protección Social (Ministerio de Salud y Protección Social, 2012), se prohibió el uso de BPA en materiales plásticos que estén en contacto con alimentos.

Por otra parte, un punto importante en la controversia global acerca del BPA es la falta de estudios de formas de contacto diferentes a las relacionadas con el consumo de alimentos, razón por la cual se hace necesario realizar una investigación más amplia y exhaustiva. El caso de los tickets hechos de papel térmico llama la atención por su uso extensivo y la posibilidad de tener concentraciones significativas de esta sustancia. Cabe resaltar que a pesar de que existe una vasta cantidad de investigaciones acerca del BPA a nivel mundial, este no es el caso de Colombia, donde existen interesantes pero muy pocos estudios publicados sobre este agente químico y ninguno realizado sobre el papel térmico.

En consecuencia, es justificable participar académica y científicamente en la controversia generada por el BPA, especialmente para el caso de los papeles térmicos. Además, considerando la responsabilidad social que afrontamos en la actualidad respecto al reciclaje, vale la pena proponer una metodología que permita eliminar este presunto contaminante de dichos tickets, con el fin de reincorporarlos en sistemas de reciclaje que puedan alargar la vida útil del papel.

4. Hipótesis

El 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol o “bisfenol a”, disruptor endocrino y agente empleado en la fabricación de resinas epoxi y policarbonatos, será encontrado y extraído a partir del papel térmico de los tickets de uso cotidiano.

5. Marco Teórico

5.1 Celulosa

La celulosa es un biopolímero compuesto exclusivamente de β -glucosa, caracterizado por tener una estructura cristalina resistente a la hidrólisis y regiones amorfas que permiten degradación enzimática (Islas, Rincón Martínez, Gastón Mejía, & De Esteban Lizarde, 2014). La fórmula molecular del monómero de celulosa es $(C_6H_{10}O_5)_n$ y su estructura molecular se observa en la Figura 1.

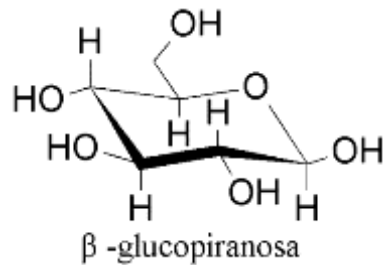


Figura 1. Estructura de β -glucopiranososa

El término celulosa fue empleado por primera vez 37 años antes de la formación de la Sociedad Estadounidense de Química en 1839 durante una investigación acerca de materia leñosa mostrada por Anselme Payen ante la academia francesa de ciencias. Payen reportó que la materia leñosa se podía considerar como una simple sustancia que contenía dos materiales distintos

químicamente; uno de ellos tenía la misma composición que el almidón pero distinta estructura y propiedades. A este material se le llamó celulosa, sin embargo, es incierto si el propio Payen lo nombro así (Medal., 2017).

5.2 “Bisfenol a” y derivados

El BPA o 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol es un compuesto aromático cuya característica estructural es la presencia de dos grupos funcionales fenol unidos a un grupo puente isopropilo (Juan-García, Gallego, & Font, 2015), tal como se puede observar en la Figura 1. Básicamente, es un intermedio de fabricación de resinas epoxi, policarbonato, fenoxi, polisulfonas, poliéter imidas, poliéster, polímeros empleados en la fabricación de fungicidas, empaques de alimentos, en la industria de papel térmico, e incluso en dispositivos médicos como incubadoras neonatales y hemodializadores (Baluka & Rumbelha, 2016; ChemSec, 2014; Gupta, 2014; Juan-García et al., 2015; Scientific committee, 2015).

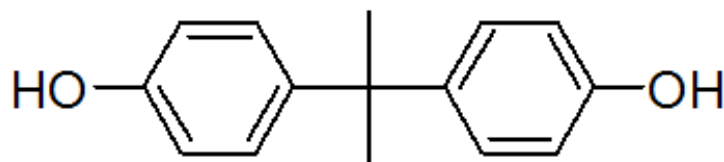


Figura 2. Formula estructural del BPA

El BPA es el bisfenol más usado industrialmente, reportándose una producción anual para el año 2010 de 5 millones de toneladas (Careghini, Mastorgio, Saponaro, & Sezenna, 2015). No obstante, existen una serie de compuestos de esta familia dentro de los cuales destacan el bisfenol B,C,F,G y H cuya fórmula general se especifica en la Figura 2, donde sus diferencias residen en el radical R, el cual corresponde al metilpropilideno, metilbenceno, o-isopropilbenceno y ciclohexilideno respectivamente (Kobayashi, Oguro, & Imaoka, 2018).

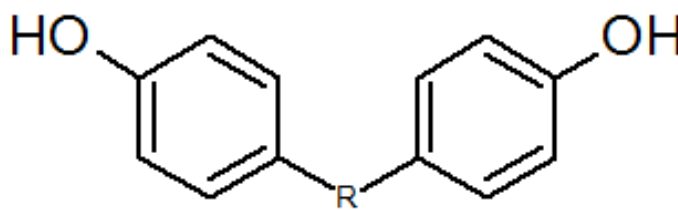


Figura 3. Estructura general de los bisfenoles

5.3 Aplicaciones del 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol o BPA

El BPA es ampliamente empleado en la industria, especialmente en los procesos de fabricación de plásticos y resinas epoxi, debido a su alta tendencia a polimerizar (Staples, Dome, Klecka, Oblock, & Harris, 1998). Dentro de los usos del BPA se encuentran aplicaciones en la fabricación de contenedores de bebidas y alimentos, chupos para bebés, en la industria del papel térmico, los juguetes para niños e incluso en dispositivos médicos como los selladores

odontológicos, incubadoras de cuidado neonatal, máquinas para asistencia de bypass cardiopulmonar y los equipos de diálisis (Juan-García et al., 2015; Scientific commitee, 2015).

5.4 Influencia en la salud del 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol o BPA

El BPA tiene implicaciones en las saludes humanas relacionadas con la reproducción, el desarrollo y metabolismo, epigenética, estrés oxidativo, función tiroidea y función inmune, entre otros. Esto se debe principalmente a su comportamiento como disruptor endocrino (Juan-García et al., 2015; Rochester, 2013). El efecto macabro del BPA como promotor del cáncer radica en la expresión o inhibición genética de un amplio espectro de genes responsables de la producción de proteínas encargadas de regular procesos apoptóticos y como facilitador en el proceso de migración e invasión de células cancerígenas en casos de metástasis (Ma et al., 2015).

5.4.1 Reproducción. Existen diversos estudios in vitro e in vivo que relacionan el BPA con problemas de reproducción, tanto para personas del sexo masculino como femenino; se realizó un estudio in vivo recientemente (Chianese et al., 2018) en ratones machos en estado fetal donde evaluaron la incidencia del BPA sobre la espermatogénesis en dosis de 10 µg/kg bw/día, específicamente respecto a la modulación de la expresión de la enzima SIRT1 y sus rutas moleculares, encontrando alteraciones testiculares en la expresión de la Conexina 43 (Cx43) y Zonula (ZO-1), daño al ADN asociado al carácter oxidativo del BPA y un decremento en el peso

corporal en animales jóvenes adultos tratados con BPA. En ratas hembras Sprague Dawley (Hamdy et al., 2018) observaron un aumento en los niveles de estradiol y testosterona en sujetos expuestos a 330 mg/kg/bw/día, así como hormonas con funciones en la proliferación y crecimiento de células cuya responsabilidad radica en la formación de órganos sexuales secundarios (Jhon, 2016).

5.4.2 Metabolismo y desarrollo. El BPA en altas y bajas concentraciones tanto para hombres como mujeres tiene implicaciones en distintas rutas metabólicas, tal como se ejemplifica en la Figura 4. En tal caso, altas concentraciones de BPA favorece potencialmente la hiperaminoacidemia en mujeres jóvenes y niñas preadolescentes (Khan et al., 2017), asociada con la deficiencia en 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga, enzima vinculada como uno de los trastornos de la beta oxidación de ácidos grasos (Deltetto et al., 2012).

Como se observa en la Figura 4, el metabolismo de la fenilalanina, el triptófano y el piruvato, tal como la degradación de lisina, son elevados en mujeres con alta concentración de BPA (Khan et al., 2017). Además, se ha encontrado correlación entre xenoestrógenos como el BPA y procesos de regulación de la homeostasis de la glucosa, los cuales se vinculan a la diabetes tipo 2 (Carchia et al., 2015; Susiarjo et al., 2015).

Igualmente, al aumentar la concentración de BPA tanto en hombres como en mujeres, aumentan los niveles del ácido antranílico y disminuyen los niveles de crotonil-Coa, lo cual implica un aumento en el triptófano, compuesto de partida de la serotonina, neurotransmisor involucrado en la regulación del comportamiento, funciones biológicas e inherentes a una vasta

gama de desórdenes psiquiátricos (Khan et al., 2017; Williams, Marchuk, Gadde, Barefoot, & Grichnik, 2003).

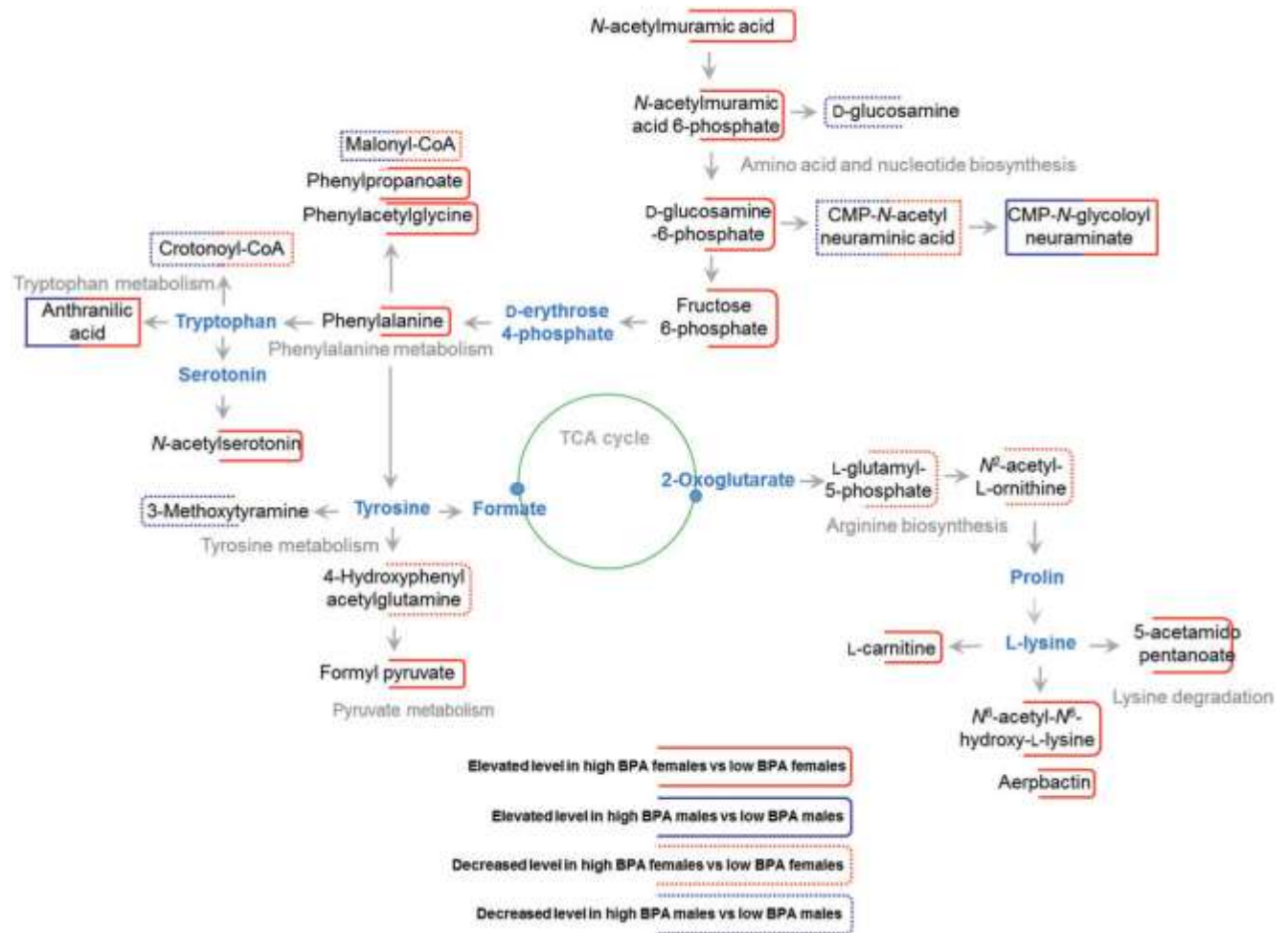


Figura 4. Perturbación en las rutas metabólicas de niños y niñas expuestos a BPA. Adaptado de Khan et al. (2017). *Elevated Metabolites of Steroidogenesis and Amino Acid Metabolism in Preadolescent Female Children With High Urinary Bisphenol A Levels: A High-Resolution Metabolomics Study*

