



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Estudio de la degradación de edulcorantes en agua mediante tratamiento con radiación UV

Alumno: Ana Jiménez Moreno

Septiembre, 2014



UNIVERSIDAD DE JAÉN
FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES

GRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES
Trabajo Fin de Grado

Estudio de la degradación de edulcorantes en agua mediante tratamiento con radiación ultravioleta

Ana Jiménez Moreno

Jaén, Septiembre 2014

RESUMEN / ABSTRACT

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Edulcorantes artificiales	1
<i>1.1.1. Sucralosa.....</i>	<i>2</i>
1.1.1.1. Introducción e historia.....	2
1.1.1.2. Síntesis.....	3
1.1.1.3. Toxicidad y seguridad.....	3
1.1.1.4. Degradación.....	4
1.1.1.5. Presencia de sucralosa en el medio ambiente.....	5
<i>1.1.2. Aspartamo.....</i>	<i>5</i>
1.1.2.1. Introducción e historia.....	5
1.1.2.2. Síntesis.....	6
1.1.2.3. Toxicidad y seguridad.....	6
1.1.2.4. Degradación.....	7
1.1.2.5. Presencia de aspartamo en el medio ambiente.....	7
<i>1.1.3. Sacarina.....</i>	<i>7</i>
1.1.3.1. Introducción e historia.....	7
1.1.3.2. Síntesis.....	8
1.1.3.3. Toxicidad y seguridad.....	8
1.1.3.4. Degradación.....	9
1.1.3.5. Presencia de sacarina en el medio ambiente.....	9
1.2. Tecnologías de degradación.....	9
<i>1.2.1. Radiación Ultravioleta (UV).....</i>	<i>9</i>
<i>1.2.2. UV/TiO₂.....</i>	<i>12</i>
<i>1.2.3. Ozono.....</i>	<i>13</i>
1.3. Métodos analíticos para la determinación de edulcorantes artificiales en agua.....	14
1.4. Objetivos.....	17
2. EXPERIMENTAL.....	17

2.1. Reactivos y disoluciones.....	17
2.2. Reactor UV.....	18
2.3. HPLC-TOF-MS.....	19
2.4. Procedimiento.....	21
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
3.1. Método para la determinación de edulcorantes artificiales.....	22
3.1.1. <i>Sucralosa</i>	22
3.1.2. <i>Aspartamo</i>	24
3.1.3. <i>Sacarina</i>	25
3.2. Degradación de edulcorantes artificiales mediante radiación UV.....	26
3.2.1. <i>Sucralosa</i>	26
3.2.2. <i>Aspartamo</i>	27
3.2.3. <i>Sacarina</i>	28
3.3. Estudio de productos de transformación durante la degradación.....	29
3.3.1. <i>Sucralosa</i>	29
3.3.2. <i>Aspartamo</i>	31
3.3.3. <i>Sacarina</i>	33
4. CONCLUSIONES.....	37
5. BIBLIOGRAFÍA.....	39

Resumen:

Este trabajo se centra en el estudio de la degradación de los edulcorantes sucralosa (SUC), aspartamo (ASP) y sacarina (SAC) en agua mediante radiación ultravioleta. La degradación se monitorizó mediante un equipo de cromatografía de líquidos/espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo (HPLC-TOFMS). También se evaluó la presencia y formación de diferentes productos de degradación. Los resultados muestran que, en el caso de sucralosa, se degrada completamente a las 7 horas de exposición a la radiación y muestra un producto de degradación (Peso Molecular (Pm): 358). El aspartamo se degrada completamente a las 3 horas de exposición encontrándose dos productos de degradación (Pm: 206 y 262). En el caso de la sacarina, esta se degrada parcialmente, hasta un 60% durante las 4 horas de exposición, originándose al menos 8 productos de degradación con Pm: 214 (4 isómeros) y 198 (4 isómeros).

Abstract:

This work is focused on the study of the degradation of the sweeteners sucralose (SUC), aspartame (ASP) and saccharin (SAC) in water by ultraviolet irradiation. The degradation was monitored using Liquid Chromatography/ Time-of-Flight Mass Spectrometry (HPLC-TOF-MS). Different degradation products were also analyzed. The results show that, sucralose is completely degraded after 7 hours of radiation exposure, being a degradation product (Mw: 358) identified. Aspartame is completely degraded after 3 hours of irradiation being 2 degradation products detected (Mw: 206 and 262). Finally, saccharin was partially degraded to 60% and the HPLC-TOFMS analyses revealed the generation of 8 degradation products with Mw 214 (4 isomers) and 198 (4 isomers).

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Edulcorantes artificiales

El número de sustancias químicas potencialmente peligrosas que pueden llegar a alcanzar el medioambiente es muy amplio, por lo que la atención en la investigación de la contaminación del agua se ha expandido recientemente de los contaminantes “prioritarios” (que se encuentran regulados por normativas [1]) a los llamados “contaminantes emergentes” que no están regulados y cuya presencia en el medioambiente no es necesariamente nueva, pero si la preocupación por las posibles consecuencias de la misma [2].

Los contaminantes prioritarios son en su mayoría apolares, tóxicos, persistentes y bioacumulables, como por ejemplo los hidrocarburos aromáticos policíclicos, los policlorobifenilos (PCBs) o las dioxinas. Sin embargo, Los contaminantes emergentes son compuestos de los cuales se sabe relativamente poco o nada acerca de su presencia e impacto en los distintos compartimentos ambientales [3].

La lista de contaminantes emergentes incluye una amplia variedad de productos de uso diario con aplicaciones tanto industriales como domésticos, como pueden ser fármacos, productos de cuidado personal, surfactantes o productos de “estilo de vida” entre otros. En este último grupo es donde se encuentran los edulcorantes artificiales en los que se centra este estudio. Al desecharlos de nuestro cuerpo, los edulcorantes van hacia las aguas residuales y pueden entrar fácilmente en el ciclo del agua por lo que estudiaremos el comportamiento de su degradación y formación de posibles productos de transformación [4].

Un edulcorante es cualquier sustancia natural o artificial que sirve para dar sabor dulce a un alimento a producto. Los edulcorantes se pueden dividir en dos grupos: calóricos o nutritivos (como el azúcar), y no calóricos o no nutritivos, que se emplean como sustitutos del azúcar. Los edulcorantes nutritivos son carbohidratos o sus derivados, tales como sacarosa (azúcar común), glucosa, fructosa y maltosa. Los edulcorantes no nutritivos no pertenecen a ningún grupo químico en particular y son usualmente conocidos como edulcorantes artificiales. La importancia de los edulcorantes artificiales está incrementando al aumentar la conciencia pública sobre la diabetes y su necesidad dietética especial. Además, cada vez hay más consumidores preocupados por la obesidad y la caries dental [5].

Los cuatro compuestos primarios usados como sustitutos del azúcar en Estados Unidos son la **sacarina**, el ciclamato, el **aspartamo** y la **sucralosa**. En muchos otros países el ciclamato y el edulcorante herbal Stevia, se utilizan con más frecuencia. Los edulcorantes tienen un sabor similar al azúcar de caña pero son de bajas calorías. Dan beneficios a personas con sobrepeso y aquellas que tienen problemas con el metabolismo del azúcar. Además, los edulcorantes artificiales son más baratos que el azúcar natural y pueden reducir el coste de algunas comidas y bebidas [5]. El presente estudio está centrado en la sucralosa, la sacarina y el aspartamo.

1.1.1. Sucralosa

1.1.1.1. Introducción e historia

La sucralosa (1,6-dichloro-1,6-dideoxy- β -D-fructofuranosyl-4-chloro-4-deoxy- α -D-galactopyranoside [6] o $C_{12}H_{19}Cl_3O_8$) (**Figura 1**) fue descubierta en 1976 como resultado de un proyecto conjunto de investigación sobre edulcorantes realizado por Tate & Lyle y el Queen Elizabeth College de Londres, RU [7]. Los científicos, que estaban investigando la relación estructura-sabor de la molécula del azúcar, descubrieron que al modificar la estructura del azúcar de cierta manera, podían intensificar el sabor dulce del azúcar al mismo tiempo que lo hacían no calórico [8].

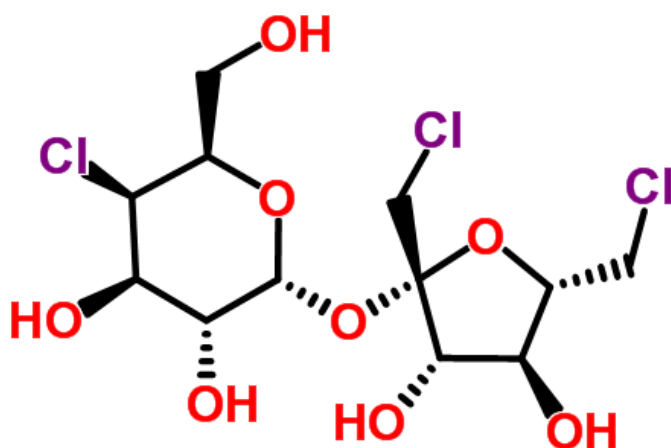


Figura 1. Estructura química de la sucralosa

En la Unión Europea, también se conoce con el código de aditivo E-955. Es aproximadamente 600 veces más dulce que la sacarosa (azúcar común), casi el doble que la sacarina y 3,3 veces más que el aspartamo [9].

La sucralosa es un edulcorante que no aporta calorías, que se fabrica a partir del azúcar y se utiliza para endulzar bebidas de bajas calorías y alimentos procesados.

En 1999, la FDA extendió la aprobación de la sucralosa permitiendo que se usase como un edulcorante en todas las comidas, bebidas, suplementos alimenticios y medicinas. En Enero de 2004, la Unión Europea modificó su Directiva de Edulcorantes para permitir el uso de la sucralosa en una amplia gama de productos de alimentos y bebidas. El uso de la sucralosa está permitida ahora en más de 80 países y es consumida por millones de personas en todo el mundo [5].

1.1.1.2. Síntesis

Se fabrica por halogenación selectiva de sacarosa, reemplazando los tres grupos hidroxilo de la molécula por cloro [10].

La incorporación del cloro produce la liberación de calorías ya que este elemento transforma la molécula de sucralosa en inerte, tanto química como biológicamente por lo que atraviesa el organismo sin ser absorbida y se elimina después de su consumo [11].

1.1.1.3. Toxicidad y seguridad

La seguridad de la sucralosa ha sido objeto de rigurosas y extensas investigaciones. La “Sucralose Food Additive Petition”, presentada y revisada por la FDA, representa uno de los mayores programas de investigación jamás realizado para investigar la seguridad de este nuevo aditivo alimentario. Se realizaron más de 110 estudios.

También, someterse a revisión aportó información importante para las deliberaciones sobre la seguridad. Por otra parte, se realizaron estudios ambientales que se presentaron en EE.UU. y Europa para demostrar la seguridad de la sucralosa en el medio ambiente.

Los expertos en seguridad de la FDA, incluyendo toxicólogos, especialistas en evaluación de riesgos, químicos y otros científicos, evaluaron críticamente toda esta información y como resultado de esta evaluación crítica de todos los datos disponibles,

la sucralosa se ha constatado como segura para el uso previsto por las autoridades de salud pública en todo el mundo [10].

Los reglamentos establecen un límite superior en la concentración de edulcorantes artificiales en bebidas y comidas. En 1990 y 2000 respectivamente, el JEFCA (Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios) y el Comité Científico de la Alimentación Humana de la Comisión Europea fijaron la ingesta diaria admisible (IDA) de sucralosa en 0-15 mg/Kg de peso corporal [12].

ECOSAR (Ecological Structure Activity Relationships) indica que la sucralosa puede causar toxicidad a organismos acuáticos a concentraciones iguales o mayores de 123 mg/L, por lo que la sucralosa afecta a la supervivencia, crecimiento o reproducción de los organismos acuáticos a niveles muy superiores a los medidos en las aguas superficiales [7].

1.1.1.4. Degradación

Aparentemente, el disacárido sucralosa no es lábil [5], es decir, no se transforma fácilmente en otros compuestos más estables.

La molécula de sucralosa presenta una elevada estabilidad frente a la degradación bajo condiciones de temperatura elevada y acidez. Esta resistencia y propiedades la hacen adecuada como sustituto del azúcar en los procesos de producción de alimentos [7].

La degradación de la sucralosa en presencia de glicerol puede generar diferentes cloropropanoles. Se debe tener precaución en el uso de la sucralosa como edulcorante durante la cocción de productos alimenticios que contienen glicerol y lípidos, debido a la posible formación de cloropropanoles tóxicos [13].

La mayor parte de la sucralosa no sufre cambios (ni degradación microbiana ni hidrólisis) durante el tratamiento de aguas residuales en estaciones depuradoras. Según estudios relacionados, tan sólo el 5-20% de la sucralosa es parcialmente eliminada en las plantas de tratamiento de aguas residuales [7].

En cambio, tanto el aspartamo como la sacarina son eliminados en mayor grado en las plantas de tratamiento [5].

Además, otros estudios demuestran que la sucralosa no se oxida mediante radiación UV o luz visible [14].

1.1.1.5. Presencia de sucralosa en el medioambiente

Debido a su excepcional estabilidad combinada con su alta solubilidad en agua y su extendido uso, la sucralosa es un candidato ideal como indicador de las actividades humanas en el medio acuático [15]. Algunos estudios, indican que la sucralosa tiene una larga vida media en el medio ambiente en varios compartimentos [7].

La exposición del medio ambiente terrestre a la sucralosa se limita a áreas sujetas a inundaciones y depósitos directos de aguas residuales o lodos de aguas residuales. El principal compartimento receptor de sucralosa en el medio ambiente son las aguas continentales superficiales a escala regional y las aguas superficiales del mar a escala continental y global. La otra fracción asociada a otros compartimentos, incluyendo atmósfera, suelos, partículas sedimentadas en agua y sedimentos es prácticamente insignificante.

La abundancia relativa de la sucralosa en efluentes de aguas residuales y superficiales, su espectro de masas característico, y su naturaleza conservadora nos indican que su identificación en el agua es fácil, haciéndola un marcador químico ideal para la contaminación de aguas residuales en aguas superficiales y subterráneas [16, 17].

De hecho, algunos estudios sugieren que la sucralosa puede ser un mejor trazador del ciclo del agua que la cafeína que se utiliza mucho para este fin [5, 16].

