



Universidad
de Guanajuato

Universidad de Guanajuato
División de Ciencias Naturales y Exactas
Posgrado de Maestría en Ciencias Químicas

**Aplicación de diferentes técnicas instrumentales para el análisis
de envases de tereftalato de polietileno (PET)**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO EN:

MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICA

Presenta:

I.Q. Luis Mario Magaña Maldonado

Director: Dr. Kazimierz Wrobel

Co-director: Dra. Katarzyna Dorota Wrobel

Miembro del Comité tutorial: Dra. Alma Rosa Corrales Escobosa

Guanajuato, Gto. 17 de Junio 2022

REALIZADA POR:
LUIS MARIO MAGAÑA MALDONADO

DIRIGIDA POR:

Director: **Dr. Kazimierz Wrobel**

Co-Director: **Dra. Katarzyna Dorota Wrobel**

Miembro del Comité tutorial: **Dra. Alma Rosa Corrales Escobosa**

SINODALES

Dra. Eunice Yáñez Barrientos

Presidente

Dr. Francisco Javier Acevedo Aguilar

Secretario

M.C. Israel Enciso Donis

Vocal

Dr. Armando Gómez Ojeda

Suplente

Guanajuato, Gto. Junio de 2022

Por medio de la presente me responsabilizo de la autenticidad y originalidad del presente trabajo titulado “**Aplicación de diferentes técnicas instrumentales para el análisis de envases de tereftalato de polietileno (PET)**”, realizado por el I.Q. Luis Mario Magaña Maldonado, para obtener el título de **MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS (M.C)**, en las Instalaciones del Campus Guanajuato en el Departamento de Química de la Universidad de Guanajuato.

Director:

Dr. Kazimierz Wrobel

Co-Director:

Dra. Katarzyna Dorota Wrobel

Miembro del Comité tutorial:

Dra. Alma Rosa Corrales Escobosa

AGRADECIMIENTOS

A mi familia

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	i
ÍNDICE DE TABLAS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ABREVIATURAS.....	vii
RESUMEN	ix
1. INTRODUCCION.....	11
1.1. Materiales poliméricos.....	11
1.1.1. Clasificación.....	11
1.1.2. Campos de aplicación	13
1.2. PET – un polímero termoplástico de amplio uso en industria alimenticia. 14	
1.3. Antimonio en PET – procedencia, concentraciones, migración, normatividad	16
1.4. Determinación de antimonio en PET y en materiales envasados	18
1.4.1. Diferentes enfoques del análisis	19
1.4.2. Procedimientos analíticos utilizados en la determinación de Sb en materiales envasados y en estudios de migración	21
1.4.3. Procedimientos analíticos utilizados en la determinación de Sb en materiales envasados y en estudios de migración	23
1.5. Aplicaciones de MALDI-TOF MS en el análisis de polímeros	27
1.5.1. El estado de arte en el análisis de PET por MALDI-TOF MS	32
1.5.2. Preparación de muestra para MALDI-TOF MS.....	35
2. OBJETIVO GENERAL.....	39
2.1. Objetivos específicos	39
3. PARTE EXPERIMENTAL	39
3.1. Instrumentación.....	39
3.2. Reactivos	41
3.3. Muestras	41
3.4. Análisis de datos y análisis estadístico	42
4. RESULTADOS Y DISCUSION	42
4.1. Puesta a punto del sistema de generación de hidruros para la determinación de antimonio por MP-AES	42
4.2. Evaluación de diferentes métodos de cuantificación.....	48

4.3. Tratamiento de muestras reales y composición de las soluciones de calibración para la determinación de Sb por PLS	52
4.3.1 Procedimiento propuesto para la extracción de Sb del PET	52
4.3.2. Soluciones de calibración para la determinación de Sb en el PET por PLS.....	54
4.3.3. Procedimiento propuesto para la determinación de Sb en agua embotellada en PET por PLS	55
4.4. Modelos PLS para el análisis de agua embotellada y para PET.....	56
4.4.1. Modelo PLS para la determinación de Sb en agua.....	56
4.4.2. Modelo PLS para determinación de Sb en PET	60
4.5. Análisis de muestras reales	63
4.6. Análisis de PET por MALDI-TOF MS	65
5. CONCLUSIONES	68
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	71

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Procedimientos de determinación de Sb en PET – algunos ejemplos de estudios reportados.....</i>	<i>22</i>
<i>Tabla 2. Algunos ejemplos de estudios enfocados en la determinación de Sb en diferentes tipos de líquidos envasados</i>	<i>26</i>
<i>Tabla 3. Recopilación de datos obtenidos por Software de PET</i>	<i>32</i>
<i>Tabla 4. Diferentes protocolos de preparación de PET para el análisis por MALDI-TOFMS: Datos de NIST Polymer</i>	<i>37</i>
<i>Tabla 5. Condiciones instrumentales de operación del sistema MP-AES.....</i>	<i>40</i>
<i>Tabla 6. Porcentajes de recuperación de Sb obtenido para las soluciones de calibración y para adición de estándar a muestra W1, utilizando el modelo PLS desarrollado para agua embotellada.</i>	<i>59</i>
<i>Tabla 7. Porcentajes de recuperación de Sb obtenidos agregando diferentes concentraciones de estándar de Sb(III) al PET purificado del Sb, utilizando el modelo PLS desarrollado para el PET</i>	<i>61</i>
<i>Tabla 8. Concentraciones de Sb encontrados en muestras de PET y en agua embotellada. Se presentan valores promedio con respectivas desviaciones estándar en base a tres réplicas de cada análisis.</i>	<i>63</i>
<i>Tabla 9. Principales parámetros de los modelos PLS construidos para la determinación de Sb en PET y en agua embotellada.</i>	<i>69</i>

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación en función de comportamiento termo-mecánico (Meira & Gugliotta, 2019).....	11
Figura 2. Estructura química de PET	15
Figura 3. Ordenamiento de grupos aromáticos en macroestructura de PET	15
Figura 4. Mecanismo de síntesis de PET con Sb ₂ O ₃ como catalizador (Mandal & Dey, 2019).....	17
Figura 5. Estrategias de estudio de Sb en PET.....	20
Figura 6. Curva de distribución de pesos moleculares en un polímero (Mathias, 2021)	28
Figura 7. Esquema de generación y masa de iones por MALDI-TOF-MS (Schiller et al., 2004)	30
Figura 8. Sistema de introducción de muestra multimodo (MSIS) para generación de hidruros. a) Zona de reacción b) Línea de alimentación con muestra y HCl 1M c) Línea de alimentación con NaBH ₄	40
Figura 9. Espectros obtenidos para las soluciones de calibración (0.1 y 10 mg Sb /L) con el ajuste automático de línea base. a) Antimonio a 287.792 nm b) Antimonio a 206.833 nm c) Antimonio a 231.147 nm d) Antimonio a 217.581 nm	44
Figura 10. Espectros obtenidos para soluciones de calibración (25 - 1000 µg Sb/L) por HG-MP-AES utilizando línea de emisión 217.581 nm (sin ajuste automático de línea base). a) Acido Malónico 1 M b) HCl 8 M c) HCl 1 M	47
Figura 11. Curva de calibración externa Sb (III) y Sb (V) (para claridad de la presentación, se presentan las ecuaciones de regresión obtenidas utilizando las condiciones finales del PLS para agua)	48
Figura 12. Espectros de emisión para: a) Germanio a 265.902 nm; b) Telurio a 237.578 nm. línea negra - blanco, línea gris - estándar del Ge o de Te, 500 µg/L en presencia de 500 µg/L de Sb.	49
Figura 13. Ejemplo de curva de calibración externa obtenida por HG-MP-AES en el intervalo 25-1000 µg Sb/L (217.581 nm).....	50
Figura 14. Modelo PLS obtenido usando datos espectrales de curva de calibración (10 y 1000 µg Sb/L).....	51
Figura 15. Protocolo de extracción de Sb en PET.....	54
Figura 16. Protocolo de eliminación de Sb en PET.....	55
Figura 17. Modelo PLS obtenido para el análisis de agua embotellada (0.5-10 µg Sb/L).....	56
Figura 18. Espectros de emisión utilizados para construir modelo PLS para análisis de agua embotellada: a) estándar de Sb (III) (0.5-10 µg Sb/L) b) estándar de Sb (V) (2-11.5 µg Sb/L) c) adición de estándar para muestra W1 (0, 0.5, 1.5, 2.5 µg Sb/L).....	58
Figura 19. Función de regresión lineal obtenida en el proceso de calibración univariante en Sb(V) (2-11.5 µg Sb/L, 217.581 nm)	59
Figura 20. Modelo PLS obtenido para el análisis de PET (80-230 µg Sb/L)	61

<i>Figura 21. Espectros de emisión adquiridos en el análisis de PET: (a) soluciones de calibración en presencia de PET libre de Sb (líneas de creciente intensidad de señal corresponden a 0, 80, 130, 180, 230 $\mu\text{g Sb/L}$, respectivamente) y (b) muestra de PET2 con adiciones de estándar de Sb(III) muestras de calibración (líneas de creciente intensidad de señal corresponden a 0, 50, 100, 150 $\mu\text{g Sb/L}$, respectivamente).....</i>	<i>62</i>
<i>Figura 22. Espectro adquirido para PET1 por MALDI-TOF MS (ionización positiva, modo lineal).....</i>	<i>65</i>
<i>Figura 23. Captura de pantalla del programa PolyTools con los resultados del análisis de la muestra PET1.....</i>	<i>66</i>
<i>Figura 24. Efecto de tiempo de calentamiento durante hidrolisis alcalina en la despolimerización del PET. (a) estructura sugerida del ion m/z 552; (b) cambio de abundancia del mismo ion con el tiempo de calentamiento del PET.....</i>	<i>68</i>

ABREVIATURAS

IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
PE	Polyethylene
PVC	Polyvinylchloride
PA	Polyamide
PET	Polyethylene Terephthalate
PP	Polypropylene
LDPE	Low density polyethylene
HDPE	High density polyethylene
PUR	Polyurethane
PS	Polystyrene
ABS	Polyacrylonitrile Butadiene Styrene
PBT	Polybutadiene terephthalate
PTT	Polytrimethylene terephthalate
PC	Polycarbonate
PMMA	Polymethyl methacrylate
PTFE	Polytetrafluoroethylene
IARC	International Agency for Research on Cancer
USEPA	United States Environmental Protection Agency
UE	European Union
WHO	World Health Organization
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption / Ionization
MALDI-TOF MS	Mass spectrometry with time-of-flight analyzer and matrix-assisted laser desorption / ionization.
EC	External calibration
EC(M)	External calibration with sample matrix simulation
IS	Internal standard
MSA	Method of Standard Additions
LOD	Limit of detection
LOQ	Limit of quantification
MW	Microwave Energy

GFAAS	Atomic absorption spectrometry in a graphite furnace
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Excitation Atomic Emission Spectrometry
HG	Hydride Generation
AFS	Atomic Fluorescence Spectrometry
HPLC	High resolution liquid chromatography
CRI	Collision / reaction interface
DRC	Dynamic reaction cell
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Ionization Mass Spectrometry
MP-AES	Atomic Emission Spectrometer with Microwave Energy Sustained Nitrogen Plasma Excitation
Mw	Weight Average Molecular Weight
Mn	Number Average Molecular Weight
Mv	Viscosity Average Molecular Weigh

RESUMEN

El antimonio está presente en diferentes tipos de plásticos como residuo catalizador y/o como retardante de fuego sinérgico; en particular, preocupan las concentraciones relativamente altas de este elemento reportadas en botellas y envases de tereftalato de polietileno (PET), así como su migración a los productos comestibles. En este trabajo, la determinación de Sb en dichos productos se ha realizado mediante una técnica de espectrometría de emisión atómica con excitación de plasma de nitrógeno sostenido con energía de microondas utilizando generación de hidruros. Algunas de las ventajas de esta técnica son: (i) procedimiento simple; (ii); rápida adquisición de datos; (iii) uso de nitrógeno como gas para la generación del plasma, esto permite minimizar costos de operación.

Previamente al análisis por espectrometría, es necesario hacer un correcto pretratamiento de la muestra que garantice la liberación del analito de la matriz de análisis. Debido a la diferencia que existe entre las matrices de interés, se decidió estudiar dos modelos, uno para el análisis en PET y otro en agua embotellada. La mayoría de los estudios que involucran PET, utilizaron metodologías típicas de digestión con ácidos a temperatura y presión elevada; además del uso de sofisticados sistemas de descomposición de muestra con energía de microondas. Por lo tanto, para el análisis y la determinación de antimonio en muestras de PET, se propuso como alternativa la hidrólisis alcalina bajo condiciones de reacción relativamente suaves y amigables al medio ambiente; mientras que para las muestras de agua el análisis se realizó de manera directa sin etapa de preconcentración.

La cuantificación se realizó mediante un método de calibración multivariante, usando regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS); tomando datos espectrales en las cercanías (± 1 nm) de la línea de emisión de Sb 217.581 nm. Para PET, las soluciones de calibración contenían plástico digerido libre de Sb y cubrían el rango de concentración de Sb 80 - 230 $\mu\text{g/L}$. Para el análisis del agua

embotellada, el rango de calibración fue de 0.5 - 10 µg/L y se utilizaron soluciones estándar acuosas.

El modelo PLS proporcionó una predicción confiable, eliminando las interferencias espectrales detectadas en el presente de los digestos de PET y compensando los cambios espectrales observados en concentraciones bajas de Sb debido al uso de HCl para la generación de hidruros. Después de la adición estándar a una muestra adquirida en mercado local, los porcentajes de recuperación de las cantidades adicionadas del analito a la muestra fueron del 85.7 al 93.8 %, del 58 al 116 % para PET y para agua embotellada, respectivamente. El límite de cuantificación del método para PET fue de 10 mg Sb/kg y para muestras líquidas correspondió a 0.20 µg Sb/L. Las concentraciones de Sb determinadas luego del análisis en los productos del mercado local fueron: 154-279 µg/g para botellas PET y 0.39-1.59 µg/L para agua embotellada. Demostrando que los productos comercializados en México están dentro de estándares y normativas internacionales.

Mediante el paquete de Software PolyTools se identificaron los grupos terminales en PET: glicol (C_2H_5O), ácido tereftálico ($C_{10}H_8O_4$) e hidrógeno como componentes finales, por otra parte, se calcularon automáticamente los valores de masa molecular promedio en número, masa promedio en peso, coeficientes de polidispersidad y el grado de despolimerización, reconfirmando el proceso de despolimerización alcalina después de 96 h.

1. INTRODUCCION

1.1. Materiales poliméricos

Los polímeros naturales siempre han estado al alcance del hombre a través de diversos materiales, tales como las pieles, resinas naturales o la madera. Por otra parte, los primeros materiales poliméricos sintéticos se obtuvieron al inicio del siglo pasado y desde entonces, han estado en uso y en constante mejoramiento. Estos productos sintéticos se obtienen a través de diversas reacciones químicas bajo condiciones específicas y los productos se utilizan prácticamente en todas áreas de actividad del hombre.

Gracias a su fácil producción a gran escala, variedad estructural, baja densidad, resistencia mecánica y estabilidad química, han llegado a sustituir otros materiales que carecían de estas características además de tener costos de producción más elevados y/o presentar cierto grado de toxicidad al humano.

De acuerdo con la IUPAC, las moléculas de polímeros son estructuras de alta masa molecular, compuestas con múltiples unidades derivadas, real o conceptualmente, de moléculas de baja masa molecular relativa (IUPAC, 2014). Las macromoléculas de polímeros se obtienen a partir de moléculas de menor tamaño llamados monómeros, mediante diferentes procesos de polimerización. Las propiedades de polímeros sintéticos pueden ser manipuladas mediante selección del tipo de monómeros, método de polimerización, uso de aditivos, etc.

1.1.1. Clasificación

Los polímeros, según su estructura molecular y su comportamiento mecánico en condiciones ambientales, se clasifican en termoplásticos, elastómeros y termoestables como lo muestra la Figura 1.



Figura 1. Clasificación en función de comportamiento termo-mecánico (Meira & Gugliotta, 2019)

Los termoplásticos se caracterizan por baja ramificación de las cadenas, con prevalencia de estructuras lineales y rigidez a temperatura ambiente; sin embargo, con el aumento de temperatura se vuelven deformables o flexibles y al enfriarlos, se endurecen. Las cadenas están unidas mediante distintos tipos de fuerzas intermoleculares como:

- I. Fuerzas débiles de Van der Waals en el polietileno (PE)
- II. Interacciones fuertes dipolo-dipolo en el policloruro de vinilo (PVC)
- III. Enlaces intermoleculares fuertes como los puentes de hidrogeno en poliamidas (PA)
- IV. Interacciones π - π entre anillos aromáticos en tereftalato de polietileno (PET)

El aumento de temperatura causa ruptura de enlaces intermoleculares y con ello se logra flexibilidad en la cadena, propiedad que les permite recalentarse y remodelarse lo cual favorece la elaboración de diferentes formas y el reciclaje. (Meira & Gugliotta, 2019).

Los elastómeros contienen cadenas flexibles con un bajo grado de entrecruzamiento por lo que son considerados materiales blandos con propiedades elásticas. Los elastómeros termoplásticos son una clase de polímeros con potencial de ser reciclados, con características híbridas termoplásticas y elastoméricas, mientras que la mayoría de los elastómeros son termoestables con marcadas diferencias por el grado de entrecruzamiento (Juárez, et al., 2012).

Por su parte, los termoestables son altamente reticulados mediante enlaces covalentes en la matriz polimérica. Dicha reticulación hace a los polímeros más resistentes térmicamente, pero impide su fundición, moldeamiento y por ello, su uso (Scheutz, et al., 2019).

1.1.2. Campos de aplicación

Hoy en día, existe una enorme variedad de polímeros, cada uno está diseñado para obtener características específicas con el fin de cubrir diferentes campos de aplicaciones en industria automotriz, aeroespacial y de construcción, además de medicina, agricultura y embalajes.

Algunos ejemplos de aplicaciones de distintos tipos de materiales se presentan a continuación:

1. Polipropileno (PP) en envase de alimentos, envoltorio de snacks y dulces, tapas con bisagras, contenedores de microondas, tuberías, piezas automotrices, billetes de banco, etc.
2. Polietileno de baja densidad (LDPE) en bolsas, bandejas reutilizables, películas agrícolas y para el envasado de alimentos, etc.
3. Polietileno de alta densidad (HDPE) en juguetes, botellas de leche, botellas de shampoo, etc.
4. PVC en marcos de ventanas, suelo y revestimiento de paredes, tuberías, revestimiento de cables, mangueras de jardín, piscinas inflables, etc.
5. Poliuretano (PUR) aislamiento de edificios, almohadas, colchones, espumas aislantes para neveras, etc.
6. PET en botellas para agua, refresco, vinagre, jugos, vinos, detergentes, etc.
7. Poliestireno (PS) en envasado de alimentos (pesca y lácteos), aislamiento de edificios, equipos electrónicos, revestimiento interior para frigoríficos, marcos de anteojos, etc.
8. Acrilonitrilo butadieno estireno (ABS) en juguetes, partes internas de autos, etc.
9. Politereftalato de buteno (PBT) en fibras ópticas.
10. Policarbonato (PC) en lentes para anteojos, laminas para techos.
11. Polimetil metacrilato (PMMA) en pantallas táctiles.

12. Politetrafluoroetileno (PTFE) en revestimiento de cables para comunicaciones, utensilios de cocina y etc.

Cabe mencionar que también existe un amplio campo de aplicaciones para copolímeros que se obtienen de dos o más tipos de monómeros, incluyendo la industria aeroespacial, implantes médicos, dispositivos quirúrgicos, membranas, válvulas y juntas, revestimientos protectores, adhesivos y etc.

Los polímeros han transformado la visión general sobre seguridad, higiene, comodidad y bienestar social de tal manera que hoy en día tienen presencia en un amplio rango de productos y aplicaciones. En el contexto de trabajo de tesis, hay que resaltar el uso de polímeros en industria alimentaria, específicamente como empaques para almacenamiento y comercialización de diferentes productos frescos y procesados, tanto líquidos como sólidos.

Uno de los aspectos relacionados con la omnipresencia de los plásticos y su persistencia en el medio ambiente, es la creciente contaminación a nivel mundial con estos materiales. En el caso de su uso como envolturas y/o envases de alimentos, existe también preocupación por la lixiviación y migración de algunas especies químicas potencialmente tóxicas hacia los alimentos. La industria polimérica, bajo el compromiso a nivel mundial contra la contaminación por plástico y responsabilidad por la inocuidad alimentaria dentro de los materiales, toma medidas encaminadas a garantizar que su uso en alimentos no cause daño al consumidor independientemente del tipo de aplicación del dicho material (Carro & González, 2012).

1.2. PET – un polímero termoplástico de amplio uso en industria alimenticia

La producción mundial de plásticos en general se distribuye entre los embalajes con 39.9 % de la producción total, la industria de la construcción con 19.8 % y la industria automotriz con 9.9 %. Se estimó que, de los 360 millones de toneladas producidos en el año 2018, 51 % proviene de Asia, 22% de América, el 17 % de Europa y el resto de los demás continentes. De la producción mundial, aproximadamente 28

millones de toneladas corresponde a polímero termoplástico PET (Europe & EPRO, 2019).

La estructura química de PET corresponde a un poliéster conformado por 130-150 unidades (Figura 2), el cual presenta alto grado de cristalinidad debido a interacciones π - π entre los anillos aromáticos y su ordenamiento en macroestructura (Figura 3).