5.4.3 Epigenética. La ovogénesis está involucrada en importantes cambios en la epigenética desde la diferenciación de células germinales primordiales, precursoras de los ovocitos primarios hasta la fertilización, incluyendo el desarrollo embrionario preimplantacional. Para el caso concreto del BPA, niveles bajos del mismo pueden tener consecuencia en la expresión genómica y en el desarrollo y calidad de los ovocitos, siendo la afectación en el mecanismo de metilación del DNA en el hipotálamo e hipocampo (Cheong et al., 2018; Eichenlaub-ritter & Pacchierotti, 2015).

5.4.4 Estrés oxidativo. Básicamente, el BPA induce formación de especies reactivas de oxígeno ROS (por sus siglas en ingles), debido a que, desde una perspectiva, reduce los niveles de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, Catalasa , GSH peroxidasa y la GSH reductasa y, desde otra, incrementa las concentraciones de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (Council, 2010) el cual es activo frente al malondialdehído quien, a su vez, es marcador de estrés oxidativo específicamente en la peroxidación lipídica inherente a enfermedades como la artritis reumatoide (Ayala, Muñoz, & Argüelles, 2014; Thiele et al., 2015).

5.5 Técnicas de extracción

Existen dos tipos generales de extracción; la extracción líquido-líquido y la extracción sólido-líquido dentro de la categoría de la última se encuentran extracciones simples y extracciones

exhaustivas que permiten obtener un analito en estado aceptable para análisis químico como la extracción Soxhlet.

5.5.1 Extracción Soxhlet. La técnica de extracción Soxhlet convencional tiene su principal virtud en que la muestra está constantemente en contacto con puntos fríos del solvente usado como extractante, facilitando el desplazamiento de analitos de interés en contra del equilibrio. Además, esta técnica no requiere filtración y el rendimiento de la muestra es superlativo, ya que se llevan a cabo simultáneas extracciones en paralelo, lo cual hace de la extracción Soxhlet un método económico.

En el montaje general empleado en una extracción Soxhlet (ver Figura 5) es posible visualizar el matraz receptor, el dedal de extracción, la muestra, la cámara de extracción y el condensador (Castro, 2010; Ido et al., 2015).

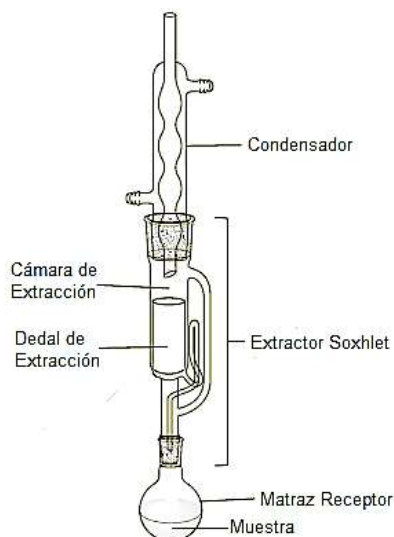


Figura 5. Montaje general de extracción Soxhlet convencional. Adaptado de Ido et al. (2015). *Practical remediation of the PCB-contaminated soils.*

5.6 Análisis de material celulósico y bisfenol A

La celulosa es un polímero de difícil disolución mientras el Bisfenol A tiene un carácter polar que lo hace vulnerable a solventes polares como el alcohol etílico o no tan polares como el diclorometano. En este sentido es necesario atacar el problema del análisis de estos compuestos desde la perspectiva del análisis clásico y del análisis instrumental.

5.6.1 Técnicas de análisis clásico. Dentro del análisis químico clásico existen tres procesos de interés para la investigación de material celulósico y de sólidos orgánicos. Para este último caso, se trata de la determinación del punto de fusión mediante un fusiómetro.

Los otros dos aspectos que son básicos dentro del análisis clásico son la determinación de humedad y cenizas. En el primer caso, se reduce exclusivamente a la cuantificación de la cantidad de agua que contiene cualquier matriz; por ejemplo, una muestra de harina, suelo, flores, frutas, etc. El segundo caso se relaciona con la cantidad de material orgánico en una muestra y se determina empleando una mufla.

5.6.2 Técnicas de análisis instrumental. Las técnicas de análisis instrumental permiten obtener resultados rápidos y al mismo tiempo evaluar una diversa gama de analitos. Dentro de este campo de la química es posible encontrar técnicas espectroscópicas de caracterización como la espectroscopia FTIR y la espectroscopia UV-VIS, así mismo es posible realizar análisis de confirmación como los cromatográficos dentro de los cuales se encuentra una técnica como la cromatografía de capa fina.

5.6.2.1 Espectroscopia de absorción IR. La espectroscopia de absorción en el Infrarrojo es una herramienta para determinar la estructura de especies orgánicas y bioquímicas con la característica de poseer grupos funcionales con momento dipolar. La región más empleada es la del infrarrojo medio desde alrededor de 670 cm^{-1} hasta 4000 cm^{-1} . La característica medida en este caso es la absorbancia o transmitancia de la radiación al pasar por la muestra y generalmente se llevan a cabo análisis cualitativos, aunque es factible realizar un análisis cuantitativo. Además, es posible haciendo uso de celdas, medir muestras en estado de agregación líquido o gaseoso y de igual manera sólidos empleando la técnica de la pastilla de

KBr o de reflectancia total atenuada ATR. Básicamente, la identificación de un compuesto orgánico consta de dos etapas: en la primera se determinan los grupos funcionales más probables en la región de frecuencias de grupo ($3600-1250\text{ cm}^{-1}$) y en la segunda se lleva a cabo una comparación detallada del espectro del compuesto desconocido con los espectros de sustancias puras que contengan los grupos funcionales encontrados en la primera etapa; aquí es relevante la región de la huella dactilar ($1200-600\text{ cm}^{-1}$).

5.6.2.2 Espectroscopia de absorción UV-VIS. La espectroscopia de absorción ultravioleta-visible es una técnica molecular empleada en matrices orgánicas e inorgánicas que abarcan longitudes de onda entre 380 y 780 nm, en términos generales se irradia la muestra con luz en esta región del espectro electromagnética, la muestra absorbe radiación y ocurren transiciones $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$ y estas transiciones se evidencian en el espectro UV-VIS. La basta cantidad de especies químicas analizables por esta técnica hace de ella una poderosa herramienta analítica; razón por la cual es aplicable cualitativa y cuantitativamente generalmente a matrices líquidas, aunque es posible mediante reflectancia difusa medir el espectro UV-VIS de un sólido. Las transiciones más usuales en los compuestos orgánicos son $n \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \pi^*$ las cuales requieren electrones en orbitales π de grupos cromóforos para llevarse a cabo.

5.6.2.3 Cromatografía de capa fina. La cromatografía de capa fina TLC (por sus siglas en inglés) es una técnica de separación de muestras versátil, con sensibilidad en el rango de los

nanogramos (ng) a un costo relativamente bajo. Básicamente, la fase estacionaria consta de un material compuesto por un soporte de vidrio o plástico, un sorbente usualmente gel de silica aunque también puede emplearse distintos materiales como celulosa, poliamidas y oxido de aluminio entre otros, además de un agente revelador como la fluoresceína, el yodo o el ácido sulfúrico. Se emplean solventes menos polares que la fase estacionaria para la fase móvil como hexano. En términos generales, el solvente viaja hacia arriba por capilaridad e interactúa con los analitos de la mezcla compleja, arrastrándolos en función de la afinidad de estos con el solvente. En la figura 8 puede observarse el esquema general de un experimento de TLC (Peter, 2005).

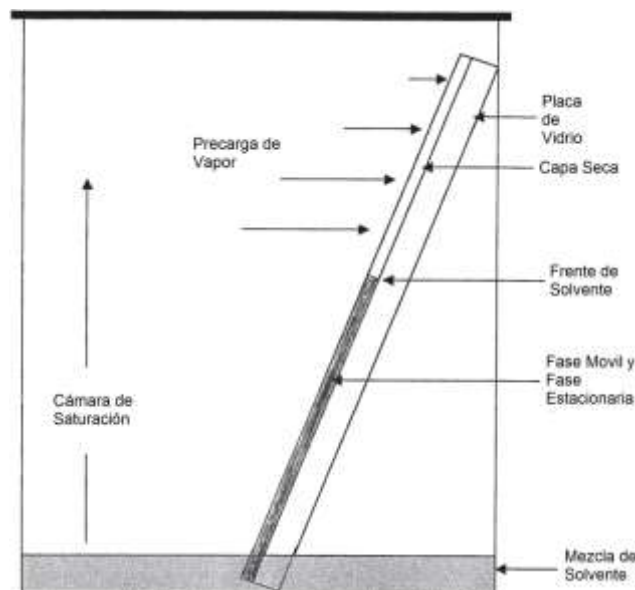


Figura 6. Esquema general de cromatografía de capa fina. Adaptado de Peter (2005). *Thin-layer Chromatography A Modern Practical Approach*.

La cromatografía de capa fina tiene aplicación en distintos sectores de la industria e investigación como en el caso de la industria farmacéutica donde permite separar analitos de interés como enantiómeros deseados o indeseados, o metabolitos con actividad antimicrobiana provenientes de fuentes naturales, también es una herramienta útil en la determinación y separación de tintes, lípidos, carbohidratos, esteroides, pesticidas, alcaloides, compuestos aromáticos, nucleótidos, ácidos carboxílicos, nitrocompuestos y en general una amplia gama de analitos de interés (Ágnes, 2018; Cid-hernández, Dellamary-toral, González-ortiz, Sánchez-peña, & Pacheco-moisés, 2018; Peter, 2005).