Se puede concluir en que la sucralosa se sugiere como un trazador conservativo de las aguas residuales y será útil en los estudios hidrológicos de las aguas residuales y su impacto en aguas superficiales y subterráneas.

1.1.2. *Aspartamo*

1.1.2.1. Introducción e historia

El aspartamo (N-(L- α -Aspartyl)-L-phenylalanine, 1-methyl ester [6] o $C_{14}H_{18}N_2O_5$) (**Figura 2**) es un edulcorante artificial compuesto por los aminoácidos fenilalanina y ácido aspártico, más una pequeña cantidad de metanol [18].

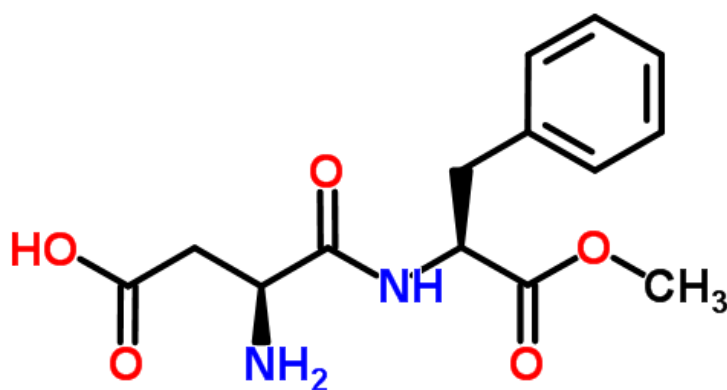


Figura 2. Estructura química del aspartamo

El aspartamo fue descubierto originalmente por James Schlatter, un químico que estaba trabajando en un medicamento contra las úlceras.

En la Unión Europea es conocido con el código de aditivo E-951. Debido a que está fabricado con aminoácidos, el aspartamo aporta 4 kcal/g. Es 200 veces más dulce que la sacarosa por lo que se necesitan cantidades menores para endulzar comidas, lo que hace que su contribución calórica sea insignificante.

Aunque fue descubierto en 1965, no fue aprobado por la FDA hasta 1981 [19].

1.1.2.2. Síntesis

La compañía Toyo Soda, patentó el uso de enzimas protectoras del enlace N-ácido aspártico a β -metilfenilalanina, seguido por los procesos de cristalización y purificación. Los materiales básicos para la producción de aspartamo son dos aminoácidos: L-fenilalanina (producida por fermentación) y el ácido L-aspártico.

Los grupos reactivos de los aminoácidos son protegidos primero, con la excepción del grupo que formará la unión del éster metílico. Los aminoácidos son acoplados por enzimas o químicamente y el grupo reactivo es eliminado. Posteriormente, le siguen procesos de cristalización para la eliminación de impurezas [20].

1.1.2.3. Toxicidad y seguridad

El aspartamo ha sido objeto de numerosas controversias pero según numerosos estudios, la toxicidad aguda de aspartamo es muy baja al igual que su toxicidad subcrónica. El aspartamo se encontró que era no genotóxico en estudios que se hicieron “in vitro” e “in vivo” [18].

La mayor preocupación se centra en la formación de metanol al descomponerse en el interior de nuestro cuerpo pero se ha comprobado que otras muchas frutas, verduras y otros alimentos, producen mucho más metanol y las cantidades en las que éste se encuentra no son inseguras.

El JEFCA y el Comité Científico de la Alimentación Humana de la Comisión Europea han fijado la ingesta diaria admisible (IDA) de aspartamo en 0-40 miligramos por kilogramos de peso corporal [21].

Estudios adicionales sobre la seguridad del aspartamo abarcan estudios antes y después de su aprobación, por diferentes cuerpos regulatorios. Estos han confirmado que el aspartamo es seguro y un aditivo aprobado [20].

1.1.2.4. Degradación

Tras numerosos estudios, se puede observar en cada uno de ellos que el aspartamo se degrada fácilmente y es biodegradable [5].

Al degradarse puede dar diferentes productos de degradación como son 5-benzyl-3,6-dioxo-2-piperazine acetic acid (DPK) y β -aspartamo [18].

1.1.2.5. Presencia de aspartamo en el medioambiente

No se han registrado concentraciones relevantes de aspartamo en el medioambiente ya que su degradación es fácil en las plantas de tratamiento de aguas residuales [22].

1.1.3. Sacarina

1.1.3.1. Introducción e historia

La sacarina (1,2-benzothiazol-3(2H)-one-1,1-dioxide [6] o $C_7H_5NO_3S$) (**Figura 3**) fue descubierta accidentalmente por Fahlberg y Remsen en 1879 mientras estaban estudiando la oxidación de o-tolueno-sulfonamidas.

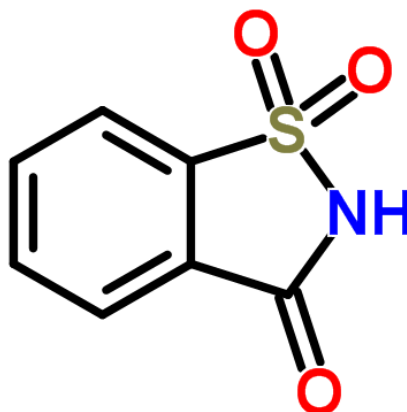


Figura 3. Estructura química de la sacarina

En la Unión Europea también se conoce con el código de aditivo E-954. Es aproximadamente 300 veces más dulce que la sacarosa pero tiene un cierto sabor metálico.

1.1.3.2. Síntesis

Inicialmente, la sacarina fue fabricada a partir de tolueno, que se trató con ácido clorosulfónico y el producto de esta reacción, se oxidó directamente a sacarina. En el comienzo de la década de 1950, fue desarrollado un mejor proceso por Oliver Senn y George Schlaudecker, no a partir de tolueno, sino a partir del antranilato de metilo del aromatizante de la uva común [23].

1.1.3.3. Toxicidad y seguridad

Desde su introducción en el mercado, la sacarina se ha investigado exhaustivamente para determinar su potencial carcinogénico. Los estudios realizados en los años 1970 y 1980 mostraron cáncer de vejiga en ratas que recibieron altas dosis de sacarina, lo que llevó a la FDA en 1981, a aprobar el mandato de que los productos que contienen sacarina llevarsen una etiqueta de advertencia sobre su potencial como un carcinógeno humano. Sin embargo, más tarde se descubrió que los mecanismos que causan cáncer en los roedores no son aplicables a los seres humanos. Además, los estudios clínicos llevados a cabo desde entonces no han demostrado ninguna asociación entre el consumo de sacarina y el cáncer en humanos. Por otra parte, las dosis que se les daban a las ratas eran exageradamente altas, dosis que no tomaría

un humano en su dieta diaria. Como resultado, en 2000, la sacarina fue retirada de la lista del Informe Nacional de Toxicología sobre carcinógenos [19].

En febrero de 1993 y junio de 1995 respectivamente, el JECFA y el Comité Científico de la Alimentación Humana de la Comisión Europea aumentaron la ingesta diaria admisible (IDA) de sacarina a 5 mg/kg de peso corporal [24].

1.1.3.4. Degradación

Un estudio concluye que la sacarina podría eliminarse por completo aplicando tratamientos de filtración en las orillas de los ríos y recargas artificiales de acuíferos [25].

1.1.3.5. Presencia de sacarina en el medioambiente

Los estudios en el medioambiente se han centrado especialmente en sacarina y otros edulcorantes debido a sus altas concentraciones en el medio acuático y su eliminación parcial o nula en las plantas de tratamiento de aguas residuales.

Debido a que la sacarina es extensamente utilizada en agricultura, ésta tiene una alta probabilidad de permanecer en cantidades significantes en las aguas subterráneas [25].

1.2. Tecnologías de degradación

1.2.1. Radiación Ultravioleta (UV)

Los métodos fotolíticos para la degradación de contaminantes disueltos en agua se basan en proporcionar energía a los compuestos químicos en forma de radiación, que es absorbida por las distintas moléculas para alcanzar estados excitados el tiempo necesario para experimentar reacciones.

La radiación ultravioleta es la componente del espectro electromagnético situado entre los rayos X y la luz visible, con una longitud de onda entre 100 y 400 nm (**Figura 4**). Se divide en cuatro bandas: UV-A (315 – 400 nm); UV-B (280 – 315 nm), UV-C (180 – 280 nm) y UV-vacío (100 – 180 nm). Las más utilizadas con fines ambientales son UV-A y UV-C.

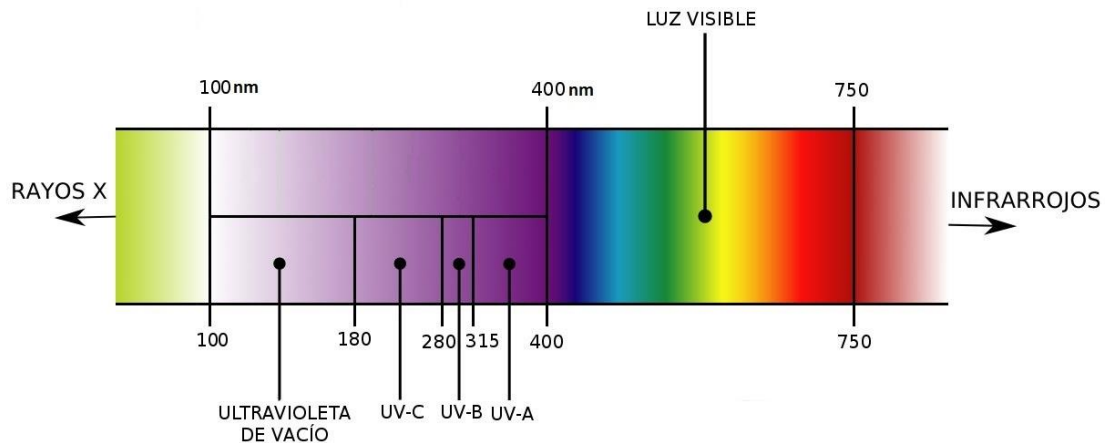


Figura 4. Espectro ultravioleta

Los parámetros más importantes de la radiación UV relacionados con el tratamiento de aguas son:

Longitud de onda: en el intervalo 240 - 280 nm (UV-C) se obtiene la máxima eficiencia en el proceso fotocatalítico.

Calidad del agua: la temperatura del agua tiene poca influencia en la eficacia de la luz UV, pero afecta al rendimiento operativo de la lámpara cuando la misma está inmersa en el agua. La radiación UV es absorbida por el agua, pero en mucho mayor grado es absorbida por los sólidos en suspensión o disueltos, turbidez y color.

Intensidad de la radiación: a menor distancia del agua respecto al punto de emisión de los rayos, mayor será la intensidad de los mismos y por tanto más eficiente el proceso fotocatalítico.

Tiempo de exposición: como cualquier otro agente oxidante, el tiempo de exposición es vital para asegurar un buen desempeño del proceso.

La radiación UV es capaz de romper moléculas complejas, por lo que puede utilizarse en el tratamiento de diferentes efluentes. Actúa mediante la interacción con las

moléculas presentes en el medio líquido provocando en la mayoría de los casos, una ruptura de los enlaces químicos.

La radiación UV procedente del sol u otro foco radiante como las lámparas artificiales UV, es la causante de la fotólisis directa de la molécula contaminante en subproductos. Mediante fotólisis UV se han tratado aguas residuales que contienen compuestos aromáticos clorados y nitrogenados, fenoles, compuestos alifáticos halogenados, aceites, colorantes, pesticidas y efluentes de la industria de acero. Sin embargo, la aplicación de radiación UV de forma individual presenta baja eficacia en la degradación de compuestos orgánicos disueltos en agua [26].

La fotólisis mediante radiación UV tiene ventajas e inconvenientes que se presentan en la **Tabla 1** [26]:

Tabla 1. Ventajas e inconvenientes de la fotólisis mediante radiación UV

Ventajas	Inconvenientes
Al no introducirse reactivo ni materia extraña en la disolución, el carácter físico-químico no se ve modificado	Baja eficiencia y procesos relativamente lentos
No se producen olores ni sabores desagradables	La eficiencia de las lámparas disminuye con el tiempo por lo que es necesario un mantenimiento adecuado y continuo de las mismas
No se generan lodos	Se precisa un pre-acondicionamiento exhaustivo del agua debido a que la radiación UV es absorbida por la materia orgánica y las sustancias que originan turbidez

Ventajas	Inconvenientes
Metodología económica si se utiliza energía solar	Necesidad de capas finas de agua a tratar
La sobredosificación no produce efectos perjudiciales	Aplicación limitada por factores climatológicos cuando utilizamos energía solar

1.2.2. UV/TiO₂

La fotocatálisis heterogénea es un método de oxidación avanzada que recientemente ha tenido un gran auge; la cual consiste en una reacción que utiliza luz para activar a una sustancia (semiconductor) que modifica la velocidad de la reacción química sin ser involucrada. Entre los sólidos con propiedades semiconductoras destaca el TiO₂ al ser el más utilizado por su estabilidad, bajo costo y toxicidad, por su regeneración y porque es reciclable [27].

Muchos de los contaminantes arrojados a las aguas de los ríos, arroyos, lagunas y mares, como los compuestos orgánicos volátiles (hidrocarburos clorados), compuestos orgánicos (aromáticos), los cuales son nocivos para las aguas, requieren para su eliminación un tratamiento terciario adicional a los ya establecidos en el tratamiento de aguas para solucionar dicho problema.

La desactivación fotocatalítica de dichos compuestos se puede realizar mediante luz UV y solar, con TiO₂ soportado con metales a diferentes pH. De esta manera se eliminan los compuestos contaminantes y el agua se puede recircular de una manera segura a los mantos freáticos.

La fotocatálisis es un proceso de desactivación que puede ser usado mediante absorción con la radiación de luz UV y la utilización de un semiconductor en contacto con una solución acuosa para oxidar contaminantes orgánicos disueltos, como una alternativa para la purificación de aguas.

En años recientes, numerosas investigaciones se han realizado para mejorar el TiO₂ por foto catálisis, particularmente para completar la mineralización de casi todos los contaminantes orgánicos como CO₂, agua y constituyentes inorgánicos [28].

1.2.3. Ozono

El ozono es capaz de oxidar gran número de compuestos químicos de diversa naturaleza, descomponiéndolos y convirtiéndolos en compuestos menos o nada tóxicos.

