

ESPECIACION DE ANTIMONIO EN LICORES ALMACENADOS EN PET

S. Carneado¹, E. Klontzas², G.E. Froudakis², S.A. Pergantis², A. Sahuquillo¹, J.F. López-Sánchez¹

¹ Analytical Chemistry Section, Faculty of Chemistry, University of Barcelona. Barcelona, Spain

² Department of Chemistry, University of Crete, Voutes, Heraklion, Greece

INTRODUCCIÓN

Los mecanismos de migración, que involucran los productos químicos presentes en el envase, a las matrices de alimentos que contienen deben estudiarse en detalle. El tereftalato de polietileno (PET) es el plástico más utilizado para aplicaciones de envasado en la industria alimentaria. En concreto, el PET se usa en todos los tamaños de botellas para refrescos y agua mineral, y los envases se producen por inyección, estirado y soplado (1-3). En el caso del PET, se pueden encontrar cantidades significativas de antimonio (Sb) en el plástico, que provienen del catalizador en forma de trióxido o triacetato de antimonio utilizados durante la fabricación del polímero (3,4). En consecuencia se han observado a concentraciones a nivel de traza en diferentes productos, mayoritariamente aguas minerales (5).

Las propiedades toxicológicas de Sb dependen de su forma química y del estado de oxidación. Para las formas inorgánicas, el Sb (III) es 10 veces más tóxico que Sb (V). (6,7) Además, los complejos de Sb con ligandos orgánicos se consideran menos tóxicos que los complejos inorgánicos, siendo considerado este elemento un contaminante prioritario por la Unión Europea y la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos.

Además del uso extensivo de PET para el almacenamiento de aguas, en algunos países existe una tendencia creciente a la reutilización de contenedores de PET para el almacenamiento a granel de diversos. Una práctica común es el almacenamiento de bebidas alcohólicas en botellas de PET. En Grecia es típico almacenar licores caseros, como *raki* o *tsipouro*, en botellas de PET para facilitar su transporte. Como este tipo de muestras presentan una matriz compleja debido al contenido significativo de alcohol, se evaluó la metodología analítica para la determinación de la concentración total de Sb y de sus especies, junto con la elucidación estructural de las especies desconocidas. Además también se ha estudiado el comportamiento de migración de antimonio a alta temperatura en muestras de *raki*.

EXPERIMENTAL

El contenido total de Sb se determinó utilizando ICP-MS Perkin Elmer NexION modelo 300X empleando Rh como estándar interno, y monitorizando la intensidad de iones a m/z 121 (^{121}Sb). Para la especiación se empleó un HPLC, equipado con una columna de intercambio aniónico PRP-X100, acoplado al ICP-MS. Para el control del instrumento y la adquisición de datos, se utilizó el software Chromera. Para la caracterización de los complejos de antimonio se usó un espectrómetro de masas con trampa de iones Thermo Scientific LCQ Advantage con una fuente de ionización ESI-MS. Para la elucidación estructural se utilizó espectrometría de masas de alta resolución (HRMS), empleando Thermo Fisher Scientific LTQ Orbitrap Velos equipado con una fuente de ionización ESI térmicamente asistida. Se seleccionaron un total de 12 muestras adquiridas en el mercado local para la determinación de antimonio: 9 muestras de *raki* y 3 muestras de *tsipouro*. De entre ellas, 2 muestras de *raki* y de *tsipouro* se conservaron en botellas de vidrio con fines de comparación en términos de concentración de antimonio. Se determinó el contenido total y las especies mediante ICP-MS y LC-ICP-MS respectivamente. Además, se seleccionaron seis muestras de *raki* para la realización de estudios de migración con la temperatura.

RESULTADOS Y DISCUSION

El contenido de antimonio en muestras almacenadas en botellas de vidrio fue menor que el límite de detección, mientras que las muestras procedentes de envases PET mostraron concentraciones más altas. Se analizó el contenido total de Sb en todas las muestras utilizando dos tratamientos de muestra diferentes (Figura 1): análisis directo y análisis después de una evaporación previa de la parte alcohólica de las muestras, para reducir el contenido de etanol que inestabiliza el plasma.