El parámetro para deducir si una sustancia está presente en una matriz compleja es el factor de retardo (Rf), el cual es la relación entre la distancia de migración de la sustancia y la distancia de migración del frente del solvente al origen (Ecuación 1).

$$Rf = \frac{\text{distancia de migración del analito de interes}}{\text{distancia de migración del frente del solvente al origen}}$$

Ecuación 1. Expresión matemática del factor de retardo (Rf)

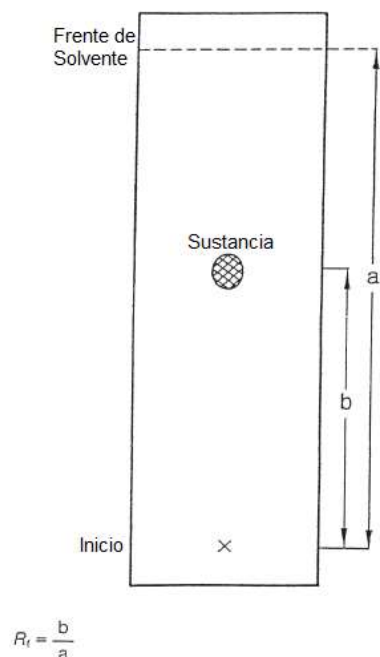


Figura 7. Representación de la medida del valor de R_f . Adaptado de Peter (2005). *Thin-layer Chromatography A Modern Practical Approach*

Es posible realizar análisis semicuantitativo mediante TLC comparando el diámetro y la intensidad de la mancha respecto a un patrón de concentración conocida. También se puede realizar un análisis cuantitativo mediante densitometría y espectrofotometría, en el primer caso se mide la luz transmitida o reflejada de la sustancia y en el segundo se lleva a cabo un análisis por fluorescencia o fluorescencia con quenching (Peter, 2005).

6. Antecedentes

El “bisfenol a” fue sintetizado por primera vez en 1891 por el químico ruso Aleksandr Dianin y es usado como monómero o parte de la formulación en resinas epoxi y policarbonatos. No obstante, se ha encontrado que este agente tiene habilidad para imitar estrógenos por lo cual se ha denominado disruptor endocrino, de tal suerte se han realizado diversos estudios sobre su toxicidad y su presencia en diferentes matrices; en 1936 fue reportado por primera vez como imitador estrogénico usando como sujetos de prueba ratas hembra (Doods & Wilfrid, 1936). Sin embargo, tan solo en los últimos 10 años ha cobrado fuerza la regulación de esta sustancia (Authority, 2017). Existe una vasta cantidad de artículos acerca de la concentración de este disruptor endocrino en recipientes de alimentos como enlatados o termos fabricados de policarbonatos, incluso en biberones caso puntual de mayor debate (Nikahd & Khalilzadeh, 2016; Onghena et al., 2016; Rodriguez, Castillo, & Sinuco, 2019). En general, la concentración de este agente en recipientes para alimentos se ha encontrado entre 1 y 350 ng/mg e incluso se han determinado estimaciones teóricas obteniendo valores 42.2 y 19.8 ng/mL para muestra de alimentos como la miel (Heath & Heath, 2016).

Además del caso de recipientes de alimentos existen interesantes reportes acerca de la determinación de BPA y otros tipos de bisfenol en otras matrices como lo son los lodos de las plantas de tratamiento de aguas residuales en diferentes partes del mundo: en China, un estudio realizado en 7 plantas de tratamiento de aguas residuales de Xiamen concluyó que en las plantas de tratamiento entran alrededor de 2075 g de diferentes tipos de bisfenol y salen a las fuentes

hídricas entre 246 y 63 g por día (Sun et al., 2017); estudios llevados a cabo en Corea muestran concentraciones incluso de 25000 ng/g de lodo por día y lo asocian principalmente a residuos de la industria papelera y textil (Lee et al., 2015); en Estados Unidos se estima entre 1490-1790 kg de “bisfenol a” son liberados al vertedero y encontrado en los lodos, según datos reportados por la EPA (Yu et al., 2015).

En los últimos años se han llevado a cabo varias investigaciones respecto al “bisfenol a” en muestras de papel térmico. Esto se ha dado debido a la falta de consideración de estas matrices en los estudios toxicológicos de los entes reguladores. Incluso a principios del año 2000 se reportó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas GC-MS (por sus siglas en inglés) una concentración entre 10300 y 63 ng/L de BPA en los efluentes de plantas de una reciclaje de papel en Japón (Fukazawa et al., 2002). En 2004, en Alemania se determinó por GC-MS que muestras de papel higiénico comercial contenían entre 3,2 y 46,1 mg/kg de BPA (Gehring, Vogel, Tennhardt, Weltin, & Bilitewski, 2004). Cabe resaltar que la mayor fuente de contaminación en las plantas de reciclaje es el papel térmico, ya que este último se mezcla con los demás papeles usados, haciendo imperativo estudiar y cuantificar la sustancia en este papel. Las técnicas más empleadas para determinar BPA en estas muestras son cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas LC-MS (por sus siglas en inglés) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas GC-MS. En 2011 Ted Mendum y asociados determinaron por GC-MS y una previa derivatización con yoduro de trimetilsililo en solución de piridina que la cantidad de BPA en muestras de papel térmico de 12 pulgadas estaba entre 3 y 19 (Mendum et al., 2011). En Brasilia se reportaron concentraciones de BPA y BPS en muestras aleatorias de papel analizadas mediante LC-MS usando la técnica de electrospray ESI

(por sus siglas en inglés) con resultados de hasta el 4.3 % (Rocha, Azevedo, Gallimberti, Campiglia, & Barbosa, 2015). En términos generales, se han reportado concentraciones de BPA en papel térmico entre 2,93 y 42600 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Boer, Ballesteros-g, & Bj, 2017). A pesar de las cuantiosas investigaciones acerca del “bisfenol a” y el papel térmico, en Colombia a la fecha existen pocas investigaciones acerca de este tema y específicamente de la concentración de BPA en la matriz de papel térmico solo una realizada por el investigador Wei Wang y su grupo de colaboradores quienes encontraron mediante la técnica LC-ESI-MS/MS que la concentración de BPA esta entre 1 y 280 ng g^{-1} (Wang et al., 2015).

7. Metodología

7.1 Recolección de muestra de papel térmico usado

El papel térmico usado se recolectó de distintas fuentes como cajeros automáticos, supermercados, peajes, terminales de transporte y salas de cine. Aproximadamente 2 kilogramos de muestra fueron recolectados con el fin de tener suficiente material de trabajo y se almacenaron en una bolsa aislada de la humedad y la radiación solar.

7.2 Caracterización por espectroscopia de absorción IR de papel térmico usado

Se tomaron espectros de infrarrojo entre 400 y 4000 cm^{-1} en distintas muestras de papel térmico empleando para ello un espectrofotómetro de infrarrojo BRUKER TENSOR II, usando la técnica de reflectancia total atenuada ATR (por sus siglas en inglés), tal como se observa en la Figura 8.



Figura 8. Espectrofotómetro de infrarrojo BRUKER TENSOR II acoplado a accesorio de reflectancia total atenuada ATR Platinum ATR

7.3 Síntesis de Bisfenol a

Antes de llevar a cabo la síntesis del BPA se preparó el catalizador $ZnCl_2$ en HCl, para lo cual se agregó cerca de 1 [g] de ZnO en un Erlenmeyer de 25 mL. Seguidamente se adicionaron 5 mL de HCl concentrado (37%) y se calentó en una placa de calentamiento casi a sequedad.

En un sistema de síntesis con reflujo se calentó el catalizador previamente preparado, 10 [g] de fenol y 4 mL de acetona. El sistema se mantuvo a una temperatura de 120 ± 10 °C y la síntesis se llevó a cabo durante 5 horas. A posteriori, se llevó la mezcla obtenida a un vaso de precipitados de 25 mL y se calentó durante 15 minutos alrededor de 60 °C con el fin de eliminar la acetona remanente. Se calentó el agua destilada con la cual se precalentará el embudo de separación en el que se llevaron a cabo extracciones líquido-líquido. Se lavó el vaso de precipitados donde estaba el sistema de síntesis con 20 mL de agua destilada a 50°C y se trasvasó este contenido en el embudo. Luego se lavó con 10 mL de xileno y se añadió al embudo donde se realizó de nuevo este procedimiento de lavado y finalmente se llevaron a cabo 3 extracciones líquido-líquido adicionando agua destilada a 50°C. El agua destilada sirvió para eliminar el catalizador remanente.

Con el fin de dejar el sistema libre de agua se agregó sulfato de sodio anhidro, se llevó la solución a un vaso de precipitados de 100 mL y se añadió 50 mL de xileno en exceso. Finalmente, se enfrió el sistema en un termo con hielo durante 24 horas hasta obtener cristales. Se filtró y determinó el peso de los cristales obtenidos.

7.4 Caracterización de Bisfenol A

Con el fin de caracterizar los cristales obtenidos se midió 3 veces el punto de fusión de los mismos mediante un fusiómetro Thermo Scientific MEL-TEMP 3.0, tal como se observa en la Figura 9. En el rango de 80 -250°C se obtuvo un promedio de dichas mediciones y se comparó con el valor reportado en el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST).



Figura 9.Fusiómetro Thermo Scientific MEL-TEMP 3.0

También se tomó el espectro infrarrojo empleando un espectrofotómetro BRUKER TENSOR II usando la técnica de reflectancia total atenuada ATR empleado en la región del

infrarrojo medio entre 400 y 4000 cm^{-1} y el espectro UV-VIS haciendo uso de un espectrofotómetro UV- VIS UV-24PC SHIMADZU empleado entre 190 y 800 cm^{-1} , tal cual como se visualiza en la Figura 10.



Figura 10.Espectrofotómetro UV-VIS UV-24PC SHIMADZU

7.5 Extracción Soxhlet usando alcohol etílico como disolvente

Se realizó la extracción Soxhlet empleando como extractante alcohol etílico, usando un aparato para extracción Soxhlet convencional tal como el observado en la Figura 11.



Figura 11. Extractor Soxhlet Convencional con muestra de Papel térmico

Como primera medida se pesó la cantidad de papel térmico necesario para llenar todo el compartimiento de muestra y se llevó a cabo la extracción manteniendo el sistema a 80 ± 5 °C durante 36 horas con el fin de llevar a cabo extracciones exhaustivas. Finalmente, se destiló el extracto para recuperar el solvente y se almacenó el extracto para su posterior análisis por cromatografía de capa fina, espectroscopia FTIR y espectroscopia UV-VIS.

7.6 Caracterización de papel térmico usado post extracción Soxhlet

Se caracterizó el papel térmico obtenido posteriormente a la extracción mediante espectroscopia de absorción IR usando un Espectrofotómetro de infrarrojo BRUKER TENSOR II acoplado a accesorio de reflectancia total atenuada ATR Platinum ATR empleado en la región del infrarrojo medio entre 400 y 4000 Cm^{-1} .

7.7 Caracterización de extractos

Se caracterizó el extracto obtenido posteriormente a la extracción mediante espectroscopia de absorción IR usando un Espectrofotómetro de infrarrojo BRUKER TENSOR II acoplado a accesorio de reflectancia total atenuada ATR Platinum ATR empleado en la región del infrarrojo medio entre 400 y 4000 Cm^{-1} , espectroscopia UV-VIS empleando un espectrofotómetro UV-VIS UV-24PC SHIMADZU empleado entre 190 y 800 cm^{-1} y por cromatografía de capa fina TLC. Cabe mencionar que para tomar el espectro UV-VIS se preparó una solución de 20 ppm del extracto en un balón de 1 litro usando como solvente agua destilada.

7.8 Análisis cualitativo de extracto post-extracción mediante cromatografía de capa fina (TLC)

7.8.1 Preparación de placas para técnica de cromatografía de capa fina (TLC). Se prepararon las placas para TLC cortando láminas de vidrio con dimensiones aproximadas de 5 x 10 cm las cuales fueron el soporte para el sorbente de gel de silica. La fabricación del gel de silica se realizó de acuerdo a lo estipulado por (Peter, 2005) agitando vigorosamente 30 gramos de sorbente en 60 mL de agua destilada, empleando para esto el sistema de agitación mostrado en la Figura 12 a.