Cuando este gas es inyectado en el agua, puede ejercer su poder oxidante mediante dos mecanismos de acción:

- ❖ Oxidación directa de los compuestos mediante ozono molecular.
- ❖ Oxidación por radicales libres de hidroxilo.

Los radicales libres de hidroxilo constituyen uno de los más potentes oxidantes en agua. El inconveniente que estos tienen es que su vida media es del orden de microsegundos, aunque la oxidación que llevan a cabo es mucho más rápida que la oxidación directa mediante ozono molecular.

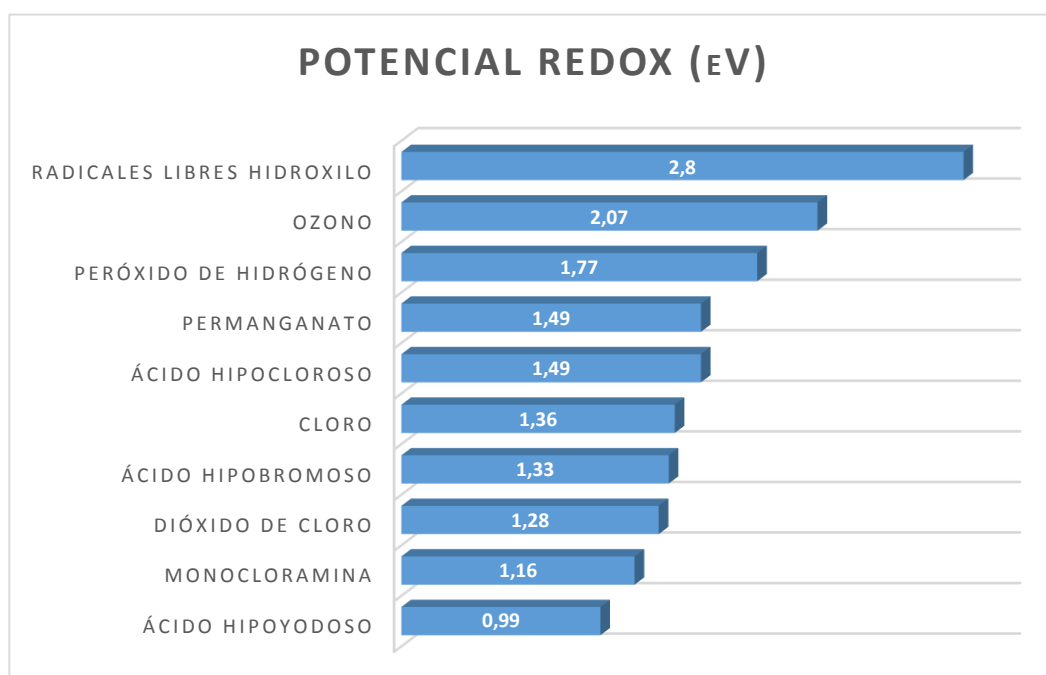


Figura 5. Potencial redox de diferentes agentes oxidantes

Como se puede observar en la **Figura 5**, los radicales libres de hidroxilo, seguido del ozono, tienen el potencial más alto de oxidación.

Dependiendo de las condiciones del medio, puede predominar una u otra vía de oxidación:

- ❖ Para condiciones de bajo pH, predomina la oxidación molecular.

- ❖ Para condiciones de alto pH, exposición a radiación UV o por adición de peróxido de hidrógeno, empieza a dominar la oxidación mediante hidroxilos.

En lo que respecta a la contaminación química del agua, el ozono, por su alto poder oxidante, posee un amplio espectro de acción, siendo capaz de interaccionar con compuestos orgánicos e inorgánicos, desactivándolos. Debido a su estructura, los átomos del ozono necesitan fuertemente captar electrones, lo que hace que reaccione rápidamente con cualquier molécula, especialmente aquellas que poseen dobles enlaces o anillos aromáticos: aldehídos, cetonas, derivados nitrogenados, derivados del azufre, hidrocarburos, ácidos, etc.

Disuelto en agua, el ozono resulta completamente inocuo, dado que su acción sobre la materia orgánica provoca su rápida descomposición [29].

1.3. Métodos analíticos para la determinación de edulcorantes

En este apartado se muestran dos tablas en las que se indica el método que otros autores han elegido para la determinación de sucralosa en el caso de la **Tabla 2** y sacarina en el caso de la **Tabla 3**. En la mayoría de los casos se trata de un método de cromatografía de líquidos acoplado a un espectrómetro de masas como es en nuestro caso.

En las tablas también se indica la concentración encontrada del compuesto y de qué lugar procedía la muestra escogida.

En algunos casos no se ha podido identificar el método con el que determinaron los edulcorantes.

En el caso de aspartamo no se encuentran concentraciones en el medioambiente por lo que no se ha realizado una tabla de este compuesto.

Tabla 2. Resumen de la bibliografía disponible sobre estudios de detección de sucralosa en el medioambiente.

Muestra	Método	Concentración	Referencia
Aguas residuales	HPLC-TOFMS	1.5 µg/L	[5]
Aguas residuales	HPLC-MS	7.6 µg/L	[6]
Agua de río		0.1 µg/L	
Afluentes de aguas residuales (recogida antes del tratamiento)	-	0.4-16 µg/L	[8]
Efluentes de aguas residuales (recogida después del tratamiento y antes de la disolución en el medio ambiente)	-	0.4-119 µg/L	
Aguas receptoras (aguas que se asumen que recibirán aguas residuales)	-	0.004-10 µg/L	
Aguas superficiales	-	0.001-1.9 µg/L	
Agua superficial del mar	-	0.007-0.39 µg/L	
Aguas subterráneas (obtenida de pozos)	-	0.6-2.4 µg/L	
Agua potable	-	0.05-2.4 µg/L	[14]
Agua tratada	SPE-LC-MS/MS	2.7 µg/L	
Efluentes 90 plantas de tratamiento de aguas residuales provenientes de Europa	LC-MS/MS	Máxima concentración: 12.9 µg/L Concentración media: 1.7 µg/L	[30]
Medioambiente en Hong Kong	UPLC-MS/MS	0.06 µg/L	[31]
Superficie del agua del mar		0.2 µg/L	

Tabla 3. Resumen de la bibliografía disponible sobre estudios de detección de sacarina en el medioambiente.

Muestra	Método	Concentración	Referencia
Agua residual	HPLC-TOFMS	5 µg/L	[5]
Aguas residuales	HPLC-MS	16.2 µg/L	[6]
Aguas de río		0.3 µg/L	
Aguas residuales sin tratar, aguas subterráneas, aguas superficiales y aguas potables en Suiza	-	En efluentes: 2-8.8 µg/L En afluentes: 2-9.1 µg/L	[25]
Aguas residuales y aguas superficiales en Alemania	-	En afluentes: 34-50 µg/L En ríos: 0.01-0.11 µg/L	
Aguas subterráneas	-	0.26 µg/L	
Lodos digeridos de depuradora	-	10-16 µg/L	
Aguas residuales	-	< 0.5-5 µg/L	
Aguas superficiales y subterráneas	-	< 0.5 µg/L	
Superficie del agua del mar	UPLC/MS-MS	0.25 µg/L	[31]

1.4. Objetivos

Los objetivos planteados en el presente trabajo de fin de grado son los siguientes:

- ❖ Poner a punto un método de análisis de sucralosa, aspartamo y sacarina en agua mediante cromatografía de líquidos.
- ❖ Estudiar la degradación mediante radiación UV de estos tres edulcorantes artificiales en disolución acuosa.
- ❖ Estudiar la posible formación de productos de degradación y su persistencia.

2. EXPERIMENTAL

2.1. Reactivos y disoluciones

- ❖ Metanol (MeOH) de grado HPLC (Merck, Darmstadt, Germany)
- ❖ Agua de grado HPLC (Sistema de agua Mili-Q-Plus ultrapura de Millipore, Milford, MA)
- ❖ Cloruro sódico (NaCl) (J.T. Baker)
- ❖ Acido Fórmico de grado HPLC (Panreac, Barcelona, España)
- ❖ Acetonitrilo de grado HPLC (Panreac, Barcelona, España)
- ❖ Hexano de grado HPLC (Merck, Darmstadt, Germany)
- ❖ Sulfato sódico anhidro (Fluka, Buchs, Switzerland).
- ❖ Patrones de los diferentes edulcorantes artificiales obtenidos de la marca comercial Sigma-Aldrich (sucralosa), Supelco Analytical (aspartamo) y Aldrich Chemistry (sacarina), (**Figura 6**).



Figura 6. Patrones de los diferentes compuestos. De izquierda a derecha: sucralosa, aspartamo y sacarina.

2.2. Reactor UV

Los experimentos se realizaron en un fotorreactor integrado por un tanque reactor de 1 L con una lámpara UV inmersa en un tubo de cuarzo y una camisa de enfriamiento, un agitador magnético dentro del reactor para mezclar la solución de edulcorante y agua Mili-Q (**Figura 7**). El equipo cuenta con criorefrigeración de 30 Frigitem ultra-termostato, para eliminar el calor generado por la lámpara UV y el control de la temperatura de la solución en el reactor.



Figura 7. Montaje lámpara UV.

La lámpara UV utilizada tiene las siguientes características:

- ❖ Lámpara UV de inmersión (384 mm) (modelo CA 150; n 5600 1725; marca HNG Alemania G4) presión media de Hg
- ❖ Centro de inmersión de longitud de rayos de 303 mm
- ❖ Posición del centro de emisión de la lámpara de 44 mm
- ❖ Potencia de la lámpara 150 W
- ❖ Longitud de onda de emisión 200-600 nm.

2.3. Cromatografía de líquidos/espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo (HPLC-TOF-MS)

El sistema de cromatografía de líquidos, HPLC (Agilent Series 1290 Infinity, Agilent Technologies, Santa Clara, CA). Estaba acoplado a un espectrómetro de masas con un detector de tiempo de vuelo (Agilent Technologies, Santa Clara, EEUU)

El software para el funcionamiento y procesamiento de los datos generados es Agilent Mass Hunter Workstation Software. Qualitative Analysis. Versión B.02.00. **(Figura 8).**



Figura 8. Equipo HPLC-TOF-MS

El método seleccionado era de HPLC en fase reversa, de forma que la fase estacionaria (la columna) era apolar y los disolventes serán polares. Los disolventes empleados fueron los siguientes: (A) agua con 0.1% de ácido fórmico; (B) acetonitrilo con 0.1% de ácido fórmico.

Para el desarrollo del método, se seleccionó un gradiente de elución genérico de 15 minutos. El gradiente de elución consiste en empezar con 10% de B durante 3 minutos y del minuto 3 al 12 pasa de 10% de B a 100% de B. Posteriormente lo dejamos 3 minutos a 100% de B.

Las condiciones cromatográficas se resumen en la **Tabla 4:**

Tabla 4. Condiciones cromatográficas

HPLC	Columna	Columna analítica C18 de 50 mm × 4.6 mm de diámetro y 1.8 μm de tamaño de partícula (Zorbax Eclipse XDB-C18)
	Flujo	Fase móvil fue de 0.5 mL/ min
	Volumen de inyección	Se cuenta con un inyector automático que es capaz de tomar volúmenes comprendidos entre 0.1 – 100 μL con gran precisión. En nuestro estudio, se inyectaron 2.0 μL para observar los productos de degradación.
MS	Voltaje del capilar	4000 V
	Flujo gas de secado	9 L· min ⁻¹
	Temperatura del gas de secado	325 °C
	Presión del nebulizador	40 psi
	Voltaje del fragmentador	190 V
	Rango de masas detectado	m/z 50-1000

Uno de los aspectos más importantes del espectrómetro de masas es la fuente de ionización, que se encarga de transformar el líquido compuesto por la muestra y los disolventes en una corriente de iones en forma gaseosa. En este estudio se utilizó una fuente de ionización electrospray (ESI). Existen dos formas de ionización: ESI en modo positivo donde se forman $[\text{M}+\text{H}]^+$ y ESI en modo negativo donde se forman $[\text{M}-\text{H}]^-$. En el presente estudio se utilizó ESI en modo negativo excepto para el aspartamo en el que se usaron ambos modos de ionización. Una vez que los iones han sido generados, deben ser separados según su masa. Sin embargo, en vez de la masa, la propiedad física de los iones que miden los analizadores de masas es la relación masa/carga (m/z).

2.4. Procedimiento

Los experimentos de degradación de aspartamo, sacarina y sucralosa se hicieron por separado.

Para los tres experimentos se preparó una disolución de 5 mg/L en agua. Para ello, se pesaron 0.0025 gramos de cada compuesto con ayuda de un pesasustancias (**Figura 9**) y se disolvió el soluto con 0.5 L de agua ultrapura Milli-Q. El sistema de agua Mili-Q Plus ultrapura de Milipore (Milford, MA, EEUU) se empleó para obtener agua de grado HPLC para la preparación de las muestras. La disolución preparada se vertió en el tanque reactor donde se sumergió la lámpara UV (**Figura 7 y 10**). Los experimentos se llevaron a cabo a temperatura ambiente y con un agitador mecánico (imán) a 800 rpm.



Figura 9. Balanza de precisión con pesa sustancias en su interior.

Para monitorizar la degradación, se tomaron alícuotas del reactor a diferentes tiempos (0, 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300 y 420 minutos).

En todos los casos, las alícuotas se recogían en un tubo de ensayo. Con la ayuda de una micropipeta graduada, se tomó un volumen de 500 μ L que se transfirió a un vial de vidrio de 2 ml y posteriormente se analizó la disolución en el equipo de HPLC-TOFMS.