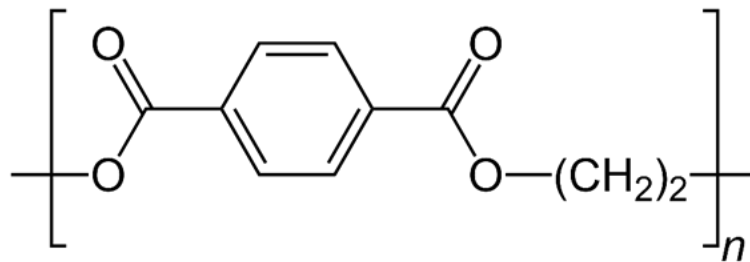


Figura 2. Estructura química de PET

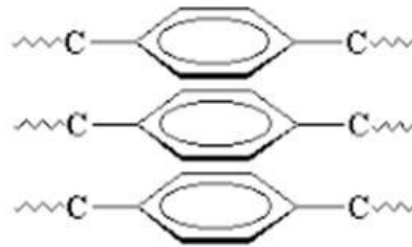


Figura 3. Ordenamiento de grupos aromáticos en macroestructura de PET

En el contexto de la química de alimentos, un factor importante para conservar productos por periodos de tiempo largo sin cambios de su composición ni de su valor nutricional es el correcto almacenamiento. Para ello, durante el almacenamiento es necesario evitar reacciones químicas o bioquímicas que potencialmente deterioran la calidad y salubridad de los alimentos. Atributos importantes que no deben sufrir modificación alguna durante el almacenamiento de los productos son: la textura, sabor, color y valor nutritivo. Debido a que el PET es un material de envases que permite cumplir con estos requisitos, desde hace décadas se está utilizando comercialmente. Entre las ventajas del PET que lo hacen especialmente útil en la industria alimenticia hay que mencionar los siguientes:

1. Polímero transparente y ligero;
2. No permite difusión de la humedad ni de gases;
3. Excepcional estabilidad dimensional;
4. Químicamente inerte;
5. Resistente a deformación y rompimiento;
6. No presenta desgaste con el tiempo en temperaturas ambientales;
7. Fluencia muy baja en un amplio rango de temperatura;
8. Muy buena estabilidad de color;
9. No absorbe olores;
10. Muy buena apariencia estética (en comparación con otros polímeros);
11. Disponibilidad económica y capacidad de proceso fácil;
12. Excelente reciclabilidad

El PET es utilizado principalmente en botellas desechables para agua, refrescos carbonatados, jugos, salsas, aceites, vinagre, vino, entre otros. Otra aplicación que recibe el PET, mediante moldeo por inyección, estirado y soplado, es la fabricación de bandejas y ollas con mayor estabilidad térmica utilizadas para cocinar y calentar alimentos en hornos de microondas (Gilbert, 2017). Aunque no es biodegradable, el PET es totalmente reciclable.

1.3. Antimonio en PET – procedencia, concentraciones, migración, normatividad

La síntesis de PET a nivel industrial se lleva a cabo mediante la policondensación entre el ácido tereftálico y el etilenglicol, utilizando óxidos o sales de metales como catalizadores. Aunque se pueden utilizar compuestos de titanio, magnesio, germanio y antimonio (Thiele, 2001), los más utilizados son el trióxido de antimonio, glicolato y/o acetato de antimonio.

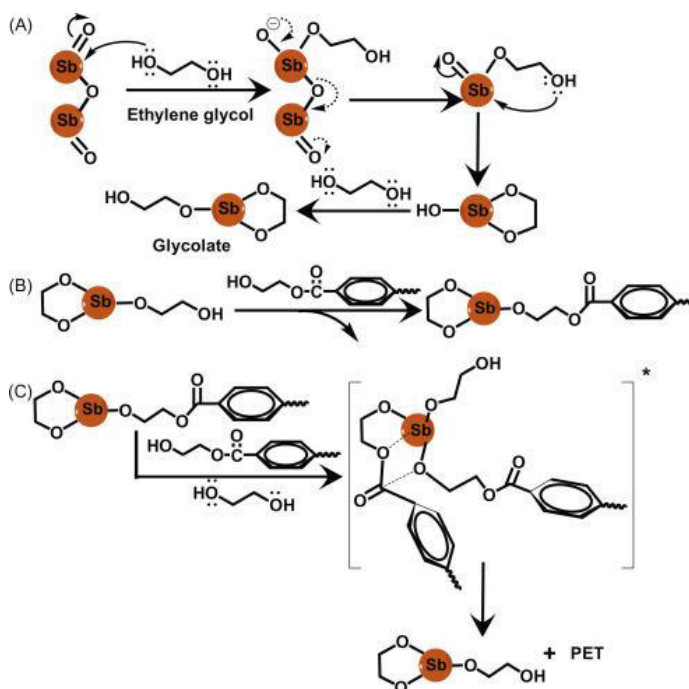


Figura 4. Mecanismo de síntesis de PET con Sb₂O₃ como catalizador (Mandal & Dey, 2019)

La síntesis de PET a nivel industrial requiere de Sb₂O₃ como catalizador (Mandal & Dey, 2019), en este sentido, el antimonio permite disminuir de manera efectiva la energía de activación en la reacción de policondensación, sin participar en otras reacciones laterales y sin introducir el color al producto final. Tal como lo muestra la reacción A en la Figura 4, el trióxido de antimonio se disuelve en etilenglicol, y en forma de etilenglicolato se agrega a la mezcla de reacción (Stanley et al., 2017). Cabe señalar que, de acuerdo con su papel de catalizador, el etilenglicolato de antimonio no queda enlazado químicamente en la estructura de PET. A pesar de los obvios beneficios del catalizador en términos de producción, en el producto final se quedan residuos de antimonio en un intervalo reportado desde 100 y 300 mg/kg (Cheng, Shi, Adams, & Ma, 2010). Puesto que el antimonio no forma parte de la estructura de PET, puede migrar hacia los contenidos del envase y este proceso depende de la composición química del producto almacenado en PET, de las condiciones de pH, temperatura, tiempo y luz solar (Filella, 2020a).

La Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC) ha informado evidencia de carcinogenicidad de Sb_2O_3 en animales de laboratorio (DeMatteo et al., 2012). El antimonio es también un contaminante de interés prioritario por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) y la Unión Europea (UE); donde los niveles máximos permisibles de Sb en el agua potable se establecen en 6 y 5 $\mu\text{g/L}$, respectivamente (Filella, et al., 2002). En México, el antimonio no está incluido en la norma oficial que establece máximos niveles permisibles de metales/metaloides en agua potable, pero nuestro país es miembro de la Organización Mundial de la Salud (WHO), por lo que debe aplicarse el valor de referencia de 6 $\mu\text{g/L}$ recomendado por este organismo (Levresse et al., 2012).

Numerosos estudios han demostrado la presencia de antimonio en productos embotellados, en concentraciones excesivas comparando con las normas para el agua potable; este efecto ha sido asociado principalmente con la presencia y liberación de catalizador del PET (Kiyataka, et al., 2017). Cabe también mencionar que el antimonio está catalogado como un contaminante persistente en el medio ambiente, acumulativo en los organismos vivos y tóxico, siendo dicha toxicidad más severa para el Sb(III) utilizado en la producción del PET respecto al Sb(V) (Filella, et al., 2002).

1.4. Determinación de antimonio en PET y en materiales envasados

La presencia de Sb en envases y envolturas de PET, así como su migración a los alimentos y bebidas almacenados en el mismo, ha despertado el interés en la determinación de antimonio en estos contextos con los siguientes retos a enfrentar:

- (i) Diseño de tratamiento de muestra de acuerdo con el objetivo del análisis y adecuado para la matriz química de la muestra;
- (ii) Selección de una técnica analítica con poder de detección apropiado para los niveles de concentración de Sb presentes en la muestra;

- (iii) Eficiente control de posibles interferencias y aseguramiento de buena calidad de los resultados

Tal como ya se ha mencionado antes, las concentraciones de Sb en PET varían entre 100 y 300 mg/kg; mientras que las concentraciones en productos de consumo líquidos embotellados en PET deberían cumplir con normas de agua potable (5 – 6 µg/L). Para realizar el análisis cuantitativo en este intervalo de concentraciones, las técnicas analíticas más utilizadas han sido espectrometrías atómicas, incluyendo las de absorción, emisión y fluorescencia atómica (AAS, AES, AFS, por sus siglas en inglés, respectivamente) y espectrometría de masas con ionización en plasma acoplado inductivamente (IPC-MS). Cada una de estas técnicas requiere de un adecuado pretratamiento de muestra para proporcionar datos confiables. En este proyecto de tesis, para la determinación de Sb se propone utilizar el espectrómetro de emisión atómica con excitación de plasma de nitrógeno sostenido por energía de microondas (4100 MP-AES, Agilent Technologies).

1.4.1. Diferentes enfoques del análisis

Los diferentes aspectos y enfoques en el análisis de Sb, relacionados con la composición y usos de PET, se presentan de manera esquemática en la Figura 5. Para la determinación de Sb total en PET, es necesaria su digestión, típicamente mediante calentamiento con ácido nítrico sólo o con adición de otro agente oxidante. Debido a altas concentraciones de Sb en PET, prácticamente todas las técnicas de espectrometría atómica pueden emplearse para la cuantificación.

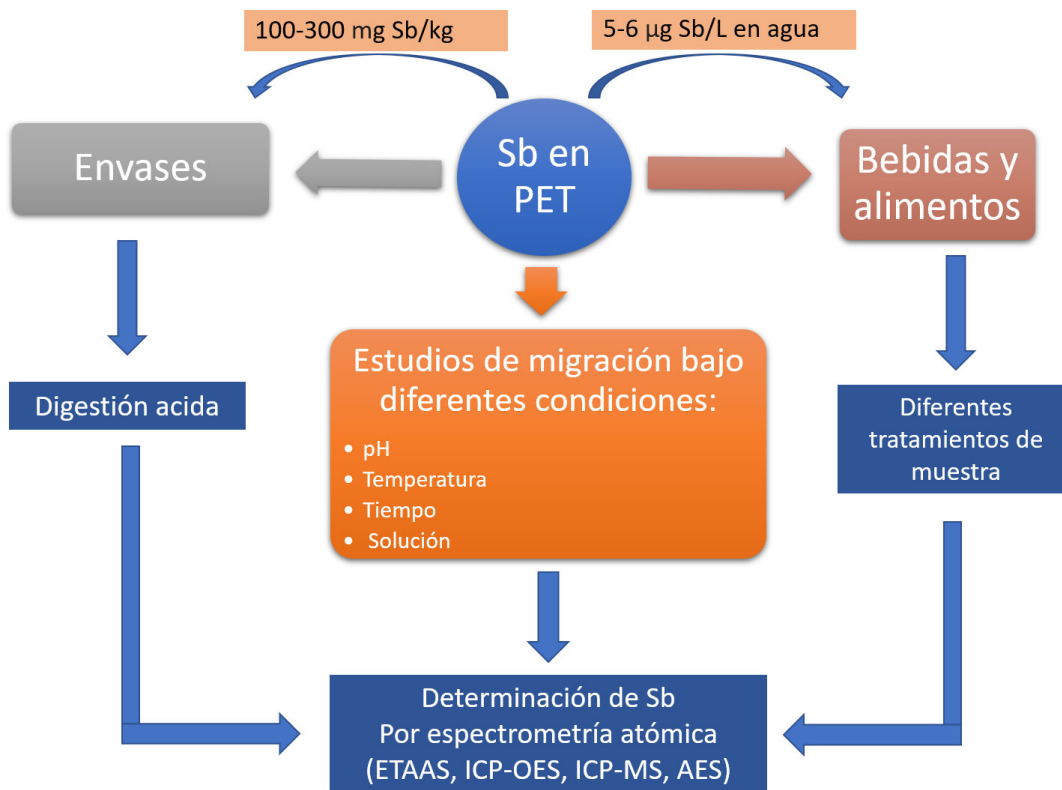


Figura 5. Estrategias de estudio de Sb en PET

En el caso de bebidas y alimentos envasados, también el objetivo es determinar Sb total; la selección de pretratamiento de muestra depende del estado físico de la muestra original (líquido o sólido) y de su composición química (presencia de proteínas, lípidos, azúcares, etc.). En este caso, las concentraciones de Sb son inferiores respecto al PET y se necesita un sistema de detección/cuantificación mucho más potente. Las técnicas analíticas utilizados en este tipo de análisis se mencionan en la Tabla 1 y 2.

Finalmente, existe interés en evaluar la migración de Sb del PET a productos envasados, así como conocer el efecto de las condiciones de almacenamiento en dicha migración (tiempo, temperatura, luz, pH, etc.). Para ello, se envasa el agua, una bebida o un alimento en recipiente de PET, bajo condiciones estrictamente controladas y, después de determinado tiempo (o en intervalos de tiempo), se realiza la determinación de Sb lixiviado. Puesto que se puede esperar el grado de

migración muy variable, es preferible utilizar una de las técnicas analíticas que ofrecen bajo límite de detección para Sb.

En las siguientes secciones se presenta una revisión bibliográfica de procedimientos propuestos para la determinación de Sb en cada uno de los enfoques que se presentan en la Figura 5.

1.4.2. Procedimientos analíticos utilizados en la determinación de Sb en materiales envasados y en estudios de migración

En la Tabla 1, se presentan algunos ejemplos de procedimientos propuestos para la determinación de Sb en PET, enfatizando la etapa de pretratamiento de muestra, la técnica analítica empleada para el análisis y el método de cuantificación. Como se puede observar, en la mayoría de los estudios se realizó la digestión por vía húmeda, utilizando el ácido nítrico con agua oxigenada y la energía de microondas. De esta manera se logró la degradación de PET, obteniéndose la solución acuosa de Sb(V), misma que puede ser introducida a cualquier sistema instrumental de los mencionados. En cuanto a las técnicas analíticas, es notoria la preferencia de utilizar espectrometría de masas con ionización en plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), debido a su alto poder de detección, inexistencia de interferencias químicas y capacidad del análisis isotópico. Por otro lado, en varios estudios se optó por espectrometría de emisión atómica con excitación en plasma acoplado inductivamente (ICP-AES); aunque esta técnica ofrece mucho menor poder de detección respecto a ICP-MS, es adecuada considerando relativamente las altas concentraciones de Sb esperadas en PET, además de ser relativamente menos sofisticada y económicamente más accesible.

Tabla 1. Procedimientos de determinación de Sb en PET – algunos ejemplos de estudios reportados

Tratamiento de muestra	Técnica analítica	Métodos de cuantificación	Observaciones / Conclusión	Referencias
Directo	GFAAS	CE	<ul style="list-style-type: none"> • 1 µg/L (LOD); 3.7 µg/L (LOQ) • Intervalo de concentraciones reportado en PET: 194.0-323.0 µg/kg 	(de Jesus et al., 2015)
Digestión con HNO ₃ :HCl (4:1 v/v) asistida por MW	HG-AFS	CE	<ul style="list-style-type: none"> • 0.113 µg/L (LOD); 0.377 µg/L (LOQ) Preconcentrado • 5.65 ng/L (LOD); 19.01 ng/L (LOQ) Concentrado • Intervalo de concentraciones reportado en PET: 73.0-111.3 µg/kg 	(Chapa-Martinez et al., 2016)
Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂	ICP-MS	CE IS	<ul style="list-style-type: none"> • 0.05 µg/L (LOD) • Intervalo de concentraciones reportado en PET: 142.7-215.52 µg/kg 	(Qiao et al., 2017)
Digestión con HNO ₃ y HCl (MW)	ICP-MS	CE	<ul style="list-style-type: none"> • 0.003 µg/L (LOD); 0.009 µg/L (LOQ) • Intervalo de concentraciones reportado en PET: 199.0-325.9 µg/kg 	(Dogan & Cebi, 2019)
Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂	ICP-OES	CE	<ul style="list-style-type: none"> • 5 µg/L (LOD) 	(Zmit & Belhaneche-Bensemra, 2019)
Digestión en sistema de incineración presión elevada	ICP-OES	CE	<ul style="list-style-type: none"> • 9 µg/L (LOD); 23.5 µg/L (LOQ) • Intervalo de concentraciones reportado en PET: 272.0-650.0 µg/kg 	(Kiyataka, et al., 2017)
Digestión con HNO ₃ Asistida por MW	HG-AFS ICP-MS	MSA CE	<ul style="list-style-type: none"> • 0.003 µg/L (LOD); 0.010 µg/L (LOQ) para ICP-MS • 0.010 µg/L (LOD); 0.375 µg/L (LOQ) para HG-AFS 	(Sanchez-Martinez, et al., 2013)
Digestión con H ₂ SO ₄	GFAAS	CE	<ul style="list-style-type: none"> • 8 ng/L (LOD) • Intervalo de concentraciones reportado en PET: 0.1 mg/kg y 216.5 mg/kg. 	(Rungchang, et al., 2013)
Digestión con H ₂ SO ₄ y HNO ₃ asistida por MW	HG-AFS	CE	<ul style="list-style-type: none"> • 2.5 µg/Kg (LOD); 8.3 µg/kg (LOQ) 	(Carneado, Hernandez-Nataren, Lopez-Sanchez, & Sahuquillo, 2014)
Digestión con HNO ₃ Asistida por MW	ICP-MS	IS	<ul style="list-style-type: none"> • 0.1 mg/Kg (LOD) 	(Gehring & Welle, 2017)
Digestión con HNO ₃ y HCl (MW)	ICP-MS	IS	<ul style="list-style-type: none"> • 0.00196-0.012 µg/L (LOD) • Intervalo de concentraciones reportado en PET: 0.00986-63.10 mg/kg 	(Thiravetyan, Inthorn, & Leechart, 2015)
Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂	ICP-MS	IS	<ul style="list-style-type: none"> • <0.10 ng/L (LOD) • Intervalo de concentraciones reportado en PET: 104 - 166 mg/kg 	(Y. Y. Fan et al., 2014)

CE: calibración externa; **IS:** estándar interno; **LOD:** límite de detección; **LOQ:** límite de cuantificación; **MW:** microondas; **GFAAS:** espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica; **ICP-OES:** espectrometría de emisión atómica con excitación en plasma acoplado inductivamente; **HG:** generación de hidruros; **AFS:** espectrometría de fluorescencia atómica; **ICP-MS:** espectrometría de masas con ionización en plasma acoplado inductivamente.

En cuanto a los métodos de cuantificación, el más común parece ser el de calibración externa. Sin embargo, cabe señalar que en este método el ambiente químico del estándar de Sb es diferente en comparación con la muestra, lo que puede afectar la confiabilidad de resultados analíticos. Para asegurar la veracidad

de los resultados, es recomendable realizar experimentos de recuperación y llevar a cabo la cuantificación por método de adición de estándar. En técnicas con capacidad multielemental, casi siempre se usa el estándar interno (IS).

Finalmente, es de notar que no se han encontrado estudios basados en el uso de espectrometría de emisión atómica con plasma de microondas. El instrumento comercial MP-AES, fabricado por la compañía Agilent Technologies y ya mencionado anteriormente, mantiene las ventajas de un espectrómetro de emisión atómica en cuanto a su poder de detección (adecuado para la determinación de Sb en PET) y en cuanto a su capacidad multielemental (para uso de un IS), pero además, ofrece las siguientes ventajas:

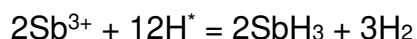
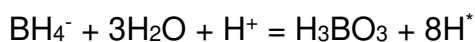
- (i) Plasma robusto, con buena tolerancia a la composición de la solución aspirada (sólidos totales y carbón orgánico)
- (ii) Sin necesidad de gases especiales (generador de nitrógeno disponible en el laboratorio)
- (iii) Costo del análisis significativamente más bajo en comparación con cualquier otra espectrometría atómica.

Es por ello que, se ha planteado utilizar MP-AES en este trabajo para el análisis de Sb total en PET.

1.4.3. Procedimientos analíticos utilizados en la determinación de Sb en materiales envasados y en estudios de migración

En la Tabla 2, se presenta un breve resumen de estudios enfocados en la determinación de Sb en líquidos envasados en PET, mencionando tipo de material, tratamiento de muestra y técnica analítica empleada para el análisis, el método de cuantificación, así como observaciones importantes. En la mayoría de los estudios, se analizó muestras de agua potable embotellada disponible en supermercados del país en cuestión; sin embargo, también se ha reportado el análisis de vinagre, bebidas alcohólicas, refrescos y de aceites vegetales. Se puede notar que la etapa de pretratamiento depende de tipo de muestra. Para matrices químicamente simples, como agua embotellada, en varios trabajos la muestra se introdujo al sistema instrumental directamente o después de una dilución, mientras que, en el

análisis de aceites y refrescos, preferentemente se utiliza la digestión con ácido nítrico y energía de microondas. Al igual que los estudios enfocados en PET, la técnica analítica de preferencia es ICP-MS; en este caso sin embargo, su uso es justificado debido a bajas concentraciones de Sb, en orden de partes por billón, que se presentan típicamente en materiales envasados en PET. Por esta misma razón, se observa también el uso de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito, mientras que en relativamente pocos estudios se empleó ICP-OES. Cabe también destacar el uso de la técnica de generación de hidruros (HG) reportado en varios artículos (Tabla 2). El antimonio es uno de los elementos que forma un hidruro volátil con punto de fusión en $-89\text{ }^{\circ}\text{C}$ y punto de ebullición en $-17\text{ }^{\circ}\text{C}$, el cual puede ser separado de la matriz de muestra e introducido al espectrómetro en fase gaseosa, aumentando la eficacia de transporte y eliminando potenciales interferencias causadas por los componentes de la muestra. Típicamente, la estibina se genera a partir de Sb(III), utilizando borohidruro de sodio en el ambiente ácido, como sistema de reducción (Xi, He, Wang, & Zhang, 2014).



Como se puede observar en Tabla 2, la generación de hidruros ha sido utilizada principalmente para introducción de muestra en espectrometría de fluorescencia atómica (AFS).

En cuanto a los resultados reportados en estudios de migración y en la determinación de Sb en contenidos de envases PET, quedó confirmada dicha migración; así mismo, se mostró el efecto de diferentes parámetros en dicha migración. En la mayoría de los estudios la liberación de Sb se vio aumentada en temperaturas elevadas (hasta $50\text{ }^{\circ}\text{C}$) y después de tiempos prolongados de contacto con PET (aprox. 15 días) llegando a las concentraciones en lixiviados que excedieron los límites máximos admitidos por las normas. Por otra parte, también en condiciones ácidas se favorece la migración de Sb, especialmente cuando son largos los periodos de tiempo cuando el alimento o bebida está en contacto con PET. Los resultados encontrados en la revisión bibliográfica claramente demuestran

la importancia de determinación de Sb en productos de libre consumo, los que se comercializan en envases de PET, ya que presentan un potencial riesgo a la salud.

De acuerdo con el planteamiento del proyecto de tesis, en el análisis de los contenidos de envases, también se pretende utilizar la técnica MP-AES; sin embargo, su poder de detección no es adecuado para análisis cuantitativo a nivel de trazas de Sb. Para eliminar esta limitación, se propone integrar en el procedimiento analítico la etapa de generación de hidruros. De esta manera se va a lograr la separación de Sb a partir de la solución de la muestra en forma de estibina (SbH_3) para su transporte al plasma en fase gaseosa.