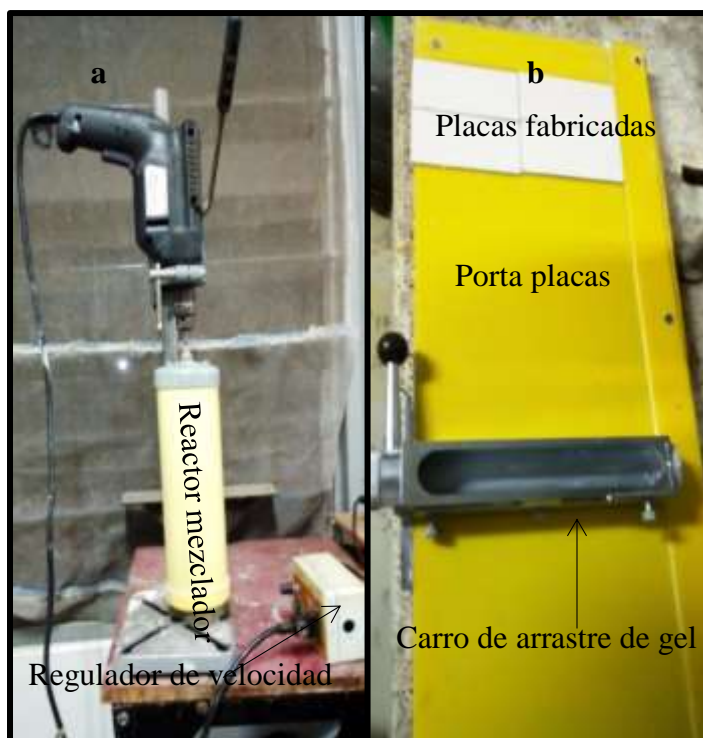


Figura 12.a. Equipo para fabricación de gel de silica **b.** Equipo para adición de gel de silica en placas.

impregnación del gel de silica se llevó a cabo mediante un equipo de fabricación propia del laboratorio, el cual se puede observar en la Figura 12.b. Se ajustó el espesor de la placa a 0,5

mm y en el carro de arrastre de gel silica se colocaron las placas sobre el porta placas y se agregó el mismo sobre las placas girando la palanca y arrastrando el carro de arrastre de gel a la misma velocidad por la superficie del porta placas.

Se dejaron secar las placas por media hora y posteriormente se almacenaron en un sitio alejado del polvo y la polución. Posterior al secado se calentó cada placa durante 30 minutos a $95 \pm 5^\circ\text{C}$ en el horno de convección de la Figura 13.



Figura 13. Estufa de convección y multímetro con termocupla

7.8.2 Preparación de cámara para revelado. Con el fin de tener un método de revelado práctico, económico y afín con la naturaleza del analito en cuestión, se eligió una cámara de revelado de yodo que fue fabricada para el proyecto (ver Figura 14).



Figura 14. Cámara de revelado para cromatografía de capa fina

Para lo anterior se empleó una lámina de acrílico verde y transparente, se cortaron las diferentes caras de la cámara mediante un mototool y se pegaron empleando para ello diclorometano comercial. Finalmente, se agregaron cristales de yodo a la cámara.

7.8.3 Ensayos de Cribado y determinación del R_f por cromatografía de capa fina (TLC) para el patrón de 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol (bisfenol a) de interés. Se evaluaron como eluyentes solventes de distintas polaridades como etanol, metanol, acetonitrilo, diclorometano, acetato de etilo, xileno y mezcla de los mismos con el fin de encontrar el eluyente adecuado para el analito Bisfenol A. Se empleó finalmente una mezcla 10:3 de xileno y acetato de etilo ya que permitió un buen desplazamiento del analito. Cabe mencionar que la

solución empleada del BPA tenía una concentración de 20 ppm y el solvente usado en esta fue el diclorometano.

7.8.4 Determinación de 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol de extractos mediante comparación de Rf del patrón y las bandas de TLC obtenidas de los extractos. Se agregó una solución del extracto de bisfenol en el punto o línea de inicio y se contrastó el promedio de los Rf de las bandas o manchas obtenidas por la técnica TLC.

7.9 Análisis semicuantitativo mediante espectroscopia UV-VIS de extracto

Se preparó una solución stock de 20 ppm de patrón de BPA la cual se empleó para preparar soluciones de 10, 5 y 2 ppm. Seguidamente se tomaron los espectros UV-VIS empleando un espectrofotómetro UV-VIS UV-24PC SHIMADZU operado entre 190 y 400 cm^{-1} . Se registraron los valores correspondientes de absorbancia para la banda de mayor longitud de onda (276 cm^{-1}). Finalmente, se elaboró la curva de calibración y se determinó la expresión matemática inherente a la ley de Lambert Beer mediante regresión lineal con el programa Origin Pro 2017.

Por otro lado, se empleó una solución de 20 ppm de extracto en agua destilada y se tomó el espectro UV-VIS de esta bajo las mismas condiciones de las soluciones de la curva de calibración. Finalmente se despejó el valor de concentración inherente a esta solución mediante la ecuación previamente obtenida.

8. Resultados

Se empleó la espectroscopia IR debido a la posibilidad que ofrece para medir de manera rápida características estructurales de compuestos orgánicos como la celulosa y el BPA, de tal suerte que es posible emplear esta técnica a nivel industrial donde el tiempo es un factor determinante.

La extracción Soxhlet se empleó con el fin de evaluar la eficiencia de esta misma en la eliminación de un contaminante como el BPA y de esta manera pensar en llevar esta metodología a escala piloto o incluso a nivel industrial. Además, esta técnica permite tener el compuesto de interés en un estado asequible para caracterizarlo mediante técnicas espectroscópicas.

Por otro lado, las técnicas cromatográficas son claves para dar peso a la determinación de un componente como el BPA en extractos, razón por la cual se empleó la cromatografía de capa fina para este fin debido a su bajo costo.

8.1 Caracterización de celulosa

Las bandas de transmitancia características de la celulosa se destacan en la Tabla 1. Allí es posible observar las vibraciones de estiramiento de enlaces -OH de carácter polimérico (3321 Cm^{-1}), la tensión de enlaces C-H (2891 Cm^{-1}) así como los estiramientos C-OH en alcoholes primarios ($1054 - 975 \text{ Cm}^{-1}$) y secundarios (1110 Cm^{-1}). También se evidencian las vibraciones de tijereteo características del enlace CH_2 (1460 Y 1455 Cm^{-1}).

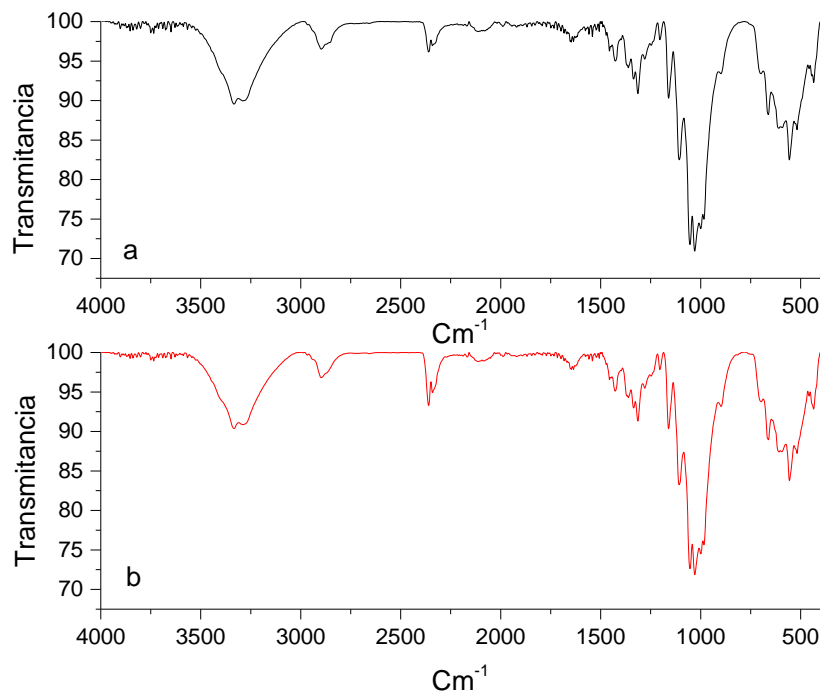


Figura 15.a. Espectro FTIR de Papel filtro franja azul (negro) **b.** Espectro FTIR de algodón

Tabla 1. Bandas de transmitancia en muestras de celulosa

Grupo	Posición	Coficiente	Forma	Fenómeno y
-------	----------	------------	-------	------------

				Observaciones
Alcohol Polimérico	3321	Alrededor de 90	Ancho	Vibración de estiramiento del enlace O-H
CH	2891	96	Mediano	Vibración de tensión del enlace C-H
COH	1110	86	Delgado	Estiramiento de enlace C-OH en alcohol secundario
	1054	72	Delgado	Estiramiento
	1034	73	Delgado	de enlace C-OH
	999	75	Delgado	en alcohol
	975	87	Delgado	primario
CH ₂	1460	95	Delgado	Tijereteo de
	1455	94	Delgado	-CH ₂ -
COC	1201	98	Delgado	Flexión
	1278	97	Delgado	asimétrica C-O-C
	1160	90	Delgado	
	698	97	Mediana	

C-OH	667	92	Mediana	Vibración de
	604	95	Mediana	torsión C-OH
	559	87	Delgada	

Por otro lado, tal como se muestra en la Figura 15, se analizaron las bandas correspondientes a una muestra de papel filtro franja azul y a una muestra de algodón de lo cual se observó que las señales de sus grupos funcionales se encontraban perfectamente superpuestas, con lo cual cualquiera de las dos matrices se puede emplear como blanco de comparación.

8.2 Caracterización FTIR de muestras de papel térmico

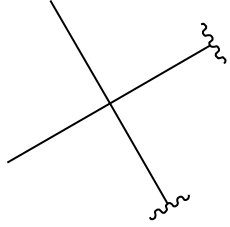
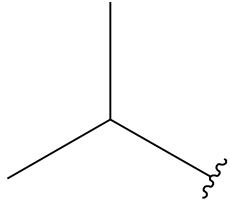
Con el ánimo de estudiar los grupos funcionales en distintas muestras de papel térmico se empleó la espectroscopia FTIR de lo cual se obtuvieron los resultados mostrados en la Tabla 2.

Tabla 2. Bandas de transmitancia en el infrarrojo para distintos papeles térmicos

Muestra Grupo	Supermercado Local	Cinema Local	Peaje	Centro Comercial	Terminal de Transporte
Alcohol Libre	N/A	N/A	3691	N/A	N/A

			3448 y		
			3620		
Alcohol	3352	3355 y	3355	3391 Y	3335
Polimérico		3313		3358	
Estiramientos	3059	3056	N/A	N/A	3059
C-H de					
insaturaciones o	3048	3027			3028
aromáticos					
Tensión	2954	2954	2953	2954	2954
asimétrica del -					
CH ₃)					
Tensión	2915	2916	2916	2916	2916
asimétrica del (-					
CH ₂ -)					
Tensión	2869	2871	2871	2871	2868
simétrica del					
enlace del (-CH ₃)					
Vibración de	2851	2849	2848	2849	2847
tensión simétrica					

del enlace(-CH ₂ -)					
Flexión del N- H en aminas primarias	1617	1626	1616 (tijera)	1646	1620
				1616 (tijera)	
Nucleo bencénico (Ph)	1599	1598	1599	1597	1598
	1508	1508	1509	1507	1508
Flexión del N- H en aminas secundarias	1539	1540	1539	1558	1536
				1539	
Tijera -CH ₂ -	1453	1448	1456	N/A	N/A
Tijera -CH ₂ - desplazada por hiperconjugación en grupo -CH ₂ -N ⁺	1432	1434	1434	1406	1421
	1411	1411	1413		1416
Estiramiento Φ-N	1287	1256	1287	1288	12877
			1256		
Estiramiento del C-OH en fenoles	N/A	1241	1244	1241	1243

	1219	1215	1218	N/A	1217
	1178	1175	1177	N/A	1178
Flexiones (C-H) inherentes a sustitución para en aromáticos	872	839	827	871	874
	827	828		848	
		818		830	827
Flexiones (C-H) inherentes a sustitución meta en aromáticos	790	790	790	757	790
				712	712
Flexiones (C-H) inherentes a sustitución orto en aromáticos	746	743	747	747	744
		727			

Torsión del C-	696	691	692	697	658
OH					

A partir de las bandas de transmitancia de distintas fuentes de papel térmico es posible observar la similitud en los espectros de estas, sugiriendo que sus componentes son semejantes o por lo menos tienen los mismos grupos funcionales. Se obtuvieron dos bandas anchas alrededor de 3350 y 3320 inherentes a alcoholes poliméricos. Esta señal es esperada, ya que las matrices evaluadas están hechas en gran parte con celulosa, un polímero con grupos hidroxilos (OH).