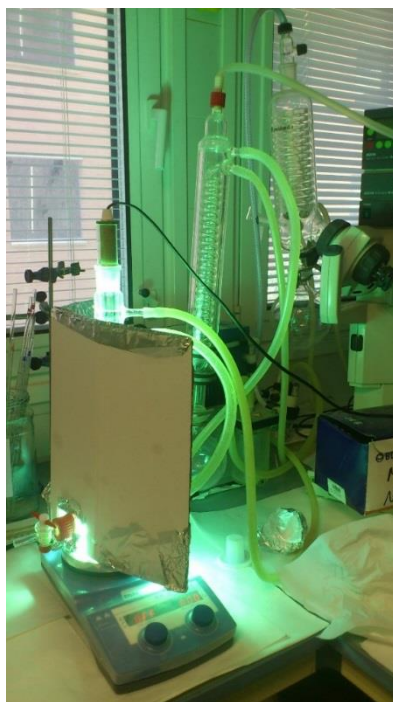


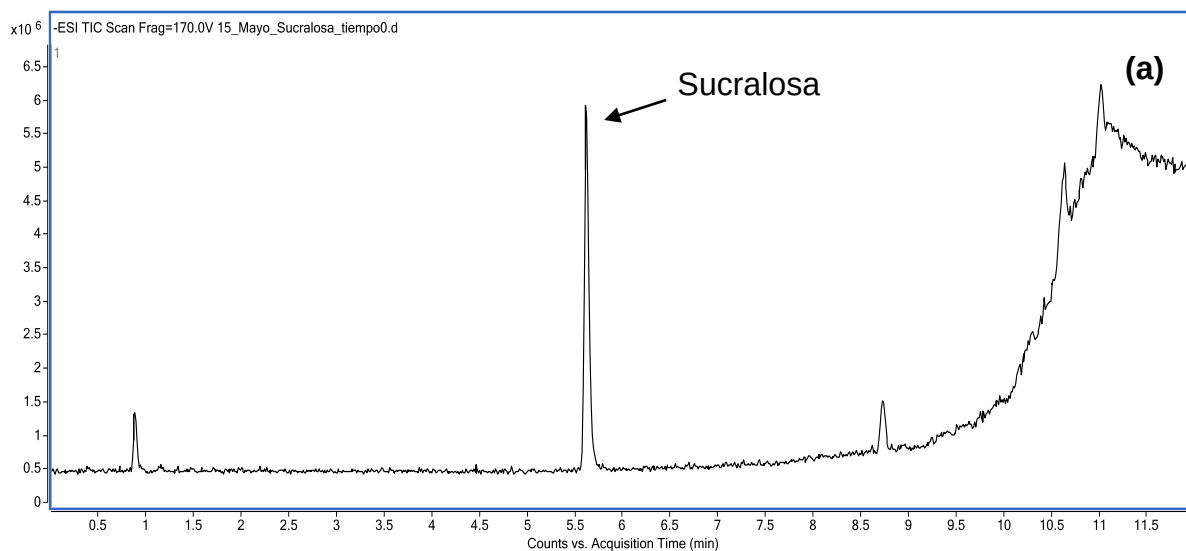
Figura 10. Montaje lámpara UV

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Método para la determinación de edulcorantes artificiales

Se empleó el mismo método para los tres edulcorantes, basando en cromatografía de líquidos/espectrometría de masas con ionización por electrospray en modo negativo. A continuación, se describen los parámetros empleados para la determinación de los edulcorantes.

3.1.1. Sucralosa



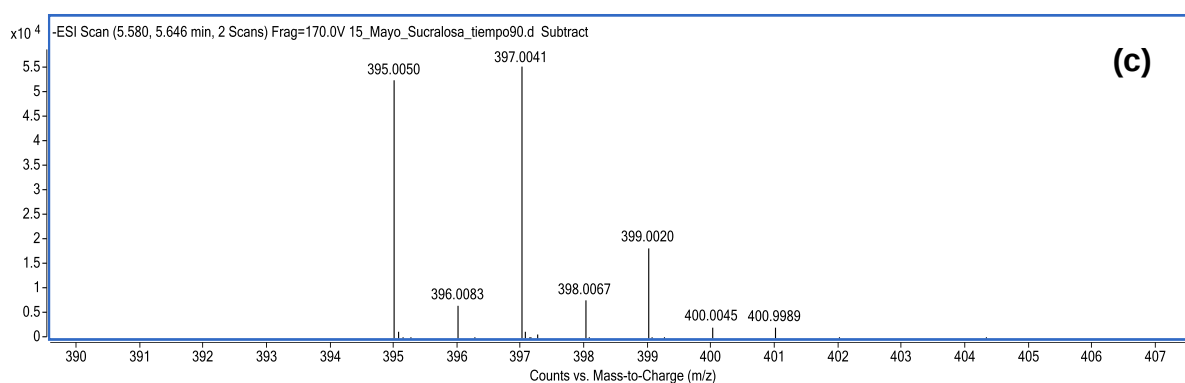
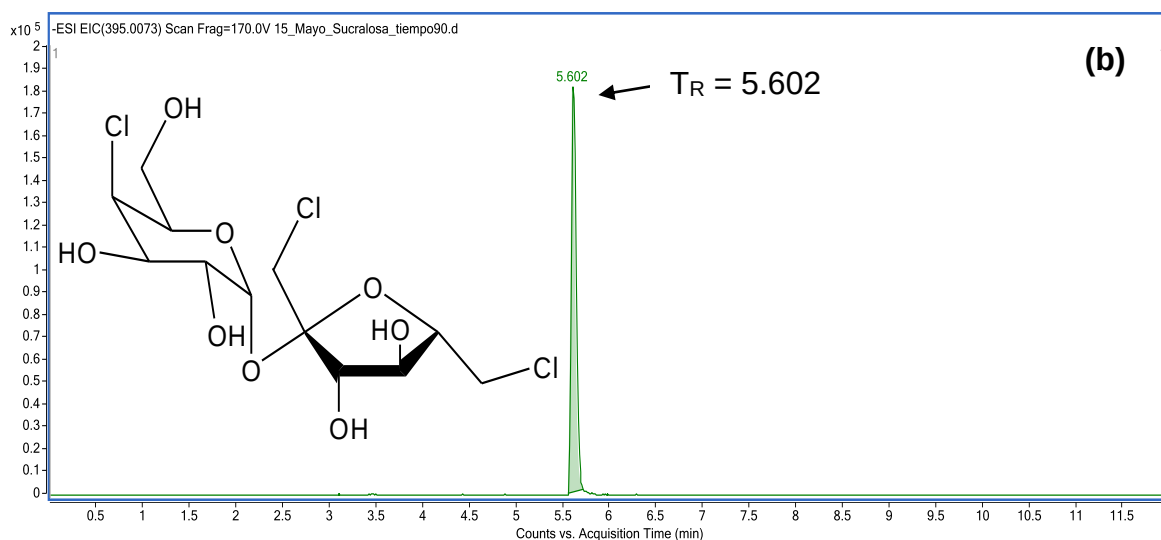


Figura 11. (a) Cromatograma de iones totales (TIC); (b) Cromatograma de ión extraído y estructura química de la sucralosa; (c) Espectro de masas de la sucralosa.

El cromatograma de iones totales (**Figura 11 (a)**) nos muestra el número total de iones detectados en una franja de masas barrida que es sumada y representada en función del tiempo. El pico más alto que encontramos es al que pertenece la sucralosa (5.6 min).

El cromatograma de ión extraído (**Figura 11 (b)**) se obtiene seleccionando la masa del compuesto (sucralosa), en este caso 395.0073. Este cromatograma se usa para monitorizar la degradación del compuesto con el tiempo. Además, el EIC nos da el tiempo de retención (T_R) del compuesto que es el tiempo transcurrido desde que se inyecta la muestra en el sistema, hasta la detección de máximo pico de elución.

En la **Figura 11 (c)** se puede observar el espectro de masas de la sucralosa detectada en modo negativo. El espectro de masas nos confirma que hemos encontrado el analito que esperamos.

3.1.2. Aspartamo

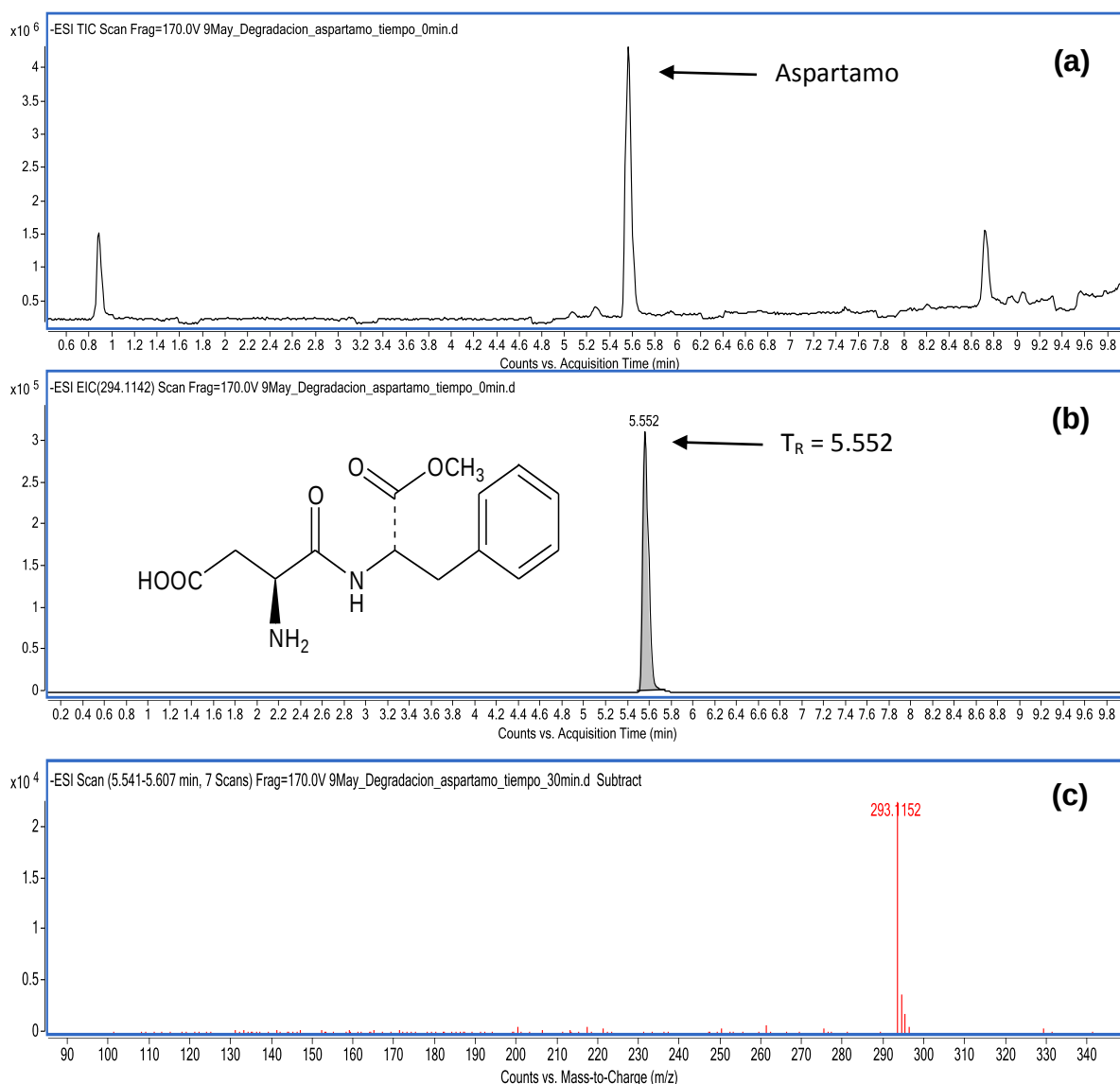


Figura 12. (a) Cromatograma de iones totales (TIC); (b) Cromatograma de ión extraído y estructura química del aspartamo; (c) Espectro de masas de aspartamo.

La **Figura 12 (a)** muestra el cromatograma de iones totales que detecta el equipo HPLC-TOFMS, donde se señala el pico más alto que, en este caso es el de aspartamo.

En la **Figura 12 (b)** se puede ver el cromatograma de ión extraído del aspartamo que se obtiene introduciendo la masa del compuesto que es 293.1145. Además, este cromatograma también nos da el tiempo de retención de aspartamo que es 5.55 min.

Por otro lado, en la **Figura 12 (c)** tenemos el espectro de masas del aspartamo detectado en modo negativo.

3.1.3. Sacarina

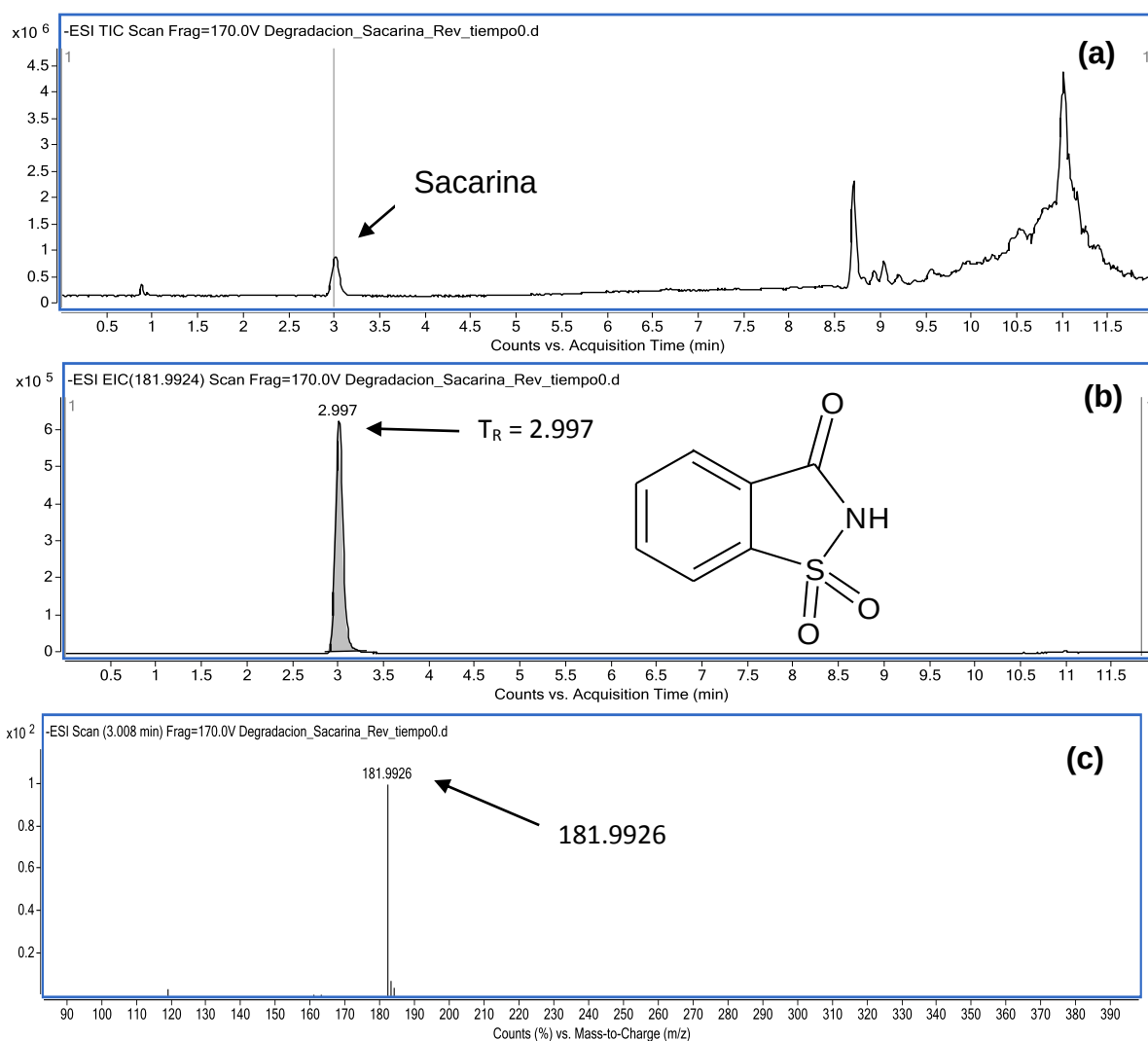


Figura 13. (a) Cromatograma de iones totales (TIC); (b) Cromatograma de ión extraído y estructura química de la sacarina; (c) Espectro de masas de la sacarina.