La técnica de generación de hidruros mejora la eficacia de transporte del analito, comparando con el proceso convencional de introducción de muestras líquidas, obteniendo mucho más bajos límites de detección para varios elementos, entre ellos antimonio (Fujihara & Nishimoto, 2020). Puesto que la técnica MP-AES tiene capacidad multielemental, como aporte original de este proyecto, se propone explorar la factibilidad de emplear Te (IV) como estándar interno. La principal ventaja del uso de IS es mejorar el desempeño de un procedimiento de cuantificación, mediante la eliminación de errores sistemáticos y aleatorios. Para ello, el IS tiene que presentar propiedades fisicoquímicas similares que el analito para asegurar un igual comportamiento de los dos en cada una de las etapas del procedimiento analítico; de esta manera las señales del analito y de IS sufren las mismas fluctuaciones debido a imprecisiones y/o errores sistemáticos. Al normalizar la señal del analito por la señal de IS, se eliminan dichas fluctuaciones mejorando la precisión y exactitud de los resultados (Burns & Walker, 2019)

Tabla 2. Algunos ejemplos de estudios enfocados en la determinación de Sb en diferentes tipos de líquidos envasados

Material analizado	Tratamiento de muestra	Técnica analítica	Métodos de cuantificación	Observaciones / Conclusión	Referencias
Agua mineral (diferentes tiempos y temperatura de contacto con PET)	Directo;	HG-AFS	CE	<ul style="list-style-type: none"> Efecto significativo de migración Sb en T > 60 ° C después de 15 días. Con T < 40 °C migración de Sb de PET en agua se mantiene debajo de 5 µg/kg 	(Carneado et al., 2014)
Agua Ácido Acético 4 % Etanol 50 %	Directo;	GFAAS	CE	<ul style="list-style-type: none"> Intervalo de concentraciones en extractantes reportado:0.3-1.6 µg/kg Mayor migración de Sb en ácido acético 4 %. Menor migración de Sb en agua. 	(Rungchang, Numthuam, Qiu, Li, & Satake, 2013)
Agua destilada Ácido Acético 3 % Etanol 10 % Etanol 20 % Aceite de oliva Aceite de flor de girasol Vinagre de vino Vinagre de manzana	Directo; Dilución con agua desionizada Digestión con HNO ₃ (MW) Directo;	HG-AFS ICP-MS	MSA CE	<ul style="list-style-type: none"> Intervalo de concentraciones en extractantes reportado: 0.5-1.2 µg/L Incrementa la concentración de Sb en botellas de PET de re-uso con Ácido Acético 3 % Vinagre de manzana: 0.45 µg/L Vinagre de vino: 0.5 µg/L 	(Sanchez-Martinez, Perez-Corona, Cámara, & Madrid, 2013)
Refresco Agua mineral Vino	Directo	GFAAS	CE	<ul style="list-style-type: none"> Muestras con exposición a 60 °C por más de 15 días superan el límite de 5 µg/L 	(de Jesus et al., 2015)
Refrescos	Desgasificación y dilución con 20% HNO ₃	ICP-OES	CE	<ul style="list-style-type: none"> Migración de Sb a extractantes con exposición a 35 °C por más de 180 días no se observó 	(Kiyataka, Dantas, Albino, & Pallone, 2017)
Agua mineral	Directo;	ICP-OES	CE	<ul style="list-style-type: none"> Intervalo de concentraciones en extractantes reportado:0.5-1.12 µg/kg A mayor temperatura y tiempo de exposición mayor migración de Sb. 	(Zmit & Belhaneche-Bensemra, 2019)
Agua embotellada	Directo;	ICP-MS	CE	<ul style="list-style-type: none"> Intervalo de concentraciones en extractantes reportado:0.45-1.3 µg/kg Mayor migración de Sb con mayor tiempo de almacenamiento. 	(Dogan & Cebi, 2019)
Agua potable Agua mineral	Directo;	ICP-MS	CE IS	<ul style="list-style-type: none"> Intervalo de concentraciones en extractantes reportado:0.09-0.16 µg/kg a < 40 °C Concentración de Sb a extractantes > 40 °C no supera límite 5 µg/L Concentración de Sb es independiente del pH entre 6.87 - 8.02. En pH < 4 podría favorecer la migración. 	(Qiao et al., 2017)
Agua potable Agua mineral (embotelladas en PET, vidrio y latas de aluminio)	Dilución	HPLC - ICP-DRC-MS	MSA CE (M)	<ul style="list-style-type: none"> 0.083 µg/L (LOD); 0.25 (LOQ) Sb III 0.038 µg/L (LOD); 0.11 (LOQ) Sb V Concentración de Sb en aguas comerciales < 1 µg/L Concentración de Sb en agua embotellada aumenta a mayor pH. Sin presencia de As III 	(Marcinkowska, Lorenc, & Baralkiewicz, 2016)

Agua embotellada comercial; Experimentos de migración;	Preconcentración (Dowex 1X8-100); Agua (diferentes condiciones)	HG-AFS	CE	<ul style="list-style-type: none"> Intervalo de concentraciones en extractantes reportado: 0.28-2.30 µg/kg Factores estudiados (pH, temperatura y tiempo de almacenamiento) son significativos Mayor efecto de la temperatura en migración de Sb a extractante. Rango de Sb varía de 1.1 a 18.5 µg/L en 5 días, 75 °C y pH 7. 	(Chapa-Martinez et al., 2016)
Agua embotellada	Digestión con HNO ₃	ICP-MS	CE	<ul style="list-style-type: none"> Efecto significativo de migración Sb en T > 44 °C. Concentración máxima admisible de Sb en T= 60 °C después de 15 días Intervalo de concentraciones en extractantes reportado: 3.05-47.5 µg/kg 	(Payan et al., 2016)
Agua embotellada	Digestión con HNO ₃	ICP-CRI-MS	IS MSA	<ul style="list-style-type: none"> 0.8-3.0 ng/L (LOD) Intervalo de concentraciones en extractantes reportado: 0.040-2.92 µg/k 	(Rowell, Kuiper, & Preud'Homme, 2016)
Agua embotellada	Digestión con HNO ₃	ICP-MS	MSA	<ul style="list-style-type: none"> Intervalo de concentraciones en extractantes reportado: 0.221-2.281 µg/kg a 24° C Intervalo de concentraciones en extractantes reportado: 0.23-6.11 µg/kg a 50 C 	(Al-Otoum, Al-Ghouti, Costa, & Khraisheh, 2017)

CE: calibración externa; CE(M): calibración externa con simulación de matriz de muestra; IS: estándar interno; MSA: método de adición de estándar; LOD: límite de detección; LOQ: límite de cuantificación; MW: microondas; GFAAS: espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica; ICP-OES: espectrometría de emisión atómica con excitación en plasma acoplado inductivamente; HG: generación de hidruros; AFS: espectrometría de fluorescencia atómica; HPLC: cromatografía de líquidos de alta resolución; CRI: interface colisión/reacción; DRC: celda de reacción dinámica; ICP-MS: espectrometría de masas con ionización en plasma acoplado inductivamente.

1.5. Aplicaciones de MALDI-TOF MS en el análisis de polímeros

Los polímeros presentan una gran diversidad estructural; además de diferente composición a nivel de monómeros, se pueden encontrar conformaciones lineales, cíclicas y ramificadas, copolímeros con diversas arquitecturas, dendrímeros y polímeros estrella con diferente número de brazos. Dicha diversidad depende de varios factores, como lo son el tipo de los monómeros, las técnicas utilizadas en polimerización y el uso de catalizadores; obviamente, todos estos parámetros se afinan para lograr las propiedades finales deseadas de los materiales poliméricos. Es por ello que, una parte importante en estudio de polímeros es su caracterización estructural. Una vez tomada la muestra de polímero, en primer lugar, se hace una evaluación de la masa molecular promedio en número (M_n), masa promedio en peso (M_w) y masa promedio en viscosidad (M_v), lo que permite caracterizar la distribución de masas para conocer la polidispersidad del polímero. Cabe aclarar

que M_n se obtiene sumando masas de todas las moléculas poliméricas contenidas en una muestra y dividiendo el resultado por el número total de dichas moléculas poliméricas de dicha muestra de tal manera que todas las cadenas tienen la misma importancia a la hora de estimar M_n . Por su parte, el parámetro M_w se sustenta en el hecho de que una molécula más grande contiene más de la masa total de la muestra polimérica que las moléculas pequeñas; este parámetro refleja la contribución de las cadenas de alta masa molecular.

Finalmente, M_v se obtiene por la medida de viscosidad en disolución; puesto que las moléculas poliméricas más grandes forman una solución más viscosa que las moléculas pequeñas, el valor M_v se acerca más a M_w que a M_n . En la Figura 6 se presenta la llamada curva de distribución de pesos moleculares en un polímero; como ya se ha mencionado, la relación entre M_w y M_n sirve para obtener el índice de polidispersidad.

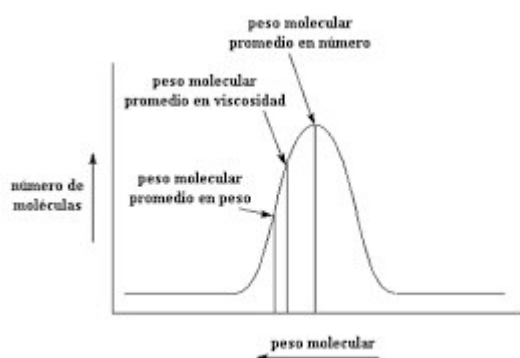


Figura 6. Curva de distribución de pesos moleculares en un polímero (Mathias, 2021)

Aunado a estos parámetros de masa, se realiza la determinación de la estructura de unidades repetidas, el análisis de secuencia de copolímeros, la identificación del grupo final y la detección e identificación de impurezas y aditivos.

Los avances en la espectrometría de masas molecular logrados en las últimas décadas, han permitido explorar la estructura de compuestos en un amplio intervalo de propiedades fisicoquímicas, así como de diferente composición y masa molecular. Entre los integrantes de la familia de técnicas de espectrometría de masas que permiten llevar a cabo el análisis de masas moleculares y estructural de polímeros (S. M. Weidner & Trimpin, 2010), de interés en este trabajo es la

espectrometría de masas con ionización / desorción láser asistida por matriz y con analizador de masas de tiempo de vuelo (MALDI-TOF MS). Cabe señalar que, los datos MS pueden ser complementados por datos de otras técnicas analíticas tales como NMR, técnicas electroanalíticas o algunas tradicionales (mediciones de dispersión de luz, sedimentación, viscosidad, etc.).

En MALDI-TOF MS, una pequeña porción de muestra (a menudo sin tratamiento previo), se deposita directamente en la placa de MALDI agregando una matriz química adecuada y obteniendo un residuo seco en la etapa de co-cristalización. La matriz química empleada es un pequeño compuesto aromático con alta absorptividad molar en la región espectral cercano a la longitud de onda del haz de láser, la cual se agrega a la muestra en un exceso de 50 a 1000 veces sobre el analito de interés. De esta manera, la energía emitida por el láser es absorbida por la matriz y se transfiere a las moléculas que componen la muestra, provocando su liberación a fase gaseosa y ionización, típicamente mediante transferencia de protón o un catión del metal alcalino (en el modo de ionización positiva). Como resultado, se forman iones de moléculas de analito en fase gaseosa; estos iones se denominan "aductos" o "iones cuasimoleculares". Después de formarse, los iones se aceleran en un fuerte campo eléctrico del orden de 20 kV para su ingreso a un analizador de tiempo de vuelo, donde son separadas y posteriormente detectadas con base en su relación masa/carga (m/z) (Jürgen & Klaus, 2000). Los eventos que ocurren en MALDI-TOF MS convencional se muestran esquemáticamente en la Figura 7.

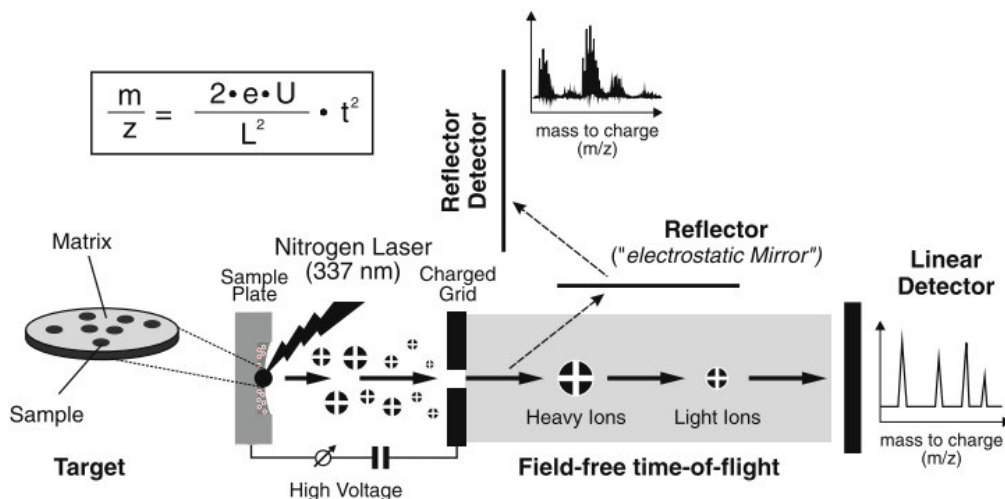


Figura 7. Esquema de generación y masa de iones por MALDI-TOF-MS (Schiller et al., 2004)

La selección de matriz y adecuación de condiciones de co-cristalización son aspectos muy importantes para obtener espectros de masa de polímeros de buena calidad; además de absorber eficientemente la energía emitida por láser, se buscan las siguientes propiedades de la matriz:

- 1) no forma iones aductos con el polímero en fase gaseosa;
- 2) presenta buena estabilidad de vacío;
- 3) es soluble en disolventes orgánicos que pueden también disolver el analito;
- 4) provee una co-cristalización homogénea con polímero (Schiller et al., 2007)

Entre las ventajas de sistema MALDI-TOF MS en el contexto de análisis de polímeros, hay que mencionar: (i) muy suave ionización por lo que los espectros de masas contienen principalmente iones de moléculas no fragmentadas; (ii) sin requerimientos en cuanto a polaridad de compuestos analizados; (iii) muy amplio intervalo de m/z con capacidad de obtener espectros de masas para compuestos con masa molar de hasta cientos de kDa; (iv) fuerte prevalencia de iones mono-cargados; (v) posibilidad de fragmentación de iones precursores; (vi) rapidez de adquisición de datos (Milica et al., 2021; Steffen & Sarah, 2010)

Gracias a estas capacidades de MALDI-TOF MS, los espectros adquiridos para polímeros contienen iones de cadenas intactas y, mediante determinación de masa

exacta, es posible inferir la masa molar; aunado a la masa exacta y perfil isotópico; la fragmentación de iones precursores proporciona los datos que permiten la caracterización estructural de oligómeros individuales. MALDI-TOF MS proporciona también la identificación de los grupos terminales de la cadena sin restricciones de polaridad, incluidas las especies presentes en cantidades menores en una muestra de polímero.

En particular, la identificación del grupo final es crucial en el análisis de polímeros, ya que proporciona información sobre sus propiedades, reactividad, uso de agentes de protección y/o aditivos, posibles aplicaciones, etc.

La técnica MALDI-TOF MS demostró su utilidad en el análisis de muy diferentes estructuras de polímeros: polímeros de estireno y sus derivados, polímeros acrílicos y metacrílicos, otros polímeros de puro carbono, polímeros con heteroátomos en la cadena: polisiloxanos, poli (silsesquioxano), polisilanos, poliéteres, poliésteres, policarbonatos, poliamidas y poliimidas, polímeros con un anillo aromático en la columna vertebral y copolímeros, entre otros (Murgasova & Hercules, 2003; K. Wu & Odom, 1998).

En el contexto de este trabajo de tesis, parece interesante obtener datos sobre masas moleculares, polidispersión y estructura de PET utilizado en envases de alimentos en el mercado de nuestro país. Para este fin, se propone emplear MALDI-TOF MS, dado su demostrada utilidad en la caracterización de polímeros y de su degradación (Montaudo, et al., 2005). Uno de los puntos de interés es evaluar si el envase ha sido elaborado del polímero sintetizado a partir de los monómeros o si proviene de reciclaje. Cabe mencionar que Romão y col. han demostrado la factibilidad de la técnica MALDI-TOF MS en este tipo de análisis (Romão et al., 2009).

Los retos principales en esta parte de trabajo son:

- (i) Seleccionar y/o adecuar las condiciones de tratamiento de muestra.
- (ii) Obtener co-cristalización homogénea de la muestra con matriz química en la placa.

- (iii) Ajustar las condiciones instrumentales para obtener datos espectrales confiables y útiles en la caracterización del polímero.
- (iv) Realizar el análisis de datos y análisis estadístico.

Para realizar los experimentos, se utilizará el equipo MALDI-TOF MS, modelo AutoFlex speed de Bruker junto con el programa PolyTools.

1.5.1. El estado de arte en el análisis de PET por MALDI-TOF MS

Como resultado de una revisión bibliográfica, en la Tabla 3 se recopilieron algunos estudios recientes sobre la implementación de MALDI-TOF MS en estudios de PET, mostrando el tipo de hardware y de software implementados para la adquisición y procesamiento de información, y también algunas de las condiciones instrumentales. Cabe señalar que el espectrómetro AutoFlex de Bruker con el paquete de software FlexControl ya ha sido utilizado en el análisis de PET.

Tabla 3. Recopilación de datos obtenidos por Software de PET

Hardware	Analizador/ Adquisición de datos	Observaciones	Tipo de Análisis	Referencia
AutoFlex Bruker	FlexControl FlexAnalysis	<ul style="list-style-type: none"> • Láser de nitrógeno (337 nm) • Reflector en condiciones de modo "extracción retrasada" 	Masa molecular (1000 kDa) y mapeo proteico. Distribución de masa molecular de polímeros. Análisis de grupos funcionales.	(Jürgen & Klaus, 2000; Payne & Grayson, 2018)
UltrafleX reme Bruker	N/D	<ul style="list-style-type: none"> • Adquisición de datos en modo de ionización positivo y negativo • Rango de relación (m / z) 100-2000 Da 	Determinación de masa molecular y grupos funcionales.	(Zhou et al., 2019)
MassLynx 4.1v. Waters e Micromas s	PLS-Toolbox 4.02 para Matlab v. 7.0.1.	<ul style="list-style-type: none"> • Adquisición de datos en modo de ionización positivo • Láser de nitrógeno (337 nm) • Tiempo de escaneo de 2s • Resolución de aprox. 10,000 en el modo "V" • Umbral de activación de 700 mV • Sensibilidad de señal de 80 mV • Fotomultiplicador de placa de microcanal ajustado a 2100 V 	Determinación de grupos funcionales.	(Romão et al., 2009)
rapifleX MALDI Bruker	FlexControl	<ul style="list-style-type: none"> • Láser de nitrógeno (337 nm) • Voltaje de aceleración de 19 kV • Tensión de reflexión de 21 kV • Tensión de extracción retardada de 18,56 kV 	Determinación de masa molecular (Mn y Mw) y polidispersidad.	(P. Wu et al., 2020)

		<ul style="list-style-type: none"> • Modo de reflexión y lineal 		
JMSS3000 spiralTOF JEOL	MS Tornado msRepeatFinder ver. 2.1.0	<ul style="list-style-type: none"> • Láser Nd: YFL (349 nm) y un • Analizador spiralTOF • Rango de m / z 800–3000 Da 	Determinación de masa molecular y grupos funcionales.	(Nakamura, Fouquet, & Sato, 2019)

La preparación de la muestra y su co-cristalización con adecuada matriz son sin duda puntos muy importantes en el análisis de polímeros por MALDI-TOF MS tal como ya se mencionó anteriormente, la matriz química debe cumplir con una serie de requisitos incluyendo la cationización del polímero. Los parámetros importantes para lograr una buena calidad de espectros, con alta relación entre señal y ruido, es la cantidad de muestra depositada en la placa y la relación entre la cantidad de matriz y de la muestra.

La adquisición de datos también requiere la optimización de varios parámetros, entre los cuales los más importantes incluyen el modo de ionización (positivo o negativo), el modo de operación del instrumento (lineal versus reflector), el voltaje de aceleración y el tiempo de retardo de extracción de iones. Cabe señalar que en el modo Reflectron, se duplica la distancia de vuelo de los iones al detector y se logra un mejor enfocamiento de iones con el mismo valor m/z, aumentando la resolución.

Otros parámetros que requieren el ajuste en búsqueda de una buena relación señal/ruido es la fluencia de láser, número de disparos utilizados para integración de picos, número de repeticiones y modo de movimiento de laser sobre la superficie del pocillo en la placa. Al ajustar todos estos parámetros, se minimiza el efecto de cualquier falta de homogeneidad en el depósito de muestra con matriz. Cuando se optimizan los parámetros de adquisición, a menudo se puede lograr la resolución isotópica para iones con masas superiores a 10,000 Da, aunque esto también depende de la longitud del tubo de vuelo y del diseño del instrumento. La mayoría de los compuestos orgánicos que contienen al menos un heteroátomo son propensos a formar complejos con cationes alcalinos como litio, sodio y potasio. Muchos de los metales alcalinos son monoisotópicos o de pocos isótopos estables y, por lo tanto, no tienen efecto notorio sobre padrón isotópico del compuesto.

Otro aspecto en el análisis por MS, incluyendo MALDI-TOF MS, es la necesidad de calibración de masas. Para ello, se coloca un estándar que genera uno o más iones con masa exacta conocida, estable y con el valor m/z cercano al del analito y se adquiere su espectro junto con set de las muestras, generando un archivo de calibración. Por otro lado, a menudo se puede lograr una mayor precisión mediante calibración interna, que implica mezclar el calibrante con la muestra en la placa, obteniéndose los registros de ion(es) de calibrante y de(los) analito(s) en un solo espectro.

Como un ejemplo de calibración interna, se puede mencionar el estudio realizado por Eun Kyung y col., el cual fue enfocado en politereftalato de trimetileno (PTT). Este polímero se produce a través de un proceso de condensación o transesterificación de los dos monómeros, que son 1,3-propanodiol y ácido tereftálico o tereftalato de dimetilo y es un producto similar al tereftalato de polietileno. El calibrante era una solución mixta de angiotensina II (m/z 1046 Da), péptido sintético P14R (1533 Da), ACTH fragmento 18-39 (2465 Da) y cadena de insulina B oxidada (3494 Da), 20 nmoles / ml cada uno en TFA mezclada 1:1 con la solución de matriz (10 mg de CHCA en 1 ml de TFA / ACN). Se diseñó una punta de sonda MALDI de modo que dos muestras diferentes pudieran cargarse y analizarse consecutivamente sin romper el vacío o cambiar las condiciones experimentales simplemente girando la punta de la sonda 180 grados. (Eun-Kyung, Sung-Woo, Young-Dal, Eun-Kyung, & Chan-Ryang, 2011)

Por otra parte, Florczak y col. usaron calibración externa con polietilenglicol (PEG) en el análisis de oligómeros sintéticos del ácido láctico con masa de hasta 8000 Da., logrando la precisión de asignación de masa del orden de 1.5 Da. (Florczak et al., 2016)

La calibración de masa es de importancia vital en el análisis de polímeros de composición química compleja, por ejemplo de copolímeros. En estos casos, es necesaria la asignación completa para una gran cantidad de iones presentes en el espectro de masas. Un programa de análisis de datos apropiado ayudaría a la selección de señales, sin embargo, este tipo de programas también requieren la

calibración de masa. Con el fin de facilitar el tratamiento de los datos evitando el riesgo de la asignación de picos incorrecta, Nakamura y col. propusieron una serie de técnicas avanzadas de análisis con el objetivo de mostrar un gráfico de grado de polimerización (DP) como una visualización gráfica instantánea de distribución de comonomeros utilizando calibración de masa con un estándar de PMMA (Nakamura et al., 2019)

Finalmente, una vez que se adquirieron los conjuntos de datos calibrados y optimizados, los datos se analizan para proporcionar información estructural sobre las muestras de polímero. El espaciado entre monómeros dentro de la distribución de iones del polímero puede proporcionar una medición precisa de la masa unitaria repetida. Los clústeres de señales, con ayuda de un paquete de software adecuado, tal como lo es Polytools, permite hallar los valores M_n y M_w para calcular el índice de polidispersidad. (Payne & Grayson, 2018).