Además, se visualizaron señales características de alcanos como tensiones simétricas y asimétricas de metilos ($2955, 2871 \text{ cm}^{-1}$) y metilenos ($2916, 2846 \text{ cm}^{-1}$), vibraciones tipo tijera de $-\text{CH}_2-$ (1460 cm^{-1}) y vibraciones tipo tijera de $-\text{CH}_2-$ desplazadas por hiperconjugación con N^+ , esta última señal se debe presuntamente por el colorante. Investigadores mencionan la presencia del cristal violeta lactona en muestras de papel térmico y la estructura de este compuesto contiene un grupo funcional $-\text{CH}_2-\text{N}^+$. (Mendum et al., 2011).

Otras señales a resaltar son las observadas en 3059 y 3027 cm^{-1} en los espectros de papel térmico del Fruver local, el supermercado local y el cine Colombia, las cuales son debidas a la tensión en metino y metilenos respectivamente en grupos epoxi. Cabe mencionar que la señal inherente al metino se encuentra desplazada, posiblemente por influencia de grupos cíclicos o aromáticos unidos a él, lo cual sugiere también que estas vibraciones son debido a la presencia de un colorante como el cristal violeta lactona. Con el fin de dar peso a esta suposición es

inevitable analizar la presencia de un grupo carbonilo en todas las matrices de papel térmico en 1741 y 1747 cm^{-1} el cual hace parte también de la estructura del cristal violeta lactona.

Hasta ahora hemos analizado señales inherentes a un posible colorante y a la celulosa del papel, no obstante, el interés de la investigación se centra en el compuesto bisfenol a (BPA) y como se esperaba los espectros FTIR de las muestras de papel térmico tienen los grupos funcionales que también se encuentran en el BPA. Las señales entre 3100 y 3000 de los papeles térmicos corresponden a estiramientos de metinos (C-H), no obstante hay que ser cuidadosos ya que en este rango también se encuentran los metinos y metilenos evidenciadas en 3059 y 3027. De igual forma, el BPA tiene grupos metilos de los cuales ya se mencionó la presencia de tensiones simétricas, asimétricas en los espectros de papeles térmicos.

Un aspecto característico del BPA es su aromaticidad. En relación a esto se evidencian las señales debido al núcleo bencílico alrededor de 1600 y 1500 cm^{-1} , además las flexiones en el plano Ph-H (1220-950 Cm^{-1}) con poca utilidad y de las cuales algunas se superponen con señales características de grupo isopropil $(\text{CH}_3)_3\text{CH}$ - (1175) y de carbono cuaternario $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ (1217 Cm^{-1}) inherentes a la estructura del BPA. Además, vibraciones de estiramiento Ph-OH también son observables alrededor de 1240 Cm^{-1} pero son superponibles con señales características de C(alifático)-N en grupo tipo anilina. Señales en $660 \pm 50 \text{ Cm}^{-1}$ son principalmente debido a vibraciones de torsión del enlace C-OH y estas se encuentran tanto en el BPA como en la celulosa.

Existen pequeñas variaciones en frecuencia en los grupos funcionales para las distintas muestras. Sin embargo, el papel térmico de Invias y el papel térmico sin imprimir presentan en su

espectro señales propias de un alcohol libre ($3691\text{-}3618\text{ Cm}^{-1}$) y estas señales no se observan ni en el espectro de celulosa ni en el BPA, por lo tanto, podría tratarse de contaminación o implicar diferencias en los colorantes de algunos papeles térmicos.

En principio un equipo de investigadores (Mendum et al., 2011) establecen que en el papel se encuentra la tinta que es liberada por el efecto del calor. No obstante, con el fin de evaluar lo anterior, se realizó el comparativo entre el espectro FTIR de una sección con tinta y otra sin tinta en el mismo papel térmico, tal como se puede observar en la Figura 16.

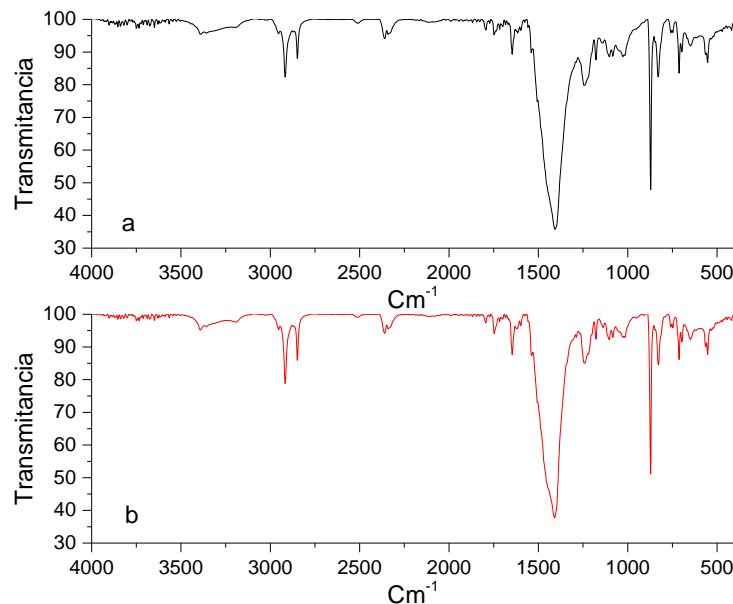


Figura 16.a. Espectro FTIR de Papel térmico de homecenter parte con tinta **b.** Espectro FTIR de papel térmico de homecenter parte sin tinta

Por otro lado, se observó en la Figura 16 que independientemente del sector del papel del cual se tome el espectro de transmitancia FTIR no hay diferencia en las bandas de vibración, es decir, la tinta se encuentra en el papel.

8.3 Síntesis de BPA

Se obtuvieron 2,22 [g] de BPA sintetizado en forma de cristales, tal como se puede observar en la Figura 17.

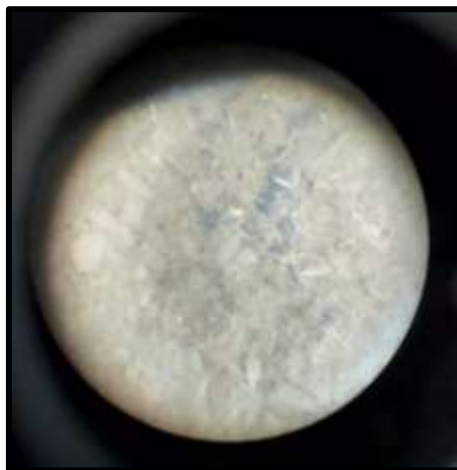


Figura 17. Cristales de BPA sintetizado observado en estereoscopio

8.3.1 Puntos de fusión del BPA sintetizado. A partir de la técnica clásica de la determinación del punto de fusión y las técnicas de análisis instrumental de espectroscopia FTIR

y espectroscopia UV VIS, se analizó la síntesis del BPA y se obtuvieron los resultados expuestos a continuación:

Tabla 3. Puntos de fusión de BPA sintetizado

Punto de fusión	Punto de Fusión promedio	Punto de fusión de literatura	Porcentaje de error
156,9 – 157,7			
157,0 - 157,7	157,3	158	0,44 %
157,0 - 157,7			

Tal como es posible analizar en la Tabla 3, los puntos de fusión obtenidos para el compuesto sintetizado son cercanos al valor indicado en la literatura. Por tal razón, es presumible que se ha logrado sintetizar exitosamente el compuesto, aunque debe evaluarse mediante las técnicas espectroscópicas con el fin de dar peso a esta hipótesis.

8.3.2 Espectro FTIR de BPA sintetizado

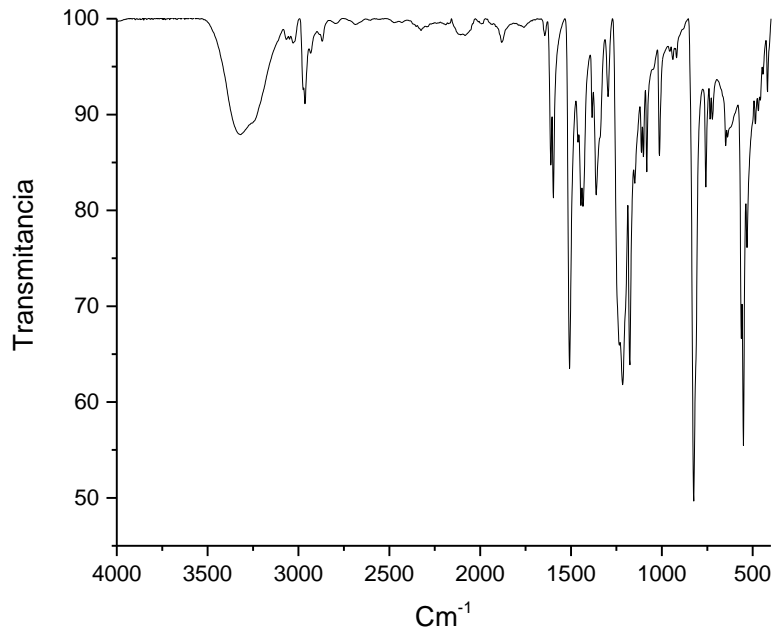


Figura 18.Espectro FTIR de BPA sintetizado

Al evaluar las bandas de transmitancia mostradas en la Figura 18 y la Tabla 1^a (anexos) del espectro del patrón (presuntamente Bisfenol a) se observan señales correspondientes a aromáticos 1611, 1597, 1508 Cm^{-1} (núcleo bencílico), flexiones en el plano entre 1112 a 957 Cm^{-1} (C-OH), flexiones fuera del plano C-H por debajo de 900 cm^{-1} que dan idea del tipo de sustitución observada en el compuesto aromático. Aquí es posible observar que hay sustitución “para” y “orto”, esto puede sugerir la obtención del isómero “para” de interés en mayor proporción, pero también el isómero “orto”. Sin embargo, cabe mencionar que según la literatura es difícil de obtener puro el isómero “para” y, a excepción de la síntesis de

policarbonato, no es un impedimento para sus aplicaciones. Podemos observar una señal característica de grupos fenoles en 1234, 649 y 638 Cm^{-1} . También es posible observar las señales de tensión simétrica y asimétrica de grupos metilos y metilenos (2974-2869 cm^{-1}) además de las vibraciones de flexión simétrica y asimétrica para el grupo metilo (1462-1361) y la vibración tipo tijera para el metileno (1446 cm^{-1}). Además, cabe resaltar la señal en 1215 cm^{-1} es fundamental para elucidar la estructura ya que es inherente a un carbono cuaternario y así mismo las señales en 1175 y 1145 cm^{-1} son características de un grupo isopropil añadiendo a esto la presencia de una banda en 1384 cm^{-1} lo cual sugiere presencia de grupos gem dimetilos.

8.3.3 Espectro UV-VIS de BPA sintetizado. Las bandas observadas en el espectro UV VIS de la Figura 19 se deben al accionar del benceno como grupo cromóforo, en esencia a transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ y corresponden a la banda α (276 nm), a la banda ρ (225 nm) y a la banda β del benceno a 199 nm.