En el cromatograma total de iones de la sacarina (**Figura 13 (a)**) se puede ver el pico del compuesto acompañado de los demás iones que se detectan debido a las disoluciones que contiene el propio equipo para poder trabajar.

En el cromatograma de ión extraído de la sacarina (**Figura 13 (b)**) se puede observar el tiempo de retención de la sacarina que es 2.997 minutos. Se obtiene introduciendo la masa del compuesto, que en este caso es 182.9952.

En la **Figura 13 (c)** se muestra el espectro de masas de la sacarina. Al igual que los anteriores se trabaja en modo negativo.

En la **Tabla 5** se muestra un resumen de lo obtenido con los diferentes cromatogramas y espectros de masas.

Tabla 5. Tiempos de retención (R_t), composición elemental (M), ión detectado y m/z teórica de los 3 edulcorantes estudiados: Sucralosa, Sacarina y Aspartamo.

Compuesto	R_t (min)	Composición elemental (M)	Ion detectado	m/z teórica
Sucralosa	5.602	$C_{12}H_{19}Cl_3O_8$	$[M-H]^-$	395.0073
Aspartamo	5.552	$C_{14}H_{18}N_2O_5$	$[M-H]^-$	293.1145
Sacarina	2.99	$C_7H_5NO_3S$	$[M-H]^-$	182.9952

3.2. Degradación de edulcorantes artificiales mediante radiación UV

3.2.1. Sucralosa

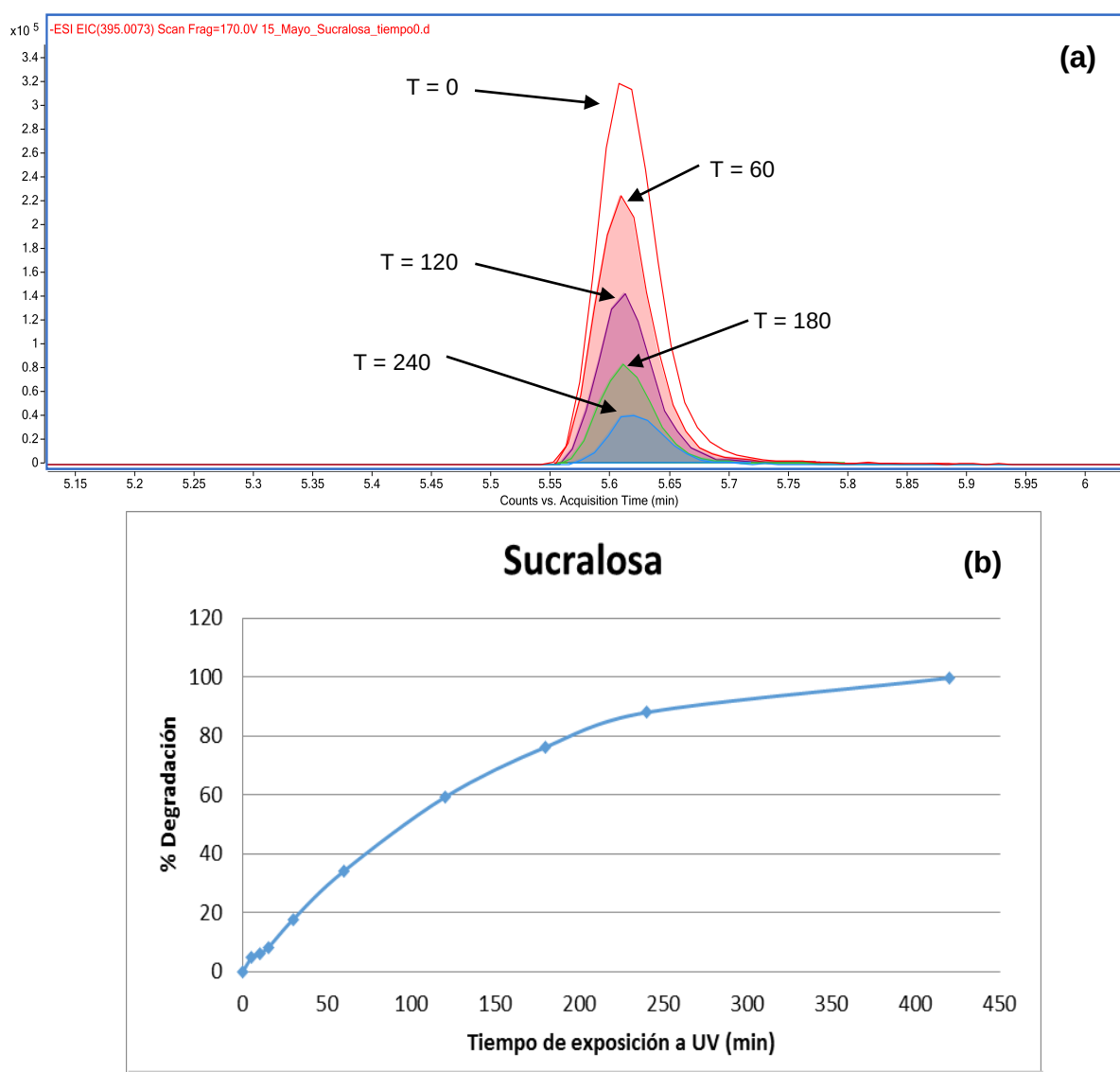


Figura 14. (a) EIC de sucralosa a tiempos: 0, 60, 120, 180 y 240 minutos de exposición; (b) Comportamiento del compuesto: % de Degradación frente a tiempo de exposición a radiación UV.

Para monitorizar la degradación de un compuesto se usan sus áreas de pico a cada tiempo de exposición **(Figura 14 (a))** Se puede observar cómo, a medida que avanza

el tiempo de exposición, las áreas de pico se van haciendo más pequeñas. Esto quiere decir, que el compuesto se está degradando. Además, las áreas de pico nos sirven para cuantificar el compuesto.

Conforme avanza el tiempo de exposición a la radiación ultravioleta, el porcentaje de degradación va aumentando **(Figura 14 (b))**. La sucralosa va disminuyendo su concentración progresivamente hasta que, en el minuto 420 está 100% degradada. Debido a su persistencia y su inocuidad a las concentraciones que se encuentra en el medioambiente, puede usarse como un trazador, es decir, un indicador que nos muestre cual es el ciclo del agua, hasta donde éste puede llegar.

3.2.2. Aspartamo

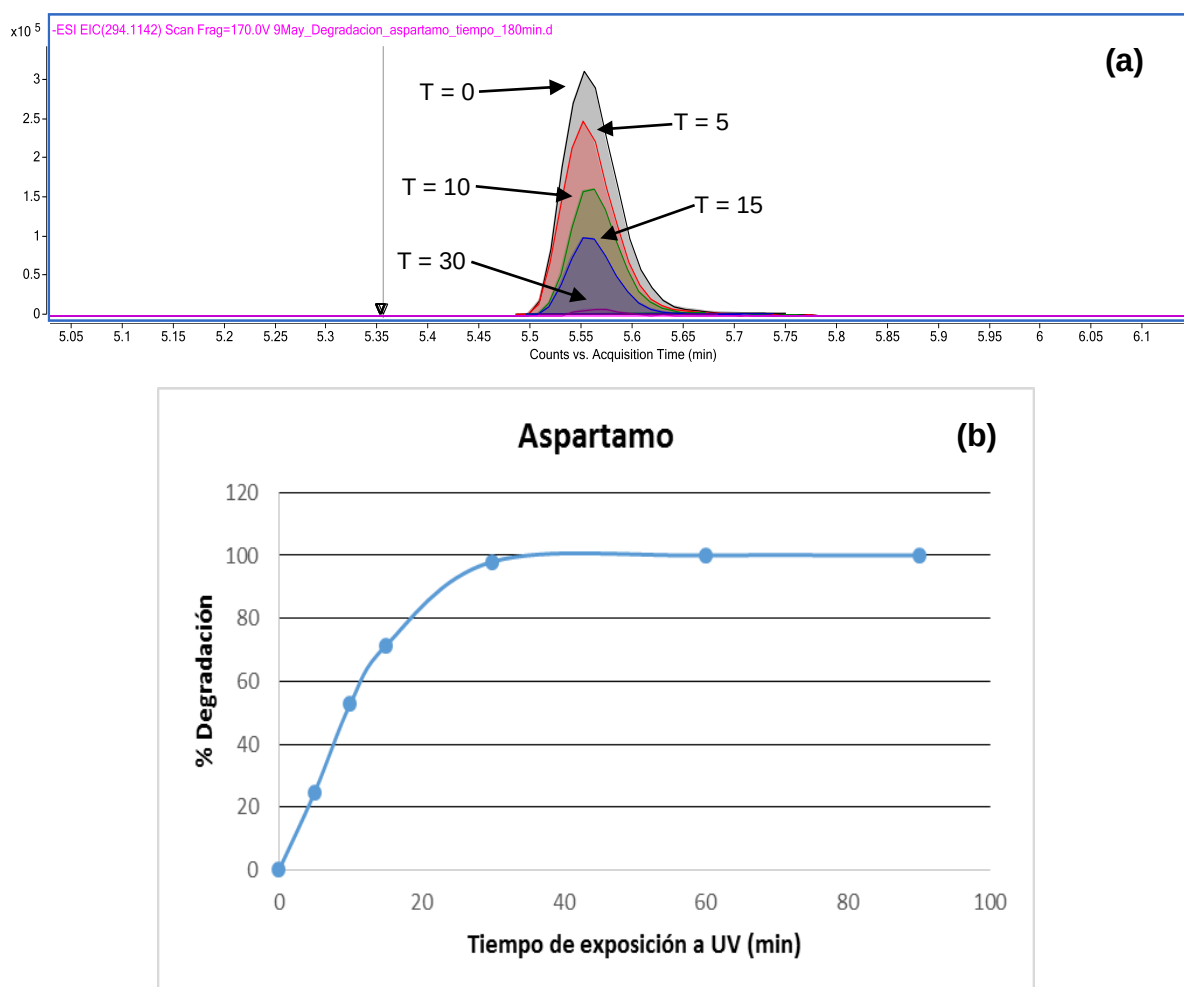


Figura 15. (a) EIC de aspartamo a tiempos: 0, 5, 10, 15 y 30 minutos de exposición; (b) Comportamiento del compuesto: % de Degradación frente a tiempo de exposición a radiación UV.

Según los resultados, el aspartamo es el compuesto que se degrada más rápido. Esto se puede ver en la **Figura 15 (a)** en la que en el minuto 30 de exposición a la radiación UV casi no queda ninguna cantidad de compuesto.

También se observa con claridad en la **Figura 15 (b)** donde el aspartamo se va degradando rápidamente hasta que, en el minuto 60 está rozando el 100 % de degradación.

Estos resultados nos indican que el aspartamo no va a contaminar el medioambiente, a la vez que no va a servir para ser un indicador del ciclo hidrológico ya que se degrada con facilidad. Además, los rayos del Sol proyectan luz UV que ayuda a su degradación en el medioambiente.