1.5.2. Preparación de muestra para MALDI-TOF MS

Dada la importancia de la matriz química y del modo de co-cristalización con muestra, estos aspectos se han estudiado extensivamente. En la Tabla 4 se muestran diversos protocolos para la preparación de muestras de PET recopilados de diferentes estudios por NIST.

Las matrices más implementadas con PET son; 1,8,9-Antracenetriol (ditranol), Ácido dihidroxibenzoico (DHB), ácido trans-indol-3-acrilico (IAA), 2,4,6-Trihidroxiacetofenona, 4,4' Dihidroxiocetafluoroazobenceno por tener buenos resultados en absorción, estabilidad, solubilidad y miscibilidad con el analito.

En cuanto a los agentes de cationización, generalmente se escogen por excelencia yoduros de los principales elementos alcalinos, aunque parece clara la preferencia por sodio por su alta afinidad con la superficie del polímero. Cabe resaltar que es muy deseable lograr la cationización del polímero con un solo ion metálico para simplificar el espectro de masas y tener una mayor facilidad de su interpretación

(recordando que el polímero no presenta una sola masa sino una distribución de masas).

Finalmente, una decisión muy importante es en cuanto al tipo de disolvente en el que se prepara PET. Además de solubilizar el polímero, dicho solvente tiene que ser miscible con la solución de la matriz MALDI, tiene que presentar alta limpieza y estabilidad para evitar espectros ruidosos. Los protocolos presentados en Tabla 4 permitirán elegir condiciones de análisis de PET en este trabajo de tesis.

Tabla 4. Diferentes protocolos de preparación de PET para el análisis por MALDI-TOFMS: Datos de NIST Polymer

Polímero	Matriz química	Tipo de sal	Solvente	Preparación	Referencia
PET	1,8,9-Antracenetriol (ditranol)	NaI	1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-isopropanol	<ul style="list-style-type: none"> Una solución 0.2 µL de NaI (10 mg/mL en acetona) aplicada a la muestra con la matriz antes de aplicar a MALDI. Muestra y matriz disueltas en HFIP 10 mg/mL 1:10 (v/v) 	(Anthony T. Jackson" et al., 1996)
PET	Ácido dihidroxibenzoico (DHB)	N/A	TFA (para analito); Cloroformo/acetona metanol (para matriz)	<ul style="list-style-type: none"> Se disuelve 0,1 g de la muestra de PET en 1 mL de TFA. La solución se diluye con 8 mL de cloroformo más 2 mL de acetona con agitación continua. La solución de PET se separa del polímero precipitado mediante filtración al vacío. La solución con los oligómeros extraídos (1 µL) se deposita directamente sobre una placa MALDI y se seca. La muestra se cubre con una solución de matriz recién preparada de DHB (154 g/L) en metanol. 	(Romão et al., 2009)
PET	2,5- Ácido dihidroxibenzoico (DHB) ácido trans-indol-3-acrilico (IAA)	N/A	Hexafluoro-isopropanol (HFIP)	<ul style="list-style-type: none"> Se disuelven 2 mg de PET en 1 mL de hexafluoro-isopropanol (HFIP) y se utiliza como matriz ácido 2,5-diidroxibenzoico (DHB) o ácido trans-indol-3-acrilico (IAA) (0,5 M en HFIP como disolvente). Se mezclan volúmenes apropiados de solución de polímero y solución de matriz para obtener una relación 1: 1, 1: 2 y 1: 3 v / v. Se coloca 1 µL de cada mezcla de muestra / matriz en la placa MALDI y se seca lentamente para permitir la cristalización de la matriz. Los mejores espectros de masas, se obtienen utilizando IAA como matriz y una relación analito / matriz de 1: 3 en volumen. 	(Samperi, Puglisi, Alicata, & Montaudo, 2004)
PET	Ditranol	LiI, NaI, KI, RbI, CsI	Tetrahidrofurano Acetona (para sal)	<ul style="list-style-type: none"> Se depositan aproximadamente 0.2 µL de 10 mg/mL de NaI en acetona sobre la placa MALDI. El polímero y la matriz se disuelven por separado en 1,1,1,3,3,3-hexafluoroisopropanol obteniendo la concentración de cada uno de ellos de 10 mg/mL. Las soluciones de polímero y matriz se mezclan en una proporción de 1:10 (v / v) y se depositan sobre la placa cubierta con la capa de la sal. 	(Jackson, Yates, MacDonald, & Scrivens, 1997)
PET	2,4,6-Trihidroxiacetofenona	N/A	Hexafluoro-isopropanol (HFIP) Etanol/agua v/v 1/1	<p>Se prepara la solución del polímero a una concentración de 0.1 g/ mL de HFIP.</p> <p>La Solución se diluye en 8 mL de Cloroformo y precipita con 2 mL de Acetona y agitación.</p> <p>El polímero precipitado es separado por centrifugación.</p> <p>La solución remanente contiene oligómeros y se introduce a MALDI.</p> <p>10 mg de matriz se disuelve en etanol/agua v/v 1/1) y se deposita sobre la solución de oligómero.</p>	(S. Weidner et al., 1997)

PET	2,5-Ácido dihidroxibenzoico (DHB)	N/A	Cloroformo	<ul style="list-style-type: none"> • Primero se deposita sobre la placa la matriz química, que consiste en una solución de 2,4,6-trihidroxiacetofenona a una concentración de 10 mg / ml (en etanol / agua v / v 1/1). • Una vez evaporado el solvente, se agrega la solución de la muestra de PET. • El disolvente se evapora de nuevo. 	(S. Weidner, Kiihn, Friedrich, & Schriider, 1996)
PET	4,4'-Dihidroxiocetafluoroazobenceno	N/A	2,3,5,6-Tetrafluorofenol (para analito)	<ul style="list-style-type: none"> • Para seleccionar el solvente, se examinaron los siguientes: 2,3,5,6-tetrafluorofenol (TFF), pentafluorofenol (PFF), hexafluoroisopropanol (HFIP), ácido trifluoroacético (TFA) y bis (3,5-trifluorometil) fenol (BTFF). • La matriz química se disuelven en tetrahidrofurano (THF) (aproximadamente 0.1 M). 	(Somogyi et al., 2007)
PET	Ditranol	Trifluoroacetato de sodio (NaTFA)	Hexafluoroisopropanol /diclorometano (30:70 v:v)	<ul style="list-style-type: none"> • El polvo seco de PET se disuelve en 0.5 mL de hexafluoroisopropanol (HFIP)/CH₂Cl₂ (30:70, v: v). • Se utiliza ditranol como matriz en una concentración de 5 mg/mL y se prepara NaTFA a una concentración de 0.1 mg/mL. • Las soluciones se mezclan en una proporción de 1: 1: 1 y 1 µL de la mezcla se deposita sobre una placa MALDI de acero inoxidable y se seca al aire libre. 	(Eberl et al., 2009)

2. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar procedimientos analíticos que proporcionen datos sobre la estructura de PET y datos cuantitativos sobre el contenido de antimonio en este material y en productos envasados en él.

2.1. Objetivos específicos

Determinar las condiciones instrumentales para la determinación de Sb con generación de hidruros.

Poner a punto las condiciones del procedimiento analítico en base a MP-AES y realizar el análisis de muestras de PET y agua embotellada evaluando diferentes métodos de cuantificación.

Emplear el sistema MALDI-TOF MS con el programa PolyTools (Bruker) en el análisis de PET.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Instrumentación

Para la determinación de Sb, se utilizó el espectrómetro de emisión atómica Agilent 4100 MP-AES equipado con un automuestreador SPS3, con generador de nitrógeno Agilent 4100, el módulo de control de gas externo (EGCM). Fue utilizado el sistema de introducción de muestras multimodo (MSIS) y una cámara ciclónica de un solo paso, controlado por Agilent MP Expert Software (actualizado a partir de MP-AES 4200).

La generación de hidruros se lleva a cabo en el interior de la cámara MSIS como se muestra en la Figura 8; la solución de calibración acidificada o muestra que contiene HCl 1 M, se introdujo mediante una conexión "Y", a través de una línea de fondo de MSIS como se muestra en la Figura 8b; mientras que la solución reductora (NaBH_4 1,5% m/v + NaOH 1.0 % m/v) se bombeó a través de la línea superior (Figura 8c); para ambas soluciones, el caudal de 1 mL/min fue controlado por una bomba

peristáltica. Las condiciones de funcionamiento del instrumento se resumen en la Tabla 5.

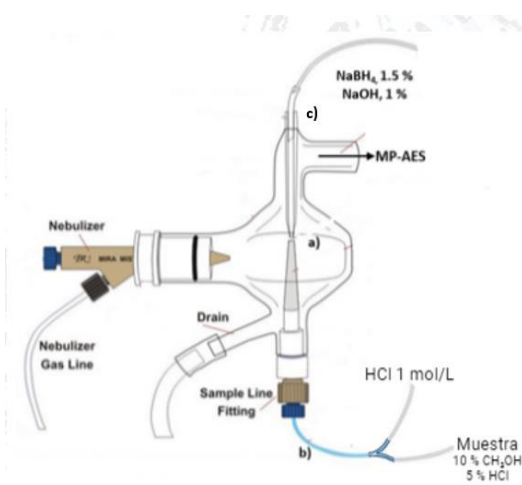


Figura 8. Sistema de introducción de muestra multimodo (MSIS) para generación de hidruros. a) Zona de reacción b) Línea de alimentación con muestra y HCl 1M c) Línea de alimentación con NaBH₄

Tabla 5. Condiciones instrumentales de operación del sistema MP-AES

Parámetros	
Presión de nitrógeno	140 psi
EGCM ^(a)	No
Nebulizador/cámara de niebla	Sistema de introducción de muestra multimodo (MSIS)
Presión de nebulizador	240 kPa
Posición de visualización	-20
Tiempo de integración	5s
Longitud de onda de detección	217.581 nm*/ 217.581 ± 1 nm**
Corrección de fondo	ninguno*/ninguno**
Numero de pixeles	3

(a) – Módulo de control de gas externo para inyección de aire

* - para calibración univariante; ** - para PLS

El análisis de PET se realizó en un espectrómetro de masas con sistema de desorción/ionización láser asistido por matriz química y con analizador de masas de tiempo de vuelo, equipado con un láser smartbeamTM-II Nd:YAG (335nm,532 nm, 1064nm), MALDI-TOF MS, modelo AutoFlex speed de Bruker Daltonics. Se utilizó la placa tipo “ground steel” y el ácido 2,5-dihidroxibenzoico como la matriz química. Los espectros se adquirieron en modo lineal, para PET en el intervalo de m/z 700-4500 y en el intervalo m/z 350-5000 para hidrolizados de PET. El software para análisis de datos fue FlexAnalysis 3.4 y PolyTools 1.0 (Bruker)

3.2. Reactivos

Todos los productos químicos eran de grado de reactivo analítico. Se utilizó agua desionizada 18.2 MΩ (Labconco, EE.UU.), metanol y cloroformo de grado analítico de Sigma (Milwaukee, EE.UU.). El estándar de antimonio (III) para espectrometría de absorción atómica, 1000 mg de Sb/L se compró a Sigma-Aldrich; las soluciones estándar de stock de Sb (V), 1000 mg de Sb/L, fueron preparados disolviendo antimonato de hexahidróxido de potasio (Sigma-Aldrich).

Se utilizaron los siguientes reactivos Sigma: ácido trifluoroacético, yoduro de potasio, ácido ascórbico, ácido clorhídrico, hidróxido de potasio, borohidruro de sodio.

3.3. Muestras

Cinco botellas de agua natural fueron compradas en el mercado local una semana antes de su análisis, seleccionando aleatoriamente diferentes marcas. Todas las botellas estaban hechas de PET incoloro, contenían 500 ml de agua natural y tenían la fecha de vencimiento en 2023; las muestras del polímero se anotaron como PET1-PET4. Las muestras de agua tomadas de estas botellas fueron anotadas W1-W4. Adicionalmente, con 6 meses de anticipación (junio-noviembre 2021) se adquirieron dos botellas de agua de marca PET2. Una de ellas se envolvió en papel de aluminio y se mantuvo a 4 °C (W2A), mientras que otra botella se expuso a la luz natural a temperatura ambiente de 26 a 30 °C (W2B). Después de almacenamiento, se determinó el Sb en W2A y W2B. También con 6 meses de anticipación, en botellas de polipropileno se colocaron aproximadamente 2 g de pequeños trozos

(0,5 x 0,5 cm) de PET, PVC y caucho y a cada uno de los frascos se agregaron 500 mL de agua desionizada. Después de 6 meses a temperatura ambiente y exposición a luz solar, se tomaron alícuotas de agua para la determinación de Sb; estas muestras fueron identificadas como DW-PET, DW-PVC, DW-rubber, respectivamente.

3.4. Análisis de datos y análisis estadístico

Los espectros de emisión registrados se guardaron en Excel (Microsoft 365) y se importaron directamente a The Unscrambler 7.0 (CAMO). Este software se utilizó para realizar una regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS).

Para la calibración univariante y para el método de adición estándar, se realizó sin corrección de línea base y se utilizó la altura del pico como señal analítica; Las funciones de regresión lineal se calcularon utilizando Microsoft Excel (Microsoft 365).

Todos los análisis se realizaron por triplicado; las desviaciones estándar y los valores medios se calcularon usando Microsoft Excel (Microsoft 365).

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Puesta a punto del sistema de generación de hidruros para la determinación de antimonio por MP-AES

En la primera etapa del trabajo, se procedió con la selección de los parámetros instrumentales del MP-AES adecuados para el análisis de Sb, utilizando para su ajuste y para la adquisición de datos el programa Agilent MP Expert.

Se tomaron en cuenta las intensidades de diferentes líneas de emisión del Sb, las potenciales interferencias y se examinaron diferentes condiciones del MP-AES, algunas establecidas por el usuario y otras utilizando las opciones de optimización que ofrece el software del equipo. El criterio de selección era obtener la mayor posible relación señal/ruido.

Los parámetros importantes en el procedimiento de optimización incluyen: (i) presión de gas de nebulizador, (ii) posición de vista, (iii) tiempo de integración y (iv) tipo de ajuste de línea base. Adicionalmente, se puede optar por el uso del sistema EGCM el cual introduce aire como gas adicional cuando hay compuestos orgánicos volátiles; se ajustan también flujo de gas del plasma y tiempo de realización de la lectura.

La presión del gas de nebulizador es el parámetro responsable de dar uniformidad al tamaño y distribución de las gotas de aerosol, lo que tiene un impacto directo sobre la magnitud de la señal analítica.

La posición de visualización se refiere al lugar donde se coloca un espejo para recoger los fotones emitidos; dicho parámetro es importante porque la intensidad de la emisión a una determinada longitud de onda varía según la región del plasma. Además, la posición de visualización óptima varía para diferentes tipos de muestras y también para diferentes condiciones de funcionamiento del instrumento.

A partir de esto, la optimización de los dos parámetros antes mencionados se logra mediante el monitoreo automático de un parámetro conocido como SRBR (signal-to-root-background ratio), correspondiente a la relación señal con respecto a la señal de ruido (S/N). El valor máximo de este parámetro es determinado por medio del Software del equipo a partir de una indicación dada por el usuario; al optimizar individualmente la presión de nebulización y posición de visualización. Por lo tanto, es necesario realizar este proceso tres veces para cada una de las longitudes de onda que se van a estudiar.

Tal como ya se mencionó antes, es muy importante seleccionar la línea de emisión del elemento libre de interferencias espectrales (Kmetov, Kiryakova, Varbanova, Simitchiev, & Canals, 2021).

En base a las consideraciones que se acaban de mencionar, se realizó el ajuste de parámetros con el sistema de introducción de muestra convencional y probando el método de calibración externa en un rango de 0.1 y 10 mg Sb /L, usando diferentes longitudes de onda de Sb como se muestra en los espectros de emisión en la Figura 9.

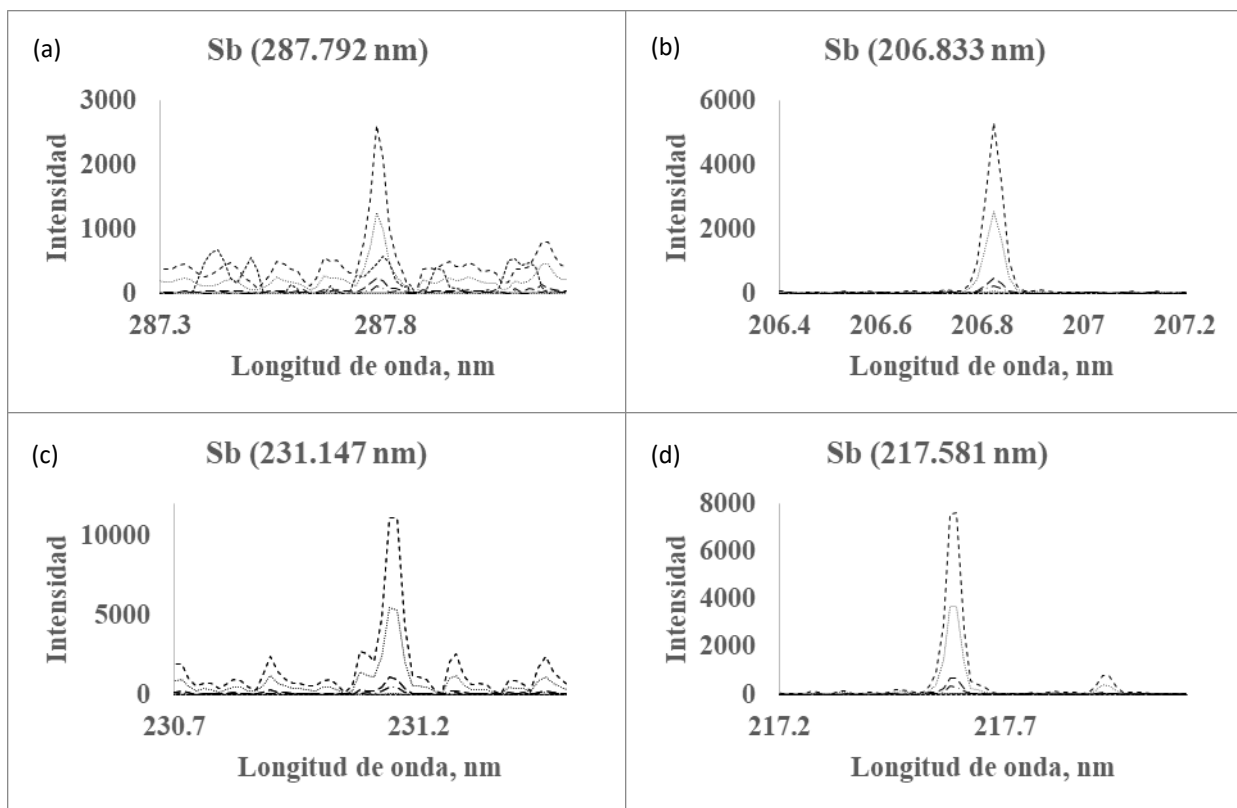


Figura 9. Espectros obtenidos para las soluciones de calibración (0.1 y 10 mg Sb /L) con el ajuste automático de línea base. a) Antimonio a 287.792 nm b) Antimonio a 206.833 nm c) Antimonio a 231.147 nm d) Antimonio a 217.581 nm

Las longitudes que fueron descartadas son: (a) La línea 287.792 nm, dado que tiene interferencias espectrales con muchos elementos, así mismo, como se puede observar la Figura 9a, tiene la menor línea base estable, contiene la más baja señal de intensidad y alto ruido en su espectro de emisión lo cual desfavorece totalmente la cuantificación del analito; (b) la línea 206.833 nm, la cual presenta un espectro de emisión con baja señal de ruido, pero no es lo suficientemente confiable por su baja intensidad además que puede tener interferencia con Ge, elemento propuesto para usar como SI; (c) la línea 231.147 nm usada en mayoría de trabajos para la determinación de Sb, tiene la más alta señal de intensidad, sin embargo, como se

observa en la Figura 9c, su espectro de emisión es acompañado de alto ruido. Por su parte, se puede observar en la Figura 9d la línea 217.581, como la longitud de onda de emisión con menos interferencias y más estable línea base, aunque no la de mayor intensidad. Cabe también mencionar que esta línea es acompañada por otra de menor sensibilidad (217.919 nm), misma que se observa en la Figura 9d.

En consecuencia, mediante el proceso de comparación de sensibilidad y potenciales interferencias de las diferentes líneas atómicas, se encontró la línea de Sb 217.581 nm como mejor opción.

Por otro lado, se preparó una solución de Sb a una concentración de 0.1 mg Sb /L Sb que fue ingresada al sistema y se esperó durante un lapso de 20 min para que el plasma lograra estabilidad. Seleccionando las opciones “Optimización de presión de nebulización” y “Optimización de posición de vista”, el software indica los valores de los parámetros a utilizados, 240 kPa y -20 respectivamente. En cuanto a “Tiempo de lectura” se seleccionó 5 s, sin la opción de “Background Correction” y se ajustó la bomba peristáltica a una velocidad de 1 mL/min utilizando mangueras de un diámetro de 1 mm.

De acuerdo con los estudios reportados en tabla 1, la concentración esperada de Sb en agua embotellada en PET se encuentra en el intervalo entre 2 y 10 µg/L y para Sb en PET entre 100 y 300 mg/kg. Para el caso de las determinaciones de Sb en PET, el principal desafío es el pretratamiento de muestra mientras que para determinaciones a nivel ultra trazas como lo son lixiviados de Sb en agua, es necesario realizar la generación de hidruros como el que se muestra en la Figura 8. Al poner a punto el procedimiento de generación de estibina, es importante recordar que el Sb (III) forma hidruro de manera más eficiente respecto Sb(V). Es por ello, que era necesario asegurar que todo Sb en la muestra se encuentre en forma de Sb(III). Inicialmente, en la etapa de pre-reducción, se utilizó HCl 8 M debido a su carácter reductor, seguido por la adición de NaBH₄ al 1.5 % m/v en NaOH al 1% m/v con el fin de convertir Sb(III) presente en la solución en fase gaseosa (Chapa-

Martinez et al., 2016). Dichas condiciones tomadas de estudios anteriores no arrojaron buenos resultados probablemente debido al uso de alta concentración de HCl, por lo tanto, se hicieron experimentos sistemáticos para obtener mejores señales analíticas.