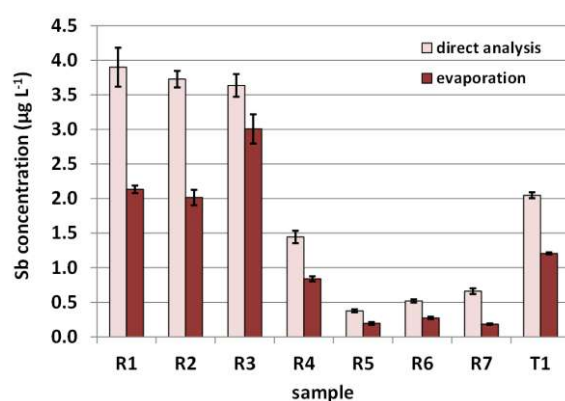


Figura 1. Contenido de Sb en *raki* envasado en PET

Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos siendo más bajos los obtenidos por evaporación. Esta diferencia se atribuyó a pérdidas durante el proceso de evaporación. Por lo tanto, para el correcto análisis de Sb en estos licores, las muestras deben analizarse directamente, con solo la dilución adecuada. Se observó que más de la mitad de las muestras de PET analizadas mostraban concentraciones superiores a $1 \mu\text{g L}^{-1}$. Estos valores son más altos que los obtenidos en muestras de agua, que se recogen en trabajos previos (8). Esta diferencia podría estar parcialmente relacionada con la matriz debido a su alto contenido de etanol y otras moléculas orgánicas que podrían facilitar la migración. Además, tres muestras de *raki* presentaron concentraciones cercanas a los $4 \mu\text{g L}^{-1}$, que están muy cerca del límite establecido por la UE para aguas potables ($5 \mu\text{g L}^{-1}$). La determinación de la especie de Sb en las muestras se realizó mediante LC-ICP-MS. Se evaluaron dos condiciones de separación mediante la cromatografía de intercambio aniónico para la separación de las especies Sb. En primer lugar se usó como fase móvil EDTA 10 mmol L^{-1} a pH 4.0 con un 0.5% de metanol, mientras que el segundo caso se empleó una disolución de formiato de amonio 10 mmol L^{-1} con un 2% de metanol. A partir de los resultados obtenidos, la fase móvil EDTA presentó un mejor rendimiento cuando se usa el sistema acoplado LC-ICP-MS. Sin embargo, cuando se usan otros sistemas de detección como ESI-MS, el uso de formiato de amonio es mejor para superar los problemas relacionados con el uso de sales o soluciones reguladores poco volátiles. Se obtuvieron cromatogramas con un máximo de tres picos para ambos métodos. Con EDTA como fase móvil, el primer y el tercer picos tienen el mismo tiempo de retención que los estándares Sb (V) y Sb (III). El segundo pico, que es la especie principal en todas las muestras y tiene un tiempo de

retención ligeramente superior al de Sb (V), corresponde a una especie desconocida. Los picos obtenidos con el segundo método corresponden a todas las especies de Sb (V), ya que el Sb (III) no se eluye en estas condiciones. El segundo pico, que es el predominante en todas las muestras, tiene el mismo tiempo de retención que el estándar Sb (V). Los otros dos picos pueden corresponder a complejos desconocidos de Sb (V).

Para la identificación y confirmación de las especies se llevó a cabo con el estudio de la fragmentación mediante el uso de la espectrometría de masas en tándem. En el caso del compuesto desconocido mayoritario, se controló selectivamente el ion con una m/z de 367 trabajando en modo SIMS (espectrometría de masas de iones secundarios). Así, los fragmentos obtenidos con la distribución isotópica del antimonio se seleccionaron y se fragmentaron nuevamente en una espectrometría de masas en tándem posterior. El número de iteraciones realizadas para obtener el último fragmento con la distribución isotópica del antimonio fue de cinco, obteniéndose un ion de m/z 153, que corresponde a un átomo de antimonio unido a dos oxígenos. Seguidamente se estudiaron las pérdidas de masa y se compararon con los posibles compuestos presentes en la matriz de *raki*, no observándose coincidencia con ninguna molécula posible entre las descritas en la bibliografía, por lo que no se pudo asignar una estructura molecular. Por ello se decidió realizar de nuevo el estudio de fragmentación con espectrometría de masas de alta resolución utilizando un instrumento LTQ-ESI-Orbitrap para determinar la masa exacta de los fragmentos obtenidos y del compuesto objetivo. Los espectros de masa en *full scan* mostraron las mismas masas obtenidas anteriormente con baja resolución, y para la m/z 366.90710, se obtuvo la misma ruta de fragmentación que la observada por baja resolución. Después de analizar los fragmentos obtenidos en los diferentes espectros, solo dos de las propuestas fueron factibles: $C_7H_{14}O_{12}S_2Sb$ y $C_8H_{18}O_6S_4Sb$, con un error de 2.0 y 4.7 ppm, respectivamente. Se consideró que el complejo de antimonio presente en *raki* correspondería a la primera fórmula, ya que presenta un error menor y menor número de azufres. El clúster isotópico se simuló para verificar las fórmulas propuestas por el software, obteniendo resultados concordantes. Así, el compuesto de antimonio desconocido presente en *raki* con una masa de 475 puede ser el complejo representado en la **Figura 2**. De acuerdo con esta estructura, se puede proponer una ruta de fragmentación, desde el primer ion (m/z 474.89456) hasta el último (m/z 152.89632) que explica las relaciones masa/carga observadas durante los experimentos de espectrometría de masas en tándem.