3.2.3. Sacarina

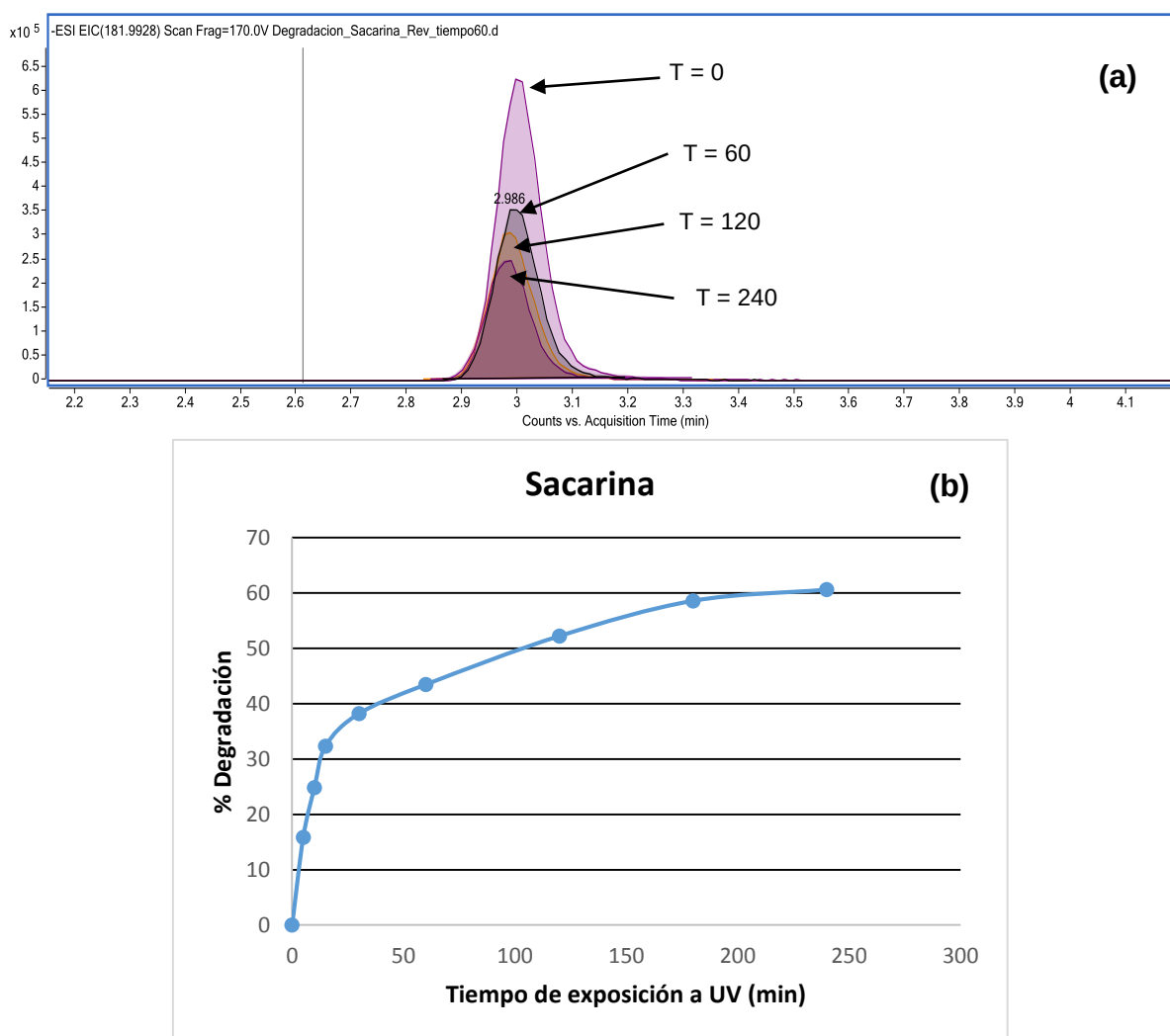


Figura 16. (a) EIC de sacarina a tiempos: 0, 60, 120 y 240 minutos de exposición; (b) Comportamiento del compuesto: % de Degradación frente a tiempo de exposición a radiación UV.

Como se puede observar en la **Figura 16 (a)**, a medida que avanza el tiempo de exposición, la sacarina se va degradando poco a poco. El tiempo máximo de exposición de este experimento fue de 240 minutos por lo que el compuesto no llegó a degradarse completamente durante el experimento.

Como bien indica la **Figura 16 (b)**, la sacarina no llega a degradarse completamente durante las 4 horas de exposición ya que se degrada el 60% del compuesto. La posible solución sería aumentar el tiempo de exposición a la radiación UV aunque no sería rentable económicamente

Por ello, una solución sería utilizarla como indicador del ciclo hidrológico al igual que la sucralosa, debido a su resistencia a ser degradada.

3.3. Estudio de productos de transformación durante la degradación

3.3.1. Sucralosa

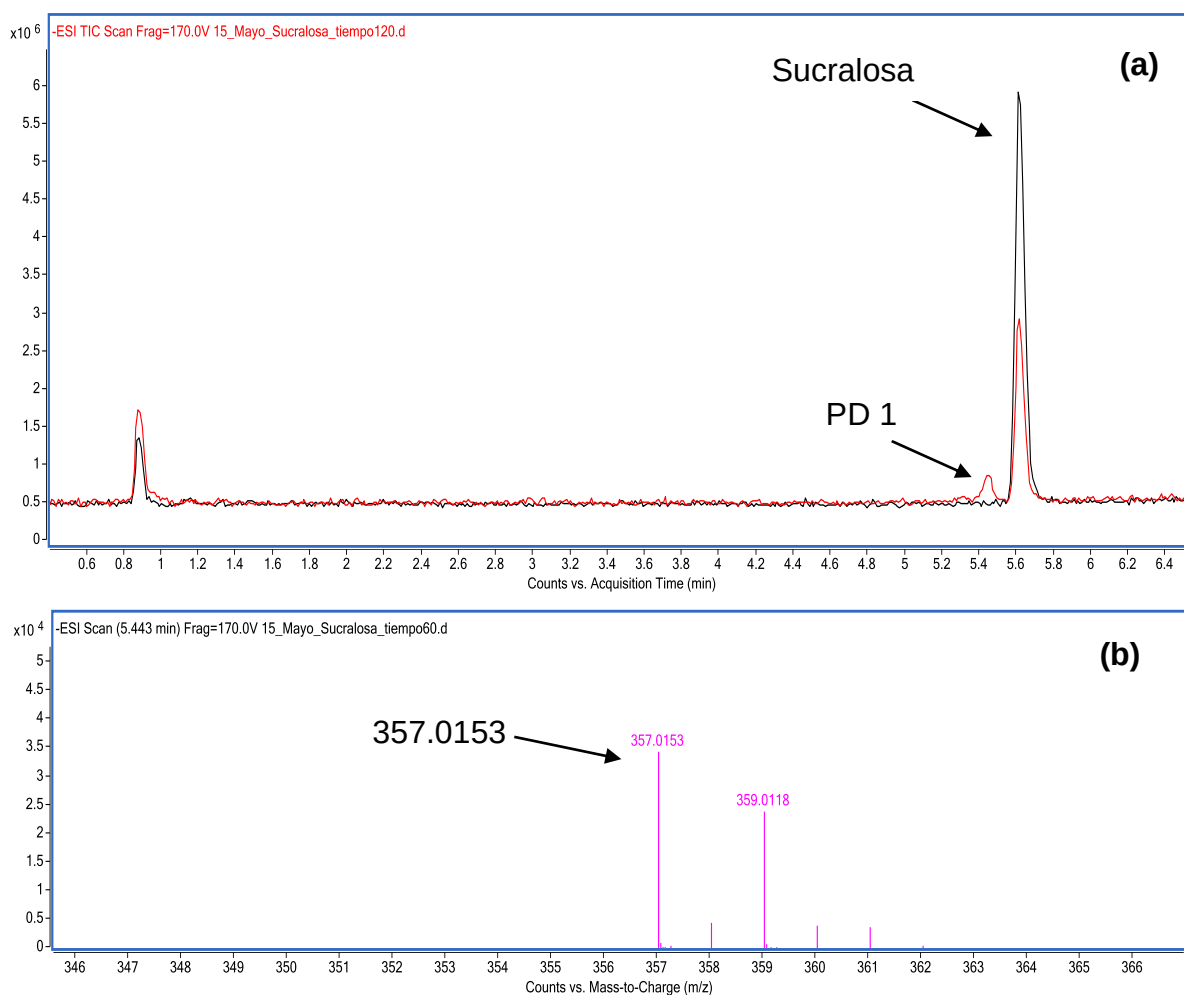


Figura 17. (a) Cromatogramas de iones totales superpuestos. En negro, el minuto 0 y, en rojo, el minuto 120; (b) Espectro de masas del producto de degradación de la sucralosa en el minuto 60 de la exposición.

Para ver los productos de degradación (PDs) que se han formado se comparan los cromatogramas de iones totales de diferentes tiempos de exposición y vemos si se han formado picos o no. En este caso, en la **Figura 17 (a)** se han comparado el TIC a tiempo 0 minutos (en negro) y el TIC a tiempo 120 minutos (en rojo). Se puede observar la aparición de un nuevo pico en el cromatograma de iones totales de 120 minutos. Éste indica que se ha formado un producto nuevo durante la degradación de la sucralosa.

Según la información que nos da el espectro de masas (**Figura 17 (b)**) podemos saber que la composición elemental del producto de degradación es $C_{12}H_{16}Cl_2O_8$. Esto nos indica que el compuesto tiene un cloro menos y tres hidrógenos menos que la sucralosa. Además el espectro de masas nos da la información sobre la relación masa/carga (m/z) del nuevo compuesto. Éste se indica en la figura y es 357.0153.

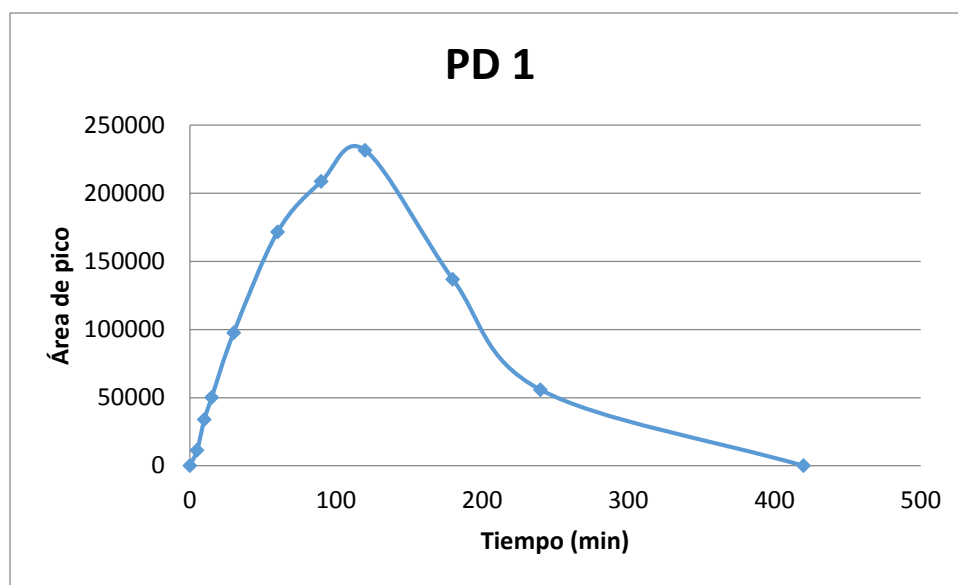


Figura 18. Comportamiento del producto de degradación de la sucralosa (PD 1).

Por último, vemos cómo se comporta el producto con la ayuda del área de pico del producto de degradación identificado. Como se puede observar en la **Figura 18**, el producto empieza a formarse al tiempo de 5 minutos. Sigue formándose hasta que llega al pico máximo a 120 minutos aproximadamente. Después, el producto empieza a degradarse hasta no quedar nada de él a los 420 minutos.

Tabla 6. Tiempo de retención (R_t), composición elemental (M) y m/z teórica del producto de degradación de la sucralosa.

Producto de transformación	R_t (min)	Composición elemental (M)	m/z teórica
PD 1	5.5	$C_{12}H_{16}Cl_2O_8$	357.0153

3.3.2. Aspartamo

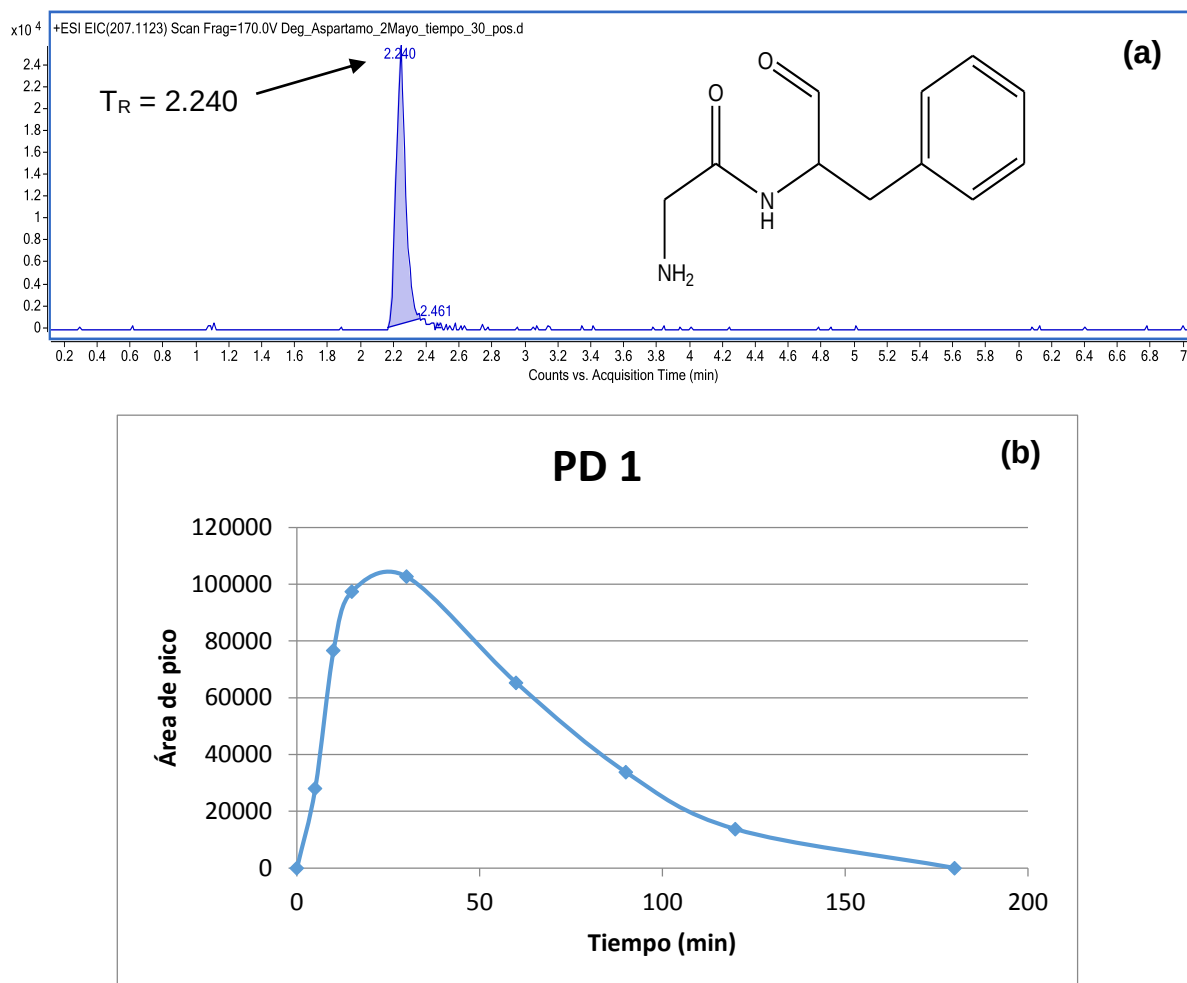


Figura 19. (a) Cromatograma de ión extraído del primer producto de degradación del aspartamo en el minuto 30 y su estructura química; (b) Comportamiento del primer producto de degradación del aspartamo (PD 1).