Se comenzó probando diferentes condiciones experimentales usando una curva de calibración de Sb (III) de 25 y 1000 $\mu\text{g Sb/L}$ buscando lograr los mejores valores S/R y una buena linealidad de la función de regresión lineal. De manera que se probaron dos distintos ácidos; (i) HCl variando sus concentraciones en el intervalo 1M – 8 M y (ii) ácido malónico 1 M (Nakahara & Kikui, 1984). En la Figura 10 se muestran los espectros de emisión adquiridos. Se puede observar una línea base muy estable para ácido malónico (Figura 10a), en contraste a los resultados presentados en Figura 10b para HCl al 8 M. Por otro lado, al bajar la concentración de HCl hasta 1M (Figura 10c), se logró mejorar la magnitud de las señales con más altos valores S/R entre todas las condiciones examinadas. Finalmente, se decidió utilizar HCl 1 M. En cuanto a NaBH_4 , se utilizó la solución 1.5 % en NaOH al 1 % basándose en los experimentos de Nakahara y Kikui (Machado, Amaral, Nobrega, & Araujo, 2017). En resumen, en la tabla 5 y la Figura 8, podemos encontrar las condiciones experimentales e instrumentales de operación implementadas para este proyecto.

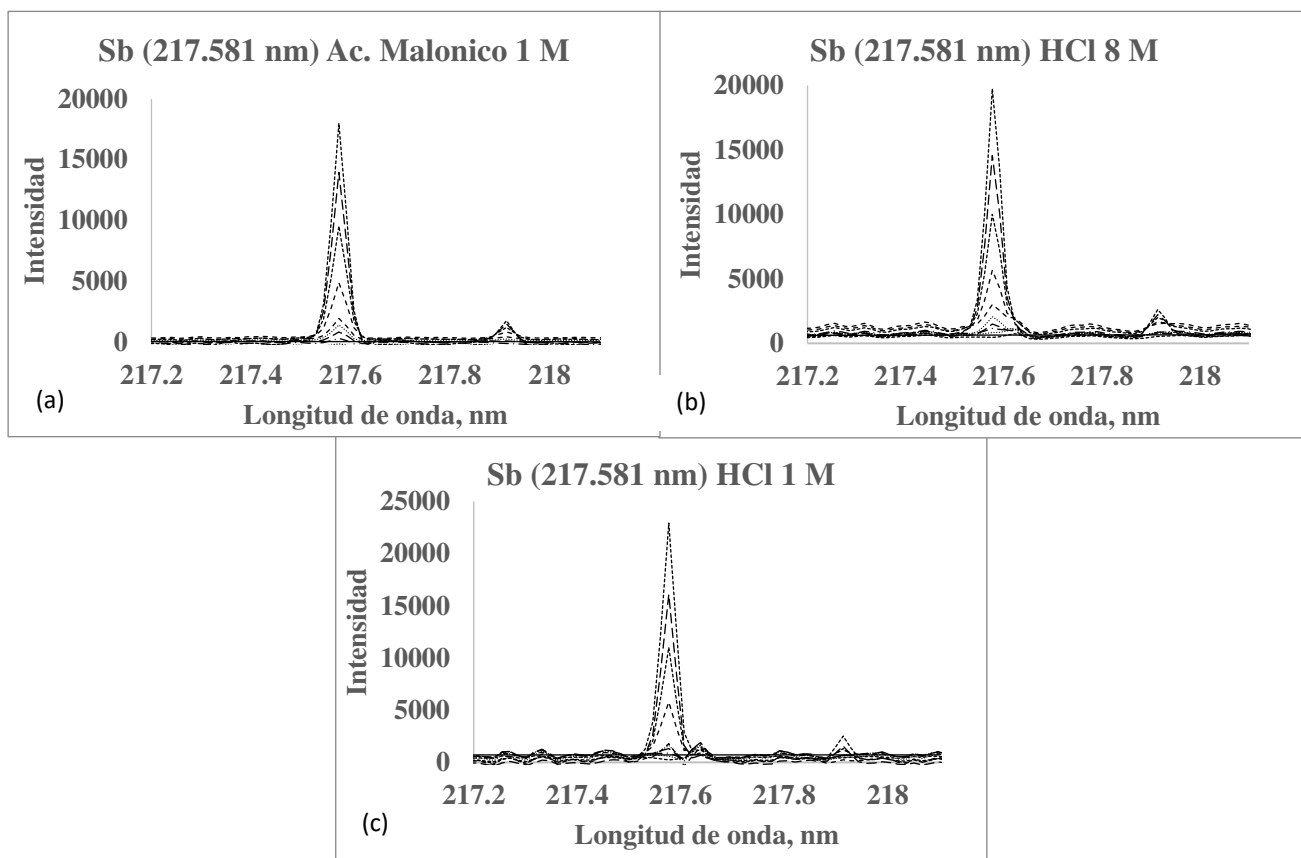


Figura 10. Espectros obtenidos para soluciones de calibración (25 - 1000 $\mu\text{g Sb/L}$) por HG-MP-AES utilizando línea de emisión 217.581 nm (sin ajuste automático de línea base). a) Acido Malónico 1 M b) HCl 8 M c) HCl 1 M

Debido a que el HCl 8M no fue adecuado para lograr la pre-reduccion de Sb(V) potencialmente presente en las muestras analizadas y asegurar que el elemento se encuentra en su totalidad como Sb (III), se adoptaron las condiciones reportadas previamente, consistentes en la adición de ácido ascórbico y yoduro de potasio a una concentración final de 40 mM y 0.15 M, respectivamente (Chapa-Martinez et al., 2016; El-Hadri, Morales-Rubio, & De-la-Guardia, 2000). Se prepararon dos series de las soluciones de calibración en el intervalo de concentraciones 0.5 –11.5 $\mu\text{g Sb/L}$, utilizando estándar de Sb(III) o de Sb(V). En las soluciones de Sb(V) se llevó a cabo la pre-reducción y se ingresaron ambas series de las soluciones al sistema HG-MP-AES. Para mayor claridad de la presentación, en la Figura 11 se muestra las funciones de regresión lineal obtenidas para las dos series de soluciones utilizando las condiciones finales del procedimiento (método PLS). En esta Figura se observa una buena linealidad tanto para Sb (III) como para Sb(V) con $R^2 > 0.997$ en ambos casos; la diferencia entre las pendientes obtenidas para los dos

estados de oxidación es de 7.9%, lo que muestra una efectiva pre-reducción de Sb(V). Las condiciones de pre-reducción examinadas fueron posteriormente utilizadas en el análisis de muestras de agua.

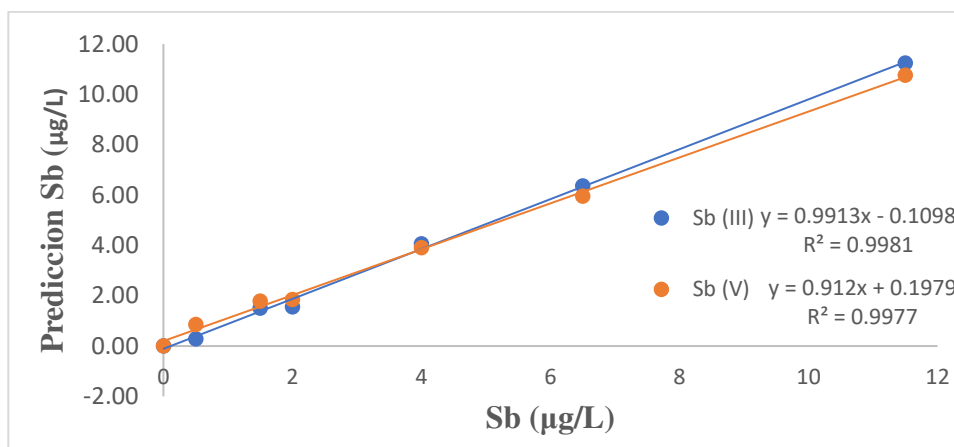


Figura 11. Curva de calibración externa Sb (III) y Sb (V) (para claridad de la presentación, se presentan las ecuaciones de regresión obtenidas utilizando las condiciones finales del PLS para agua)

4.2. Evaluación de diferentes métodos de cuantificación

La propuesta inicial era realizar la cuantificación mediante calibración externa con un adecuado estándar interno, considerando un elemento que forma un hidruro volátil en condiciones similares a Sb y que no esté presente en las muestras (Guerrero Esperanza et al., 2017). En base a estos criterios, se probaron Ge y Te. Para ambos la generación de hidruros funcionó y se realizó una curva de calibración usando las mismas condiciones de generación de hidruros empleada para Sb (Kmetov et al., 2021; Machado et al., 2017). Sin embargo, para mezclas Sb-Te y Sb-Ge las señales bajaban significativamente como se muestra en la Figura 12. Este efecto se debió a interferencias en la etapa de generación de hidruros, de acuerdo con algunos reportes anteriores (Kumar & Riyazuddin, 2010). Por lo tanto, se decidió trabajar sin estándar interno.

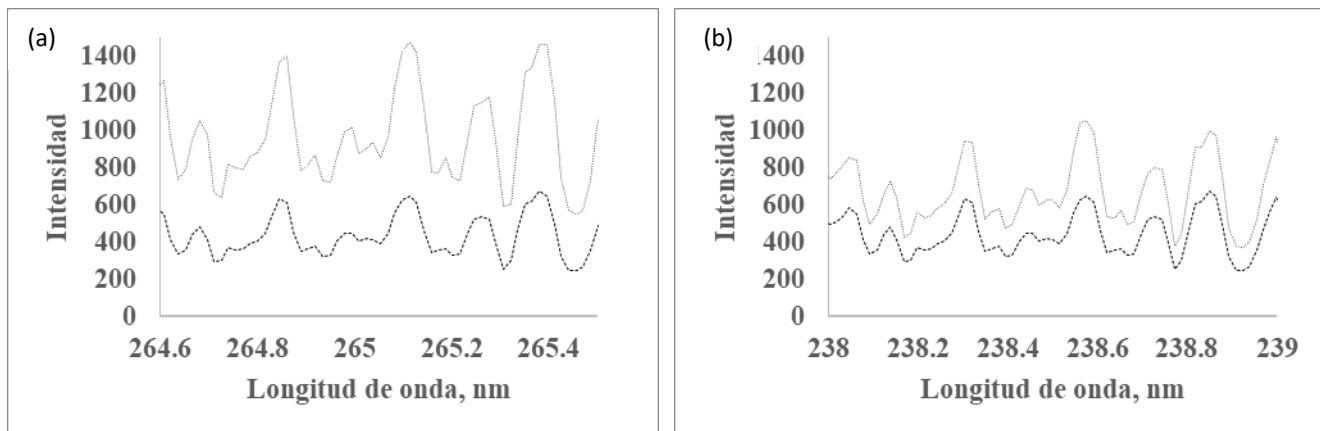


Figura 12. Espectros de emisión para: a) Germanio a 265.902 nm; b) Telurio a 237.578 nm. línea negra - blanco, línea gris - estándar del Ge o de Te, 500 µg/L en presencia de 500 µg/L de Sb.

Para evaluar la factibilidad de calibración externa sin IS, se utilizaron las soluciones con concentraciones de Sb en el intervalo de 10 hasta 1000 µg Sb/L ($\lambda = 217.581$ nm). De manera de ejemplo, en la Figura 13 se presenta una de las curvas de calibración obtenidas. Aunque la linealidad en base a todos los puntos de calibración es aceptable ($R^2 < 0.9988$), en la región de concentraciones bajas se aprecia un cambio de la pendiente y $R^2 = 0.9732$. Cabe también señalar que, para concentraciones elevadas de Sb, el plasma era inestable y las señales irreproducibles. Estos efectos que se acaban de mencionar se relacionaron en primer lugar con la presencia de dos líneas de emisión de Sb en la ventana de adquisición de datos espectrales (217.581 nm, 217.919 nm) y, en segundo lugar, por la capacidad de Sb para captar/neutralizar radicales libres, misma que permite utilizar compuestos de Sb como retardadores de flama. En particular, el Sb como aditivo retardante del fuego actúa en sinergia con un material halogenado como HCl formando oxiclورو de antimonio, $SbOCl$, y de esta manera se evita la formación/propagación de radicales libres en flamas (Babushok, Deglmann, Krämer, & T., 2017; Hastie, 1973).

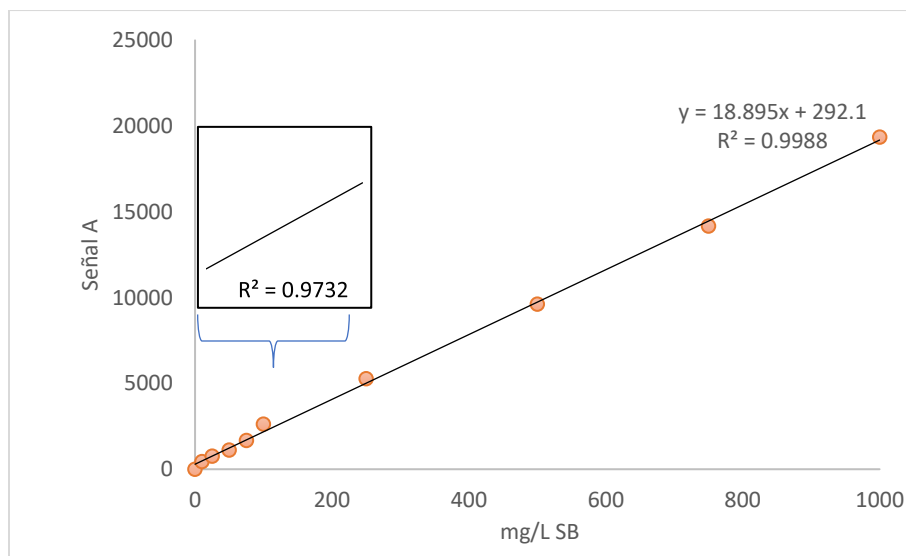


Figura 13. Ejemplo de curva de calibración externa obtenida por HG-MP-AES en el intervalo 25-1000 $\mu\text{g Sb/L}$ (217.581 nm).

La calibración externa es el método de cuantificación más común; sin embargo, en este método el ambiente químico del analito en las soluciones estándar es diferente comparando con la muestra, lo que puede causar errores analíticos. Por otra parte, los métodos de calibración multivariable representan una alternativa interesante de cuantificación, sobre todo tratándose de matrices químicamente complejas y con interferencia por fluctuación de línea base (Felipe-Sotelo et al., 2006). Es por ello por lo que en este trabajo se optó por utilizar el método PLS (método de mínimos cuadrados parciales). El algoritmo PLS toma los espectros de las soluciones de calibración adquiridos en la vecindad de línea de emisión de Sb y utiliza estos datos, seleccionando aquellas señales que presenten una posible correlación mayor con la concentración de Sb en la solución aspirada. En PLS no es necesario el ajuste de línea base a la hora de construir el modelo de calibración y los resultados de predicción en muestras reales son menos susceptibles a posibles interferencias, respecto al método de calibración externa. Por otro lado, la composición de las soluciones de calibración en PLS debería ser muy similar a la composición de muestras.

Para demostrar el potencial del PLS, los espectros obtenidos para una curva de calibración presentada en Figura 13, se importaron a Unscrambler 7.0 y se obtuvo el

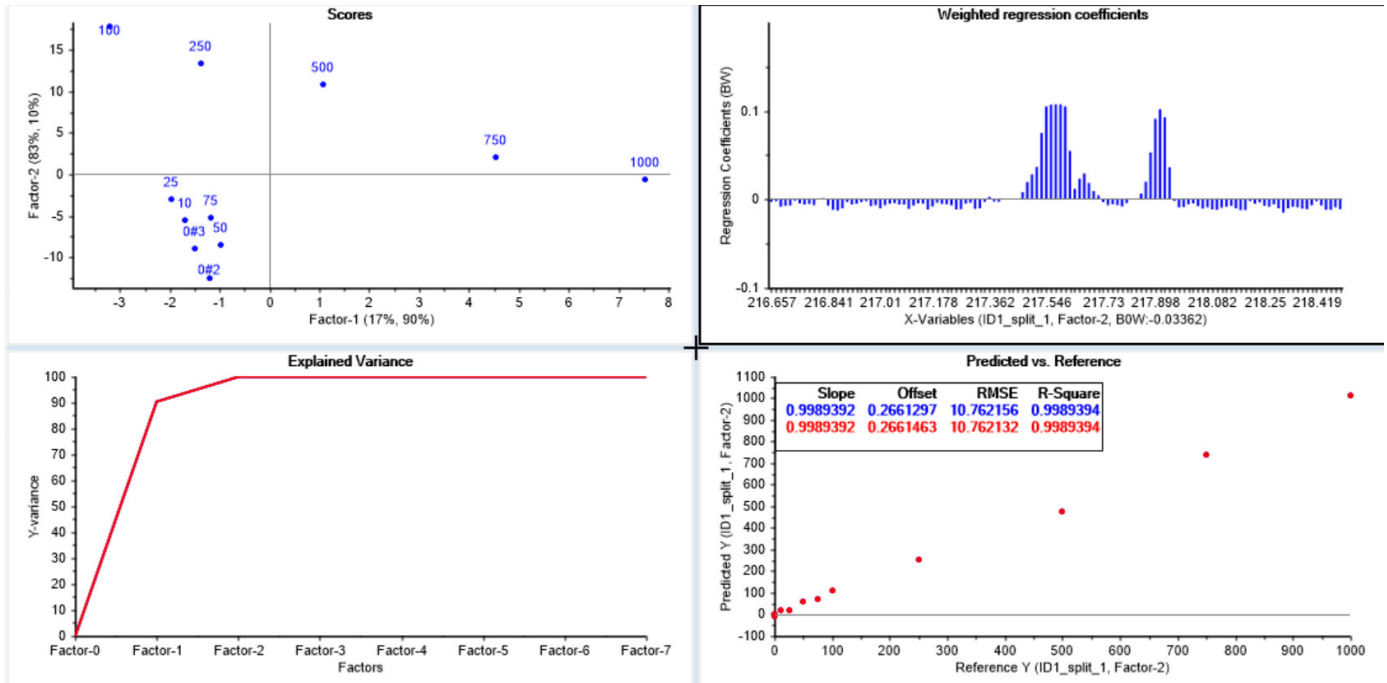


Figura 14. Modelo PLS obtenido usando datos espectrales de curva de calibración (10 y 1000 $\mu\text{g Sb/L}$)

modelo PLS, el cual se presenta en la Figura 14. El gráfico “Score” de la Figura 14a, muestra un inusual ordenamiento de las soluciones de calibración en el espacio de los dos primeros factores. Dicho ordenamiento se marca en la Figura con flechas y sugiere tres diferentes mecanismos de atomización/excitación de Sb, dependiendo del intervalo de sus concentraciones. Este resultado confirma lo antes observado en la Figura 13; aparentemente, para bajas concentraciones se tiene una influencia de la fluctuación de línea base y de distribución de la señal entre dos líneas de emisión. Hay que enfatizar que en el gráfico de coeficientes de regresión (Figura 14b), se detectan tres regiones espectrales (217.6 nm, 217.7 nm y 217.9 nm), para las cuales existe alta correlación entre intensidad de emisión y concentración de Sb. Mientras que calibración univariante considera solamente la señal en 217.581 nm, el PLS usa todas las señales para construir la función de regresión lineal. El gráfico de porcentaje de varianza cubierto por el modelo (Figura 14c) sustenta la selección de dos factores para la construcción del modelo ya que estos dos primeros factores explican prácticamente el 100% de la varianza de datos. Finalmente, en la Figura 14d, se presenta el modelo de calibración y de validación, observándose una buena

linealidad ($R^2 > 0.998$), pero el error relativamente alto en ambos casos ($RMSEC > 10$).

En base a estos resultados, se decidió disminuir el intervalo de concentraciones a 0.5-10 $\mu\text{g Sb/L}$ en el análisis de agua embotellada en PET. Por otro lado, se decidió también eliminar altas concentraciones de Sb en la calibración para PET, para evitar inestabilidad del plasma.

4.3. Tratamiento de muestras reales y composición de las soluciones de calibración para la determinación de Sb por PLS

Se decidió preparar dos modelos PLS, uno para el análisis de PET y otro para el agua embotellada. Tal como ya se mencionó anteriormente, las concentraciones de Sb esperadas en agua embotellada están en el intervalo entre 2 y 10 $\mu\text{g/L}$ y para Sb en PET entre 100 y 300 mg/kg . En el caso de agua, la matriz química es simple pero el desafío consistió en la determinación de muy bajas concentraciones de Sb y en la posible presencia de sus dos estados de oxidación. En el caso de PET, los retos eran diferentes: (i) poner a punto un simple y efectivo pretratamiento de muestra y (ii) lograr que la composición de las soluciones de calibración y de las muestras reales fuera similar.

Antes de seguir con el análisis por PLS, era necesario establecer las condiciones de tratamiento de muestra para el PET y para el agua embotellada en PET.

4.3.1 Procedimiento propuesto para la extracción de Sb del PET

En la revisión bibliográfica se encontró que, los procedimientos de digestión de PET para la determinación de Sb se basan en condiciones muy agresivas, debido al uso de los ácidos inorgánicos concentrados, así como el calentamiento prolongado a alta temperatura y presión (Tabla 1). Con el fin de proponer un procedimiento más simple y amigable al medio ambiente, en este trabajo se planteó la hidrólisis alcalina reportada anteriormente para el reciclaje de PET (Ben-Zu, Chih-Yu, & Wu-Hsun, 2000). En el trabajo citado, se logró un rendimiento de despolimerización del 95% después de calentar PET con solución etanólica de hidróxido de sodio al 5% m/v con adición de metóxido de sodio 0.5% m/v y de carburo de calcio 0.5% m/v , durante 48 h a 60 $^{\circ}\text{C}$.

Se realizó una serie de experimentos en los que se tomaron 10 mg de la muestra de PET. Al considerar la concentración promedio de Sb en PET de 200 mg/kg, si se toman 10 mg de muestra y el volumen final después de hidrólisis se ajusta a 25 mL, la solución de la muestra introducida al sistema instrumental debería tener una concentración de aproximada de 80 μg Sb/L – la cual es adecuada para el procedimiento HG-MP-AES. Con estos ajustes, se varió el volumen y la concentración de la solución de KOH, así como el tiempo y temperatura del calentamiento. En cada uno de los casos se adquirió la señal de Sb en el extracto obtenido, tomando como criterio de selección la máxima magnitud de dicha señal. Cabe también señalar que, en presencia de metanol la magnitud de la señal de Sb era más alta respecto a la solución acuosa, por lo que se decidió mantener la concentración de metanol de 10% v/v en todas soluciones de calibración y en las muestras.