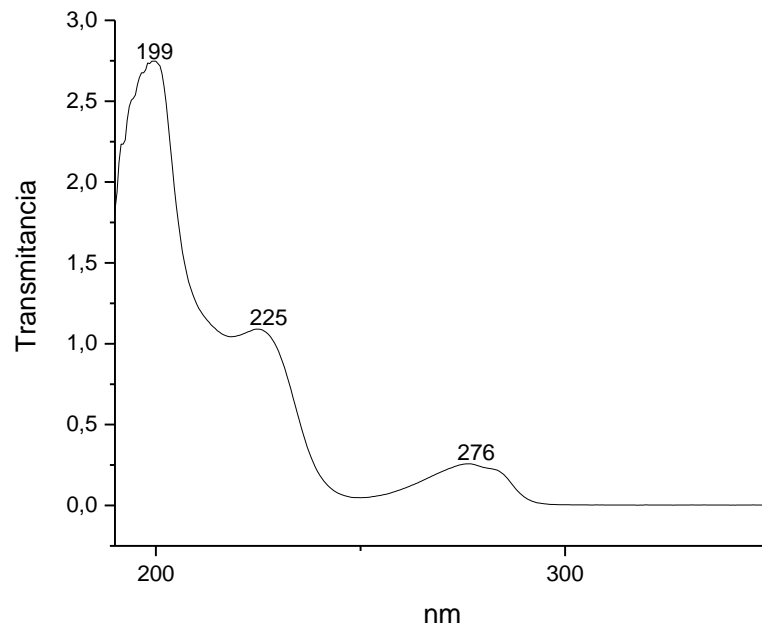


Figura 19.Espectro UV VIS de bisfenol A en agua (20 PPM) tomado en espectrofotómetro UV-VIS UV-24PC SHIMADZU.

Además, las bandas no se encuentran en la posición exacta para las transiciones del benceno ya que en el BPA el cromóforo benceno esta sustituido en posición “para” con el hidroxilo (OH) que posee el heteroátomo O que causa un corrimiento batocrómico.

8.4 Extracción Soxhlet

Los resultados de la masa del papel térmico antes y después de la extracción se tomaron por triplicado en una balanza de precisión RADAG.

Tabla 4. Extracciones con solvente

Solvente	Masa inicial	Masa final	Porcentaje extraído
Etanol	37,54	36,15	3,70%

De lo anterior se deduce que se obtiene un extracto de 1,39 gramos y un porcentaje de extracción del 3,70%. Su bajo valor concuerda con que la matriz de análisis es en su mayoría papel que no es soluble en alcohol etílico.

8.5 Caracterización de extractos

Tal como se observa en la Figura 20 el espectro del extracto (a) hay una gran similitud con el espectro del BPA (b) y sus diferencias radican exclusivamente en las intensidades de las bandas y en la resolución. Lo anterior posiblemente se deba a las diferencias morfológicas entre el extracto y el BPA, pues mientras el extracto es un sólido amorfo el BPA se encuentra en estado cristalino en forma de agujas.

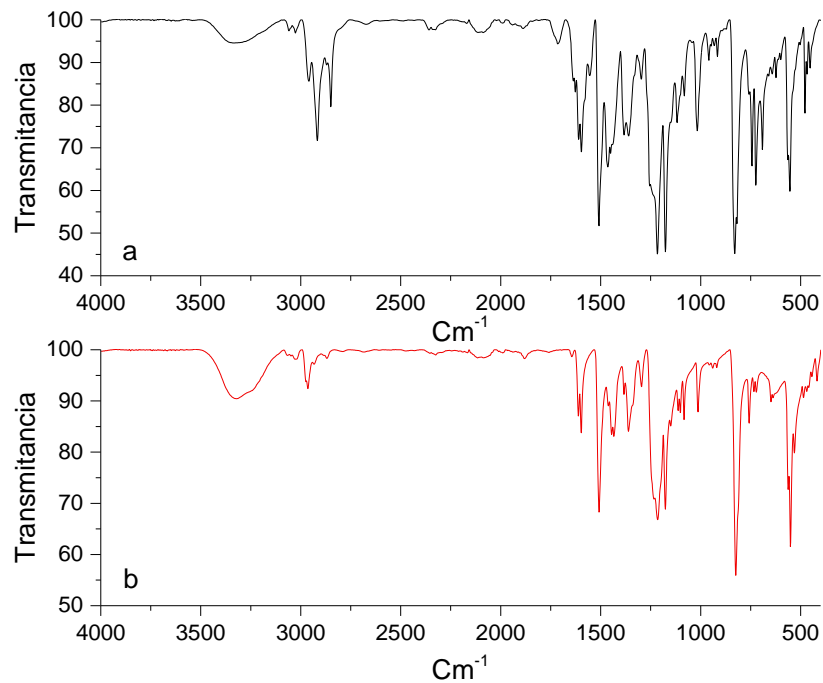


Figura 20.a. Espectro FTIR-ATR de extracto. **b.** Espectro FTIR-ATR de bisfenol A sintetizado.

Pese a lo anterior, al evaluar las bandas de transmitancia del Bisfenol A y el extracto se observan las mismas señales correspondientes a insaturaciones por encima de 3000 cm^{-1} inherentes a aromáticos. Así mismo, bandas en 1611 , 1597 , 1508 cm^{-1} se relacionan con el núcleo bencílico, flexiones en el plano entre 1112 a 957 cm^{-1} (C-OH), flexiones fuera del plano C-H por debajo de 900 cm^{-1} dan idea del tipo de sustitución observada en el compuesto aromático. Aquí es posible observar que hay sustitución para y orto. Además, cabe resaltar la señal en 1215 cm^{-1} es fundamental para elucidar la estructura ya que se debe probablemente a un carbono cuaternario

y así mismo las señales en 1175 y 1145 cm^{-1} son características de un grupo isopropil. Por otro lado, la presencia de una banda en 1384 cm^{-1} sugiere la existencia de grupos gem-dimetilos.

8.6 Caracterización de papel post extracto

En relación con el papel post extracto se evidencia la eliminación de las bandas aromáticas inherentes al BPA, tal como se observa en la Figura 21.

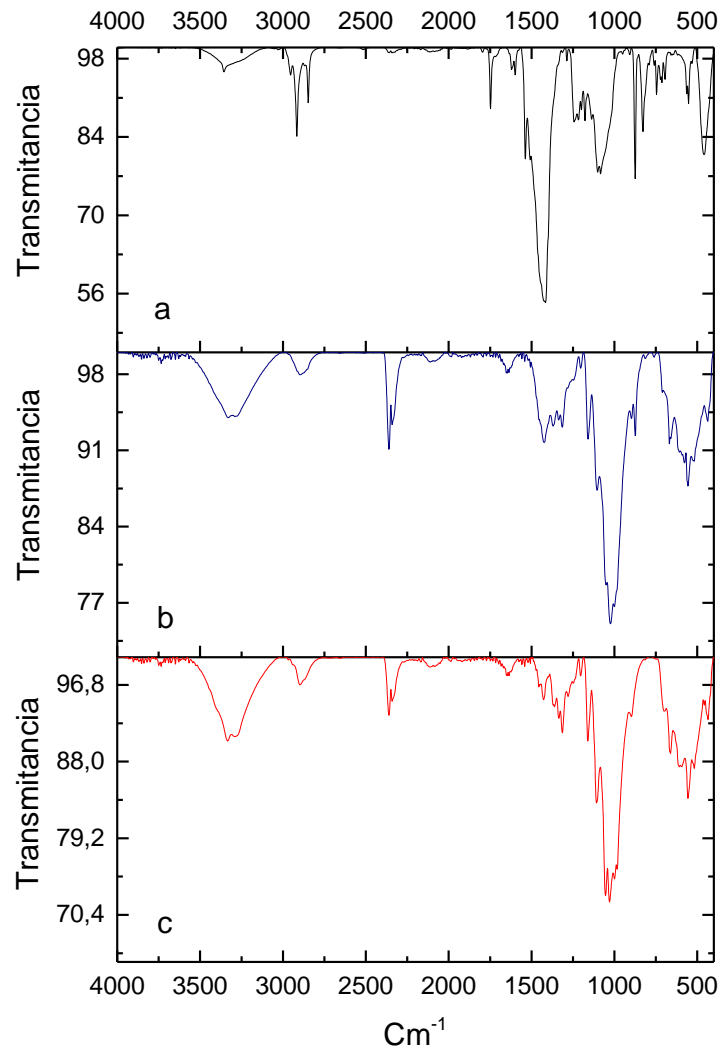


Figura 21. a. Espectro FTIR-ATR papel térmico inicial. b. Espectro FTIR-ATR papel térmico post extracción. c. Espectro FTIR-ATR de celulosa en papel filtro franja azul.

Es destacable la pérdida de las bandas aromáticas de tensión del C-H por encima de 3000 cm^{-1} , así como la reducción de la banda de tensión C=C del núcleo bencílico. Se observan pequeños rezagos de bandas inherentes a la sustitución para y orto en 814 y 760 cm^{-1} . De lo anterior puede

concluirse que el BPA ha sido extraído casi en su totalidad. No obstante, existen señales que pueden generar la sospecha de que al menos respecto a la sensibilidad de la espectroscopia FTIR hay una pequeña cantidad de BPA.

8.7 Cromatografía de capa fina de extractos

Se llevaron a cabo dos análisis de cromatografía de capa fina: uno preliminar o análisis de cribado en el cual se evaluaron distintos solventes y mezclas de solventes, y un segundo en el que se realizó la búsqueda del parámetro R_f para el extracto y el patrón de BPA.

8.7.1 Cribado de patrón de Bisfenol A y extracto. En la Tabla 5 se especifican los experimentos de cribado llevados a cabo

Tabla 5. Análisis de cribado de patrón de BPA y extracto en diferentes eluyentes

Eluyente	Observación
Eter de petróleo	No hay desplazamiento del patrón
Etanol	El patrón se desliza con el eluyente hasta el frente del solvente

Metanol	El patrón se desplaza con el eluente hasta el frente del solvente
Acetato de Etilo	El patrón se desplaza con el eluente hasta el frente del solvente
Diclorometano	El patrón se desplaza con el eluente levemente, no se observan bandas con el extracto
Xileno	No hay desplazamiento del patrón
Diclorometano/Metanol 10:1	El patrón se desplaza con el eluente hasta el frente del solvente
Diclorometano/Metanol 10:2	El patrón se desplaza con el eluente hasta el frente del solvente
Diclorometano/Acetato de etilo 10:1	El patrón se desplaza con el eluente hasta el frente del solvente
Xileno/Acetato de etilo 10: 0,5	El patrón se desplaza con el eluente levemente, no se observan bandas con el extracto
Xileno/Acetato de etilo 10:1	El patrón se desplaza con el eluente levemente, no se observan bandas con el extracto
Xileno/Acetato de etilo 10:2	El patrón se desplaza con el eluente levemente, se observan

	bandas con el extracto
Xileno/Acetato de etilo 10:3	El patrón se desplaza con el eluente levemente, se observan bandas con el extracto, se escoge esta mezcla de eluentes

Eluyentes apolares como el éter de petróleo o el xileno no generaron un desplazamiento del analito en la fase estacionaria. No obstante, eluyentes polares como el metanol, etanol o el acetato de etilo desplazan el analito hasta el frente del solvente, lo cual es inservible desde el punto de vista analítico. Lo anterior tiene sentido, ya que el BPA es una molécula con cierta polaridad y con tendencia a interactuar mediante puentes de hidrogeno debido a sus grupos hidroxilos, de tal suerte moléculas apolares no serán afines con esta y moléculas polares con grupos hidroxilos tendrán una fuerte interacción. La mezcla de xileno y acetato de etilo mostró mejores resultados, especialmente aquella que contenía 10 volúmenes de xileno por 3 volúmenes de acetato de etilo. Se debe agregar que las placas activadas mostraron mejor desempeño en contraste con las que no se activaron, sugiriendo que el fenómeno de adsorción-desorción no favorece el desplazamiento del analito por la placa.