Con la ayuda del EIC (**Figura 19 (a)**) se obtiene el pico del ión del primer producto de degradación del aspartamo. Este nos da la información del tiempo de retención del compuesto formado que viene a ser 2.24 minutos. Este es el único caso en el que se ha detectado el ión en modo positivo ya que se detectaba mejor que en modo negativo.

En la **Figura 19 (b)** se puede ver su comportamiento durante la exposición y se observa claramente cómo se forma rápidamente, alcanzando su máximo entre el

minuto 15 y el minuto 30 (justo cuando ya casi la concentración de aspartamo es imperceptible), y empieza a degradarse de forma más gradual hasta que en el minuto 180 no queda nada de este producto de degradación.

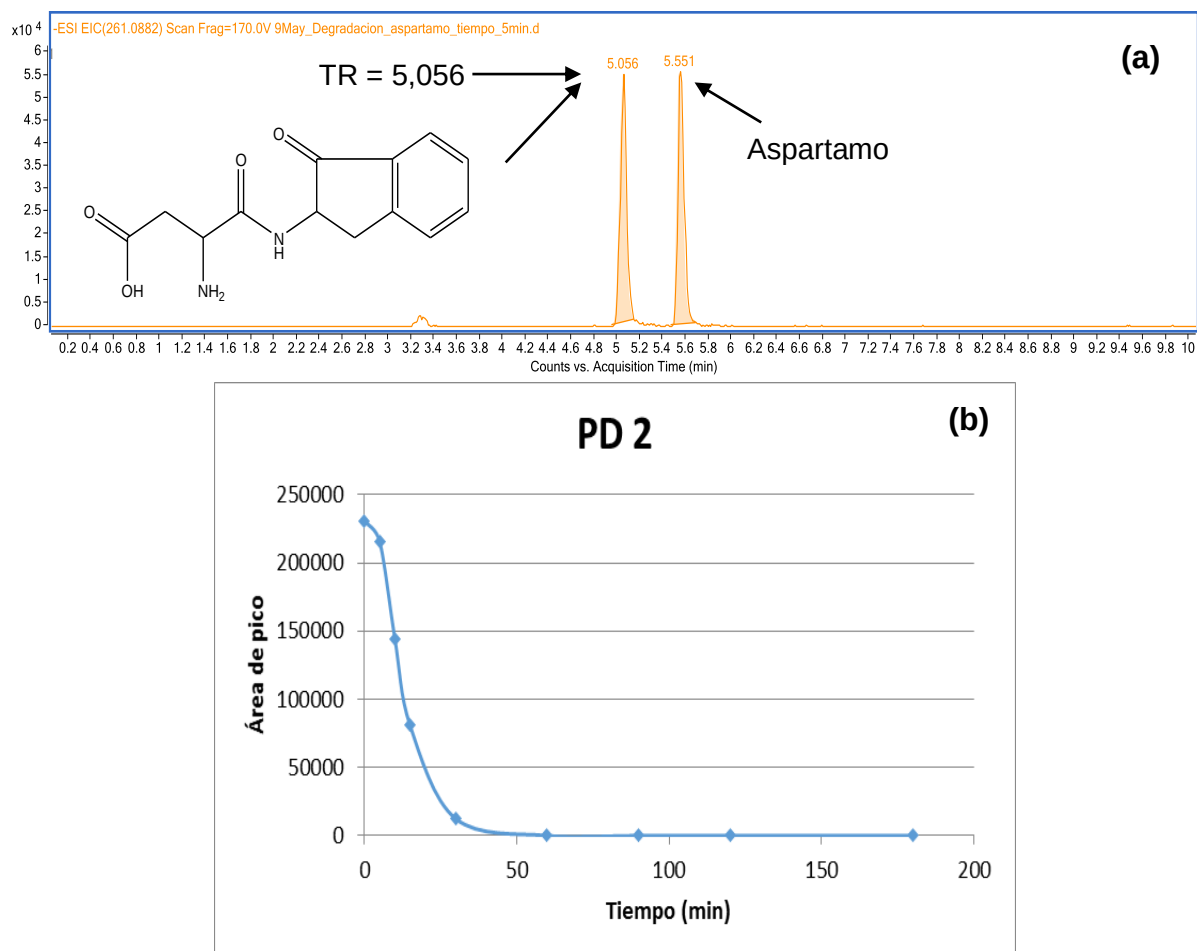


Figura 20. (a) Cromatograma de ión extraído del segundo producto de degradación del aspartamo en el minuto 5 y su estructura química; (b) Comportamiento del segundo producto de degradación del aspartamo (PD 1).

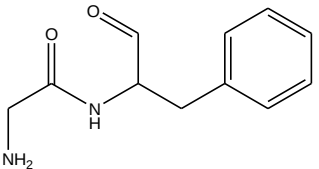
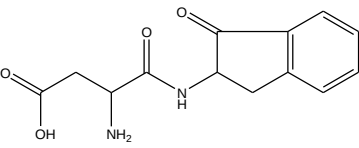
En la **Figura 20 (a)** muestra el EIC del segundo producto de transformación del aspartamo, donde se ven dos picos. El primero pertenece al producto de degradación detectado (con tiempo de retención 5.06) y el segundo pertenece al propio aspartamo con su tiempo de retención correspondiente. En este caso también se detecta el ión en modo negativo.

Al analizar el comportamiento del segundo producto de transformación (**Figura 20 (b)**) se observa que el compuesto ya está formado antes de estar expuesto a la radiación ultravioleta y que empieza a degradarse conforme avanza el tiempo. Esto es debido a que, el aspartamo entra en contacto con el agua y el éster que tiene en su estructura

se hidroliza, es decir, el aspartamo empieza a degradarse y formar productos de degradación nada más entrar en contacto con el agua.

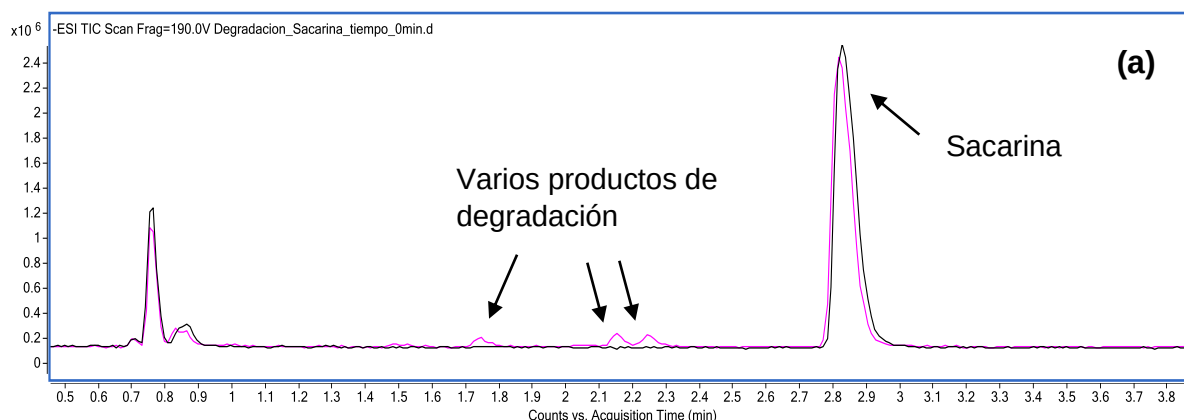
Por otro lado, analizando la composición elemental de cada compuesto que nos da el espectro de masas y teniendo en cuenta que la composición elemental del aspartamo es $C_{14}H_{18}N_2O_5$, observamos que el primer producto de degradación con fórmula $C_{11}H_{14}N_2O_2$ ha perdido 3 carbonos, 4 hidrógenos y 3 oxígenos. La composición del segundo producto de degradación es $C_{13}H_{14}N_2O_4$ por lo que en comparación con el aspartamo, este producto ha perdido un carbono, 4 hidrógenos y un oxígeno.

Tabla 7. Tiempo de retención (R_t), composición elemental (M), m/z teórica y estructura de los dos productos de degradación del aspartamo.

Producto de transformación	R_t (min)	Composición elemental	m/z teórica	Estructura propuesta
PD 1	2.24	$C_{11}H_{14}N_2O_2$	207.1128	
PD 2	5.06	$C_{13}H_{14}N_2O_4$	261.0882	

3.3.3. Sacarina

En el caso de la sacarina se encontraron varios productos de degradación.



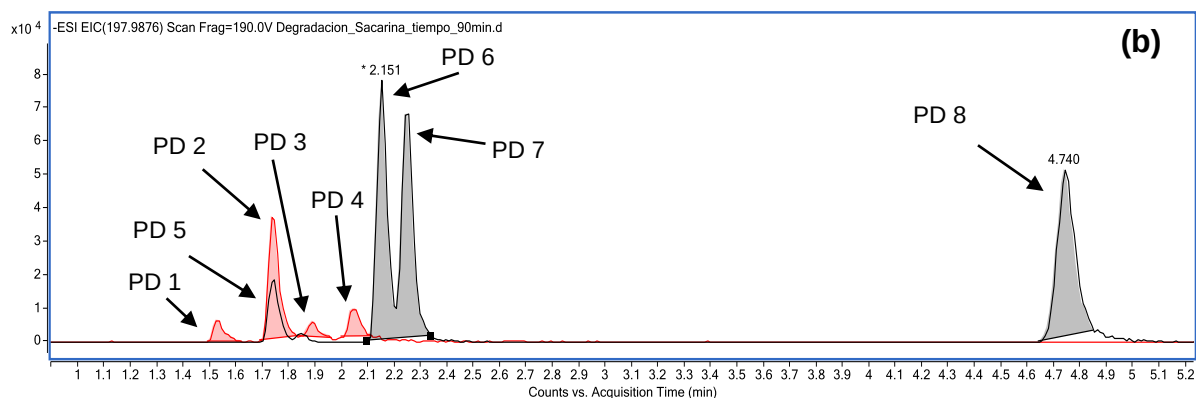


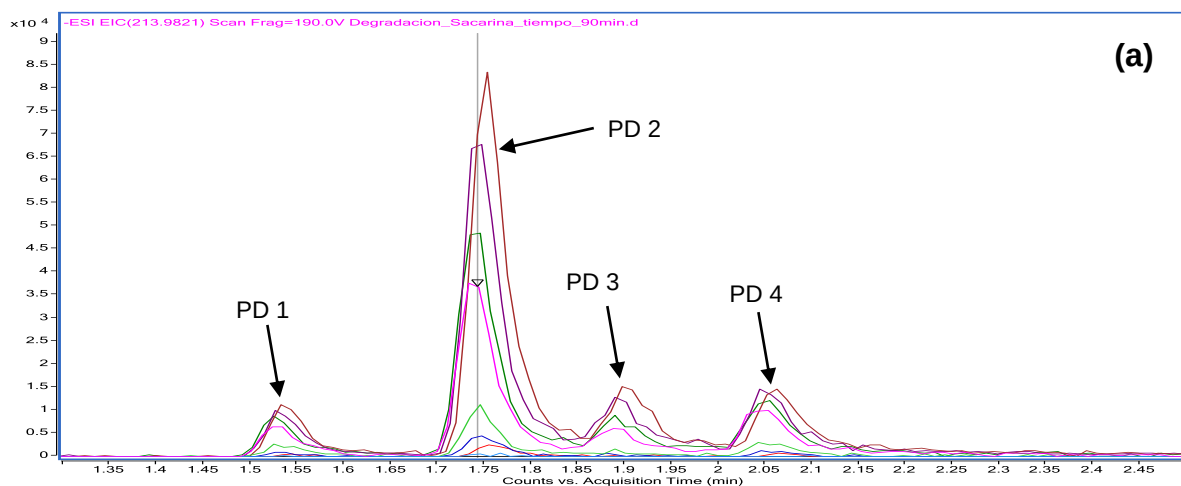
Figura 21. (a) Cromatogramas de iones totales superpuestos. En negro, el minuto 0 y, en rojo, el minuto 90; (b) Cromatograma de ión extraído al minuto 90 de la exposición. En rojo del grupo m/z 213.9821 y en gris del grupo m/z 197.9864.

Se usan los TICs a diferentes minutos de exposición (en este caso a 0 y 90 minutos) para ver si se han formado productos de degradación. Puede observarse que sí en la **Figura 21 (a)**.

En la **Figura 21 (b)** se muestra el cromatograma de ión extraído de los 8 productos de degradación que se encontraron en el experimento de la degradación de la sacarina, cada uno con diferente tiempo de retención excepto dos que se superponen (PD 2 y PD 5).

Tenemos un primer grupo con m/z 213.9821 y fórmula $C_7H_5NO_5S$ que se muestra en rojo, y un segundo grupo con m/z 197.098464 y fórmula $C_7H_5NO_4S$ que se observa en gris.

Teniendo en cuenta, que la fórmula de la sacarina es $C_7H_5NO_3S$, podemos decir que la primera fórmula ha ganado dos oxígenos y la segunda fórmula ha ganado un oxígeno.



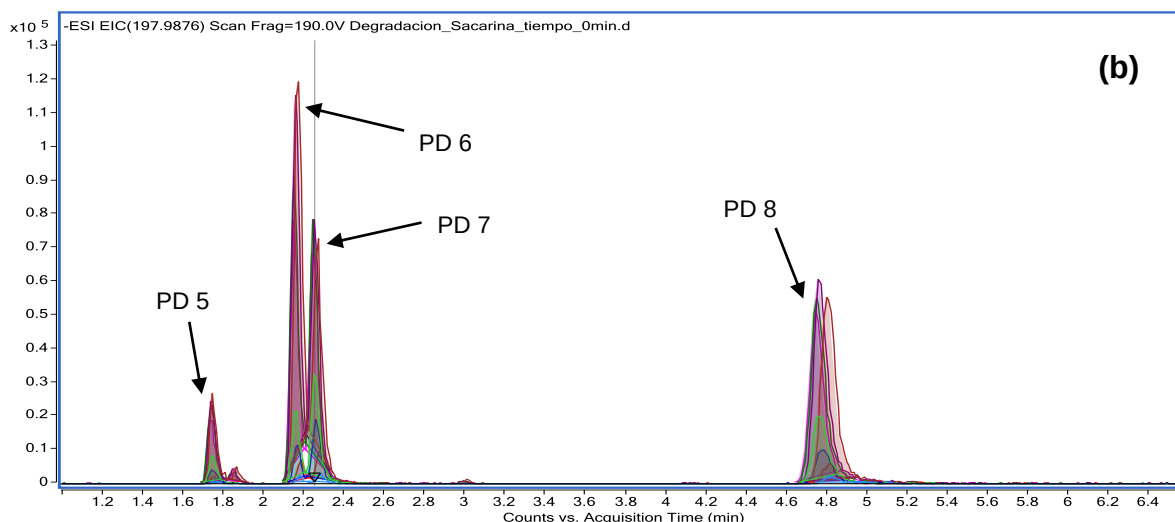


Figura 22. (a) Cromatograma de ión extraído de los productos de degradación del grupo m/z 213.9821 a diferentes tiempos de exposición; (b) Cromatograma de ión extraído de los productos de degradación del grupo m/z 197.9876 a diferentes tiempos de exposición.