El protocolo final de tratamiento de PET se muestra esquematizado en la Figura 15 y es el siguiente: Alícuotas de 10 mg de PET cortado en trozos pequeños (aprox 5x5 mm) se colocaron en tubos Eppendorf de 1.5 mL, a cada tubo se agregaron 500 μL de KOH 5% m/v en metanol que contenía además el metóxido de sodio 0.5% y carburo de calcio 0.5% m/v. Las mezclas se calentaron a 60 °C durante 48 h (bloque de calentamiento, Labnet). Como resultado, se obtenía una solución del PET parcialmente despolimerizado. Una vez enfriado a temperatura ambiente, se agregaron 500 μL de agua desionizada a cada tubo, las muestras se agitaron en vórtex seguido por la adición de 200 μL de HCl 8 M. De esta manera el PET parcialmente hidrolizado formó una espuma fácil de retirar, mientras que los pequeños fragmentos del polímero solubilizados se extrajeron con 400 μL de cloroformo debido a que el ácido tereftálico en estos fragmentos se mantuvo no disociado. La mezcla se centrifugó (12000 g, 5 min) y se recogió la fase agua-metanol que contenía antimonio y glicol. A continuación, se agregaron sucesivamente dos porciones de agua mili-Q para asegurar la recuperación completa de Sb; los extractos acuosos se combinaron en matraces volumétricos de 25 mL y se completó el volumen con HCl 1 M en agua desionizada con 10% v/v de metanol.

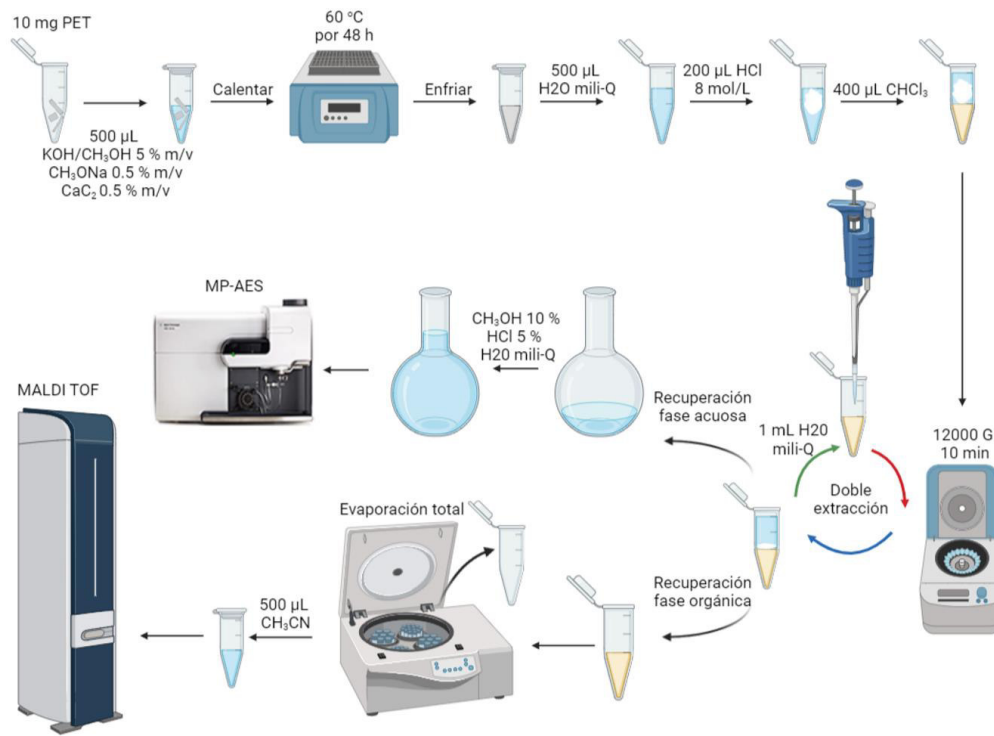


Figura 15. Protocolo de extracción de Sb en PET

4.3.2. Soluciones de calibración para la determinación de Sb en el PET por PLS

Para construir el modelo PLS que permitiera la predicción de la concentración de Sb en PET, se decidió preparar las soluciones de calibración siguiendo el mismo protocolo que para muestras de PET. Para ello, se necesitaba tener el PET libre de Sb. Se llevó a cabo el siguiente procedimiento de limpieza de PET: se tomaron aproximadamente 0.5 g de pequeños trozos de PET y se disolvieron en 5 mL de ácido trifluoroacético (agitación, 30 min). El polímero fue precipitado con 10 mL de una mezcla fría de agua desionizada con metanol (1:1). El precipitado se separó por filtración al vacío y se lavó con 50 mL de HCl 1M y con 50 mL de metanol frío. Finalmente, el PET se secó al aire durante 48 h; en dicha muestra, el contenido de antimonio estuvo por debajo del límite de cuantificación del procedimiento propuesto. Los pasos del procedimiento de limpieza del PET se presentan esquemáticamente en la Figura 16.

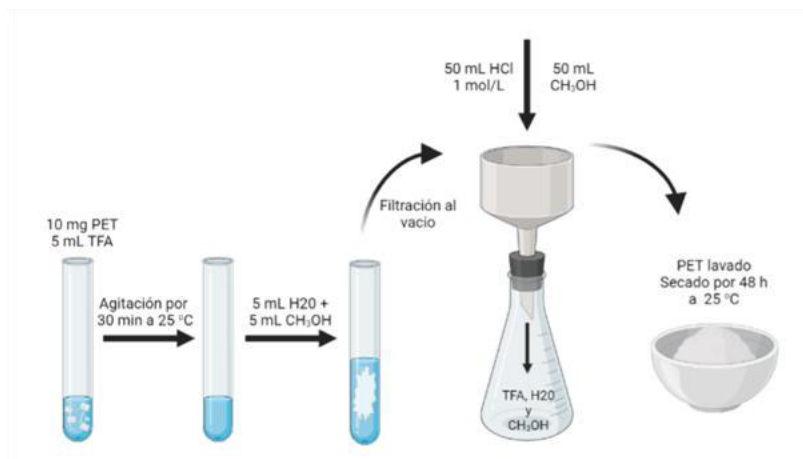


Figura 16. Protocolo de eliminación de Sb en PET

Las soluciones de calibración se prepararon tomando 10 mg de PET libre de Sb y antes de su hidrolisis, a los tubos Eppendorf se agregaron alícuotas de solución estándar de Sb para obtener las concentraciones de 80, 130, 180 y 230 $\mu\text{g Sb/L}$ (para el blanco no se agregó la solución de Sb). Se siguió el mismo protocolo como para las muestras de PET (sección anterior).

4.3.3. Procedimiento propuesto para la determinación de Sb en agua embotellada en PET por PLS

En la preparación de muestra para la generación de estibina, era necesaria la adición del HCl para tener una concentración final de 1M y la pre-reducción de antimonio asegurando que solamente este presente en forma de Sb(III). Al mismo tiempo, debido a las bajas concentraciones de Sb esperadas, se procuró evitar la dilución de las muestras. De este modo, el protocolo era el siguiente: las alícuotas de 1600 μL de muestras se colocaron en tubos Eppendorf agregando a cada uno de los tubos 400 μL de una solución que contenía KI 0.8M, ácido ascórbico 0.16mM y HCl 5M en agua:metanol (1:1). Las soluciones se agitaron en vortex.

Las soluciones de calibración se prepararon siguiendo el mismo protocolo, pero en lugar de muestra se tomaron alícuotas de estándar de antimonio, obteniendo las concentraciones de 0, 0.5, 2.5, 5.0 y 10 $\mu\text{g Sb/L}$. Tal como se mencionó antes, la presencia de metanol al 10% v/v favoreció la magnitud de la señal analítica en comparación con agua pura.

4.4. Modelos PLS para el análisis de agua embotellada y para PET.

A partir de las soluciones de calibración y de las muestras reales, se procedió con su introducción al sistema HG-MP-AES, registrando los espectros de emisión en la vecindad de línea emisión de Sb (217.6 ± 1 nm). Para soluciones de calibración, se obtuvo una tabla de dos columnas correspondientes a longitud de onda en el espectro y a la intensidad de emisión en esta longitud de onda, respectivamente. Dicha tabla se importó al paquete de software Unscrambler 7.0 para realizar el análisis de regresión PLS. En la construcción del modelo, para cada solución de calibración, los datos de intensidad de emisión fueron normalizados por la desviación estándar calculada para las intensidades en todas las longitudes de onda. La tabla similar se obtuvo para muestras reales y estos datos se utilizaron para realizar la predicción de concentración de Sb en base a modelo PLS obtenido.

4.4.1. Modelo PLS para la determinación de Sb en agua

El modelo PLS obtenido para antimonio reducido con un intervalo de concentraciones 0.5-10 μg Sb/L, con adición de metanol y de mezcla KI + ácido ascórbico, se presenta en la Figura 17.

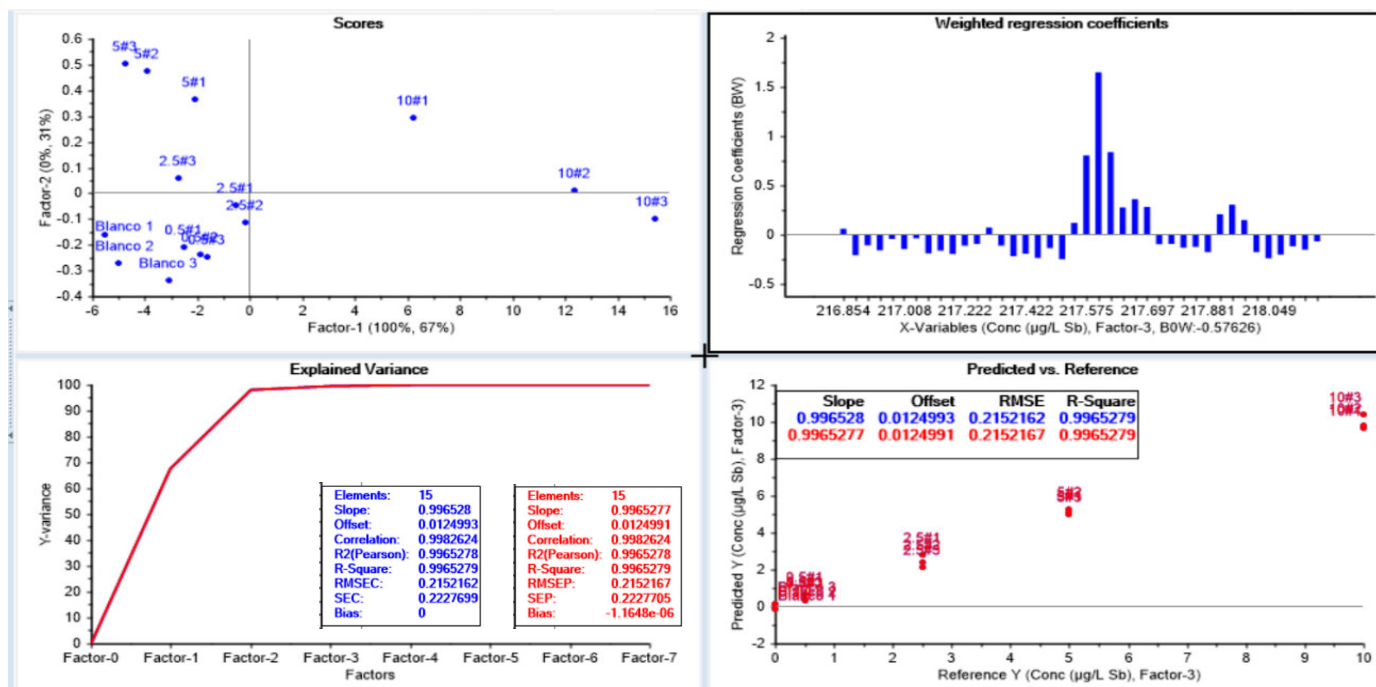


Figura 17. Modelo PLS obtenido para el análisis de agua embotellada (0.5-10 μg Sb/L)

En esta ocasión, el modelo fue construido en base a tres primeros factores, los cuales permitieron cubrir al 100% la varianza de datos. En el gráfico de coeficientes de regresión, se observan las regiones espectrales, donde las señales de emisión se correlacionan con la concentración de Sb y contribuyen en la función de regresión. Dichas funciones obtenidas en la etapa de calibración (azul) y validación (rojo) presentaron aceptable linealidad ($R^2 = 0.997$). De manera más importante, se obtuvieron bajos e iguales errores con el valor de 0.2152 para RMSEC y RMSEP (root mean square error of calibration; root mean square error of prediction, por sus siglas en inglés) así como muy bajo valor de "bias" en la validación (-1.16×10^{-6}), lo que confirma una buena calidad predictiva del modelo. Cabe mencionar que la validación del modelo se realiza mediante el re-cálculo de modelo después de sacar un punto de calibración a la vez.

Para visualizar los datos que se utilizaron en el modelo PLS, en la Figura 18 se presentan espectros de emisión adquiridos en el proceso de calibración realizado. La Figura 18a muestra espectros obtenidos a partir de estándar de Sb(III) mientras que la Figura 18b muestra espectros obtenidos tomando estándar de Sb(V).

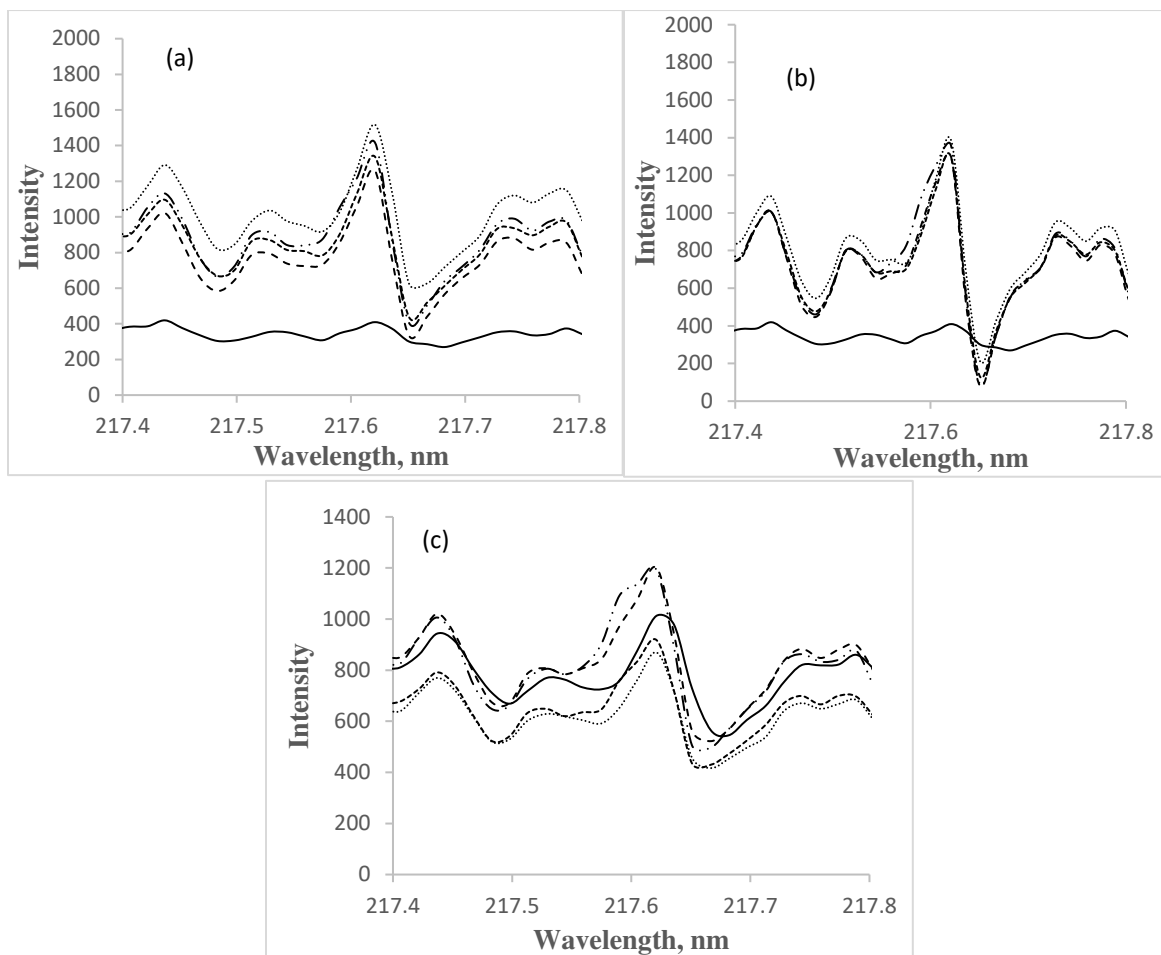


Figura 18. Espectros de emisión utilizados para construir modelo PLS para análisis de agua embotellada: a) estándar de Sb (III) (0.5-10 µg Sb/L) b) estándar de Sb (V) (2-11.5 µg Sb/L) c) adición de estándar para muestra W1 (0, 0.5, 1.5, 2.5 µg Sb/L)

En primer lugar, se observa una buena concordancia entre estos dos gráficos confirmando la efectiva pre-reduccion de Sb(V) a Sb(III). Por otro lado, se puede notar que las diferencias entre intensidades de las señales adquiridas para las soluciones individuales de calibración son muy pequeñas. Dichos cambios son insuficientes para la calibración univariante, como lo muestra la Figura 18, pero el método PLS, al considerar de manera global todos los cambios dentro de las regiones seleccionadas del espectro, realiza correctamente el análisis de regresión (Figura 17). Específicamente, las funciones de regresión lineal obtenidas en etapas de calibración utilizado estos datos se presentaron en la Figura 11.

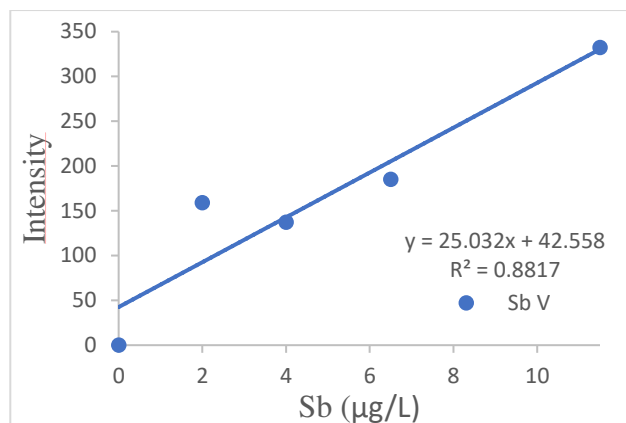


Figura 19. Función de regresión lineal obtenida en el proceso de calibración univariante en Sb(V) (2-11.5 µg Sb/L, 217.581 nm)

Para examinar la exactitud de la predicción por PLS, se preparó la muestra de agua W1 con adiciones de estándar utilizando concentraciones de 0, 0.5, 1.5, 2.5 y 5.0 µg Sb/L. Los espectros adquiridos en este experimento se presentan en la Figura 18c. Cada uno de los espectros de calibración y de adición de estándar a la muestra W1, se sometieron al modelo PLS para la predicción de las concentraciones de Sb. En la Tabla 6 se presentan los resultados obtenidos. Los porcentajes de recuperación se encontraron dentro del intervalo 58-116 %. De manera general, para las concentraciones más altas que 1 µg Sb/L, el procedimiento provee una buena precisión (CV en intervalo entre 1.4 % hasta 12 %) y aceptable exactitud.

Tabla 6. Porcentajes de recuperación de Sb obtenido para las soluciones de calibración y para adición de estándar a muestra W1, utilizando el modelo PLS desarrollado para agua embotellada.

Experimento	Sb agregado, µg/L	Predicción PLS, µg/L	Recuperación, %
Calibración Sb(III)	0	<LD	-
	0.5	0.34 ± 0.08	68.0
	2.5	2.32 ± 0.28	92.8
	5.0	5.00 ± 0.11	100
	10	9.82 ± 0.14	98.2
Calibración Sb(V)	0	<LD	-
	2	1.85 ± 0.15	92.5
	4	3.90 ± 0.08	97.5
	6.5	5.95 ± 0.13	91.5
	11.5	10.76 ± 0.21	93.7

Adición de estándar, W1	Sb agregado, $\mu\text{g/L}$	Predicción PLS, $\mu\text{g/L}$	Concentración en muestra, $\mu\text{g/L}$	Recuperación, %
	0	0.31 ± 0.08	0.39 ± 0.10	
	0.5	0.60 ± 0.14	0.75 ± 0.18	58.0
	1.5	1.59 ± 0.19	1.98 ± 0.24	85.3
	2.5	2.61 ± 0.20	3.26 ± 0.25	92.9
	5.0	6.10 ± 0.31	7.63 ± 0.39	116

Para evaluar los límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ) del método PLS, se hizo la predicción de la concentración de Sb en cinco réplicas del blanco y, en base a los valores obtenidos, se obtuvo la desviación estándar de 16 ng Sb/L. (Zhang & Harrington, 2015). Adoptando el criterio de tres y diez desviaciones estándar para LOD y LOQ, respectivamente, estos límites fueron de 48 ng Sb/L y 0.16 μg Sb/L en soluciones de calibración. Para el método, dichos valores fueron 60 ng Sb/L para LOD y 0.25 μg Sb/L para LOQ.

4.4.2. Modelo PLS para determinación de Sb en PET

El modelo PLS obtenido para el análisis de PET se muestra en la Figura 20. Se utilizaron los dos primeros componentes principales, logrando cubrir por completo la variabilidad de los datos. En la gráfica de "Scores" se observa una buena separación de las soluciones de calibración y su ordenamiento de acuerdo con crecientes concentraciones de Sb. En la gráfica de coeficientes de regresión, se aprecian aquellas longitudes de onda para las cuales las señales de emisión presentaron una buena correlación con la concentración de Sb. Para las etapas de calibración y de validación, se obtuvieron coeficientes de linealidad > 0.99 , valores similares de RMSEC (5.571) y RMSECV (5.952) y el bias de predicción 0.573, indicando la buena capacidad predictiva del modelo.