8.7.2 Análisis de cromatografía de capa fina de extracto. En la Tabla 6 se especifican los valores obtenidos de R_f y el respectivo valor estadístico de la desviación estándar empleando la mezcla de xileno y acetato de etilo 10:3 en volumen.

Tabla 6. Análisis cualitativo de extracto y patrón de BPA por cromatografía de capa fina

Item	Extracto		BPA		Extracto		BPA		Extracto		BPA	
	X	2.0	3.5	2.2	3.9	1.9	3.2	1.8	3.4	2.0	3.4	2.0
Y	6.5		7		6.5		6.5		6.5		6.5	
Rf	0.3	0.5	0.3	0.5	0.2	0.4	0.2	0.5	0.	0.52	0.	0.5
	1	4	1	6	9	9	8	2	30		30	5
	Extracto						BPA					
Rf Promedio	0.30		0.52		0.30		0.54					
Desviación estándar	0,011		0,036		0,011		0,017					
Coefficiente de variación	3,6%		6,92%		3,6%		3,14%					

Es notable que los valores de Rf son cercanos, incluso ambos presentan dos manchas. Sumado a los previos análisis espectroscópicos es posible asumir que el BPA se encuentra en los extractos de papel térmico. El porcentaje de coeficiente de variación si bien no es muy alto, sí se puede

mejorar y obtener resultados más precisos. No obstante, debe considerarse que para la presente investigación se fabricaron las placas y esto contribuye a la dispersión de los valores.

8.8 Análisis UV-VIS de extracto.

En la Figura 22 b se observa el espectro UV-VIS de una solución de 20 ppm del extracto en agua, además del espectro de BPA en agua en una concentración de 20 ppm y 10 ppm.

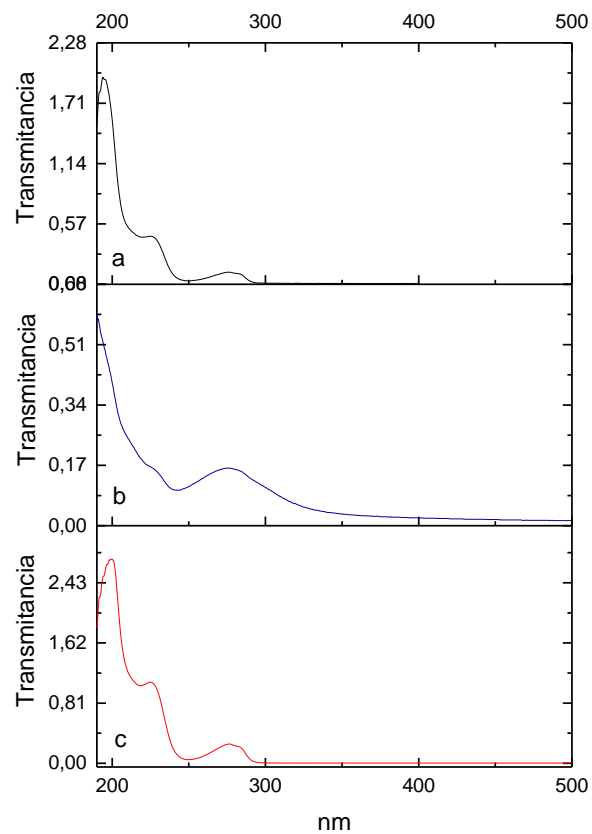


Figura 22.a. Espectro UV-VIS de Bisfenol A en agua (10 ppm). b. Espectro UV-VIS de Extracto en agua (20 ppm). c. Espectro UV-VIS de Bisfenol A en agua (20 ppm)

En principio, es notable que hay una diferencia marcada entre el espectro del extracto y los patrones. Se observa el pico de 276 nm inherente a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ de la banda α del grupo benceno. Por otro lado, respecto al pico de la banda β no es posible visualizar el comportamiento gaussiano posiblemente debido a que está superpuesto con otra banda. Finalmente, la banda ρ esta desplazada a longitudes de onda menores de tal suerte no es posible observarla en el rango de trabajo del equipo (190-400 nm).

8.9 Análisis semicuantitativo por espectroscopia UV-VIS

A partir de la Figura 22 b se concluye que un análisis cuantitativo de BPA en el extracto bajo las condiciones del sistema y de la investigación mediante espectroscopia UV-VIS no es fiable debido a posibles superposiciones con moléculas cromóforas de la matriz, provenientes de las moléculas del colorante. Por otro lado, puede que el extracto no contenga todo el contenido de BPA inherente al papel. Pese a lo anterior se puede sugerir un análisis semicuantitativo que de forma intuitiva permita obtener una aproximación del contenido de BPA en los papeles térmicos recolectados. En este sentido, se determinaron las absorbancias para la banda en 276 nm en soluciones patrón de 20, 18, 10, 5, 2 ppm y de una solución de 20 ppm del extracto tal cual como se observa en la Figura 23.

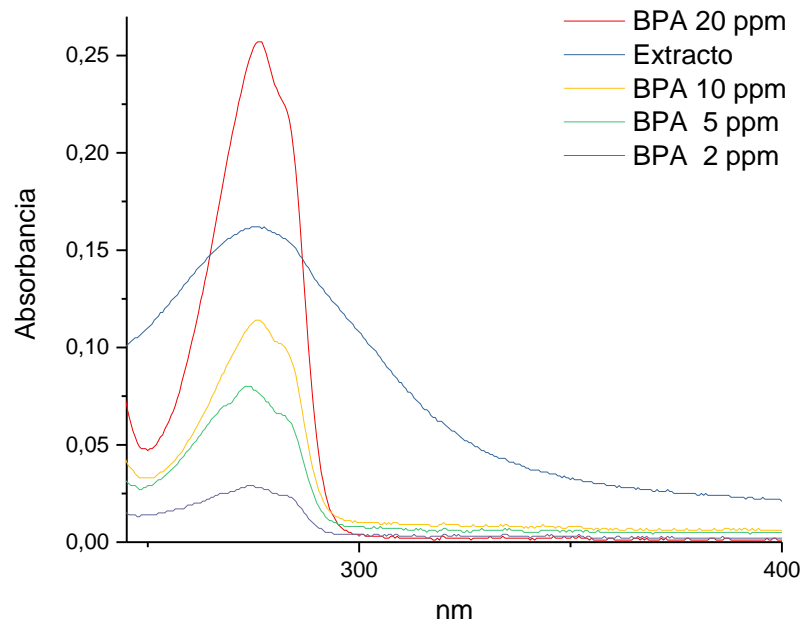


Figura 23.Espectro UV-VIS de banda en 276 nm en soluciones de 20 , 10 , 5 , 2 ppm y de una solución de 20 ppm del extracto.

A partir de los datos dados de absorbancias de la Figura 23 se construyó la gráfica de la Figura 24.

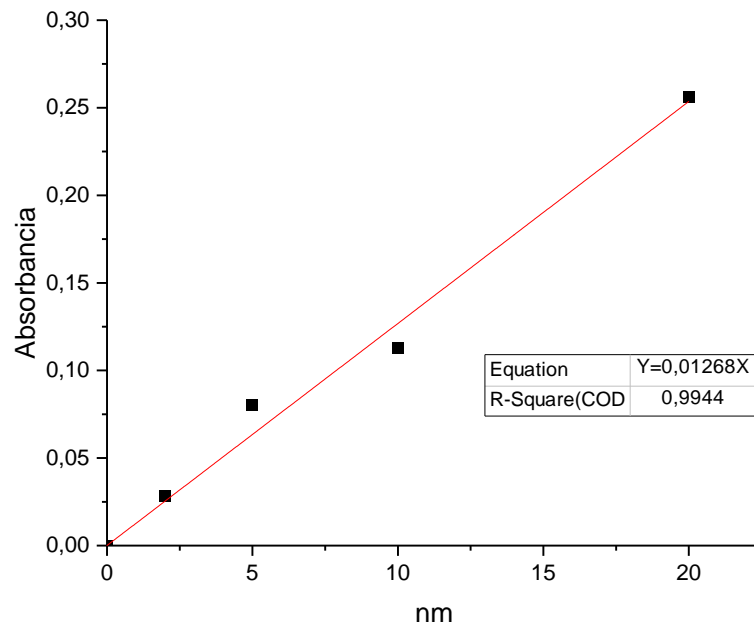


Figura 24. Curva de calibración de BPA

Ya que la celda empleada tiene una longitud de 1 cm, la expresión que define la concentración para la curva de calibración de la Figura 23 según la ley de Lambert Beer es la observada en la Ecuación 2.

$$C = \frac{A}{0,01268}$$

Ecuación 2. Expresión matemática de la concentración de BPA en función de la absorbancia

Ya que la absorbancia del extracto dada en la Figura 22 es de 0,161 es posible reemplazar dicho valor en la Ecuación 2 y así estimar que la concentración en ppm de BPA en el extracto es tentativamente 12,6 ppm. Dicho de otro modo, de los 20 ppm de extracto 12,6 ppm son de BPA; en este sentido se puede calcular la concentración de BPA, ya que se logró extraer 1,39 gramos y el peso total de papel fue 37,54 gramos, tal como se especifica en la Tabla 5. Existe una relación directa entre la masa del BPA y la masa del extracto, a partir de la cual es posible realizar el siguiente cálculo:

$$\frac{1,390 \text{ g de extracto}}{37,54 \text{ g de papel}} * \frac{12,6 \text{ g de BPA}}{20 \text{ g de extracto}} = 2,33 \% \text{ de BPA en papel térmico}$$

Es decir, hay 2333 mg de BPA en 0,100 Kg de papel térmico, por lo que el BPA en la matriz estudiada tiene una concentración tentativa de 23333 ppm.

9. CONCLUSIONES

1. En el presente proyecto se confirmó en principio la existencia del agente endocrino 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol mejor conocido como Bisfenol A en las matrices de papel térmico.
2. Se sintetizó y caracterizó mediante espectroscopia FTIR, espectroscopia UV-VIS y punto de fusión exitosamente el agente 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol en forma de cristales.

3. Se presentó la extracción Soxhlet con alcohol etílico como metodología de eliminación de 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol en papeles térmicos y se evaluó la espectroscopia FT-IR como técnica de medición rápida en la determinación de 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol en matrices de papel térmico y su posible implementación como punto de control de calidad de reciclado de celulosa, basado en la disminución de transmitancia en las bandas aromáticas.
4. La mezcla entre solventes aromáticos y compuesto con cierta polaridad como la del xileno y el acetato de etilo presentaron mejor comportamiento como fase móvil en cromatografía de capa fina
5. Es irrefutable la eficiencia del sistema de extracción a tal punto que se obtuvo una celulosa casi sin 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol o por lo menos en menor cantidad a la inherente a los límites de detección de la espectroscopia FT-IR.
6. Aprovechando el carácter cromóforo del analito 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol fue posible mediante una metodología simple establecer un análisis semicuantitativo mediante espectroscopia UV-VIS.