En la **Figura 22 (a)** se puede observar el comportamiento de los cuatro productos de degradación del primer grupo m/z 213.9821 a diferentes tiempos de exposición.

En cuanto a la **Figura 22 (b)**, en este caso podemos observar el comportamiento de los productos de degradación del segundo grupo m/z 197.9876 a diferentes tiempos de exposición, así como su área de pico, es decir, la cantidad de compuesto que se encuentra.

Por último, en la **Figura 23** se muestran los comportamientos de todos los productos de degradación encontrados de la sacarina. Como se ha indicado, se encuentran divididos en dos grupos.

En el primer grupo (**Figuras a, b, c y d**), todos los productos están en proceso de formación y están a punto de llegar a su pico más alto. Esto indica que a medida que la sacarina se va degradando lentamente, estos productos se van formando lentamente a la misma vez.

En el segundo grupo (**Figuras e, f, g y h**), todos los productos excepto el PD 6 han alcanzado su pico más alto de formación y han comenzado a degradarse. En el caso del PD 6 todavía sigue en formación.

Ningún producto de los 8 detectados termina por degradarse. Este dato tiene bastante sentido ya que la sacarina no ha terminado el proceso de degradación por lo que todos los productos de degradación no han terminado de generarse o degradarse.

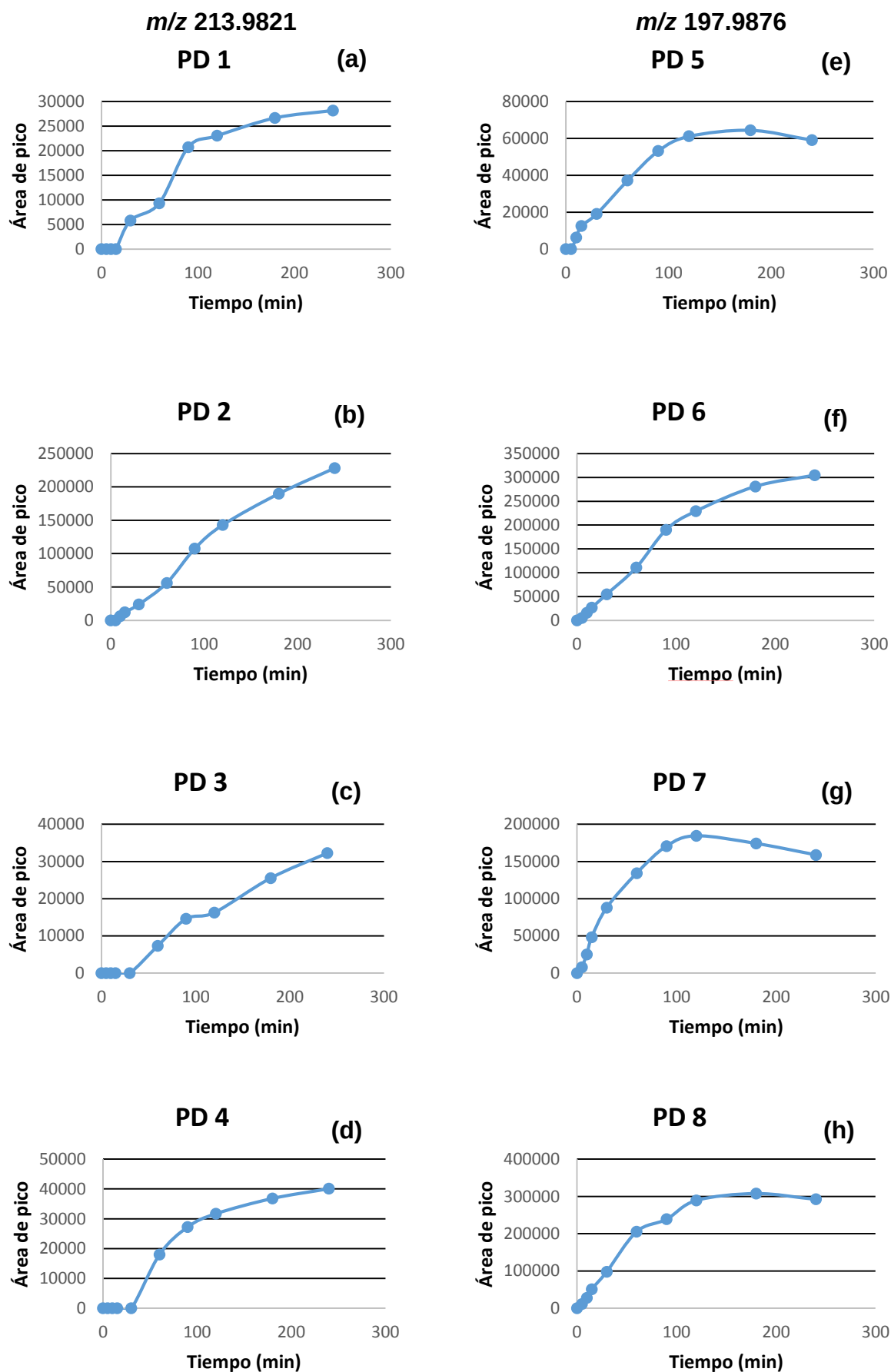


Figura 23. Comportamiento de los diferentes productos de degradación de la sacarina. Se muestra el grupo de m/z 213.9821 a la izquierda (a, b, c, d) y el grupo de m/z 197.9876 a la derecha (e, f, g, h).

Tabla 8. Tiempos de retención, *m/z* teórica y composición elemental de todos los productos de degradación de la sacarina.

Producto de transformación	R _t (min)	<i>m/z</i> teórica	Composición elemental (M)
PD 1	1.52	213.9821	C ₇ H ₅ NO ₅ S
PD 2	1.73		
PD 3	1.89		
PD 4	2.05		
PD 5	1.74	197.09864	C ₇ H ₅ NO ₄ S
PD 6	2.15		
PD 7	2.28		
PD 8	4.74		

En esta tabla, se resumen los tiempos de retención de cada producto de degradación, su grupo correspondiente y la composición elemental del grupo. Que cuatro productos de degradación tengan la misma composición elemental y misma relación masa/carga teórica se debe a que son isómeros, es decir, tienen la misma fórmula molecular de iguales proporciones relativas de los átomos que conforman su molécula pero presentan distintas estructuras químicas, se disponen de forma diferente por lo que tienen propiedades diferentes y se toman como compuestos diferentes unos de otros.

4. CONCLUSIONES

Tras la realización de este trabajo, se puede concluir que la técnica empleada en estos experimentos (Cromatografía de líquidos/espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo), es apropiada para la detección de sucralosa, aspartamo y sacarina de forma sencilla, selectiva, sensible y precisa.

En cuanto a la degradación de los compuestos mediante la exposición a radiación ultravioleta, se puede concluir que, la sucralosa tarda unas siete horas en degradarse por lo que este tratamiento no sería rentable en una planta de tratamiento de aguas residuales. Lo mismo ocurre con la sacarina que sólo se degrada el 60% tras cuatro horas de exposición. El caso del aspartamo es diferente ya que sí se degrada completamente tras una hora de exposición. De hecho, este edulcorante ya comienza a degradarse por sí solo al entrar en contacto con el agua debido a la hidrólisis que se produce por lo que no se trata de un compuesto que suponga ningún problema ambiental en lo que respecta a persistencia en el medioambiente.

Debido a la resistencia a la degradación que presentan, tanto la sucralosa como la sacarina pueden ser usados como indicadores del ciclo del agua en el medioambiente, que son de una intensidad y reactividad parecidas a las que se dan en los tratamientos de oxidación avanzada de las plantas de tratamiento de aguas residuales. Por lo contrario, el aspartamo no sería un buen trazador por su facilidad para degradarse.

Por otra parte, se estudiaron los productos de degradación de cada edulcorante. La sucralosa mostró un solo producto de degradación con m/z 357.0153. El producto se forma y se degrada completamente durante las siete horas de exposición. La sacarina originó 8 productos de degradación, 4 con m/z 213.9821 y otros 4 con m/z 197.09864. En este caso, los del primer grupo, están en proceso de formación mientras que los del segundo grupo, excepto uno, han llegado a su pico más alto y empiezan a degradarse. Por último, el aspartamo forma 2 productos de degradación con m/z 207.1128 y m/z 261.0882. Ambos productos se degradan completamente al superar las 3 horas de exposición a la radiación UV.

5. BIBLIOGRAFÍA

1. <http://www.bvsde.paho.org/bvsaca/e/fulltext/seccion1/seccion1.pdf>
2. <http://www.accion.es/salaprensa/opinion/2011/contaminantes-emergentes-en-el-agua>
3. <http://www.ugr.es/~mgroman/archivos/Mojacar/charla1.pdf>
4. <http://www.iagua.es/blogs/elena-rama/emergentes-la-contaminacion-oculta-del-agua>
5. Ferrer, I., Thurman, E. M. (2010). Analysis of sucralose and other sweeteners in water and beverage samples by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography, A*. 1217, 4127–4134.
6. Berset, J-D., Ochsenbein, N. (2012). Stability considerations of aspartame in the direct analysis of artificial sweeteners in water samples using high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry (HPLC–MS/MS). *Chemosphere*. 88, 563-569.
7. Tollefsen, K.E., Nizzetto, L., Huggett, D.B. (2012). Presence, fate and effects of the intense sweetener sucralose in the aquatic environment. *Science of the Total Environment*. 438, 510-516.
8. <http://sucralose.es/your-questions-answered/>
9. <http://es.wikipedia.org/wiki/Sucralosa>
10. Grotz, V.L., Munro, I.C. (2009). An overview of the safety of sucralose. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 55, 1-5.
11. <http://www.sucralin.es/cast/preguntas/index.php>

12. *International Sweeteners Association* http://www.info-edulcorants.org/pdf/E955_Sucralosa_SP.pdf
13. Rahn, A., Yaylayan V.A. (2010). Thermal degradation of sucralose and its potential in generating chloropropanols in the presence of glycerol. *Food Chemistry*. 118, 56-61.
14. Batchu, S.R., Quinete, N., Panditi, V.R., Gardinali, P.R. (2013). Online solid phase extraction liquid chromatography tandem mass spectrometry (SPE-LC-MS/MS) method for the determination of sucralose in reclaimed and drinking waters and its photo degradation in natural waters from South Florida. *Chemistry Journal Central*. 7:141.
15. Wiklund, A-K. E., Breitholtz, M., Bengtsson, B-K., Adolfson-Erici, M. (2012). Sucralose – An ecotoxicological challenger? *Chemosphere*. 86, 50-55.
16. Soh. L., Connors, K.A., Brooks, B.W., Zimmerman, J. (2011). Fate of Sucralose through Environmental and Water Treatment Processes and Impact on Plant Indicator Species. *Environmental Science & Technology*. 45, 1363–1369.
17. Huntscha, S., Singer, H.P., Mc Ardell, C.S., Frank, C.E., Hollender, J. (2012). Multiresidue analysis of 88 polar organic micropollutants in ground, surface and wastewater using online mixed-bed multilayer solid-phase extraction coupled to high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1268, (74-83).
18. Marinovich, M., Galli, C.L., Bosetti, C., Gallus, S., La Vecchia, C. (2013). Aspartame, low-calorie sweeteners and disease: Regulatory safety and epidemiological issues. *Food and Chemical Toxicology*. 60, 109-115.
19. Shankar, P., Ahuja, S., Sriram, K. (2013). Non-nutritive sweeteners: Review and update. *Nutrition*. 29, 1293-1299.
20. <http://www.slideshare.net/franz84/aspartamo>

21. *International Sweeteners Association* http://www.info-edulcorants.org/pdf/E951_Aspartamo_SP.pdf
22. Gan, Z., Sun, H., Feng, B., Wang, R., Zhang Y. (2013). Occurrence of seven artificial sweeteners in the aquatic environment and precipitation of Tianjin, China. *SciVerse ScienceDirect*. 47, 4928-4937.
23. http://practica-farmaceutica.medica.ro/reviste_med/download/practica_farmaceutica/2011.2/PF_Nr-2_2011_Art-1.pdf
24. *International Sweeteners Association* http://www.info-edulcorants.org/pdf/E954_Sacarina_SP.pdf
25. Kokotou, M.G., Asimakopoulos, A.G., Thomaidis, N.S. (2012). Artificial sweeteners as emerging pollutants in the environment: analytical methodologies and environmental impact. *Analytical Methods*. 4, 3057-3070.
26. <https://www.educacion.gob.es/teseo/imprimirFicheroTesis.do?fichero=21891>
27. <http://www.veranos.ugto.mx/Memorias/12VeranoCienciaRegionCentro/documentos/241.pdf>
28. <http://www.csva.gob.mx/foromundial/Material/Resumenfotocat.pdf>
29. http://cosemarozono.com/descargas/recuperacion_aguas_residuales.pdf
30. Loos, R., Carvalho, R., António, D.C., Comero, S., Locoro, G., Tavazzi, S., Paracchini, B., et al. (2013). EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. *SciVerse ScienceDirect*. 47, 6475-6487.

31. Sang, Z., Jiang, Y., Tsoi, Y-K., Leung, K. S-Y. (2013). Evaluating the environmental impact of artificial sweeteners: A study of their distributions, photodegradation and toxicities. *ScienceDirect*. 30, 1-15.