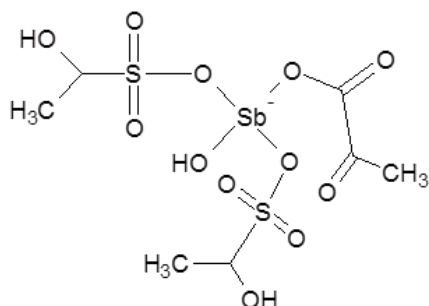


Figura 2. Complejo de antimonio encontrado en el *raki*.

También se investigó la influencia del tiempo de almacenamiento y la temperatura en la migración de Sb desde el envase hacia el *raki*. Se investigó el efecto del tiempo de almacenamiento de hasta 2 semanas y una temperatura de almacenamiento de 60°C. El contenido total y la especiación se determinaron al comienzo del experimento y después de 7 y 15 días de almacenamiento. Los resultados se resumen en la **Figura 3**.

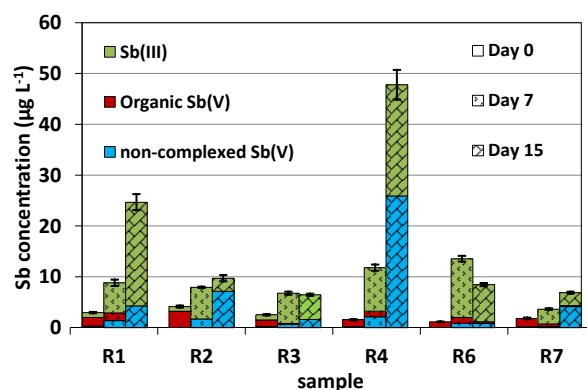


Figura 3. Experimento de migración.

Después de una semana de almacenamiento a 60°C, las muestras de *raki* mostraron un aumento considerable en la concentración de Sb, excediendo el nivel máximo estabilizado por la UE en aguas potables en todos los casos. A las dos semanas de almacenamiento, las concentraciones de Sb siguen aumentando bruscamente en las muestras R1 y R4, mientras que para el resto de las muestras este aumento no fue muy pronunciado, siendo del mismo orden de magnitud que los obtenidos después de una semana. En relación a la especiación, al comienzo del experimento, la especie predominante era el complejo orgánico de Sb (V) en todas las muestras de *raki*. Sin embargo, después de una semana de almacenamiento, la concentración de esta especie disminuyó ligeramente o incluso desapareció en el caso de la muestra R2. La concentración de Sb (V) aumentó ligeramente en todas las muestras mientras que la de Sb (III) aumentó bruscamente. Después de dos semanas de almacenamiento, la presencia del complejo orgánico de Sb (V) siguió disminuyendo y desapareció en las muestras R1, R3 y R4. La concentración de Sb (V), con respecto a los valores obtenidos después de una semana de almacenamiento, aumentó ligeramente (0,8 - 26 µg L⁻¹) mientras que el Sb (III) no tuvo un comportamiento específico: los valores de concentración aumentaron o disminuyeron dependiendo de la muestra.

Agradecimientos: Los autores agradecen la financiación a la Fundación para Investigación y Tecnología - Hellas (FORTH) por su apoyo con el análisis de ICP-MS, y a los CCITUB por su apoyo con HRMS. También agradecen la financiación de la Generalitat de Catalunya (proyecto 2014 SGR 1277), y a del Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto CTQ2015-68685-R).

Referencias

- 1.- R. Ashby, Migration from polyethylene terephthalate under all conditions of use, *Food Addit. Contam.*, 1988, 5, 485-492.
- 2.- S. M. Biros, B. M. Bridgewater, A. Villeges-Estrada, J.M. Tanski and G. Parkin, *Inorg. Chem.*, 2002, 41, 4051-4057.
- 3.- B. Duh, *Polymer*, 2002, 43, 3147-3154.
- 4.- S. M. Aharoni, *Polym. Eng. Sci.*, 1998, 38, 1039-1047.
- 5.- W. Shotyk and M. Krachler, *Environ. Sci. Technol.*, 2007, 41, 1560-1563.
- 6.- R. Poon, I. Chu, P. Lacavalier, V. Valli, W. Foster, S. Gupta and B. Thomas, *Food Chem. Toxicol.*, 1998, 36, 21-35.
- 7.- R. E. Rivas, I. López-García and M. Hernández-Córdoba, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2009, 64, 329-333.
- 8.- S. Carneado, E. Hernández-Nataren, J. F. López-Sánchez and A. Sahuquillo, *Food Chem.*, 2015, 166, 544-550.