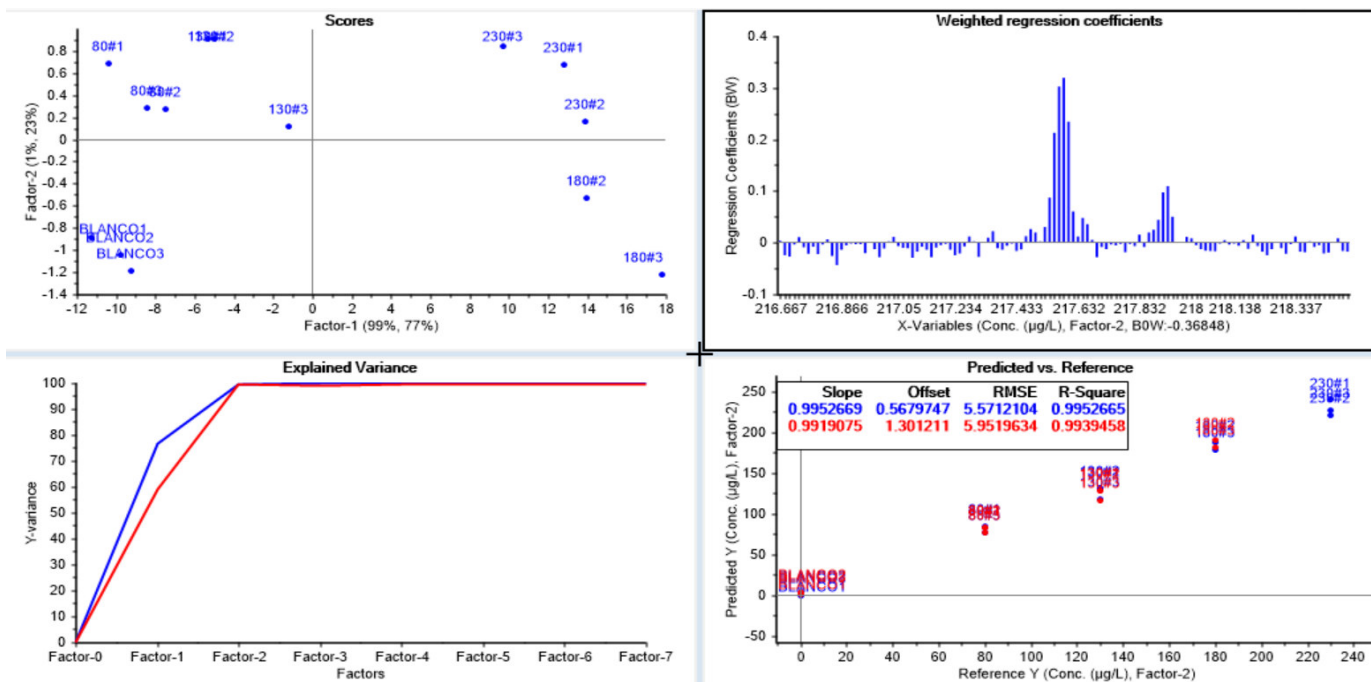


Figura 20. Modelo PLS obtenido para el análisis de PET (80-230 µg Sb/L)

Utilizando el modelo de regresión PLS obtenido, se realizó la predicción de concentraciones de Sb en cada una de las soluciones de calibración que contenían PET libre de Sb con adición de estándar de Sb(III). Los resultados se muestran en la Tabla 7. En la misma Tabla 7 también se incluyen los resultados de predicción para muestras de PET sin y con adición de estándar; en este caso, los porcentajes de recuperación fueron entre 85.7% y 93.8% reconfirmando la confiabilidad del modelo.

Tabla 7. Porcentajes de recuperación de Sb obtenidos agregando diferentes concentraciones de estándar de Sb(III) al PET purificado del Sb, utilizando el modelo PLS desarrollado para el PET

Experimento	Sb agregado, µg/L	Predicción PLS, µg/L	Recuperación, %	
Calibración Sb(III)	0	<LD	-	
	80	80.3 ± 2.6	100	
	130	124 ± 4	96.1	
	180	182 ± 3	101	
	230	228 ± 4	99.1	
Adición de estándar, PET2	Sb agregado, µg/L	Predicción PLS, µg/L	Recuperación, %	Concentración en muestra, mg/kg

	0	111 ± 4	-	277 ± 11
	50	158 ± 6	93.8	395 ± 15
	100	202 ± 5	91.2	505 ± 12
	150	239 ± 6	85.7	598 ± 15

Los espectros de emisión de Sb utilizados para construir el modelo se presentan en la Figura 21a y en la Figura 21b se muestran los espectros obtenidos en experimento de adición de estándar a la muestra PET2.

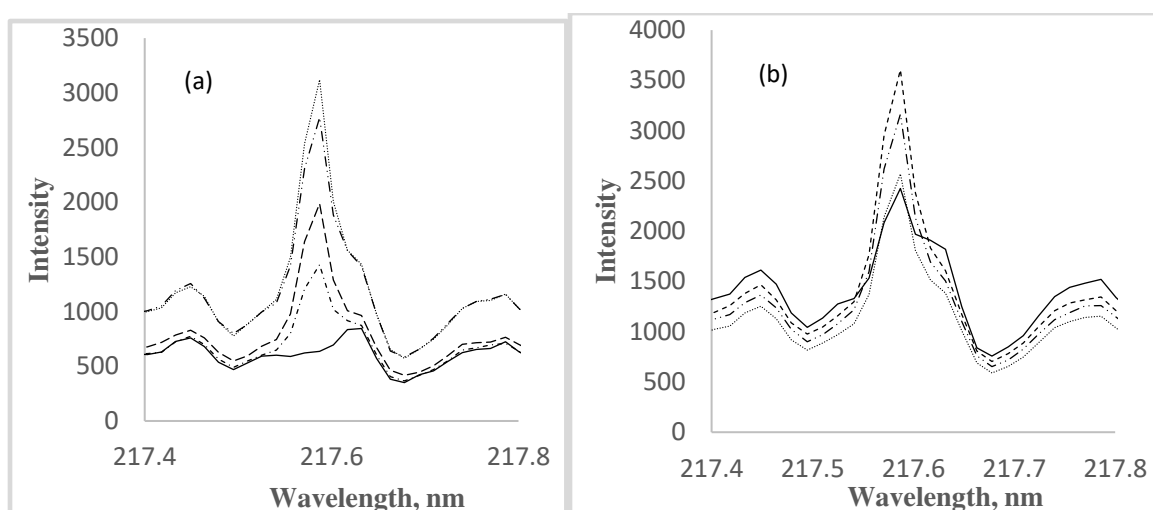


Figura 21. Espectros de emisión adquiridos en el análisis de PET: (a) soluciones de calibración en presencia de PET libre de Sb (líneas de creciente intensidad de señal corresponden a 0, 80, 130, 180, 230 $\mu\text{g Sb/L}$, respectivamente) y (b) muestra de PET2 con adiciones de estándar de Sb(III) muestras de calibración (líneas de creciente intensidad de señal corresponden a 0, 50, 100, 150 $\mu\text{g Sb/L}$, respectivamente)

De manera similar como para el modelo PLS anterior, se calcularon los límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ) en base a la predicción de la concentración de Sb en cinco réplicas del blanco, calculando la desviación estándar cuyo valor fue de 0.40 $\mu\text{g Sb/L}$. (Zhang & Harrington, 2015). Adoptando el criterio de tres y diez desviaciones estándar para LD y LC, respectivamente, estos límites fueron de 1.21 $\mu\text{g Sb/L}$ y 4.06 $\mu\text{g Sb/L}$ en soluciones de calibración. Para el método, se obtuvo el límite de detección 3.0 mg Sb/kg en PET y el límite de cuantificación de 10 mg Sb/kg.

4.5. Análisis de muestras reales

El procedimiento HG-MP-AES con la cuantificación por PLS fue utilizado para la predicción de concentraciones de Sb en una serie de muestras reales. En el caso del PET, se analizaron cuatro diferentes marcas de botellas mostrando los resultados obtenidos en tabla 8. Los resultados están dentro del intervalo 154 - 279 mg Sb/kg, en concordancia con los valores reportados para PET por otros autores (Filella, 2020b; Haldimann et al., 2013; Sanchez-Martinez et al., 2013; Westerhoff, Prapaipong, Shock, & Hillaireau, 2008). Cabe señalar que la precisión de la predicción en estas muestras era buena con valores de CV entre 2.7% y 5.4%

Tabla 8. Concentraciones de Sb encontrados en muestras de PET y en agua embotellada. Se presentan valores promedio con respectivas desviaciones estándar en base a tres réplicas de cada análisis.

Muestra	Predicción en la solución, µg Sb/L	Concentración en la muestra (mg Sb/kg para PET y µg Sb/L para agua)
PET1	61.5 ± 2.8	154 ± 7
PET2	112 ± 6	279 ± 15
PET3	81.8 ± 4	204 ± 10
PET4	88.5 ± 2.2	221 ± 6
W1	0.31 ± 0.08	0.39 ± 0.10
W2	1.27 ± 0.12	1.59 ± 0.15
W3	0.41 ± 0.09	0.51 ± 0.11
W4	0.94 ± 0.08	1.18 ± 0.10
W2A (4 °C)	1.58 ± 0.13	1.98 ± 0.17
W2B (25 °C)	1.79 ± 0.18	2.24 ± 0.22
DW-PET	4.24 ± 0.13	5.30 ± 0.16
DW-PVC	2.81 ± 0.22	3.51 ± 0.28
DW-Rubber	2.46 ± 0.19	3.08 ± 0.24

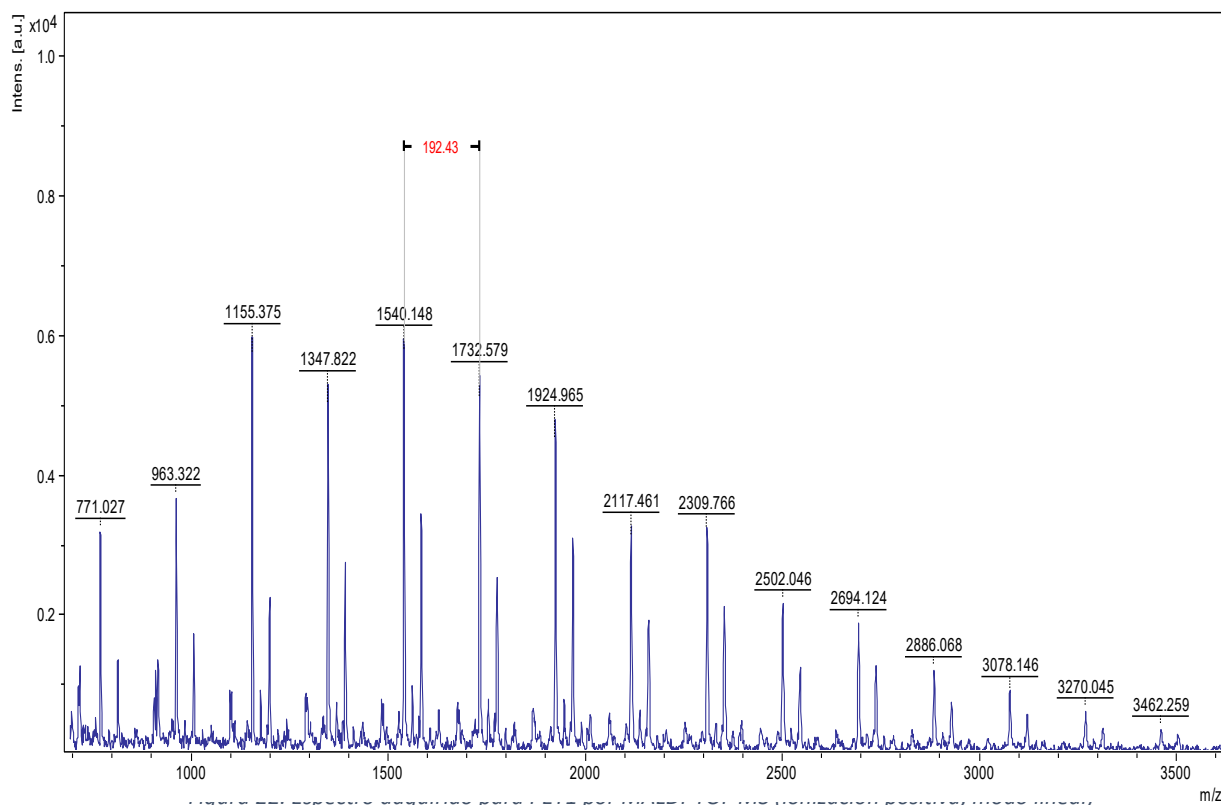
En la tabla 8 se muestran también los resultados obtenidos para Sb en agua tomada de las botellas PET1-PET4, las cuales fueron marcadas como W1-W4. Las concentraciones encontradas en estas muestras fueron en el intervalo de 0.31 - 1.59 µg Sb /L, indicando que todas las muestras cumplieron con la normatividad para agua (Westerhoff et al., 2008). Debido a mucho más bajas concentraciones de Sb

en agua respecto al PET, la precisión de predicción fue baja en este caso. Específicamente, los valores CV sobrepasaron 20% para concentraciones $< 0.5 \mu\text{g Sb /L}$ mientras que, para concentraciones $> 1.0 \mu\text{g Sb /L}$, se obtuvo el intervalo de CV 3.0-9.8%. Es relevante que las concentraciones de Sb en agua W1-W4 y en PET1-PET4 mostraron una buena correlación (0.955), indicando que el Sb migra del PET al agua embotellada en este material, de acuerdo con varios estudios previos, discutidos en la parte de introducción. Para confirmar que dicha migración aumenta con la temperatura y el tiempo de contacto, se compraron dos botellas del agua de marca 2 con medio año de anticipación; una de ellas se mantuvo en refrigeración y protegida de luz (W2A) y la otra botella se guardó a temperatura ambiente en exposición a luz solar de manera natural (W2B). Los resultados obtenidos para estas dos muestras se incluyen en la Tabla 8, donde puede observarse que la concentración del Sb en W2B fue incrementada respecto W2A por aprox. 13%. Este resultado no solo confirma estudios anteriores sobre la migración de Sb del PET, sino que también demuestra que el procedimiento propuesto permite detectar diferencias en la concentración de Sb causadas por fenómeno de migración.

Adicionalmente al PET, el fenómeno de migración ha sido reportado para otros materiales como PVC o caucho. Por ello, se tuvieron sumergidos aprox. 2 g de PET, del PVC y del caucho en 500 mL del agua desionizada por medio año en exposición natural a la luz solar y en temperatura ambiente. El Sb no fue detectado en agua desionizada, pero sí en las soluciones obtenidas en este experimento (DW-PET, DW-PVC, DW-rubber en la tabla 8). Debido a la presencia de una alta cantidad de dichos materiales utilizados en contacto con agua y por un periodo largo de tiempo, las concentraciones en estas muestras fueron más altas respecto a las determinadas en agua embotellada. Nuestros resultados confirman que los restos de diferentes materiales tirados a sistemas acuáticos son una importante fuente de contaminación con Sb (Alassali et al., 2019; Y.Y. Fan et al., 2014; Filella, Belzile, & Chen, 2002; James & Turner, 2020).

4.6. Análisis de PET por MALDI-TOF MS

En un primer experimento, el objetivo era ver la factibilidad de caracterizar PET proveniente de una botella de agua (PET1), utilizando las herramientas disponibles en el laboratorio. En base a reportes anteriores, la solubilización de PET se obtuvo utilizando el ácido trifluoroacético, siguiendo protocolos recomendados por la NIST. En concreto, se disolvió 0.1 g de PET en 1 mL de TFA y una alícuota de esta solución se mezcló 1:1 con el ácido 2,5-dihidroxibenzoico 0.5M (matriz química). Un microlitro de la mezcla se depositó en la placa de acero y se dejó secar para lograr la co-cristalización. Se utilizó el espectrómetro de masas MALDI-TOF MS AutoFlex speed, seleccionando modo positivo de ionización, adquisición de espectro en modo lineal en un intervalo de m/z 700-4500. De manera de ejemplo, en la Figura 22 se presenta uno de los espectros obtenidos, donde las señales cubren el intervalo de 700 hasta 3500 y la distancia entre los picos representa la masa monoisotópica del monómero (m/z 192.43 correspondiente a la fórmula $C_{10}H_8O_4$).



Una vez abierto el espectro en el programa FlexAnalysis, se sustrajo la línea base y se importaron los datos al programa PolyTools. En Polytools, se definieron varios parámetros tales como; tolerancia de masa 0.8, intensidad de grupos terminales (H, OH, CH₃, C₁₀H₉O₄, C₂H₅O) y sodio como catión, arrojando los resultados que se presentan en la Figura 23.

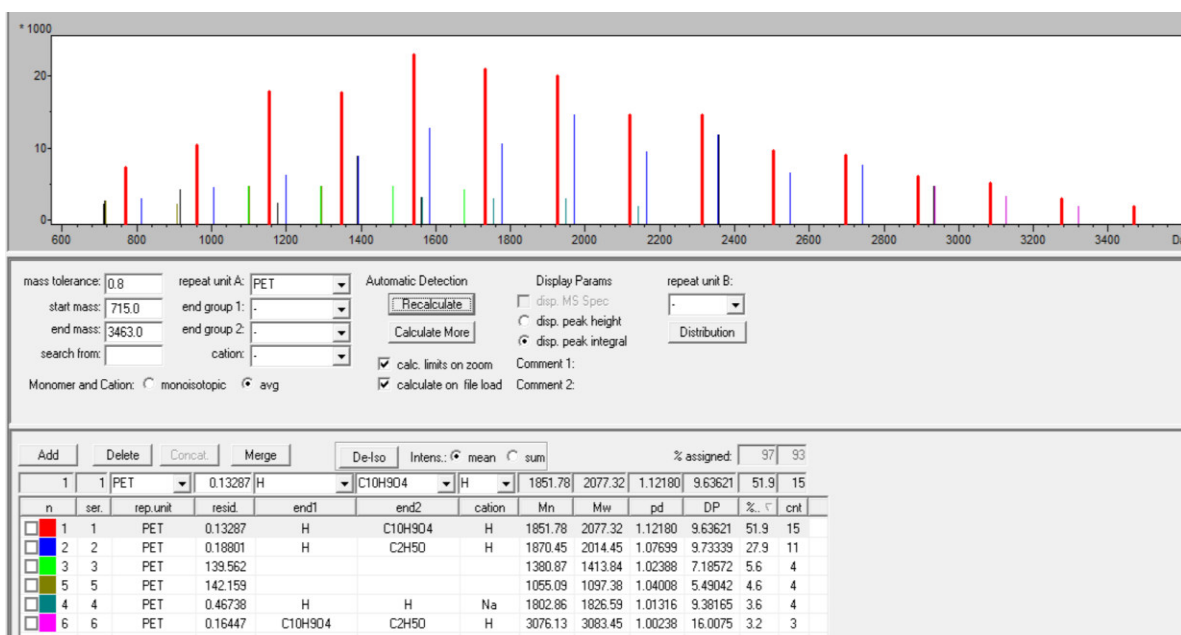
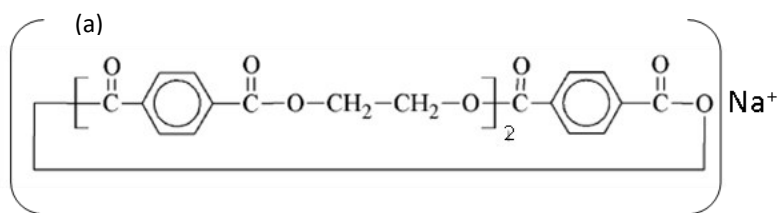


Figura 23. Captura de pantalla del programa PolyTools con los resultados del análisis de la muestra PET1.

Como se puede observar, el software detectó seis diferentes estructuras del polímero, cada uno de ellos marcado con otro color en el espectro y en la tabla de la Figura 23. Para cada estructura, se calcularon automáticamente los valores de masa molecular promedio en número (Mn), masa promedio en peso (Mw), coeficiente de polidispersidad (pd), el grado de polimerización (DP) y la distribución relativa de cada una de las estructuras calculada como porcentaje de abundancia total de iones cubierta sumando cada serie de iones (%). Con estos resultados se abre un nuevo tema a retomar en estudios futuros, centrado en la evaluación de estructuras de PET y de otros polímeros del uso común, mediante MALDI-TOF MS.

A continuación, se utilizó el mismo sistema instrumental para confirmar que, en condiciones empleadas para el tratamiento de muestra, ocurrió la hidrólisis de PET.

Para ello, se varió el tiempo de hidrólisis, obteniéndose muestras para 24, 48 y 96 horas de calentamiento de PET con KOH 5% m/v en metanol en presencia de del metóxido de sodio 0.5% y carburo de calcio 0.5% m/v. Una vez depositadas las muestras en la placa de acero, se adquirieron espectros en el intervalo de m/z 200-4500. Como primera evidencia de despolimerización se debe mencionar que, en los espectros obtenidos no se presentaron iones de m/z mayor de 1100. Por otro lado, con aumento del tiempo de hidrólisis aparecen señales con menores valores m/z reconfirmando el proceso de despolimerización (Ben-Zu et al., 2000). Uno de los iones abundantes en PET despolimerizado corresponde a m/z 552. En base a un estudio previo reportado por Badia y colaboradores (Badia, Stromberg, Ribes-Greus, & Karlsson, 2011), este fragmento podría corresponder a la forma cíclica de dos monómeros con una molécula de tereftalato, cationizada con sodio, como lo muestra Figura 24a. Cabe mencionar sin embargo que, debido a falta de calibración, el error de masa es muy alto, es necesario retomar el análisis en un trabajo futuro. En la Figura 24b, se presenta cambio de la abundancia del ion m/z 552 con el tiempo de hidrólisis; la tendencia creciente afirma el progreso de dicho proceso con el tiempo de calentamiento. Para fines de extracción de Sb, se adoptó el tiempo de 24 h, tal como se describe en las secciones anteriores.



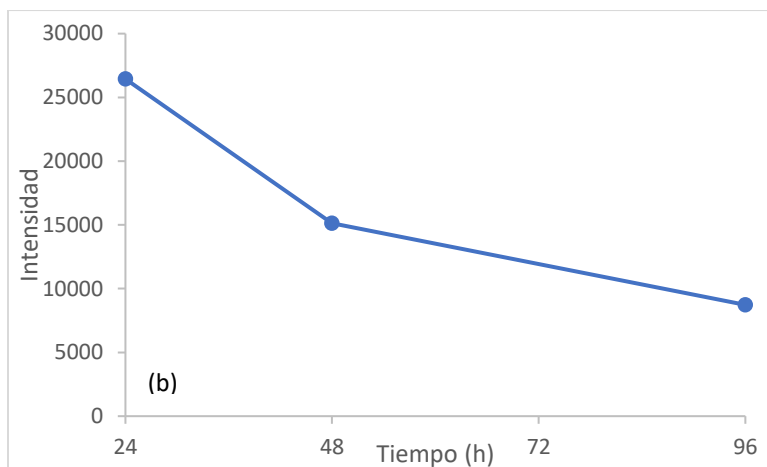


Figura 24. Efecto de tiempo de calentamiento durante hidrólisis alcalina en la despolimerización del PET. (a) estructura sugerida del ion m/z 552; (b) cambio de abundancia del mismo ion con el tiempo de calentamiento del PET

5. CONCLUSIONES

En el presente trabajo de tesis se ha desarrollado un procedimiento analítico para la determinación de antimonio en PET y en agua embotellada en PET. La importancia de dicho análisis se debe al amplio uso de PET para envasar bebidas y empacar alimentos, y al fenómeno de migración de Sb del polímero a estos productos. El antimonio es un contaminante que representa el riesgo a la salud y en diferentes regiones del mundo se estableció su concentración máxima en agua potable.