BIBLIOGRAFÍA

- Ágnes, M. (2018). Tracking and identification of antibacterial components in the essential oil of *Tanacetum vulgare* L. by the combination of high-performance thin-layer chromatography with direct bi ... Tracking and identification of antibacterial components in the essent. *Journal of Chromatography A*, (October 2015).
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.10.010>
- Autority, E. F. S. (2017). Bisphenol A. Retrieved from
<https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bisphenol>
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid Peroxidation : Production , Metabolism , and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal, 2014.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1155/2014/360438>
- Baluka, S. A., & Rumbeiha, W. K. (2016). Bisphenol A and food safety: Lessons from developed to developing countries. *Food and Chemical Toxicology*, 92, 58–63.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.03.025>
- Boer, J. De, Ballesteros-g, A., & Bj, M. K. (2017). Bisphenol A and replacements in thermal paper : A review. *Chemosphere Journal*, 182, 691–706.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.070>
- Carchia, E., Porreca, I., Almeida, P. J., Angelo, F. D., Cuomo, D., Ceccarelli, M., ... Ambrosino, C. (2015). Evaluation of low doses BPA-induced perturbation of glycemia by toxicogenomics points to a primary role of pancreatic islets and to the mechanism of

- toxicity. *NATURE*, 1–11. <https://doi.org/10.1038/cddis.2015.319>
- Careghini, A., Mastorgio, A. F., Saponaro, S., & Sezenna, E. (2015). Bisphenol A, nonylphenols, benzophenones, and benzotriazoles in soils, groundwater, surface water, sediments, and food: a review. *Environmental Science and Pollution Research International*, 22(8), 5711–5741. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3974-5>
- Castro, M. D. L. De. (2010). Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2383–2389. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.027>
- ChemSec. (2014). Bisphenol A. *Bisphenol A*, (January), 1–77. <https://doi.org/10.1177/2165079915623790>.
- Cheong, A., Johnson, S. A., Howald, E. C., Ellersieck, M. R., Camacho, L., Lewis, S. M., ... Rosenfeld, C. S. (2018). Gene expression and DNA methylation changes in the hypothalamus and hippocampus of adult rats developmentally exposed to bisphenol A or ethinyl estradiol: a CLARITY-BPA consortium study. *Epigenetics*, 13(7), 704–720. <https://doi.org/10.1080/15592294.2018.1497388>
- Chianese, R., Viggiano, A., Urbanek, K., Cappetta, D., Troisi, J., Scafuro, M., ... Meccariello, R. (2018). Chronic exposure to low dose of bisphenol A impacts on the first round of spermatogenesis via SIRT1 modulation. *Scientific Reports*, 8(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21076-8>
- Cid-hernández, M., Dellamary-toral, F. A. L., González-ortiz, L. J., Sánchez-peña, M. J., & Pacheco-moisés, F. P. (2018). Two-Dimensional Thin Layer Chromatography-

- Bioautography Designed to Separate and Locate Metabolites with Antioxidant Activity Contained on *Spirulina platensis*. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2018, 9. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2018/4605373>
- Comisi, L. A., Journal, T. E., Journal, T. E., Journal, T. E., Journal, T. E., Europeo, P., ... Journal, T. E. (2018). Sobre el uso de bisfenol A en los barnices y revestimientos destinados a entrar en contacto con los alimentos y por el que se modifica el Reglamento (UE) n.o 10/2011 por lo que respecta al uso de dicha sustancia en materiales plásticos en contacto con los. Unión Europea: Diario Oficial de la Unión Europea.
- Council, C. (2010). How safe is bisphenol A ? Fundamentals of toxicity : Metabolism , electron transfer and oxidative stress. *Medical Hypotheses*, 75, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2010.03.002>
- Deltetto, N., Maxit, C., Marchione, D., Szlago, M., Schenone, A., Besada, C. H., & Agosta, G. (2012). Deficiencia de 3-hidroxiacil coA deshidrogenasa de cadena larga , asociación con HELLP y hallazgos en la espectroscopia por resonancia magnética, *110*(4), 63–66.
- Doods, E., & Wilfrid, L. (1936). Synthetic Estrogenic Agents without the Phenanthrene Nucleus. *NATURE*, 996.
- Eichenlaub-ritter, U., & Pacchierotti, F. (2015). Bisphenol A Effects on Mammalian Oogenesis and Epigenetic Integrity of Oocytes : A Case Study Exploring Risks of Endocrine Disrupting Chemicals. *BioMed Research International*, 2015, 12. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1155/2015/698795>

- Fukazawa, H., Watanabe, M., Shiraishi, F., Shiraishi, H., Shiozawa, T., Matsushita, H., & Terao, Y. (2002). Formation of Chlorinated Derivatives of Bisphenol A in Waste Paper Recycling Plants and Their Estrogenic Activities. *Journal of Health Science*, 48(3), 242–249.
- Gehring, M., Vogel, D., Tennhardt, L., Weltin, D., & Bilitewski, B. (2004). Bisphenol A contamination of wastepaper, cellulose and recycled paper products. *Waste Management and the Environment II*, 8.
- Gupta, A. A. (2014). Bisphenol-A, 4, 1–6.
- Hamdy, H., Yahia, D., Afifi, S., & Salem, D. A. (2018). Endocrine disruption induced by bisphenol A in young and adult female Sprague Dawley rats. *Comparative Clinical Pathology*, 27(4), 967–974. <https://doi.org/10.1007/s00580-018-2689-2>
- Heath, D., & Heath, E. (2016). Determination of Bisphenols and Related Compounds in Honey and Their Migration from Selected Food Contact Materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2–11. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03924>
- Ido, A., Niikawa, M., Ishihara, S., Sawama, Y., Nakanishi, T., & Monguchi, Y. (2015). Practical remediation of the PCB-contaminated soils. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, (April), 11. <https://doi.org/10.1186/s40201-015-0158-2>
- Islas, S. J. M. ., Rincón Martínez, J. M. ., Gastón Mejía, R. ., & De Esteban Lizarde, J. (2014). Procesos biológicos de conversión. In J. M. R. Martínez (Ed.), *Bioenergía: Fuentes, conversión y sustentabilidad* (primera, p. 332). Bogota: La Red Iberoamericana de Aprovechamiento de Residuos Orgánicos en Producción de Energía.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.11.039>

Jhon, H. (2016). *Tratado de Fisiología*. (Elsevier, Ed.) (13th ed.). Barcelona.

Juan-García, A., Gallego, C., & Font, G. (2015). Toxicidad del Bisfenol A: Revisión. *Revista de Toxicología*, 32(2), 144–160.

Khan, A., Park, H., Lee, H. A., Park, B., Gwak, H. S., Lee, H., ... Park, Y. H. (2017). Elevated Metabolites of Steroidogenesis and Amino Acid Metabolism in Preadolescent Female Children With High Urinary Bisphenol A Levels : A High- Resolution Metabolomics Study, 1–15. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfx189>

Kobayashi, Y., Oguro, A., & Imaoka, S. (2018). Bisphenol A and Its Derivatives Induce Degradation of HIF-1alpha via the Lysosomal Pathway in Human Hepatocarcinoma Cell Line , Hep3B. *Biol. Pharm. Bull*, 41(3), 374–382.

Lee, S., Liao, C., Song, G., Ra, K., Kannan, K., & Moon, H. (2015). Chemosphere Emission of bisphenol analogues including bisphenol A and bisphenol F from wastewater treatment plants in Korea. *Chemosphere*, 119, 1000–1006. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.09.011>

Ma, X.-F., Zhang, J., Shuai, H.-L., Guan, B.-Z., Luo, X., & Yan, R.-L. (2015). IKK β /NF- κ B mediated the low doses of bisphenol A induced migration of cervical cancer cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 573, 52—58. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.03.010>

Medal., S. de C. B. and the membership of the D. have contributed funds for a mold for the. (2017). The Anselme Payen Award. Retrieved from

<https://cell.sites.acs.org/anselmepayenaward.htm>

Mendum, T., Stoler, E., Vanbenschoten, H., Warner, J. C., Mendum, T., Stoler, E., ... Warner, J. C. (2011). Concentration of bisphenol A in thermal paper. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 8253, 81–86. <https://doi.org/10.1080/17518253.2010.502908>

Ministerio de Salud y Protección Social. (2012). RESOLUCION 4143 DE 2012.

Nikahd, B., & Khalilzadeh, M. A. (2016). Liquid phase determination of bisphenol A in food samples using novel nanostructure ionic liquid modified sensor. *Journal of Molecular Liquids*, 215, 253–257. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.12.003>

Onghena, M., Negreira, N., Van Hoeck, E., Quiryne, L., Van Loco, J., & Covaci, A. (2016). Quantitative Determination of Migrating compounds from Plastic Baby Bottles by Validated GC-QqQ-MS and LC-QqQ-MS Methods. *Food Analytical Methods*, 9(9), 2600–2612. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0451-4>

Peter, W. (2005). *Thin-layer Chromatography A Modern Practical Approach*. (Smith, Ed.). Cambridge: The Royal Society of Chemistry.

Rocha, B. A., Azevedo, L. F., Gallimberti, M., Campiglia, A. D., & Barbosa, F. (2015). High Levels of Bisphenol A and Bisphenol S in Brazilian Thermal Paper Receipts and Estimation of Daily Exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 78(18), 1181–1188. <https://doi.org/10.1080/15287394.2015.1083519>

Rochester, J. R. (2013). Bisphenol A and human health: A review of the literature. *Reproductive Toxicology*, 42, 132–155. <https://doi.org/10.1016/J.REPROTOX.2013.08.008>

- Rodriguez, R., Castillo, E., & Sinuco, D. (2019). Validation of an HPLC Method for Determination of Bisphenol-A Migration from Baby Feeding Bottles. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2019, 6. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2019/1989042>
- Scientific committee, H. and F. safety. (2015). BPA presence in and release from medical devices. In E. Commission (Ed.), *The safety of the use of bisphenol A in medical devices* (p. 27). European Union. <https://doi.org/10.2772/75546>
- Staples, C. A., Dome, P. B., Klecka, G. M., Oblock, S. T., & Harris, L. R. (1998). A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*, 36(10), 2149–2173. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)10133-3](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)10133-3)
- Sun, Q., Wang, Y., Li, Y., Ashfaq, M., Dai, L., Xie, X., & Yu, C. (2017). Fate and mass balance of bisphenol analogues in wastewater treatment plants in Xiamen City , China *. *Environmental Pollution*, 225, 542–549. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.03.018>
- Susiarjo, M., Xin, F., Bansal, A., Stefaniak, M., Li, C., Simmons, R. A., & Bartolomei, M. S. (2015). Bisphenol a exposure disrupts metabolic health across multiple generations in the mouse. *Endocrinology*, 156(6), 2049–2058. <https://doi.org/10.1210/en.2014-2027>
- Thiele, G. M., Duryee, M. J., Anderson, D. R., Klassen, L. W., Mohring, S. M., Young, K. A., ... Mikuls, T. R. (2015). Malondialdehyde-Acetaldehyde Adducts and Anti – Malondialdehyde-Acetaldehyde Antibodies in Rheumatoid Arthritis, 67(3), 645–655. <https://doi.org/10.1002/art.38969>
- Wang, W., Abualnaja, K. O., Asimakopoulos, A. G., Covaci, A., Gevao, B., Johnson-restrepo,

- B., ... Kannan, K. (2015). A comparative assessment of human exposure to tetrabromobisphenol A and eight bisphenols including bisphenol A via indoor dust ingestion in twelve countries. *Environment International*, 83, 183–191. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.06.015>
- Williams, R. B., Marchuk, D. A., Gadde, K. M., Barefoot, J. C., & Grichnik, K. (2003). Serotonin-Related Gene Polymorphisms and Central Nervous System Serotonin Function. *Nature*, (April). <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300054>
- Yu, X., Xue, J., Yao, H., Wu, Q., Venkatesan, A. K., Halden, R. U., & Kannan, K. (2015). Occurrence and estrogenic potency of eight bisphenol analogs in sewage sludge from the U . S . EPA targeted national sewage sludge survey. *Journal of Hazardous Materials*, 299, 733–739. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.07.012>