El procedimiento propuesto consiste en un pretratamiento de muestra, la generación de estibina para su introducción a un espectrómetro de emisión atómica con excitación en plasma de microondas (MP-AES) y el uso del método de regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS) para la cuantificación.

Cabe mencionar que los importantes desafíos en el caso del agua embotellada fueron: (i) bajas concentraciones de Sb esperadas en las muestras y (ii) posible presencia de dos estados de oxidación de Sb. Para PET los retos fueron: (i) lograr una eficiente extracción de Sb a partir de PET y (ii) asegurar el mismo ambiente químico del analito en las soluciones de calibración y en las muestras.

La aportación original del trabajo se resume a continuación:

1. Puesta a punto de las condiciones experimentales e instrumentales del sistema HG-MP-AES.
2. Aplicación de hidrólisis alcalina en la etapa de pretratamiento de muestras de PET, para la extracción de Sb. En contraste a los procedimientos de digestión del PET reportados en literatura, dicha hidrolisis se realiza en condiciones de reacción relativamente suaves, amigables al medio ambiente.
3. Obtención y uso de PET libre de Sb para llevar a cabo el proceso de calibración en presencia de matriz química de muestra.
4. Aplicación del método PLS en la etapa de cuantificación, generando dos modelos de calibración, para PET y para agua embotellada, respectivamente.
5. El uso del PLS para el análisis de agua embotellada arrojó el límite de cuantificación del método 0.20 µg Sb/L, permitiendo la determinación de Sb directamente, sin necesidad de preconcentración.

Los parámetros de los modelos PLS y los resultados de su aplicación en la determinación de Sb en dos tipos de muestras se resumen brevemente en la siguiente Tabla 9.

Tabla 9. Principales parámetros de los modelos PLS construidos para la determinación de Sb en PET y en agua embotellada.

Parámetro	PLS - agua embotellada	PLS - PET
Composición de soluciones de calibración	HCl 1M, KI 0.15M, ácido ascórbico 40nM, metanol 10% v/v	PET libre de Sb, HCl 1M, metanol 10% v/v
Intervalo de calibración, µg Sb/L	0.5-10	80-230
Linealidad (R ² (cal)/ R ² (val))	0.9965/0.9966	0.9953/9940
RMSEC/RMSEP	0.2152/0.2152	5.5712/5.9519
Bias en validación	-1.16x10 ⁻⁶	0.5729
LOD del método	60 ng Sb/L	3.0 mg Sb/kg

LOQ del método	0.20 µg Sb/L	10 mg Sb/kg
Intervalo de CV, %	2-23	2-5.4
Intervalo de recobro, %	58-116	85.7-101

En el caso del agua embotellada, al utilizar los datos espectrales en la vecindad de línea de emisión de Sb ($217.6 \pm 1\text{nm}$) para construir el modelo PLS, se incluyeron las dos señales del doblete de Sb (217.581 nm, 217.919 nm) y se eliminó el efecto de fluctuación de línea base, arrojando muy bajos límites de detección y de cuantificación.

En el caso del PET, las soluciones de calibración contenían la misma cantidad de polímero (libre de Sb) que las muestras reales y en ambos casos se utilizó el mismo protocolo de hidrólisis y extracción de Sb antes de introducir las soluciones al sistema HG-MP-AES. De esta manera, se obtuvo muy buena calidad predictiva del modelo de regresión PLS.

Los resultados obtenidos en el análisis de muestras reales fueron en concordancia con las concentraciones de Sb en PET y en agua embotellada en PET reportados previamente en varios estudios. Adicionalmente, se ha confirmado que el proceso de migración de Sb del PET y de algunos otros materiales progresa con el tiempo de contacto y con incremento de temperatura. El procedimiento propuesto mostró suficiente sensibilidad para detectar cambios en la concentración de Sb en agua debidos a dicha migración.

La hidrólisis del PET en el procedimiento propuesto ha sido confirmada mediante el análisis por MALDI-TOF MS con aplicación del software PolyTools de Bruker Daltonics.

En un trabajo futuro es necesario profundizar el estudio de la estructura de polímeros y de su despolimerización mediante el uso de diferentes técnicas de espectrometría de masas, principalmente ESI-QTOF-MS y MALDI-TOF MS.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Al-Otoum, F., Al-Ghouti, M. A., Costa, O. S., Jr., & Khraisheh, M. (2017). Impact of temperature and storage time on the migration of antimony from polyethylene terephthalate (PET) containers into bottled water in Qatar. *Environ Monit Assess*, *189*(12), 631. doi:10.1007/s10661-017-6342-3
- Alassali, A., Picuno, C., Samara, H., Diedler, S., Fiore, S., & Kuchta, K. (2019). Antimony mining from PET bottles and e-waste plastic fractions. *Sustainability*, *11*(15), 4021. doi:<https://doi.org/10.3390/su11154021>
- Anthony T. Jackson", Hilary T. Yates', James H. Scrivens', Glenn Critchley', Jeff Brown', M. R. G., & Bateman, R. H. (1996). The Application of Matrix-assisted Laser Desorption Ionization Combined with Collision= induced Dissociation to the Analysis of Synthetic Polymers.
- Babushok, V. I., Deglmann, P., Krämer, R., & T., L. G. (2017). Influence of Antimony-Halogen Additives on Flame Propagation.
- Badia, J. D., Stromberg, E., Ribes-Greus, A., & Karlsson, S. (2011). A statistical design of experiments for optimizing the MALDI-TOF-MS sample preparation of polymers. An application in the assessment of the thermo-mechanical degradation mechanisms of poly (ethylene terephthalate). *Anal Chim Acta*, *692*(1-2), 85-95. doi:10.1016/j.aca.2011.02.063
- Ben-Zu, W., Chih-Yu, K., & Wu-Hsun, C. (2000). Kinetics of Depolymerization of Poly(ethylene terephthalate) in a Potassium Hydroxide Solution.
- Burns, D. T., & Walker, M. J. (2019). Origins of the method of standard additions and of the use of an internal standard in quantitative instrumental chemical analyses. *Anal Bioanal Chem*, *411*(13), 2749-2753. doi:10.1007/s00216-019-01754-w
- Carneado, S., Hernandez-Nataren, E., Lopez-Sanchez, J. F., & Sahuquillo, A. (2014). Migration of antimony from polyethylene terephthalate used in mineral water bottles. *Food Chem*, *166*, 544-550. doi:10.1016/j.foodchem.2014.06.041
- Carro, R., & González, D. (2012). Normas HACCP Sistema de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control. *Administración de las Operaciones*, 10-11.
- Chapa-Martinez, C., Hinojosa-Reyes, L., Hernandez-Ramirez, A., Ruiz-Ruiz, E., Maya-Trevino, L., & Guzman-Mar, J. (2016). An evaluation of the migration of antimony from polyethylene terephthalate (PET) plastic used for bottled drinking water. *Science of the Total Environment*, *565*, 511-518. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.04.184
- Cheng, X., Shi, H., Adams, C., & Ma, Y. (2010). Assessment of metal contaminations leaching out from recycling plastic bottles upon treatments. *Environ Sci Pollut Res Int*, *17*(7), 1323-1330. doi:10.1007/s11356-010-0312-4
- de Jesus, A., Dessuy, M., Huber, C., Zmozinski, A., Duarte, Á., Vale, M., & Andrade, J. (2015). Determination of antimony in pet containers by direct analysis of solid samples using graphite furnace atomic absorption spectrometry and leaching studies. *Microchemical Journal*, *124*, 222-227. doi:10.1016/j.microc.2015.08.016
- DeMatteo, R., Keith, M., Brophy, J., Wordsworth, A., Watterson, A., Beck, M., . . . Scott, D. (2012). Chemical exposures of women workers in the plastics industry with particular reference to breast cancer and reproductive hazards. *New Solut*, *22*(4), 427-448. doi:10.2190/NS.22.4.d
- Dogan, C., & Cebi, N. (2019). Investigation of antimony, cobalt, and acetaldehyde migration into the drinking water in Turkey. *Packaging Technology and Science*, *32*(5), 239-246. doi:10.1002/pts.2430
- Eberl, A., Heumann, S., Bruckner, T., Araujo, R., Cavaco-Paulo, A., Kaufmann, F., . . . Guebitz, G. M. (2009). Enzymatic surface hydrolysis of poly(ethylene terephthalate) and

- bis(benzoyloxyethyl) terephthalate by lipase and cutinase in the presence of surface active molecules. *J Biotechnol*, 143(3), 207-212. doi:10.1016/j.jbiotec.2009.07.008
- El-Hadri, F., Morales-Rubio, A., & De-la-Guardia, M. (2000). Atomic fluorescence spectrometric determination of trace amounts of arsenic and antimony in drinking water by continuous hydride generation. *Talanta* 52.
- Eun-Kyung, E., Sung-Woo, J., Young-Dal, Y., Eun-Kyung, C., & Chan-Ryang, P. (2011). Hydrolytic Degradation of Synthetic Polytrimethylene Terephthalate and Characterization by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 32(2), 477-482. doi:10.5012/bkcs.2011.32.2.477
- Europe, P., & EPRO. (2019). Plastics – the Facts 2019: An analysis of European plastics production, demand and waste data. *Plastics shape the future*.
- Fan, Y. Y., Zheng, J. L., Ren, J. H., Luo, J., Cui, X. Y., & Ma, L. Q. (2014). Effects of storage temperature and duration on release of antimony and bisphenol A from polyethylene terephthalate drinking water bottles of China. *Environ Pollut*, 192, 113-120. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.05.012>
- Fan, Y. Y., Zheng, J. L., Ren, J. H., Luo, J., Cui, X. Y., & Ma, L. Q. (2014). Effects of storage temperature and duration on release of antimony and bisphenol A from polyethylene terephthalate drinking water bottles of China. *Environ Pollut*, 192, 113-120. doi:10.1016/j.envpol.2014.05.012
- Felipe-Sotelo, M., Cal-Prieto, M. J., Ferré, J., Boqué, R., Andrade, J. M., & Carlosena, A. (2006). Linear PLS regression to cope with interferences of major concomitants in the determination of antimony by ETAAS. *J. Anal. At. Spectrom.*, 21(1), 61-68. doi:10.1039/b506783a
- Filella, M. (2020a). Antimony and PET bottles: Checking facts. *Chemosphere*.
- Filella, M. (2020b). Antimony and PET bottles: Checking facts. *Chemosphere*, 261, 127732. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.127732
- Filella, M., Belzile, N., & Chen, Y. (2002). Antimony in the environment: a review focused on natural waters II. Relevant solution chemistry.
- Florczak, M., Michalski, A., Kacprzak, A., Brzeziński, M., Biedroń, T., Pająk, A., . . . Biela, T. (2016). MALDI-TOF analysis of lactide oligomers with functional end groups. *Reactive and Functional Polymers*, 104, 71-77. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2016.05.010
- Fujihara, J., & Nishimoto, N. (2020). Total antimony analysis by hydride generation-microwave plasma-atomic emission spectroscopy with applications. *Microchemical Journal*, 157. doi:10.1016/j.microc.2020.104992
- Gehring, C., & Welle, F. (2017). Migration Testing of Polyethylene Terephthalate: Comparison of Regulated Test Conditions with Migration into Real Food at the End of Shelf Life. *Packaging Technology and Science*, 31(12), 771-780. doi:10.1002/pts.2291
- Gilbert, M. (2017). Brydson's plastics materials. *Elsevier*, 531.
- Guerrero Esperanza, M., Yanez Barrientos, E., Wrobel, K., Acevedo Aguilar, F. J., Corrales Escobosa, A. R., & Wrobel, K. (2017). Determination of total arsenic and speciation analysis in Mexican maize tortillas by hydride generation–microwave plasma atomic emission spectrometry and high performance liquid chromatography–inductively coupled plasma–mass spectrometry. *Anal Methods*, 9(13), 2059-2068. doi:<https://doi.org/10.1039/C7AY00224F>
- Haldimann, M., Alt, A., Blanc, A., Brunner, K., Sager, F., & Dudler, V. (2013). Migration of antimony from PET trays into food simulant and food: determination of Arrhenius parameters and comparison of predicted and measured migration data. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 30(3), 587-598. doi:10.1080/19440049.2012.751631
- Hastie, J. W. (1973). Molecular Basis of Flame Inhibition. *JOURNAL OF RESEARCH of the Notional Bureau of Standards*.

- IUPAC. (2014). Macromolecule (polymer molecule). In *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*.
- Jackson, A., Yates, H., MacDonald, W., & Scrivens, J. (1997). Time-Lag Focusing and Cation Attachment in the Analysis of Synthetic Polymers by Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionization-Time-of-Flight-Mass Spectrometry. *American Society for Mass Spectrometry*, 97, 1044-1030.
- James, E., & Turner, A. (2020). Mobilisation of antimony from microplastics added to coastal sediment. *Environ Pollut*, 264, 114696. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114696>
- Jürgen, S., & Klaus, A. (2000). Mass Spectrometry in Structural Biology. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*.
- Kiyataka, P., Dantas, S., Albino, A., & Pallone, J. (2017). Antimony Assessment in PET Bottles for Soft Drink. *Food Analytical Methods*, 11(1), 1-9. doi:10.1007/s12161-017-0951-x
- Kmetov, V., Kiryakova, M., Varbanova, E., Simitchiev, K., & Canals, A. (2021). MSIS-capital EM, CyrillicP-capital A, Cyrilliccapital IE, CyrillicS determination of As and Sb in complex matrices by magnetic nanoparticles-assisted hydride generation. *Anal Methods*, 13(9), 1172-1180. doi:10.1039/d0ay02260h
- Kumar, A. R., & Riyazuddin, P. (2010). Chemical interferences in hydride generation atomic spectrometry.
- Levesse, G., Lopez, G., Tritlla, J., Lopez, E., Chavez, A., Salvador, E., . . . Corona-Esquivel, R. (2012). Phytoavailability of antimony and heavy metals in arid regions: the case of the Wadley Sb district (San Luis, Potosi, Mexico). *Sci Total Environ*, 427-428, 115-125. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.04.020
- Machado, R., Amaral, C., Nobrega, J., & Araujo, A. (2017). Multielemental Determination of As, Bi, Ge, Sb, and Sn in Agricultural Samples Using Hydride Generation Coupled to Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry.
- Mandal, S., & Dey, A. (2019). PET Chemistry. In *Recycling of Polyethylene Terephthalate Bottles* (pp. 1-22).
- Marcinkowska, M., Lorenc, W., & Barańkiewicz, D. (2016). Study of the impact of bottles material and color on the presence of As III , As V , Sb III , Sb V and Cr VI in matrix-rich mineral water — Multielemental speciation analysis by HPLC/ICP-DRC-MS. *Microchemical Journal*, 132, 1-7. doi:10.1016/j.microc.2016.11.022
- Mathias, L. J. (2021). Polymer Science Learning Center: Meaning of Molecular Weight. Retrieved from pslc.ws/macrog/weight.htm
- Meira, G., & Gugliotta, L. (2019). Polímeros: introducción a su caracterización y a la ingeniería de la polimerización. *Ediciones UNL*, 7-8.
- Milica, V., Kristof, T., Sandra, V., Evelien, F., Sylvie, R., Gudrun, K., . . . Frank, V. (2021). Mass spectrometry as a powerful analytical tool for the characterization of indoor airborne microplastics and nanoplastics. *J. Anal. At. Spectrom.*, 36, 695-705.
- Murgasova, R., & Hercules, D. M. (2003). MALDI of synthetic polymers-an update. *International Journal of Mass Spectrometry*, 226(1), 151-162. doi:10.1016/s1387-3806(02)00971-5
- Nakahara, T., & Kikui, N. (1984). Determination of trace concentrations of antimony by the introduction of styrene into an inductively-coupled plasma for atomic emission spectrometry. *Elsevier Science Publishers B.V.*.
- Nakamura, S., Fouquet, T., & Sato, H. (2019). Molecular Characterization of High Molecular Weight Polyesters by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization High-Resolution Time-of-Flight Mass Spectrometry Combined with On-plate Alkaline Degradation and Mass Defect Analysis. *J Am Soc Mass Spectrom*, 30(2), 355-367. doi:10.1007/s13361-018-2092-x

- Payan, L., Poyatos, M. T., Munoz, L., La Rubia, M. D., Pacheco, R., & Ramos, N. (2016). Study of the influence of storage conditions on the quality and migration levels of antimony in polyethylene terephthalate-bottled water. *Food Sci Technol Int*, 23(4), 318-327. doi:10.1177/1082013217690300
- Payne, M. E., & Grayson, S. M. (2018). Characterization of Synthetic Polymers via Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry. *J Vis Exp*(136). doi:10.3791/57174
- Qiao, F., Lei, K., Li, Z., Liu, Q., Wei, Z., An, L., . . . Cui, S. (2017). Effects of storage temperature and time of antimony release from PET bottles into drinking water in China. *Environ Sci Pollut Res Int*, 25(2), 1388-1393. doi:10.1007/s11356-017-0598-6
- Romão, W., Franco, M., Iglesias, A., Sanvido, G., Maretto, D., Gozzo, F., . . . De Paoli, M. (2009). Fingerprinting of bottle-grade poly(ethylene terephthalate) via matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Polymer Degradation and Stability*, 95(4), 666-671. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2009.11.046
- Rowell, C., Kuiper, N., & Preud'Homme, H. (2016). Is container type the biggest predictor of trace element and BPA leaching from drinking water bottles? *Food Chem*, 202, 88-93. doi:10.1016/j.foodchem.2016.01.109
- Rungchang, S., Numthuam, S., Qiu, X., Li, Y., & Satake, T. (2013). Diffusion coefficient of antimony leaching from polyethylene terephthalate bottles into beverages. *Journal of Food Engineering*, 115(3), 322-329. doi:10.1016/j.jfoodeng.2012.10.025
- Samperi, F., Puglisi, C., Alicata, R., & Montaudo, G. (2004). Thermal degradation of poly(ethylene terephthalate) at the processing temperature. *Polymer Degradation and Stability*, 83(1), 3-10. doi:10.1016/s0141-3910(03)00166-6
- Sanchez-Martinez, M., Perez-Corona, T., Cámara, C., & Madrid, Y. (2013). Migration of antimony from PET containers into regulated EU food simulants. *Food Chem*, 141(2), 816-822. doi:10.1016/j.foodchem.2013.03.067
- Schiller, J., Suss, R., Fuchs, B., Muller, M., Petkovic, M., Zschornig, O., & Waschipky, H. (2007). The suitability of different DHB isomers as matrices for the MALDI-TOF MS analysis of phospholipids: which isomer for what purpose? *Eur Biophys J*, 36(4-5), 517-527. doi:10.1007/s00249-006-0090-6
- Somogyi, A., Elandaloussi, E., Hall, D., Padrías, A., Bates, R., & Hall, H. (2007). Powerfully Solvating Matrices for MALDI-TOF Spectroscopy of Aromatic Polyesters. *Macromolecules*, 40, 5311-5321.
- Stanley, N., Chenal, T., Delaunay, T., Saint-Loup, R., Jacquelin, N., & Zinck, P. (2017). Bimetallic Catalytic Systems Based on Sb, Ge and Ti for the Synthesis of Poly(ethylene terephthalate-co-isosorbide terephthalate). *Polymers (Basel)*, 9(11), 590. doi:10.3390/polym9110590
- Steffen, M., & Sarah, T. (2010). Mass Spectrometry of Synthetic Polymers. *Anal. Chem.*, 82,, 4811-4829.
- Thiele, U. (2001). The Current Status of Catalysis and Catalyst Development for the Industrial Process of Poly(ethylene terephthalate) Polycondensation. *International Journal of Polymeric Materials*, 50(3-4), 387-394. doi:10.1080/00914030108035115
- Thiravetyan, P., Inthorn, D., & Leechart, P. (2015). Effect of NaCl on antimony and phthalate compounds leached from PET bottles. *Water Supply*, 15(4), 766-772. doi:10.2166/ws.2015.030
- Weidner, S., Kiihn, G., Friedrich, J., & Schriider, W. (1996). Plasmaoxidative and Chemical Degradation of Poly(ethylene terephthalate) Studied by Matrixassisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. *Rapid communication in mass spectrometry*, 10, 4046

- Weidner, S., Kuehn, G., Werthmann, B., Schroeder, H., Just, U., Borowski, R., . . . Seifert, I. (1997). A New Approach of Characterizing the Hydrolytic Degradation of Poly(ethylene terephthalate) by MALDI-MS. *John Wiley & Sons, Inc.*
- Weidner, S. M., & Trimpin, S. (2010). Mass Spectrometry of Synthetic Polymers. *Analytical Chemistry*, *82*, 4811–4829.
- Westerhoff, P., Prapaipong, P., Shock, E., & Hillaireau, A. (2008). Antimony leaching from polyethylene terephthalate (PET) plastic used for bottled drinking water. *Water Res*, *42*(3), 551-556. doi:10.1016/j.watres.2007.07.048
- Wu, K., & Odom, R. (1998). MALDI is powerful tool for determining molecularweight distributions. *Analytical Chemistry News & Feat.*
- Wu, P., Tang, Y., Cao, G., Li, J., Wang, S., Chang, X., . . . Cai, Z. (2020). Determination of Environmental Micro(Nano)Plastics by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Anal Chem*, *92*(21), 14346-14356. doi:10.1021/acs.analchem.0c01928
- Xi, J., He, M., Wang, K., & Zhang, G. (2014). Comparison of masking agents for antimony speciation analysis using hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, *9*(6), 970-978. doi:10.1007/s11783-014-0716-3
- Zhang, M., & Harrington, P. d. B. (2015). Simultaneous quantification of Aroclor mixtures in soil samples by gas chromatography/mass spectrometry with solid phase microextraction using partial least-squares regression. *Chemosphere*, *118*, 187-193.
- Zhou, X., Wang, C., Fang, C., Yu, R., Li, Y., & Lei, W. (2019). Structure and thermal properties of various alcoholysis products from waste poly(ethylene terephthalate). *Waste Manag*, *85*, 164-174. doi:10.1016/j.wasman.2018.12.032
- Zmit, B., & Belhaneche-Bensemra, N. (2019). Antimony leaching from PET plastic into bottled water in Algerian market. *Environ Monit Assess*, *191*(12), 749. doi:10.1007/s10661-019-7891-4